

# BEZPEČNOSŤ A KONTROLA POTRAVÍN

(Zborník prác z medzinárodnej vedeckej konferencie)

28. - 29. marec 2019



KATEDRA HYGIENY  
A BEZPEČNOSTI POTRAVÍN

FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE  
A POTRAVINÁRSTVA



**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA V NITRE**  
**FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA**  
**KATEDRA HYGIENY A BEZPEČNOSTI POTRAVÍN**

## **BEZPEČNOSŤ A KONTROLA POTRAVÍN**

**(Zborník prác zo XVI. vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou online)**



**Piešťany, 28. – 29. marec 2019**

**Vedecký výbor konferencie:**

prof. Ing. Norbert Lukáč, PhD., SPU Nitra  
prof. Ing. Jozef Golian, Dr., SPU Nitra  
prof. Ing. Mária Angelovičová, CSc., SPU Nitra  
prof. MVDr. Jozef Bireš, DrSc., ŠVPS SR Bratislava  
prof. Dr. Teresa Fortuna, D.Sc., FFT, UR Krakow, PR  
Dr. hab. inž. Agnieszka Filipiak-Florkiewicz, FFT, UR Ktakov, PL  
prof. Ing. Alžbeta Jarošová, CSc., MENDELU Brno, ČR  
doc. MVDr. Bohuslava Tremlová, CSc., VFU Brno, ČR  
prof. MVDr. Lenka Vorlová, Ph.D., VFU Brno, ČR  
doc. Ing. Lenka Kouřimská, Ph.D., ČZU Praha  
prof. Ing. Ján Šajbidor, DrSc., STU Bratislava  
prof. Ing. Peter Šimko, DrSc., STU Bratislava  
prof. Ing. Ľubomír Valík, PhD., STU Bratislava  
doc. RNDr. Peter Siekel, CSc., VÚP Bratislava  
doc. Ing. Roman Labuda, PhD., University of Veterinary Medicine, Vienna Rakúsko  
prof. Tadeusz Trziszka, Ph.D., D.Sc. Wroclaw University, PR  
prof. Dr. Irina Chernukha, Russian Meat Research Institute, Moscow  
prof. MVDr. Peter Turek, PhD., UVLF Košice  
prof. MVDr. Jozef Nagy, PhD., UVLF Košice  
doc. MVDr. Milan Vasil', PhD.  
prof. Ing. Stanislav Kráčmar, DrSc., VŠOH Brno, ČR  
prof. Ing. František Buňka, Ph.D., UTB Zlín, ČR  
doc. Ing. Jan Pánek, Ph.D., VŠCHT Praha, ČR  
doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D., VUT Brno, ČR  
doc. Ing. Libor Červenka, Ph.D., Univerzita Pardubice, ČR  
doc. MVDr. Jan Bardoň, Ph.D., SVÚ Olomouc, ČR  
prof. Ing. Dana Tančinová, PhD., SPU Nitra

**Recenzenti:**

prof. Ing. Mária Angelovičová, CSc.  
prof. Ing. Jozef Golian, Dr.  
prof. Ing. Marcela Capcarová, PhD.  
doc. Ing. Martina Fikselová, PhD.  
doc. Ing. Andrea Mendelová, PhD.

Schválila rektorka Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre dňa 12.3.2019 ako zborník prác z vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou online.

Neprešlo redakčnou úpravou vo vydavateľstve SPU v Nitre. Za odbornú a jazykovú úpravu zodpovedajú autori.

ISBN 978-80-552-1978-3

DOI: <https://doi.org/10.15414/2019.9788055219783>

## OBSAH

<b><u>SEKCIA 1: Aktuálne problémy hygieny a bezpečnosti potravín</u></b>	
<b>Úradná kontrola potravín v SR v roku 2018</b> <i>Jozef Bireš</i>	8
<b>Zásady metodológie EÚ na posudzovanie charakteristík súvisiacich s kvalitou značkových potravín</b> <i>Jozef Čapla, Peter Zajác, Jozef Golian, Ľubomír Belej, Marek Šnirc</i>	12
<b>Vysledovateľnosť potravín DNA čiarovým kódom</b> <i>Jozef Čapla, Peter Zajác, Jozef Golian, Alica Bobková, Marek Šnirc</i>	20
<b>Hodnotenie súprav na extrakciu DNA zo vzoriek potravín</b> <i>Zuzana Drdlová, Jozef Golian, Lucia Benešová</i>	27
<b>V téme dvojaká kvalita je kľúčovým zdrojom suroviny a interpretácia výsledkov</b> <i>Katarína Fašiangová, Jozef Golian</i>	32
<b>Prístup k vedeckým informáciám – vedecká platforma EFSA a Knowledge junction</b> <i>Lucia Gabrišová</i>	37
<b>Požiadavky novej verzie normy BRC 8 pre výrobcov potravín</b> <i>Martin Horváth, Tomáš Rusňák</i>	39
<b>ELISA v analýze kokciostatík a ich reziduí</b> <i>Daniela Juščáková, Ivona Kožárová</i>	42
<b>Od hodnotenia rizika po nesúlad potravín</b> <i>Michal Kunštek, Marica Kuzmiak Theiszová</i>	46
<b>Aktivity Státní veterinární správy České republiky na úseku bezpečnosti potravín v roce 2018</b> <i>Zbyněk Semerád, Jiří Drápal</i>	48
<b><u>SEKCIA 2: Mikrobiologická a mykologická bezpečnosť potravín</u></b>	
<b>Problematika vankomycin-rezistentných enterokoků ve vztahu k bezpečnosti potravín</b> <i>Jan Bardoň</i>	53
<b>Výskyt mykotoxínov v potravinách a krmivách v rokoch 2015-2018</b> <i>Ivana Bartalosoová, Lucia Martinkovičová</i>	55
<b>Probiotiká versus antibiotiká v akvakultúre</b> <i>Adriána Fečkaninová, Mette Sørensen, Jana Koščová, Dagmar Mudroňová, Soňa Gancarčíková, Peter Popelka</i>	58
<b>Hodnocení mikrobiologické kvality prostředí výrobních středisek v provozovných stravovacích službách</b> <i>Josef Kameník, Kateřina Bogdanovičová, Jan Strejček, Kateřina Dorotíková</i>	62
<b>Screening of antibiotic and coccidiostat residues in table eggs</b> <i>Ivona Kožárová, Shay Yardeny, Daniela Juščáková</i>	65
<b>Mikrobiologické a fyzikálno-chemické parametre slovenských medov</b> <i>Simona Kunová, Miroslava Kačániová, Ľubomír Lopašovský, Lucia Zeleňáková</i>	69
<b><u>SEKCIA 3: Chemická bezpečnosť potravín</u></b>	
<b>Potravinárske farbivá v súvislosti s falšovaním a bezpečnosťou potravín živočíšneho pôvodu</b> <i>Martina Fikselová, Jozef Golian, Martin Mellen</i>	78
<b>The effect of the addition of osmotic substances on the minerals content in cooked soybeans</b> <i>Adam Florkiewicz, Ciula Klaudia, Agnieszka Filipiak-Florkiewicz</i>	82
<b>Vplyv selenizácie na hrach záhradný pestovaný v olovom kontaminovanej pôde</b> <i>Silvia Jakobová, Zuzana Šeböková, Alica Bobková, Jozef Čurlej, Ľubomír Belej, Marek Bobko, Dagmar Kozelová, Ján Durec, Ondrej Hegedűs</i>	74
<b>The electrochemical properties of fenhexamid on bare glassy carbon electrode</b> <i>Anna Łukawska, Milan Sýs, Mariola Brycht, Sławomira Skrzypek, Iveta Brožková</i>	89
<b>Prolín a celkové fenolické látky ako doplnkové parametre hodnotenia medu</b> <i>Matej Tkáč, Lenka Vorlová, Lenka Kaniová, Marcela Zajičková, Ivana Borkovcová</i>	95
<b><u>SEKCIA 4: Výživa a bezpečnosť potravín</u></b>	
<b>Alternatívne zdroje potravín</b> <i>Zuzana Čaplová, Blanka Tobolková, Emil Kolek, Zuzana Rešková, Peter Siekel</i>	100

<b>Rastlinné alternatívy v potravinárskom priemysle – módný trend alebo nevyhnutnosť</b> <i>Ján Durec, Kristína Kukurová, Emil Kolek, Blanka Tobolková, Dagmar Kozelová</i>	103
<b>Špecifiká detekcie alergénnych zložiek v orechoch</b> <i>Dominika Hercegová, Lucia Zeleňáková</i>	108
<b>Morfologický popis pylových zrn exotických medú</b> <i>Zdeňka Javůrková, Matej Pospiech, Bohuslava Tremlová, Michaela Petrášová, Hana Běhalová, Michaela Bičová</i>	112
<b>Antioxidant activity of honeys of various origin from the Malopolska region</b> <i>Lesław Juszcak, Robert Socha</i>	116
<b>Bezpečnosť jedlého hmyzu</b> <i>Lenka Kouřimská</i>	120
<b><u>SEKCIA 5: Bezpečnosť a kontrola mlieka a mliečnych výrobkov</u></b>	
<b>Inovatívne metódy v štúdiu mikrobiómu vo vzorkách bryndze</b> <i>Tereza Cabicarová, Zuzana Rešková, Zuzana Čaplová, Janka Koreňová, Tomáš Kuchta</i>	127
<b>Sledovania obsahu močoviny vo vzorkách surového kravského mlieka</b> <i>Margita Čanigová, Viera Ducková, Zuzana Remeňová, Peter Zajác, Miroslav Kročko</i>	130
<b>Postavenie mlieka v súčasnom systéme výživovej politiky štátu</b> <i>Ján Keresteš, Karol Herian</i>	134
<b>Porovnanie mikrobiologickej kvality vybraných jogurtov a biojogurtov</b> <i>Jana Kolačková, Dagmar Kozelová, Simona Kunová</i>	139
<b>Vplyv pridanej kultúry na priebeh zrenia syrov z nepasterizovaného ovčieho mlieka</b> <i>Janka Koreňová, Tereza Cabicarová, Zuzana Čaplová, Tomáš Kuchta</i>	147
<b>Odhad správania sa populácií <i>Staphylococcus aureus</i> a <i>Escherichia coli</i> počas výroby tradičných parených syrov zo surového mlieka</b> <i>Lubomír Valík, Pavel Ačai, Veronika Antálková, Veronika Lehotová</i>	151
<b>Priama detekcia <i>Listeria monocytogenes</i> v syroch metódou PCR</b> <i>Adriana Véghová, Jana Minarovičová, Tereza Cabicarová, Eva Kaclíková</i>	154
<b>Zloženie a fyzikálno-chemické vlastnosti ovčieho mlieka na začiatku a ku koncu produkcie zrelého mlieka</b> <i>Lucia Zeleňáková, Margita Čanigová</i>	157
<b><u>SEKCIA 6: Bezpečnosť a kontrola mäsa a mäsových výrobkov</u></b>	
<b>Analýza vybraných ukazovateľov tukového profilu hovädzieho, jahňacieho a kurčacieho mäsa</b> <i>Mária Angelovičová, Michaela Klimentová, Marek Angelovič</i>	165
<b>Účinok prídavku biofermentovaného krmiva na profil mastných kyselín a rozkladné zmeny svaloviny brojlerových kurčiat</b> <i>Martin Bartkovský, Slavomír Marciničák, Jozef Nagy, Peter Turek, Tatiana Klempová, Milan Čertík, Marek Hudák</i>	172
<b>Vplyv aplikácie extraktu hroznových semien na oxidačnú stabilitu a senzorickú kvalitu mäsového výrobku</b> <i>Marek Bobko, Miroslav Kročko, Jana Tkáčová, Alica Bobková, Andrea Mendelová, Lubomír Belej, Jozef Čurlej, Silvia Jakobová</i>	175
<b>Posúdenie texturálneho profilu spišských párkov falšovaných prídavkom kuracieho mäsa</b> <i>Jozef Čurlej, Lubomír Belej, Marek Bobko, Silvia Jakobová, Alica Bobková, Jozef Golian</i>	179
<b>Vplyv komerčnej ochrannej kultúry na kvalitu soľného roztoku v procese solenia mäsa</b> <i>Miroslav Kročko, Ivona Steinhübllová, Margita Čanigová, Viera Ducková, Marek Bobko</i>	184
<b>Quality of sausages from Termond white, Popielno white and crossbreed rabbits</b> <i>Łukasz Migdał, Piotr Kulawik, Joanna Tkaczewska, Sylwia Pałka, Michał Kmieciak, Anna Migdał, Władysław Migdał</i>	188
<b>The chemical composition of traditional European sausages</b> <i>Migdał Władysław, Radović Čedomir, Živković Vladimir, Walczycka Maria, Zajac Marzena, Tkaczewska Joanna, Kulawik Piotr, Węsierska Ewelina, Migdał Łukasz, Migdał Anna</i>	191
<b>Využití vedlejších bílkovinných produktů z porážky drůbeže na přípravu kolagenu</b> <i>Aneta Polaštíková, Pavel Mokrejš, Robert Gál, Jiřka Baďurová</i>	196
<b>Vplyv podávania humínových látok vo výkrme brojlerových kurčiat na senzorické parametre produkovaného mäsa</b> <i>Boris Semjon, Dana Marciničáková, Ivete Jaduttová, Martin, Bartkovský, Peter Váci, Alena Nagyová, Slavomír Marciničák</i>	206

<b><u>SEKCIA 7: Bezpečnosť a kontrola potravín rastlinného pôvodu</u></b>	
<b>Comparison of traditional and vegetarian diet in the context of iron and vitamin C dietary intake</b> <i>Agnieszka Filipiak-Florkiewicz, Dominika Witek, Adam Florkiewicz</i>	211
<b>Kvalita potravinárske pšenice a mlýnský průmysl v ČR</b> <i>Marie Hrušková, Pavel Filip</i>	213
<b>Laboratórna analýza koreninovej papriky</b> <i>Ľubomír Lopašovský, Lucia Zeleňáková, Simona Kunová, Miroslava Kačániová</i>	216
<b>Vplyv skladovania a tepelnej úpravy na kvalitu vybraných odrôd zemiakov</b> <i>Ján Mareček, Andrea Mendelová</i>	224
<b>Hodnotenie závislosti medzi fyzikálnymi a chemickými ukazovateľmi kvality zeleného hrášku</b> <i>Andrea Mendelová, Ľubomír Mendel, Ján Mareček</i>	229
<b>Charakterizácia mikrobiálnej zložky vo výrobe vína pomocou molekulárno-biologických metód</b> <i>Katarína Ženišová, Zuzana Čaplová, Tereza Cabicarová, Katarína Šoltys, Tomáš Kuchta</i>	234
<b>Prezentácie firiem a sponzorov</b>	239

## **SEKCIA 1: Aktuálne problémy hygieny a bezpečnosti potravín**

## VÝSLEDKY ÚRADNÝCH KONTROL POTRAVÍN NA SLOVENSKU RESULTS OF THE OFFICIAL CONTROLS OF FOOD IN SLOVAKIA

*Jozef Bíreš*

**Abstract:** Authorities of the State Veterinary and Food Administration perform official control in the area of plant origin food and animal origin food. Their performance of the official control is based on the concept of Plan of the official controls, in order to ensure high level of protection of the human health and interests of the consumers in the whole food chain, from the primary production to the retail sale.

**Key words:** official control, food safety, quality of food, laboratory analysis

### ÚVOD

Orgány štátnej veterinárnej a potravinovej správy vychádzali pri úradných kontrolách v oblasti potravín rastlinného pôvodu z koncepcie plánu úradných kontrol, kvôli zabezpečeniu vysokej úrovne ochrany zdravia ľudí a záujmov spotrebiteľov v celom potravinovom reťazci, od prvovýroby až po maloobchodný predaj. Hlavným cieľom úradných kontrol potravín rastlinného pôvodu, rovnako ako v minulých rokoch, bolo overovanie dodržiavania právnych predpisov, zabezpečenie eliminácie nedostatkov u potravín vyrábaných na našom území a taktiež zabránenie vstupu rizikových potravín dovážaných z tretích krajín tak, aby bola zabezpečená ochrana zdravia spotrebiteľov Európskej únie. Veľký dôraz bol kladený aj na odhaľovanie zavádzania a klamaní spotrebiteľov a taktiež aj falšovania potravín.

### VÝSLEDKY A DISKUSIA

V Slovenskej republike bolo v roku 2018 celkovo zaregistrovaných v zmysle zákona 152/1995 Z. z 14 622 právnych subjektov ( 56 813 potravinárskych prevádzok).

V roku 2018 bolo skontrolovaných 9 327 právnych subjektov. Vykonaných bolo 52 817 úradných kontrol potravín v zmysle zákona č. 152/95 Z. z a z toho 2 727 úradných kontrol v zmysle zákona 39/2007 na všetkých stupňoch v reťazci, z ktorých bolo 4 308 kontrol s nedostatkom, čo predstavuje 8,2 %, pričom bežné kontroly v počte 51 021 vykazovali 7,1 % kontrol s nedostatkom (3 635) z počtu bežných kontrol, kontroly mimo pracovnej doby v počte 1 796 vykazovali 37,5 % kontrol s nedostatkom (673) z počtu kontrol mimo pracovnej doby.

Z celkového počtu 9 327 kontrolovaných právnych subjektov a z 16 674 prevádzok, boli u 3 277 prevádzok (t. j 19,7 %) zistené nedostatky (porušenosť v roku 2017 predstavovala 21,2 %).

Najčastejšie pri úradných kontrolách boli zistené nedostatky v hygiene budov a hygiene prevádzkarne (2 980 nedostatkov), ďalej boli zistené nedostatky v hygiene technologického zariadenia a pracovných pomôcok (2 137), v predaji po dátume spotreby a dobe minimálnej trvanlivosti (1 895), v hygiene skladovania (1 589), v označení výrobkov (1 542), v hygiene predaja (1 099), ako aj iné nedostatky.

Najviac nedostatkov 12 814 bolo v maloobchode, kde pri kontrolách bolo zistených až 2 704 prevádzok s nedostatkami. Nedostatky sa týkajú hlavne hygieny budov, technologických zariadení a pracovných pomôcok, zistení tovaru po dobe spotreby a po dátume minimálnej trvanlivosti, označovania výrobkov, nedostatkov v dokumentácii ako aj iných nedostatkov zistených v priebehu úradných kontrol potravín.

V roku 2018 orgány štátnej veterinárnej a potravinovej správy vykonali u prevádzkovateľov potravinárskych podnikov rastlinných komodít aj audity so zameraním na overenie zhody zavedeného systému zabezpečenia kontroly hygieny potravín a správnej výrobnéj praxe s platnou legislatívou.



Veterinárne a potravinové ústavy v Slovenskej republike analyzovali a vyhodnotili v roku 2018 v komoditách výrobkov rastlinného pôvodu 6 537 výrobkov, z ktorých 263 vzoriek, t. j. 4,0 % nevyhovelo požiadavkám Potravinového kódexu SR, Vyhláškam MPRV SR alebo iným záväzným právnym predpisom v oblasti kvality a bezpečnosti potravín (v roku 2017 bolo odobratých 7 101 vzoriek, z ktorých 197 vzoriek, t. j. 2,8 % nevyhovelo požiadavkám platnej legislatívy).

Z celkového počtu vykonaných analýz vzoriek potravín rastlinného pôvodu nevyhovelo platnej legislatíve v mikrobiologických ukazovateľoch 7, v kontaminantoch 42, v prídavných látkach 176, v označovaní 280, v alergénoch 10, v senzorických ukazovateľoch 122, vo fyzikálno-chemických ukazovateľoch 89 vzoriek.

Z pohľadu jednotlivých komodít boli najvyššie počty nevyhovujúcich výrobkov zistených celkovo u vína 90, mäsových výrobkov 83, mlieka a výrobkov z mlieka 82, piva 38, spracovaného ovocia a zeleniny 37, čokolády cukrovínok 25, nealkoholických nápojov 20, hydínového a králičieho mäsa 19, škrupinového ovocia 19, cukrárskych výrobkov 15, rýb a výrobkov z rýb 14, trvanlivého pečiva 12, medu a výrobkov z medu 12, pekárskeho výrobkov 11.

V roku 2018 úradní veterinárni lekári RVPS vykonali úradné kontroly v 123 schválených prevádzkarniach pre zabíjanie domácich kopytníkov (ďalej len „bitúnkov“) čo predstavuje oproti roku 2017 pokles o 1 prevádzkareň.

V zozname schválených bitúnkov pre domáce kopytníky evidujeme 62 prevádzkarní, ktorým boli schválené úpravy požiadaviek na konštrukcie, usporiadania a vybavenia podľa NV SR č. 359/2011 Z. z. a týkal sa bitúnkov s malým objemom výroby, kde sa zabíja najviac 30 dobytčích jednotiek. Oproti roku 2017 to predstavovalo nárast o 5 bitúnkov s malým objemom výroby a tieto prevádzkarne k 31.12.2018 predstavovali 51,2 % k celkovému počtu evidovaných bitúnkov, čo predstavuje oproti roku 2018 nárast o 4,9 %.

Najväčšie zastúpenie v počte 52 prevádzkarní majú bitúnky s malým objemom výroby, ktoré sú schválené integrovane pre zabíjanie hovädzieho dobytku s ošípanými, z toho najviac reprezentujú samostatné bitúnky schválené pre zabíjanie len hovädzieho dobytku čo predstavuje 18 prevádzkarní, a čo je oproti roku 2018 nárast o 2 bitúnky tohto typu.

Veterinárne prehliadky *ante mortem* a *post mortem* boli vykonané celkom u 768 131 kusov domácich kopytníkov, čo predstavuje oproti r. 2017 nárast o 77 493 kusov. Z toho 218 083 (28,39 %) kusov domácich kopytníkov pôvodom z iných členských krajín EÚ a tretích krajín, čo oproti r.2018 predstavuje nárast o 550 048 kusov prehliadnutých jatočných zvierat a mäsa z nich. Nepožiteľných bolo posúdených spolu 44 celých tel domáciach kopytníkov, čo predstavuje oproti roku 2018 pokles o 73 kusov.

Naliehavé zabitia boli uskutočnené u 109 kusov domácich kopytníkov, čo predstavuje oproti roku 2017 nárast o 33 kusov. K celkovému počtu zabitých zvierat v r. 2018 to predstavuje 0,014 % a v porovnaní s r. 2017 to predstavuje nárast o 0,003 %.

V porovnaní s bitúnkami so štruktúrnymi výnimkami bolo veterinárne prehliadnutých 36 kusov naliehavo zabitých domácich kopytníkov, čo predstavovalo oproti r. 2017 nárast o 1 kus a k celkovému počtu naliehavo zabitých zvierat na všetkých schválených bitúnkoch to predstavuje 33 % a 0,16 % k celkovému počtu zabitých domácich kopytníkov na bitúnkoch so štruktúrnymi výnimkami.

Pri úradných kontrolách bolo v roku 2018 odobratých 1 784 vzoriek mäsových výrobkov, celkovo nevyhovelo 64 vzoriek (3,59 %), čo je oproti roku 2017 zhoršenie o 0,89 %. Požiadavkám na označovanie nevyhovovalo 15 vzoriek (5,73 % z odobratých vzoriek; v roku 2017 nevyhovelo 2,21 %). V 2 vzorkách (0,76 % zo vzoriek analyzovaných na alergény; v roku 2017 to bolo 1,90 %) sa preukázala prítomnosť alergénov (glutén) neuvedených v označení. 12 vzoriek nevyhovelo požiadavkám na zloženie (3,04 % analyzovaných na ukazovatele kvality; v roku 2017 to bolo 1,90 %, (najčastejšie sa zistilo, že množstvo mäsa

nezodpovedalo údajom na označení); prekročenie najvyššieho prípustného množstva NaCl sa zistilo v 5 vzorkách (2,89 % z vyšetrených, čo je porovnateľné s rokom 2017). Tak ako v roku 2017 požiadavkám na prídavné látky vyhovel všetky vzorky. 17 vzoriek nevyhovelo sensorickým požiadavkám (10,69 %), pričom išlo hlavne o vzorky odobraté na základe podnetov spotrebiteľov (v roku 2017 nevyhovelo 0,54 % vzoriek). 2 vzorky nevyhoveli mikrobiologickým kritériám (0,56 % z vyšetrených - zistenie patogénneho mikroorganizmu *Listeria monocytogenes*), čo je zlepšenie oproti roku 2017 o 0,52 %. Požiadavkám na kontaminanty nevyhovelo 14 vzoriek (3,99 % z vyšetrených – neprípustný obsah PAU), čo je zlepšenie oproti roku 2017 o 0,23 %.

**Tabuľka 1 Porovnanie počtu úradných kontrol s nedostatkami v rokoch 2017 a 2018**

2017		2018	
Hygiena budov, hygiena prevádzkarne	1 182	Hygiena budov, hygiena prevádzkarne	1 048
Hygiena technologického zariadenia, pracovné pomôcky	1 137	Hygiena technologického zariadenia, pracovné pomôcky	1 102
Označenie - nečitateľné, nedostatočné alebo nesprávne	734	Označenie - nečitateľné, nedostatočné alebo nesprávne	791
Hygiena skladovania	658	Hygiena skladovania	596
Osobná hygiena	661	Osobná hygiena	610
Hygiena predaja	423	Hygiena predaja	411
po DS/DMT	347	po DS/DMT	389
Dodržiavanie a evidencia teplotných režimov	295	Dodržiavanie a evidencia teplotných režimov	258
Nevyhovujúce laboratórne analýzy	244	Nevyhovujúce laboratórne analýzy	247
Poškodený obal, tovar	68	Poškodený obal, tovar	75
Nedostatky v dokumentácii	313	Nedostatky v dokumentácii	227
HACCP, SPP a podobné systémy	129	HACCP, SPP a podobné systémy	136
Nevhodné na ľudskú spotrebu	117	Nevhodné na ľudskú spotrebu	80
DDD, evidencia, výskyt škodcov	137	DDD, evidencia, výskyt škodcov	131
Sanitačný poriadok, evidencia	107	Sanitačný poriadok, evidencia	79

V rámci úradnej kontroly bolo v roku 2018 odobratých 38 vzoriek vaječ, nevyhovelo 6 vzoriek (15,79 %), čo je v percentuálnom vyjadrení zhoršenie o 14,44 % oproti roku 2017. Šesť vzoriek nevyhovelo mikrobiologickým požiadavkám (46,15 % z počtu vzoriek odobratých na mikrobiologické ukazovatele) – u 1 vzorky bola v škrupine zistená prítomnosť salmonel a v piatich vzorkách bola zistená prítomnosť plesni. Štyri vzorky nevyhoveli sensorickým požiadavkám (66,67 % z počtu vzoriek odobratých na sensorické ukazovatele).

V rámci úradnej kontroly bolo v roku 2018 odobratých 17 vzoriek vaječných výrobkov, všetky vzorky boli vyhovujúce.

V roku 2018 bolo odobratých 453 vzoriek mäsa hydiny a králikov, nevyhovelo 18 vzoriek (3,97 %), čo je zlepšenie v porovnaní s rokom 2017 o 2,7 %. Dve vzorky nevyhoveli mikrobiologickým požiadavkám (1,3 % z počtu vzoriek odobratých na mikrobiologické ukazovatele) – v jednej vzorke bola zistená prítomnosť *Salmonella enterica* sérovar *enteritidis* a v jednej vzorka bola zistená prítomnosť *Campylobacter jejuni*. Päť vzoriek nevyhovelo senzorickým požiadavkám (14,29 % z počtu vzoriek odobratých na senzorické ukazovatele), tri vzorky nevyhoveli požiadavkám na označovanie (13,64 % z počtu vzoriek odobratých na označovanie) a osem vzoriek nevyhovelo požiadavkám na fyzikálno-chemické ukazovatele – celkový obsah vody nad stanovený limit (18,6 % z počtu vzoriek odobratých na fyzikálno-chemické ukazovatele). Nevyhovujúce vzorky boli odoberané na základe podnetov a podaní, v rámci plánovaných úradných kontrol alebo v rámci cielených kontrol. Všetky vzorky vyhoveli požiadavkám na kontaminanty a rezíduá veterinárnych liekov.

### ZÁVER

Na zabezpečenie dosiahnutia cieľov sa kontrolovali potravinové nebezpečenstvá prítomné aj na úrovni prvovýroby. Všetky tieto zamerania úradných kontrol priniesli radu významných zistení a podklady pre smerovanie úradných kontrol do ďalšieho obdobia.

### LITERATÚRA

Výročná správa a verejný odpočet Štátnej veterinárnej a potravinovej správy SR za rok 2018, Bratislava.

**Kontaktná adresa:** prof. MVDr. **Jozef** Bíreš, DrSc., State Veterinary and Food Administration of Slovak Republic, Botanická 17, 84213 Bratislava, Slovak Republic; E-mail: [jozef.bires@svps.sk](mailto:jozef.bires@svps.sk)

**ZÁSADY METODOLÓGIE EÚ NA POSUDZOVANIE  
CHARAKTERISTÍK SÚVISIACICH S KVALITOU ZNAČKOVÝCH  
POTRAVÍN  
PRINCIPLES OF THE EU METHODOLOGY FOR THE ASSESSMENT  
OF CHARACTERISTICS CONCERNING THE QUALITY OF MARKET  
FOODS**

*Jozef Čapla, Peter Zajác, Jozef Golian, Lubomír Belej, Marek Šnirc*

**Abstract:** The EU harmonised methodology for assessing quality related characteristics of branded foods, including private labels, describes general principles to ensure transparency, comparability, inclusiveness, and fairness vis-à-vis all food chain stakeholders, including consumer organisations. It further lists a number of key recommendations for the selection of products, their sampling and testing (including sensorial aspects) and data interpretation. It shall be used in the design of comparative testing campaigns to assess the composition and sensory properties of branded food products offered within the European Union.

**Keyword:** harmonised methodology, assessing quality

**ÚVOD**

Pre riešenie otázky dvojakej kvality výrobkov je relevantných viacero právnych predpisov EÚ. Obzvlášť v prípade potravinových výrobkov, štúdie v niektorých členských štátoch EÚ poukazujú na rozdiely vo vlastnostiach súvisiacich s kvalitou (ako sú zloženie a zmyslové vlastnosti) značkových potravín. Vzhľadom na rôzne prístupy používané na odber vzoriek, testovanie a interpretáciu údajov, však získané údaje nie sú úplne porovnateľné. Väčšina štúdií porovnávala výrobky značkovej a privátnej kvality odobraných z domáceho trhu s ich ekvivalentmi, ktoré boli zakúpené väčšinou v jednom susednom členskom štáte EÚ (Tabuľka 1).

Tabuľka 1 Výsledky porovnávacích testov na hodnotenie kvalitatívnych charakteristík vykonaných vo viacerých členských štátoch EÚ.

	Rok testovania	Počet výrobkov	Počet hlásených rozdielov vo výrobkoch
Bulharsko	2017	30	19 (63 %)
Chorvátsko	2017	21	13 (62 %)
Česká republika	2017	42	32 (76 %)
	2015	23	8 (35 %)
Maďarsko	2017	74	49 (66 %)
	2016	31	11 (35 %)
Litva	2017	33	23 (70 %)
Rumunsko	2017	29	9 (31 %)
Slovensko	2017	33	27 (82%)
	2016	22	13 (59 %)
Slovinsko	2017	32	14 (44 %)

Členské štáty použili rôzne spôsoby kategorizácie rozdielov, preto je uvedený celkový počet vykazovaných rozdielov. Pojem kvalita potravín spočíva na komplexnom a viacrozmernom koncepte, ktorý je ovplyvnený širokou škálou situačných a kontextuálnych faktorov (Grunert, 2005). Historicky sa kvalita chápe predovšetkým ako absencia chyby, podvodu a falšovania.

Aktuálne kvalita spočíva v očakávaných vlastnostiach, ako sú organoleptické a výživové vlastnosti alebo vyplývajúce prínosy. Tým sa zavádza potreba zohľadniť legitímne očakávania spotrebiteľov (Vraneševic a Stančec, 2003). Kvalita označuje požadované vlastnosti, ktoré pravdepodobne odôvodňujú pridanú hodnotu; napr. forma výroby (ekologické poľnohospodárstvo, starostlivosť o životné prostredie a dobré životné podmienky zvierat), výrobné oblasti (označenie pôvodu) a súvisiace tradície. Kvalita potravín má objektívny rozmer, ktorý je merateľnou fyzikálno-chemickou charakteristikou vlastnou potravinárskym výrobkom, a subjektívny rozmer, ktorý je ohraničený očakávaniami spotrebiteľov, vnímaním a prijatím („vhodnosť na spotrebu“) (Brunsø, 2002).

### **KRITÉRIA „REFERENČNÉHO PRODUKTU“**

Všetky potraviny umiestnené na trhu EÚ musia spĺňať prísne bezpečnostné predpisy a spotrebiteľia musia byť informovaní o kľúčových vlastnostiach potravín (Nariadenie ES č. 178/2002). Smernica EÚ č. 29/2005 o nekalých obchodných praktikách navyše zabráni tomu, aby spotrebiteľia boli zavádzaní do presvedčenia, že výrobok je totožný s rovnakým výrobkom predávaným v niekoľkých ďalších členských štátoch, zatiaľ čo tieto výrobky majú výrazne odlišné zloženie alebo vlastnosti. Európska komisia vydala oznámenie s cieľom uľahčiť jeho interpretáciu a uplatňovanie pri posudzovaní rozdielov v kvalite značkových a súkromných označených potravín umiestnených na rôznych trhoch. Uvádza, že predaj výrobkov s rovnakým obalom a označením, ale s odlišným zložením a senzorickým profilom, by mohol byť v rozpore, ak sa dá preukázať od prípadu k prípadu, že:

- spotrebiteľia majú legitímne špecifické očakávania od výrobku v porovnaní s referenčným produktom a výrobok sa značne odchyľuje od týchto očakávaní;
- obchodník vynechá alebo neposkytne spotrebiteľom primerané informácie a nedokáže pochopiť, že môže existovať rozdiel medzi ich očakávaniami.

Kritériá na vytvorenie charakterizácie „referenčného produktu“ sú:

- výrobok sa uvádza na trh pod "rovnakým obalom a označením" v niekoľkých členských štátoch;
- tento výrobok sa predáva vo väčšine týchto členských štátov s určitým zložením;
- vnímanie hlavných charakteristík výrobku zo strany spotrebiteľov zodpovedá zloženiu tohto výrobku, ako je reklama vo väčšine týchto členských štátov (GfK, 2011).

### **Možné nekalé praktiky pri umiestňovaní odlišných potravinových výrobkov na jednotnom trhu**

Nedostatočné informácie o odlíšení výrobkov ponúkaných v rôznych členských štátoch pod tou istou značkou môžu ovplyvniť rozhodnutia spotrebiteľov o obchodných transakciách (Eurobarometer, 2012).

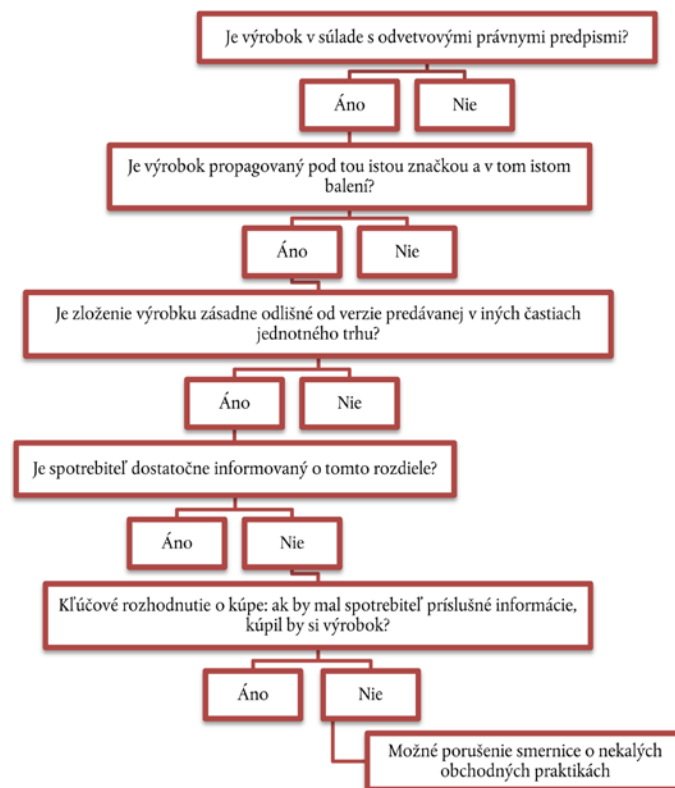
Po overení súladu s potravinovým právom EÚ, keď majú orgány presadzovania právnych predpisov konkrétne informácie, z ktorých usúdia po analýze jednotlivých prípadov, že praktiky odlišovania konkrétneho prevádzkovateľa potravinárskeho podniku môžu byť nekalými obchodnými praktikami, môžu zväziť vykonanie kontroly trhu, ktorá bude zahŕňať porovnania rôznych oblastí a krajín. Takéto testy by sa mali vykonávať pomocou spoločného postupu testovania, na ktorom Európska komisia v súčasnosti pracuje. Výsledky tejto práce by mohli poskytnúť ďalšie údaje a odporúčania k predmetnej otázke, ak sa testami identifikujú potravinové výrobky, ktoré:

- majú zdanlivo rovnakú prezentáciu,
- sú uvádzané na trh pod tou istou značkou,
- ale výrazne sa líšia v zložení a/alebo zmyslovom profile.

## PRAKTICKÉ ASPEKTY

Orgány presadzovania právnych predpisov a smernice o nekalých obchodných praktikách by mali úzko spolupracovať pri týchto preskúmaniach s cieľom zaistiť, či výsledky ich jednotlivých preskúmaní toho istého prevádzkovateľa podniku a/alebo obchodných praktík, boli konzistentné (Oznámenie komisie, 2017 /C 327/01). Konkrétne:

1. Pre jednotlivé potravinové výrobky, by sa mala vykonať predbežná kontrola všetkých požiadaviek stanovených v rámci nariadenia o informáciách o potravinách.
2. Pre potravinové výrobky, na ktoré sa uplatňujú normy o ich zložení, by sa mal skontrolovať aj súlad s právnymi požiadavkami príslušných nariadení.
3. Ak akékoľvek z požadovaných informácií v zmysle uvedeného nariadenia chýbajú alebo je ich prezentácia zavádzajúca, orgány by mali prijať nevyhnutné opatrenia na presadzovanie práva.
4. Podľa smernice o nekalých obchodných praktikách sa môže uskutočniť preskúmanie ďalších potenciálne nekalých obchodných praktík.



Obrázok 1 Posúdenie potenciálne nekalých obchodných praktík v prípade značkových potravinových výrobkov – diagram.



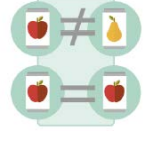



## HARMONIZOVANÁ METODIKA TESTOVANIA

V súčasnosti existuje veľká potreba spoločnej a harmonizovanej metodiky testovania na objektívne posúdenie, či existujú rozdiely medzi zdanlivo identickými výrobkami predávanými na rôznych trhoch. Generálne riaditeľstvo pre spoločné výskumné centrum ako vedecká služba Európskej komisie bolo poverené vypracovaním harmonizovanej metodiky testovania ako krok smerom k porovnateľným a autoritatívnym testom v celej EÚ. Harmonizovaná metodika je nevyhnutná na posúdenie rozsahu problému a na poskytnutie spoľahlivého dôkazového základu potrebného na ďalšie kroky, ktoré sa majú prijať. Umožní orgánom činným v trestnom konaní vykonať postupy, ktoré zahŕňajú porovnávanie výrobkov v rôznych regiónoch a krajinách v prípade, že by postupy rozlišovania konkrétneho prevádzkovateľa potravinárskeho podniku mohli predstavovať nekalé obchodné praktiky.

## Proces uplatňovaný na vytvorenie rámca harmonizovanej metodiky

Šesť všeobecných zásad inšpirovaných príslušnými dokumentmi *Codex Alimentarius* FAO/WHO (2004), najmä zásady odberu vzoriek a testovania v medzinárodnom obchode s potravinami (CAC / GL 83-2013), sa musia dodržiavať pri navrhovaní rámca a mali by brať do úvahy základné záujmy všetkých zainteresovaných strán potravinového reťazca. Ich cieľom je vytvoriť rovnaké podmienky pre všetky zainteresované strany transparentným a spravodlivým spôsobom pre usmernenie na vypracovanie všeobecného plánu pre testovanie výrobkov:

Tabuľka 2 Zásady na uplatňovanie spoločného rámca harmonizovanej metodiky

	<p><b>Zásada 1: Transparentnosť</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Transparentné postupy umožňujú všetkým stranám fungovať otvoreným spôsobom.</li> <li>- Znižuje potenciál sporov.</li> <li>- Umožňuje efektívnu komunikáciu medzi stranami pri riešení rozdielov.</li> </ul>
	<p><b>Zásada 2: Zložky hodnotiaceho postupu</b></p> <p>Zahŕňa štyri komponenty a všetky z nich by mali byť náležite zohľadnené:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- výber produktov;</li> <li>- plán odberu vzoriek;</li> <li>- vyšetrenie / analýza vzoriek na získanie výsledkov testov;</li> <li>- kritériá, na základe ktorých sa rozhodnutie zakladá na výsledkoch.</li> </ul>
	<p><b>Zásada 3: Porovnateľnosť</b></p> <p>Náležitá pozornosť sa musí venovať výberu, odberu vzoriek a testovaniu výrobkov, aby sa zabezpečila porovnateľnosť vo všetkých fázach postupu hodnotenia.</p>
	<p><b>Zásada 4: Vhodné postupy výberu, odberu vzoriek a testovania</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Vedecky založené;</li> <li>- Vhodné pre komoditu;</li> <li>- Prispôbte sa určenému účelu a používajte dôsledne;</li> <li>- Skúšobné laboratórium akreditované pre použité metódy, ak je to možné a vhodné; ak akreditácia nie je možná, metódy musia byť aspoň potvrdené;</li> <li>- Praktické a nákladovo efektívne.</li> </ul>
	<p><b>Zásada 5: Inklúzia</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Zapája zainteresované strany (prevádzkovatelia potravinárskych podnikov, príslušné orgány, zástupcovia spotrebiteľov) konsenzom orientovaným spôsobom;</li> <li>- Prediskutovať ich spravodlivo a rovnako.</li> </ul>
	<p><b>Zásada 6: Spravodlivosť</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Výber značiek na zahrnutie do testovacích programov musí rešpektovať podiely na trhu značiek v rôznych členských štátoch bez znevýhodnenia majiteľov značiek aktívnych v niekoľkých odvetviach kategórie potravín;</li> <li>- Rešpektuje požiadavky dôvernosti, ktoré platia podľa platných právnych predpisov.</li> </ul>

## Výber výrobkov

Výber výrobkov musí byť v súlade s ustanoveniami oznámenia komisie 2017/C327/01, a to najmä v tom, že iba výrobky uvedené na trh pod „rovnakým obalom a označením“ v niekoľkých členských štátoch spĺňajú požiadavky na zaradenie do testovacieho programu bez ohľadu na rozdiely v používaní na poskytovanie informácií spotrebiteľom alebo veľkosti balenia (Nariadenie ES č. 1169/2011).

V prípade pochybností sa konzultujú s vlastníkmi značiek s cieľom overiť rovnocennosť ponúkaných výrobkov na rôznych trhoch. Počet výrobkov, ktoré sa majú testovať, zohľadňuje jednoduchosť organizovania odberu vzoriek a zložitosť analytických testov. Vytvorí sa trhový kôš výrobkov, ktorý bude pozostávať zo značkových a súkromných značiek. Ak sú k dispozícii, existujúce informácie (sťažnosti spotrebiteľov, výsledky z predchádzajúcich testovacích kampaní) sa použijú na vytvorenie zoznamu výrobkov, v ktorých boli zistené rozdiely a kde majiteľ značky neposkytol pravdepodobné vysvetlenia diferenciácie výrobkov. Tento výber sa doplní o výrobky, ktoré predtým neboli testované, ale patria do rovnakej kategórie výrobkov (napr. nealkoholické nápoje, cukrovinky atď.), pričom sa zohľadní dostupnosť a trhové podiely na rôznych trhoch. Takéto informácie sa môžu zhromažďovať z vhodných databáz alebo z priemyselných zdrojov. Cieľom tohto súboru výrobkov je zvýšiť reprezentatívnosť trhového koša, ale neumožňuje zovšeobecňovať výsledky testovacej kampane do celkového hodnotenia trhu. Porovnanie výrobkov značkových/súkromných značiek zahŕňa najmenej tri členské štáty, ktoré predstavujú vyváženú geografickú časť členských štátov EÚ. Majitelia značiek budú mať príležitosť poskytnúť ďalšie informácie týkajúce sa zloženia a senzorických vlastností vybraných výrobkov. Príslušným orgánom ostáva oprávnenie na to, aby tieto informácie zohľadnili (Európska komisia, 2018).

### **Odber vzoriek výrobkov**

Vzorkovanie výrobkov sa môže začleniť do úradných kontrolných činností za predpokladu, že je to v súlade s vnútroštátnymi právnymi predpismi.

V prípade, že to nie je možné, odber vzoriek vykonávajú kontrolné orgány navrhnuté príslušnými vnútroštátnymi orgánmi alebo poskytovateľmi služieb, ak v prípade druhého z nich môže byť vylúčený potenciálny konflikt záujmov. Vo všetkých prípadoch sa odber vzoriek bude riadiť prísnyimi pravidlami, ktoré poskytne organizátor kampane na odber vzoriek a testovanie.

Organizátor štúdie vypracuje vzorový protokol na zaznamenávanie príslušných údajov s cieľom zabezpečiť sledovateľnosť výrobkov.

Musí sa zhromaždiť dostatočný počet maloobchodných jednotiek, aby bolo k dispozícii dostatočne veľké množstvo vzoriek na vykonanie predpokladaných testov (chemické testovanie a senzorická analýza).

Odber vzoriek sa uskutočňuje v maloobchodných predajniach; avšak nesprávna preprava, manipulácia a skladovanie počas maloobchodu môže mať negatívny vplyv na citlivé výrobky. V prípade, že senzorické testy poukazujú na rozdiely medzi zdanlivo identickými výrobkami, ktoré nemožno vysvetliť rozdielmi v zložení výrobku, druhá vzorka z rovnakej značky sa musí odoberať pri inej príležitosti a mieste. V prípade, že druhá vzorka vedie k rovnakému rozdielu, konzultuje sa s majiteľom značky a má možnosť poskytnúť vzorky odobraté v skoršom štádiu dodávateľského reťazca (výroba) na opätovné testovanie.

Opätovné odobratie vzoriek sa vykoná vtedy, aby sa zistilo, či existujú rozdiely medzi výrobnými dávkami ponúkanými na tom istom trhu. Organizátori štúdie si však musia uvedomiť, že toto opatrenie výrazne zvyšuje úsilie potrebné na testovanie, najmä pre senzorickú analýzu.

Do vzorky a testovacej kampane sa zahrnú iba vzorky s podobnou trvanlivosťou (najlepšie dátumy/dátumy použitia), aby sa zabezpečila porovnateľnosť výsledkov skúšok. Ako referenčná hodnota sa najvyššie dátumy/dátumy spotreby nachádzajú v rámci výberu vzorky v rozpätí 20 %; testovanie sa vykoná v rámci uvedenej trvanlivosti v tom istom časovom bode.

Ak sú výrobky rýchlo podliehajúce skaze zahrnuté do programu odberu vzoriek a testovania, musí sa za vhodných podmienok zabezpečiť manipulácia, preprava a skladovanie



vzoriek. Realizovateľnosť začlenenia takýchto výrobkov sa musí starostlivo zväziť vo fáze plánovania odberovej a testovacej kampane (Európska komisia, 2018).

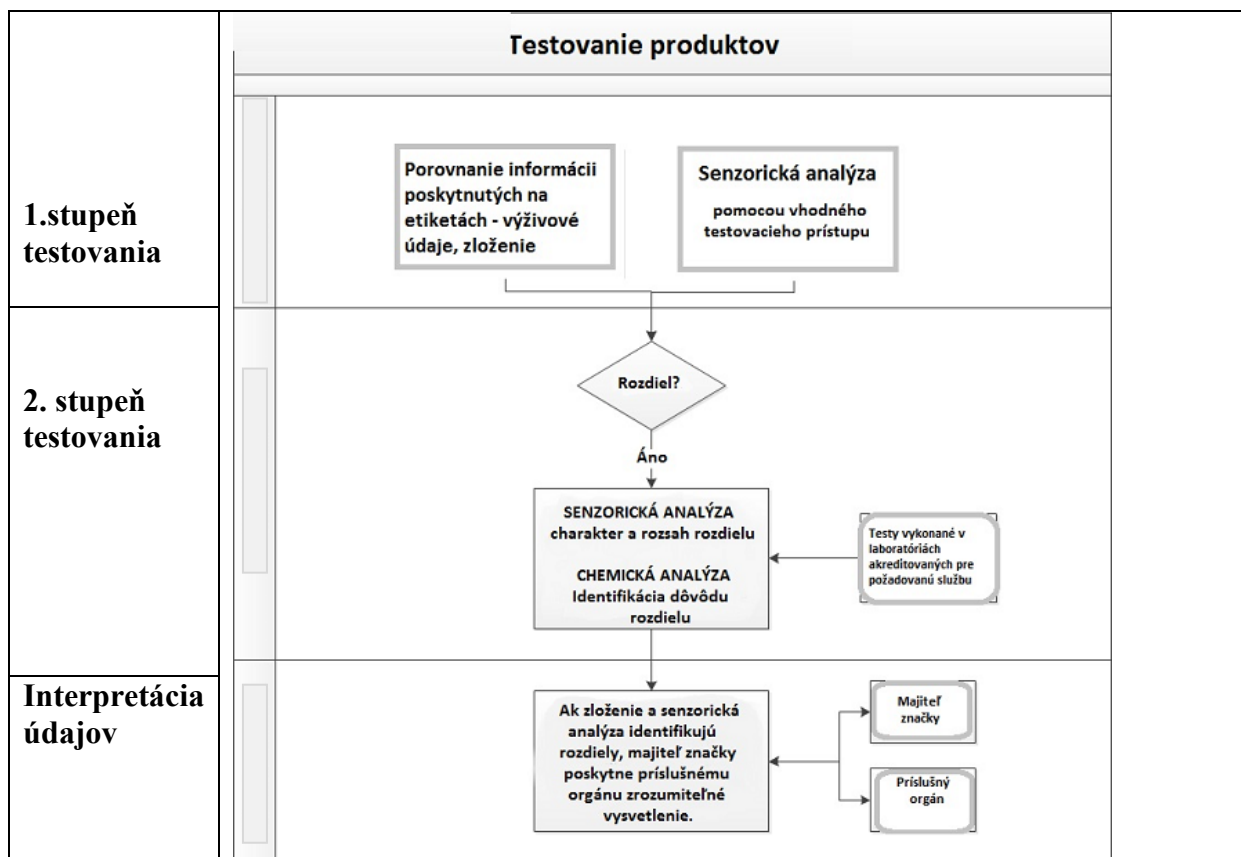
### TESTOVANIE VÝROBKOV

Testovanie výrobkov sa vykonáva porovnaním informácií poskytnutých na etikete (výživové označenie a zoznam zložiek) a senzorickou analýzou (stupeň 1).

V prípade zistenia rozdielu v zložení alebo zmyslových charakteristikách sa vzorky podrobia stupni 2, kde sa vykonajú ďalšie chemické alebo senzorické testy na potvrdenie zistenia triedy 1. V prípade potvrdenia týchto rozdielov má majiteľ značky možnosť reagovať a vysvetliť dôvody diferenciacie produktu.

Chemické testovanie na odhadnutie množstva zložky a / alebo jej kvalitatívnych charakteristík je s niekoľkými výnimkami ťažké. Existujú chemické markery pre niekoľko zložiek (kyselina mliečna pre mliečny tuk a teobromín pre kakaové tuhé látky), ktorá sa môže použiť na odhadnutie množstva zložky v potravinovom výrobku. Ak je to vhodné a uskutočniteľné, takéto metódy sa môžu použiť počas testovania na úrovni 2.

Ak sa organizátor odberovej a skúšobnej kampane rozhodne požadovať chemickú analýzu produktov, takéto analýzy sa vykonávajú v laboratóriách akreditovaných podľa ISO 17025 s použitím vhodných metód, ktoré sú v rozsahu ich akreditácie vždy, keď je to možné (Európska komisia, 2018).



Obrázok 2 Postup testovania výrobkov

## SENZORICKÁ ANALÝZA VÝROBKOV

Senzorická analýza sa vykoná štandardizovanými metódami, ktoré vykonávajú členovia panelov, ktorí boli vyškolení tak, aby zodpovedali požiadavkám použitého senzorického testu.

Hlavným účelom senzorického testovania výrobkov je poukázať:

- či existuje rozdiel medzi výrobkami;
- aký je charakter rozdielu;
- rozsah rozdielu.

Skúšky diskriminácie, napr. trojuholníkový test, sú vhodné na porovnávanie výrobkov z dvoch rôznych členských štátov (dvojstranné porovnanie), zatiaľ čo pri porovnávaní výrobkov z viac ako dvoch členských štátov (mnohostranné porovnanie) sú potrebné iné skúšobné metódy.

Multilaterálne senzorické porovnanie daného výrobku musí byť vykonané jediným panelom na zabezpečenie porovnateľnosti výsledkov testovania; na testovanie rôznych kategórií výrobkov sa však môžu použiť rôzne panely.

Senzorické profilovanie (popisná analýza) je najvhodnejšou technikou na vytváranie multilaterálnych porovnaní. Výsledok takýchto testov by informoval o tom, ktoré výrobky sú odlišné, určil by povahu rozdielu, a ak je správne naplánované a vykonané, ohodnotí sa rozsah rozdielu. Takéto testy môžu vykonávať len odborníci vyškolení na posúdenie konkrétneho výrobku alebo typu výrobku a počet vzoriek, ktoré sa majú porovnať, je obmedzený, maximálne však 10.

Výber konkrétnej metódy senzorického testovania zohľadní jeho účinnosť a účinnosť z hľadiska vedeckej primeranosti, uskutočniteľnosti a nákladov (Európska komisia, 2018).

### Interpretácia údajov

V prípade, že zloženie (vyhlásenie o výživných látkach, zoznam zložiek, chemické testovanie) a senzorická analýza výrobku ponúkaného pod rovnakou značkou a balením sa značne líšia, musí sa prekonzultovať s majiteľom značky, aby vysvetlil pozorované rozdiely.

Po tejto konzultácii môžu orgány potom rozhodnúť od prípadu k prípadu, že pristúpia k preskúmaniu prípadných nekalých obchodných praktík.

## ZÁVER

Harmonizovaná metodika testovania vypracovaná Generálnym riaditeľstvom pre spoločné výskumné centrum v úzkej spolupráci a po dohode so všetkými zainteresovanými stranami (výrobcovia, maloobchodníci, úradné kontrolné orgány a spotrebiteľské organizácie) sa bude uplatňovať pri navrhovaní a organizovaní porovnávacieho testovania potravinárskych výrobkov zakúpených v reprezentatívnom číslе členských štátov EÚ. Toto testovanie musí poskytnúť objektívne dôkazy o tom, či existujú rozdiely v kvalitatívnych charakteristikách značkových potravín.

Generálne riaditeľstvo spoločného výskumného centra bude dohliadať na tento proces a podá správu o výsledkoch na jar v roku 2019. Prieskum poskytne dôkazy o podobnosti prezentácie a balenia výrobkov získaných na rôznych trhoch, ktoré možno použiť na zdôvodnenie významu „zdanlivo identických“ výrobkov uvedených na trh.

Výsledok navyše umožní rozhodnúť, v akom rozsahu môže byť rozdiel v zložení výrobku alebo v zmyslovom vnímaní považovaný za významný. „Význam“ rozdielu v zložení alebo zmyslových vlastnostiach výrobku je kľúčovým prvkom navrhovanej zmeny v rámci novej dohody o spotrebiteľoch, ktorej cieľom je poskytnúť väčšiu právnu jasnosť pre príslušné orgány na presadzovanie právnych predpisov o právach spotrebiteľov v členských štátoch.

## LITERATÚRA

COMMUNICATION FROM THE COMMISSION TO THE EUROPEAN PARLIAMENT, THE COUNCIL AND THE EUROPEAN ECONOMIC AND SOCIAL COMMITTEE A New Deal for Consumers, COM/2018/0183 final. This harmonised framework is referred to in Recital (42) of the Commission proposal 2018/0090 (COD) to amend inter alia Directive 2005/29/EC on Unfair Commercial practices.

Regulation (EU) No 1169/2011 of the European Parliament and of the Council of 25 October 2011 on the provision of food information to consumers

Food safety and quality in Europe: aspects concerning in particular quality, nutritional balance, the importance of agricultural land and cultural heritage ("terroirs"). Twenty-fourth FAO Regional Conference for Europe, Montpellier, France, 5-7 May 2004 (<http://www.fao.org/docrep/MEETING/007/J1875e.HTM>)

Klaus G. Grunert. 2005. Food quality and safety: consumer perception and demand. *European Review of Agricultural Economics*. 32:369-391

Vranešević T., Stančec, R. 2003. The effect of brand on perceived quality of food products. *British Food Journal* 195: 811–825

Brunso K., Ahle Fjord T., Grunert K.G. 2002. Consumers' food choice and quality perception. The Aarhus School of Business, Working paper no 77, ISSN 0907 2101

Consumers' Choice '11. GfK Panel Services Deutschland und Bundesvereinigung der Deutschen Ernährungsindustrie e. V. <https://www.bve-online.de/presse/infothek/publikationen-jahresbericht/consumers-choice2011>

Special Eurobarometer 389: Europeans' attitudes towards food security, food quality and the countryside (2012) [http://ec.europa.eu/commfrontoffice/publicopinion/archives/ebs/ebs\\_389\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/commfrontoffice/publicopinion/archives/ebs/ebs_389_en.pdf)

Regulation (EC) No 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety

Directive 2005/29/EC of the European Parliament and of the Council of 11 May 2005 concerning unfair business-to-consumer commercial practices in the internal market

Also see the Commission Staff Working Document – Guidance on the Implementation/application of Directive 2005/29/EC on Unfair Commercial Practices (SWD(2016) 163 final).

Commission Notice on the application of EU food and consumer protection law to issues of Dual Quality of products — The specific case of food (2017/C 327/01)

**Pod'akovanie:** „Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-17-0508“.

**Kontaktná adresa:** Ing. Jozef Čapla, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: [jozef.capla@uniag.sk](mailto:jozef.capla@uniag.sk)

# VYSLEDOVATEĽNOSŤ POTRAVÍN DNA ČIAROVÝM KÓDOM FOOD TRACEABILITY WITH DNA BARCODING

*Jozef Čapla, Peter Zajác, Jozef Golian, Alica Bobková, Marek Šnirc*

**Abstract:** Agricultural products are subjected to strong processing and manufacturing before they are released as final products to the consumer. These processes alter the plant structure, thereby impeding the use of morphological characters to identify most of the agricultural products. To overcome this limit, the analysis of proteins and/or DNA is nowadays used as the main tool for plant traceability. However, although chemical or protein-based approaches are useful in characterizing the composition of fresh products, these methods can be biased by several factors such as the strong food manufacturing processes, the limited number of detectable isozymes, or the high tissue and developmental stage specificity of the markers. DNA markers are more informative than protein or chemical based methods because DNA better resists industrial processes such as shredding, boiling, pressure cooking, or transformations mediated by chemical agents (see, e.g.). DNA barcoding is a widely used molecular-based system, which can identify biological specimens, and is used for the identification of both raw materials and processed food. The use of DNA barcoding for food safety and in the identification of commercial fraud is also discussed.

**Keyword:** DNA barcoding, food safety, food traceability

## ÚVOD

Vysoko kvalitné suroviny sú základom pre výrobu potravín s adekvátnou výživovou hodnotou a želanou chuťou (Konczak a Rouille, 2011, Pereira et al., 2011). Potravinársky priemysel vyvinul niekoľko technologických procesov (napr. mikrofiltrácia, tepelné spracovanie) a biotechnologických procesov (napr. fermentačných) na zachovanie a zlepšenie senzorických vlastností svojich výrobkov. Kontrola kvality a bezpečnosti potravín sa robí prostredníctvom rôznych laboratórnych testov, ktoré predstavujú povinný východiskový bod pre správny systém sledovateľnosti potravín. Orgány úradnej kontroly potravín jednotlivých členských štátov majú rôzne národné právne predpisy a smernice pre výrobu a konzervovanie potravín alebo nariadenia, ako je napríklad Nariadenie ES č.178/2002, zatiaľ čo vymedzenie toho, ktoré testy by sa mali použiť pri hodnotení kvality a bezpečnosti potravín, je zodpovednosťou niekoľkých nezávislých Európskych potravinových bezpečnostných autorít. Overenie pravosti potravín sa opiera najmä o analýzu proteínov a/alebo DNA sekvencií. Metódy na stanovenie proteínov zahŕňajú imunologické testy, elektroforetické a chromatografické techniky, ako je HPLC a TLC. Vďaka nedávnomu pokroku molekulárnej biológie sa markery DNA stali najefektívnejším nástrojom pri analýze DNA rastlinných kultivarov a plemien zvierat a tiež sa používajú na sledovanie surovín v procesoch potravinárskeho priemyslu. Kumar et al. (2018) zadefinovali požiadavky na používanie čiarového kódovania DNA ako univerzálneho nástroja pre vysledovateľnosť potravín.

### Z molekulárnych prístupov k čiarovému kódu DNA

Vo všeobecnosti metódy založené na DNA používajú ako markery špecifické sekvencie DNA a môžu byť rozdelené na

- a) markery na báze hybridizácie a
- b) markery na báze polymerázovej reťazovej reakcie (PCR).

Metódy založené na PCR sú mimoriadne citlivé, často rýchlejšie ako iné technológie a sú široko používané v poľnohospodárstve a zootechne (Doulaty Baneh et al., 2007). V posledných rokoch sa v oblasti sledovateľnosti a bezpečnosti potravín široko používa PCR-denaturačná gradientová gélová elektroforéza (PCR-DGGE) s cieľom charakterizovať

baktérie a kvasinky vo fermentovaných produktoch (Dalmacio et al., 2011, Zheng et al., 2012). Použitím tejto techniky je kompozícia mikroorganizmu definovaná na základe migračného modelu fragmentov PCR patriacich do špecifických genómových oblastí, ako je 16S a 26S rDNA (El Sheikha et al., 2009). PCR-DGGE sa tiež používa na monitorovanie kontaminácie baktériami v potravinových produktoch, ako sú fermentované nápoje (Hosseini et al., 2012, El Sheikha et al., 2011, El Sheikha et al., 2012, Le Nguyen et al., 2008).

Výber najvhodnejšieho molekulárneho prístupu závisí od rôznych aspektov vrátane množstva genetických variácií analyzovaných druhov, času potrebného na analýzu, pomeru nákladov, účinnosti a odbornosti laboratórií. Okrem toho genomické techniky vyžadujú dodržiavanie laboratórnej práce s vysoko kvalitnou DNA, pretože ich účinnosť môže byť negatívne ovplyvnená zmenenou alebo fragmentovanou DNA.

Pokiaľ ide o systémy založené na sekvenciách, v súčasnosti sa z veľkej časti používajú v dôsledku ich vysokej úrovne polymorfizmu a vysokej reprodukovateľnosti jediné nukleotidové polymorfizmy a opakovanie jednoduchých sekvencií (Kumar et al., 2018). Tieto prístupy sa používajú pri identifikácii rastlinných kultivarov a plemenách zvierat a na zabránenie podvodným komerčným aktivitám (Chuang et al., 2011). Keďže tieto prístupy sú veľmi špecifické pre jednotlivé druhy, vyžadujú prístup k správnej sekvencii DNA organizmov (napr. kmeňov/odrôd alebo ekotypov) a ich aplikácia je často obmedzená na jediný taxón alebo na úzko súvisiace taxóny.

Nedostatok štandardizácie a univerzálnosti je najdôležitejším problémom prístupov založených na DNA. V roku 2003 vyvinuli výskumní pracovníci na Univerzite Guelph (Kanada) nový identifikačný systém - DNA čiarový kód. Tento prístup je založený na analýze variability v štandardnej oblasti genómu nazývanej „DNA čiarový kód“. Tento prístup sa ukázal ako užitočný pri riešení taxonomických problémov v niekoľkých teoretických a praktických aplikáciách (Hollingsworth et al., 2011). V striktnom zmysle DNA kódovanie nie je úplne inovatívne, pretože prístupy molekulárnej identifikácie sa už používajú. Má však tú výhodu, že spája tri dôležité inovácie:

- a) molekulácia procesov identifikácie (t.j. skúmanie variability DNA na rozlišovanie medzi taxónmi),
- b) štandardizáciu postupu (od odberu vzoriek po analýzu molekulárnych výstupov) a
- c) automatizáciu (Casiraghi et al., 2010).

Ideálny čiarový kód DNA vyžaduje dve základné charakteristiky: vysoké taxonomické pokrytie a vysoké rozlíšenie. Vysoké taxonomické pokrytie sa týka správnej amplifikácie genómovej oblasti vybranej ako DNA čiarový kód v najširšom paneli taxónov. Na druhej strane, vysoké rozlíšenie zaisťuje identifikáciu rôznych taxónov založených na medzidruhových rozdieloch v sekvenciách čiarových kódov DNA. Ako všeobecný princíp by oblasti „DNA čiarového kódu“ mali mať vysokú medzidruhovú a nízku intraspecifickú variabilitu.

### **DNA čiarový kód na identifikáciu a certifikáciu potravinárskych surovín**

Identifikácia organizmov je základom pre zabezpečenie vysokej kvality pre potravinársky priemysel a trh (Myers, 2011). DNA čiarové kódovanie je účinné pri osvedčovaní pôvodu a kvality surovín a pri odhaľovaní falšovania (napr. zmiešaním produktov z rôznych taxónov), ktoré sa vyskytujú v priemyselnom potravinovom reťazci. Jeho výkonnosť je však silne ovplyvnená molekulárnou variabilitou organizmov a vysoká úroveň rozlíšenia je dosiahnutá vtedy, keď organizmus má nízky intraspecifický polymorfizmus, čo ho robí dobre odlíšiteľným od úzko súvisiacich taxónov (Casiraghi et al., 2010).

Ďalším kritickým prvkom môže byť dostupnosť vysokokvalitných úložísk referenčných sekvencií. Z tohto dôvodu bol počas posledných rokov predložený veľký počet sekvencií čiarových kódov DNA zo zvierat a rastlín (vrátane farmových druhov) do databáz NCBI i BOLD ([www.barcodeoflife.org](http://www.barcodeoflife.org)) podľa usmernení poskytovaných databázou ([http://barcoding.si.edu/PDF/DWG\\_data\\_standards-Final.pdf](http://barcoding.si.edu/PDF/DWG_data_standards-Final.pdf)).

### **Vysledovateľnosť morských plodov a rýb**

DNA kódovanie bolo preukázané ako mimoriadne účinné pri vysledovateľnosti morských živočíchov (Becker et al., 2011). Termín „morské plody“ sa zvyčajne používa na označenie jedlých foriem vodných živočíchov, vrátane rýb, mäkkýšov, kôrovcov a ostnokožcov, ktoré sú dostupné na trhu ako celé organizmy alebo ako spracované výrobky. Druhy morských plodov sú všeobecne identifikované podľa ich oblasti pôvodu a niekoľkých morfológických deskriptorov. Zvýšený dopyt po morských plodoch a globalizácia trhu však sťažili kontrolu nad obchodnými cestami a systémami priemyselného spracovania (t.j. skladovacie systémy, mrazenie, sušenie). Okrem toho sa na trh zaviedlo niekoľko nových druhov. Niekedy tieto „nové ryby“ majú rovnaký obchodný názov ako organizmy, ktoré boli predtým na trhu, ale nezodpovedajú rovnakému druhu. Môžu mať tiež rôzne výživové hodnoty a/alebo môžu byť potenciálne antigénne (Barbuto et al., 2010).

Kódovanie čiarových kódov DNA je úspešné pri použití na morských plodoch, pretože:

- 1) v porovnaní s inými živočíšnymi zdrojmi (napr. hovädzí dobytok, ovce, kozy, kone) je počet druhov vyšší, takže účinnosť tejto techniky je zvýšená;
- 2) klasické prístupy na identifikáciu nie sú v mnohých prípadoch užitočné, najmä pri spracovaných potravinách.

Niektorí vedci diskutovali o možnosti kódovania čiarových kódov DNA ako forenzného nástroja pre vysledovateľnosť konzumných rýb (Barbuto et al., 2010). DNA čiarové kódovanie sa ukázalo ako účinné aj pri sledovaní morských živočíchov po ich priemyselnom spracovaní. Niektoré druhy vyžadujú len primárne spracovanie, ako je zmrazenie čerstvých rýb, čím sa zachovávajú morfológické znaky užitočné na presnú identifikáciu. Ak sa však vyžaduje komplexný výrobný proces (t.j. chladené, mrazené a konzervované výrobky pre maloobchody a stravovacie prevádzky) alebo v prípade rýb predávaných v častiach (napr. steaky, bloky, surimi), klasická identifikácia procesov nie je účinná a kódovanie čiarovou DNA môže byť užitočné na získanie identifikácie. Na potvrdenie potenciálneho použitia tejto techniky sú potrebné podrobnejšie štúdie na všetkých druhoch morských plodov ako spoľahlivého „nástroja sledovateľnosti“ (Hubalková a Renčová, 2011).

### **DNA čiarové kódovanie a sledovateľnosť mäsa**

Mäso zvyčajne podlieha dlhým výrobným a distribučným reťazcom, čo si vyžaduje riadne systémy sledovateľnosti. Patológie týkajúce sa mäsa (napr. BSE, vtáčia chrípka) a nesprávne praktiky niektorých výrobcov zvýšili povedomie verejnosti o pôvode a kvalite mäsa. Preto je potrebné vymedziť presné a spoľahlivé metódy na určenie zloženia potravín obsahujúcich mäso okrem použitia etikiet, ktoré neposkytujú dostatočné záruky o skutočnom obsahu výrobku. Tieto nové metódy by mali chrániť spotrebiteľov i výrobcov pred podvodmi alebo nezákonného obchodovania. Boli vyvinuté rôzne prístupy založené na DNA pre sledovateľnosť mäsa, ako je PCR-RFLP, druhovo špecifické PCR a PCR sekvenovanie (Mane et al., 2016).

Kriticky by sa mali zhodnotiť vzťahy medzi sekvenciami kódovania čiarových kódov DNA a názvami druhov, pretože obchodný názov mäsového výrobku by sa mohol vzťahovať na rôzne molekulové jednotky. Napríklad Ludt, Schroeder, Rottmann a Kuehn

(2004) jednoznačne preukázali konzistentné molekulárne rozdiely v druhu *Cervus elaphus*. V dôsledku toho je potrebné identifikovať jeleňové mäso s dvoma odlišnými sekvenciami DNA zodpovedajúcimi *Cervus canadensis* (vyskytujúcemu sa v Ázii a Severnej Amerike) a *C. elaphus* (obývajúci Európu). Podobná situácia sa vyskytovala u anglických a amerických plemien moriek (*Meleagris gallopavo*), ktoré vykazovali konzistentné genetické rozdiely.

Existuje aj niekoľko prípadov druhov alebo plemien s rovnakým profilom DNA. V tomto prípade by prístup kódovania čiarovou DNA nebol schopný vrátiť správnu identifikáciu, a preto by nebolo možné sledovať niektoré mäsové výrobky. Tento jav, vzhľadom na hybridizáciu, ktorý produkuje genetickú introgresiu, je bežný u hospodárskych zvierat. Hovädzí dobytok je toho typickým príkladom (Kikkawa et al., 2016).

### **DNA čiarové kódovanie mliečnych výrobkov: potenciálna aplikácia**

Mliečne výrobky sú všeobecne definované ako potraviny vyrobené z mlieka cicavcov. Vzhľadom na hospodársky význam, riziko alergií a náboženských praktík súvisiacich s touto kategóriou výrobkov, je prvoradou otázkou vývoj techník na posúdenie autenticity a falšovania mliečnych potravín. Použitie molekulárnych nástrojov na charakterizáciu a sledovanie mliečnych výrobkov získava veľké akceptovanie, aj keď neexistujú žiadne štúdie založené na striktnom prístupe k čiarovému kódu DNA. Avšak druhovo špecifická PCR ukázala spoľahlivú metódu na kontrolu autenticity tejto kategórie potravín, pretože špecifická cieľová sekvencia (napr. 12S rRNA, 16S rRNA, *cytb*) môže byť detegovaná v matriciach obsahujúcich skupinu heterogénnej genómovej DNA, ako je mlieko. Aplikáciou týchto molekulárnych nástrojov existuje možnosť odhaliť falšovanie mlieka vyššej hodnoty nedeklarovaným kravským mliekom alebo vynechanie deklarovaného mliečneho druhu.

Celkovo je potrebné dosiahnuť presnú charakterizáciu kvality mliečnych výrobkov, je potrebný viacúrovňový molekulárny prístup. Najmä techniky DNA podobného čiarového kódu sú užitočné pri poskytovaní spoľahlivej charakterizácie zloženia surového mlieka, zatiaľ čo iné prístupy, ako je PCR-DGGE, môžu byť užitočné na posúdenie mikrobiálnej kompozície a pôvodu spracovaných mliečnych produktov (Arcuri et al., 2013).

### **DNA čiarové kódovanie jedlých druhov rastlinných plodín**

Spoľahlivé označenie druhov plodín, ako aj ich pôvod a sledovateľnosť sú kľúčovými prvkami v oblasti bezpečnosti potravín. V posledných 20. rokoch bolo testovaných niekoľko PCR-metód na niekoľkých odrodách rastlín, ako je ryža, kukurica, cirok, jačmeň, raž. Tieto metódy sú užitočné pre výrobcov, ktorí majú záujem chrániť a certifikovať svoje plodiny a spotrebiteľia, ktorí majú záujem o kvalitu a pôvod potravín. Rastúca difúzia geneticky modifikovaných (GM) plodín ďalej zvyšuje dopyt po molekulárnych technikách na sledovanie transgénov. V posledných rokoch bol vyvinutý multiplexný DNA mikromaticový čip na súčasnú identifikáciu GMO na základe predpisov rôznych krajín, ako aj podobné systémy venované identifikácii rastlinných druhov a kultivarov (Agrimonti et al., 2011).

Bruni et al. (2010) vyhodnotili účinnosť čiarového kódovania DNA pri oddeľovaní toxických látok od jedlých druhov, čo dokazuje jasné molekulárne rozlíšenie medzi kultivovanými druhmi rodov *Solanum* (*Solanum tuberosum* L., skupina *Solanum lycopersicum* L.) a *Prunus* (*Prunus armeniaca* L., *Prunus avium* L., *Prunus cerasus* L., *Prunus domestica* L.) a ich toxické kongeniká. Táto štúdia naznačuje, že čiarové kódy DNA môžu byť použité na rozlíšenie jedlých druhov od toxických.

V dnešnej dobe neexistujú žiadne technické obmedzenia na aplikáciu čiarového kódovania DNA na vysledovateľnosť rastlinných surovín. Znížená genetická rozmanitosť na úrovni kultivaru však často vyžaduje analýzu veľkých častí genómu, ktoré majú v súčasnosti príliš vysoký pomer nákladov a účinnosti, ktorý sa má široko používať (Costa et al., 2012).

## **DNA čiarové kódovanie ako nástroj sledovateľnosti počas priemyselného spracovania potravín**

„Ideálny“ systém vysledovateľnosti sa riadi „históriou“ výrobku od jeho vzniku až po jeho použitie, berúc do úvahy všetky transformačné a komercializačné kroky. Molekulárne systémy identifikácie a vysledovateľnosti boli vyvinuté na prácu so surovinami. Avšak semená, ovocie a rôzne rastlinné a živočíšne časti sú transformované do potravín s určitým tvarom, chuťou a vôňou, fyzikálnym (t.j. tepelnou úpravou) alebo chemickým spracovaním (t.j. prídavkom konzervačných látok, umelých sladidiel), ktoré by mohli zmeniť štruktúru DNA. Z tohto dôvodu môže byť použitie identifikačných techník založených na DNA (medzi ktorými je kódovanie DNA) na transformovaných komoditách neúčinné z dôvodu úrovne degradácie DNA a súčasnej prítomnosti niekoľkých genómov patriacich k rôznym organizmom (Hellberg a Morrissey, 2011).

### **Integrita DNA počas priemyselného spracovania potravín**

Spracovanie potravín spôsobuje chemické a fyzikálne zmeny, najčastejšími prejavmi sú degradácia a fragmentácia. Aslan, Hamill, Sweeney, Reardon a Mullen (2009) zistili, že jadrová DNA je menej konzervovaná ako mitochondriálna DNA vo varenom mäse. Analýza rôznych oblastí mtDNA môže byť účinná pri identifikácii hovädzieho, ovčieho a bravčového mäsa aj po uvarení alebo smažení. Niektoré problémy boli dokázané pri získavaní čiarových kódov DNA z konzervovaných rýb. V týchto prípadoch sa použitie kratších sekvencií čiarových kódov považovalo za vhodný výber, ak je obmedzené na účely sledovateľnosti. Podobne ako s mtDNA, plastidový genóm je konzervovaný vo väčšine spracovaných potravín získaných z rastlín. DNA kódovanie bolo použité na identifikáciu rôznych aromatických druhov po priemyselnom sušení a drvení (De Mattia et al., 2011). DNA markery čiarového kódu boli tiež efektívne použité na identifikáciu komerčného čaju (Stoeckle et al., 2011), ovocných druhov v jogurte, pyrú, čokolády, sušienok atď. (Sakai et al., 2010). Pre analýzu rôznych potravinových matric by sa preto mohol použiť prístup DNA čiarového kódovania, pričom jeho hlavnými obmedzeniami sú:

- a) úroveň degradácie DNA;
- b) vývoj spoľahlivých metód na extrakciu DNA a
- c) efektívnosť rôznych metód čiarového kódu (Hellberg a Morrissey, 2011).

### **ZÁVER**

Bezpečnosť potravín je spájaná s chemickou a mikrobiologickou bezpečnosťou suroviny. Ďalšie dôležité aspekty zahŕňajú hygienické postupy prijaté počas spracovania a distribúcie konečných produktov. Niekoľko nariadení, ako napríklad Nariadenie ES č. 178/2002, obsahuje hlavné predpoklady a pravidlá týkajúce sa bezpečnosti potravín vo všeobecnosti a orgánov zapojených do postupov kontroly potravín. Ďalšie nariadenia sa zameriavajú na podrobnejšie aspekty potravinárskeho priemyslu, ako sú produkty rybolovu a akvakultúry (EC/1420/2013). V súčasnosti existuje niekoľko mikrobiologických testov na detekciu baktérií v surovinách a potravinách. Negatívne účinky na ľudské zdravie by mohli tiež vyplynúť z náhodnej alebo úmyselnej náhrady morských druhov druhými, ktoré nie sú zahrnuté do vnútroštátnych alebo medzinárodných predpisov. Ako príklad možno uviesť, že Nílsky ostriež (*Lates niloticus*), ktorý podlieha obchodným obmedzeniam, sa často používa ako náhrada za iné ryby alebo niekoľko ďalších druhov. V takýchto prípadoch, okrem zjavných ekonomických dôsledkov, by náhrady mohli spôsobiť zdravotné riziká. Nílsky ostriež z afrických riek je kontaminovaný metylortuťou a inými znečisťujúcimi látkami.

DNA čiarové kódovanie ukázalo vysokú účinnosť pri hodnotení prítomnosti alergénnych druhov v čerstvom i spracovanom porkme. Orechy sú považované za jeden z hlavných zdrojov alergénov a ich prítomnosť v potravinách (aj v stopách) je zistiteľná



molekulárnou analýzou založenou na rôznych markeroch vrátane DNA čiarových kódov (napr. *MatK*). Mandle (*Prunus dulcis*), ktoré sa vďaka svojej príjemnej chuti bežne používajú v niekoľkých potravinových výrobkoch (pečivo, cukrovinky a pod.), sú tiež potenciálne alergénne. V tomto prípade sa rozlišujú stopy mandľovej DNA z iných kogeneračných jedlých druhov, ako je čerešňa (*P. cerasus*), slivka (*P. domestica* L.) a broskyňa (*Prunus persica*), ktoré by mohli byť problémom. Analýzy uskutočnené na plastidovom genóme týchto kognitívnych druhov však dokázali niektoré rozdiely, ktoré sa dajú použiť pri identifikácii.

Identifikácia alergénneho materiálu je jednou z najzaujímavejších aplikácií kódovania čiarových kódov DNA. Môže sa použiť na splnenie požiadaviek FAO a Európskej komisie, ktoré uvádzajú zoznam alergénnych druhov, ktoré sa musia deklarovat' na etiketách potravín. DNA čiarové kódovanie sa môže použiť ako univerzálny nástroj na sledovanie potravín. Aj keď z technického hľadiska nie je úplne inovatívny, v priebehu niekoľkých rokov sa stal široko používaným. Bolo to zabezpečené kombináciou nasledovných faktorov:

- a) pokles nákladov na molekulárne analýzy;
- b) rastúca dostupnosť vybavenosti laboratórií a kvalifikovaných pracovníkov;
- c) prítomnosť voľne dostupných webových zdrojov;
- d) rastúci počet informovaných spotrebiteľov, ktorí vyžadujú vysokú úroveň kvality a bezpečnosti v potravinárskych výrobkoch.

Vďaka svojej univerzálnosti môže byť čiarové kódovanie DNA použité v rôznych kontextoch. Medzinárodné agentúry alebo inštitúcie, ktoré sú zodpovedné za kontrolu kvality a bezpečnosti surovín alebo potravinových komodít, môžu spolupracovať prostredníctvom výmeny svojich údajov, a tak vytvárať referenčné databázy pre spotrebiteľov, ktorých nedostatok je jediným skutočným limitom metódy. V skutočnosti, zatiaľ čo niektoré skupiny organizmov (napr. ryby) sú dobre zastúpené, je potrebných množstvo údajov na poskytnutie spoľahlivého zdroja referenčných údajov o čiarovom kódovaní DNA pre skupiny, ktoré sú nedostatočne preskúmané. Z tohto dôvodu sa v blízkej budúcnosti DNA kódovanie pravdepodobne stane rutinným testom v mnohých oblastiach a najmä v kontrole kvality a bezpečnosti potravín a aj výsledovateľnosti.

## LITERATÚRA

- Agrimonti, C., Vietina, M., Pafundo, S., & Marmioli, N. 2011. The use of food genomics to ensure the traceability of olive oil. *Trends in Food Science and Technology*, 22, 237–244.
- Arcuri, E. F., El Sheikha, A. F., Rychlik, T., Piro-Métayer, I., & Montet, D. 2013. Determination of cheese origin by using 16S rDNA fingerprinting of bacteria communities by PCR-DGGE: Preliminary application to traditional Minas cheese. *Food Control*, 30, 1–6.
- Aslan, O., Hamill, R. M., Sweeney, T., Reardon, W., & Mullen, A. M. 2009. Integrity of nuclear genomic deoxyribonucleic acid in cooked meat: Implications for food traceability. *Journal of Animal Science*, 87, 57–61.
- Barbuto, M., Galimberti, A., Ferri, E., Labra, M., Malandra, R., Galli, P., et al. 2010. DNA barcoding reveals fraudulent substitutions in shark seafood products: The Italian case of “palombo” (*Mustelus* spp.). *Food Research International*, 43, 376–381.
- Becker, S., Hanner, R., & Steinke, D. 2011. Five years of FISH-BOL: Brief status report. *Mitochondrial DNA*, 22, 3–9.
- Bruni, I., De Mattia, F., Galimberti, A., Galasso, G., Banfi, E., Casiraghi, M., et al. 2010. Identification of poisonous plants by DNA barcoding approach. *International Journal of Legal Medicine*, 124, 595–603.
- Casiraghi, M., Labra, M., Ferri, E., Galimberti, A., & De Mattia, F. 2010. Dna barcoding: A six-question tour to improve users' awareness about the method. *Briefings in Bioinformatics*, 11, 440–453.
- Chuang, H., Lur, H., Hwu, K., & Chang, M. 2011. Authentication of domestic Taiwan rice varieties based on fingerprinting analysis of microsatellite DNA markers. *Botanical Studies*, 52, 393–405.
- Costa, J., Mafra, I., Carrapatoso, I., & Oliveira, M. P. 2012. Almond allergens: Molecular characterization, detection, and clinical relevance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 1337–1349.
- Dalmacio, L. M., Angeles, A. K., Larcia, L. L., Balolong, M. P., & Estacio, R. C. 2011. Assessment of bacterial diversity in selected Philippine fermented food products through PCR-DGGE. *Beneficial Microbes*, 2(4), 273–281 (1).
- De Mattia, F., Bruni, I., Galimberti, A., Cattaneo, F., Casiraghi, M., & Labra, M. 2011. A comparative study of different DNA barcoding markers for the identification of some members of Lamiaceae. *Food Research International*, 44, 693–702.
- Doulaty Baneh, H., Grassi, F., Mohammadi, A., Nazemich, A., De Mattia, F., Imazio, S., et al. 2007. The use of AFLP and morphological markers to study Iranian grapevine germplasm to avoid genetic erosion. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 82, 745–752.

- El Sheikha, A. F., Bouvet, J. -M., & Montet, D. 2011a. Biological bar-code for the determination of geographical origin of fruits by using 28S rDNA fingerprinting of fungal communities by PCR-DGGE: An application to Shea tree fruits. *Quality Assurance and Safety of Crops and Foods*, 3, 40–47.
- El Sheikha, A. F., Condur, A., Métayer, I., Le Nguyen, D. D., Loiseau, G., & Montet, D. 2009. Determination of fruit origin by using 26S rDNA fingerprinting of yeast communities by PCR-DGGE: An application to Physalis fruits from Egypt. *Yeast*, 26, 567–573.
- El Sheikha, A. F., Durand, N., Sarter, S., Okullo, J. B. L., & Montet, D. 2012. Study of the microbial discrimination of fruits by PCR-DGGE: Application to the determination of the geographical origin of Physalis fruits from Colombia, Egypt, Uganda and Madagascar. *Food Control*, 24(1–2), 57–63.
- El Sheikha, A. F., Métayer, I., & Montet, D. 2011b. A biological bar-code for determining the geographical origin of fruit by using 28S rDNA fingerprinting of fungi communities by PCR-DGGE: An application to Physalis fruits from Egypt. *Food Biotechnology*, 25(2), 115–129.
- Hellberg, R. S., & Morrissey, M. T. 2011. Advances in DNA-based techniques for the detection of seafood species substitution on the commercial market. *Journal of Laboratory Automation*, 16, 308–321.
- Hollingsworth, M. L., Clark, A. A., Forrest, L. L., Richardson, J., Pennington, R. T., Long, D. G., et al. 2009. Selecting barcoding loci for plants: Evaluation of seven candidate loci with species level sampling in three divergent groups of land plants. *Molecular Ecology Resources*, 9, 439–457.
- Hosseini, H., Hippe, B., Denner, E., Kollegger, E., & Haslberger, A. 2012. Isolation, identification and monitoring of contaminant bacteria in Iranian Kefir type drink by 16S rDNA sequencing. *Food Control*, 25, 784–788.
- Hubalkova, Z., & Rencova, E. 2011. One-step multiplex PCR method for the determination of pecan and Brazil nut allergens in food products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 2407–2411.
- Kikkawa, Y., Takada, T., Sutopo Nomura, K., Namikawa, T., Yonekawa, H., & Amano, T. 2016. Phylogenies using mtDNA and SRY provide evidence for male-mediated introgression in Asian domestic cattle. *Animal Genetics*, 34, 96–101.
- Konczak, I., Rouille, P. 2011. Nutritional properties of commercially grown native Australian fruits: Lipophilic antioxidants and minerals. *Food Research International*, 44, 2339–2344.
- Kumar, P., Gupta, V. K., Misra, A. K., Modi, D. R., & Pandey, B. K. 2018. Potential of molecular markers in plant biotechnology. *Plant Omics*, 2, 141–162.
- Le Nguyen, D. D., Ha, H., Dijoux, D., Loiseau, G., & Montet, D. 2008. Determination of fish origin by using 16S rDNA fingerprinting of bacterial communities by PCR-DGGE: Application on Pangasius fish from Vietnam. *Food Control*, 19, 454–460.
- Ludt, C. J., Schroeder, W., Rottmann, O., & Kuehn, R. 2004. Mitochondrial DNA phylogeography of red deer (*Cervus elaphus*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31, 1064–1083.
- Mane, B. G., Mendiratta, S. K., & Tiwari, A. K. 2016. Polymerase chain reaction assay for identification of chicken in meat and meat products. *Food Chemistry*, 116, 806–810.
- Myers, M. J. 2011. Molecular identification of animal species in food: Transition from research laboratories to the regulatory laboratories. *Veterinary Journal*, 190, 7–8.
- Pereira, C., Barros, L., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. F. R. 2011. Nutritional composition and bioactive properties of commonly consumed wild greens: Potential sources for new trends in modern diets. *Food Research International*, 44, 2634–2640.
- Stoeckle, M. Y., Gamble, C. C., Kirpekar, R., Yung, G., Ahmed, S., & Little, D. P. 2011. Commercial teas highlight plant DNA barcode identification successes and obstacles. *Nature Scientific Reports*, 1, 42.
- Zheng, X. W., Yan, Z., Han, B. Z., Zwietering, M. H., Samson, R. A., Boekhout, T., et al. 2012. Complex microbiota of a Chinese “Fen” liquor fermentation starter (Fen-Daqu), revealed by culture-dependent and culture-independent methods. *Food Microbiology*, 31, 293–300.

**Pod’akovanie:** „Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-17-0508“.

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

# HODNOTENIE SÚPRAV NA EXTRAKCIU DNA ZO VZORIEK POTRAVÍN EVALUATION OF KITS FOR DNA EXTRACTION FROM THE FOOD SAMPLE

*Zuzana Drdlová, Jozef Golian, Lucia Benešová*

**Abstract:** The method for isolating nucleic acids from a food sample comprises several steps. This is a relatively complex process in which the sample is devoid of any reaction blockers that may be naturally present in the food sample. Currently, kits are available on the market for DNA isolation from food samples, and many procedures have been proposed in the laboratory, but they provide different DNA yields and purity. DNA concentration is key to the performance of the analyzes and the success of the following reactions. In this study, we focused on comparing the performance of two innuPREP DNA mini Kit and NucleoSpin Food isolation kits. We also followed the success of detection with two different test kits that serve to identify animal species in the innuDETECT Pork Assay and the LCD Meat 5.0 Array Kit.

**Keywords:** *extraction, DNA, food, sample*

## ÚVOD

Molekuly DNA sú tepelne stabilnejšie ako proteíny a to je jeden z dôvodov, prečo sa metódy založené na DNA stali terčom veľkého záujmu v posledných rokoch (Cottenet et al., 2011, Sakaridis et al., 2013). Ďalším dôvodom rastúceho počtu štúdií potravín založených na analýze DNA je veľmi dobrá špecifikácia a nízke limity detekcie, ktoré možno získať rôznymi technikami založenými na PCR (Darwish et al., 2009, Drummond et al., 2013). DNA pre tieto metódy sa zvyčajne extrahuje z buniek, ktoré sú prítomné v produktoch vo veľkých, ale veľmi premenlivých počtoch (Sharma et al., 2011).

Na izoláciu DNA z mlieka sa používa množstvo DNA extrakčných metód, ktoré vo všeobecnosti poskytujú viac alebo menej dostatočné množstvá izolovanej DNA spolu s redukciami potenciálnych inhibítorov. Avšak väčšina týchto metód je časovo i technicky náročná. Komponenty extrakčných zmesí, ktoré sú známe ako inhibítory PCR, zahŕňajú: chelatačné činidlá, ako je kyselina etyléndiamíntetraoctová (EDTA), ktoré môžu komplexovať ióny  $Mg^{2+}$ , ktoré sú potrebné pre aktivitu polymerázy, hydroxid sodný (NaOH), ktorý spôsobuje degradáciu DNA a denaturáciu polymeráz, fenol, ktorý tiež spôsobuje denaturáciu polymerázy, pretože sa viaže na molekulu enzýmu vodíkovými väzbami a etanol, izopropanol, ktoré spôsobujú zrážanie DNA (Bar et al., 2012). V mliečnych a mäsových výrobkoch boli ióny vápnika identifikované ako zdroj PCR inhibície (Bickley et al., 1996).

Požiadavky, ktoré je potrebné splniť pre úspešnú PCR, zahŕňajú extrakciu čo najviac čistej DNA zo vzorky a optimalizáciu reakčných podmienok. Keďže existuje niekoľko metód na extrakciu DNA z potravín, zahŕňajú výskumné protokoly i komerčné súpravy. Extrakcia kvalitnej DNA s vysokým výťažkom je limitujúcim faktorom v genetickej analýze. Kvalita DNA z každej línie by mala byť konzistentná aby umožnila správnu genetickú analýzu, viacerých jedincov. Vysoká kvalita DNA je charakterizovaná prevažne vysokými molekulárnymi hmotnosťnými fragmentami. Extrakcia a čistenie vysoko kvalitnej DNA je všeobecne náročná vďaka prítomnosti polysacharidov, proteínov a inhibítorov DNA polymerázy, ako sú taníny, alkaloidy a polyfenoly, hlavne v rastlinných komoditách. Prítomnosť týchto zlúčenín ovplyvňuje kvalitu a množstvo izolovanej DNA, a preto spôsobuje, že vzorka nie je amplifikovateľná (Sarwat et al., 2006). Polysacharidy sú najčastejšie sa vyskytujúce kontaminanty pri extrakcii rastlinnej DNA. Aniónové kontaminanty inhibujú reštrikčné enzýmy a uskutočňujú enzymatickú analýzu DNA (Braid et al., 2003).

Čistá a rýchla extrakcia DNA je potrebná pre najpokročilejšie techniky. Cieľom našej štúdie bolo porovnanie výkonnosti dvoch izolačných súprav innuPREP DNA mini Kit a NucleoSpin Food. Taktiež sme sledovali následnú úspešnosť detekcie dvoma rôznymi testovacími súpravami, ktoré slúžia na identifikáciu živočíšnych druhov v potravinách innuDETECT Pork Assay a LCD Meat 5.0 Array Kit.

## MATERIÁL A METÓDY

V našej štúdií bolo vyhotovených 25 izolácií DNA dvomi izolačnými súpravami innuPREP DNA mini Kit (Analytik Jena, Jena, Germany) a NucleoSpin Food Kit (Macherey-Nagel, Düren, Germany). Pri izolácii DNA sme postupovali podľa protokolu výrobcu a držali sme sa jeho odporúčaní. Všetky odbery boli odobrané zo stehenného svalu domácej ošípanej. Biologický materiál bol získaný z obchodnej siete na Slovensku.

Množstvo DNA v každej vzorke sme kvantifikovali použitím fluorimetra Quantus (Promega, Madison, USA). DNA sa uchovávala pri  $-18^{\circ}\text{C}$  až do ďalšieho použitia. PCR prebiehala v termocykléri TOptical Gradient 96 (Biometra, Göttingen, Nemecko).

Na izolovaných vzorkách sme sledovali následne úspešnosť detekcie dvoma rôznymi testovacími súpravami, ktoré slúžia na identifikáciu živočíšnych druhov v potravinách innuDETECT Pork Assay (Analytik Jena, Jena, Germany) a LCD Meat 5.0 Array Kit (Chipron, Berlín, Nemecko).

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

V posledných dvoch desaťročiach boli použité metódy založené na PCR v rôznych potravinárskych oblastiach, či už na stanovenie rôznych kontaminantov a zložiek potravín, ako sú patogény a organizmy produkujúce toxíny, zložky potravín, alergény i na detekciu falšovania. Účinná extrakcia DNA z potraviny je jedným z parametrov, ktoré ovplyvňujú úspešnú implementáciu týchto metód (Volk *et al.*, 2014).

V štúdií Volk *et al.* (2014) zistili, že vybrané metódy extrakcie DNA z mlieka produkujú DNA s veľmi odlišným množstvom a kvalitou. Podľa vyhodnotených parametrov (spektrofotometrického merania, parametrov PCR v reálnom čase, odhadovaného času, nákladov na materiál a požiadavky na prácu), tri komerčné súpravy poskytli najlepšie výsledky v porovnaní so zvyšným súborom skúmaných izolačných súprav.

V štúdií Latif a Osman (2017) sa taktiež zamerali na metódy extrakcie DNA, ktoré boli porovnané s cieľom izolovať vysoko kvalitnú DNA, ktorá môže byť efektívne amplifikovaná pomocou PCR.

Použitými izolačnými súpravami v našej štúdií sme vo všetkých odberoch dokázali DNA úspešne extrahovať (Tab. 1). Zaznamenaná koncentrácia DNA sa pohybovala pri použití izolačnej súpravy innuPREP DNA Mini Kit od 0,019 do 10,3  $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ . Nameraný rozsah koncentrácie DNA získanej izolačnou súpravou NucleoSpin Food Kit bol od 1,24 do 12,5  $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ .

Následná detekcia živočíšnych druhov prostredníctvom detekčnej techniky Meat 5.0 Array Kit bola 100 % úspešná u oboch aplikovaných izolačných techník. U druhej aplikovanej detekčnej súpravy innuDETECT Assay sme zaznamenali neúspešnú detekciu živočíšneho druhu v piatich vzorkách (Tab. 2). Neúspešná detekcia bola zaznamenaná u vzoriek s nízkou koncentráciou DNA. Neúspešnosť detekcie môže byť ovplyvnená citlivosťou použitej detekčnej techniky.

Tabuľka 1. Porovnanie získanej koncentrácie DNA nameranej v jednotlivých vzorkách.

<b>Použitá izolačná technika</b>		
<b>Poradie vzorky</b>	<b>innuPREP DNA Mini Kit</b>	<b>NucleoSpin Food Kit</b>
	<b>(ng.µL<sup>-1</sup>)</b>	<b>(ng.µL<sup>-1</sup>)</b>
<b>1</b>	0,13	12,5
<b>2</b>	6,1	10,1
<b>3</b>	9	7,8
<b>4</b>	9,1	9,1
<b>5</b>	0,089	5,6
<b>6</b>	4,54	3,41
<b>7</b>	8,32	1,24
<b>8</b>	0,98	4,56
<b>9</b>	1,23	8,12
<b>10</b>	3,56	4,91
<b>11</b>	10,3	2,12
<b>12</b>	7	1,78
<b>13</b>	4,71	3,98
<b>14</b>	5,07	5,17
<b>15</b>	3,76	2,13
<b>16</b>	0,019	5,46
<b>17</b>	12,5	3,16
<b>18</b>	5,21	6,70
<b>19</b>	0,19	7,19
<b>20</b>	8,1	2,89
<b>21</b>	2,9	1,39
<b>22</b>	4,51	3,98
<b>23</b>	2,41	5,27
<b>24</b>	0,110	2,67
<b>25</b>	1,32	6,7

Tabuľka 2. Prehľad úspešnosti reakcie zvolených detekčných systémov

Úspešnosť reakcie				
	innuPREP DNA Mini Kit		NucleoSpin Food	
	Meat 5.0 LCD Kit	innuDETECT Assay	Meat 5.0 LCD Kit	innuDETECT Assay
1	+	-	+	+
2	+	+	+	+
3	+	+	+	+
4	+	+	+	+
5	+	+	+	+
6	+	+	+	+
7	+	+	+	+
8	+	+	+	+
9	+	+	+	+
10	+	+	+	+
11	+	+	+	+
12	+	+	+	+
13	+	+	+	+
14	+	+	+	+
15	+	+	+	+
16	+	-	+	+
17	+	+	+	+
18	+	+	+	+
19	+	-	+	+
20	+	+	+	+
21	+	+	+	-
22	+	+	+	+
23	+	+	+	+
24	+	-	+	+
25	+	+	+	+

### ZÁVER

Použitím izolačných súprav sme v oboch prípadoch vo všetkých odberoch dokázali DNA úspešne izolovať. Následná detekcia živočíšnych druhov prostredníctvom detekčnej techniky Meat 5.0 Array Kit bola 100 % úspešná u oboch aplikovaných izolačných techník. U druhej detekčnej súpravy innuDETECT Assay sme zaznamenali neúspešnú detekciu živočíšneho druhu v piatich vzorkách. Neúspešná detekcia bola zaznamenaná u vzoriek s nízkou koncentráciou DNA. Neúspešnosť detekcie môže byť ovplyvnená citlivosťou použitej detekčnej techniky.

## LITERATÚRA

- Cottenet, G., Blancpain, C., Golay, P. A. 2011. Simultaneous detection of cow and buffalo species in milk from China, India, and Pakistan using multiplex real-time PCR. In *Journal of Dairy Science*, vol. 94, p. 3787–3793.
- Bar, T., Kubista, M., Tichopa, A. 2012. Validation of kinetics similarity in qPCR. In *Nucleic Acids Research*, vol. 40, p. 1395–1406.
- Bickley, J., Short, J. K., McDowell, D. G., PARKES, H. C. 1996. Polymerase chain reaction (PCR) detection of *Listeria monocytogenes* in diluted milk and reversal of PCR inhibition caused by calcium ions. In *Letters in Applied Microbiology*, vol. 22, p. 153–158.
- Braid, M., Daniels, L., Kitts, C. 2003. Removal of PCR inhibitors from soil DNA by chemical flocculation. In *J Microbiol Methods*. Vol. 52, p. 389–93.
- Darwish, F. S., Allam, H. A., Amin A. S. 2009. Evaluation of PCR assay for detection of cow's milk in water buffalo's milk, In *World Applied Sciences Journal*, vol. 7, p. 461–467.
- Drummond, M. G., Brasil, B. S. A. F., Dalsecco, L. S., Brasil, R. S. A. F., TEIXEIRA, L. V., Oliveira, D. A. A. 2013. A versatile real-time PCR method to quantify bovine contamination in buffalo products. In *Food Control*, vol. 29, pp. 131–137.
- Latif, A. A., Osman, G. 2017. Comparison of three genomic DNA extraction methods to obtain high DNA quality from maize. In *Plant Methods*, vol. 13, p. 2-9.
- Sakaridis, I., Ganopoulos, I., Anagnostis, A., Athanasios, T. 2013. High resolution melting analysis for quantitative detection of bovine milk in pure water buffalo mozzarella and other buffalo dairy products. In *International Dairy Journal*, vol. 28, p. 32–35.
- Sarwat, M., Negi, M., Lakshmikumaran, M., Tyagi, A. 2006. A standardized protocol for genomic DNA isolation from *Terminalia arjuna* for genetic diversity analysis. In *Electron J Biotechnol*. vol. 9, p. 86–91.
- Sharma, N., Singh, N. K., Bhadwal, M. S. 2011. Relationship of somatic cell count and mastitis: An overview. In *Asian – Australasian Journal of Animal Sciences*, vol. 24, p. 429–438.
- Volk, H., Piskernik, S., Kurinčič, M., Klančnik, A., Toplak, N., Jerkeš, B. 2014. Evaluation of different methods for DNA extraction from milk. In *Journal of Food and Nutrition Research*, vol. 53, p. 97-104.

**Pod'akovanie:** Práca bola podporená projektom VEGA 1/0276/18.

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

**Kontaktná adresa:** Ing. Zuzana Drdolová, Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre. Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Email: [drdolova.zuzana@gmail.com](mailto:drdolova.zuzana@gmail.com)

**V TÉME DVOJAKÁ KVALITA JE KEÚČOVÝ ZDROJ SUROVINY A  
INTERPRETÁCIA VÝSLEDKU  
THE ORIGIN OF THE INGREDIENT AND THE INTERPRETATION OF THE  
RESULT ARE KEY PARAMETERS WHEN IT COMES TO DUAL QUALITY**

*Katarína Fašiangová, Jozef Golian*

**Abstract:** The thesis examines the issue of the dual quality of food in the last few years, its perception of the laic, professional and political public and the affected sectoral sectors (production, trade). It states the key arguments and points that have been and need to be set in the issue, the current state of the legislation, especially in relation to the definition of basic definitions, competencies, and control methodology.

**Key words:** dual quality, results, ingredient, key parameters

### ÚVOD

Polemiku o rozdielnej kvalite potravín s rovnakým názvom a obalom určených na rôzne trhy európskeho spoločenstva vyvolali podnety spotrebiteľov a prvé porovnávacie testy spotrebiteľských organizácii už okolo roku 2010. Tie poukazovali na to, že niektoré potravinárske koncerny produkujú výrobky pod tou istou značkou s rozdielnym zložením na rôzne trhy. Autority Európskej komisie (EK) pre spotrebiteľskú politiku sa vtedy vyjadrili, že výrobcovia potravín môžu prispôsobiť produkty pod tou istou značkou rozdielnym trhom, čo znamená že napr. známe nápoje, čokolády, koreniny či iné potraviny, ktoré sa predávajú pod tým istým názvom po celom svete, môžu mať v jednotlivých štátoch inú chuť a zloženie.

Na jar roku 2016 bola téma rozdielnej kvality potravín predávaných na rôznych trhoch otvorená opäť no v ďaleko väčšom rozsahu a sile. Okrem laickej a odbornej verejnosti vstúpili do témy veľmi aktívne aj politici. Téma sa stala celospoločenskou a dostala názov *Duálna resp. Dvojaká kvalita* potravín, pričom definícia týchto pojmov neexistovala. Predovšetkým nové krajiny Európskej únie (EÚ) žiadali Brusel prijať pre túto oblasť novú legislatívu, čo Brusel považoval za nie potrebné a problém videl skôr vo vnímaní, čo to vlastne dvojaká kvalita je. Napriek tomu, prebehli v niektorých európskych krajinách viac či menej reprezentatívne porovnávacie testy potravín, realizované súkromnými aj štátnymi inštitúciami, ktoré priniesli rôzne výsledky a interpretácie. V niektorých prípadoch boli objektívne, v niektorých prípadoch viac či menej poškodili výrobcov, obchod, ale v konečnom dôsledku verejnosti nedali odpoveď, ako má takéto výrobky vnímať.

V súvislosti s témou nemôžeme tvrdiť, že žiaden problém neexistuje. Dôležité je, aby bola téma uchopená zásadne odborne, bol jej udelený štandardizovaný rámec a ten platil rovnako vo všetkých krajinách EÚ. Ak sa toto nastavenie v téme podarí, na konci dňa bude správne posúdenie dvojakej kvality potravinových výrobkov stále najcitlivejšie, vzhľadom na zdroj suroviny a interpretáciu výsledku.

### POHĽAD EÚ NA DEFINÍCIU DVOJAKEJ KVALITY

Výrobok je umiestňovaný na trh vo väčšine členských štátov v rovnakom balení, pod tou istou značkou s identickým zložením a spotrebiteľ vníma hlavné vlastnosti tohto výrobku zodpovedajúce jeho zloženiu. Nedostatočné, alebo zavádzajúce informácie avšak môžu ovplyvniť ekonomické správanie priemerného spotrebiteľa napr. tým, že sa rozhodne kúpiť si tovar, ktorý by si inak nekúpil. EK priebežne zvažuje dvojakú kvalitu aj ako nekalú praktiku. Faktom je, že výrobky tej istej značky môžu mať a reálne aj majú odlišné vlastnosti v dôsledku legitímnych faktorov, ako je miesto výroby, odchýlky v technológiách výroby a najmä preferencie spotrebiteľov v jednotlivých európskych regiónoch. Umiestňovanie výrobkov s odlišným zložením pod tou istou značkou na trh však môže potenciálne viesť



spotrebiteľa do omylu. Toto sa potom musí posudzovať prípad od prípadu a preto rovnaké výrobky s úplne neidentickým zložením nie sú zatiaľ obecné považované za nekalú obchodnú praktiku. Oznámenie Komisie č. 2017/C 327/01 uvádza, že v rámci jednotného trhu spotrebiteľia nezávisle od skúseností neočakávajú, že výrobky tej istej značky, predávané v rôznych krajinách, budú mať odlišné zloženie a značka je pre nich často považovaná za „garanciu kvality“. V roku 2016 Komisia vydala právne nezáväzné usmernenie o uplatňovaní Smernice o nekalých praktikách (“Smernica UCPD”), kde sa vyjadrila, že použitie rôznych prísad pod rovnakými značkami sa nepovažuje za nezákonné. Tovar rovnakej značky s rovnakými, alebo podobnými obalmi sa môže líšiť v zložení v závislosti od miesta výroby a cieľového trhu. Ak ale obchodník propaguje produkt zložením a kvalitou ako konkrétny výrobok v inom členskom štáte, mohlo by to byť považované za zavádzajúce a tým za nekalé, ak by to zároveň ekonomicky poškodilo priemerného spotrebiteľa. S rovnakým záverom prišlo aj najnovšia príručka Komisie z roku 2017, po čom eurokomisárka pre ochranu spotrebiteľa Jourová, navrhla riešiť dvojakú kvalitu v Smernici UCPD adresnejšie.

### POHĽAD SLOVENSKA NA DEFINÍCIU DVOJAKEJ KVALITY

Z vyjadrení vládných predstaviteľov, o dvojakú kvalitu ide vtedy, keď výrobky pod rovnakou značkou a obalom, sú horšej kvality napr. tým že obsahujú menej základných zložiek (napr. mäsa, mlieka atď.), prírodných zložiek a viac lacnejších náhrad a umelých aditív.

V prípade rozdielu majú byť výrobky jasne na obaloch rozlíšené, alebo dvojakú kvalitu je možné odstrániť - najlepšie zjednotením receptúr. Ministerstvo pôdohospodárstva SR podporuje zaradenie dvojakej kvality potravín do zoznamu nekalých obchodných praktík.

Odborná verejnosť pri návrhoch na definíciu dvojakej kvality zvažovala, do akej miery majú byť akceptované rozdiely v špecifikácii výrobku jednej značky. Tie reálne existujú z dôvodu odlišných chuťových preferencií, či kúpnej sily v jednotlivých krajinách EÚ, tiež z dôvodu rôznej úrovne technologických zariadení, spracovania surovín v rôznych regiónov, čím môžu mať výrobky odlišné senzorické vlastnosti. To bude mať zákonite dopad na posúdenie, či ide o dvojakú kvalitu výrobku a práve toto je podľa odbornej verejnosti jadrom diskusie.

Tá tiež zvažovala, či bude náš spotrebiteľ vnímať dvojakú kvalitu stále ako problém, ak na výrobkoch bude mať jasne viditeľné rozlíšenie, keď pôjde o rovnaký referenčný výrobok a do akej miery majú byť takéto výrobky vizuálne odlišné a akou právnou úpravou ošetrené.

**Tabuľka 1 Aktivity EÚ, ktoré odštartovali riešenie dvojakej kvality potravín**

1.	<u>Nelegislatívny proces v Európskom parlamente (EP)</u> - výsledkom je Návrh uznesenia EP o otázke dvojakej kvality pod Výborom pre vnútorný trh a ochranu spotrebiteľa.
2.	<u>Legislatívny proces</u> - začal na základe návrhov dokumentu „ <i>Nová dohoda pre spotrebiteľov</i> “, ktorý vydala EK dňa 11.04.2018, kde navrhuje do <u>Smernice o nekalých obchodných praktikách</u> , čl. 6 ods. 2 vložiť písmeno „c) akýkoľvek marketing výrobku ako identický s rovnakým výrobkom uvádzaným na trh v niekoľkých ďalších členských štátoch, kde majú tieto výrobky podstatne odlišné zloženie alebo vlastnosti;“
3.	EÚ zostavuje tzv. <i>High level forum</i> (Fórum na vysokej úrovni pre lepšie fungovanie potravinového dodávateľského reťazca), ktoré sa skladá z národných a nezávislých expertov. Výsledkom ich práce je dokument: "Odporúčania týkajúce sa postupov, ktoré rozlišujú zloženie zdanlivo identických potravinárskych výrobkov".
4.	<b>EK schvaľuje pilotný projekt spoločného testovania pod jej gesciou.</b>
5.	Jún 2018 vydáva EK správu o spoločnej metodike testovania pre dvojakú kvalitu potravín, vypracovanej Spoločným výskumným centrom EK (JRC - Joint Research Centre). Metodika má slúžiť orgánom na ochranu spotrebiteľa v krajinách EÚ, na testovanie a porovnávanie kvality (zloženia a vlastností) potravinových výrobkov predávaných v podobnom balení v celej únii. Laboratória krajín EÚ, koordinované s JRC budú uplatňovať túto metodiku v celoeurópskej testovacej kampani s cieľom zozbierať údaje o rozsahu problému dvojakej kvality. <b>Spoločnú metodiku testovania má EK predstaviť začiatok roka 2019.</b>

**Tabuľka 2 Šesť princípov výberu a testovania potravinárskych výrobkov v rámci spoločnej metodiky EÚ**

	Princíp	Očakávaný dopad
1.	<b>Transparentnosť - lepšie fungovanie a komunikácia medzi všetkými stranami</b>	menší potenciál pre vznik sporných situácií
2.	<b>Stanovenie jednotlivých krokov v hodnotení</b>	výber produktov → plán odberu vzoriek → vyšetovanie vzoriek na získanie výsledkov testu → rozhodnutie o ďalšom postupe
3.	<b>Porovnateľnosť</b>	výber produktov → plán odberu vzoriek → vyšetovanie vzoriek na získanie výsledkov testu → rozhodnutie o ďalšom postupe
4.	<b>Kritéria hodnotenia</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. vedecky podložené a dôsledne aplikované</li> <li>2. metódy navrhnuté pre cieľnú komoditu; praktické a nákladovo efektívne</li> <li>3. akreditované testovacie laboratóriá a štandardné testovacie metódy</li> </ol>
5.	<b>Inkluzívnosť</b>	spravodlivé a rovné zapojenie zainteresovaných strán (prevádzkovatelia potravinárskych podnikov, príslušné orgány, zástupcovia spotrebiteľov)
6.	<b>Spravodlivosť</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. výber značiek na testovanie s prihliadnutím na trhové podiely</li> <li>2. dodržiavanie požiadaviek dôvernosti</li> </ol>

**Tabuľka 3 Vplyv surovín na fyzikálno-chemické analýzy a interpretáciu výsledkov pri posudzovaní dvojakej kvality potravín**

<b>Potravina</b>	<b>Termosterilizované výrobky</b>
<b>Surovina</b>	Ovocie a zelenina
<b>Vplyv na analytický výsledok a interpretáciu</b>	Pestovateľský región v rámci EÚ, druh, odroda, dátum zberu. Obsah sacharidov kolíše od odrody, klimatických podmienok v regióne EÚ, agrotechnických a agroviroenvironmentálnych podmienok pestovania. Klimatické pomery daného roka, výrazne ovplyvnia výsledky sušiny. Ich hodnoty sa pohybujú v závislosti od zrážok. Sušina v ovocí je ovplyvňovaná agronomickými, environmentálnymi, klimatickými faktormi a vyložene dĺžkou a intenzitou slnečného svitu a zrážok.
<b>Príklad</b>	Nižší obsah cukru v termosterilizovanej kukurici spôsobený klimatickými podmienkami pestovateľského európskeho regiónu.
<b>Potravina</b>	<b>Šťavy</b>
<b>Surovina</b>	ovocie a zelenina
<b>Vplyv na analytický výsledok a interpretáciu</b>	Pestovateľský región v rámci EÚ – všetky klimatické vplyvy a dtto ako u termosterilizovaného ovocia a zeleniny, druh, odroda, dátum zberu.
<b>Príklad</b>	Neobjektívne posúdené výživové hodnoty na označení potraviny. Nižšia sušina v odrodách ríbezli spôsobená nadmerným množstvom zrážok v danom pestovateľskom regióne.
<b>Potravina</b>	<b>Mletá paprika, papriková pasta a pod.</b>
<b>Surovina</b>	Paprika na technologické spracovanie (konzervovanie, sušenie, mletie)
<b>Vplyv na analytický výsledok a interpretáciu</b>	Paprika obsahuje vysoké množstvo sacharidov. Ich obsah kolíše v závislosti od odrody a od klimatických podmienok, čo určuje jej výslednú farbu. Tým farba rovnakej odrody, na základe rôznej klímy môže kolísať.
<b>Príklad</b>	Posudzovanie farby mletej papriky je objektivizované vzhľadom na zdroj

	suroviny – klimatické podmienky v ktorých bola pestovaná .
<b>Potravina</b>	<b>Mäsové výrobky</b>
<b>Surovina</b>	Výrobné mäso
<b>Vplyv na analytický výsledok a interpretáciu</b>	Štandardizované výrobné mäso neexistuje. Legislatívne zaradenie mäsových výrobkov je v každej krajine EÚ iné. Zaradenie mäsových výrobkov do kategórie a druhu je v EÚ neidentické.
<b>Príklad</b>	Šunky, Trvanlivé salámy – možné porovnanie nezávislých druhov.
<b>Potravina</b>	<b>Mliečne výrobky</b>
<b>Surovina</b>	Surové kravské mlieko (SKM)
<b>Vplyv na analytický výsledok a interpretáciu</b>	Kolísanie nutričných hodnôt SKM najmä v množstvo tuku, v závislosti na krmive, spôsobe chovu a v rámci sezónnych vplyvov.
<b>Príklad</b>	Neporovnateľné obsahy výživových parametrov na označení dvoch porovnateľných mliečnych výrobkov.

O vplyvoch uvedených v Tabuľke 3, na kvalitatívne parametre vybraných surovín je množstvo tuzemských aj zahraničných publikácií, vedeckých a študentských prác.

### **POSTOJ OBCHODU K PROBLEMATIKE DVOJAKEJ KVALITY POTRAVINÁRSKÝCH PRODUKTOV V RÁMCI ODBORNEJ DISKUSIE**

- každá diskusia, ktorá môže viesť k zvýšeniu kvality potravín je prínosom pre spotrebiteľa;
- kvalita a zloženie výrobkov je primárne záležitosťou výrobnéj a obchodnej stratégie každého výrobcu;
- nie je akceptovateľné, aby bol zákazníkom ponúkaný tovar nižšej kvality alebo s lacnejšími surovinami;
- je proti neodôvodnenej zámene, alternovaniu alebo nahrádzaniu zložiek inými zložkami v produktoch a alternovaniu ich množstiev voči predpísaným špecifikáciám.

#### **Odhýlky v zložkách a ich množstvách v potravinových výrobkoch môžu byť obchodníkmi akceptované iba z dôvodu:**

- požiadaviek národnej legislatívy - napr. v prípade úpravy zložiek sledovaných Ministerstvom zdravotníctva SR – soľ, kofeín, chinín, tuk, cukry a pod.;
- chuťových preferencií spotrebiteľa, ktoré rešpektujú aj špecifiká jednotlivých európskych trhov - v praxi to významne platí pre potravinové výrobky, ako sú koreniny, ochucovadlá, dehydratované pokrmky, niektoré špeciality vrátane mäsových a konzervovaných, delikatesy a pod.;
- ak nie je možné zabezpečiť absolútnu štandardizáciu suroviny z dôvodu jej nedostatku (nutnosti saturovať ju z dovozu), alebo z klimatických podmienok, ktoré sú v jednotlivých európskych regiónoch špecifické.

#### **V téme posudzovania dvojakej kvality produktov považovali obchodníci za zásadné, aby bola na úrovni EÚ stanovená:**

- **jednotná (štandardizovaná) metodika odberu vzoriek potravín** v súlade s medzinárodnými ISO normami;

*Pri odberoch párov vzoriek zameraných na porovnanie kvality, vzorkovať produkty z jednej šarže, predovšetkým u výrobkov potravín, kde sezónnosť, teritoriálne a klimatické podmienky majú priamy dopad na výsledky analýz.*

*V tejto súvislosti a téme, nie je možné priamo porovnávať len porovnateľné výrobky jedného druhu.*

- **jednotné (štandardizované), akreditované a validované metodiky testovania kvality odobraných vzoriek potravín;**

*Pri akýchkoľvek porovnávacích testoch je nevyhnutné vykonávať tieto v nezávislých akreditovaných laboratóriách, aby bola dosiahnutá čo najväčšia ich nezávislosť a objektivita. Je nevyhnutné, aby senzorické hodnotenia vzoriek vykonávali iba certifikovaní posudzovatelia alebo komoditní znalci.*

➤ **jednotná metodika interpretácie výsledkov testovaných vzoriek potravín;**

*Vylúčia sa tak skresľujúce interpretácie výsledkov a prípadná subjektivita, ktorú môžu nejednotné metódy pri posudzovaní kvality potravín prinášať.*

*Je nevyhnutné, aby sa v rámci interpretácie získaných výsledkov zohľadňovali aj neistoty z akreditovaných a validovaných metód.*

## ZÁVER

Aj po tom, ako si štáty EÚ osvoja spoločnú metodiku testovania pre dvojakú kvalitu potravín, bude obzvlášť citlivé vyhodnotenie výsledkov a ich interpretácia v závislosti od zdroja suroviny a jej štandardizácie. Toto môže byť problematické najmä u potravín zo zeleniny, ovocia a základných surovín živočíšneho pôvodu (najmä mäso, mlieko), kde v rámci EÚ trhu štandardizácia surovín neexistuje, alebo ju v jednotlivých regiónoch EÚ nie je možné z klimatických a iných objektívnych dôvodov dodržať. V takomto prípade ani rovnaká šarža výrobku a jednotná metodika testovania, nemusí zaručiť, že dva rovnaké potravinové výrobky budú vo všetkých posudzovaných znakoch absolútne zhodné.

## LITERATÚRA

Oznámenie Komisie o uplatňovaní právnych predpisov EÚ v oblasti potravín a ochrany spotrebiteľov v prípadoch dvojakej kvality výrobkov – konkrétny prípad potravín, Úradný vestník C 327 Európskej únie, Ročník 60, Slovenské vydanie Informácie a oznámenia, 29. septembra 2017

Usmernenie o uplatňovaní Smernice o nekalých praktikách (“Smernica UCPD”),

Dostupné na: [https://www.teleoff.gov.sk/data/files/47852\\_berec-usmernenie.pdf](https://www.teleoff.gov.sk/data/files/47852_berec-usmernenie.pdf)

Návrh Uznesenia Európskeho Parlamentu o dvojakej kvalite výrobkov na jednotnom trhu, (2018/2008(INI)),

Výbor pre vnútorný trh a ochranu spotrebiteľa, Správa 19.7.2018

Nová dohoda pre spotrebiteľov

Dostupné na: [https://ec.europa.eu/slovakia/news/new\\_deal\\_for\\_consumers\\_sk](https://ec.europa.eu/slovakia/news/new_deal_for_consumers_sk), 11.4.2018

Janičová, M. 2011. Záhradné ovocie - významný zdroj bioaktívnych látok, Diplomová práca, SPU Nitra, Fakulta biotechnológie a potravinárstva. 45 s.

Andrašková, M. 2009. Kvalitatívne znaky introdukovaných čiernych ríbezlí (*ribes nigrum* l.) európskeho pôvodu a ich porovnanie so slovenskými odrodami, Dizertačná práca, SPU Nitra, 2009, 109-118 s.

**Kontaktná adresa:** Ing. Katarína Fašiangová, PhD. *E-mail:* [kfasiang@gmail.com](mailto:kfasiang@gmail.com)

prof. Ing. Jozef Golian, Dr., Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva SPU v Nitre Tr. A. Hlinku 2, 949 01 Nitra, *E-mail:* [Jozef.Golian@uniag.sk](mailto:Jozef.Golian@uniag.sk)

# PRÍSTUP K VEDECKÝM INFORMÁCIÁM – VEDECKÁ PLATFORMA EFSA A KNOWLEDGE JUNCTION ACCESS TO SCIENTIFIC INFORMATION - SCIENTIFIC PLATFORM EFSA AND KNOWLEDGE JUNCTION

*Lucia Gabrišová*

**Abstract:** EFSA's Research Platform is home for the wider food safety research community. It aims to support project ideas, promote consortia formation, and help scientists to find the opportunities for public research funding in food safety. The Platform has been created in response to a call for coordination in the area of food safety research at EFSA's first Risk Assessment Research Assembly (RARA), where participants called on EFSA to be a knowledge-broker between scientists and policy makers. The Knowledge Junction is a curated community in the Zenodo repository for research sharing. It is used by the Open AIRE project, and was commissioned by the EC to support their nascent Open Data Policy by providing a catch-all repository for EC funded research. Presented document informs national scientific experts about the possibility to obtain and exchange evidence and supporting materials used in food and feed safety risk assessments. Member State organizations, EU countries and Pre-Accession countries are encouraged to upload, through national representatives, all information relevant to risk assessment activities including risk assessment mandates, outputs (opinions, reports, statements, guidance documents), national work plans related to risk assessment, relevant technical reports, any other relevant document, data and software.

**Keywords:** EFSA's Research Platform, Knowledge Junction, scientific information, risk assessment and risk communication

Vedecká platforma EFSA poskytuje na jednom mieste informácie o projektoch, výzvach na riešenie grantov a tendrov EFSA, propaguje tvorbu konzorcií a pomáha vedcom hľadať možnosti pre získavanie verejných finančných prostriedkov na riešenie projektov v oblasti bezpečnosti potravín (<https://www.efsa.europa.eu/en/engage/research-platform>).

Hodnotenie rizika na komunitárnej úrovni zabezpečuje Európsky úrad pre bezpečnosť potravín, avšak každý členský štát EÚ je povinný zabezpečovať i národné hodnotenia rizika. Hodnotenia rizika sú prostredníctvom EFSA sprístupnené i pre expertov v iných členských štátoch, pričom sú zverejňované aj na webových sídlach jednotlivých úradov pre potraviny. O tieto hodnotenia je záujem nielen u vedeckej, ale i odbornej verejnosti, čo dokumentuje i počet stiahnutí a prezretí, ktorý sa pohybuje v tisícoch.

V súvislosti s uvedeným vedecké modely a nástroje, ktoré používa EFSA sa spojili do novej komunity, ktorá sa nazýva Knowledge Junction. Knowledge Junction predstavuje otvorený priestor pre výmenu vedeckých informácií a vedeckých dokumentov používaných pri hodnotení rizika bezpečnosti potravín a krmív s cieľom zlepšiť transparentnosť, reprodukovateľnosť a správne narábanie s vedeckými informáciami. Knowledge Junction prebieha na zdieľanej platforme Zenodo. V prípade záujmu publikovať práce so zameraním na hodnotenia rizika v Knowledge Junction, je potrebné ako prvé sa zaregistrovať na uvedenej platforme. Vloženým dokumentom sú priradené identifikátory digitálneho objektu (DOI), ktoré potvrdzujú autorstvo a prispievateľov s pridanou licenciou, ktorá špecifikuje podmienky používania. Obsah úložiska Knowledge Junction môže byť využívaný EFSA vedeckými Panelmi, pracovnými skupinami EFSA a všetkými zainteresovanými stranami pri prácach na hodnotení rizika. Vedci a experti, ktorí majú záujem o zverejnenie svojich vedeckých dokumentov v Knowledge Junction sa môžu obrátiť na nás prostredníctvom e-mailu: [efsa.focalpoint@land.gov.sk](mailto:efsa.focalpoint@land.gov.sk). Detailnejšie informácie týkajúce sa postupov pri

vkladání dokumentov ako i vyhľadávání relevantných publikácií opublikoval EFSA v príručke k platforme Knowledge Junction, ktorá je zverejnená a voľne stiahnuteľná na domovskej stránke EFSA (<http://www.efsa.europa.eu/en/press/news/161114>).

Poster a informačné letáky o Knowledge Junction, ktoré boli vydané slovenským národným kontaktným bodom pre vedeckú a technickú spoluprácu s EFSA, predstavujú výzvu pre vedeckú komunitu o aktívnu participáciu na tejto medzinárodnej otvorenej vedeckej platforme pre oblasť hodnotenia rizika potravín a krmív.

**Kontaktná adresa:** Ing. Lucia Gabrišová, Národný kontaktný bod pre vedeckú a technickú spoluprácu s EFSA, Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR, Odbor bezpečnosti potravín a výživy, Dobrovičova 12, 812 66 Bratislava E-mail: [efsa.focalpoint@land.gov.sk](mailto:efsa.focalpoint@land.gov.sk)

# POŽIADAVKY NOVEJ VERZIE NORMY BRC 8 PRE VÝROBCOV POTRAVÍN REQUIREMENTS OF NEW BRC GLOBAL FOOD SAFETY STANDARD I.8 FOR FOOD PRODUCERS

*Martin Horváth*

**Abstract:** Since February of 2019 food producing operators can only be certified against new version of BRC Global Food Safety Standard I.8. The requirements of Issue 8 reflects new demands of all parties within food safety chain. Upgraded standard brings new focus on food safety&quality culture, food defense and security, environment monitoring, pet food and voluntary modules related to FSMA, Meat Supply Assurance and AOECs Gluten Free Foods. Additional small changes can be seen throughout the whole standard especially in respect of high risk, high care and ambient high care zones.

**Keywords:** BRC, food safety, food standard

## ÚVOD

Celosvetová norma pre bezpečnosť potravín BRC I.8 prešla zmenou vyvolanou pripomienkami od všetkých zainteresovaných strán ako sú napr. predstavitelia obchodných reťazcov, výrobcov, certifikačných organizácií, spotrebiteľských združení a pod. Hlavné zmeny by mali prispieť k šíreniu kultúry bezpečnosti a kvality potravín, k sprehľadneniu niektorých požiadaviek, ako aj k vytvoreniu nových. Samozrejme je nutné prejsť detailne všetky požiadavky, pretože malé zmeny boli vykonané naprieč celou normou.

Časový harmonogram od publikovania normy, až po spustenie certifikácie:

- August 2018 – publikovanie normy
- September 2018 – príprava školiteľov
- Október 2018 – začiatok preškolenia audítorov a pracovníkov výrobných závodov
- Február 2019 – Začiatok auditov bezpečnosti potravín podľa vyd.8

### Hlavné zmeny vo vydaní pokrývajú nasledovné oblasti:

- Podpora rozvoja kultúry bezpečnosti výrobkov.
- Rozšírenie požiadaviek na monitorovanie výrobného prostredia tak, aby odrážali rastúci význam tejto techniky.
- Podporovať výrobné závody, aby ďalej rozvíjali systémy bezpečnosti a obrany potravín.
- Sprehľadnenie požiadaviek na zóny s vysokým rizikom, vysokou starostlivosťou a vysokou starostlivosťou pre trvanlivé potraviny skladované pri izbovej teplote.
- Sprehľadnenie požiadaviek pre spoločnosti vyrábajúce krmivo pre spoločenské zvieratá
- Zabezpečenie použitia na celom svete a začatie porovnávania s normami bezpečnosti potravín (benchmarking) organizáciou GFSI (Global Food Safety Initiative).

## KULTÚRA BEZPEČNOSTI POTRAVÍN

Kultúra bezpečnosti potravín je základným faktorom pri riadení bezpečnosti výrobkov. Aj keď je táto požiadavka náročná na auditovanie, bola zaradená do nového vydania normy.

„Vrcholový manažment výrobného závodu definuje a udržiava jasný plán rozvoja a neustáleho zlepšovania kultúry bezpečnosti a kvality potravín.“

Plán musí obsahovať:

- definované činnosti zahŕňajúce všetky časti závodu, ktoré majú vplyv na bezpečnosť výrobku.
- akčný plán, v ktorom sa uvedie, ako sa činnosti budú vykonávať, merať a časový rámeč činností.
- preskúmanie účinnosti zrealizovaných aktivít.

### **MONITOROVANIE PROSTREDIA VÝROBY**

Výhodou monitorovania prostredia výroby je, že:

- slúži na meranie celkovej úrovne hygienickej konštrukcie zariadení, infraštruktúry, praktík zamestnancov a prevádzkových metód;
- poskytuje informácie o indikátorových organizmoch, kaziacich organizmoch a patogénoch, tak aby mohli byť iniciované vhodné nápravné opatrenia s cieľom predísť potenciálnym mikrobiálnym nákazám.
- slúži ako systém včasného varovania pre mikrobiologické riziká v prostredí výroby a aj po výrobe. Dobře vyvinutý a účinne zavedený systém je neoddeliteľnou súčasťou programov nevyhnutných predpokladov.
- pomáha identifikovať zdroje kontaminácie (ťažko alebo slabo čistiteľné miesta)
- validuje sanitačný program a pomáha pri určovaní frekvencie potrebnej na čistenie a dezinfekciu.

### **BEZPEČNOSŤ VÝROBKOV A OBRANA POTRAVÍN**

- Požiadavky týkajúce sa systémov obrany potravín boli zrevidované. Systémy obrany potravín by mali by tvoriť neoddeliteľnú súčasť postupov výrobcov potravín.
- Tieto postupy musia zaisť bezpečnosť surovín a výrobkov pred zámernou kontamináciou alebo krádežou

Požiadavky:

- Posúdenie hrozby (rizika) s opatreniami (plánom) založenými na riziku
- Riziko (hrozba) sa hodnotí vo všetkých fázach výrobného procesu (bod 2.5), to znamená, keď je výrobok pod kontrolou výrobného závodu.

### **ZÓNY S VYSOKÝM RIZIKOM, VYSOKOU STAROSTLIVOSŤOU**

Vydanie č. 8 jasnejšie zdokumentovalo požiadavky na zóny s vysokým rizikom, vysokou starostlivosťou a vysokou starostlivosťou pre trvanlivé potraviny skladované pri izbovej teplote.

Ak výrobný závod vyrába výrobky, ktoré si vyžadujú zaobchádzanie vo výrobných zónach s vysokým rizikom, vysokou starostlivosťou a vysokou starostlivosťou pre trvanlivé potraviny skladované pri izbovej teplote, všetky príslušné požiadavky uvedené v kapitolách 1 - 7 musia byť splnené.

### **POTRAVINY PRE SPOLOČENSKÉ ZVIERATÁ**

- Krmivo pre spoločenské zvieratá patrí do rozsahu normy (ale neplatí pre krmivo pre hospodárske zvieratá).
- Z porovnávania noriem bezpečnosti potravín organizáciou GFSI, sa zaviedli 3 nové požiadavky na krmivo pre spoločenské zvieratá (neplatí pre potraviny pre ľudí).

Nové požiadavky sú:

- 5.8.1 – Sú vytvorené (krmivá) pre zamýšľané použitie (kompletná alebo doplnková výživa).
- 5.8.2 – Riadenie zložiek škodlivých pre príjemcov, pre ktorých neboli určené.
- 5.8.3 - Riadenie liečiv



### **Dodatočné moduly**

V rámci jednej certifikácie je možné audit rozšíriť aj o preverenie špecifických dobrovoľných modulov, ako sú:

#### **FSMA (Food Safety Modernization Act – USA)**

Tento modul:

- sa vzťahuje na závody, ktoré vyvážajú svoje výrobky do USA
- zaisťuje jednoduchý prístup k splneniu požiadaviek FSMA (dodatočných 23)

#### **ZABEZPEČENIE DODÁVANIA MÄSA**

- Platí pre akýkoľvek závod zapojený do výroby mäsa (okrem rýb / mäkkýšov).
- Modul umožňuje zákazníkom preukázať dobré riadenie dodávateľského reťazca mäsa.
- Znižuje potrebu viacnásobných auditov zákazníkov.
- Zníženie nákladov a času auditu pre spracovateľov mäsa.
- Zabezpečenie konzistentnej kvality na auditovanie dodávateľského reťazca mäsa.

#### **AOECS GLUTEN FREE FOODS**

- Modul sa vzťahuje na výrobky bez obsahu lepku.
- Auditovaním tohto modulu splnia závody požiadavky Asociácie európskych celiatických spoločností.

Dĺžka trvania pre každý modul je pol dňa.

### **ZÁVER**

Záverom možno konštatovať, že nové vydanie normy prináša možno na prvý pohľad len malé zmeny, ale po podrobnejšom oboznámení sa s normou, bude nutné vykonať tzv. "Gap analýzu", aby sa zmenené resp. nové požiadavky účinne zapracovali do systému riadenia bezpečnosti potravín auditovaných závodov. Hlavne sa to bude týkať oblasti kultúry bezpečnosti a kvality potravín, bezpečnosti a obrany potravín, krmiva pre spoločenské zvieratá, monitorovania výrobného prostredia a požiadaviek dobrovoľných modulov. Zavedením nových požiadaviek by sa mala zvýšiť úroveň systémov kvality a bezpečnosti potravín výrobcov potravín.

### **LITERATÚRA**

1. BRC GLOBAL STANDARD FOR FOOD SAFETY I.8

**Kontaktná adresa:** Ing. Martin Horváth. SGS Slovakia, spol.s r.o., Kysucká 14, 040 11 Košice

# ELISA V ANALÝZE KOKCIDIOSTATÍK A ICH REZÍDUÍ ELISA IN THE ANALYSIS OF COCCIDIOSTATS AND THEIR RESIDUES

*Daniela Juščáková, Ivona Kožárová*

**Abstract:** Coccidiostats can be incorporated into the feeding regimens of animals when preventive measures are required against disease. Providing the correct concentration and dosage of these coccidiostats within the feed ensures the successful nature of control. Extensive use of coccidiostats in animal production leads to the presence of their residues in food of animal origin. Providing the withdrawal periods are met, coccidiostat residues in food of animal origin should not be increased to levels which could pose a risk to human health and give rise to food safety concerns. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) offers a method for relevant and accurate determination of the residues of many antimicrobials in food, including the detection of coccidiostats and their residues in various feed and food matrices. ELISA is the current method of choice for the screening of coccidiostats and their residues prior subsequent confirmatory analysis.

**Keywords:** coccidiostats, residues, ELISA

## ÚVOD

Kokcidiostatiká patria medzi preventívne a terapeuticky využívané antiprotozoiká účinné proti kokcidiám najmä z rodu *Eimeria* a *Isospora*. U zvierat určených na produkciu potravín, najmä pre intenzívne chované druhy, ako sú hydina a králiky sa využívajú ako krmne doplnkové látky na zabezpečenie zdravia zvierat a zlepšenie konverzie krmiva (Clarke et al., 2014).

Krmne doplnkové látky (KDL) sú definované ako látky, mikroorganizmy, alebo prípravky odlišné od krmných surovín a premixov, ktoré sa zámerne pridávajú do krmiva alebo do vody. Tieto látky musia priaznivo ovplyvňovať vlastnosti krmiva a živočíšnych produktov, uspokojovať nutričné potreby zvierat a priaznivo ovplyvňovať živočíšnu výrobu a úžitkovosť zvierat. Kokcidiostatiká musia mať navyše kokcidiostatický alebo antihistomonický účinok, pretože sú prioritne určené na ničenie alebo brzdenie rastu prvkov (Nariadenie (ES) č. 1831/2003). Kokcidiostatiká môžu mať aj sekundárnu alebo reziduálnu aktivitu voči črevnej mikroflóre, sú však odlišné od antibiotík používaných ako rastové stimulatory, ktorých hlavný účinok je ich pôsobenie na črevnú mikroflóru. Práve z tohto dôvodu Európska komisia od 1. januára 2006 zakázala používať antibiotiká, ako rastové stimulatory v chovoch potravinových zvierat.

Zaradenie kokcidiostatík medzi KDL má veľký význam v dôsledku toho, že bez ich kontinuálneho podávania v krmive by nebol možný ekonomický odchov cieľových druhov zvierat. Ich bezpečnosť pre zvieratá, používateľov, spotrebiteľov a životné prostredie sa posudzuje Európskym úradom pre bezpečnosť potravín (EFSA). Súčasťou hodnotenia bezpečnosti je aj stanovenie maximálnych limitov rezíduí pre kokcidiostatiká, ktoré sa môžu nachádzať v živočíšnych produktoch cieľových druhov zvierat po ich pridaní do krmiva (<http://ec.europa.eu/>).

## KOKCIDIOSTATIKÁ A REZÍDUÁ

Rezíduá farmakologicky účinných látok sú všetky farmakologicky účinné látky vyjadrené v  $\text{mg.kg}^{-1}$  alebo  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  na základe hmotnosti v čerstvom stave, či už ide o účinné látky, pomocné látky, alebo produkty rozkladu a ich metabolity, ktoré zostávajú v potravinách získaných zo zvierat (Nariadenie ES č. 470/2009). Rezíduá môžu predstavovať potenciálne

riziko ohrozenia zdravia spotrebiteľa a technologických problémov pri priemyselnom spracovaní potravín (Smernica 2001/82/ES Európskeho parlamentu a Rady).

Vzhľadom na rozšírené používanie kokcidiostatík na farmách tu existuje riziko, že rezíduá týchto látok budú prítomné v tkanivách a v živočíšnych produktoch cieľových druhov zvierat určených na ľudskú spotrebu. Je preto dôležité mať k dispozícii vhodné metódy na stanovenie prítomnosti rezíduí týchto látok v potravinách živočíšneho pôvodu, ako dôsledok ich schváleného používania v krmive, resp. používania krmiva znečisteného krížovou kontamináciou, t.j. prenosom kokcidiostatík do necieľového krmiva (Dubois et al., 2004, Nariadenie Komisie (ES) č. 124/2009).

Členské štáty Európskej únie (EÚ) majú povinnosť monitorovať kokcidiostatiká a ich rezíduá v krmivách a v živočíšnych produktoch cieľových zvierat podľa smernice Rady 96/23/ES a oznámiť výsledky monitorovania rezíduí sledovaných veterinárnych liekov vrátane kokcidiostatík prostredníctvom internetovej aplikácie Sanco Residue na monitorovanie plánov a výsledkov. Výsledky sa predkladajú EFSA, ktorá za každý kalendárny rok vypracováva správu o výsledkoch monitorovania rezíduí veterinárnych liekov a iných látok v živých zvieratách a živočíšnych produktoch vrátane kokcidiostatík (Kožárová a Juščáková, 2018).

### **ELISA V ANALÝZE KOKCIDIOSTATÍK A ICH REZÍDUI**

Metódy používané za účelom úradnej kontroly rezíduí veterinárnych liekov vrátane kokcidiostatík v potravinách živočíšneho pôvodu musia spĺňať požiadavky ustanovené rozhodnutím Komisie č. 2002/657/ES, ktorým sa vykonáva smernica Rady 96/23/EHS, ktorá sa týka uplatňovania analytických metód a interpretácie výsledkov. Imunologické a imunoenzymatické metódy predstavujú použitie komerčne vyrábaných špecifických zostáv alebo setov, ktoré vylučujú alebo potvrdzujú prítomnosť rezíduí sledovaných látok v potravinách živočíšneho pôvodu. Na priamu depistáž sa využívajú predovšetkým testy kvalitatívne alebo vizuálne, ale aj testy kvantitatívne. Tieto metódy zahrňujú kompetitívne enzýmové imunostanovenie na pevnej fáze alebo priamu kompetitívnu ELISU (s enzýmom spojené imunosorpčné stanovenie /Enzyme-linked immunosorbent assay/). Na rozdiel od mikrobiologických metód sú podstatne citlivejšie a schopné detegovať rezíduá antimikrobiálnych látok pod stanoveným maximálnym limitom rezíduí (MRL) (Kožárová et al., 2002). ELISA je rýchla, jednoduchá, vysoko špecifická a ekonomicky výhodná screeningová metóda aplikovateľná pre viacero druhov matric. Väzba reagujúcich látok na doštičku umožňuje ľahko oddeliť naviazaný a nenaviazaný materiál počas testu. Možnosť vymyť nešpecificky viazané látky vytvára výkonný nástroj na meranie špecifických analytov. Detekčný enzým alebo iná značka môže byť naviazaná priamo na primárnu protilátku alebo je napojená prostredníctvom sekundárnej protilátky, ktorá identifikuje primárnu protilátku. Najčastejšie sa na značenie enzýmu používa chrenová peroxidáza a alkalická fosfatáza. Množstvo viazanej protilátky sa vizualizuje pridaním enzýmového substrátu (chromogénu). Počas inkubácie sa bezfarebný chromogén prevedie enzýmom na farebný reakčný produkt. Táto farba je nepriamo úmerná množstvu viazanej protilátky (<http://europroxima.com/wp-content/uploads/5111IONO511.16.pdf>, <https://www.bosterbio.com/protocol-and-trouble-shooting/elisa-principle>, <https://www.abraxiskits.com/uploads/products/docfiles/367SalinomycinNarasin%20R022013.pdf>).

Test ELISA ponúka tri typy dátových výstupov. Kvalitatívne testy ELISA sa môžu použiť na získanie odpovede, či konkrétny antigén je prítomný vo vzorke, v porovnaní s prázdnu jamkou neobsahujúcou žiaden antigén. Kvantitatívne údaje ELISA sa môžu interpretovať v porovnaní so štandardnou krivkou (sériovým riedením známeho purifikovaného antigénu), aby sa presne vypočítali koncentrácie antigénu v testovaných vzorkách. Semikvantitatívne testy ELISA sa môžu použiť na porovnanie relatívnych hladín

antigénu v testovacích vzorkách, pretože intenzita signálu sa bude meniť priamo s koncentráciou antigénu (<https://www.bosterbio.com/protocol-and-troubleshooting/ELISA-principle>). Podľa spôsobu prevedenia detekcie rozlišujeme ELISU priamu, sendvičovú, kompetitívnu a blokujúcu.

ELISA je pravdepodobne najčastejší test založený na báze imunoanalýzy s použitím protilátok. Je metódou voľby aj pri kokcidiostatikách. Shen et al. (2001) popisuje ELISA test na screening maduramycínu v tkanivách kurčiat, ako sú sval, pečeň a tuk v kombinácii s postupom predčistenia na imunoafinitnej kolóne. Jeho citlivosť a špecifickosť sa zvyšuje v dôsledku šesťuholníkového premostenia medzi maduramycínom a väzobným proteínom, čím je protilátka úplne vytesnená maduramycínom z maduramycínu C6-ovalbumínu. Ďalšia ELISA na stanovenie maduramycínu v tkanivách kurčiat bola optimalizovaná s použitím špecifickej monoklonálnej protilátky s vysokou antiinterferenčnou schopnosťou. Hlavnou výhodou tejto metódy je jednoduchosť prípravy vzorky v porovnaní s predchádzajúcou metódou (Chen et al., 2009).

V roku 2001 Watanabe a kol. popísali kvantitatívnu ELISA pre salinomycín v plazme, pečeni a svalovine kurčiat. Extrakcia je jednoduchá a rýchla. Keďže narazín a salinomycín majú veľmi podobné chemické štruktúry, monoklonálna protilátka proti salinomycínu rozpozna narazín s podobnou afinitou. V roku 2002 Beier et al. hodnotili kompetitívnu nimi vyvinutú metódu ELISA pre halofuginón porovnaním s vysoko-účinnou kvapalinovou chromatografiou (HPLC) vo vzorkách pečeni kurčiat získaných z komerčných bitúnkov a získali porovnateľné výsledky. Huet et al. (2005) sa podieľali na vývoji ELISA pre dve látky, halofuginón a nikarbazín pri detekcii vo vajciach a svalovine kurčiat. Detekčná schopnosť testu, t.j. najnižšia koncentrácia detekovateľná s pravdepodobnosťou chyby merania menšou alebo rovnajúcou sa 5 % bola stanovená pod  $0,5 \mu\text{g.kg}^{-1}$  vo vajciach a  $1 \mu\text{g.kg}^{-1}$  vo svalovine pre halofuginón a pod  $3 \mu\text{g.kg}^{-1}$  vo vajciach a  $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$  vo svalovine pre nikarbazín. Oba testy boli plne validované a porovnané s rutinnou metódou LC-MS/MS metódou (Dubois et al., 2004). Gaudin a Laurentie (2009) hodnotili citlivosť ELISA testu pre nikarbazín vo vajciach so zhodnotením celkovej chyby merania. Autori vyvodili záver, že metóda by sa nemala používať ako semikvantitatívna, ale skôr ako kvalitatívna na zisťovanie prítomnosti nikarbazínu vo vajciach s hraničnou detegovateľnou hodnotou  $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$  (Gaudin et al., 2009). Vo všeobecnosti výkonnosť ELISA testu závisí od koncentrácií protilátky a enzýmom značeného antigénu a od času inkubácie. Pre každý nový test je dôležité v každom kroku spomínané faktory optimalizovať (Huet et al., 2013).

### KOMERČNE DOSTUPNÉ ELISA TESTY

Testy ELISA sa vykonávajú použitím mikrotitračných platní obsahujúcich 96 jamôk, resp. použitím mikrotitračných doštičiek pozostávajúcich z 12 prúžkov, z ktorých každý obsahuje 8 jamiek, ktoré pasívne viažu protilátky a proteíny. V súčasnosti sa komerčne vyrábajú ELISA testy pre halofuginón, nikarbazín, monenzín, diklazuril, lasalocid, salinomycín/narazín a maduramycín (Abraxis/USA/, EuroProxima/Holandsko/), resp. niektorí výrobcovia, ako sú napr. Randox (United Kingdom), MyBiosource (USA), Abcam (USA), Abnova (Taiwan) a Thermo Scientific-Pierce (USA) ponúkajú sortiment monoklonálnych alebo polyklonálnych protilátok proti jednotlivým kokcidiostatikám a/alebo zodpovedajúcim konjugátom chrenovej peroxidázy.

### ZÁVER

Screening kokcidiostatík v krmivách určených pre cieľové druhy potravinových zvierat a ich rezíduí v živočíšnych produktoch týchto zvierat je dôležitý pre ochranu verejného zdravia a garanciu bezpečnosti potravín. Analýza kokcidiostatík je pomerne zložitá, pretože kokcidiostatiká sa navzájom líšia svojimi chemickými štruktúrami a vlastnosťami. ELISA je metódou voľby prvotného screeningu, je však na škodu, že ani súčasné ELISA testy nie sú

určené na simultánne použitie a širokospektrálnu detekciu. Avšak i napriek tejto limitácii je pri ELISA metóde pozorovaný záujem jej využitia pri screeningu rezíduí v kombinácii s konfirmačnou analýzou.

#### LITERATÚRA

- Beier, R. C., Feldman, S. F., Dutko, T. J., Delvar Petersen, H., Stanker, L. H. 2002. Immunoassay and HPLC detection of halofuginone in chicken liver samples obtained from commercial slaughterhouses: a combined study. *Food and Agricultural Immunology*, vol. 14, no. 1, p. 29 – 40.
- Clarke, L., Fodey, T. L., Crooks, S. R. H., Moloney, Mary, O'Mahony J. Delahaut, P., O'Kennedy, Danaher, M. 2014. A review of coccidiostats and the analysis of their residues in meat and other food. *Meat Science*, vol. 97, p. 358 – 374.
- Dubois, M., Pierret, G., Delahaut, P. 2004. Efficient and sensitive detection of residues of nine coccidiostats in egg and muscle by liquid chromatography-electrospray tandem mass-spectrometry. *Journal of Chromatography B*, vol. 813, p. 181 – 189.
- Gaudin, V., Laurentie, M. Application of total error approach to assess the performance of a biological method (ELISA) to detect nicarbazin in eggs. *Journal of Chromatography B*, 2009, vol. 877, p. 2358 – 2362.  
<https://www.abraxiskits.com/uploads/products/docfiles/367SalinomycinNarasin%20R022013.pdf>  
<https://www.bosterbio.com/protocol-and-troubleshooting/elisa-principle>  
<http://ec.europa.eu/food/food/animalnutrition/feedadditives/docs/Report-Coccs-233-2008-SK.pdf>  
<http://europroxima.com/wp-content/uploads/5111IONO511.16.pdf>
- Huet, A. C., Bienenmann – Ploum, M., Vincent, U., Delahaut, P. 2013. Screening methods and recent developments in the detection of anticoccidials. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 405, p. 7733 – 7751.
- Huet, A.C., Mortier, L., Daeseleire, E., Fodey, T., Elliott, C., Delahaut, P. 2005. Screening for the coccidiostats halofuginone and nicarbazin in egg and chicken muscle: development of an ELISA. *Food Additives & Contaminants*, vol. 22, no. 2, p. 128 – 134.
- Chen, Y., Tang, S., Ding, S., He, F., Xiao, X. 2009. Monoclonal antibody-based immunoassay for the detection of maduramicin in chicken tissues. *Analytical Letters*, vol. 42, p. 2793 – 2806.
- Kožárová, I., Juščáková, D. 2018. *Rezíduá kokcidostatík v živočíšnych produktoch hydiny*. Sborník abstraktů. Hygiena a technologie potravín XLVIII. Lenfeldovy a Höklovy dny, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, ISBN 978-80-7305-808-1, p. 211 – 214.
- Kožárová I, Máté D, Cabadaj R, Róžańska H, Hussein K, Laciaková A. 2002. An evaluation of the microbiological diffusion methods as a tool for screening monensin residues in the tissues of broiler chickens. *Folia Veterinaria*, vol. 46, p. 27 – 33.
- Nariadenie Komisie (ES) č. 124/2009 z 10. februára 2009, ktorým sa stanovujú najvyššie obsahy prítomnosti kokcidostatík a histomonostatík v potravinách spôsobenej nevyhnutným prenosom týchto látok do necieľového krmiva. Úradný vestník Európskej únie L 40, 2009, s. 7 – 11.
- Nariadenie Európskeho Parlamentu a Rady (ES) č. 1831/2003 o doplnkových látkach určených na používanie vo výžive zvierat. Úradný vestník Európskej únie L 268, 2003, s. 29 – 43.
- Nariadenie európskeho parlamentu a rady (ES) č. 470/2009 zo 6. mája 2009 o stanovení postupov Spoločenstva na určenie limitov rezíduí farmakologicky účinných látok v potravinách živočíšneho pôvodu, o zrušení nariadenia Rady (EHS) č. 2377/90 a o zmene a doplnení smernice Európskeho parlamentu a Rady 2001/82/ES a nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 726/2004. Úradný vestník Európskej únie L 152, 2009, s. 11 – 22.
- Rozhodnutie Komisie 2002/657/ES z 12. augusta 2002, ktorým sa implementuje smernica Rady 96/23/EHS, ktorá sa týka uplatňovania analytických metód a interpretácie výsledkov. Úradný vestník EÚ L 221, 2002, s. 1 – 39.
- Shen, J., Qian, C., Jiang, H., Yang, H., 2001. Development of an enzymelinked immunosorbent assay for the determination of maduramicin in broiler chicken tissues. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, vol. 49, p. 2697 – 2701.
- Smernica 2001/82/ES Európskeho Parlamentu a Rady zo 6. novembra 2001, ktorým sa ustanovuje Zákoník spoločenstva o veterinárnych liekoch. Úradný vestník EÚ L 311, 2001, s. 3 – 68.
- Watanabe, H., Satake, A., Kido, Y., Tsuji, A. 2001. Monoclonalbased ELISA and immunochromatographic rapid assay for salinomycin. *Analytical Chimica Acta*, vol. 437, p. 31 – 38.

**Pod'akovanie:** Spracovanie príspevku bolo podporené projektom VEGA MŠVVaŠ SR a SAV č. 1/0576/17.

**Kontaktná adresa:** MVDr. Daniela Juščáková, Katedra hygieny a technológie potravín, UVLF v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, [daniela.juscakova@student.uvlf.sk](mailto:daniela.juscakova@student.uvlf.sk)

## OD HODNOTENIA RIZIKA PO NESÚLAD POTRAVÍN FROM RISK ASSESSMENT TO FOOD NON-COMPLIANCE

*Michal Kunštek, Marica Kuzmiak Theiszová*

**Abstract:** At the Ministry of Agriculture and Rural Development, there operates the Department of Food Safety and Nutrition in several roles, particularly in the role of National Contact Point for Scientific and Technical Cooperation for European Food Safety Authority (EFSA NFP). As the EFSA NFP, the Dept. of Food Safety and Nutrition covers the risk assessment process in the Slovak Republic. Besides of this role, the role of contact point for *Codex Alimentarius* is given to the department as well as the role of the body responsible for creating the policy related to official controls, GMO issues and the body for exchanging the information on non-compliances with food and feed with the other EU member countries, as the AAC Contact Point (AAC CP). This paper deals summarizes the activity of the department performed as the EFSA NFP and the AAC CP in Slovakia in 2018.

**Keywords:** EFSA, National Focal Point, risk assessment (NFP), risk communication, administrative assistance and cooperation, food non-compliances, Contact Point (CP)

### INTRODUCTION

The European Food Safety Authority was established in 2002 by adopting the Regulation (EC) 178/2002 to provide scientific advice and scientific and technical support for the Community's legislation and policies in all fields which have a direct or indirect impact on food and feed safety. Providing with the independent information on food safety issues and communicating on the risks belongs to the activities regularly performed by EFSA. The range of responsibility of EFSA covers the whole food chain, so the risk assessment and risk communication provided by the EFSA may target any food safety issue.

As in any other EU Country, there operates the EFSA National Focal Point as well in Slovakia as the body set to coordinate the process of any risk assessment throughout the food chain in its entirety. Among the other state bodies in the area of food safety, it is the Department of Food Safety and Nutrition (Ministry of Agriculture and Rural Development of the Slovak Republic) the role of National Focal Point is given to. Since the risk assessment made by EFSA and other bodies across the Europe is published that the information exchange between all relevant interested parties is accomplished, National Focal Point in Slovakia uses the website of Ministry of Agriculture and Rural Development of the Slovak Republic to publish the risk assessment performed in Slovakia under the coordination of the National Focal Point. This way, the risk assessment outputs performed in Slovakia as well as all the scientific outputs of EFSA are available to the scientific communities in Slovakia and to the public. There were completed 83 risk assessments in the Slovak Republic since 2007. Within the 5 mandates for risk assessment given in 2018, 4 assessments were completed. National Focal Point promoted the use of Knowledge Junction at 5 scientific conferences, including the presentation and poster presentation at the XI. Scientific Conference „Food Safety and Control“ and published the prepared a leaflet on Knowledge Junction that has been published on the website of Focal Point. In 2018, the Focal Point requested the other Focal Points for information twice and processed 20 of the requests from other Focal Points. These requests were shared with the relevant expert networks in Slovakia. The database of National Expert Scientific Groups that has been set up by the FP and is regularly updated is currently formed by 430 experts.

Shared with the scientific expert networks in 2018 were also 16 information items on conferences, seminars, webinars and projects received from EFSA. FP distributed all current information on the BTSF events. Total number of calls for tenders disseminated within the

national organisations or networks was 17 and 4 calls for proposals were disseminated within the Competent Organisations (Art. 36). Calls for proposals and tenders were published on the FP website. As it used to be held in previous years, the meeting with the representatives of the EFSA Scientific Networks and Competent Organisations according to the Art. 36, took part as well in 2018. Focal Point in Slovakia distributed also the information on 3 job offers within the expert communities. Vast majority of the information received from EFSA belongs to the scientific outputs as are the scientific opinions, reasoned opinions and reports. FP disseminated 327 information items in 2018 within the scientific expert groups in Slovakia. In 2018, the FP organised 2 scientific conferences in Slovakia and cooperated on 3 other scientific events.

### **ADMINISTRATIVE ASSISTANCE AND COOPERATION**

Commission Implementing Decision (EU) 2015/1918, adopted in October 2015, laid down the legal framework for Administrative Assistance and Cooperation System (AACS) which represents a tool for performing the information exchange on non-compliances of food with the legislation of the EU between the EU member states. These non-compliances are reported by the official control of each member state and have some cross-border impact. AACS represents a communication channel to be used by the member state when there is a need to get in contact with the other MSs to perform investigation of a non-complying product within the territory of the other MSs. European Commission is one of the users of AACS, with a competence to launch a coordinated procedure when needed. Users of the AACS are the Contact Points for AAC in every member state. These CPs are closely connected to the RASFF Contact Points and Food Fraud Contact Points by coordination of Single Contact Point created in every member state. Dept. of Food Safety and Nutrition operates as the Contact Point for AAC in Slovakia and is coordinated by the State Veterinary and Food Administration of the Slovak Republic, as the body representing the Single Contact Point in Slovakia. Since the AAC System has been launched in the late of 2015, the number of cases created in this system has been increasing year by year. Non-compliances with the EU legislation that have no impact on the human health and that are somehow related to the other member countries are regularly exchanged via the AACS. Nature of a non-compliance that can be subject of notification in the AACS is within the framework of provisions of the current EU legislation. Cases exchanged in AACS include issues with mislabelling, addition of unauthorized substances, exceedance of the legal limits, non-complying declarations, unapproved process or treatment, documents related to food product, etc. Over the first year of operation, the AAC CP in Slovakia created/sent 10 notifications to other member states and processed 9 notifications received from other MSs until the end of 2016. In 2017, the total number of cases created and sent by the AAC CP in Slovakia was 15, while the AAC CP received 12 notifications from other MSs. European Commission sent 5 notifications to the member states in 2017, including the Slovakia. AAC CP in Slovakia created and sent 31 notifications to other MSs in 2018 and received 31 notifications from the other MSs. Within the 31 notifications received, 4 were the questions to the member states about the official control practice and interpretation of some legislation provisions. AAC CP in Slovakia already closed 9 of the cases created in 2018. Other MSs closed 8 cases sent to Slovakia in 2018. Number of closed cases applies to 8 February 2019.

**Kontaktná adresa:** Ing. Michal Kunštek, Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR, Národný Kontaktný bod pre vedeckú a technickú spoluprácu s EFSA, Kontaktný bod pre administratívnu podporu a spoluprácu na Slovensku, Odbor bezpečnosti potravín a výživy, Dobrovičova 12, 812 66 Bratislava, email: [aac\\_non-fraud@land.gov.sk](mailto:aac_non-fraud@land.gov.sk)

# AKTIVITY STÁTNÍ VETERINÁRNÍ SPRÁVY ČESKÉ REPUBLIKY NA ÚSEKU BEZPEČNOSTI POTRAVIN V ROCE 2018 ACTIVITIES OF THE STATE VETERINARY ADMINISTRATION OF THE CZECH REPUBLIC IN THE FIELD OF FOOD SAFETY IN THE YEAR 2018

*Zbyněk Semerád, Jiří Drápal*

**Abstract:** the results of systematic control activities, as well as of emergency control actions, in the field of the hygiene of food of animal origin did not reveal any substantial non-compliances with legislation. The results of monitoring of the prevalence of *Salmonella* spp. in broilers and turkeys at poultry slaughterhouses can be assessed as satisfactory, as well as the presence of *Campylobacter* spp. in caeca (appendixes) of broilers. The results of testing for the concentration of contaminants (pesticides, organochlorine substances, etc.) in samples of selected food of animal origin were satisfactory. The analyses of smoked cheese from domestic production for the content of aromatic hydrocarbons contributed to gathering of sufficient data for a preliminary risk assessment (the current legislation does not establish maximum limits).

**Keywords:** food safety, control, zoonotic bacteria, residues, PAH

## ÚVOD

Z hlediska zdraví hospodářských zvířat, ale i výsledků soustavné veterinární kontroly a řešení případných problémů spojených s bezpečností a kvalitou potravin byl rok 2018 na území České republiky (ČR) poměrně klidný. Podařilo se udržet příznivou nálezovou situaci. Pokračovalo tlumení a eradikace afrického moru prasat (AMP) u prasat divokých ve Zlínském kraji. Přijatými opatřeními se podařilo likvidovat AMP v populaci prasat divokých, zabránit jeho šíření a tím ochránit chovy prasat domácích. Do konce dubna 2019 ČR předpokládá získání statusu země bez výskytu AMP. Jako prevenci případného zavlečení AMP na území ČR zavedla Státní veterinární správa (SVS) monitoring vepřového masa a zvěřiny na zjištění přítomnosti DNA viru AMP v místech určení a u domácí produkce. Od října 2018 do konce roku nebyl zjištěn virus v žádném z více jak 3 000 vzorků. V dubnu 2018 se po 20 letech na území ČR vyskytla pro chovy drůbeže nebezpečná nákaza Newcastlelská choroba. Díky okamžité likvidaci jediného ohniska v malochovu slepic se podařilo zabránit rozšíření nákazy a ochránit tak další chovy. Od července 2018 je ČR opět oficiálně prostá této nákazy.

## KONTROLA BEZPEČNOSTI POTRAVIN ŽIVOČIŠNÉHO PŮVODU

Na úseku veterinární hygieny a ochrany veřejného zdraví bylo v roce 2018 provedeno necelých 51 000 kontrolních akcí. Ve srovnání s rokem 2017 došlo k účelnému navýšení celkového počtu kontrol, zvláště pak na úseku kontrol ve spolupráci s Celní správou a Policií ČR při kontrolách přepravy potravinářského zboží. Naopak, v souladu s cíleným postupem, byl již v roce 2017 nastaven trend snižování počtu kontrol v místech s opakovaně nízkým výskytem závad a tento trend pokračoval i v roce 2018. Například byl snížen počet kontrol mléčnic (o 13 % oproti roku 2017). Mírně poklesl i počet plánovaných kontrol hygienických podmínek ve výrobě potravinářských podniků (cca o 3 % oproti roku 2017). Stejně tak jako v předchozích letech byly nejčastěji zjišťovány nedostatky a závady v označování potravin, při dodržování doby spotřeby, při hlášení zásilek v místech určení, ve sledovatelnosti, v čištění a sanitaci, při skladování surovin a potravin, v dodržování teplotního řetězce a ve správné hygienické praxi. Mimo běžný hygienický dozor byly mimořádné kontrolní akce



zaměřeny na problematické komodity či zdraví škodlivé látky v potravinách. Trvalou součástí kontrolních aktivit jsou mikrobiologická vyšetření původců zoonóz a analýzy živočišných tkání a potravin na obsah reziduí a kontaminantů.

### Monitoring zoonóz

V roce 2018 pokračovalo vyšetřování původců zoonóz - *Salmonella* spp. ze vzorků odebíraných z jatečně upravených těl (JUT) prasat a skotu (tabulka č. 1); vyšetřování vzorků na přítomnost *Salmonella* spp. z kůží krku u brojlerů a krůt (tabulka č. 2).

**Tabulka č. 1 Výsledky vyšetření salmonel u skotu a prasat v České republice v roce 2018**

Druh	n	n+	% n+
skot	2 934	11	0,37
prase	5 141	31	0,6

n – počet vzorků; n+ - počet pozitivních vzorků; %n+ - procento pozitivních vzorků

Z hlediska hodnocení prevalence *Salmonella* spp. u skotu a prasat na povrchu JUT v prostředí jatek byla situace v roce 2018 obdobná jako v předchozích dvou letech.

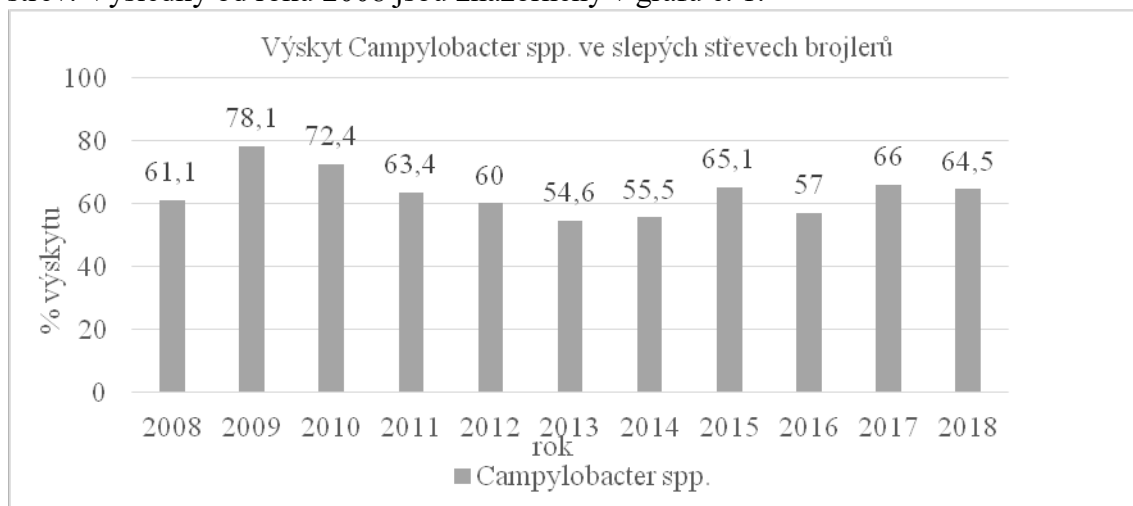
**Tabulka č. 2 Výsledky vyšetření salmonel u kuřat a krůt v České republice v roce 2018**

Druh	n	n+	% n+
kuře (brojler)	1 205	87	7,22
krůta	390	12	3,08

n – počet vzorků; n+ - počet pozitivních vzorků; %n+ - procento pozitivních vzorků

Z hlediska výskytu *Salmonella* spp. u brojlerů a krůt v prostředí drůbežích porážek nelze stav hodnotit jako uspokojivý, především v prostředí porážek brojlerů.

Vyšetřování na přítomnost *Campylobacter* spp. u brojlerů bylo prováděno z obsahu slepých střev. Výsledky od roku 2008 jsou znázorněny v grafu č. 1.



**Graf č. 1 Výsledky monitoringu *Campylobacter* spp. z obsahu slepých střev brojerů v České republice v letech 2008 – 2018**

V roce 2018 v druhovém zastoupení převládala u brojlerů *Campylobacter jejuni* (61 %) nad *Campylobacter coli* (39%) prakticky stejně jako v roce 2017 (62 % a 38 %), ale na rozdíl od roku 2016, kde převládala *C. coli* (50 %) nad *C. jejuni* (49 %) a v 1 % případech byly současně přítomny oba dva druhy.

### **Pesticidy ve vybraných potravinách živočišného původu**

Vyšetřování se provádělo na základě nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 396/2005 a dle prováděcího nařízení Komise (EU) 2017/660, o koordinovaném víceletém kontrolním programu Unie pro roky 2018, 2019 a 2020. Všech 118 vzorků (tuk jatečných zvířat, játra, máslo, vejce, med a mléko) bezpečně vyhovělo maximálním limitům reziduí (MLR) pro pesticidy. V některých vzorcích byla nalezena rezidua organochlorových pesticidů (DDT - 38x, HCB - 29x) na hladinách vyšších než mez kvantifikace (LOQ). To svědčí o stále přetrvávající kontaminaci prostředí organochlorovými pesticidy a to i přesto, že se již desetiletí nepoužívají.

### **Počáteční a pokračovací kojenecká výživa a příkrmy pro kojence a malé děti**

Celkem bylo odebráno 24 vzorků kojenecké a dětské výživy (KDV) s podílem živočišné potravin ze všech třech výrobních závodů KDV v ČR. Kontrolní vyšetření prověřilo dodržování legislativních požadavků na KDV, především na obsah reziduí pesticidů, obsah těžkých kovů, přítomnost mykotoxinů a jiných toxikologicky významných látek např. dioxinů a polychlorovaných bifenyly (PCB). Koncentrace všech sledovaných analytů bezpečně vyhověly MLR pro pesticidy a maximálním limitům (ML) pro kontaminanty dle platné legislativy. V některých vzorcích byla zjištěna rezidua na měřitelných hladinách (polyaromáty, některé kongenery PCB, arzén, cín, kadmium, měď, olovo, dioxiny a dusičnany).

### **Uzené sýry – obsah polycyklických aromatických uhlovodíků**

Cílem mimořádné akce bylo získat informaci o koncentraci polycyklických aromatických uhlovodíků (PAU) v různých druzích uzených sýrů v závislosti na technologii uzení. Dále určit, který proces uzení nejvíce kontaminuje surovinu a shromáždit data pro případné stanovení "akčního limitu". Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách, uvádí ML pro uzené maso a uzené masné výrobky, ryby a ostatní uzené produkty rybolovu a mořské plody v rozpětí ML pro jednotlivé skupiny a druhy potravin od 2,0 do 6,0  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  pro benzo[a]pyren (BaP); od 10 do 35  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  pro sumu benzo[a]pyrenu, benzo[a]anthracenu, benzo[b]fluoranthenu a chrysenu (PAU4). Legislativa Evropské unie ani národní legislativa nestanovuje ML pro PAU v uzených sýrech. Některé z PAU jsou genotoxické karcinogeny a nejtoxičtější z nich benzo[a]pyren je zařazen, podle hodnocení mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny (IARC), do skupiny 1 (karcinogenní pro člověka). Vzorky pro laboratorní vyšetření v této pilotní studii byly odebírány od všech 67 výrobců uzených sýrů (sýry z mléka kravského, ovčího, kozího) v ČR od září do listopadu 2018. Souhrnné výsledky jsou uvedeny v tab.č. 3.

**Tabulka č. 3 Výsledky vyšetření polycyklických aromatických uhlovodíků v uzených sýrech v České republice v roce 2018 (n = 67)**

Analyt	Průměr ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ )	Medián ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ )	Maximum ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ )
BaP*	0,4	0,2	6,83
PAU4**	2,43	0,35	46,57

\* benzo[a]pyren; \*\* suma benzo[a]pyrenu, benzo[a]anthracenu, benzo[b]fluoranthenu a chrysenu

Při porovnání s nejnižšími ML pro uzená masa, případně uzené ryby, jsou průměrné i střední hodnoty (medián) u uzených sýrů nízké, jak pro BaP, tak i pro PAU4. Maximální hodnoty však překračují u obou analytů nejvyšší přípustné ML pro uzená masa i ryby. Nejvyšší hodnoty PAU byly zjištěny u jednoho malovýrobce u vzorku kozího sýra uzeného teplým kouřem (od 30 °C do 60 °C). Průměrné a střední koncentrace PAU u malých výrobců s denní

produkci do 500 l mléka nebo do 50 kg sýrů, většinou vyrábějících kozí a ovčí sýry uzené teplým kouřem uvádí tabulka č. 4.

**Tabulka č. 4 Výsledky vyšetření polycyklických aromatických uhlovodíků v uzených sýrech od malých výrobců v České republice v roce 2018 (n = 42)**

Analyt	Průměr ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ )	Medián ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ )	Maximum ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ )
BaP*	0,54	0,11	6,83
PAU4**	3,67	0,44	46,57

\* benzo[a]pyren; \*\* suma benzo[a]pyrenu, benzo[a]anthracenu, benzo[b]fluoranthenu a chrysenu

Průměrné a střední koncentrace PAU u velkých výrobců s denní produkcí nad 500 l mléka nebo více než 50 kg sýrů uvádí tabulka č. 5.

**Tabulka č. 5 Výsledky vyšetření polycyklických aromatických uhlovodíků v uzených sýrech od velkých výrobců v České republice v roce 2018 (n = 25)**

Analyt	Průměr ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ )	Medián ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ )	Maximum ( $\mu\text{g.kg}^{-1}$ )
BaP*	0,18	0,25	0,34
PAU4**	0,34	0,23	2,21

\* benzo[a]pyren; \*\* suma benzo[a]pyrenu, benzo[a]anthracenu, benzo[b]fluoranthenu a chrysenu

Koncentrace BaP i PAU4 byly vyšší u malých výrobců, kteří většinou vyrábějí kozí a ovčí sýry uzené teplým kouřem na rozdíl od velkých producentů uzených sýrů, kteří používají moderní udírny s vyšším využitím i technologie uzení studeným kouřem.

#### **Drůbež a vejce dovezená z Polska**

Důvodem provedení mimořádné kontroly v místě určení zboží byly informace zveřejněné v polských médiích s odvoláním na zprávu Nejvyššího kontrolního úřadu Polska týkající se nesprávného používání veterinárních léčivých přípravků (VLP) v některých chovech drůbeže. Celkem bylo SVS provedeno 202 kontrol, při nichž bylo zkontrolováno 467 tun drůbežího masa a 423 180 ks vajec. Odebráno bylo 268 vzorků drůbežího masa a 18 vzorků vajec. Cílená akce neprokázala rezidua VLP v mase drůbeže ani ve vejcích původem z Polska. Stejně tak pohotově reagovala SVS na informaci z veřejných zdrojů o stažení více jak čtyř milionů slepičích vajec v Polsku s nevyhovujícím obsahem kokcidiostatika lasalocidu. Celkem bylo v místech určení na území ČR odebráno 13 vzorků (11 vzorků vajec a 2 vzorky vaječných výrobků). Všechny výsledky vyhověly legislativnímu limitu pro vejce podle nařízení Evropské komise č. 37/2010 ( $150 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ). V jednom vzorku sušených vajec byla přítomnost lasalocidu zjištěna, nicméně hodnota byla hluboko pod povoleným maximálním limitem reziduí.

### **ZÁVĚR**

Soustavná kontrolní činnost i výsledky mimořádných kontrolních akcí na úseku hygieny potravin živočišného původu neodhalily významnější porušení hygienických předpisů. Výsledky monitorování prevalence *Salmonella* spp. u brojlerů a krůt v prostředí drůbežích porážek nelze hodnotit jako uspokojivé, stejně tak výskyt přítomnosti *Campylobacter* spp. u brojlerů ve slepých střevech. Koncentrace kontaminantů (pesticidů, organochlorových látek a jiných) ve vzorcích vybraných potravin živočišného původu vyhověly zcela legislativou stanoveným přípustným limitům. Analýzou uzených sýrů z domácí produkce na obsah polycyklických aromatických uhlovodíků se podařilo shromáždit dostatek údajů pro hodnocení rizika (současnou legislativou nejsou stanoveny maximální limity).

***Kontaktní adresa:*** MVDr. Zbyněk Semerád, Ústřední veterinární správa Státní veterinární správy, Slezská 100/7, 120 00 Praha 2 Česká republika; e-mail: [z.semerad@svscr.cz](mailto:z.semerad@svscr.cz)  
***Jiří Drápal:*** Ústřední veterinární správa Státní veterinární správy, Praha

**SEKCIA 2: Mikrobiologická a mykologická bezpečnosť potravín**

**PROBLEMATIKA VANKOMYCIN-REZISTENTNÍCH ENTEROKOKŮ VE  
VZTAHU K BEZPEČNOSTI POTRAVIN  
PROBLEMS OF VANCOMYCIN-RESISTANT ENTEROCOCCI RELATED TO  
FOOD SAFETY**

*Jan Bardoň*

**Abstract:** *Enterococci* are part of natural intestinal microflora of human and animals. They are able to extra intestinal conversion to opportunist pathogen, in some case. They cause endogenous as well as exogenous community and nosocomial infection. Gastrointestinal tract of mammals confers them to easy terms for acquisition and spread resistance genes, for example to vancomycin (*van*), from other symbiotic bacteria. Vancomycin-resistant enterococci (VRE) become potential reservoirs and vectors of *van* genes. Some variants of *vanA* gene cluster VRE carried on Tn1546 which encode resistance to vancomycin are common in humans and in animals. That means that animals, especially cattle, poultry and pigs could be an important reservoir of VRE for human. Kolář and Bardoň detected VRE in animals in Czech Republic first time in 2000. Glycopeptides antibiotic – avoparcin, used as growth stimulator, is responsible for selection of VRE strains in animals. Strains of *Enterococcus faecium* from animals may offer genes of antimicrobial resistance for other enterococci or they can be hazardous directly for human.

**Keywords:** vancomycin-resistant enterococci (VRE), food, animals, antibiotics resistance, Czech republic

### ÚVOD

Enterokoky jsou součástí přirozené střevní mikroflóry člověka i zvířat, která je schopná za určitých okolností extraintestinální konverze na oportunní patogeny. Jsou původci endogenních i exogenních infekcí, komunitních a nozokomiálních infekcí. Gastrointestinální trakt savců jim poskytuje vhodné podmínky pro získávání a šíření genů rezistence, např. k vancomycinu (*van*), od jiných symbiotických bakterií. Takto se vancomycinrezistentní enterokoky (VRE) stávají možným rezervoárem a přenašečem genů rezistence (např. *van*). Některé varianty *vanA* genového klastru VRE nesené na Tn1546, které kódují rezistenci k vancomycinu, jsou stejné u lidí i zvířat. To znamená, že zvířata, zejména hovězí dobytek, drůbež a prasata, by mohla představovat pro člověka důležitý rezervoár VRE. První záchyt VRE u zvířat v České republice zdokumentovali v roce 2000 Kolář a Bardoň. Největší podíl na selekci VRE u zvířat mělo používání glykopeptidového antibiotika avoparcinu jako růstového stimulantu. Kmeny *Enterococcus faecium* animálního původu mohou působit jako donoři genů antimikrobiální rezistence pro další enterokoky, nebo představovat přímé riziko pro člověka.

### VÝSLEDKY VYBRANÝCH STUDIÍ U POTRAVINOVÝCH ZVÍŘAT, POTRAVIN A LIDÍ V ČR

Státní veterinární ústav Olomouc se ve spolupráci s Lékařskou fakultou UPOL a dalšími institucemi řadu let věnuje problematice bakterií s nebezpečným rozsahem rezistence k antibiotikům u zvířat a lidí, včetně analýzy rizik vzájemného přenosu. Do této skupiny bakterií patří také VRE. Níže jsou velmi stručně prezentovány některé výsledky, které byly v této oblasti dosaženy.

Telata - v rámci studie byla sledována v letech 2004 – 2005 antibiotická rezistence u *Enterococcus* sp. (87 izolátů), získaných z rektálních výtěrů telat (celkem vyšetřeno 300 rektálních výtěrů telat). VRE prokázány nebyly.

**Potravinny** – byla sledována rezistence k antimikrobiálním látkám u 75 bakteriálních izolátů *Enterococcus* sp. které byly získány z potravin živočišného původu dvou základních komodit: mléčné výrobky (tvaroh, máslo, pomazánkové máslo, sýry) a masné výrobky (tepelně neopracované i tepelně opracované). VRE izolovány nebyly.

**Drůbež** - v první části studie bylo vyšetřeno 561 vzorků různých (včetně exotických) druhů zvířat a bylo tak získáno 109 izolátů *Enterococcus* sp. V jednom případě byl potvrzen VRE u drůbeže. Z následné depistáže na farmě drůbeže, ze které pozitivní izolát pocházel (120 vzorků, převážně kloakálních výtěrů), bylo získáno 48 izolátů, ze kterých byly další tři určeny jako VRE. Z celkového počtu 4 diagnostikovaných VRE byly tři identifikovány jako *E. faecium* a jeden jako *Enterococcus* sp. skupina III. Na základě stanovení minimálních inhibičních koncentrací vankomycinu a teikoplaninu byly izoláty *E. faecium* charakterizovány jako VRE fenotypu VanA a kmen *Enterococcus* sp. skupina III. jako VRE fenotypu VanB. Většina enterokoků (72,9 %) izolovaných z drůbeže při cílené depistáži na pozitivní farmě vykazovala rezistenci k více druhům antimikrobiálních látek. Jde o první záchyt a popis VRE u zvířat v České republice.

V další studii bylo v období od listopadu 2015 do dubna 2017 vyšetřeno celkem 240 vzorků materiálu z prostředí drůbežích farem a obsahu slepých střev jatečné drůbeže pocházející z území Moravy. Ze souboru vzorků byl identifikován jeden případ VRE. Jednalo se o *E. faecium*, u kterého byla následně prokázána rezistence typu VanA. Tento kmen byl citlivý pouze na linezolid a tigecyklin, k ostatním testovaným antibiotikům (ampicilin, ciprofloxacin, nitrofurantoin, vankomycin a teikoplanin) byl rezistentní.

**Drůbež a člověk** - v rámci studie bylo získáno 821 izolátů *Enterococcus* sp. z humánní komunity a 527 izolátů *Enterococcus* sp. z drůbežích farem. Devět izolátů *Enterococcus* sp. z humánní komunity (1,1 %) bylo identifikováno jako VRE. Ve dvou případech se jednalo o *E. faecium* VanA, v jednom případě o *E. faecalis* VanB a v šesti případech o *E. casseliflavus* VanC. Prevalence VRE v souboru izolátů *Enterococcus* sp. z drůbeže činila 2,1 % (11 izolátů). Většina (54,5 %) byla identifikována jako VanA *E. faecium*, 4 izoláty byly identifikovány jako VanB *E. faecalis* a jeden jako VanB *E. faecium*. Molekulárně-genetické analýzy prokázaly vysokou variabilitu u humánních i animálních izolátů VRE bez znaků příbuznosti těchto dvou zdrojů.

#### LITERATURA

- Bardoň, J., Kolář, M., Vágnerová, I., Čekanová L. 2006. Rezistence k antibiotikům u kmenů *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus* sp. a *Enterococcus* sp. izolovaných v chovech telat. *Veterinářství*. 56: 249 – 252.
- Bardoň, J., Kolář, M., Schlegelová, J., Vágnerová, I., Koukalová, D., Petrželová, J. 2007: Rezistence vůči antimikrobiálním látkám u kmenů *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp. a *Enterococcus* spp. izolovaných z potravin živočišného původu. *Veterinářství*. 57: 260 – 263.
- Bardoň, J., Mlynářčík, P., Procházková, P., Röderová, M., Mezerová, K., Kolář, M. 2018. Occurrence of bacteria with a dangerous extent of antibiotic resistance in poultry in the Central Region of Moravia. *Acta Vet. Berno*, 87: 165-172.
- Hermanovská, L., Bardoň, J., Čermák, P. (2016): Problematika vankomycin rezistentních enterokoků – podstata rezistence a riziko přenosu zo zvířat na člověka. *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství*. 2016;22: 54 – 60.
- Kolář, M., Bardoň, J., Vágnerová, I., Hájek, V., Bzdil, J., Kohnová, I., Typovská, H. 2000: Occurrence of vancomycin-resistant enterococci in hens in the Central region of Moravia. *Veterinární medicína*. 45: 93 – 97
6. Kolar, M., Pantucek, R., Bardon, J., Cekanova, L., Kesselova, M., Sauer, P., Vagnerova, I., Koukalova, D. 2005. Occurrence of vancomycin-resistant enterococci in humans and animals in the Czech Republic between 2002 and 2004. *Journal of Medical Microbiology*. 54: 965 - 967.

**Poděkování:** Práce byla podpořena projektem AZV MZČR č. NV18-05-00340.

**Kontaktní adresa:** doc. MVDr. Jan Bardoň, Ph.D., MBA, Státní veterinární ústav Olomouc, Jakoubka ze Stříbra č. 1, 779 00 Olomouc, Czech Republic, E-mail: jbardon@svuol.cz

# VÝSKYT MYKOTOXÍNOV V POTRAVINÁCH A KRMIVÁCH V ROKOCH 2015-2018 OCCURRENCE OF MYCOTOXINS IN FOOD AND FEED IN THE YEARS 2015-2018

*Ivana Bartalosová, Lucia Martinkovičová*

**Abstract:** Mycotoxins are toxic compounds that are naturally produced by certain types of moulds. Moulds that can produce mycotoxins grow on numerous commodities of plants such as cereals, dried fruits, nuts and spices. Mould growth can occur either before harvest or after harvest, during storage, often under warm, damp and humid conditions. Most mycotoxins are chemically stable and survive food processing. Mycotoxins can cause a variety of adverse health effects and pose a serious health threat to both humans and livestock. Maximum levels for mycotoxins in food are regulated in Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006. In feed are maximum levels for mycotoxins regulated in our national legislation. The presented data point to the range of monitoring aflatoxins, ochratoxin A, patulin, fumonisins, zearalenone, T-2 toxin, HT-2 toxin, nivalenol and deoxynivalenol and highlight critical commodities of foodstuffs. Collected data are obtained from results of monitoring diagnostic activities of VFI in Bratislava in the years 2015-2018.

**Keywords:** mycotoxins, moulds, food, feed

## ÚVOD

Mykotoxíny, produkty toxinogénnych mikroskopických húb, kontaminujú celý rad potravín rastlinného aj živočíšneho pôvodu a krmív. Predstavujú vážny problém v celom svete a záujem o tieto prírodne sa vyskytujúce látky je kvôli ich poškodzujúcim, až karcinogénnym účinkom nielen na ľudské zdravie, ale aj na zdravie zvierat. Mikroskopické huby napádajú širokú škálu plodín, ako sú obilniny, koreniny, orechy, ovocie, káva a podobne. Toxické a iné zdravie škodlivé efekty mykotoxínov sú vo všeobecnosti závislé od ich obsahu a opakovanej expozície organizmu voči nim. Z toho dôvodu sú práve niektoré mykotoxíny predmetom spoločnej európskej potravinárskej legislatívy. Typ a koncentrácia mykotoxínov je závislá hlavne od klimatických podmienok a zloženia substrátu. Vzhľadom na neustále sa meniace klimatické podmienky na celom svete je dôležité sledovať a vyhodnocovať trendy výskytu jednotlivých mykotoxínov.

## CIEĽ PRÁCE

Cieľom práce bolo sledovanie výskytu mykotoxínov - aflatoxíny B1-G2, aflatoxín M1, ochratoxín A, zearalenon, deoxynivalenol, nivalenol, T-2 a HT-2 toxín, fumonizín B1, B2 a patulín v potravinách a krmivách v rámci nasávacej oblasti VPÚ v Bratislave v sledovanom období rokov 2015-2018.

## MATERIÁL A METÓDY

Pre kontrolu obsahu mykotoxínov v potravinách rastlinného a živočíšneho pôvodu a v krmivách sú dostupné medzilaboratórne validované analytické postupy a kontrola ich obsahu v rizikových potravinách a v krmivách je v plánoch organizácií zodpovedných za uplatňovanie potravinárskej legislatívy. Princíp stanovenia mykotoxínov spočíva v správnom odbere vzorky a následnej homogenizácii v zmysle platnej EU legislatívy, v prečistení vzorky na imunoafinitnej kolónke, elúcii vzorky z imunoafinitnej kolóny vhodným rozpúšťadlom,



zakoncentrování vzorky a následnom stanovení pomocou kvapalinovej chromatografie s využitím fluorescenčného detektora, prípadne UV a diode-array detektora.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Kontrola hodnôt obsahu mykotoxínov v potravinách sa vykonáva v zmysle platnej európskej legislatívy: Nariadenie Komisie (ES) č. 1881/2006 z 19. decembra 2006, ktorým sa ustanovujú maximálne hodnoty obsahu niektorých kontaminantov v potravinách v znení neskorších predpisov. Pri odbere vzoriek sa postupuje podľa Nariadenia Komisie (ES) č. 401/2006 z 23. februára 2006, ktorým sa stanovujú metódy odberu vzoriek a analytické metódy na úradnú kontrolu hodnôt mykotoxínov v potravinách. Pre krmivá sa posúdenie hodnôt obsahu mykotoxínov vykonáva podľa národnej legislatívy: Nariadenie vlády SR zo dňa 21. júna 2006 č. 438/2006 o nežiadúcich látkach v krmivách a o iných ukazovateľoch bezpečnosti a použiteľnosti krmív, v znení neskorších predpisov a pri odbere vzoriek sa postupuje podľa Nariadenia Komisie (ES) č. 691/2013 z 19. júla 2013, ktorým sa mení a dopĺňa nariadenie (ES)

č. 152/2009 o metódach odberu vzoriek a analytických metódach. Prezentácia poskytuje prehľad analyzovaných vzoriek mykotoxínov a zvyrazňuje počty nevyhovujúcich vzoriek v jednotlivých komoditách. Najčastejšie analyzovanou komoditou bola skupina orechov a olejnatých semien na prítomnosť aflatoxínov B1-G2. Zaznamenali sme výskyt nevyhovujúcich vzoriek v tejto komodite. Ročne sa v tejto komodite vyšetrilo približne 130 - 180 vzoriek, z celkového počtu vzoriek 740 - 840. V roku 2015 sa nevyhovujúce nálezy týkali komodít pistácie (6 vzoriek), arašidy (2 vzorky) a jednej vzorky lieskovcov. V roku 2016 sa vyskytli nevyhovujúce nálezy v komoditách arašidy (6 vzoriek), pistácie (4 vzorky) a sušené datle (1 vzorka). V roku 2017 sa tiež vyskytlo najviac nevyhovujúcich nálezov v komodite arašidy (3 vzorky), v komoditách figy a lieskovce sa zachytila jedna nevyhovujúca vzorka. V roku 2018 sa nevyhovujúce nálezy vyskytli najviac v komoditách pistácie (5 vzoriek), arašidy (3 vzorky) a v jednej vzorke korenia. Menšie množstvo nevyhovujúcich vzoriek sa zaznamenalo aj pri ochratoxíne A hlavne v sušených hrozienkach. Vo vzorkách krmív sa zachytili v roku 2015 nevyhovujúce nálezy pre deoxynivalenol (5 vzoriek) a zearalenon (2 vzorky). Nevyhovujúce nálezy zearalenonu sa objavili ešte v roku 2016 v dvoch vzorkách krmív. V roku 2015 sa vyskytol jeden nevyhovujúci nález fumonizínu B1, B2 v pukancovej kukurici. Nevyhovujúce nálezy pre T-2, HT-2 toxín, patulín, aflatoxín M1 a nivalenol sa v sledovanom období nevyskytli.

## ZÁVER

Získané výsledky obsahu mykotoxínov z nasávacej oblasti VPÚ v Bratislave poukazujú na dôležitosť monitoringu obsahu mykotoxínov vzhľadom na výskyt nevyhovujúcich nálezov vo viacerých komoditách rastlinného pôvodu. Najväčší počet nevyhovujúcich vzoriek sa v každom sledovanom roku týkal prítomnosti aflatoxínov B1-G2. Nálezy aflatoxínov B1-G2, ktoré presiahli maximálne hodnoty obsahu vo vzorke sa vyskytli najmä v komoditách: arašidy, pistácie, lieskovce a sušené figy.

## LITERATÚRA

Nariadenie Komisie (ES) č. 1881/2006 z 19. decembra 2006, ktorým sa ustanovujú maximálne hodnoty obsahu niektorých kontaminantov v potravinách v znení neskorších predpisov.  
Nariadenie vlády SR zo dňa 21. 6. 2006 č. 438/2006 o nežiadúcich látkach v krmivách a o iných ukazovateľoch bezpečnosti a použiteľnosti krmív, v znení neskorších predpisov.  
Nariadenie Komisie (ES) č. 401/2006 z 23. februára 2006, ktorým sa stanovujú metódy odberu vzoriek a analytické metódy na úradnú kontrolu hodnôt mykotoxínov v potravinách.

Nariadenie Komisie (ES) č. 691/2013 z 19. júla 2013, ktorým sa mení a dopĺňa nariadenie (ES) č.152/2009 o metódach odberu vzoriek a analytických metódach.

Vladimír Betina, Mykotoxíny, vydavateľstvo Alfa Bratislava, 1990, s. 39-51.

WHO (World Health Organization), Mycotoxins, 9. May 2018, 1-4. Available online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mycotoxins>.

**Kontaktná adresa:** Ing. Ivana Bartalossová, Štátny veterinárny a potravinový ústav, Veterinárny a potravinový ústav v Bratislave, Botanická 15, 842 52 Bratislava, [ibartalossova@svuba.sk](mailto:ibartalossova@svuba.sk)

# PROBIOTIKÁ VERSUS ANTIBIOTIKÁ V AKVAKULTÚRE PROBIOTICS VERSUS ANTIBIOTICS IN AQUACULTURE

*Adriána Fečkaninová, Mette Sørensen, Jana Koščová, Dagmar Mudroňová, Soňa Gancarčíková, Peter Popelka*

**Abstract:** An effective probiotic must comply with criteria which determine its effect. The aim of this work was to isolate lactic acid bacteria from the intestinal content of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and atlantic salmon (*Salmo salar*) subsequently potentially used as probiotics in order to improve health status of fish during fish farming or antibiotic treatment. The isolates of *Lactobacillus plantarum* R4, R9, F2 and F6 had the highest production of organic acids. The isolates should be tested for properties that are important criteria for fish probiotic candidates.

**Key words:** fish farming, lactic acid bacteria, identification, organic acids, antimicrobial agents

## ÚVOD

Akvakultúra je neustále rastúce odvetvie a za ostatných desať rokov sa stala dôležitou hospodárskou aktivitou v mnohých krajinách. V podmienkach intenzívnej produkcie sú ryby vystavené vysokému stresu, čím sa zvyšuje výskyt ochorení, ktorý spôsobuje pokles produktivity. Bakteriálne ochorenia vo veľkej miere ohrozujú prosperitu chovu rýb. Masívne používanie antimikrobiálnych látok, predovšetkým antibiotík, pri liečbe a prevencii chorôb zvyšuje selektívny tlak na mikroorganizmy a povzbudzuje prirodzený vznik bakteriálnej rezistencie. Rezistentné patogénne baktérie rýb predstavujú problém tak v sektore akvakultúry, ako aj v prípade transferu génov rezistencie na baktérie patogénne pre ľudí. Bolo navrhnutých niekoľko alternatívnych stratégií pre použitie antibiotík, pričom medzi nové bezpečné riešenia zaraďujeme aj využitie probiotických mikroorganizmov, pomocou ktorých je možné v akvakultúre modulovať nielen zloženie črevnej mikrobiológie vodných živočíchov, ale aj mikrobiálne osídlenie vodného prostredia, a tým zvýšiť obranyschopnosť vodných organizmov.

Cieľom práce bola izolácia kyslomliečnych baktérií z črevného obsahu pstruha dúhového (*Oncorhynchus mykiss*) a lososa atlantického (*Salmo salar*) a následne identifikácia baktérií a stanovenie produkcie organických kyselín.

## MATERIÁL A METÓDY

### **Odber a mikrobiologické vyšetrenie vzoriek**

V práci bolo použitých šesťdesiat zdravých juvenilných jedincov pstruha dúhového (*Oncorhynchus mykiss*) a šesťdesiat zdravých juvenilných jedincov lososa atlantického (*Salmo salar*), ktoré boli odobraté z rybochovného zariadenia. Po usmrtení rýb, mechanickým omráčením a prerušením miechy (podľa štatútu etickej komisie Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach), sa asepticky odobrali vzorky črevného obsahu za účelom mikrobiologického vyšetrenia.

Zo vzorky každej ryby bolo odobratých 0,5 g navážky črevného obsahu. Jednotlivé navážky boli riedené desiatkovým riedením ( $10^{-1} - 10^{-8}$ ) vo fyziologickom roztoku. Následne boli riedenia (0,1 ml) rovnomerne naočkované sterilnou rozotieracou kľučkou na povrch MRS agarovej platne (deMan, Rogosa, Sharpe agar; HiMedia, India). Inkubácia prebehla za anaeróbných podmienok (v anaerostate) pri 37 °C počas 48 hod. za účelom izolovania kyslomliečnych baktérií.

### **Identifikácia izolovaných baktérií pomocou MALDI-TOF MS**

Chemotaxonomická identifikácia bola vykonaná na prístroji Microflex LT (Bruker Daltonics GmbH, Lipsko, Nemecko) pomocou softvéru FlexControl (verzia 3.0). Spektrá získané z každého izolátu boli importované do softvéru Biotyper verzia 3.0 (Bruker Daltonics GmbH, Lipsko, Nemecko, verzia databázy 3.3.1.0) a analyzované pomocou databázy referenčných spektier medicínsky významných bakteriálnych druhov. Skóre v rozmedzí 2,300 až 3,000 bolo považované za vysoko spoľahlivú identifikáciu druhu, hodnoty medzi 2,000 a 2,299 boli hodnotené ako bezpečná identifikácia rodu a pravdepodobná identifikácia druhu, skóre od 1,700 po 1,999 zodpovedalo pravdepodobnej identifikácii rodu a skóre < 1,7 bolo považované za nespoľahlivú identifikáciu.

### **Stanovenie koncentrácie organických kyselín**

Určenie koncentrácie organických kyselín sme vykonali odobratím 18-hodinovej kultúry izolátov v PYG bujóne, ktorá bola scentrifugovaná (4500 ot/min/40 min) (ROTINA 420R, Nemecko) pri 22 °C a následne prefiltrovaná mikrobiologickým filtrom (priemer 0,2 µm) (Sartorius stemid). Na prípravu vzorky bol odobratý 1 ml supernatantu, ktorý bol zriedený deionizovanou vodou na objem 50 ml. Na analýzu organických kyselín sme použili 30 µl takto pripravenej vzorky.

Kapilárna izotachoforéza bola použitá na stanovenie produkcie kyseliny mliečnej, octovej a acetocetovej. Na meranie bol použitý izotachoforetický analyzátor ZKI 01 (Villa Labeco, Slovensko).

## **VÝSLEDKY A DISKUSIA**

Vine, Leukes a Kaiser (2006) určili zoznam vlastností, ktoré by mali kandidáti baktérií pre probiotické použitie v akvakultúre spĺňať. Tieto selekčné kritériá boli rozšírené podľa Merrifield et al. (2010). Medzi základné vlastnosti, ktoré kandidát probiotík musí spĺňať patrí: nepatogénnosť mikroorganizmov (a to nielen k danému druhu hostiteľa, ale tiež voči iným vodným živočíchom a človeku ako spotrebiteľovi), neprítomnosť génov rezistencie na antibiotiká, a rezistencia voči pôsobeniu žlče a nízkemu pH.

Po kultivácii jednotlivých riedení črevného obsahu pstruha dúhového sme z MRS agaru odobrali kolónie, ktoré sa líšili farbou (sivá, sivobiela, krémová), veľkosťou (prevažne stredne veľké) a mali pravidelné okraje.

Na druhovú identifikáciu pomocou analýzy MALDI-TOF MS bolo vybratých 14 izolátov kyslomliečnych baktérií izolovaných z črevného obsahu pstruha (označené ako R1 – R14) a 9 izolátov kyslomliečnych baktérií izolovaných z črevného obsahu lososa (označené ako F1 – F9) (Tabuľka 1).

Pomocou MALDI-TOF MS boli izoláty zaradené do rodu *Lactobacillus* a druhovo medzi: *L. plantarum* (R1, R2, R4, R8, R9, F1 – F8), *L. fermentum* (R3, R5), *L. brevis* (R6) a *L. rhamnosus* (R7). Identifikované boli aj laktokoky a enterokoky, ale keďže laktobacily sa častejšie využívajú v preparátoch pre akvakultúru, kvôli ich prospešným vlastnostiam, ktoré opísal Farzanfar (2006), rozhodli sme sa pokračovať v testovaní s izolátmi laktobacilov R1 – R9 a F1 – F7.

Závažný problém multirezistencie patogénnych kmeňov lososovitých rýb bol preukázaný na niekoľkých farmách (Okere et al., 2014; Orozova et al., 2014; Balta et al., 2016). Z týchto dôvodov sa hľadajú nové bezpečné riešenia využívajúce predovšetkým látky prírodného pôvodu, ktoré by neznižovali kvalitu produktov akvakultúry a súčasne nezaťažovali životné prostredie (Newaj-Fyzul et al., 2014).

**Tabuľka 1** Identifikované izoláty kyslomliečnych baktérií

<b>Izolát</b>	<b>Identifikovaný druh</b>	<b>Hodnota skóre</b>
R1	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1,833
R2	<i>Lactobacillus plantarum</i>	2,403
R3	<i>Lactobacillus fermentum</i>	2,140
R4	<i>Lactobacillus plantarum</i>	2,354
R5	<i>Lactobacillus fermentum</i>	2,038
R6	<i>Lactobacillus brevis</i>	2,350
R7	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	2,141
R8	<i>Lactobacillus plantarum</i>	2,223
R9	<i>Lactobacillus plantarum</i>	2,333
R10	<i>Lactococcus lactis</i> spp. <i>cremoris</i>	2,233
R11	<i>Lactococcus lactis</i> spp. <i>cremoris</i>	2,251
R12	<i>Lactococcus lactis</i> spp. <i>cremoris</i>	2,337
R13	<i>Pediococcus acidilactici</i>	1,783
R14	<i>Lactococcus lactis</i> spp. <i>cremoris</i>	2,219
F1	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1,787
F2	<i>Lactobacillus plantarum</i>	2,179
F3	<i>Lactobacillus plantarum</i>	2,216
F4	<i>Lactobacillus plantarum</i>	2,273
F5	<i>Lactobacillus plantarum</i>	2,242
F6	<i>Lactobacillus plantarum</i>	2,264
F7	<i>Lactobacillus plantarum</i>	2,317
F8	<i>Lactobacillus plantarum</i>	2,087
F9	<i>Enterococcus faecium</i>	2,252

Antimikrobiálne účinky majú aj produkty kyslomliečnych baktérií – organické kyseliny. Heterofermentatívne druhy laktobacilov produkujú okrem kyseliny mliečnej vo vyšších koncentráciách aj kyselinu octovú a acetoctovú. Napr. kyselina octová má väčší antagonistický účinok voči kvasinkám ako kyselina mliečna. Inhibičný účinok organických kyselín je spôsobený hlavne nedisociovanou formou molekúl. Toxický účinok organických kyselín je vyvolaný znížením pH a narušením vonkajších membrán baktérií (Šuškovič et al., 2010).

V našej práci najvyššiu produkciu organických kyselín vykazovali izoláty R4, R9, F2 a F6 (Tabuľka 2).

## ZÁVER

V práci boli vyizolované a identifikované autochtónne baktérie rýb. Najvyššiu produkciu organických kyselín vykazovali izoláty R4, R9, F2 a F6. Je však ešte potrebné vykonať ďalšie selekčné kritériá pre výber izolátov s najlepšimi probiotickými vlastnosťami za účelom ich použitia pri prevencii chorôb v akvakultúre.

**Tabuľka 2** Produkcia organických kyselín izolátmi

	Kyselina mliečna (mmol.L <sup>-1</sup> )	Kyselina octová (mmol.L <sup>-1</sup> )	Kyselina acetocetová (mmol.L <sup>-1</sup> )
R1	59,66	26,92	6,64
R2	48,39	18,05	8,32
R3	21,34	16,71	8,05
R4	74,77	20,07	7,58
R5	46,66	22,82	8,39
R6	20,81	20,13	7,52
R7	19,48	12,21	8,19
R8	55,30	11,00	6,43
R9	68,13	10,24	7,08
F1	44,83	33,96	10,74
F2	61,34	53,56	15,03
F3	59,33	47,65	12,21
F4	44,03	41,88	9,40
F5	59,19	56,51	12,35
F6	67,11	48,05	13,02
F7	43,49	40,00	10,27

#### LITERATÚRA

- Balta, F., Balta, Z. D., Özgümüş, O.B., Çağırğan, H. 2016. The Antimicrobial resistance and investigation of *Yersinia ruckeri* from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in the Eastern Black Sea Region. *Journal of Anatolian Environmental & Animal Sciences*, vol. 1, no. 3, p. 72-76.
- Farzanfar, A. 2006. The use of probiotics in shrimp aquaculture. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, vol. 48, no. 2, p. 149-158. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2006.00116.x>
- Merrifield, D. L. et al. 2010. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture*, vol. 302, p. 1-18. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.02.007>
- Newaj-Fyzul, A., Al-Harbi, A.H., Austin, B. 2014. Review: Developments in the use of probiotics for disease control in aquaculture. *Aquaculture*, vol. 431, p. 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.08.026>
- Okere, N. C., Odeniyi, A.O., Adeyemo, K.O. 2014. Antibiotic Sensitivity Pattern of Pathogenic Bacterial Isolates from Diseased *Clarias gariepinus* from Selected Ibadan and Ikorodu Farms. *Journal of Basic and Applied Sciences*, vol. 10, p. 439-448. <http://dx.doi.org/10.6000/1927-5129.2014.10.58>
- Orozova, P., Chikova, V., Sirakov, I. 2014. Diagnostic and antibiotic resistance of *Yersinia ruckeri* strains isolated from trout fish farms in Bulgaria. *International Journal of Development Research*, vol. 4, no. 12, p. 2727-2733.
- Šuškovič, J. et al. 2010. Antimicrobial Activity – The Most Important Property of Probiotic and Starter Lactic Acid Bacteria. *Food Technology and Biotechnology*, vol. 48, no. 3, p. 296-307.
- Vine, N. G., Leukes, W.D., Kaiser, H. 2006. Probiotics in marine larviculture. *FEMS Microbiology Reviews*, vol. 30, no. 3, p. 404-427. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2006.00017.x>

**Pod'akovanie:** Táto práca bola realizovaná vďaka finančným prostriedkom z projektu VEGA reg. č. 1/0161/17.

**Kontaktná adresa:** PharmDr. Adriána Fečkaninová, PhD., Katedra hygieny a technológie potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, e-mail: [Adriana.Feckaninova@uvlf.sk](mailto:Adriana.Feckaninova@uvlf.sk)

# HODNOCENÍ MIKROBIOLOGICKÉ KVALITY PROSTŘEDÍ VÝROBNÍCH STŘEDISEK V PROVOZOVNÁCH STRAVOVACÍCH SLUŽEB

## ASSESSMENT OF MICROBIOLOGICAL QUALITY OF THE ENVIRONMENT AT FOOD SERVICE FACILITIES

*Josef Kameník, Kateřina Bogdanovičová, Jan Strejček, Kateřina Dorotíková*

**Abstract:** The aim of this study was to investigate the occurrence of foodborne agents at food service facilities in the Czech Republic. The sampling was performed during the 2016-2018 period focusing on the microbiological monitoring of the environment at the establishment (EFS; n = 151) and the hands of staff (HFS; n = 125). The analysis targeted the presence of the following bacteria: *Escherichia coli* focusing on the presence of STEC (Shiga-like toxicogenic *Escherichia coli*), *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. A swab method using sterile abrasive sponges was used to detect bacteria in the EFS a glove-juice method was used to monitor microbial contamination on the HFS. The presence of *E. coli* was confirmed in 11.6 % of samples (13.2 % in the EFS, 9.6 % on the HFS). The presence of STEC was not confirmed in the samples. *B. cereus* was detected most frequently – in a total of 41.3 % of samples taken (51.7 % in the EFS, 28.8% on the HFS). The relatively high percentage of *B. cereus* and *S. aureus* isolates from the EFS corresponded with the same model as stated in the final EFSA reports on the occurrence of foodborne disease outbreaks in the EU. Managers of food service facilities should focus their attention on reducing the occurrence of *B. cereus* and *S. aureus*.

**Keywords:** *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, glove-juice method

### 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, 2017; EFSA, 2018; Schlinkmann et al., 2017). Nejčastější příčinou hromadných alimentárních onemocnění jsou bakteriální původci, příp. bakteriální toxiny, pokud se podaří epidemiologickým šetřením průvodce prokázat (EFSA 2017; 2018). V roce 2017 patřili mezi nejčastější bakteriální původce hromadných alimentárních onemocnění v EU zástupci rodu *Salmonella*, *Campylobacter* a STEC (EFSA, 2018). Podle Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2003/99/ES o sledování zoonóz a jejich původců patří mezi sledované zoonózy včetně jejich původců v členských státech EU mimo jiné kampylobakterióza, listerióza, salmonelóza a jejich původci a verotoxigenní *E. coli*. Cílem studie bylo zhodnotit výskyt bakterií *E. coli* se zaměřením na STEC, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. a *Listeria monocytogenes* ve vybraných provozovnách stravovacích služeb v ČR.

### MATERIÁL A METODY

V období 2016-2018 bylo analyzováno celkem 11 provozoven stravovacích služeb (8 provozoven z kategorie závodní stravování, 2 školní jídelny, 1 hotelová restaurace). Technika odběrů vzorků byla prováděna na základě stěrů z pracovních ploch pomocí sterilní abrazivní houbičky (n=151) a mikrobiologický stav rukou pracovníků (n=125) byl sledován pomocí tzv. glove-juice metody (Waterman et al., 2006). Vzorky byly analyzovány na přítomnost následujících bakterií: *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. a *Listeria monocytogenes*. Celkem bylo analyzováno 276 odebraných vzorků.

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 a konfirmace suspektních kmenů *B. cereus* byla provedena metodou polymerázové řetězové reakce (PCR), a to detekcí genu *gyrB* kódujícího podjednotku B DNA gyrasy. Ke konfirmaci druhového určení byla použita metoda MALDI-TOF. 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 a konfirmace suspektních kmenů *S. aureus* byla provedena metodou polymerázové řetězové reakce (PCR), a to detekcí specifického úseku SA442. 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 pufované 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 A DISKUSE

Z prostředí osmi provozoven stravovacích služeb kategorie závodního stravování (n=94) byl nejčastěji izolován *B. cereus* (48,9 % vzorků), dále potom *S. aureus* (19,1 % vzorků) a *E. coli* (16,0 %). Personál těchto provozoven (celkem vyšetřeno 72 vzorků povrchů rukou) byl kontaminován bakteriemi *B. cereus* v menší míře, než tomu bylo u vzorků prostředí (viz. tab.). V případě *S. aureus* a *E. coli* (12,5 %) byly izoláty uvedených bakterií získány v přibližně shodných podílech, jako tomu bylo ze vzorků prostředí. V žádném vzorku nebyla prokázána *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* nebo STEC.

V případě prostředí dvou školních kuchyní (n=50) bylo 58 % vzorků pozitivních na přítomnost *B. cereus*, 46 % pozitivních na *S. aureus* a 8 % na *E. coli*. V jednom případě byla izolována *Salmonella* Agona (stěr rukojeti očílky v hrubé přípravě masa; opakovaný stěr po 20 dnech byl již negativní). Ruce personálu poskytl nepatrně nižší podíly záchytu izolátů ve srovnání s prostředím. *L. monocytogenes* nebo STEC nebyly zjištěny v žádném odebraném vzorku. Sumární výsledky uvádí tabulka 1.

Bakteriální toxiny jiné než *Clostridium botulinum* byly uvedeny jako původci 830 hromadných onemocnění z potravin v EU v r. 2016, na druhém místě za bakteriemi rodu *Salmonella* spp., jestliže se původce hromadného onemocnění podařilo identifikovat (EFSA, 2017). Mezi významné bakteriální druhy se schopností tvořit toxiny patří druhy *B. cereus* a *S. aureus*. Izoláty obou bakteriálních druhů byly nejčastěji detekovány v této studii z prostředí provozoven stravovacích služeb (51,7 % a 29,1 %) i rukou personálu (28,8 % a 28,0 %). Primárním zdrojem *B. cereus* bývají potraviny rostlinného původu, jako saláty nebo zelenina (Petruzzelli et al., 2018). Odtud se tyto bakterie mohou dostávat do prostředí provozoven a následně kontaminovat personál. Tomu odpovídal vyšší záchyt izolátů *B. cereus* z prostředí (51,7 %) v porovnání k personálu (28,8 %;  $P < 0,01$ ). Zdrojem bakterií *S. aureus* bývá člověk, u kterého se stafylokoky vyskytují na kůži nebo na sliznici dutiny nosní (Pu et al., 2009). To



mohlo být patrně příčinou srovnatelného záchytu izolátů *S. aureus* z rukou personálu (28,0 %) v porovnání k stěrům z prostředí (29,1 %).

Tab.1 Výsledky analýz výrobního prostředí provozoven stravovacích služeb na vybrané původce alimentárních onemocnění

Typ provozovny	charakter vzorku	n	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.
závodní stravování (n=8)	prostředí	94	46 (48,9%)	18 (19,1%)	15 (16,0%)	0
	personál	72	13 (18,1%)	13 (18,1%)	9 (12,5%)	0
školní stravování (n=2)	prostředí	50	29 (58,0%)	23 (46,0%)	4 (8,0%)	1
	personál	49	22 (44,9%)	19 (38,8%)	3 (6,1%)	0
restaurace (n=1)	prostředí	7	3 (42,9%)	3 (42,9%)	1 (14,3%)	0
	personál	4	1	3	0	0
celkem (n=11)	prostředí	151	78 (51,7%)	44 (29,1%)	20 (13,2%)	1 (0,7%)
	personál	125	36 (28,8%)	35 (28,0%)	12 (9,6%)	0

## ZÁVĚR

Přínosem tohoto projektu bylo získání údajů o aktuálním výskytu potenciálních původců alimentárních onemocnění v prostředí stravovacích služeb. Zjištění úrovně kontaminace a zejména zjištění zdrojů této kontaminace v prostředí provozoven stravovacích služeb může být významné pro zavedení preventivních opatření v praxi.

## LITERATURA

- 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.
- EFSA 2018. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA Journal* 2017; 16 (12): 5500.
- Petruzzelli, A., A. Osimani, S.Tavoletti, F. Clementi, V.Vetrano, S. Di Lullo, F. Paolini, M. Foglini, E. Micci, N. Oraziotti, T. Luchetti, F. Tonucci. 2018. Microbiological quality assessment of meals and work surfaces in a school-deferred catering system. *International Journal of Hospitality Management*, 68: 105-114.
- Pu, S., F. Han, B. Ge. 2009. Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from Louisiana retail meats. *Applied and Environmental Microbiology*, 75:265-267.
- 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.
- Waterman, T. R., Smeak, D. D., Kowalski, J., Hade, E. M. 2006. Comparison of bacterial counts in glove juice of surgeons wearing smooth band rings versus those without rings. *American Journal of Infection Control*, 34, 421-425.

**Poděkování:** Tato práce byla financována grantem IGA VFU Brno 233/2018/FVHE.

**Kontaktní adresa:** doc. MVDr. Josef Kameník, CSc., MBA, Ústav gastronomie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, VFU Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno

## SCREENING OF ANTIBIOTIC AND COCCIDIOSTAT RESIDUES IN TABLE EGGS

*Ivona Kožárová, Shay Yardeny, Daniela Juščáková*

**Abstract:** Food of animal origin shall not include antibiotic residues at levels that will not cause any effect on consumer health. Premi<sup>®</sup>Test is a commercial microbial inhibition test used for the rapid screening of antibiotic residues in various products of animal origin including eggs at the level of interest (in compliance with maximum residue limits). As this test still forms the first line of defence in monitoring the presence of antibiotic residues in food of animal origin in the EU, the main objective of this study was to use this test for the screening of antibiotic and coccidiostats residues in table eggs obtained from Israel. Out of the 47 samples of fresh table eggs collected from 6 different producers, 32 samples were tested in total. Our results showed that 2 eggs (6.25 %) were tested positive, 8 eggs (25 %) dubious and 21 eggs (68.75 %) negative. The higher number of positive and dubious results were probably detected as a consequence of using antibiotic growth promoters and ionophores in laying hens in Israel. Israel has a slightly different set of regulations and the higher levels of maximum residue limits, therefore, a confirmatory analysis must be performed to make a decision about the fitness of eggs for human consumption.

**Keywords:** antibiotic residues, eggs, screening, Premi<sup>®</sup>Test, Israel

### INTRODUCTION

The EU requires by law that foodstuffs such as meat, milk or eggs must not contain residue levels of veterinary medicines or biocidal products that might represent a hazard to the health of the consumer (<https://www.ema.europa.eu/en/maximum-residue-limits-0>). Regulation (EC) No. 470/2009 lays down the rules and procedures for the establishment of MRLs and Commission Regulation (EU) No. 37/2010 classifies pharmacologically active substances regarding their MRLs. MRL is defined as the maximum concentration of a residue of a pharmacologically active substance which may be permitted in food of animal origin. At present, 11 antimicrobial substances are allowed to be found in eggs with specific MRL for each one of them.

The use of antimicrobials in laying hens could result in the persistence of residues in eggs. Different studies demonstrating the excretion of respective antimicrobials have been performed after their oral medication of laying hens. The conclusion was that residues of antimicrobials could persist in eggs several days after medication in drinking water. Therefore, the detection of antimicrobial residues in eggs is especially of great interest both for its impact on public health (Gaudin *et al.*, 2009).

Most EU Member States implement microbial inhibition tests for the screening of antibiotic residues in eggs (Gaudin *et al.*, 2017). Microbial-based tests are preferable today because they are capable of detecting a wide range of antimicrobials used in veterinary medicine in various food matrices simultaneously. With regards to their excellent practicality and throughput, they allowed us to classify a large number of samples as being either positive or negative. The samples showing positive responses are subject to further investigation by a specific confirmatory method that provides full or complementary information enabling the substance to be unequivocally identified and, if necessary, quantified at the level of interest (Commission Decision No. 2002/657/EC, Gondová *et al.*, 2014).

Among the commercial microbial inhibition tests, the Premi<sup>®</sup>Test developed by DSM Food Specialties (Delft, the Netherlands), now part of the R-Biopharm (Darmstadt, Germany) product line as of 2011, is officially approved for the screening of food-producing animals and their products for residues of antimicrobial substances in many EU Member States,

including Slovakia. Premi<sup>®</sup>Test allows us to screen meat (beef, pork, poultry), fish, shrimps, eggs, liver, kidney, urine and feed for the residues of  $\beta$ -lactams, cephalosporines, macrolides, tetracyclines, sulphonamides, aminoglycosides, quinolones, amphenicoles and polypeptides (<https://food.r-biopharm.com/products/premitest-25/>) and based on the results obtained in our studies also for the residues ionophore coccidiostats (Kožárová *et al.*, 2008, Tkáčiková *et al.*, 2010, Pániková *et al.*, 2014. Krišová a Kožárová, 2018).

In Israel, testing of residues in food of animal origin is mostly aligned with the protocols and requisites stated by the EU in Commission Decision 2002/657/EC however, at present, no screening tests are performed prior to conducting the more expensive confirmatory analysis. Because Premi<sup>®</sup>Test is applied in the first stage of monitoring the presence of antibiotic residues in food of animal origin in Slovakia, the aim of this study was to use and evaluate this screening test for the detection of antibiotic and coccidiostat residues in table eggs from different Israeli supermarkets.

## MATERIALS AND METHODS

### Sample material

A total of 47 table egg samples from 6 different Israeli producers were collected. The eggs were stored in the refrigerator at 4 °C until analysis. For the first screening, 9 supermarket eggs were selected. For the second screening, a total of 15 eggs containing 3 organic eggs, 3 free range eggs and 9 sale points eggs were selected. For the third screening, yolk and white of the organic eggs from the second screening and 2 new organic egg samples from the same batch/producer were selected and screened. For the fourth screening, 6 new organic eggs from a different batch of the same organic eggs producer were selected and screened. In total, 32 egg samples were screened out of the total amount of collected eggs.

### Preparation of egg samples

Eggs from each batch were randomly selected. The shell was cracked manually and the content was separated into whole egg content, egg yolk and egg white and placed into separate clean glass tubes. The sample were thoroughly homogenized. For initial screening, only the whole homogenized eggs were used while the egg yolk and egg white were stored in a freezer at -20 °C to be tested in the case of positive results reached.

### Premi<sup>®</sup>Test procedure

Premi<sup>®</sup>Test was performed according to the Premi<sup>®</sup>Test sample procedure for eggs. A syringe with a set volume of 100  $\mu$ l supplied with the kit was used. 100  $\mu$ l of the homogenised sample was transferred to the surface of the agar in the ampoule by pressing the syringe and releasing it. The ampoule top part was closed and sealed with the plastic foil supplied with the kit. The ampoules were placed into a thermoblock (Acublock Digital Dry Bath D 1200, Labnet, USA) and pre-incubated at 80 °C for 10 minutes. This heat pre-treatment is required for the inactivation of the presence of naturally occurring inhibitors in egg interfering with the test results. After this heat pre-treatment, the ampoules were further incubated at 64 °C  $\pm$  0.5 °C for approximately 3 hours. The incubation was terminated when the color of the agar medium in the negative control sample turned from purple to yellow.

### Reading the Premi<sup>®</sup>Test results

A clear color change from purple to yellow indicates that antibiotics are below the Premi<sup>®</sup>Test detection limits and the sample was considered negative. A purple color indicates that antibiotics are at or above the Premi<sup>®</sup>Test detection limits and the sample was considered positive. The samples with the light shades of purple color were considered dubious. In all cases where the whole homogenized egg samples were considered positive or dubious, further screening of separated egg yolk and egg white of suspected eggs were performed again.

## RESULTS AND DISCUSSION

The results of the screening of table eggs for the presence of antibiotic residues using the Premi<sup>®</sup>Test are presented in Table 1 - 4. Table 1 shows the results of the screening of 9 homogenized egg samples from the same package purchased from one sale point. Table 2 shows the results of the screening of 15 homogenized egg samples from 5 different batches (3 free range eggs /10, 11, 12/, 3 organic eggs /13, 14, 15/, and 9 sale points eggs /16 – 24/). Table 3 shows the results of the screening of egg yolks and egg whites of the organic egg samples tested positive in the second round of testing /13, 14, 15 /including the results of the screening of all other organic eggs from the same batch /25, 26/. Table 4 shows the results of the comprehensive screening of 6 new organic eggs from the same producer.

**Table 1. Results from screening first batch of egg samples**

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Result	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Note: - negative result.

**Table 2. Results from screening second batch of egg samples**

No.	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Result	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Note: + positive results, - negative results.

**Table 3. Results from screening third batch of egg samples**

No.	13		14		15		25			26		
	W	Y	W	Y	W	Y	W	Y	H	W	Y	H
Result	±	+	±	-	+	+	-	±	-	-	±	-

Note: + positive results, - negative results, ± dubious results, W - egg white, Y - egg yolk, H - homogenized whole egg.

**Table 4. Results from screening fourth batch of egg samples**

No.	27			28			29			30			31			32		
	W	Y	H	W	Y	H	W	Y	H	W	Y	H	W	Y	H	W	Y	H
Result	-	-	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	±	±	±	±	-	-

Note: + positive results, - negative results, ± dubious results, W - egg white, Y - egg yolk, H - homogenized whole egg.

The results presented in our study indicated the presence of antibiotic residues in table eggs intended for human consumption. The positive results from the second round of testing and further testing individual components of organic eggs from the same source have all shown either positive or dubious finding. Extensive studies were conducted in the past for trying to conclude whether specific antibiotic substances will be deposited in the yolk, or in the albumen (egg white), or in both (egg yolk and egg white) although the MRLs given by the EU are for the whole egg (the egg white and yolk homogenized and tested together). Both egg yolk and egg white serve as a residue accumulation site (Goetting *et al.*, 2011). Many drugs deposit preferentially in the yolk (Lohajová *et al.*, 2006) or white (Kan and Petz, 2000), depending on the drug's physicochemical properties. Screening the whole homogenized eggs for the presence of antibiotic residues can often give false negative results.

## CONCLUSIONS

This study was conducted for screening of antibiotic and coccidiostat residues in table eggs collected from local farms and local supermarkets within the state of Israel using the Premi<sup>®</sup> test. The results showed that out of the 32 egg samples tested in total, 2 samples from

organic eggs farm showed positive results and 8 samples from the same farm showed dubious results after screening individual components of these eggs, i.e. egg yolk and egg white separately. Using the Premi<sup>®</sup> test, it was not possible to determine the specific substance/s responsible for positive or dubious results. However, we can assume that positive and dubious results were probably detected as a result of the use of antibiotic growth promoters and ionophorous coccidiostats in laying hens in Israel. Israel have a slightly different set of regulations and higher MRLs than the ones in the EU. Also, adding up our results from the literature, we can assume that the fact that positive and dubious results were observed in larger numbers in egg yolks, egg yolks can be suspected for the presence of coccidiostat residues as it was presented in the studies published by Kan and Petz (2000) and Mortier *et al.* (2005) dealing with distribution of residues of coccidiostats between egg yolk and egg white.

#### REFERENCES

- Commission Regulation (EU) No 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuff of animal origin. *Official Journal of the European Union*, L15, 2010, p. 1 - 72.
- Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. *Official Journal of European Union*, L221, 2002, p. 8 - 36.
- Gaudin, V., Hedou, C., Rault, A., Sanders, P., Verdon, E. 2009. Comparative study of three screening tests, two microbiological tube tests, and a multi-sulphonamide ELISA kit for the detection of antimicrobial and sulphonamide residues in eggs. *Food Additives and Contaminants*, 26, 4, p. 427 - 440.
- Gaudin, V., Rault, A., Hedou, C., Soumet, C., Verdon, E. , 2017. Strategies for the screening of antibiotic residues in eggs: comparison of the validation of the classical microbiological method with an immunobiosensor method. *Food Additives and Contaminants*, Part A 34, 9, p. 1510 - 1527.
- Goetting, V., Lee, K. A., Tell, L. A. Pharmacokinetics of veterinary drugs in laying hens and residues in eggs: a review of the literature. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2011, 34, 6, p. 521 - 556.
- Gondová, Z., Kožárová, I., Poláková, Z., Maďarová, M. Comparison of four microbiological inhibition tests for the screening of antimicrobial residues in the tissues of food-producing animals. *Italian Journal of Animal Science*, 2014, 13, 4, p. 728 - 734.
- <https://food.r-biopharm.com/products/premitest-25/>
- <https://www.ema.europa.eu/en/maximum-residue-limits-0>
- Kan, C. A., Petz, M. Residues of veterinary drugs in eggs and their distribution between yolk and white. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000, 48, 12, p. 6397 - 6403.
- Kožárová, I., Sýkorová Goffová, Z., Máté, D. Detection of maduramycin residues in the tissues of broiler chicken by using the Premi<sup>®</sup> Test and the STAR. *Slovak Journal of Animal Science*, 2008, 41, p. 206.
- Krišová, M., Kožárová, I. Detection of residues of antimicrobial compounds in eggs by the rapid screening methods. *Folia Veterinaria*, 2018, 62, 3, p. 48 - 55.
- Lohajová, E., Nagy, J., Rózaňska, H., Popelka, P., Jevinová, P. Suitability of Star and Premi<sup>®</sup>Test for the detection of amoxicillin residues in laying hens. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 2006, 13, p. 367 - 371.
- Pániková, A., Kožárová, I., Nagy, J. The use of Premi<sup>®</sup>Test in the screening of coccidiostat residues in poultry meat. *Folia Veterinaria*, 58, 2, 2014, p. 119 - 121.
- Regulation (EC) No. 470/2009 of 6 May 2009 on laying down Community procedures for the establishment of residue limits of pharmacologically active substances in foodstuffs of animal origin, repealing Council Regulation (EEC) No 2377/90 and amending Directive 2001/82/EC of the European Parliament and of the Council and Regulation (EC) No 726/2004 of the European Parliament and of the Council. *Official Journal of the European Union*, L152, 2009, p. 11 - 22.
- Tkáčiková, S., Kožárová, I., Máté, D. 2010. Liquid chromatography tandem chromatography- tandem mass spectrometry determination of maduramycin residues in the tissues of broiler chickens. *Food Additives and Contaminants*, Part A, 27, p. 1226 - 1232.

**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](mailto:ivona.kozarova@uvlf.sk)

# MIKROBIOLOGICKÉ A FYZIKÁLNO-CHEMICKÉ PARAMETRE SLOVENSKÝCH MEDOV

## MICROBIOLOGICAL AND PHYSICO-CHEMICAL PARAMETERS OF SLOVAK HONEY

*Simona Kunová, Miroslava Kačániová, Eubomír Lopašovský, Lucia Zeleňáková*

**Abstract:** The aim of the present study was to determine the physicochemical and microbiological parameters in honey samples. The honeydew honey and blossom honey from domestic production were used. For the analysis of honey with spices, ground cinnamon and ground ginger were used. We determined the water content and titration acidity in honey without the addition of cinnamon and ginger, and in honey with the addition of cinnamon and ginger. We used a plate dilution method for microbiological analysis. We determined the total viable counts (TVC) using Plate Count Agar, the number of coliform bacteria (CB) using VRBL agar and fibrous microscopic fungi (FMF) using DRBC agar. The water content was in honey without cinnamon and ginger, and in honey with cinnamon and ginger were determined by refractive index method. The free acid content was determined by titration in honey without cinnamon and ginger and honey with cinnamon and ginger. The average value of TVC was  $2.54 \log \text{CFU.g}^{-1}$  in samples of honey,  $2.95 \log \text{CFU.g}^{-1}$  in samples of honey with cinnamon and  $2.78 \log \text{CFU.g}^{-1}$  in samples of honey with ginger. The average value of CB was  $0.49 \log \text{CFU.g}^{-1}$  in all samples. The average value of FMF was  $1.50 \log \text{CFU.g}^{-1}$  in samples of honey,  $1.96 \log \text{CFU.g}^{-1}$  in samples of honey with cinnamon and  $1.95 \log \text{CFU.g}^{-1}$  in samples of honey with ginger. The average value of water content was 19.9 % in samples of honey, 19 % in samples of honey with cinnamon and ginger. The average value of titration acidity was 23 mekv.  $\text{kg}^{-1}$  in samples of honey, 18,55 mekv.  $\text{kg}^{-1}$  in samples of honey with cinnamon and 18.13 mekv.  $\text{kg}^{-1}$  in samples of honey with ginger.

**Key words:** honey, cinnamon, ginger, physicochemical and microbiological parameters

### ÚVOD

Med je dôležitý prírodný produkt, ktorý poskytuje priaznivé účinky na ľudské zdravie. Má zloženie pozostávajúce z vysokej koncentrácie cukrov, vody, minerálnych látok, bielkovín, vitamínov, organických kyselín, flavonoidov, fenolových kyselín a enzýmov. Tieto zložky definujú fyzikálne vlastnosti a nutričné vlastnosti samotných výrobkov (Halouzka *et al.*, 2016).

Med je výlučne produktom včiel. Preto legislatívna norma zakazuje pri jeho ponuke používať akékoľvek prívlastky, ktoré by pravosť medu akokoľvek spochybňovali či zdôrazňovali. Tvorcovia uvedenej normy logicky predpokladajú, že výrobok s označením med obsahuje všetko, čo má med obsahovať. Nič v ňom nechýba, ani v ňom nie je nič navyše, čo norma striktno zakazuje. Med z úľa má svoje charakteristiky. K degradácii hodnôt môže dôjsť v procese jeho ďalšieho spracovania, skladovania a balenia (Horák, 2018).

Škorica (*Cinnamomum zeylanicum*), patriaca do čeľade *Lauraceae*, je široko používaná v pikantných pokrmoch, nakladačkách a polievkach (Ranasinghe *et al.*, 2012). Cinnamaldehyd, cinnamylacetát a cinnamylalkohol sú tri hlavné zlúčeniny škorice (Khasnavis *et al.*, 2012). Vďaka svojim antimikrobiálnym aktivitám sa škorica používa aj v kozmetike alebo potravinárskych výrobkoch a tiež sa používa ako

prostriedkov podporujúci zdravie pri liečbe chorôb ako zápal, gastrointestinálne poruchy a infekcie moču (Liu et al., 2017).

Zázvor (*Zingiber officinale*), patriaci do čeľade *Zingiberaceae* (Liu et al., 2017). Široko sa používa ako zložka v potravinárskom, farmaceutickom, kozmetickom a inom priemysle. Niektoré prchavé zlúčeniny, ktoré sú zodpovedné za antimikrobiálnu aktivitu v zázvoroch, sú á-pinén, borneol, campén a linalool (Sa-Nguanpuag et al., 2011).

V mede nájdeme baktérie a ďalšie mikroorganizmy, ktoré sú bežné v okolitom prostredí. Ich celkové množstvo zodpovedá hygienickej úrovni včelárskeho fungovania a zariadenia pre vytáčanie a spracovanie medu (Veselý et al., 2013).

Zdrojom baktérii alebo kvasiniek v plástovom mede sú včely, nektár, medovice alebo vonkajšie zdroje. Ekosystém v okolí včelínu býva rozmanitý vrátane rozmanitosti mikroorganizmov. V pôde môžeme nájsť *Actinetobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter* a *Vagococcus*. Vo vzduchu a prachu sa vyskytuje *Bacillus*, *Clostridium* a *Micrococcus*. Niektoré spóry v mede môžu mať pôvod v umelom dokrmovaní včiel cukrom. Údaje o sekundárnych zdrojoch mikrobiálnej kontaminácie medu nie sú príliš rozsiahle, ale prevedené analýzy poukazujú na to, že sekundárna kontaminácia je výraznejšia ako primárna. Medzi sekundárne zdroje sa radia ľudia, náradie, nádoby, vietor, prach (v priebehu spracovania), hmyz, zvieratá a voda. Vysoká kontaminácia medu spravidla poukazuje na kontamináciu sekundárnu (Snowdon et al., 1996).

Cieľom práce bolo stanoviť vybrané fyzikálno-chemické a mikrobiologické parametre v štyroch druhoch medu: medovicový, repkový, slnečnicový a lipový s prídavkom mletej škorice a zázvoru.

## METODIKA PRÁCE

V práci sme sa zamerali na stanovenie vybraných mikrobiologických a fyzikálno-chemických ukazovateľov kvetových, medovicových medov a kvetových a medovicových medov s prídavkom mletej škorice a zázvoru. Z každej vzorky sme odobrali 5 g medu. Do jednej zo vzoriek sme pridali 0,5 g škorice a do druhej 0,5 g zázvoru. Z mikrobiologických parametrov sme sledovali celkový počet mikroorganizmov (CPM), počet koliformných baktérií (PKB) a vláknité mikroskopické huby (VMH). Na kultiváciu celkového počtu mikroorganizmov sme použili GTK agar (agar s glukózou, tryptónom a kvasničným extraktom), Petriho misky sme kultivovali hore dnom pri teplote  $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $72 \pm 3$  h. Stanovenie celkového počtu mikroorganizmov sme vykonali v súlade s STN ISO 4833-1. Na kultiváciu koliformných baktérií sme použili VČŽL agar (agar s kryštálovou violeťou, neutrálnou červeňou, žlčovými soľami a laktózou). Petriho misky sme kultivovali hore dnom pri teplote  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$  h. Stanovenie koliformných baktérií sme vykonali v súlade s STN ISO 4832. Na kultiváciu VMH sme použili DRBC agar (agar s bengálskou červeňou a chloramfeniklom), inkubácia prebiehala v aeróbnych podmienkach pri teplote  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  po dobu 3-5 dní. Stanovenie vláknitých mikroskopických húb sme vykonali v súlade s STN ISO 21527-2.

Z fyzikálno-chemických parametrov sme sledovali titračnú kyslosť medov a obsah vody v medoch. Získané výsledky sme porovnávali s legislatívou (Vyhláška č. 41/2012 a Výnos č. 06267/2006). Titračnú kyslosť sme stanovili roztokom NaOH, ako indikačné činidlo sme použili fenolftaleín. K 10 g medu sme pridali 75 ml destilovanej vody a 5 kvapiek fenolftaleínu a za stáleho miešania sme titrovali 0,1 N roztokom NaOH do

ružového zafarbenia, ktoré vydrží 10 sekúnd. Kyslosť je vyjadrená ako miliekvivalent kyseliny na 100 g medu. Spotreba ml 0,1 N NaOH pri titrácii 10 g medu udáva priamo počet ml 1N NaOH spotrebovaných k neutralizácii kyselín v 100 g medu.

Obsah vody v mede sme stanovili meraním lomu svetla vo vrstve medu pomocou refraktometra. Obsah vody sme stanovili pri teplote 20 °C. Pri meraní sme medzi hranoly refraktometra naniesli kvapku medu a linku tvoriacu rozhranie svetla a tmavej plochy sme zaostrili a porovnali so stupnicou prístroja. Na analýzu sme použili 4 druhy medu: zmiešaný lesný, repkový, lipový a slnečnicový.

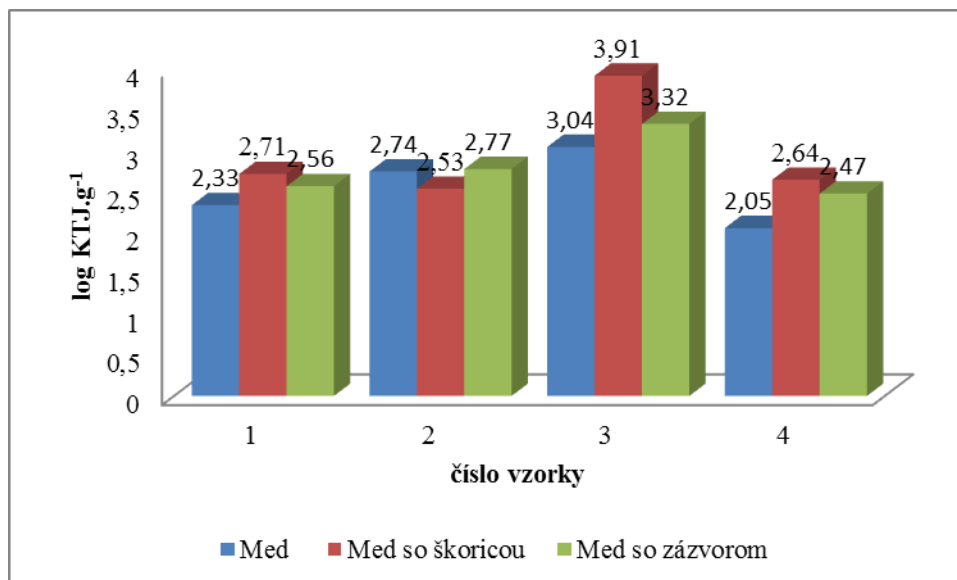
Spolu sme analyzovali 12 vzoriek medov:

- 4 vzorky medu (lesný, repkový, lipový, slnečnicový),
- 4 vzorky medu so škorickou,
- 4 vzorky medu so zázvorom.

Výsledky boli hodnotené v programe STATGRAPHICS a MS Office Excel 2010. V práci boli použité štatistické metódy základnej štatistiky, ako sú aritmetický priemer, smerodajná odchýlka, štandardná chyba, variačný koeficient.

### VÝSLEDKY A DISKUSIA

Hodnoty CPM vo vzorkách medu sa pohybovali od 2,05 log KTJ.g<sup>-1</sup> vo vzorke č. 4 do 3,04 log KTJ.g<sup>-1</sup> vo vzorke č. 3. Hodnota CPM vo vzorkách medu so škorickou sa pohybovala od 2,53 log KTJ.g<sup>-1</sup> vo vzorke č. 1 do 3,91 log KTJ.g<sup>-1</sup> vo vzorke č. 3. Hodnoty CPM vo vzorkách medu so zázvorom boli v rozmedzí od 2,47 log KTJ.g<sup>-1</sup> vo vzorke č. 4 do 3,32 log KTJ.g<sup>-1</sup> vo vzorke č. 3 (obrázok 1). Priemerná hodnota CPM vo vzorkách medu bola 2,54 log KTJ.g<sup>-1</sup>, vo vzorkách medu so škorickou 2,95 log KTJ.g<sup>-1</sup> a vo vzorkách medu so zázvorom 2,78 log KTJ.g<sup>-1</sup> (tabuľka 1).



**Obrázok 1** Celkový počet mikroorganizmov v mede

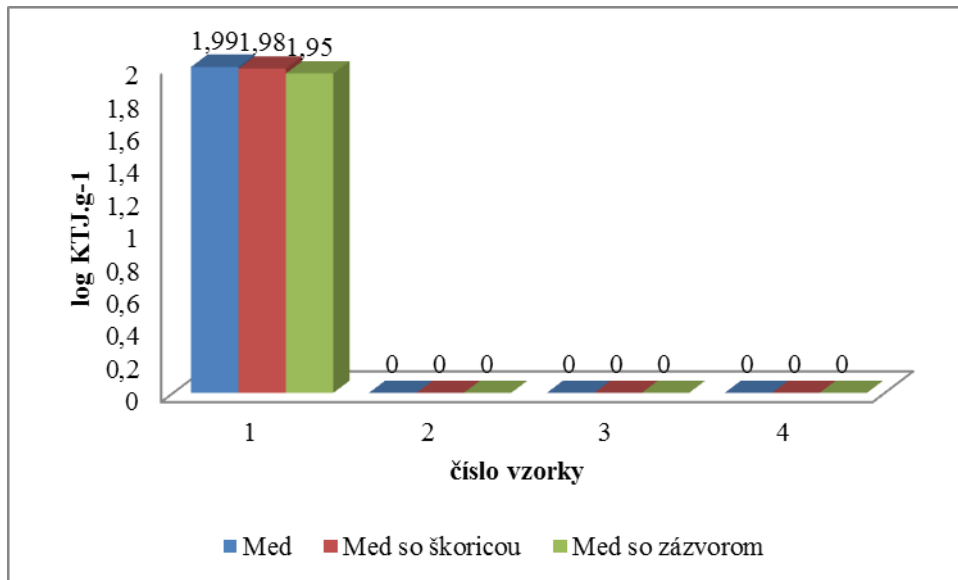
V porovnaní s legislatívou (Výnos č. 06267/2006) všetky vzorky nespĺňajú požiadavky obchodnej sterility.

Kňazovická et al. (2010) uvádzajú počet CPM v medovicovom mede zo Slovenska od prvovýrobcu 2,11 log KTJ.g<sup>-1</sup>, čo sa zhoduje s našimi výsledkami. Pri kvetových medoch uvádzajú hodnotu CPM od 1,38 do 2,27 log KTJ.g<sup>-1</sup>. Tieto hodnoty



CPM sú nižšie ako naše stanovené hodnoty pre kvetové medy. Pavelková et al. (2013) stanovili v medoch zo Slovenska počet CPM v repkovom mede  $1,66 \log \text{KTJ.g}^{-1}$  a  $2,37 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ , v medovicovom mede  $1 \text{KTJ.g}^{-1}$  a  $1,9 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ .

Hodnoty KB vo vzorkách medu sa pohybovali od  $0 \log \text{KTJ.g}^{-1}$  vo vzorke č. 2, 3, 4 do  $1,99 \log \text{KTJ.g}^{-1}$  vo vzorke č. 1. Hodnoty KB vo vzorkách medu so škoricom sa pohybovali od  $0 \log \text{KTJ.g}^{-1}$  vo vzorke č. 2, 3, 4 do  $1,98 \log \text{KTJ.g}^{-1}$  vo vzorke č. 1. Hodnoty KB vo vzorkách medu so zázvorom boli v rozmedzí od  $0 \log \text{KTJ.g}^{-1}$  vo vzorke č. 2, 3, 4 do  $1,95 \log \text{KTJ.g}^{-1}$  vo vzorke č. 1 (obrázok 4).



**Obrázok 2** Počet koliformných baktérií v mede

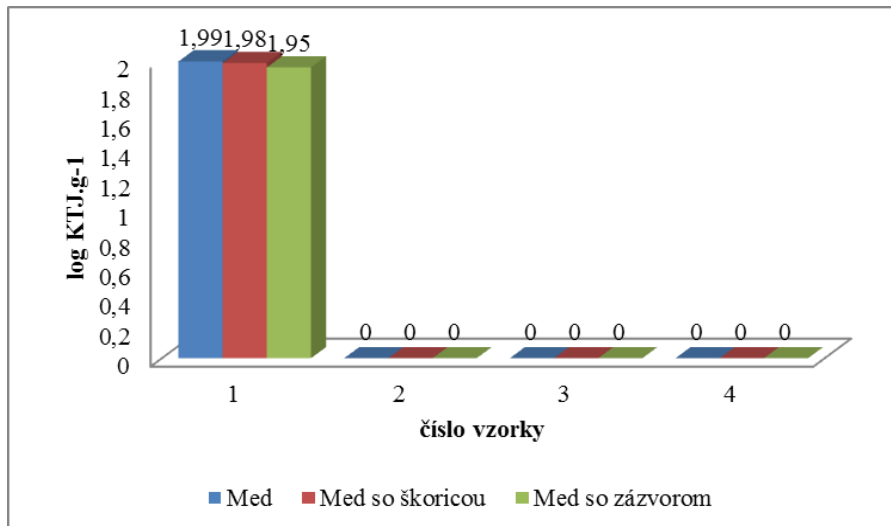
Priemerná hodnota PKB vo vzorkách medu, vo vzorkách medu so škoricom a tiež vo vzorkách medu so zázvorom bola  $0,49 \log \text{KTJ.g}^{-1}$  (tabuľka 1).

Pazdera (2014) v medovicových a kvetových medoch z domácej produkcie nestanovil KB. Fernández et al. (2017) nezistili KB vo vzorkách medu z regiónu Pampas v Argentíne.

V medovicovom mede so škoricom a zázvorom bol počet KB vyšší v porovnaní s medom bez pridania škorice a zázvoru. V kvetových medoch so škoricom a zázvorom sa počet KB nezmenil. V porovnaní s legislatívou (Výnos č. 06267/2006) vzorky medovicového a kvetového medu vyhovujú požiadavkám kritériám hygieny procesu výroby pre včelí med.

V medovicovom i kvetovom mede so škoricom a zázvorom nenastala zmena v počte KB v porovnaní s medom bez pridania škorice a zázvoru. V porovnaní s legislatívou (Výnos č. 06267/2006) naše výsledky vyhovovali požiadavkám kritériám hygieny procesu výroby pre včelí med.

Hodnoty VMH vo vzorkách medu sa pohybovali od  $1,27 \log \text{KTJ.g}^{-1}$  vo vzorke č. 4 do  $2,11 \log \text{KTJ.g}^{-1}$  vo vzorke č. 2. Hodnoty VMH vo vzorkách medu so škoricom sa pohybovali od  $1,69 \log \text{KTJ.g}^{-1}$  vo vzorke č. 1 do  $2,26 \log \text{KTJ.g}^{-1}$  vo vzorke č. 4. Hodnoty VMH vo vzorkách medu so zázvorom sa pohyboval od  $1,39 \log \text{KTJ.g}^{-1}$  vo vzorke č. 4 do  $2,35 \log \text{KTJ.g}^{-1}$  (obrázok 3).



**Obrázok 6** Počet vláknitých mikroskopických húb v mede

Priemerná hodnota VMH vo vzorkách medu bola 1,50 log KTJ.g<sup>-1</sup>, vo vzorkách medu so škoricou 1,96 log KTJ.g<sup>-1</sup> a vo vzorkách medu so zázvorom 1,95 log KTJ.g<sup>-1</sup> (tabuľka 1).

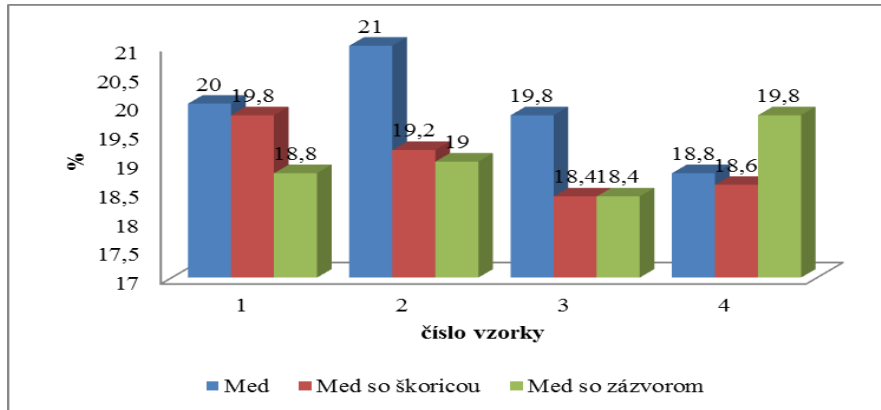
Fernández et al. (2017) stanovili vo vzorkách medov hodnotu VMH od 1 log KTJ.g<sup>-1</sup> do 1,69 log KTJ.g<sup>-1</sup>. Kačániová et al. (2012) v medovicových a kvetových medoch so Slovenska neurčili prítomnosť VMH. Taktiež Kňazovická et al. (2010) neurčili v medovicových a kvetových medoch prítomnosť VMH.

V medovicovom i kvetovom mede so škoricou a zázvorom sa hodnota VMH zvýšila v porovnaní s medom bez pridania škorice a zázvoru. Medovicové i kvetové medy so škoricou a zázvorom mali hodnoty VMH vyššie ako Fernández et al. (2017).

**Tabuľka 1** Základné štatistické charakteristiky CPM, PKB, VMH (log KTJ.g<sup>-1</sup>)

	Max.	Min.	x	s	V %
<b>Med</b>					
CPM	3,04	2,05	2,54	0,38	14,92
PKB	1,99	0	0,49	0,86	173,2
VMH	2,11	1,27	1,50	0,35	23,18
<b>Med so škoricou</b>					
CPM	3,91	2,53	2,95	0,56	18,98
PKB	1,98	0	0,49	0,86	173,2
VMH	2,26	1,69	1,96	0,23	11,9
<b>Med so zázvorom</b>					
CPM	3,32	2,47	2,78	0,33	11,88
PKB	1,95	0	0,49	0,84	173,2

Hodnota obsahu vody vo vzorkách medu sa pohybovala od 18,8 % vo vzorke č. 4 do 21 % vo vzorke č. 2. Hodnota obsahu vody vo vzorkách medu so škoricou bola v rozmedzí od 18,4 % vo vzorke č. 3 do 19,8 % vo vzorke č. 1. Hodnota obsahu vody vo vzorkách medu so zázvorom sa pohybovala v rozmedzí od 18,4 % vo vzorke č. 3 do 19,8 % vo vzorke č. 1 (obrázok 4). Priemerný obsah vody vo vzorkách medu bol 19,9 %, vo vzorkách medu so škoricou a so zázvorom 19 % (tabuľka 2).



**Obrázok 4** Obsah vody v mede

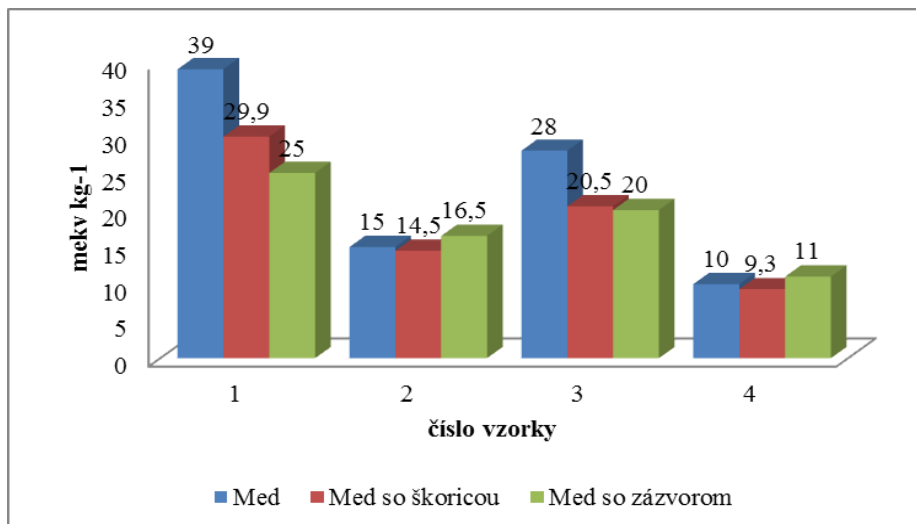
Kasperová et al. (2012) uvádzajú obsah vody kvetových medov od maloobchodníkov a včelárov 18,21 %. V medovicových medoch stanovili obsah vody 17,86 % a v repkových medoch namerali obsah vody 19,2 %.

V porovnaní s legislatívou (Vyhláška č. 41/2012) spĺňali požiadavky na najvyšší obsah vody 20 % všetky vzorky, okrem repkového pastovaného medu, ktorý mal obsah vody 21 %. V medovicovom i kvetovom mede so škoricou sa obsah vody znížil vo všetkých vzorkách medu. V medovicovom i kvetovom mede so zázvorom sme zaznamenali pokles obsahu vody vo všetkých vzorkách, okrem repkového kryštalizovaného, kde sa obsah vody zvýšil.

**Tabuľka 2** Základné štatistické charakteristiky obsahu vody (%) a titračnej kyslosti (mekv. kg<sup>-1</sup>)

	Max.	Min.	x	s	V %
<b>Med</b>					
Obsah vody	21	18,8	19,9	0,78	3,92
Titračná kyslosť	39	10	23	11,34	49,29
<b>Med so škoricou</b>					
Obsah vody	19,8	18,4	19	0,55	2,88
Titračná kyslosť	29,9	9,3	18,55	7,65	41,28
<b>Med so zázvorom</b>					
Obsah vody	19,8	18,4	19	0,51	2,68

Hodnota titračnej kyslosti vo vzorkách medu z domácej produkcie sa pohybovala od 10 mekv. kg<sup>-1</sup> vo vzorke č. 4 do 39 mekv. kg<sup>-1</sup>. Hodnota titračnej kyslosti vo vzorkách medu so škoricom sa pohybovala v rozmedzí od 9,3 mekv. kg<sup>-1</sup> do 29,9 mekv. kg<sup>-1</sup> vo vzorke č. 1. Hodnota titračnej kyslosti vo vzorkách medu so zázvorom sa pohybovala v rozmedzí od 11 mekv. kg<sup>-1</sup> vo vzorke č. 4 do 25 mekv. kg<sup>-1</sup> vo vzorke č. 1 (obrázok 5). Priemerná titračná kyslosť vo vzorkách medu bola 23 mekv. kg<sup>-1</sup>, vo vzorkách medu so škoricom 18,55 mekv. kg<sup>-1</sup> a vo vzorkách medu so zázvorom 18,13 mekv. kg<sup>-1</sup> (tabuľka 2).



**Obrázok 10** Titračná kyslosť v mede z domácej produkcie

Boussaid et al. (2018) uvádzajú titračnú kyslosť v šiestich vzorkách z Tuniska v rozmedzí od 7,11 mekv kg<sup>-1</sup> do 27,2 mekv kg<sup>-1</sup>.

V medovicových i kvetových medoch so škoricom sa titračná kyslosť znížila v porovnaní s medom bez pridania škorice a zázvoru. V medovicovom i kvetovom mede so zázvorom sa titračná kyslosť znížila a v repkových medoch sa zvýšila. Medovicové i kvetové medy vyhovujú legislatívnym požiadavkám (Vyhláška č. 41/2012) na maximálnu titračnú kyslosť 50 mekv kg<sup>-1</sup>.

## ZÁVER

Vykonanými analýzami sme zistili, že z mikrobiologického hľadiska po pridaní škorice a zázvoru sa zvýšila hodnota celkového počtu mikroorganizmov a vláknitých mikroskopických húb. Naopak po pridaní škorice a zázvoru sa počet koliformných baktérií znížil. Analýzami sa potvrdilo, že koreniny môžu byť kontaminované rôznymi mikroorganizmami, čo môže byť zapríčinené zlými hygienickými a skladovacími podmienkami. Pokles mikroorganizmov nastal len pri počte koliformných baktérií a v niektorých prípadoch v prípade celkového počtu mikroorganizmov a vláknitých mikroskopických húb. Analyzované vzorky medu nespĺňajú požiadavky obchodnej sterility na počet CPM podľa Výnosu č. 06277/2006, ale spĺňajú požiadavky na kritéria hygieny procesu výroby.

Po pridaní škorice a zázvoru do medov sa znížil obsah vody a titračná kyslosť v medoch z domácej produkcie, naopak v medoch z obchodnej siete sa obsah vody a titračná kyslosť zvýšili. Pokles obsahu vody hodnotíme pozitívne, pretože čím je

obsah vody v mede nižší, tým sa zvyšuje kvalita medu. Vykonané fyzikálno-chemické analýzy dokázali, že med spĺňa požiadavky Vyhlášky MPRV SR č. 41/2012.

#### LITERATÚRA

- Boussaid, A., Chouaibi, M., Rezig, L., Hellal, R., Dons, F., Ferarri, G., Hamdi, S. 2018. Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. In *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 11, no. 2, pp. 265-274. ISSN 1878-5352.
- Fernández, L. A., Ghilardi, C., Hoffman, B., Busso, C., Gallez, L. M. 2017. Microbiological quality of honey from the Pampas Region (Argentina) throughout the extraction process. In *Revista Argentina de Microbiología*, vol. 49, no. 1, pp. 55-61. ISSN 0325-7541.
- Halouzka, R., Tarkowki, P., Zeljković Čavar, S. 2016. Characterisation of Phenolics and other Quality Parameters of Different Types of honey. In *Food Technology and Economy, Engineering and Physical Properties*, vol. 34, pp. 244-253. ISSN 1805-9317.
- HORÁK, O. 2018. Test medov odhalil neviditeľné slabiny kvality. In *Včelár*, roč. 92, č. 2, s. 30-32 ISSN 01396064
- Kačániová, M., Hleba, L., Džugan, M., Pasternakiewicz, A., Kňazovická, V., Pavelková, A., Felsöciová, S., Petrová, J., Rovná, K., Kluz, M., Grabek-Lejko, D. 2012. Microbiological properties and antimicrobial effect of slovakian and polish honey having regard to the water activity and water content. In *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, vol. 2, no. 1, pp. 272-281. ISSN 1338-5178.
- Kasperová, J., Nagy, J., Popelka, P., Dičáková, Z., Nagyová, A., Maľa, P. 2012. Physico-chemical indicators and identification of selected Slovak honeys based on colour measurement. In *Acta Veterinaria*, vol. 81, no. 1, pp. 57-61.
- Khasnavis, S., Pahan, K. 2012. Sodium Benzoate, a Metabolite of Cinnamon and a Food Additive, Upregulates Neuroprotective Parkinson Disease Protein DJ-1 in Astrocytes and Neurons. In *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, vol. 7, no. 2, pp. 424-435. ISSN 1557-1904.
- Kňazovická, V. et al. 2010. Posúdenie mikrobiologickej kvality vzoriek zmiešaných medov zo SR a iných krajín EU. In *Potravinárstvo*, vol. 4, no. 1, pp. 410-416 [cit. 2018-03-1]. ISSN 1337-0960.
- Liu, Q., Meng, X., Li, Y., Zhao, C., Tang, G., Li, H. 2017. Antibacterial and Antifungal Activities of Spices. In *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 18, no. 6, pp. 1283. ISSN 1422-0067.
- Pavelková, A., Kačániová, M., Čuboň, J., Švecová, Z., Kňazovická, V., Felsöciová, S. 2013. Physicochemical And Microbiological Quality Of Honey From Liptov Region. In *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, vol. 2, no. 1, pp. 1185-1193. ISSN 1338-5178.
- Pazdera, L. 2014. *Mikrobiologické aspekty medu: bakalárska práca*. Brno: Masarykova univerzita. 79 p.
- Ranasinghe, P., Jayawardana, R., Galappaththy, P., Constantine, G. R., De Vas Gunawardana, N., Katulanda, P. 2012. Efficacy and safety of 'true' cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) as a pharmaceutical agent in diabetes: a systematic review and meta-analysis. In *Diabetic medicine*, vol. 29, no. 12, pp. 1480-1492. ISSN 1464-5491.
- Sa-Nguanpuag, S., Kanlayanarat, S., Srilaong, V., Tanprasert, K., Techavuthiporn, Ch. 2011. Ginger (*Zingiber officinale*) Oil as an Antimicrobial Agent for Minimally Processed Produce: A Case Study in Shredded Green Papaya. In *International Journal of Agriculture & Biology*, vol. 13, no. 6, pp. 895-901. ISSN 1814-9596.
- Snowdon, J. A., Cliver, D. O. 1996. Microorganisms in honey. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 31, no. 1-3, pp. 1-26. ISSN 0168-1605.
- Veselý, V. et al. 2013. *Včelárství*. 3. vyd. Praha : Brázda. 257 s. ISBN 978-80-209-0399-0.
- Vyhláška 41/2012 Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky z 26. januára 2012 o mede.
- Výnos Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky zo 6. februára 2006 č. 06267/2006-SL, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky upravujúca mikrobiologické požiadavky na potraviny a na obaly na ich balenie.

**Kontaktná adresa:** doc. Ing. Simona Kunová, PhD., Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, SPU v Nitre, Tr. A.Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: [simona.kunova@uniag.sk](mailto:simona.kunova@uniag.sk)

**SEKCIA 3: Chemická bezpečnosť potravín**

# POTRAVINÁRSKE FARBIVÁ V SÚVISLOSTI S FALŠOVANÍM A BEZPEČNOSŤOU POTRAVIN ŽIVOČÍŠNEHO PÔVODU FOOD COLORS REGARDING FRAUD AND SAFETY OF FOODSTUFFS OF ANIMAL ORIGIN

*Martina Fikselová, Jozef Golian, Martin Mellen*

**Abstract:** Colour is an important attribute as well as a selection criterion when it comes to food choices. This article deals with the definition of colorants, their division, application, safety and fraud focused on foods of animal origin. Since 2018 there is a new Panel at EFSA on Food Additives and Flavourings (FAF) that carries out the safety assessment of food colours. Although all approved food colorants must be safe at defined conditions of use there is found the occurrence of some health adverse effects in human population. Starting in 2015 a dedicated IT application known as the Administrative Assistance and Cooperation System (AAC) has been made available for Member States dealing with fraudulent practices in the agri-food chain, working together with RASFF. In the article can be found products of animal origin in which no colorants can be added, but also cases of animal food fraud found at the European market in terms of colorant usage.

**Key words:** colour, safety, food fraud, EFSA, RASF, AAC

## INTRODUCTION

The use of food colorants to make food more attractive and appetising has been in practice for centuries (Ghorpade et al. 1995). Colour is an important attribute as well as a selection criterion when it comes to food choices; it enhances the appeal towards foods, thus influencing preference, pleasantness and acceptability of food products. It has actually been said that colour is the most outstanding parameter by which the quality of food and flavour are judged (Altinoz and Toptan, 2003).

Colorants as one of the functional group of food additives by legislation (Regulation (EC) No. 1333/2008) are substances which add or restore colour in a food, and include natural constituents of foods and natural sources which are normally not consumed as foods as such and not normally used as characteristic ingredients of food. Preparations obtained from foods and other edible natural source materials obtained by physical and/or chemical extraction resulting in a selective extraction of the pigments relative to the nutritive or aromatic constituents are colours within the meaning of this Regulation as well.

In terms of colours, the „clean label“ ingredients are the colouring foodstuffs, which are defined as a food ingredient derived from a food source processed in such way so as not to selectively extract the pigments, even when used principally for the purpose of coloration of final application. This is a concept originated in EU that cannot be applied in USA, for example, where any ingredient used to provide colour is considered as an additive (Damasio, 2018).

There are two criteria by which food colorants are classified: one classification is based on whether they are natural or artificial and the other criterion is their chemistry, which is based on the functional groups responsible for the colouring effect. Based on the former criterion, food colorants are classified as one of three main groups: natural food colorants, nature-identical colorants and artificial/synthetic colorants. Based on their chemistry, the major foods colours can be grouped within the following classes: flavonoids (main sources fruits and vegetables); indigoid (main source beetroot); and carotenoids (main sources carrots, tomatoes) (Rodriguez-Amaya, 2015).

## **SYNTHETIC /ARTIFICIAL FOOD COLORANTS**

As their name suggests, artificial food colorants are a product of chemical processes in which molecules which are capable of imparting colours to foods are produced or synthesised. The majority of synthetic colorants are hydrophilic and thus water soluble, a property which means they can be introduced in foods without the need for pre-processing. The main classes of synthetic food colours are azo dyes (e.g. amaranth); quinoline (e.g. quinoline yellow); xanthene (e.g. erythrosine); triarylmethanes and indigoid (e.g. indigo carmine) (Rodriguez-Amaya, 2015).

### **SAFETY OF FOOD COLORANTS**

EFSA's Panel on Food Additives and Flavourings (FAF) as a new EFSA panel performs safety evaluations of food colours and other food additives. It involves a review of all available, relevant scientific studies as well as data on toxicity and human exposure, from which the Panel draws conclusions regarding the safety of the substance. Between 2009 and 2016, the previous EFSA's ANS Panel re-evaluated the safety of all previously authorised food colours as part of the re-evaluation of all food additives in use before January 2009. Consideration whether certain food colours are likely to trigger adverse allergic reactions is carried out by EFSA's Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens (NDA).

Dyes used in the food industries are normally sulphonate derivatives of aromatic amines. Sulphonation makes the colour additive more polar, causing it to be poorly absorbable in the alimentary canal system. For this reason, any negative effects on health due to food colouring agents are highly unlikely, unless used in a high dose (Moneret-Vautrin et al., 2002).

However there was indicated an association between the occurrence of asthma, hypersensitivity and urticaria with the synthetic aniline dye tartrazine, even though the findings were not conclusively verified. Amaranth colorants were previously associated with embryo toxicity, renal pelvis hyperplasia and calcification, leading to a ban on their use in foods. Another dye that has been banned is the lipid-soluble formulations of erythrosine because it was linked with the promotion of thyroid tumours in male rats fed this dye. The water-soluble components of erythrosine are however allowed for use in foods, because they are poorly absorbed in the digestive system. Carminic acid (red), annatto (orange) and saffron (yellow) have also been associated with disease conditions such as anaphylaxis, urticaria and angioedema (Moneret-Vautrin et al., 2002).

### **FOOD COLORANTS IN FOOD OF ANIMAL ORIGIN AND FOOD FRAUD**

With the exception of some species of aphids, animals and humans do not synthesize carotenoids de novo, they must be obtained from the diet. Different carotenoid sources are usually provided to laying hens, broiler chickens, salmonoids and crustaceans through the diet, to meet consumer demands and preferences. These sources can come from different origins: extracted from plants, nature identical prepared by total synthesis and by biosynthesis from micro-organisms (Peris, 2018).

However, unprocessed foods (such as meat) belong to the food in which the presence of a food colour may not be permitted by the Regulation (EC) No 1333/2008 (table 1).

Starting from 18 November 2015 a dedicated IT application known as the Administrative Assistance and Cooperation System (AAC) has been made available for Member States. After a successful period of testing dealing with fraudulent practices in the agri-food chain, in 2016 the system was also opened to liaison bodies based on official controls. The AAC and RASFF are working together in synergy to keep the high EU standards for food and feed (The EU Food Fraud Network and the System for Administrative Assistance & Food Fraud, 2016). Similarly to the Rapid Alert System for Food

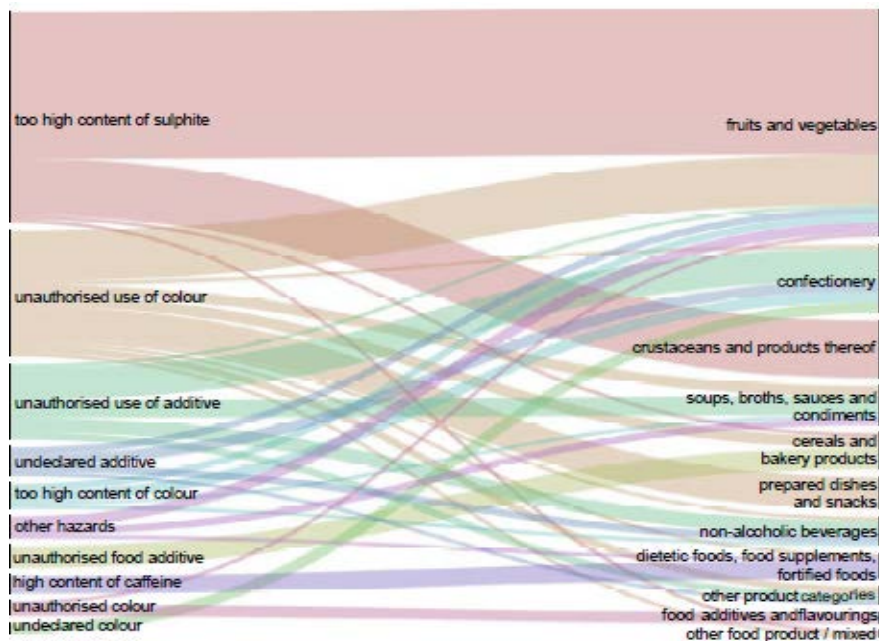


and Feed (RASFF) the AAC is based on a mechanism of submission and validation for which the information is first drafted and then passes two levels of verification within a Member State.

**Table 1 Foods of animal origin in which the presence of a food colour may not be permitted by the Regulation (EC) No 1333/2008**

Milk, full fat, semi-skimmed and skimmed milk, pasteurised or sterilised (including UHT sterilisation) (unflavoured)	Ripened and unripened cheese (unflavoured)
Unprocessed foods	Butter from sheep and goats' milk
Fermented milk (unflavoured)	Eggs and egg products as defined in Regulation (EC) No 853/2004
Preserved milks (unflavoured)	Fish, molluscs and crustaceans, meat, poultry and game as well as their preparations, but not including prepared meals containing these ingredients
Buttermilk (unflavoured)	Honey

**Fig. 1 Food additives cases by RASFF notifications (The Rapid Alert System for Food and Feed, 2017)**



The European Commission was informed by some representatives of the fish industry in the spring of 2016 about two main fraudulent activities in the tuna sector. The second illegal practice was the change of colour with the use of additives (legal substances (*e.g.* vegetables extracts, salts)) or illegal (such as carbon monoxide). These additives transform the fish to present it and sell it as fresh fish. DG SANTE estimated the economic gain generated thanks to these fraudulent practices at 200 million euro/year. Fresh tuna is sold around 12–15€ per kg, whereas canned tuna is worth 4-6€ per kg (The EU Food Fraud Network and the System for Administrative Assistance & Food Fraud, 2017). A total of 156 cases have been exchanged of which 147 concern food and 9 concern feed. Within the cases by product categories dominated meat and

meat products (other than poultry): 28 cases, fish and fish products: 22 cases, poultry and poultry meat products in 19 cases (The EU Food Fraud Network and the System for Administrative Assistance & Food Fraud, 2016).

In Figure 1 there is shown that among food additives by RASFF notifications were recorded problems with unauthorised use of color in case of crustaceans and their products, too high content of colour, unauthorised and undeclared color in other products (The Rapid Alert System for Food and Feed, 2017).

## CONCLUSION

Although all approved colorants are safe at set conditions, there are still problems/deficiencies regarding their use and application. Therefore it is necessary to keep and even improve controls at the borders/trade but also in food processing and labelling.

## REFERENCES

- Altinoz, S. - Toptan, S. 2003. Simultaneous determination of Indigotin and Ponceau-4R in food samples by using Vierordt's method, ratio spectra first order derivative and derivative UV spectrophotometry. In *Journal of Food Composition and Analysis*. [online], vol. 16, no. 4, pp. 517–530. [Cit. 2017-10-25]. ISSN 0889-1575. Available: [https://doi.org/10.1016/S0889-1575\(03\)00022-X](https://doi.org/10.1016/S0889-1575(03)00022-X)
- Damasio, M.H. 2018. Trends in the use of carotenoids to provide colour in food. In *Workshop „Carotenoid in Food, Nutrition and Health“*. Valencia, Book of abstracts., p. 17.
- Ghorpade, V. M. - Deshpande, S. S. - Salunkhe, D. K. 1995. Food colours. In: *Food Additive Toxicology*, Maga, J. A. & Tu, A. T. (eds), Marcel Dekker, New York, pp. 179–233. ISBN 9780824792459
- Moneret-Vautrin, D. A. - Morisset, M. - Lemerdy, P. 2002. Food allergy and IgE sensitization caused by spices: CICBAA data. In *Allergie et Immunologie*. [online], vol. 34, no. 1, pp. 135-140. [Cit. 2017-10-25]. ISSN 0397-9148. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11882-005-0060-6>
- Peris, S. 2018. The use of carotenoids in animal nutrition. In *Workshop „Carotenoid in Food, Nutrition and Health“*. Valencia, Book of abstracts., p. 18.
- The Rapid Alert System for Food and Feed 2017*. Annual Report. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2018. ISBN 978-92-79-80317-8. 58 p.
- Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives*
- Rodriguez-Amaya, D.B. 2015. Natural food pigments and colorants. In *Food Science*. [online], vol. 7, no. 2, pp. 20-26. [Cit. 2017-10-25]. ISSN 2214-7993. Available: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.08.004>
- The EU *Food Fraud Network and the System for Administrative Assistance & Food Fraud*, 2016. Annual Report. European Commission. 19 p. Available at: [https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/food-fraud\\_network\\_activity\\_report\\_2016.pdf](https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/food-fraud_network_activity_report_2016.pdf)
- The EU *Food Fraud Network and the System for Administrative Assistance & Food Fraud*, 2017. Annual Report. European Commission. 17 p. Available at: [https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/food-fraud\\_network\\_activity\\_report\\_2016.pdf](https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/food-fraud_network_activity_report_2016.pdf)
- <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/food-colours>

**Acknowledgement:** This work has been supported by the Slovak Research and Development Agency under the Treaty no. „APVV-17-0508“.

**Kontaktná adresa:** doc. Ing. Martina Fikselová, PhD., KHBP, FBP, SPU Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, E-mail: [martina.fikselova@gmail.com](mailto:martina.fikselova@gmail.com).

## THE EFFECT OF THE ADDITION OF OSMOTIC SUBSTANCES ON THE MINERALS CONTENT IN COOKED SOYBEANS

*Adam Florkiewicz, Ciula Klaudia, Agnieszka Filipiak-Florkiewicz*

**Abstract:** Soybeans are a valuable source not only protein, fat, carbohydrates (including fiber), but also mineral compounds as well as vitamins. The aim of the study was to evaluate influence of osmotic substances (NaCl and KCl) on mineral content (Ca, Mg, Na, K) in cooked soybeans. It was found that the cooking with the addition of osmotic substances, have a significant impact on the content of calcium, sodium as well as potassium.

**Keywords:** *cooked soybeans, the minerals content*

### OBJECTIVES

Legume seeds are a valuable source of protein, fat (soya bean), carbohydrates (including fiber), mineral compounds as well as vitamins. They exceed other vegetables in phosphorus, potassium, calcium and magnesium contents. Also the content of iron and group B vitamins in these seeds is rather high. The chemical composition of species and varieties of legumes is differentiated both in quantity and quality aspects [Filipiak-Florkiewicz et al., 2011]. Opposite to other vegetables, legumes dry seeds are not consumed in a dry state. To make them edible it is necessary to conduct a few hydrothermal processes such as soaking, boiling [Filipiak-Florkiewicz et al. 2012]. A high nutritive value of legume seeds is restricted by a few anti-nutritive factors (*e.g.* trypsin inhibitors, tannins, phytic acid, flatulence-causing oligosaccharides). Moreover, soybeans have allergenic properties. The aim of the study was to evaluate influence of osmotic substances on mineral content in cooked soybeans.

### MATERIAL AND METHODS

The experimental material were dry soybeans (ATLANTA Poland S.A.). The technological treatment was conducted in two stages: soaking (soaking the seeds over with hot water – temp. of about 95°C , ratio 1:4 and leaving them for 2 h), cooking (with addition of sodium chloride: 0,5 %; 1,5 %; 2 %; 3 %) to ready-to-eat softness with electric stove (Mastercook 5E1/0/4A type).

Determinations were made for: dry matter content by drying method [PN-ISO 712:2002]; ash content by burning in a muffle stove, according to PN-ISO 2171:1994; selected mineral components – Ca, Mg, Na, K – by atomic absorption spectrophotometer (Varian AA240FS, Varian), according to PN-EN ISO 6869:2002.

### RESULTS

The highest calcium content was found in soybeans cooked with addition of 0,5 % KCL. Similar amount was determined in the sample cooked with 0.5 % KCl. (Table 1.). Magnesium content was not different depending on the addition of osmotic substances. The soybeans cooked with addition of NaCl and cooked without osmotic substances contained significant less amount of potassium than seed cooked with KCl addition.

Table 1. Mineral content in cooked soybeans

NaCl/KCl concentration [%]	Mineral compound			
	Ca	Mg	Na	K
0,00	2037,23 <sup>ab</sup> ±66,44	1809,56 <sup>a</sup> ±4,94	662,78 <sup>a</sup> ±11,03	11988,56 <sup>a</sup> ±15,03
0,50 NaCl	1998,2 <sup>ab</sup> ±7,02	1800,27 <sup>a</sup> ±9,75	3185,22 <sup>ab</sup> ±5,40	10815,46 <sup>a</sup> ±24,68
1,00 NaCl	1983,76 <sup>ab</sup> ±31,9	1839,40 <sup>a</sup> ±43,58	5834,47 <sup>ab</sup> ±41,67	9784,54 <sup>a</sup> ±134,90
0,50 KCl	2222,4 <sup>b</sup> ±106,60	2024,01 <sup>ab</sup> ±227,57	45,90 <sup>a</sup> ±4,94	16448,61 <sup>b</sup> ±35,52
1,00 KCl	2112,51 <sup>ab</sup> ±93,43	1854,42 <sup>a</sup> ±21,04	46,36 <sup>a</sup> ±13,39	20457,78 <sup>bc</sup> ±295,32

Values in the same columns denoted with different letters: a,b,c,d,e differ statistically significantly at p≤0.05.

### CONCLUSIONS

Cooking with the addition of osmotic substances, have a significant impact on the content of calcium, sodium as well as potassium. Simultaneously both type of salt and its concentration did not significantly affect the content of magnesium in cooked soybeans.

### REFERENCES

- Filipiak-Florkiewicz A., Forkiewicz A., Cieřlik E., Wałkowska I., Walczyka M., Leszczyńska T., Kapusta-Duch J., 2011. Effects of various hydrothermal treatments on selected nutrients in legume seeds. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 61, 3, 181-186.
- Filipiak-Florkiewicz A., Florkiewicz A., Cieřlik E., Walczycka M., Kapusta-Duch J., Leszczyńska T., 2012. Influence of hydrothermal treatment on dietary fiber and phenolic compounds content as well as antioxidative activity of legumes seeds. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 11(4), 355-362.

**Contact address:** Adam Florkiewicz, Department of Food Analysis and Quality Assessment, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow, Krakow, Poland  
Agnieszka Filipiak-Florkiewicz, Dominika Witek, Department of Nutrition Technology and Consumption, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow, Krakow, Poland

# VPLYV SELENIZÁCIE NA HRACH ZÁHRADNÝ PESTOVANÝ V OLOVOM KONTAMINOVANEJ PÔDE

## EFFECT OF SELENIUM FERTILIZATION ON THE GARDEN PEA GROWN IN THE PRESENCE OF LEAD CONTAMINATED SOIL

*Silvia Jakobová, Zuzana Šebřková, Alica Bobková, Jozef Čurlej, Lubomír Belej, Marek Bobko, Dagmar Kozelová, Ján Durec, Ondrej Hegedűs*

**Abstract:** Safety of food resources presents nowadays one of the crucial tasks in food production. The work is focused on plant ability to accumulate selenium in the presence of toxic element - lead. Effect of foliar application of inorganic selenium on garden pea plants (*Pisum sativum* L.) in relation with transfer and accumulation of soil-applied lead was followed. The total content of lead and selenium in roots and green plant parts were determined by atomic absorption spectrometry. Correlation between selenium and lead levels within the plant showed that selenium performed antagonistic on uptake and transfer of lead in the plants. Lead had toxic effect on the plants and in the presence of selenium became less mobile thus its entry to the plant was eliminated.

**Key words:** selenium, lead, biofortification, phytotoxicity, garden pea

### ÚVOD

Bezpečnosť potravinových zdrojov patrí v súčasnosti ku kľúčovým úlohám poľnohospodárstva. Produkcia kvalitných, zdravotne nezávadných rastlinných surovín súvisí s kvalitou poľnohospodárskych pôd ako aj s dodržiavaním výrobných a hygienických postupov.

Významnými kontaminantmi, ktoré predstavujú riziko pri pestovaní poľnohospodárskych plodín, sú ťažké kovy. Za najrozšírenejšie považujeme olovo, kadmium, arzén, chróm, zinok, ortuť, nikel a meď. Ochrana pred kumuláciou a toxickými vplyvmi ťažkých kovov na ľudskú populáciu, živočíchy a rastliny je naliehavou otázkou v poslednom období vzhľadom na narastajúce emisie škodlivín ako výsledku priemyselných a antropogénnych aktivít (Feng et al., 2013).

Olovo je zaradené ako potenciálny karcinogén. Ide o perzistentný toxický prvok, nebezpečný pre ľudí. Je považované za majoritný antropogénny kontaminant, ktorý sa dostáva do prostredia z ťažby, hutníctva a priemyslu (Hu et al., 2014). Expozícia olovu môže spôsobovať napr. poškodenie DNA, inhibíciu DNA syntézy, ako aj toxicitu na nervový systém detí (Silbergeld et al., 2000; Juberg et al., 2000). Do poľnohospodárskych pôd sa olovo dostáva depozíciou z ovzdušia (emisie z dopravy, palív a odpadov), avšak známa je aj prirodzená kontaminácia v oblastiach s výskytom rudných ložísk. Pestovanie rastlinných požívatín na olovom kontaminovaných pôdach môže predstavovať potenciálne riziko pre miestne populácie vzhľadom na transfer olova do potravinového reťazca (Zhuang et al., 2009).

Selén je esenciálny mikroprvok, známy svojou prospešnosťou pre ľudské zdravie. Patrí k významným nekovom, viaže sa hlavne v aminokyselinách, v ktorých môže nahradiť síru. Spolu s vitamínom E patrí medzi základné esenciálne nutričné zložky, ktorých hlavnou funkciou je ochrana buniek, tkanív pred oxidatívnym poškodením. Selén je súčasťou nielen neenzýmových ale aj enzýmových ochranných systémov proti reaktívnym formám kyslíka (Wernerová, Pipek, Sklenářová, 2008). V organizme je viazaný vo forme selenocysteínu v aktívnom centre enzýmov. Selenoenzýmy sú jedným z najdôležitejších článkov antiradikálovej a antioxidatívnej ochrany na bunkovej, tkanivovej a celoorgánovej úrovni a chránia organizmus pred tzv. „civilizačnými“ chorobami, ako sú kardiovaskulárne, malígne, neurodegeneratívne ochorenia či dlhotrvajúce zápal. Svojím ochranným účinkom chránia pred vírusovými a bakteriálnymi nákazami (Kvíčala, 2009).

Hoci esenciálna úloha selénu v rastlinách nebola dokázaná a navyše pri jeho vysokých koncentráciách vykazujú rastliny symptómy fytoxicity, boli v poslednom čase publikované štúdie, ktoré sa zaoberali ochranným účinkom selénu na rastliny voči toxickým prvkom ako sú kadmium, arzén, olovo, antimón, či meď (Feng et al., 2013; Zhou et al., 2013; Wu et al., 2016). Selén ako zložka glutation peroxidázy a tioredoxín reductázy hrá úlohu antioxidantu alebo aktivuje obranné mechanizmy rastlín, vedúce k znižovaniu oxidačného stresu (Hartikainen et al., 2000; Kumar et al., 2012; Diao et al., 2014). Štúdie autorov Zembala et al. (2010) a Hu et al. (2014) prinášajú výsledky, z ktorých vyplýva, že selén môže ovplyvňovať aj kumuláciu a distribúciu toxických kovov v rastlinách.

Obohacovanie rastlinných potravín o biologicky a nutrične zaujímavé zložky v procese pestovania je moderný spôsob zlepšovania kvality východiskových surovín. Fortifikácia zeleniny anorganickými formami selénu bola študovaná za účelom efektívnej suplementácie selénu v potravinovom reťazci a tým aj dopĺňovania jeho nedostatku v ľudskej výžive (Hegedúsová et al., 2009 a iní). Avšak vzhľadom na častú prítomnosť toxických prvkov, o.i. aj ťažkých kovov v poľnohospodárskych pôdach je na mieste otázka účinku selénu na rastliny v prostredí výskytu ťažkých kovov.

V našej práci sa zameriavame na sledovanie vplyvu selenizácie vybraného zeleninového druhu v prítomnosti olova. Sledovala sa kumulácia selénu aj olova v koreňoch aj nadzemných častiach pokusných rastlín hrachu záhradného (*Pisum sativum* L.). Za týmto účelom sa realizovali nádobové vegetačné pokusy s foliárnou aplikáciou selénu a pôdnou aplikáciou olova. Analýzy rastlinného materiálu sa vykonali pomocou atómovej absorpčnej spektrometrie, čím sa zistili celkové koncentrácie selénu a olova vo vypestovanom rastlinnom materiáli.

## MATERIÁL A METODIKA

### Nádobové vegetačné pokusy

Na realizáciu vegetačných pokusov sa ako rastlinný materiál použil hrach siaty (*Pisum sativum* L., *con. medullare*), odroda Zázrak z Kelvedonu. Pre účely experimentu sa založilo 5 pokusných variantov v troch opakovaní, líšiacich sa prídavkami selénu a olova (Tabuľka 1). Vegetačné nádoby sa naplnili pestovateľským substrátom Primaflora (Agros CS Slovakia, Slovensko). Olovo sa pridávalo do pôdy vo forme vodného roztoku dusičnanu olovnatého Pb (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (p.a., Centralchem, Slovakia) v množstve 10 mg Pb.kg<sup>-1</sup> substrátu. Po piatich dňoch sa zasial hrach záhradný a po vyklíčení sa ujednotil počet rastlín na 16 ks v každej nádobe. Selén sa pridával ako vodný roztok selénanu sodného Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub> (p.a., Sigma Aldrich, Slovensko) na listovú plochu rastlín.

**Tabuľka 1** Špecifikácia prídavkov selénu a olova v jednotlivých pokusných variantoch

Variant	Se [mg.ml <sup>-1</sup> ]	Pb [mg.kg <sup>-1</sup> ]
<b>K</b>	-	-
<b>I</b>	0,5	-
<b>II</b>	0,5	10
<b>III</b>	1,0	-
<b>IV</b>	1,0	10

### Mineralizácia rastlinného materiálu

Po 53 dňoch pestovania sa hrach sa zozbieral. Rastlinný materiál sa rozdelil na korene a nadzemnú biomasu. Materiál sa zväžil, vysušil a podrobil mineralizácii mokrou cestou. Mineralizácia sa realizovala s použitím mineralizačných autoklávov typu ZA-1 (JZD Pokrok Zahnašovice, Czech Republic) a je popísaná autormi Hegedús et al. (2008). Do

mineralizačných teflónových nádobiek sa navažovalo 0,5 g vysušenej a zhomogenizovanej rastlinnej hmoty. Pridával sa 1 ml deionizovanej vody, 2 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 %, suprapur, Merck, Germany) a 5 ml HNO<sub>3</sub> (65 %, Analpur, Centralchem, Bratislava). Autoklávy sa uzavreli a mineralizácia prebiehala 4 hodiny pri teplote 140 °C. Finálne mineralizáty sa kvantitatívne preliali do 25 ml odmerných baniek a doplnili sa deionizovanou vodou na tento objem. Takto pripravené vzorky sa použili na stanovenie obsahu olova a selénu technikou atómovej absorpčnej spektrometrie (Jakabová et al., 2009).

#### **Stanovenie olova technikou ET-AAS**

Olovo sa stanovovalo na prístroji Spectr AA200 Varian (Mulgrave Virginia, Australia) vybaveným modulom GTA-100 pre elektrotermickú atomizáciu (ET-AAS) s deutériovou korekciou pozadia (Hegedús et al., 2008). Ako zdroj monochromatického žiarenia bola použitá katódová olovená výbojka - prúd na lampe 5 mA, vlnová dĺžka 217,0 nm, šírka štrbiny 1,0 nm. Atomizačným prostredím bola grafitová kyveta, ako nosný roztok sa použila 1 % HNO<sub>3</sub>, a modifikátor bola 1 % kyselina fosforečná (Hegedúsová et al., 2009).

#### **Stanovenie selénu technikou ZET-AAS**

Na stanovenie množstva selénu prijatého rastlinnou vzorkou sme použili atómový absorpčný spektrometer AA240Z Varian (Mulgrave Virginia, Australia) so Zeemanovou korekciou pozadia. Na meranie sa použila selénová katódová výbojka. Objem dávkovanej vzorky bol 10 µl. Ako modifikátor sme použili paladiový modifikátor Pb (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> s koncentráciou 0,1 mol.dm<sup>-3</sup> a 1 % kyselina askorbová. Výsledky sme hodnotili metódou kalibračnej krivky (Hegedús et al., 2008).

## **VÝSLEDKY A DISKUSIA**

Na základe výsledkov stanovenia obsahu olova a kadmia v biomase hrachu sa sledovalo množstvo prijatého selénu v koreňoch a v nadzemných častiach pokusných rastlín. Porovnanie sme realizovali vzhľadom na kontrolný variant bez prídavkov Se a Pb. Priemerné množstvá selénu a olova v jednotlivých variantoch ako aj smerodajné odchýlky stanovenia uvádza Tabuľka 2.

**Tabuľka 2** Priemerné množstvá prijatého olova a selénu rastlinou

<b>Variant</b>	<b>Obsah Se v koreňoch priemer ± s<sub>d</sub> [mg.kg<sup>-1</sup>]</b>	<b>Obsah Se v nadzemných častiach rastlín priemer ± s<sub>d</sub> [mg.kg<sup>-1</sup>]</b>	<b>Obsah Pb v koreňoch priemer ± s<sub>d</sub> [mg.kg<sup>-1</sup>]</b>	<b>Obsah Pb v nadzemných častiach rastlín priemer ± s<sub>d</sub> [mg.kg<sup>-1</sup>]</b>
<b>K</b>	0,017 ± 0,002	1,50 ± 0,13	0,005 ± 0,003	0,081 ± 0,006
<b>I</b>	0,017 ± 0,002	20,40 ± 0,22	0,003 ± 0,001	0,078 ± 0,009
<b>II</b>	0,032 ± 0,003	22,80 ± 0,21	0,021 ± 0,002	0,084 ± 0,009
<b>III</b>	0,024 ± 0,002	57,70 ± 0,50	0,004 ± 0,002	0,046 ± 0,005
<b>IV</b>	0,013 ± 0,001	32,10 ± 0,29	0,012 ± 0,002	0,041 ± 0,004

s<sub>d</sub> – smerodajná odchýlka

Obsah selénu v nadzemných častiach hrachu je v korelácii s jeho prídavkami v jednotlivých variantoch. Oproti kontrolnému variantu stúpala obsah selénu v nadzemných častiach 13,6 až 15,2 násobne vo variantoch I a II a až 38,5 násobne vo variante III. Vo variante IV sme zaznamenali pokles obsahu selénu v porovnaní s variantom III s rovnakým prídavkom Se.

Ak porovnáme varianty s 0,5 a 1,0 mg prídavkom selénu, tak u variantu III vzrástlo množstvo selénu 2,8 násobne vzhľadom na variant I a porovnaním variantov II a IV sme

zaznamenali 1,4 násobný vzrast koncentrácie selénu v porovnaní s variantom s jeho vyšším prídavkom.

V koreňoch sa prejavil mierny nárast obsahu selénu len vo variantoch I, II a III, ale vo variante IV opäť sledujeme pokles koncentrácie vzhľadom na kontrolný variant. Porovnaním variantov III verzus I s rôznymi prídavkami Se a nulovým prídavkom olova sa vo variante III zvýšilo množstvo selénu o 1,4 násobok. Pri variantoch II a IV s 10 mg prídavkom olova sa zistil znížený transport Se do koreňov u variantu s jeho 1 mg aplikáciou, čo kopíruje trend zistený v nadzemných častiach hrachu.

Obsah olova sa v nadzemných častiach pohybovalo d 41 po 84  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , pričom najnižšia koncentrácia bola zaznamenaná vo variante IV s najvyšším experimentálnym prídavkom oboch prvkov. Koncentrácia Pb vo variantoch I a II je porovnateľná s kontrolným variantom, z čoho môžeme usudzovať, že prídavok 0,5 mg Se nemal výrazný vplyv na vstup Pb do nadzemných častí rastliny. Vyššie prídavky selénu mali za následok znížený transfer Pb do nadzemných častí hrachu, dôkazom čoho sú takmer o polovicu nižšie koncentrácie Pb v nadzemných častiach rastlín v porovnaní s kontrolným variantom a variantmi I a II.

Priemerný obsah Pb v koreňoch sledoval trend jeho prídavku v jednotlivých variantoch. Zatiaľ čo varianty bez prídavku Pb boli na úrovni 3 – 5  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , po aplikácii Pb sa zvýšil jeho podiel v koreňoch 4,2 násobne vo variante II a 2,4 násobne vo variante IV. Tu môžeme usudzovať, že aplikácia selénu v koncentrácii  $1\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  mala za následok zníženie vstupu Pb do rastlín hrachu. Porovnaním variantov III vs. I a IV vs. II sa v koreňoch prejaví podobný trend ako v nadzemných častiach, t.j. so zvyšujúcimi sa prídavkami Se prijíma rastlina Pb v znížených množstvách.

Selén sa v najvyšších koncentráciách nachádza najmä vo fotosynteticky aktívnych častiach rastlín (stonka, listy) a v konečnej fáze ontogenézy dochádza k jeho hromadeniu v plodoch a zrnách (Hegedús et al., 2007). V koreňoch sme selén nezaznamenali vo veľkom množstve, čo sa dalo predpokladať vzhľadom na jeho foliárnu aplikáciu. Selén sa zadržoval a kumuloval prevažne v nadzemnej časti hrachu. Prídavok olova výrazne neovplyvnil obsah selénu v nadzemných častiach hrachu.

Nami zistenú skutočnosť, že selenizácia chráni rastlinu pred vstupom a kumulovaním olova podporujú aj výsledky iných autorov (Mroczek-Zdyrska, Wojcik al, 2012; Ismael et al., 2018; Atarodi et al., 2018), podľa ktorých selén zmierňuje fytotoxicitu vyvolanú olovom na bunkovej úrovni, čo sa prejavuje znížením tvorby superoxidových radikálov a vzrastom aktivity guaiakol peroxidázy.

## ZÁVER

V práci sme sa zamerali na experimentálne sledovanie selenizácie v prostredí olovom kontaminovanej pôdy. Výsledky experimentu na hrachu záhradnom v modelových podmienkach poukázali na to, že prítomnosť selénu má antagonistický vplyv na vstup a transfer olova z pôdy do koreňov a následne do nadzemných častí rastlín. So zvyšujúcou sa koncentráciou aplikovaného selénu sa prejavilo zníženie kumulácie olova vo všetkých častiach rastlín hrachu. Keďže selén sa prejavil ako protektívny prvok a eliminoval vstup a kumuláciu olova, môže sa predpokladať, že vyššie koncentrácie olova v pôde sa pravdepodobne nepremietnu do vyššej kumulácie tohoto prvku v rastline v podmienkach biofortifikácie rastlín selénom. Tak dochádza k zabráneniu vstupu ťažkých kovov, ako je olovo, do potravinového reťazca.

## LITERATÚRA

Atarodi, B., Fotovat, A., Khorassani, R., Keshavarz, P., Hammami H. 2018. Interaction of selenium and cadmium in wheat at different salinities. In *Toxicological and Environmental Chemistry*, vol.100, no. 3, pp.1-19. ISSN 0277-2248 doi: 10.1080/02772248.2018.1524472



- Diao, M., Ma, L., Wang, J. 2014. Selenium Promotes the Growth and Photosynthesis of Tomato Seedlings Under Salt Stress by Enhancing Chloroplast Antioxidant Defense System. In *The Journal of Plant Growth Regulation*, vol. 33, p 671. ISSN 0721-7595 <https://doi.org/10.1007/s00344-014-9416-2>
- Feng, R., Wei, C., Tu, S. 2013. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. In *Environmental And Experimental Botany*. vol. 87, pp. 58–68. ISSN 0098-8472 doi: 10.1016/j.envexpbot.2012.09.002
- Hartikainen, H., Xue, T., And Piironen, V. 2000. Selenium as an antioxidant and pro-oxidant in rye grass. In *Plant and Soil*, vol. 225, pp.193–200. ISSN 0032-079X doi: 10.1023/A:1026512921026
- Hegedűs, O., Hegedűsová, A., Šimková, S., Pavlík, V., Jomová, K. 2008. Evaluation of the ET-AAS and HG-AAS methods of selenium determination in vegetables. In *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, vol. 70, pp. 1287-1291. ISSN 0165-022X <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2008.01.002>
- Hegedűs, O., Hegedűsová, A., Šimková, S. 2007. *Selén ako biogénny prvok*. - Nitra : UKF, 76 s. - (Prírodovedec č. 269). - ISBN 978-80-8094-168-0
- Hegedűsová, A., Jakabová, S., Simon, L., Hegedűs, O., Vargová, A., Tálos, K., Pernyeszi, T., Majdik, C. 2009. Induced phytoextraction of lead from contaminated soil. In *Acta Universitatis Sapientiae Agriculture and Environment*, vol 1, pp. 123-129. ISSN 2065-748X
- Hu, Y., Norton, G.J., Duan, G., Huang, Y., Liu Y. 2014. Effect of selenium fertilization on the accumulation of cadmium and lead in rice plants. In *Plant and Soil*, vol. 384, pp.131-140. ISSN 0032-079X doi: 10.1007/s11104-014-2189-3
- Ismael, M. A., Elyamine, A. M., Moussa, M. G., Cai, M., Zhao, X., Hu, C. 2018. Cadmium in plants: uptake, toxicity, and its interactions with selenium fertilizers. In *Metallomics*, doi: 10.1039/c8mt00247a
- Jakabová, S., Hegedűs, O., Hegedűsová, A. 2009. Vplyv agronomickej biofortifikácie na obsah selénu v hrachu siatom (*Pisum sativum L.*). 2009. In *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, Nitra, Slovaca Universitas Agriculturae Nitriae, pp. 246-253. ISSN 1335-258X
- Juberg, D. R., Kleiman, C. F., Kwon, S. C. 2000. Position paper of the American council of science and health: lead and human health. In *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 38, pp.162–180. ISSN 0147-6513
- Kumar, M., Bijo, A. J., Baghel, R. S., Reddy, C. R. K., Jha, B. 2012. Selenium and spermine alleviates cadmium induced toxicity in the red seaweed *Gracilaria dura* by regulating antioxidant system and DNA methylation. In *Plant Physiology And Biochemistry*, vol. 51, pp.129–138. ISSN 1873-2690 doi: 10.1016/j.plaphy.2011.10.016
- Kvíčala, J. 2009. Význam selenu, stav a príjem selenu u jednotlivce i populace – zpusoby určování, výhody, chyby. In *DMEV*, Roč. 12, 2009, č.1
- Mroczek-Zdyrska, M. & Wójcik, M. 2012. The Influence of Selenium on Root Growth and Oxidative Stress Induced by Lead in *Vicia faba L. minor*. In *Biological Trace Element Research*, vol. 147, pp. 320. ISSN 1559-0720 <https://doi.org/10.1007/s12011-011-9292-6>
- Silbergeld, E. K., Waalkes, M., Rice, J. M. 2000. Lead as a carcinogen: experimental evidence and mechanisms of action. In *American Journal Of Industrial Medicine*, vol. 38, pp. 316–323. ISSN 0271-3586 [https://doi.org/10.1002/1097-0274\(200009\)38:3316::AID-AJIM113.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/1097-0274(200009)38:3316::AID-AJIM113.0.CO;2-P)
- Zembala, M., Filek, M., Walas, S., Mrowiec, H., Kornas, A., Miszalski, Z., 2010. Effect of selenium on macro and microelement distribution and physiological parameters of rape and wheat seedlings exposed to cadmium stress. In *Plant and Soil*, vol. 329, pp. 457–468. ISSN 1573-5036 doi: 10.1007/s11104-009-0171-2
- Zhu, Y.G., Pilon-Smits, E.A.H., Zhao, F.J., Williams, P.N., And Meharg, A. 2009. Selenium in higher plants: understanding mechanisms for biofortification and phytoremediation. In *Trends in Plant Science*, vol.14, pp. 436–442. ISSN 13601385 doi: 10.1016/j.tplants.2009.06.006
- Zhuang, P., McBride, M.B., Xia, H.P., Li, N.Y., Li, Z. 2009. Health risk from heavy metals via consumption of food crops in the vicinity of Dabaoshan mine. South China. In *Science of the Total Environment*, vol. 407, pp. 1551–1561. ISSN 1879-1026 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.10.061>
- Wernerová, J., Pipek, P., Slenářová, M., 2008. Kvalita vepřového masa obohaceného selénem.. In *Mäso* roč. 11, č 1. s. 86 – 89.
- Wu Z, Yin X, Bañuelos Gs, Lin Z-Q, Liu Y, Li M And Yuan L 2016 Indications of Selenium Protection against Cadmium and Lead Toxicity in Oilseed Rape (*Brassica napus L.*). In *Frontiers in Plant Science*, vol.7, pp.1875. ISSN 1664-462X doi: 10.3389/fpls.2016.01875

**Kontaktná adresa:** PaedDr. Silvia Jakabová, PhD., Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, Nitra, 949 76, Slovensko, [silvia.jakabova@uniag.sk](mailto:silvia.jakabova@uniag.sk)

## THE ELECTROCHEMICAL PROPERTIES OF FENHEXAMID ON BARE GLASSY CARBON ELECTRODE

*Anna Łukawska, Milan Sýs, Mariola Brycht, Sławomira Skrzypek, Iveta Brožková*

**Abstract:** Study on electrochemical behaviour of fenhexamid (commercially available fungicide) was performed using repetitive cyclic voltammetry at glassy carbon electrode in different 0.1 Britton-Robinson buffers containing always 1% (v/v) methanol at potential step 5 mV and scan rate 50 mV s<sup>-1</sup>. It was found that fenhexamid is reversibly oxidized to 1-methyl-cyclohexanecarboxylic acid (2,3-dichloro-4-oxo-cyclohexa-2,5-dienylidene)-amide with the participation of two electrons and protons. It can be assumed that anodic oxidation of fenhexamid could be utilized to develop a simple and rapid voltammetric method for monitoring fenhexamid residues in the food safety control.

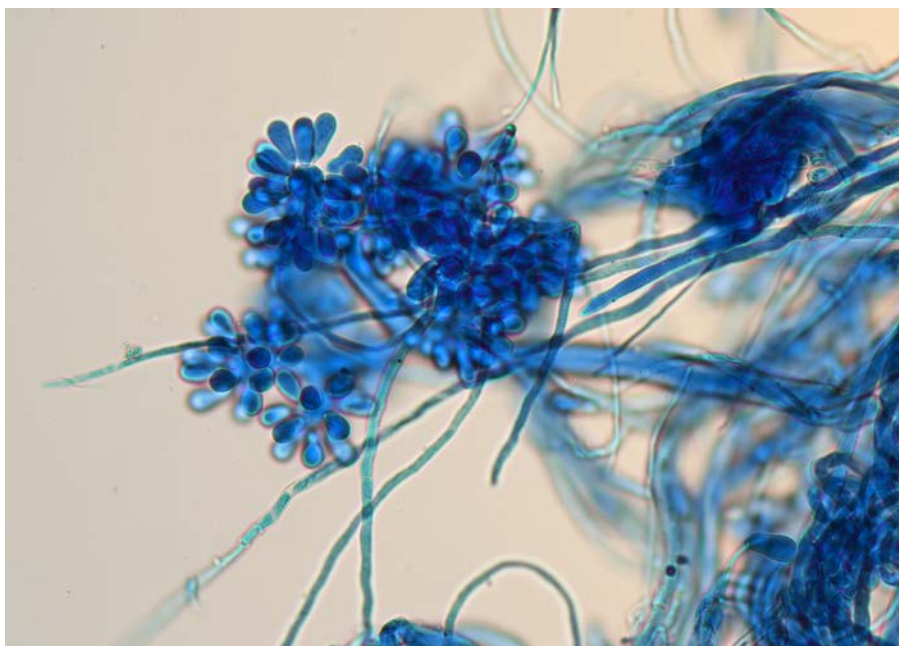
**Keywords:** fenhexamid; food safety control; glassy carbon electrode; square wave voltammetry

### INTRODUCTION

Pesticides are defined as chemical or biological agents that eliminate the occurrence of pests, and thus increase productivity of agriculture (Casida, 2017). They are usually classified into groups based on pest type, application method, mechanism of action, or chemical structure (al-Saleh, 1994). Generally, most of pesticides are toxic and even their residues may cause serious health problems (Gilden et al., 2010). Thus, their maximum residues limits are defined by established legislation and are subject to safety control.

Fungicides classified as subgroup of pesticides are used to kill parasitic fungi or their spores (Deising et al., 2008). A fenhexamid is commercially available fungicide (TELDOR 500 SC) able to inhibit methylsterol monooxygenase (EC 1.14.13.72) which catalyzes necessary sterol biosynthesis. It commonly applied in the form of sprays in agriculture to eliminate the growth of several molds such as *Botrytis cinerea* (Figure 1), *Botrytinia fuckeliana*, *Monilinia fructigena*, *Monilinia laxa*, and *Sclerotinia sclerotiorum*. Fenhexamid residues may occur on the edible peel of many crops and contaminate food products made from them (Angioni et al., 2012). The fenhexamid maximum residual limits differ depending on the crop type. Typically, limit values range from 0.05 to 30 milligrams per kilogram of fruits or vegetables. According to directive 2006/53/ES, here are some examples: leaf vegetables 30, kiwifruit 10, berries and small fruits 5, tomatoes and eggplants 1, root and onion vegetables 0.05 (all in mg/kg).

In the past decade, it was found that this fungicide does not diffuse into strawberry pulp. Unfortunately, a simple washing with tap water is completely ineffective to remove fenhexamid from the peel. Only when commercial detergents were used, up to 60% of fenhexamid was removed (Angioni et al., 2004). An explanation can be found in fenhexamid solubility, namely in water 0.02 (~66.2 μM), dichloromethane 31, isopropanol 91, acetonitrile 15, toluene 5.7, n-hexane <0.1 (all in g/L, 20°C). Hence, it can be assumed that the most effective removal occurs with the use of simple aliphatic alcohols. Fenhexamid is not likely to be carcinogenic to humans. However, it increases miR-21 expression with downstream antiestrogenic activity in MCF-7, T47D, and MDA-MB-231 human breast cancer cells (Teng et al., 2013).



**Figure 1** Light microscopy observations of *Botrytis cinerea* (200x magnification) obtained at the DS-Fi3 Microscope Camera from Nikon CEE (Vienna, Austria).

Monitoring of pesticide residues in foodstuffs is performed using two protocols ČSN 56 0253 and ČSN EN 15662 (560680). The first mentioned one describes instruction of sampling for the determination of pesticides in foodstuffs and raw materials of plant and animal origin and on their surfaces. The second one includes two instrumental analytical methods for determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS after acetonitrile extraction and pre-treatment with solid phase extraction (SPE) (Lambropoulou and Albanis, 2007). In addition to standard methods, an enzyme-linked immunosorbent assay has been developed for monitoring fenhexamid residues in grape must, kiwifruit, and strawberry samples (Esteve-Turrillas et al, 2011).

Due to high initial capital costs for above mentioned instruments, numerous voltammetric methods have been developed for monitoring of pesticides (Ashrafi et al., 2012; Guziejewski et al., 2012; Smarzewska et al., 2014; Guziejewski et al., 2014; Brycht et al., 2015). This paper offers a study of fenhexamid electrochemical behaviour at bare glassy carbon electrode (GCE) for the future development of voltammetric method which could be useful for electrochemical determination of fenhexamid content on the peels of selected foodstuffs, especially in fruits and vegetables.

Based on the similarity of the molecular structure to chlorophenols and acetaminophen (APAP), two different reaction mechanisms of anodic oxidation of fenhexamid can be assumed. The presence of an electroactive hydroxyl group on the benzene ring and the free *ortho* position suggest that fenhexamid could be oxidized in the same reaction pathway as phenol and cresols (Enache and Oliveira-Brett, 2011; Gil and Couto, 2013). An electrochemical hydroxylation of C2 with subsequent oxidation to form the *ortho*-quinone is predicted. On the other hand, it is necessary to mention that free electron pair on the nitrogen atom (Li and Chen, 2012) can be involved in the electrochemical oxidation of fenhexamid. A quinone imine would be oxidized product of fenhexamid like in case of APAP (Karikalan et al., 2016). The aim of this work was to study the electrochemical behaviour of fenhexamid and to decide which reaction mechanism is the right one. Finally, probable electrochemical oxidation pathway of fenhexamid has been proposed.

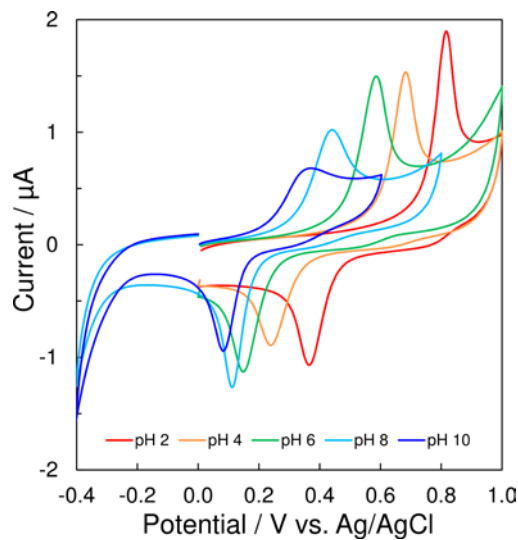
## MATERIAL AND METHODOLOGY

Fenhexamid (CAS No. 126833-17-8), phenol, *ortho*-chlorophenol, *meta*-chlorophenol and APAP were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). A demineralized water of  $\rho=18.3$  M $\Omega$ ·cm from Milli-Q system, Merck Millipore (Darmstadt, Germany) with methanol (99.5%), boric acid, glacial acetic acid (99.8%), phosphoric acid (85%) and sodium hydroxide (p.a.) all from Lach-Ner, s.r.o. (Neratovice, Czech Republic) were used for preparation of Britton-Robinson buffers (BRBs) as supporting electrolytes. The stock solution (0.5 mM fenhexamid in pure methanol) was stored at laboratory conditions.

The bare GCE (No. 6.1204.110) with a diameter 2 mm was purchased from Metrohm (Prague, Czech Republic). It was polished on a polishing pad using alumina powder (0.3 and 0.05  $\mu\text{m}$ ) for 1 min. The electrode surface was then rinsed with deionized water and dried using a pulp paper. All experiments had to be done at freshly renovated electrode surface due to unspecified passivation. Each electrochemical measurement was carried out in the 10 mL supporting electrolyte at room temperature. Conventional three-electrode configuration system consisting bare GCE (working), Ag/AgCl/3.0 M KCl (reference) and platinum wire (auxiliary) electrodes was connected to potentiostat Autolab PGSTAT101 from Metrohm (Prague, Czech Republic) operating with software Nova version 1.11. Repetitive cyclic voltammetry (five cycles) of 50  $\mu\text{M}$  fenhexamid at GCE in 0.1 M BRBs of different pH values and methanol contents was performed at potential range from -0.2 to +1.2 V, step potential ( $E_{\text{step}}$ ) 5 mV and scan rates ( $\nu$ ) 10-500  $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . If not stated, otherwise all changes in the experimental conditions are shown in the legends below the corresponding figures.

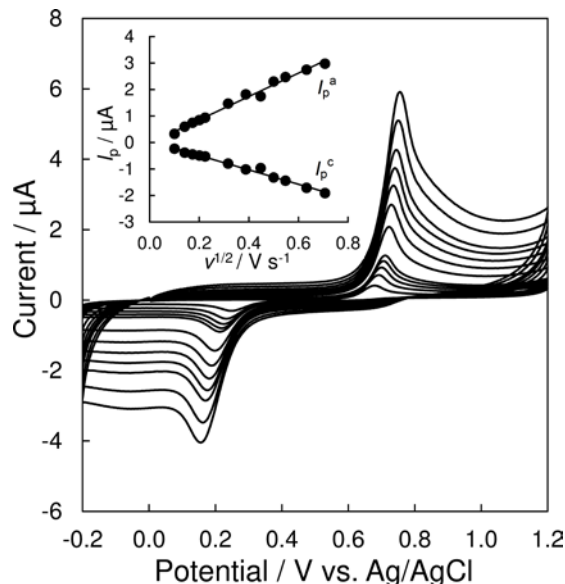
## RESULTS AND DISCUSSION

Repetitive cyclic voltammetry (10 cycles) of 50  $\mu\text{M}$  fenhexamid at GCE in 0.1 M BRB of pH 4.0 containing 10% (v/v) methanol at potential step 5 mV and scan rate 50  $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$  was performed to study the electrochemical reversibility. A redox couple (anodic peak at +0.6848 V and cathodic peak at +0.2266 V) was observed. Moreover, it was found that the voltage separation between the current peaks ( $\Delta E$ ) decreases with higher pH values. For example, the value of 267 mV was calculated for a pH range of 10-12. It seems that the reversibility of fenhexamid electrode reaction improves using basic BRBs (see Figure 2). Additionally, repetitive cyclic voltammetry of fenhexamid molecular analogues was investigated to propose an electrochemical reaction mechanism of fenhexamid. Phenol, *ortho*-chlorophenol and *meta*-chlorophenol provide one intensive anodic peak at +0.8303, +0.8005 and +0.8755 V, respectively. Significantly lower reduction peaks of phenol at -0.0398 V and *ortho*-chlorophenol at -0.1154 V (no reduction peak for *meta*-chlorophenol) were obtained using cyclic voltammetry. Their intensive oxidation anodic peaks was dramatically decreased in the following cycles. In contrast to previous cases, APAP shows similar electrochemical behaviour to fenhexamid. APAP provided one anodic peak at +0.7144 V and cathodic peak at +0.0353 V at GCE in 0.1 M BRB of pH 4.0 containing 10% (v/v) methanol at potential step 5 mV and scan rate 50  $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . With the exception of APAP, all other analogues tested showed irreversible electrochemical behaviour.



**Figure 2** Cyclic voltammograms of 50 μM fenhexamid obtained at GCE in different 0.1 M BRBs containing always 1% (v/v) methanol at potential step 5 mV and scan rate 50 mV s<sup>-1</sup>.

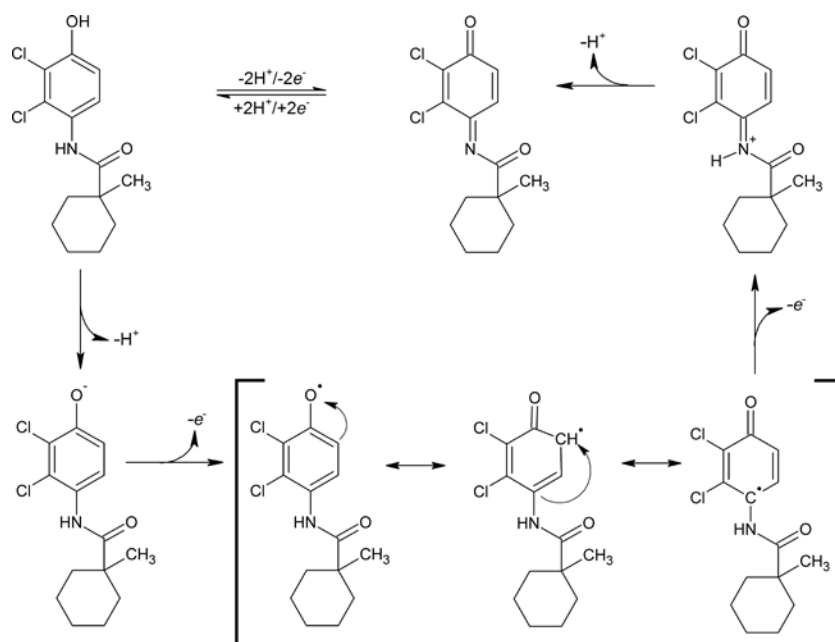
The effect of scan rate ( $\nu$ ) on fenhexamid anodic and reversible cathodic peak in the range from 10 to 500 mV s<sup>-1</sup> was investigated (Figure 3). Linear relationships between peak currents ( $I_p$ ) and square root of scan rate ( $\nu^{1/2}$ ) were described by following equations  $I_p^a = 4.4065\nu^{1/2} - 0.0261$  with correlation coefficient  $R^2 = 0.9875$  and  $I_p^c = -2.7147\nu^{1/2} + 0.0525$  with correlation coefficient  $R^2 = 0.9862$ . Additionally, it was found that also logarithm of oxidation ( $\log I_p^a$ ) and reduction ( $\log I_p^c$ ) peak current linearly increased with logarithm of scan rate ( $\log \nu$ ). Both linear dependences were characterized by appropriate correlation coefficients  $R^2 = 0.9860$  and  $R^2 = 0.9899$ . Calculated slope ( $k$ ) values 0.5441 and 0.5180, which are close to the theoretical value 0.500 (Lo et al., 2012), show that diffusion-controlled electrochemical oxidation reaction can be accepted.



**Figure 3** Cyclic voltammograms of 50 μM fenhexamid at GCE in 0.1 M BRB of pH 4.0 containing 1% (v/v) methanol at potential step 5 mV and scan rates of 10-500 mV s<sup>-1</sup> and linear dependence of peak current responses on square root of scan rates used.

Cyclic voltammetry of 50  $\mu\text{M}$  fenhexamid at GCE in 0.1 M BRBs was performed to elucidate the effect of solution pH. A linear relationship between peak potential ( $E_p$ ) of anodic peak and pH values of used BRBs, statistically evaluated as  $E_p = -0.0588\text{pH} + 0.9275$  ( $R^2 = 0.9950$ ), was observed for a pH range of 2-10. The anodic peak potential was shifted to more negative values with increased pH of used BRB due to lowering the energy barrier and easier deprotonation of fenhexamid molecule resulting in formation of corresponding anion. An explanation can be found in fenhexamid molecular structure because it can be considered as weak organic acid due to presence of phenolic group substituted by two chloride atoms. The value of slope  $-0.0588$  indicates the transition of electrons and protons in the 1:1 ratio.

Based on the accumulated results, it can be concluded that fenhexamid is reversibly oxidized to 1-methyl-cyclohexanecarboxylic acid (2,3-dichloro-4-oxo-cyclohexa-2,5-dienylidene)-amide with the participation of two electrons and protons, as shown in Figure 4. This electrode reaction could be utilized to develop a simple and rapid electroanalytical method for monitoring of fenhexamid residues in the food safety control.



**Figure 4** Proposed electrochemical reaction mechanism of fenhexamid.

## CONCLUSION

The electrochemical properties of fenhexamid on glassy carbon electrode in 0.1 M BRBs differing in pH value and methanol content were investigated. An electrochemical reaction mechanism of fenhexamid has been proposed based on the similarity of the obtained cyclic voltammograms of structural analogs of fenhexamid and calculation of electrons and protons involved in the reversible electrode reaction. It can be concluded that a simple and rapid voltammetric method utilizing direct anodic oxidation of fenhexamid at GCE could be developed for analytical applications, especially in the environmental chemistry and food safety control. Different modifications of GCE surface in combination with some pulse voltammetric technique should be tested to achieve the desired sensitivity.

## REFERENCES

- al-Saleh, I. A. 1994. Pesticides: A review article. *Journal of Environmental Pathology Toxicology and Oncology*, 13(3), 151–161.
- Angioni, A., Porcu, L., Dedola, F. 2012. Determination of famoxadone, fenamidone, fenhexamid and iprodione residues in greenhouse tomatoes. *Pest Management Science*, 64(4), 543–547.

- Angioni, A., Schirra, M., Garau, V. L., Melis, M., Tuberoso, C.I.G., Cabras, P. 2004. Residues of azoxystrobin, fenhexamid and pyrimethanil in strawberry following field treatments and the effect of domestic washing. *Food Additives and Contaminants*, 21(1), 1065–1070.
- Ashrafi, A. M., Đorđević, J., Guzsány, V., Švancara, I., Trtić-Petrović, T., Purenović, M., Vytřas, K. 2012. Trace determination of carbendazim fungicide using adsorptive stripping voltammetry with a carbon paste electrode containing tricresyl phosphate. *International Journal of Electrochemical Science*, 7(1), 9717–9731.
- Brycht, M., Skrzypek, S., Kaczmarek, K., Burnat, B., Leniart, A., Gutowska, N. 2015. Square-wave voltammetric determination of fungicide fenfuram in real samples on bare boron-doped diamond electrode, and its corrosion properties on stainless steels used to produce agricultural tools. *Electrochimica Acta*, 169(1), 117–125.
- Casida, J. E. 2017. Pesticide interactions: Mechanisms, benefits, and risks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(23), 4553–4561.
- Deising, H. B., Reimann, S., Pascholat, S. F. 2008. Mechanisms and significance of fungicide resistance. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39(2), 286–295.
- Enache, T. A., Oliveira-Brett, A. M. 2011. Phenol and *para*-substituted phenols electrochemical oxidation pathways. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 655(1), 9–16.
- Esteve-Turrillas, F. A., Abad-Fuentes, A., Mercader, J. V. 2011. Determination of fenhexamid residues in grape must, kiwifruit, and strawberry samples by enzyme-linked immunosorbent assay. *Food Chemistry*, 124(4), 1727–173.
- Gilden, R. C., Huffling, K., Sattler, B. 2010. Pesticides and health risks. *Journal of Obstetric, Gynecologic and Neonatal Nursing*, 39(1), 103–110.
- Gil, E. S., Couto, R. O. 2013. Flavonoid electrochemistry: a review on the electroanalytical applications. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23(3), 542–558.
- Guziejewski, D., Brycht, M., Nosal-Wiercińska, A., Smarzewska, S., Ciesielski, W., Skrzypek, S. 2014. Electrochemical study of the fungicide acibenzolar-s-methyl and its voltammetric determination in environmental samples. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 49(8), 550–556.
- Guziejewski, D., Skrzypek, S., Ciesielski, W. 2012. Square wave adsorptive stripping voltammetric determination of diazinon in its insecticidal formulations. *Environmental Monitoring and Assessment*, 184(11), 6575–6582.
- Karikalan, N., Karthik, R., Chen, S. M., Velmurugan, M., Karupiah, C. 2016. Electrochemical properties of the acetaminophen on the screen printed carbon electrode towards the high performance practical sensor applications. *Journal of Colloid and Interface Science*, 483(1), 109–117.
- Lambropoulou, D. A., Albanis, A. T. 2007. Methods of sample preparation for determination of pesticide residues in food matrices by chromatography-mass spectrometry-based techniques: A review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389(6), 1663–1683.
- Li, Y., Chen, S. M. 2012. The electrochemical properties of acetaminophen on bare glassy carbon electrode. *International Journal of Electrochemical Science*, 7(1), 2175–2187.
- Lo, T. W. B., Aldous, L., Compton, R. G. 2012. The use of nano-carbon as an alternative to multi-walled carbon nanotubes in modified electrodes for adsorptive stripping voltammetry. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 162(1), 361–368.
- Smarzewska, S., Metelka, R., Guziejewski, D., Skowron, M., Skrzypek, S., Brycht, M., Ciesielski, W. 2014. Voltammetric behaviour and quantitative determination of pesticide iminoctadine. *Analytical Methods*, 6(1), 1884–1889.
- Teng, Y., Manavalan, T. T., Hu, C., Medjakovic, S., Jungbauer, A., Klinge, C. M. 2013. Endocrine disruptors fludioxonil and fenhexamid stimulate miR-21 expression in breast cancer cells. *Toxicological Sciences*, 131(1), 71–83.

**Acknowledgments:** This work was supported by CEEPUS CIII-CZ-0212-10-1617 network for mobility funding.

**Contact address:** Anna Łukawska, University of Lodz, Faculty of Chemistry, Department of Inorganic and Analytical Chemistry, Tamka 12, 91-403 Lodz, Poland, E-mail: [anna.lukawska@uni.lodz.eu](mailto:anna.lukawska@uni.lodz.eu)  
Milan Sýs, University of Pardubice, Faculty of Chemical Technology, Department of Analytical Chemistry, Studentská 573, 532 10 Pardubice, Czech Republic, E-mail: [milan.sys@upce.cz](mailto:milan.sys@upce.cz)  
Mariola Brycht, University of Lodz, Faculty of Chemistry, Department of Inorganic and Analytical Chemistry, Tamka 12, 91-403 Lodz, Poland, E-mail: [mariola.brycht@chemia.uni.lodz.pl](mailto:mariola.brycht@chemia.uni.lodz.pl)  
Sławomira Skrzypek, University of Lodz, Faculty of Chemistry, Department of Inorganic and Analytical Chemistry, Tamka 12, 91-403 Lodz, Poland, E-mail: [skrzypek@uni.lodz.pl](mailto:skrzypek@uni.lodz.pl)  
Iveta Brožková, Department of Biological and Biochemical Sciences, Faculty of Chemical Technology, University of Pardubice, Studentská 573, 532 10 Pardubice, Czech Republic, E-mail: [iveta.brozkova@upce.cz](mailto:iveta.brozkova@upce.cz)

# PROLÍN A CELKOVÉ FENOLICKÉ LÁTKY AKO DOPLNKOVÉ PARAMETRE HODNOTENIA MEDU PROLINE AND TOTAL PHENOLIC CONTENT AS ADDITIONAL HONEY ASSESSMENT PARAMETERS

*Matej Tkáč, Lenka Vorlová, Lenka Kaniová, Marcela Zajíčková, Ivana Borkovcová*

**Abstract:** Our study focused on the analysis of moisture content, electrical conductivity, hydroxymethylfurfural content, proline content and total phenolic content in honey samples (n=22) collected from Czech and Slovak beekeepers during the year 2018. We proceeded in accordance with the “*Harmonised Methods of the International Honey Commission*” (IHC, 2009) and Silici et al. (2010). From among the legislative parameters analysed, only hydroxymethylfurfural content (n=2) was found to be in non-compliance with the value of maximal hydroxymethylfurfural content (40 mg.kg<sup>-1</sup>) set forth by Decree No. 76/2003 Coll. and Council Directive 2001/110/EC. All the analysed samples met the moisture content and electrical conductivity values set by the legislation. Proline contents and total phenolic contents varied considerably with the highest values obtained for honeydew honeys. Proline contents of all the analysed samples were higher than 180 mg.kg<sup>-1</sup>.

**Keywords:** *water content, 5-hydroxymethylfurfural, electrical content, adulteration*

## ÚVOD

Správa Spoločného výskumného centra Európskej komisie poukazuje na skutočnosť, že fyzikálne-chemické metódy na kontrolu kvalitatívnych parametrov medu v súlade so Smernicou Rady 2001/110/EC majú obmedzenú schopnosť odhaliť a preukázať falšovanie medu. Potrebný je celý komplex stanovení (Aries et al., 2016).

Okrem legislatívou stanovených parametrov medu, môže poukazovať na kvalitu medu aj koncentrácia prolínu. Koncentrácia prolínu v mede nižšia ako 180 mg.kg<sup>-1</sup> môže indikovať nezrelosť medu, či poukazovať na falšovanie medu cukornými sirupmi. Napriek tomu je potrebné zohľadniť, že obsah prolínu v mede je variabilný (IHC, 2009). Prolín je pridávaný do medu včelami (Bogdanov et al., 2004) a predstavuje najzastúpenejšiu aminokyselinu v mede, tvoriacu 50-80 % celkového obsahu aminokyselín (Belitz et al., 2004). Fenolové kyseliny a flavonoidy sú sekundárne metabolity rastlín (Bogdanov et al., 2004) podieľajúce sa na antioxidačnom a antimikrobiálnom účinku medu. Ich obsah v mede závisí od botanického a geografického pôvodu, spôsobu manipulácie a podmienok skladovania medu (Silici et al., 2010).

V našej predchádzajúcej práci sme sa zaoberali stanovením koncentrácie prolínu a stanovením celkového obsahu fenolických látok vo vzorkách medov odobraných z tržnej siete v Českej republike. V rámci analyzovaného súboru vzoriek sme stanovili u 16 % medov koncentráciu prolínu nižšiu ako 180 mg.kg<sup>-1</sup> (Tkáč, Vorlová., 2018). Prihliadnuc k týmto skutočnostiam, sme si dali za cieľ stanoviť koncentráciu prolínu a rovnako aj celkový obsah fenolických látok, obsah vody, elektrickú vodivosť a koncentráciu 5-hydroxymethylfurfuralu u medov odobraných od českých a slovenských včelárov.

## MATERIÁL A METÓDY

Analyzované vzorky medov (n=22) boli odobrané od včelárov v priebehu roku 2018, z rôznych oblastí Českej (n=12) a Slovenskej republiky (n=10). Vzorky medov boli až do doby analýzy skladované v tme, pri teplote do +25 °C, v pôvodných sklenených obaloch.

U odobraných vzoriek medov sme analyzovali obsah vody, elektrickú vodivosť, koncentráciu 5-hydroxymethylfurfuralu, koncentráciu prolínu a celkový obsah fenolických



látok. Celkový obsah fenolických látok sme stanovili spektrofotometricky podľa Silici et al. (2010), zostrojením kalibračnej priamky, s použitím kyseliny galovej ako štandardu, v koncentrácii od 0 po 0,9 mg.ml<sup>-1</sup> ( $R^2$  0,9990) a výsledok sme vyjadrili v mg ekvivalentov kyseliny galovej na 100 g medu (mg GAE/100 g). Ostatné sledované parametre sme stanovovali podľa „*Harmonised Methods of the International Honey Commission*“ (IHC, 2009). K spracovaniu a štatistickému vyhodnoteniu dát bol použitý program Excel (Microsoft Corp., US).

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Stanovené hodnoty obsahu vody, elektrickej vodivosti a koncentrácie 5-hydroxymetylfurfuralu (HMF) sme porovnali s limitnými hodnotami uvedenými vo vyhláske č. 76/2003 Sb. a Smernici Rady 2001/110/ES, obe v znení neskorších predpisov.

Obsah vody sa u medov odobraných v Českej republike (ČR) pohyboval od 14,8 ± 0,12 % po 17,3 ± 0,10 %. U medov odobraných na Slovensku (SR) sa obsah vody pohyboval od 15,4 ± 0,12 % po 17,7 ± 0,10 %. Priemerný obsah vody u kvetových medov z ČR (16,2 ± 0,74 %) bol takmer totožný s priemerným stanoveným obsahom vody u kvetových medov zo SR (16,5 ± 0,77 %). Všetky analyzované vzorky medov splnili legislatívou stanovený limit obsahu vody (20 %).

Všetky vzorky medov deklarované ako medy medovicové (n=4) splnili minimálnu požadovanú elektrickú vodivosť (80 mS.m<sup>-1</sup>). Priemerná elektrická vodivosť u kvetových medov bola 38,5 ± 19,29 mS.m<sup>-1</sup> a u medovicových medov bola 92,2 ± 10,90 mS.m<sup>-1</sup>. Najnižšie namerané elektrické vodivosti sme zaznamenali u medov agátových (*Robinia pseudoacacia* L.) (17,2 a 12,3 mS.m<sup>-1</sup>) a medov repkových (*Brassica* spp.) (22,9; 15,8 a 18,9 mS.m<sup>-1</sup>). U medov lipových-kvetových (*Tilia* spp.) sa vodivosť pohybovala od 48,0 mS.m<sup>-1</sup> po 57,8 mS.m<sup>-1</sup>.

Koncentrácia HMF sa u kvetových medov zo SR pohybovala od 0,5 ± 0,02 mg.kg<sup>-1</sup> po 6,8 ± 0,37 mg.kg<sup>-1</sup>; s priemernou hodnotou 3,5 ± 2,27 mg.kg<sup>-1</sup>. U medov z ČR boli koncentrácie HMF v rozmedzí od 0,4 ± 0,07 mg.kg<sup>-1</sup> po 15,4 ± 0,13 mg.kg<sup>-1</sup>; s priemernou hodnotou 5,5 ± 6,79 mg.kg<sup>-1</sup>. V dvoch analyzovaných vzorkách medov sme zaznamenali prekročenie limitu obsahu HMF (40 mg.kg<sup>-1</sup>). Stanovené koncentrácie nadlimitných vzoriek boli 48,3 ± 0,01 mg.kg<sup>-1</sup> (ČR) a 46,9 ± 1,13 mg.kg<sup>-1</sup> (SR). Koncentrácia HMF sa u medovicových medov pohybovala od 1,2 ± 0,26 mg/kg po 21,6 ± 0,84 mg.kg<sup>-1</sup>.

Koncentrácia prolínu sa u analyzovaných vzoriek kvetových medov z ČR pohybovala od 217 ± 26,1 mg/kg po 695 ± 23,4 mg.kg<sup>-1</sup>, s priemernou koncentráciou 360 ± 150,3 mg.kg<sup>-1</sup>. U kvetových medov zo SR bola koncentrácia prolínu v rozmedzí od 208 ± 37,1 mg.kg<sup>-1</sup> po 400 ± 22,5 mg.kg<sup>-1</sup>; s priemernou koncentráciou 290 ± 73,2 mg.kg<sup>-1</sup>. Spomedzi kvetových medov sme zaznamenali najvyšší obsah prolínu u medu slnečnicového (*Helianthus annuus* L.) (695 ± 23,4 mg.kg<sup>-1</sup>) z ČR a medu pestrecového (*Silybum marianum* L.) zo SR. Koncentrácia prolínu sa u medovicových medov pohybovala od 379 ± 10,8 mg.kg<sup>-1</sup> po 629 ± 29,1 mg.kg<sup>-1</sup>. Ani u jednej z analyzovaných vzoriek medov sme nezaznamenali koncentráciu prolínu nižšiu ako 180 mg.kg<sup>-1</sup>.

Koncentrácia prolínu a celkový obsah fenolických látok u analyzovaných medov agátových, repkových a lipových je uvedený v tabuľke.

**Tabuľka: Celkový obsah fenolických látok a obsah prolínu u medov agátových, repkových a lipových**

Deklarovaný druh medu	Pôvod medu	Fenolické látky [mg GAE.100 g <sup>-1</sup> ± SD]	Prolín [mg.kg <sup>-1</sup> ± SD]
Agátový	ČR	19,1 ± 0,62	207 ± 5,3
	SR	33,2 ± 1,62	221 ± 19,0
Repkový	ČR	54,6 ± 6,62	278 ± 7,2
	SR	32,7 ± 0,83	212 ± 2,4
Lipový-medovicový	SR	29,9 ± 0,88	228 ± 19,6
	ČR	57,2 ± 3,92	564 ± 13,4
Lipový-kvetový	ČR	41,5 ± 0,33	468 ± 35,7
	SR	38,1 ± 2,28	302 ± 15,9
	SR	44,2 ± 1,25	275 ± 29,7
		39,3 ± 4,39	386 ± 17,5

Vysvetlivky: ČR–Česká republika; SR–Slovenská republika, SD–smerodajná odchýlka, GAE–ekvivalent kyseliny galovej

Obsah prolínu v mede je variabilný, v závislosti od druhu medu (Persano Oddo a Piro, 2004; Meda et al., 2005; IHC, 2009; Flanjak et al., 2016). Túto skutočnosť potvrdzuje aj variabilita nami stanovených hodnôt obsahu prolínu. Agátové medy majú prirodzene nízky obsah prolínu (Persano Oddo et Piro, 2004). Flanjak et al. (2016) a Persano Oddo a Piro (2004) stanovili u agátových medov priemernú koncentráciu prolínu  $157 \pm 21,5$  mg.kg<sup>-1</sup> a  $222 \pm 58$  mg.kg<sup>-1</sup>. Rovnako aj nami analyzované agátové medy (*Robinia pseudoacacia* L.) obsahovali priemere  $214 \pm 10,1$  mg.kg<sup>-1</sup> prolínu a stanovené koncentrácie prolínu boli najnižšie spomedzi stanovených hodnôt. Medy repkové (*Brassica* spp.) mali vyšší priemerný obsah prolínu  $239 \pm 34,1$  mg/kg, porovnateľný s priemernou koncentráciou  $235 \pm 49$  mg/kg uvádzanou Persano Oddo et Piro (2004). Napokon aj nami stanovená priemerná koncentrácia prolínu u medov lipových-kvetových (*Tilia* spp.) bola porovnateľná s priemernou hodnotou  $357 \pm 87,4$  mg.kg<sup>-1</sup>, ktorú uvádzajú Persano Oddo a Piro (2004).

Celkový obsah fenolických látok sa u analyzovaných vzoriek kvetových medov z ČR pohyboval od  $19,1 \pm 0,62$  mg GAE.100 g<sup>-1</sup> po  $57,3 \pm 3,93$  mg GAE.100 g<sup>-1</sup>, s priemerným obsahom  $43,0 \pm 12,44$  mg GAE.100 g<sup>-1</sup>. U kvetových medov zo SR sa celkový obsah fenolických látok pohyboval od  $29,9 \pm 0,88$  mg GAE.100 g<sup>-1</sup> po  $56,5 \pm 7,68$  mg GAE.100 g<sup>-1</sup>, s priemerným obsahom  $37,3 \pm 8,47$  mg GAE.100 g<sup>-1</sup>. U medov medovicových (n=4) sme zaznamenali vyšší priemerný celkový obsah fenolických látok ( $73,4 \pm 20,26$  mg GAE/100 g), v porovnaní s priemerným celkovým obsahom fenolických látok u medov kvetových ( $40,2 \pm 10,74$  mg GAE/100 g).

Celkový obsah fenolických látok v mede sledovali aj Meda et al. (2005), ktorí stanovili podobný celkový obsah fenolických látok v rozmedzí od 32,59 do 114,75 mg GAE. 100 g<sup>-1</sup> medu, v porovnaní s nami stanoveným rozmedzím ( $19,1 \pm 0,62$  až  $103,0 \pm 4,06$  mg GAE.100 g<sup>-1</sup> medu). Rovnakí autori tiež zaznamenali vyšší celkový obsah fenolických látok u medovicových medov, v porovnaní s medmi kvetovými.

Stanovením koncentrácie prolínu a celkového obsahu fenolických látok sme sa zaoberali aj v našej predchádzajúcej práci, kde sme analyzovali koncentráciu prolínu a celkový obsah fenolických látok u medov (n=32) odobraných v tržnej sieti v ČR. Pri porovnaní stanovenej koncentrácií prolínu a celkového obsahu fenolických látok u medov od českých a slovenských včelárov, s hodnotami u medov z tržnej siete, sme zaznamenali väčšiu variabilitu hodnôt u medov z tržnej siete. Ďalej sme u 16 % analyzovaných medov z tržnej siete sme stanovili koncentráciu prolínu nižšiu ako 180 mg/kg (Tkáč et al., 2018), naproti tomu všetky

analyzované autentické medy od českých a slovenských včelárov mali koncentráciu prolínu vyššiu ako 180 mg.kg<sup>-1</sup>.

### ZÁVER

Spomedzi hodnotených parametrov u analyzovaných vzoriek medov od českých a slovenských včelárov vyhovelo požiadavkám vyhlášky č. 76/2003 Sb. a Smernice Rady 2001/110/ES 91 % vzoriek. Dve analyzované vzorky medov mali nadlimitnú koncentráciu 5-hydroxymetylfurfuralu, čo mohlo byť spôsobené nešetrným stekutením skryštalizovaného medu. V ostatných sledovaných legislatívnych parametroch boli analyzované medy vyhovujúce. Ani u jednej z analyzovaných vzoriek medov sme nedetegovali koncentráciu prolínu nižšiu ako 180 mg.kg<sup>-1</sup>, čo by mohlo poukazovať na falšovanie medu cukornými sirupmi. Výsledky analýz medov od českých a slovenských včelárov zo znášok roku 2018, tak poukazujú na vysokú kvalitu produkovaných českých a slovenských medov.

### LITERATÚRA

- Aries, E., Burton, J., Carrasco, L., De Rudder, O., Maquet, A. 2016. Scientific support to the implementation of a Coordinated Control Plan with a view to establishing the prevalence of fraudulent practices in the marketing of honey. JRC Technical Report [online cit. 04.02.2019]. Dostupné z: [https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/oc\\_control-progs\\_honey\\_jrc-tech-report\\_2016.pdf](https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/oc_control-progs_honey_jrc-tech-report_2016.pdf)
- Belitz, H-D., Grosch, W., Schieberle, P. 2004. *Food Chemistry*, Berlin: Springer.
- Bogdanov, S., Ruoff, K., Persano Oddo, L. 2004. Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. *Apidologie*, vol. 35, p. S4–S17.
- Flanjak, I., Strelec, I., Kenjerić, D., Primorac, L. 2016. Croatian produced unifloral honey characterized according to the protein and proline content and enzyme activities. *Journal of Apicultural Science*, vol. 60, no. 1, p. 39.
- IHC, 2009. Harmonized methods of the International Honey Commission [online cit. 02.02.2019]. Dostupné z: <http://www.ihc-platform.net/ihc-methods2009.pdf>.
- Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J., Nacoulma, O.G. 2005. Analytical, Nutritional and Clinical Methods: Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, vol. 91, p. 571–577.
- Persano Oddo, L., Piro, R. 2004. Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie*, vol. 35, p. S38–S81.
- Silici, S., Sagdic, O., Ekici, L. 2010. Analytical Methods: Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of Rhododendron honeys. *Food Chemistry*, vol. 121, p. 238–243.
- Tkáč, M., Vorlová, L. 2018. Akostné charakteristiky medu. In „Mladí vedci – bezpečnosť potravinového reťazca“ zborník príspevkov z vedeckej konferencie, Bratislava: Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky, s. 199-201, ISBN: 978-80-89738-18-2.

**Kontaktná adresa:** Mgr. Matej Tkáč, Ústav hygieny a technológie mlieka, Fakulta veterinárnej hygieny a ekológie, Veterinárni a farmaceutická univerzita Brno, Palackého tř. 1, 612 42 Brno, [tkacm@vfu.cz](mailto:tkacm@vfu.cz)

**SEKCIA 4: Výživa a bezpečnosť potravín**

## ALTERNATÍVNE ZDROJE POTRAVÍN ALTERNATIVE SOURCES OF FOOD

*Zuzana Čaplová, Blanka Tobolková, Emil Kolek, Zuzana Rešková, Peter Siekel*

**Abstract:** Proteins are an important ingredients in human nutrition. Major animal protein sources for human consumption include meat, fish, milk and eggs. Current animal protein sources will not be sufficient for the growing human population and need to be found in alternative sources. Increased concerns about ensuring food safety motivated the exploration of insects as an alternative protein source. Several studies suggest that the consumption of edible insects, i.e. entomophagy, can be a valuable alternative to conventional animal proteins. The purpose of this study was to characterise the nutritional composition and the microflora of fresh edible mealworm larvae, the medium and technologically modified samples. Since fresh insects were highly contaminated with different spoilage organisms and potential food pathogens, hygienic handling, a thorough decontamination method and correct storage conditions are recommended before consumption. A heating step (boiling 3 min., microwave 10 min., drying 50 °C 1 hod.) is sufficient for the inactivation of *Enterobacteriaceae* in insects. Furthermore, also hygienic conditions during the rearing process are important.

**Keywords:** worms, entomophagia, technological processing

### ÚVOD

Bielkoviny predstavujú dôležitú zložku vo výžive človeka. Sú významné vo viacerých procesoch, ktoré sa odohrávajú v organizme na bunkovej aj extracelulárnej úrovni. Najčastejšími zdrojmi plnohodnotných bielkovín sú vajcia, mlieko, hydinové, bravčové a hovädzie mäso. Tradičné zdroje sú čoraz častejšie obmedzované a zdraviu nie vždy prospešné (antibiotiká, rastové hormóny). Hľadanie nových alternatívnych foriem potravín sa tak stáva jednou z najväčších výziev ľudstva. Produkcia potravinárskeho hmyzu predstavuje jednu z možností riešenia problému (van Spiegel et al., 2013). Entomofágia (konzumácia hmyzu) je častá v krajinách Ázie, Afriky a Južnej Ameriky, pretože nutričné zloženie tela hmyzu je optimálne vyvážené a veľmi podobné ako u rybieho mäsa (van der Spiegel et al., 2013; Stoops et al., 2016). Naším cieľom bola analýza múčnych červov (*Tenebrio molitor*) z nutričného, ako aj z mikrobiologického hľadiska. Sledovali sme vplyv technologického opracovania na celkové zastúpenie mikroorganizmov.

### MATERIÁL A METÓDY

Na analýzu sme odoberali živé larvy a ich substrát spolu s trusom. Ďalšou fázou boli technologicky spracované larvy (varenie – 1 min., 2 min., 3 min., 30 s., sušené v mikrovlnke 10 min. a dosušovanie teplovzdušne pri 50 °C 1 hod.), posledná vzorka bola po 30 s. varení 14 dní mrazená.

Analyzovali sme celkový počet mikroorganizmov (GTK médium), koliformné baktérie, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, vreckaté huby a kvasinky. Na detekciu a kvantifikáciu koagulázopozitívnych stafylokokov (KPS) sme použili selektívno-diagnostické médium Baird-Parker Agar (Merck), na ktoré sme inokulovali vzorku riedenú  $10^{-2}$  až  $10^{-5}$  a kultivovali pri teplote 37 °C 48 hodín. Na presnejšiu identifikáciu *S. aureus* sme použili real-time PCR podľa Trnčíková et al. (2009). Koliformné baktérie a *E. coli* sme kvantifikovali inokuláciou vzorky riedenej  $10^{-2}$  až  $10^{-5}$  na selektívno-diagnostické médium Chromocult Coliform Agar (Merck) a následnou kultiváciou pri 37 °C 24 hodín. Na stanovenie počtu kvasiniek a vláknitých húb sme použili metódu zalieváním vzorky agarovým médiom. 1 ml vzorky riedenej  $10^{-3}$  až  $10^{-5}$  sme zaliali

tekutým YGC Agarom (Yeast extract glucose chloramphenicol agar FIL-IDF) (Merck) a nechali kultivovať 5 dní pri teplote 25 °C. Na detekciu *Listeria monocytogenes* sme použili dvojkrokové množenie vzoriek v tekutých selektívnych médiách Fraser (Merck) a očkovanie na tuhom chromogénnom médiu ALOA (Merck), na ktorom *L. monocytogenes* tvorí typické modrozelené kolónie so zónou precipitácie.

Obsah bielkovín sme určovali Kjeldahlovou metódou. Lipidy sme analyzovali pomocou ASE 350 (Accelerated Solvent Extraction systém), obsah cukrov podľa Duboise. Nakoniec sme stanovovali hrubú vlákninu pomocou ANKOM Fiber Analyzer A200.

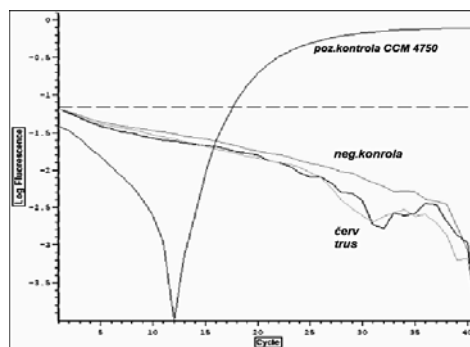
## VÝSLEDKY

Celkový počet mikroorganizmov vo vzorke živých lariev bol  $1,35 \cdot 10^7$  a  $1,56 \cdot 10^6$  vo vzorke trusu (substrátu). Výsledky sú uvedené v tabuľke 1. Vo všetkých analyzovaných vzorkách (tab. 1) bol zaznamenaný rod *Listeria*, ale nepotvrdený druh *L. monocytogenes*. Taktiež sa nepotvrdil druh *S. aureus* (obr. 1).

Tabuľka 1 Mikrobiologické zastúpenie

	substrát	larvy	1 min/10 min mikro/ 50 °C 1 hod	2 min/10 min mikro/ 50 °C 1 hod	3 min/10 min mikro/ 50 °C 1 hod	30 sek/zamraz.14 dní/10 min mik./ 50 °C 1 hod
kolifor. b.	$1,18 \cdot 10^5$	$3,14 \cdot 10^6$	$3,5 \cdot 10^4$	$1,6 \cdot 10^4$	-	$4,05 \cdot 10^3$
celkový počet	$1,56 \cdot 10^6$	$1,35 \cdot 10^7$	$1,2 \cdot 10^6$	$4,6 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^2$	$4,9 \cdot 10^4$
kvasinky a vreckaté huby	$8 \cdot 10^2$	$1,4 \cdot 10^2$	$1,2 \cdot 10^6$	$1,2 \cdot 10^6$	$7,4 \cdot 10^5$	$1,47 \cdot 10^7$

Pri technologicky upravených vzorkách sa celkový počet mikroorganizmov ako aj koliformných baktérií výrazne znížil. Naopak vreckaté huby a kvasinky sa rádozo zvýšili (tab. 1).



Obrázok 1. Real-time PCR *S.aureus*

Tabuľka 2. Nutričné analýzy

Analyzované vzorky	obsah bielkovín (g.kg <sup>-1</sup> )		obsah tuku (g.kg <sup>-1</sup> )		cukry celkové (g.kg <sup>-1</sup> )	
	v pôvodnej hmote	v sušine	v pôvodnej hmote	v sušine	v pôvodnej hmote	v sušine
larvy (drvené, mleté, sušené)	493,71	524,16	320,76	340,52	9,79	10,39
larvy 60 s varené a lyofilizované	506,2	523,31	362,67	374,92	1,8	1,86
mrazené larvy v celku	239,25	513,75	167,31	359,27	1,68	3,61

Pri nutričných analýzach sme sa zamerali na analýzu vzoriek, ktoré sú rôzne mechanicky a tepelne opracované. Múčne červy majú vysoký podiel bielkovín a tukov, avšak mrazením sa tento podiel znížil (tab. 2).

### DISKUSIA

Múčne červy (*Tenebrio molitor*) môžu v budúcnosti predstavovať vhodnú alternatívu živočíšnych a rastlinných bielkovín (Megido et al., 2018). Majú vyšší podiel bielkovín ako sója (Cho et al., 2018). Dôraz sa musí klásť na ich bezpečnosť pre spotrebiteľa, pretože čerstvé larvy boli vysoko kontaminované potenciálnymi patogénmi. Pred uvedením na trh sa odporúča vybrať vhodne zvolený technologický postup, aby sa zachovali aj nutričné benefity. Už 10 min. varenie výrazne eliminuje baktérie z čeľade *Enterobacteriaceae* (Kludner et al., 2012). Pri našom experimente postačilo 3 minútové varenie spolu s mikrovlným žiarením (10 min.) a hodinový dosušením pri teplote 50 °C, aby sme eliminovali baktérie, kvasinky a vrekaté huby.

### ZÁVER

Nami získané výsledky nás nasmerujú na ďalšie potrebné analýzy ako napr. analýza celkového profilu mikroorganizmov metódou NGS (Next-Generation Sequencing), ako aj hľadanie vhodného substrátu pre chov lariev, využitie nespracovaného vedľajšieho produktu potravinárskeho priemyslu a v neposlednom rade zvolenie vhodného technologického opracovania, aby červy boli zdraviu prospešné a mikrobiologicky bezpečné.

### LITERATÚRA

- Cho, J. H., Zhao, H. L., Kim, J. S., Kim, S. H., Chung, Ch. H., 2018. Characteristics of fermented seasoning sauces using *Tenebrio molitor*. In: *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. Roč. 45, s. 186-195.
- Klunder, H. C., J. Klunder, H. C., Wolkers-Rooijackers, J., Korpela, J. M., Nout, M. J. R., 2012. Microbiological aspects of processing and storage of edible insects. In: *Food Control*. Roč. 26, s. 628-631.
- Megido, R. C., Poelaert, Ch., Ernens, M., Liotta, M., Blecker, Ch., Danthine, S., Tyteca, E., Haubruge, É., Alabi, T., Bindelle, J., Francis, F., 2018. Effect of household cooking techniques on the microbiological load and the nutritional quality of mealworms (*Tenebrio molitor* L. 1758). In: *Food Research International*. Roč. 106, s. 503-508.
- Stoops, J., Creuwels, S., Waud, M., Cleas, J., Lievens, B., Van Campenhout, L., 2016. Microbial community assessment of mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) and grasshoppers (*Locusta migratoria migratorioides*) sold for human consumption. In: *Food Microbiology*. Roč. 53, s. 122-127.
- Trnčíková, T., Hrušková, V., Oravcová, K., Pangallo, D., Kačlíková, E., 2009. Rapid and sensitive detection of *Staphylococcus aureus* in food using selective enrichment and real-time PCR targeting a new gene marker. In: *Food Analytical Methods*. Roč. 2, č. 4, s. 241-250.
- Van Der Spiegel, M., Noordam, M. Y., Van Der Fels-Klerx, H. J., 2013. Safety of novel protein sources (insects, microalgae, seaweed, duckweed, and rapeseed) and legislative aspects for their application in food and feed production. In: *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Roč. 12, č. 6, s. 662-678.

**Pod'akovanie:** Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-17-0538 "Vybudovanie pilotného zariadenia a vývoj metód masového chovu hmyzu pre potravinárske účely".

**Kontaktná adresa:** Mgr. Zuzana Čaplová, PhD. NPPC, VÚP Priemyselná 4, 84275 Bratislava

# FAREBNÉ ZMENY RASTLINNÝCH NÁPOJOV VO FAREBNOM SYSTÉME CIE $L^*a^*b^*$ COLOUR CHANGES OF THE PLANT-BASED BEVERAGES IN CIE $L^* A^* B^*$ COLOUR SYSTEM

*Ján Durec, Blanka Tobolková, Emil Kolek, Dagmar Kozelová*

**Abstract:** Plant-based beverages (also called plant-based “milks”) have become increasingly popular and serve as a suitable alternative for those people who can’t consume cow’s milk. The whiteness and lightness ( $L^*$ ) are the most important quality parameters of these beverages. Both of the parameters vary in dependence on the raw material used to plant-based “milk” production. In majority of cases, storage of plant-based “milks” has led to slightly noticeable changes ( $0,5 < \text{TCD} > 1,5$ ). On the basis of colour characteristics, 100% successful differentiation of plant-based “milks” was achieved according to the type of raw material (almond, soy, coconut and cashew). Results also indicate the possibilities of colour characteristics utilization for detection of honey addition to these products.

**Key words:** plant-based “milk”, colour change, storage

## ÚVOD

Rastlinné nápoje bežne obsahujú rastlinné zdroje ako semená. Ich vzhľad pripomína tradičné mlieko a majú mierne odlišné zloženie. Vzhľadom na podobnosť v nutričných, funkčných a senzorických vlastnostiach sa tieto mlieka používajú ako náhrada živočíšneho mlieka (Enwere, 1998). K ich výrobe sa dá použiť široká škála surovín - strukovín (sója), obilnín (špalda, ryža), orechov (kokos, mandle) a semienok (mak). Neobsahujú teda laktózu ani cholesterol a obsah tuku sa líši v závislosti na použitej surovine. Rovnako tak sa líšia vo farbe a chuti (Jeske et al., 2017; Patil et al., 2017; Sethi et al., 2016). Doteraz publikované štúdie týkajúce sa kvality, sú zamerané predovšetkým na hodnotenie fyzikálno-chemických parametrov (napr. obsah tuku, popola, viskozita, pH, obsah sacharidov) alebo zastúpenie prchavých látok (Achouri et al., 2007; Ferragut et al., 2015).

Fyzikálne vlastnosti emulzie nápojov z orechov nie sú doteraz dostatočne preštudované. Pri výrobe boli využité poznatky o ohreve a homogenizácii a ako ovplyvňujú stabilitu emulzií z orechov. Avšak mechanizmy takýchto zmien stability a správanie sa všetkých oblastí emulzie sú stále nejasné. Rozdielne zloženie jednotlivých druhov orechov vyžaduje iné technologické spracovanie a pracovný postup (Tangsuphoom a Coupland, 2005). Tepelné spracovanie, ako je pasterizácia a sterilizácia, môže spôsobiť zmeny v zložkách potravín, najmä proteínov a lipidov, ktoré stabilizujú emulziu a tiež zahrievanie škrobu spôsobuje veľké zvýšenie viskozity (Fennema, 1996), čo môže mať tiež významný vplyv na stabilitu a farbu rastlinného mlieka.

Cieľom práce bolo porovnať zmeny farebných charakteristík mandľových, kokosových, kešu a sójových rastlinných nápojov spôsobených ich dlhodobým skladovaním.

## MATERIÁL A METÓDY

### Vzorky

Na analýzu boli použité rastlinné nápoje (sójové natural, kokosové natural, kešu sladené, mandľové natural a mandľové sladené), ktoré boli vyrobené za sterilných podmienok a skladované 4 mesiace pri teplote  $4 \pm 2$  ° C. Farebné charakteristiky boli stanovené v jednotlivých nápojoch na začiatku (kontrola - 0. mesiac) a na konci monitorovacieho obdobia (4. mesiac).



## Stanovenie farebných charakteristík

Pre účely hodnotenia farebných charakteristík jednotlivých rastlinných nápojov sa použila technika meranie farebných charakteristík v farebnom systéme CIE L\* a\* b\*. Snímali sa reflexné spektrá v 1 cm kremennej kyvete Quartz QS (Hellma) v rozsahu vlnových dĺžok od 200 do 2500 nm pomocou spektrofotometra Shimadzu UV 3600 (Shimadzu, Kyoto, Japonsko) s reflexným nastavcom LISR 3100 (Shimadzu), interval snímania po 2 nm pri spektrálnej šírke štrbiny 12 nm. Reflexné spektrá boli kalibrované na biely štandard BaSO<sub>4</sub>. Z uložených a normalizovaných spektier sa pomocou softvéru Panorama Advanced ColorLite (Labcognition Shimadzu) vo viditeľnej oblasti spektra od 380 do 780 nm pri 10 ° pozorovateľmi a zdrojmi osvetlenia D65 vypočítali farebné charakteristiky v troch farebných systémoch. V systéme CIE L\* a\* b\* sú najvýznamnejšie farebné parametre L\* - merná svetlosť, a\* - odtieň medzi červenou (+ a \*) a zelenú (-a \*), b\* - odtieň medzi žltou (+ b \*) a modrú (-b \*). chromaticita a uhol farebného odtieňa. Parametre L\* a\* b\* boli následne použité pre výpočet indexu hnednutie (BI, intenzita hnedej farby) (Mascan, 2001) a celkové farebné zmeny (TCD, vyjadrujúce celkovú farebnú zmenu v určitom čase skladovania oproti prvému merania ako referenčnej hodnote) (Cserhalmi et al., 2006).

## Štatistické zhodnotenie

Na štatistické porovnanie experimentálnych dát bola primárne použitá metóda ANOVA - procedúra Tukom-HSD (UNIST v. 6.0) pre porovnanie významnosti rozdielov skupinových priemerov, ktorému predchádzalo overenie normality dát podľa Študentovho rozdelenia. Za štatisticky významné boli považované rozdiely s hodnotou  $p < 0,05$ . Experimentálne charakteristiky boli následne spracované tiež metódami viacrozmernej štatistiky - Analýza hlavných komponentov (PCA) a faktorová analýza (PCF) s rotáciou varimax boli použité s cieľom grafického vyjadrenia rozdielov medzi jednotlivými druhmi nápojov (bez ohľadu na dobu skladovania), a kanonické diskriminačné analýza (CDA ) s cieľom tieto rozdiely kvantifikovať.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Najvýznamnejšími parametrami charakterizujúcimi kvalitu týchto nápojov sú bielosť, resp. svetlosť (L \*). Oba tieto parametre súvisia predovšetkým s rozptylom olejových častíc. Nemenej dôležitými faktormi sú tiež ich veľkosť (Patil et al., 2017), vstupná surovina, z ktorej je rastlinný nápoj vyrobený a spôsob spracovania, resp. technologické ošetrenie (Jeske et al., 2017; Cadwallader, 2010).

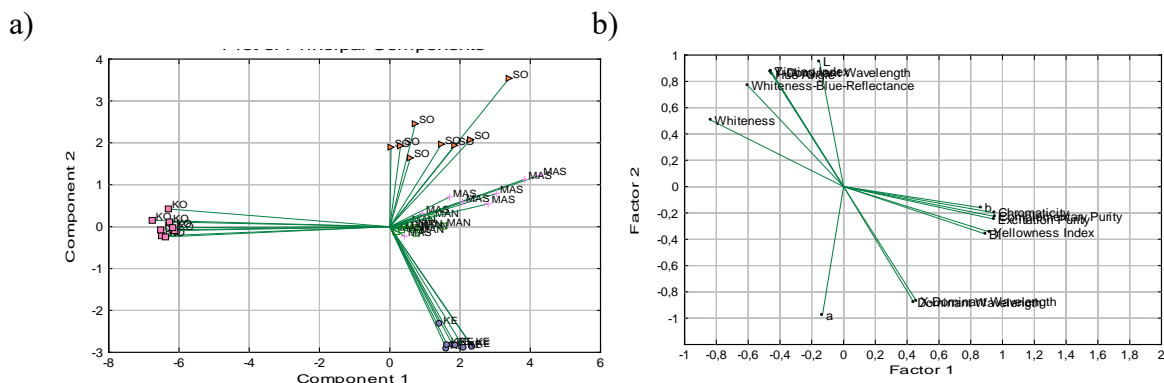
Zmeny vybraných farebných charakteristík analyzovaných nápojov, vrátane svetlosti a bielosti, sú uvedené v Tab. 1. Na prvý pohľad zrejme rozdiely medzi jednotlivými druhmi nápojov súvisia predovšetkým so surovinou použitou na ich výrobu. Napríklad u kokosového nápoja boli stanovené najvyššie hodnoty svetlosti, zatiaľ čo pri kešu najnižšie. Prekvapujúce sú aj určité odlišnosti jednotlivých farebných charakteristík medzi mandľovým nápojom natural a mandľovým nápojom sladeným, napr. vyššie hodnoty odtieňa žltej farby (b \*) a indexu hnednutia u sladenej varianty. Tu sa s najväčšou pravdepodobnosťou prejavuje dosladzovanie.

Čo sa týka vplyvu skladovania na vybrané farebné charakteristiky, z Tab. 1 sú u väčšiny nápojov viditeľné zvyšujúce sa hodnoty svetlosti (L \*), podielu žltej farby (b \*) a bielosti, zatiaľ čo podiel červenej / zelenej (+ a \* / - a \*) farby a index hnednutia klesá. Výnimkou je kokosové mlieko, u ktorého bol pozorovaný opačný trend. Vo väčšine prípadov pritom ide o štatisticky významné zmeny ( $p < 0,05$ ).

**Tab. 1. Zmeny vybraných farebných charakteristík rastlinných nápojov na začiatku (K) a na konci (E, 4. mesiac) expiračnej doby**

	ID	$L^*$	$a^*$	$b^*$	BI	Bělost	TCD
<b>Kokos</b>	K	99,5±0,2	-0,3±0,1	0,1±0,0	-0,1±0,0	94,1±0,6	-
	E	99,9±0,0	-0,5±0,1	0,4±0,1	0,3±0,0	93,8±0,5	0,5±0,0
<b>Kešu</b>	K	94,6±0,3	1,3±0,1	2,4±0,2	3,8±0,2	70,8±1,3	-
	E	95,6±0,8	1,3±0,1	2,6±0,1	3,7±0,1	72,3±0,8	1,1±0,2
<b>Sója</b>	K	98,7±0,6	-0,5±0,0	5,3±0,6	5,0±0,7	69,7±1,6	-
	E	98,2±0,5	-0,1±0,0	6,7±0,2	6,9±0,2	70,1±4,2	1,6±0,2
<b>Mandle natural</b>	K	96,9±0,5	0,3±0,0	4,2±0,3	4,5±0,3	70,0±1,3	-
	E	97,3±0,3	0,2±0,0	3,8±0,1	4,0±0,2	71,7±1,2	0,7±0,3
<b>Mandle sladená</b>	K	95,8±0,1	0,5±0,1	4,3±0,6	7,1±0,7	57,2±3,5	-
	E	97,0±0,5	0,3±0,0	6,4±0,7	4,7±0,8	71,2±4,9	1,4±0,3

Na posúdenie vplyvu skladovania na farbu rastlinných nápojov bol z hodnôt  $L^*$   $a^*$   $b^*$  vypočítaný parameter TCD. Cserhalmi et al. (2006) navrhli stupnicu charakterizujúcu celkovú farebnú zmenu, a to zmenu nepostrehnutelnú (0 až 0,5), slabo postrehnutelnú (0,5 až 1,5), postrehnutelnú (1,5 až 3,0), viditeľnú (3,0 až 6,0) a veľkú (6,0 až 12,0). Podľa tejto stupnice možno celkovú zmenu farby u väčšiny analyzovaných nápojov označiť ako slabo postrehnutelnú, s výnimkou sóje, u ktorej možno zmenu farby označiť už ako postrehnutelnú. Vyššia hodnota TCD u sladeného mandľového nápoja môže signalizovať negatívny vplyv pridaný med / cukru na stabilitu jeho farby počas skladovania. Avšak na preukázanie tohto tvrdenia by bolo potrebné vykonať ďalšie analýzy, a to aj u iných druhov rastlinných nápojov.

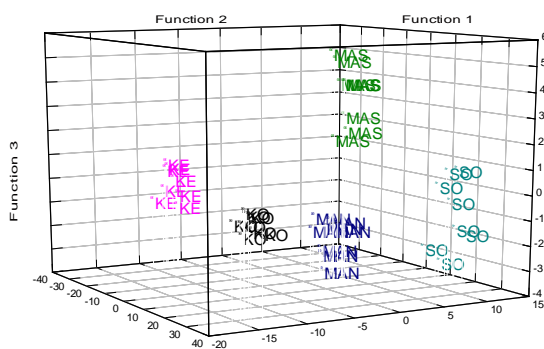


**Obr. 1. a) Diferenciácia rastlinných nápojov podľa druhu (KE - kešu, KO - kokos, SO - sója, MAN - mandle natural, MAS - mandle sladená) metódou hlavných komponentov (PCA) a b) graf faktorov konštruovaný pomocou faktorovej analýzy (PCF) v rotáciu varimax pri použití všetkých experimentálnych dát**

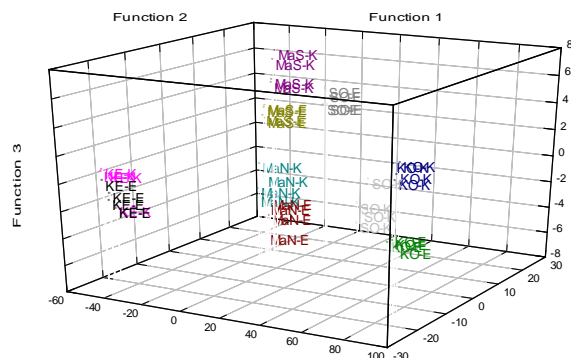
Hoci na prvý pohľad sú medzi analyzovanými rastlinnými nápojmi zrejme určité odlišnosti vo farebných charakteristikách sme sa pokúsili tieto rozdiely tiež vizualizovať a kvantifikovať pomocou metód multivariačnej štatistiky. Analýzou hlavných komponentov (PCA) bolo pôvodných 16 experimentálnych charakteristík transformovaných na nové premenné - hlavné komponenty, pričom prvé 3 komponenty kumulatívne vysvetľujú 97 % variability celého systému. Z hľadiska váhy jednotlivých parametrov pre konštrukciu sa ako najvýznamnejšie ukázali v 1. komponente bielosť a uhol farebného odtieňa, zatiaľ čo v 2. komponente parametre  $L^*$  a  $a^*$ , a v 3. komponente bielosť a parameter  $b^*$ . Výsledky analýzy PCA sú znázornené na Obr. 1a, z ktorého je zrejme, že vlastné vektory sú diferencované do 4 oddelených skupín prislúchajúcim jednotlivým druhom nápojov, s čiastočnou diferenciáciou nápojov mandľových.

Faktorovou analýzou sa preskúmala vzájomná korelačná schopnosť všetkých sledovaných parametrov. Z grafu faktorov (Obr. 1b) je zrejme, ktoré z parametrov vzájomne korelujú, a ktoré nie. Všeobecne, čím bližšie sa v priestore vektory odpovedajúce jednotlivým parametrom nachádzajú, tým je ich vzájomná korelácia (a zastupiteľnosť pri diskriminácii) vyššia. Faktorová analýza vyseletovala chromatickú zložku  $a^*$ , belosť a čiastočne aj svetlosť ( $L^*$ ) ako markery diskriminujúce rastlinná mlieka podľa druhu s najväčším účinkom.

a)



b)



**Obr. 2. Diferenciácia rastlinných mliek a) podľa druhu a b) podľa druhu a doby skladovania (KE - kešu, KO - kokos, SO - sója, MAN - mandle natural, MAS - mandle sladená, K - začiatok monitorovacieho obdobia, E - koniec monitorovacieho obdobia) metódou kanonickej diskriminačnej analýzy pri použití všetkých experimentálnych dát.**

V ďalšom kroku bola využitá metóda kanonickej diskriminačnej analýzy s cieľom kvantifikovať rozdiely medzi jednotlivými rastlinnými nápojmi. Z výsledkov analýzy CDA (Obr. 2a) je zrejme separácia analyzovaných nápojov do 5 oddelených skupín, čo potvrdzuje 100 % úspešnosť klasifikácie. Z hodnôt diskriminačných koeficientov boli ako parametre s najväčšou diskriminačnou silou využité: chromatická zložka  $a^*$ , bielosť, index hnednutia a excitačná čistota. Prekvapujúce je však 100 % úspešnosť diferenciacie rastlinných mliek podľa druhu a doby skladovania (10 skupín, Obr. 2b). V tomto prípade mali pri diskriminácii najväčšiu váhu parametre dominantnej vlnovej dĺžky, chromatická zložka  $a^*$  a index žltnutia.

## ZÁVER

Z uvedených výsledkov vyplýva, že skladovaním rastlinných nápojov dochádza k slabo viditeľným až viditeľným zmenám farby, v závislosti na surovine, z ktorej bol nápoj vyrobený. Výsledky tiež naznačujú možný negatívny vplyv dosladzovania týchto nápojov, kedy u mandľového nápoja sladeného, bola zistená dvakrát vyššia hodnota TCD v porovnaní

s nesladenou variantou. Pomocou metód multivariačnej štatistiky sa preukázala vhodnosť využitia jednotlivých farebných charakteristík na diferenciáciu rastlinných nápojov nielen podľa druhu, ale aj podľa doby skladovania.

#### LITERATÚRA

- Achouri, A., Boye, J. I., Zamani, Y. 2007. Changes in syomilk quality as a function of composition and stored. In *Journal of Food Quality*, vol. 30, 2007, pp. 731-744.
- Cadwallader, K. 2010. Instrumental measurement of milk flavour and colour. In: Improving the safety and quality of milk. Volume 2: Improving quality in milk products. Woodhead Publishing Limited, 1<sup>st</sup> ed., 2010, 505 p.
- Cserhalmi, Z., Sass-Kiss, Á., Tóth-Markus, M., Lechner, N. 2006. Study of pulsed electric field-treated citrus juices. In *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7, 2006, pp. 49–54.
- Enwere. N..J, 1998. *Foods of Plant Origin*. Afro-Orbis Publications Ltd, pp. 215-227.
- Fennema. O.R. *Food chemistry*. 3. New York : Marcel Dekker; 1996
- Ferragut, V., Valencia-Flore, D. C., Pérez-González, M., Gallardo, J., Hernández-Herrerro, M. 2015. Quality characteristics and shelf-life of ultra-high pressure homogenized (UHPH) almond beverage. In *Foods*, vol. 4, 2015, p. 159-172.
- Jeske, S., Zannini, E., Arendt, E. K. 2017. Evaluation of physicochemical and glycaemic properties of commercial plant-based milk substitutes. In *Plant Foods for Human Nutrition*, vol. 72, 2017, pp. 26-33.
- Mascan, M. 2001. Kinetics of colour change of kiwifruits during hot air and microwave drying. In *Journal of Food Engineering*, vol. 48, 2001, pp. 169-175.
- Patil, U., Benjakul, S., Prodpran, T., Senphan, T., Cheetangdee, N. 2017. A comparative study of the physicochemical properties and emulsion stability of coconut mil kat different maturity stages. In *Italian Journal of Food Science*, vol. 29, 2017, pp. 145-157.
- Sethi. S., Tyagi, S. K., Anurag, R. K. 2016. Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review. In *Journal of Food Science and Technology*, vol. 53, 2016, pp. 3408-3423.
- Tangsuphoom N., Coupland J. N. 2005. Effect of Heating and Homogenization on the Stability of Coconut Milk Emulsions. In *Journal of Food Science*. vol. 70, no. 8, 2005

**Pod'akovanie:** Tento príspevok bol vytvorený aj s realizáciou projektu APVV-15-0023 "Kvalita a autenticita ovocných džúsov - štúdium vzťahové medzi vstupnou surovinou, technológii spracovanie a kvalitou produktu".

**Kontaktná adresa:** Ing. Ján Durec, PhD., McCarter a.s. Bajkalská 25, 821 01 Bratislava, [durec@mccarter.sk](mailto:durec@mccarter.sk)  
Ing. Blanka Tobolková, PhD., Ing. Emil Kolek, PhD., Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum - Výskumný ústav potravinársky, Odbor chémie a analýzy potravín, Priemyselná 4, 824 75 Bratislava, [tobolkova@vup.sk](mailto:tobolkova@vup.sk), [kolek@vup.sk](mailto:kolek@vup.sk)  
Ing. Dagmar Kozelová, PhD., Katedra hygieny a bezpečnosti potravín FBP SPU Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, [dkozelo@gmail.com](mailto:dkozelo@gmail.com)

## ŠPECIFIKÁ DETEKČIE ALERGÉNNÝCH ZLOŽIEK V ORECHOCH SPECIFIC DETECTION OF ALERGENIC COMPONENTS IN TREE NUTS

*Dominika Hercegová, Lucia Zeleňáková*

**Abstract:** Allergenic ingredients in food tend to have a negative impact on the health and life quality of millions consumers around the world. Frequent allergenic food ingredients include tree nuts allergenic components that are capable of inducing the specific IgE antibodies production in hypersensitive individuals on nuts. Symptoms can be caused by trace amounts and may lead to severe anaphylaxis. Worldwide allergenicity testing of nuts in 2015 indicated sensitization of the population up to 4.9 %. Today's multicultural age offers a vast assortment of nuts that are and will be interest of the scientists study, depending on the newly discovered allergenic characteristics or immunological properties at the molecular level. Effects studies of nut allergenic components can lead to the availability and routine diagnostics of original or processed allergenic nut components, possibly to the discovery of IgE specific for the concrete allergens.

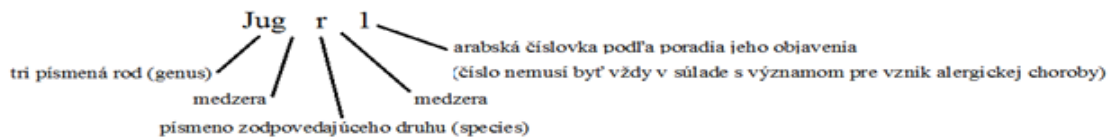
**Key words:** *tree nut allergens, food allergy, immune system, stability of allergens*

### ÚVOD

Úrad EFSA v roku 2014 vydal vedecké stanovisko týkajúce sa výskytu potravinových alergií v Európe. Získané údaje potvrdili, že alergické reakcie majú rastúcu tendenciu a potravinová alergia sa stáva celosvetovým problémom. Detekcia a označovanie alergénnych zložiek v potravinách je preto predmetom sledovania a to najmä producentmi potravín, kontrolnými a regulačnými orgánmi, ako aj samotnými spotrebiteľmi. Riadená výroba potravinárskych výrobkov a kontrolná činnosť inšpekčných orgánov vedie k opatreniam zabezpečujúcich ochranu spotrebiteľov pred negatívnymi účinkami alergénnych potravín (URL 1). Nedostatok vedeckých štúdií pri odhaľovaní potravinových alergií z orechov spôsobuje, že neexistujú dostatočne objektívne údaje vedúce k jednoznačnému záveru. Udáva sa, že v Európskej únii je dnes viac ako polovica všetkých popísaných prípadov anafylaktických reakcií spôsobená potravinovými alergiami (Venkataraman et al., 2018). Prvá zmienka o potravinovej alergii bola popísaná viedenským pediatrom Clemens von Pirquet už v roku 1906 (Medeková, 2010). Od tejto doby prešli naše stravovacie návyky rôznymi úpravami a transformáciami. Rozšírilo sa jednak naše potravinové spektrum a to o viac či menej exotických potravín, ale aj spektrum rôznorodých potravinových alergií.

Orechy a výrobky z orechov patria k obľúbeným, odporúčaným potravinám a potravinovým výrobkom na svete. Vzhľadom na ich bohatú nutričnú hodnotu a typické organoleptické vlastnosti sú často vyskytujúcou sa zložkou potravín v stopovom aj vo vyššom množstve. Nájdeme ich rôzne upravené v pekárskych výrobkoch, cukrárskych výrobkoch, v čokoládach, obľúbených müsli, omáčkach, nátierkach, dokonca aj v mliečnych a mäsových výrobkoch. Kvantita je často spojená s kvalitou výrobku. Ich prítomnosť spôsobuje nielen príjemný gustatorický vnem, ale vyvoláva aj množstvo akútnych alergických reakcií u citlivých jedincov, dokonca anafylaktický šok až smrť (Couch et al., 2017).

Minoritnými proteínmi v orechoch sú 2S albumíny, vicilíny, legumíny, nsLTP, profilíny, oleosíny a proteíny podobné tafumatínu. Bohatá štruktúrna rozmanitosť proteínov a správny výber detekčných metód môže určiť stupeň senzibilizácie, stabilitu pri tepelnom spracovaní, pri enzymatickej degradácii, stabilitu pH, rozpustnosť vo vode a iných rozpúšťadlách a iných vlastností, ktoré vedú k presnému určeniu alergizujúcich frakcií. Údaje o niektorých proteínoch stále chýbajú (Scheurer, 2017).



Obr. 1 Označenie alergénnej zložky orechu podľa názvu pôvodu (Ferenčík, 2006)

Medzi účinné opatrenia predchádzajúce nepriaznivým až fatálnym reakciám alergénnych zložiek orechov sú: efektívnosť analytických metód potrebných na zisťovanie stopových množstiev potenciálne alergénnych zložiek vo vzorkách potravín, vplyv spracovania potravín, súvislosť krížových reakcií, vplyv sezonality a podobne (Geiselhart et al., 2018).

Cieľom opatrení je teda zabezpečiť ich spoľahlivosť, presnosť, dostupnosť a finančnú nenáročnosť. Každé predložené vedecké stanovisko optimalizuje hodnotenie rizika, ktoré môže napomôcť pracovníkom riadenia rizika predkladať rozhodnutie týkajúce sa správneho označovania alergénov v potravinách.

V ďalšej časti príspevku uvádzame návrhy metodických riešení, ktoré boli vypracované na základe štúdia domácich a zahraničných vedeckých poznatkov s cieľom laboratórne overiť a porovnať uplatnenie vybraných imunologických a neimunologických metód v rámci detekcie stopových množstiev orechov. Táto problematika je spracovaná komplexne, pričom literárne zdroje sú uvedené v zozname literatúry na konci príspevku.

Druhy orechov, ktoré možno analyzovať nižšie charakterizovanými metódami: lieskové, vlašské, mandle, kešu orechy, pistácie, brazílske orechy a makadamové orechy. Väčšina z nich je tiež súčasťou zoznamu látok a produktov spôsobujúcich alergiu alebo neznášanlivosť, na ktoré sa vzťahuje informačná povinnosť v zmysle nariadenia č. 1169/2011 o poskytovaní informácií o potravinách spotrebiteľom. Uvedené orechy budú podrobené rôznym spôsobom tepelnej úpravy s cieľom posúdiť zmeny alergenicity orechov. Predmetom skúmania tiež budú balené aj nebalené pekárske výrobky ako chlieb, pečivo, strúhanka, tyčinky a pod.

Na stanovenie alergénov v orechoch možno použiť imunologické a neimunologické metódy. Hlavné neimunologické metódy: mikroextrakcia na tuhej fáze (SPME), denaturačná proteínová elektroforéza (SDS PAGE), hmotnostná spektrometria s laserovou ionizáciou/desorpciou (MALDI – TOF), nukleárna magnetická rezonancia (NMR) a medzi pomocné (podľa potreby) sa zaradia: plynová chromatografia (GC)/kvapalinová chromatografia (UHPLC)/gélková permeačná chromatografia (GPC)/kvapalinová chromatografia s hmotnostným spektrometrom (LCMS)/elektrospray (ESI)/ chemická ionizácia za atmosférického tlaku (APCI)/ chemická fotoionizácia za atmosférického tlaku (APPI)/ infračervené žiarenie (IČ)/ RAMAN metóda. Medzi imunologické metódy patrí ELISA metóda. Všeobecne tieto analytické metódy detekcie alergénnych zložiek v orechoch môžeme rozdeliť na metódy separačné, identifikačné a separačno-identifikačné.

V prvom kroku sa vzorka orecha v počiatočnom procese úplne zhomogenizuje, aby sa vyizolovala hľadaná alergénna zložka. Pomocou metódy mikroextrakcie sa vhodnými činidlami oddelia žiadané proteíny od rušivej matrice ostatných zložiek (nukleové kyseliny (NK), sacharidy (Sach.) a pod.) orecha. Separáčnou technikou plynovej chromatografie GC zo vzorky orecha sa oddelia prchavé látky (nukleové kyseliny). Pre oddelenie neprchavých nízkomolekulových látok (sacharidov) sa použije extrémne vysokotlaková separačná metóda kvapalinovej chromatografie, UHPLC. Zo získaných odseparovaných, čistejších a koncentrovanejších proteínov (po deliacich metódach) sa zistí prítomnosť, prípadne množstvo alergénnych zložiek orecha prostredníctvom identifikačnej, imunologickej metódy ELISA pomocou vhodnej sady Elisa testov (test pre vlašské orechy, test pre lieskové orechy). Na základe detekcie konkrétnych, poznaných alergénnych zložiek detegujeme ich približné miesto výskytu pomocou metódy SDS PAGE, zistíme ich presnú molekulovú hmotnosť a chemickú štruktúru prostredníctvom metódy MALDI. Na základe výsledkov sa tiež zistí, či

sa jedná o marker(y) typické len pre jeden druh orecha, alebo marker(y) vyskytujúce sa aj v iných druhoch orecha a stanovia sa ich detekčné limity. Tieto parametre nám umožnia získať skúsenosti a výsledky, na základe ktorých možno objektívne porovnať jednotlivé metódy a tie najvhodnejšie použiť pri ich aplikácii v konkrétnych potravinových výrobkoch.

V druhom kroku sa budú optimalizovať konkrétne potravinové výrobky (pekárske výrobky) z pohľadu zvyšujúcej/znižujúcej sa alergenicity, po technologickom spracovaní, na základe ktorej sa vytvorí aj ich medza detekcie. Obsah alergénnych zložiek a ich označenie na výrobkoch sa porovná s potravinovou legislatívou.

V treťom kroku sa budú hľadať biotechnologické metódy (spolu s imunologickým ústavom, imunológmi a alergiológmi) izolácie takých častí (telesných tekutín/fibroblastov), ktoré vykazujú odozvu na alergén neznámej štruktúry alebo doposiaľ nepriaznivej kombinácie poznaných alergických zložiek.

#### *Štatistické spracovanie výsledkov:*

Štatistické spracovanie výsledkov sa vykoná prostredníctvom analýzy hlavných komponentov (PCA - principal component analysis). Týmto tzv. analytickým nástrojom zredukujeme počet premenných (viacrozmernosť) vzájomne interagujúcich komponentov (cez korelačnú maticu), s čo najmenšou stratou variability. Úlohou PCA je vypočítať súbor vzájomne nezávislých premenných, hlavných komponentov, v našom prípade: sezonalita, podnebie, počet zrážok, vek stromu a iné. Tieto premenné sú váženým priemerom charakteristických premenných, a majú za cieľ zachovať čo najviac informácií pôvodných premenných. Poradie hlavných komponentov určuje dôležitosť reprezentujúcej (najväčšej) časti variability. Predmetom metódy je zistiť prečo a ako sa vzájomne ovplyvňujú korelované premenné. Pokúša sa nájsť aj skryté, tzv. latentné premenné (nemerateľné, ale schopné vecnej interpretácie) z pôvodných premenných. Výsledkom je identifikácia pozorovaní (outliers), vylúčenie nepotrebných premenných a použitie hlavných komponentov v sumárnej analýze pre konkrétne alergénne zložky, typické pre daný druh orecha.

## ZÁVER

Nové poznatky príslušných alergénnych zložiek orechov môžu viesť k zlepšeniu citlivosti a špecifikácii metód. Po porovnaní spoľahlivosti imunologických (imunoenzymatických) a neimunologických metód (po optimalizácii identifikácie a detekcie alergénnych zložiek) sa stanovia detekčné limity uvedených metód vo vzťahu k ich stopovým množstvám. Doposiaľ nie je veľa dostupných testov pre rutinnú diagnostiku alergénnych zložiek. Z tohto dôvodu by sa malo vyvinúť zvýšené úsilie na optimalizáciu detekcie alergénnych zložiek orechov (v natívnych orechoch a výrobkov z nich) a ich implementáciu pre rutinnú diagnostiku. Cieľom tohto procesu bude upovedomenie samotných spotrebiteľov, a to formou správneho označenia alergénnych zložiek na obaloch analyzovaných potravín (pekárskych výrobkov) v zmysle súčasnej platnej legislatívy.

## LITERATÚRA

- Acker, W. W., Plasek, J. M., Blumenthal, K. G., 2017. Prevalence of food allergies and intolerances documented in electronic health records. *J Allergy Clin Immunol*, vol. 140(6), pp.1587–1591. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.04.006.
- Becker, W. M., Jappe, U. 2017. Peanut oleosins associated with severe peanut allergy importance of lipophilic allergens for comprehensive allergy diagnostics. *J Allergy Clin Immunol Pract.* vol. 140, pp. 1331–1338.
- Bird J. Andrew, Stacie, J., Burks, W. 2019. Food Allergy. *Clinical Immunology*, no.5, pp. 625 – 631. DOI:<https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6896-6.00045-4>
- Bird, J., Spergel, J, Jones ,S. 2018. ARC001 Study Group Efficacy and safety of AR101 in oral immunotherapy for peanut allergy: results of ARC001, a randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2 clinical trial. *J Allergy Clin Immunol Pract.*, vol.6, no.2, pp.476 – 485. DOI: 10.1016/j.jaip.2017.09.016. Epub 2017 Oct 31.
- Couch, Ch., Franxman, T., Greenhawt, M. 2017. Characteristics of tree nut challenges in tree nut allergic and tree nut sensitized individuals. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 2017; DOI: 10.1016/j.anai.2017.02.010

- Downs, M. L., Simpson, A., Custovic, A., Semic-Jusufagic, A., Bartra, J., Fernandez-Rivas, M., Taylor, S. L., Baumert, J. L., Mills, E.N.C., 2016. Insoluble and soluble roastedwalnut proteins retain antibody reactivity. *Food Chem.*, vol. 194, pp. 1013–1021.
- Ekbote, A., Hayman, G., Bansal, A. 2010. Macadamia nut allergy: potentially misleading specific IgE results. *Allergy*, vol.65, pp. 1345.
- Elizur, A., Appel, M.Y., Nachshon, L., Levy, M. B., Epstein-Rigbi, N., Golobov, K., Goldberg, M. R. 2018. NUT Co Reactivity – ACquiring Knowledge for Elimination. Recommendations (NUT CRACKER) study. vol. 73, pp. 593 – 601.
- Ferenčík, M., Rovenský, J., Mat'ha, V., Jensen - Jarolim, E. 2006. *Imunológia a alergológia*. Bratislava. Slovak Academic Press., vol. 425, ISBN 80-89104- 82.
- Flatman, S., Alam, I., Gerard, J., Mussa, M. 2007. Process analytics for purification of monoclonal antibodies. *Journal of Chromatography B*, vol. 848, no.1, pp. 79 – 87. DOI: 10.1016/j.jchromb.2006.11.018. ISSN 15700232.
- Geiselhart, S., Hoffmann-Sommergruber, K., Bublin, M. 2018. Tree nut allergens. *Molecular Immunology*, vol. 100, pp. 71 – 81, DOI:10.1016/j.molimm.2018.03.011 globulin.
- Hoffman B, Moreno L, Gerber L, D'angelo E, Abramson, 2017. What pediatricians are advising on infant peanut introduction. *Ann Allergy Asthma Immunol.*, vol. 119, no. 5, pp.10.
- Lee, S., Hess, E. P., Lohse, C., Gilani, W., Chamberlain, A. M., Campbell, R. L., Trends, 2017, Characteristics, and incidence of anaphylaxis: a population-based study. *J Allergy Clin Immunol.*, vol.139, no. 1, pp.182 – 188, DOI: 10.1016/j.jaci.2016.04.029.
- Medeková, M. 2010. Vplyv spracovania potraviny na alergenicitu. Diplomová práca 65 s.
- Nariadenie Európskeho Parlamentu a Rady (EÚ) č. 1169/2011 z 25. októbra 2011 o poskytovaní informácií o potravinách spotrebiteľom
- Polk, B.I., Dinakarpanidian, D., Nanda, M., Barnes, C., Dinakar, C., 2016. Association of tree nut and coconut sensitizations. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, vol. 117, pp. 412 – 416.
- Pomés, A., Davies, J. M., Gadermaier, G., Hilger, Ch., Holzhauser, T., Lidholm, J., Lopata, A. L. 2018. WHO/IUIS Allergen Nomenclature: Providing a common language. vol.100, pp.3 – 13. DOI: 10.1016/j.molimm.2018.03.003.
- Rundqvist, L., Tengel, T., Zdunek, J., Bjorn, E., Schleucher, J., Alcocer, M. J. C., Larsson, G. 2012. Solution structure, copper binding and backbone dynamics of recombinant Ber e 1-the major allergen from Brazil nut. [online], vol. 7, ISBN 46435.
- Scheurer, S., 2017. Identification and implication of an allergenic PR-10 protein from walnut in birch pollen associated walnut allergy. Elsevier, vol. 61, pp. 1 – 9.
- Sicherer, S. H., Munoz-Furlong, A., Godbold, J. H., Sampson, H. A., 2010. US prevalence of self-reported peanut, tree nut, and sesame allergy: 11-year follow-up. *J. Allergy Clin.Immunol.*, vol. 125, pp. 1322–1326.
- URL1: Webová správa. Alergény v potravinách: Vedecké stanovisko. 2014. Dostupné na: <http://www.mpsr.sk/download.php?fid=8847>
- URL2: Aplikace v analytických laboratořích. 2019. Dostupné na: <http://www.airproducts.sk/Industries/Analytical-Laboratories/analytical-lab-applications/product-list/liquid-chromatography-with-mass-spectrometer-lc-ms-analytical-laboratories.aspx?itemId=>
- URL3: Analýza genomických a proteomických dat.[online].2019. Dostupná na: <http://portal.matematickabiologie.cz/index.php?pg=analiza-genomickyh-a-proteomickyh-dat--analiza-genomickyh-a-proteomickyh-dat--analiza-dat-hmotnostni-spektrometrie--liquid-chromatography-ms-ms>
- Venkataraman, D., Erlewyn-Lajeunesse, M., Kurukulaaratchy, R. J., Potter, S., Roberts, G., Matthews, S., Arshad, S. H., 2018. Prevalence and longitudinal trends of food allergy during childhood and adolescence: Results of the Isle of Wight Birth Cohort study, vol.48, no. 4, pp.394 – 402. DOI:<https://doi.org/10.1111/cea.13088>.
- VYHLÁŠKA 81/2018 Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky zo 14. marca 2018 o požiadavkách na označovanie potravín.
- Zákon národnej rady Slovenskej republiky č. 152/1995 Z. z. o potravinách.
- Zeleňáková, L., Čapla, J., Zajác, P.. *Hygiena výživy a stravovania. Uplatňovanie hygienických zásad v zariadeniach spoločného stravovania*. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2018. ISBN 978-80-552-1806-9.

**Kontaktná adresa:** doc. Ing. Lucia Zeleňáková, PhD., Ing. Dominika Hercegová, Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, FBP, SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 949 76 Nitra. E – mail: [xhercegovad@is.uniag.sk](mailto:xhercegovad@is.uniag.sk)



## MORFOLOGICKÝ POPIS PYLOVÝCH ZRN EXOTICKÝCH MEDŮ MORPHOLOGY OF POLLEN GRAINS OF EXOTIC HONEYS

*Zdeňka Javůrková, Matej Pospiech, Bohuslava Tremlová, Hana Běhalová,  
Michaela Bičová*

**Abstract:** Honey is for its nutritional and medicinal properties can be often counterfeited by adding cheap sugars, dyes and misleading labelling of botanical origin. The aim was to determine the characteristics of selected exotic honey, focusing on the morphological description of pollen grains of exotic honey - eucalyptus, orange, acacia and chestnut. Detection of honey was done by pollen analysis.

**Keywords:** pollen grains, analysis, microscopy,

### ÚVOD

Med je díky svým nutričním a léčivým vlastnostem vyhledávanou potravinou nejen mezi sportovci, ale i ostatními kdo dbají na zdravý jídelníček. Med, jako drahá komodita, bývá velmi často falšován přidáváním levných cukrů, barviv, klamavým označením o botanickém původu medu, ale i nevhodným zpracováním.

V *Codex Alimentarius* (2001) je med definován jako přirozená sladká substance produkovaná včelami medonosnými z nektaru rostlin nebo ze sekretů živých částí rostlin nebo exkrecí hmyzu sajícího šťávu ze živých částí rostlin, včely tyto látky sbírají a přeměňují pomocí slučování se svými vlastními specifickými substancemi, načež je ukládají, dehydratují, skladují a nechávají zrát.

Voda má v medu zastoupení od 15 do 20 %, zbytek je sušina. Sušina je tvořena převážně cukry. Největší zastoupení z cukrů v medu tvoří fruktóza, glukóza a sacharóza (Veselý, 2003). Podle původu medu je obsah minerálních látek stanoven v rozsahu od 0,1 do 0,7 %. BK a AMK Jejich množství v medu je tak nízké, že je z výživového hlediska zanedbatelné (Dobrovoda, 1986). Enzymy v medu pocházejí převážně z nektaru nebo z hltnových žláz včel. Jako další zdroje enzymů jsou uváděny pylová zrna, kvasinky a mikroorganismy (Veselý, 2003).

Medy se dělí podle různých hledisek, nejčastější je dělení podle rostlinného původu, podle způsobu získávání a případné technologické úpravy (Titěra, 2013). Dle české legislativy (Česká republika, 2003) se med podle původu dělí na květový a medovicový. Podle způsobu získávání nebo obchodní úpravy na med vytočený, plástečkový, lisovaný, vykapaný, s plástečky, filtrovaný, pastový a pekařský med.

Včely žijící v teplém podnebí mohou med vyrábět celý rok. V chladnějších oblastech zimní teploty donutí včely přezimovat v úlu. Vůně, chuť a barva jednotlivých druhů medu jsou určené květy, z nichž včely sbírají nektar. Některé druhy medu mají dokonce podobné vlastnosti jako byliny nebo stromy, jejichž květy byly hlavním zdrojem snůšky. Na trhu se můžeme setkat s různými exotickými medy, například s medem eukalyptovým, pomerančovým nebo kaštanovým (Orey, 2012; Cramp, 2014).

Falšování medu může být přímé nebo nepřímé. Přímé falšování znamená, že do medu je přímo přidávána nějaká substance. Nepřímé falšování se děje, když jsou včely takovou substancí krmeny (Zábrodská, Vorlová, 2015).

Geografický a botanický původ medu lze určit pomocí pylové analýzy (melissopalynologie). Rovněž je touto analýzou možné stanovit typ medu, tzn. jde-li o med květový, medovicový či smíšený (Švamberský, 2015). Medy jsou považovány za jednodruhové, v případě že převažující obsah pylu tvoří 45 % nebo více z celkového počtu pylových zrn (Kolayli, 2016). V laboratořích se při provádění pylové analýzy medu kombinuje metoda

kvalitativní a kvantitativní. Početnost pylových zrn v experimentálně jednodruhových medech je např. u akátu 75 – 150 pylových zrn v 1 g medu (Čermák, 2016).

Předpokladem kvalitativní pylové analýzy je schopnost rozpoznat v mikroskopu druhovou nebo alespoň rodovou příslušnost pylových zrn. Mezi základní morfologické charakteristiky pylových zrn patří: 1) symetrie, tvar a rozměry pylového zrna; 2) klíční otvory (apertury) a 3) povrchové útvary (Punt *et al.*, 2007).

Cílem této práce bylo určit charakteristické znaky vybraných exotických medů, se zaměřením na morfologický popis pylových zrn u medu eukalyptového, pomerančového, akátového a kaštanového pomocí mikroskopického vyšetření.

## MATERIÁL A METODIKA

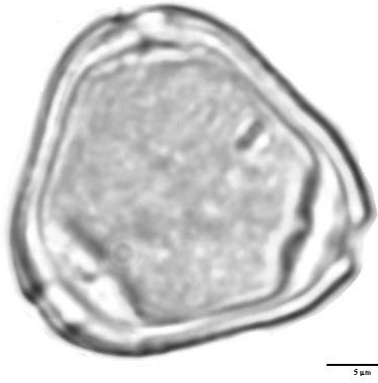
Vyšetřovány byly vzorky exotických medů zakoupené v tržní síti České republiky: med eukalyptový, pomerančový, akátový a kaštanový (původ Itálie). Do kádinky bylo kvantitativně přeneseno pomocí skleněné tyčinky 10 g (přesnost na 0,1g) medu. Do naváženého vzorku medu bylo přidáno 20 ml destilované vody a důkladně zamícháno, dokud se med zcela nerozpustil. Takto připravený roztok medu byl rovnoměrně přelit do 3 kyvet, které byly označeny číslem daného vzorku. Do každé kyvety byla přidána destilovaná voda, zhruba 0,5 cm pod okraj hrdla kyvety. Kyvety byly přeneseny do odstředivky a 3x odstředěny (5 minut při 3 000 otáčkách). Po 1. i 2. odstředění byl z každé kyvety odebrán supernatant. Kyvety byly opět doplněny destilovanou vodou. Po třetím odstředění se odsálo maximum tekutiny, tak aby se nerozvířil sediment. Poté byl sediment kapátkem nanesen na podložní sklo. Nechal se zaschnout na topné desce (Thermometer, CZE) při 40 °C. Po zaschnutí byly vzorky namontovány do glycerin želatiny. Opět se nechaly zaschnout na topné desce. Po zaschnutí montovacího média byly vzorky snímány kamerou DFK 23U274 (Imaging Source, GER) s využitím mikroskopu Eclipse Ci-L (Nikon, JPN) s motorizovaným stolkem Proscia III (Prior, USA). K úpravě snímků pylových zrn byl použit program pro analýzu obrazu NIS-Elements BR 4.50.00 (Laboratory Imaging, CZE).

## VÝSLEDKY A DISKUZE

Kaštan setý (*Castanea sativa* Mill.) nebo Eukalyptus produkuje větší množství pylových zrn a jejich vyšší počet je pak možné detekovat v medu, zatímco jiné druhy jako například Trnovník akát (*Robinia pseudoacacia* L.) či citrusy (*Rutaceae*) produkují méně pylových zrn a proto jich ve vzorcích není tolik zastoupeno (Escuredo *et. al.*, 2015). Při mikroskopickém vyšetření byla tato odlišnost v pylodárnosti mezi botanickými druhy jasně patrná, přestože nebyla provedena kvantitativní analýza. Nejméně pylových zrn bylo nalezeno u medu akátového a pomerančového. U jednotlivých vzorků byla pozorována tvarová různorodost a odlišná velikost, tak jak popisuje Čermák (2016).

Pylová zrna (Obrázek 1) eukalyptu jsou trojúhelníkového tvaru v polárním pohledu a eliptická v ekvatoriálním pohledu (Azzazy, 2011). Pylové zrno je radiálně symetrické s mírně obloukovitými plochami (Eliseu and Dinis, 2008).

Citrusová pylová zrna (Obrázek 2) mají ve srovnání s ostatními pylovými zrny vyšetřovaných exotických medů výrazné zdobení skulptury exiny, celkový tvar zrna má pravidelný kulovitý tvar a syté zbarvení žluté až do oranžova. Výrazná je i zrnitá struktura pylového zrna (Qui *et al.*, 2015).



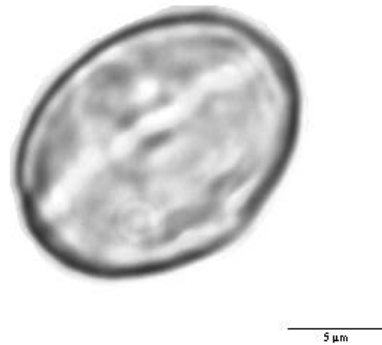
**Obrázek 1** Eukalyptové pylové zrno ve vzorku eukalyptového medu



**Obrázek 2** Pomerančové pylové zrno ve vzorku pomerančového medu



**Obrázek 3** Akátové pylové zrno ve vzorku akátového medu



**Obrázek 4** – Kaštanové pylové zrno ve vzorku kaštanového medu

Trnovník bílý – akát (*Robinia pseudoacacia*) nebývá vydatným zdrojem pylu. Výskyt jeho téměř bezbarvých pylových zrn na průřezu přibližně kruhového tvaru s velmi tenkou exinou je důležitým určujícím znakem druhového původu medu. Pylová zrna akátu často v oblasti apertur v preparátech praskají. Pylová zrna akátu, jak je vidět na obrázku 3, jsou zaobleně trojhranného tvaru. Tímto tvarem připomínají pyl různých růžovitých ovocných dřevin (Švamberg, 2015).

Kaštanovník setý (*Castanea sativa*) je včelám zdrojem pylu a jako jediný z čeledi bukovitých produkuje a včelám poskytuje také nektar. Pyl kaštanovníků je tvořen velmi drobnými zrny (15 µm) s kulatými póry v brázdách (Švamberg, 2015). Ve zkoumaném preparátu kaštanového medu byla pylová zrna ve velkém počtu, oválného tvaru, elipsovité, mírně oploštělá (Obrázek 4).

## ZÁVĚR

Falšování medu, které se odráží na kvalitě prodávaného medu, je stále aktuálním problémem. V Česku je až polovina medů falšovaná, jak vyplývá ze zpráv dozorových orgánů ČR. Cílem této práce bylo určit charakteristické znaky vybraných exotických medů, se zaměřením na morfologický popis pylových zrn z preparátů medu eukalyptového, pomerančového, akátového a kaštanového pomocí mikroskopického vyšetření. Detekce pylových zrn v medu metodou pylové analýzy vyžaduje určitou zkušenost pozorovatele, zaměřením se na charakteristické znaky morfologických tvarů pylových zrn, aby případně

dokázal odlišit a rozpoznat pylové zrno jiného botanického druhu. V souvislosti s exotickými medy vyžaduje znalost i geografického původu druhů rostlin, ze kterých med pochází. Výhodou melissopalynologie je, že je levná a při zkušenostech analytika i rychlá. Kvalitativní pylová analýza je vhodná na detekci botanického a geografického původu medů. Případně při zjištění falšování medu, může nasměrovat k provedení dalších analýz.

#### LITERATURA

- Alimentarius, C. 2001. *Revised codex standard for honey*. Codex stan, 12, 1982. Azzazy, M. F. 2011. Morphological studies of the pollen grains of Wadi El-Natron plants, West Nile Delta, Egypt. *Plant Systematics and Evolution*, 294(3-4), 239-251.
- Cramp, D. 2014. *Včelařství: obrazový průvodce: od pořízení včelstev po medobraní: více než 400 návodných fotografií*. 2. vyd. Přeložil Kateřina PISKOVÁ. Čestlice: Rebo, 160s.
- Česká republika. 2003. Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 76/2003 Sb. ve znění vyhlášky č. 43/2005 Sb., kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbóny. In: *Sbírka zákonů*, Česká republika, 2003; 32:2470-2524.
- Čermák, K., Sládek, K. 2016. *Ekologie chovu včel*. Červený Kostelec: Pavel Mervart, 284 s.
- Dobrovoda, I. (1986). *Včelie produkty a zdravie*. Bratislava: Príroda – Bratislava, 307 s.
- Eliseu, S. A., Dinis, A. M. 2008. Ultrastructure and cytochemistry of *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae) pollen grain. *Grana*, 47(1), 39-51.
- Escuredo, O., González-Martín, M. I., Rodríguez-Flores, M. S., & Seijo, M. C. 2015. Near infrared spectroscopy applied to the rapid prediction of the floral origin and mineral content of honeys. *Food chemistry*, 170, 47-54.
- Kolayli, S., Can, Z., Yildiz, O., Sahin, H., & Karaoglu, S. A. 2016. A comparative study of the antihyaluronidase, antiurease, antioxidant, antimicrobial and physicochemical properties of different unifloral degrees of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) honeys. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 31(sup3), 96-104.
- Qin, Y., Xu, C., Ye, Z., Da Silva, J. A. T., Hu, G. 2015. Seedless mechanism of a new citrus cultivar 'Huami wuhegonggan' (*Citrus sinensis* × *C. reticulata*). *Pak. J. Bot*, 47(6), 2369-2378.
- Punt, W., Hoen, P. P., Blackmore, S., Nilsson, S., & Le Thomas, A. 2007. Glossary of pollen and spore terminology. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 143 (1-2), 1-81.
- Orey, C. 2012 *Zázračná síla medu*. Praha: Ikar, 343 s.
- Švamberský, V. 2015. *Prostředí a včely: ekologie (nejen) pro včelaře*. V Praze: Mája, spolek pro rozvoj včelařství, 224 s.
- Titěra, D. 2013. *Včelí produkty mýtů zbavené: med, vosk, pyl, mateří kašička, propolis, včelí jed*. Praha: Nakladatelství Brázda. 175 s.
- Veselý, V. 2003. *Včelařství*. Vyd. 2., upr. a dopl. Praha: Nakladatelství Brázda. 272 s.
- Zábrodská, B., Vorlová, L. 2015. Adulteration of honey and available methods for detection – a review. *Acta Veterinaria Brno*, 83(10), 85-102.

**Poděkování:** Práce vznikla za podpory programu aplikovaného výzkumu Ministerstva zemědělství na období 2017 - 2025, ZEMĚ, číslo QK1920344.

**Kontaktní adresa:** Mgr. Zdeňka Javůrková, Ph.D., Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého třída 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika. email: javurkovaz@vfu.cz,

## ANTIOXIDANT ACTIVITY OF HONEYS OF VARIOUS ORIGIN FROM THE MALOPOLSKA REGION

*Lesław Juszczak, Robert Socha*

**Abstract:** The aim of the study was to evaluate the content of phenolic compounds, flavonoids and anthocyanins as well as the antioxidant activity of various honeys from the Malopolska region in Poland. The research material consisted of multifloral, goldenrod, rape, buckwheat and honeydew honey collected directly from beekeepers. The color index of the honey was assessed spectrophotometrically. The total content of phenolic compounds, flavonoids and anthocyanins were determined in honey. The antiradical activity was also assessed in reaction with DPPH<sup>o</sup> and ABTS<sup>o+</sup> radicals and the reduction ability by FRAP and CUPRAC methods. Based on the obtained results, it was found that the highest average antioxidant activity was found for buckwheat honey containing the most phenolic compounds, flavonoids and anthocyanins. These honeys were also characterized by the highest value of the color index. It was also found that there were significant linear correlations between the analyzed parameters characterizing the color and the antioxidant activity of the examined honeys.

**Keywords:** honey, phenolic content, antioxidant activity, reducing power

### INTRODUCTION

Honey belongs to products easily absorbed by the human body. Honey as a carrier of many bioactive substances is an important factor in the treatment of diseases, as it is characterized by strong antibacterial properties (Socha et al. 2016, Dżugan et al 2018). It owes it to, among others, enzymes produced by bees and polyphenol compounds contained in honey (Dżugan et al. 2018, Socha et al. 2018). The polyphenolic profile of honeys depends mainly on botanical and geographical origin of honey (Baltrušaitytė et al. 2007). Phenolic acids and flavonoids supplied with honey to the human body play the important role. They contribute, among others for the deactivation of free radicals, they show bactericidal, anti-cancer and anti-inflammatory effects (Wilczyńska and Przybyłowski 2009). Dark honeys, such as honeydew, buckwheat or heather, are considered more valuable due to the higher content of bioactive compounds, including phenolic acids and flavonoids (Wilczyńska and Przybyłowski 2010).

The aim of the study was to evaluate the content of phenolic compounds, flavonoids and anthocyanins as well as the antioxidant activity of various honeys from the Malopolska region in Poland.

### MATERIALS AND METHODS

The research material consisted of multifloral (6 samples), goldenrod(3), rape(4), buckwheat (2) and honeydew (4) honey collected directly from beekeepers.

The colour intensity of honey (CI) was measured following method of Beretta et al. (2005). A 50% (w/v) honey solution was filtered to remove any coarse particles. The net absorbance was determined as the difference between the absorbance at 450 nm and 720 nm using the UV-VIS spectrophotometer (V-530 Jasco, Japan).

The total phenolic content was determined by the spectrophotometric Folin-Ciocalteu method as described by Singleton et al. (1999). The total flavonoid content was determined in the reaction with aluminium chloride using the method described by Ardestani and Yazdanparast (2007). The anthocyanins content was determined by the spectrophotometric method described by Rababah et al. (2014). Determination of antiradical activity in the reaction with a DPPH<sup>o</sup> radical was performed using the procedure described by Blois (1958). The antiradical activity in the reaction with ABTS<sup>o+</sup> cation radical was determined in

accordance with Baltrušaitytė et al. (2007). The ferric reducing ability of honey was determined by FRAP assay, according to Benzie and Strain (1996) and the cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine was determined by CUPRAC method according to Apak et al. (2004). All measurements were performed in triplicate using the UV-VIS spectrophotometer (V-530 Jasco, Japan).

Correlation analyze was performed by calculating Pearson's linear correlation coefficients and their significance was tested at the 0.05 significance level. Calculations were made using the Statistica ver. 12 software.

## RESULTS AND DISSCUSION

Figure 1 shows the average values of colour index for individual honey groups. The greatest value of this parameter was characterized by buckwheat honey which indicates their most intense color. Honeydew and multifloral honeys were similar in color. The smallest mean colour intensity index was found for goldrod honey. According to Wilczyńska and Przybyłowski (2010), dark honeys, due to the higher content of bioactive components, including those affecting the intensity of coloring, are more valuable in terms of health-promoting effects.

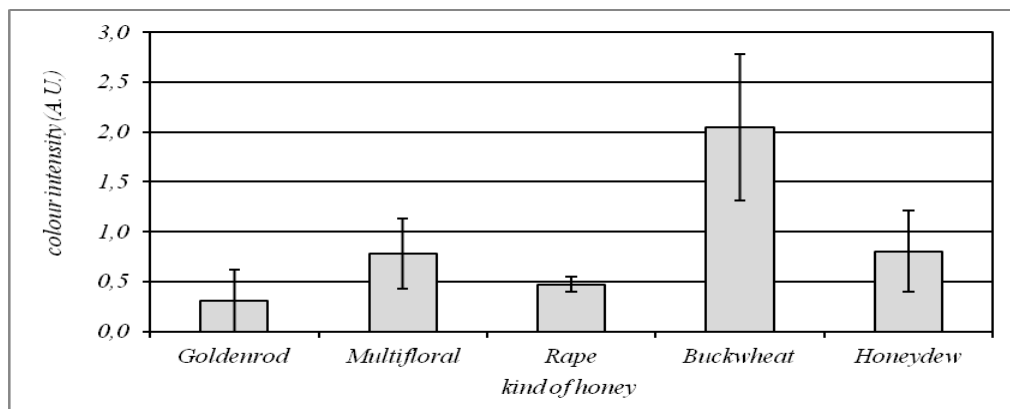


Figure 1. Colour intensity of different kind of honey

Table 1 presents results on the total content of phenolic compounds, flavonoids and anthocyanins. The smallest average total polyphenol content was characterized by rapeseed honeys. Also goldenrod honeys were characterized by low content of polyphenols. Multifloral honey contained on average  $49.05 \pm 7.98$  mg GAE/100g phenolic compounds, which is confirmed in the literature data (Majewska and Trzanek 2009, Wilczyńska 2010, Socha et al. 2018). Lower results of polyphenols in multifloral honeys are determined by Džugan et al. (2018). The most polyphenols contained buckwheat honey (table 1), characterized by the darkest color (Figure 1). A similar content of phenolic compounds in buckwheat honey was obtained by Wilczyńska (2010), while lower values are reported by Majewska et al. (2017) and Džugan et al. (2018). Similarly to the total polyphenols content, the low total content of flavonoids was characterized by rapeseed honeys and the largest buckwheat (table 1). The average flavonoid content for particular kind of honeys are within the broad range reported by Wilczyńska (2012) and Wilczyńska and Przybyłowski (2009).

Flavonoids that are most commonly identified in honey are chryzine, quercetin, kempferol and apigenin (Wilczyńska and Przybyłowski, 2009). As in the case of polyphenols and flavonoids, rapeseed honeys had the lowest total anthocyanins content, while the largest buckwheat honey (Table 1).

Table 1. Total phenolic (TPC), total flavonoids (TFC) and anthocyanins (AC) content of different kind of honey

Kind of honey		TPC (mg GAE/100g)	TFC (mg QE/100g)	AC (mg/100g)
Goldenrod	range	23.33 – 54.75	1.02 – 3.13	0.047 – 0.336
	mean ± sd	40.55 ± 15.33	2.16 ± 1.07	0.233 ± 0.161
Multifloral	range	39.96 – 59.66	0.76 – 3.12	0.160 – 0.489
	mean ± sd	49.05 ± 7.98	2.25 ± 0.80	0.309 ± 0.135
Rape	range	28.66 – 36.06	0.67 – 2.99	0.096 – 0.273
	mean ± sd	33.29 ± 3.26	1.80 ± 1.00	0.222 ± 0.084
Buckwheat	range	158.60 – 247.09	3.95 – 5.33	1.751 – 2.277
	mean ± sd	202.84 ± 62.57	4.64 ± 0.97	2.014 ± 0.372
Honeydew	range	57.61 – 76.74	2.32 – 5.21	0.407 – 1.010
	mean ± sd	65.61 ± 8.03	3.85 ± 1.33	0.630 ± 0.281

Table 2. Antiradical activity and reducing power of different kind of honey

Kind of honey		DPPH <sup>o</sup> (µM TE/100g)	ABTS <sup>o+</sup> (µM TE/100g)	FRAP (µM Fe <sup>2+</sup> /100g)	CUPRAC (µM TE/100g)
Goldenrod	range	12.69 – 63.39	0.75 – 1.97	130.6 – 349.1	108.7 – 321.9
	mean ± sd	39.71 ± 25.52	1.38 ± 0.67	236.3 ± 109.4	201.6 ± 109.2
Multifloral	range	28.49 – 87.94	1.36 – 2.54	170.5 – 394.1	135.7 – 317.2
	mean ± sd	57.71 ± 19.23	1.77 ± 0.47	282.0 ± 77.1	242.7 ± 82.2
Rape	range	22.50 – 35.56	0.73 – 1.25	122.9 – 229.4	108.3 – 238.9
	mean ± sd	30.46 ± 5.99	1.04 ± 0.24	182.7 ± 46.1	169.2 ± 53.8
Buckwheat	range	104.33 – 202.36	3.42 – 9.36	407.7 – 1140.8	1467.3 – 3677.7
	mean ± sd	153.34 ± 69.31	6.39 ± 4.20	774.3 ± 518.4	2572.5 ± 1563.0
Honeydew	range	75.83 – 132.89	1.84 – 3.00	393,6.6 – 574.5	212.5 – 486.4
	mean ± sd	98.42 ± 24.67	2.30 ± 0.50	458,7 ± 79,5	384.0 ± 122.7

Table 3. Correlation matrix of parameters characterizing antioxidant activity of honeys

	CI	TPC	TFC	AC	DPPH	ABTS	FRAP	CUPRAC
CI	1	0.8759*	0.3960	0.7662*	0.6833*	0.8163*	0.8071*	0.8571*
TPC	0.8759*	1	0.5574*	0.9617*	0.8561*	0.9462*	0.8959*	0.9670*
TFC	0.3960	0.5574*	1	0.6350*	0.6711*	0.4744*	0.5262*	0.4344
AC	0.7662*	0.9617*	0.6350*	1	0.8856*	0.9038*	0.8538*	0.9144*
DPPH	0.6833*	0.8561*	0.6711*	0.8856*	1	0.9008*	0.9258*	0.8202*
ABTS	0.8163*	0.9462*	0.4744*	0.9038*	0.9008*	1	0.9474*	0.9621*
FRAP	0.8071*	0.8959*	0.5262*	0.8538*	0.9258*	0.9474*	1	0.8824*
CUPRAC	0.8571*	0.9670*	0.4344	0.9144*	0.8202*	0.9621*	0.8824*	1

\*significant at 0.05

Table 2 summarizes the results of the determination of antiradical and reducing activity. The lowest ability to deactivation of free radicals DPPH<sup>o</sup> and ABTS<sup>o+</sup> was characterized by rapeseed and goldenrod honey. The most active in these reactions was buckwheat honey. Analogous results were obtained in the case of reducing capacities (Table 2). The results obtained in this work confirm earlier observations regarding the highest antioxidant activity of buckwheat honey, which as shown are characterized by the highest total content of polyphenols, flavonoids and anthocyanins. It was also found that there were significant linear correlations between the analyzed parameters characterizing the color and the antioxidant activity of the examined honeys (table 3). Such correlations have already been observed in other works (Socha et al. 2016, Dżugan et al 2018).

## REFERENCES

- Apak R., Güçlü K., Özyürek M., Karademir S. E. 2004. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (26), 7970-7981.
- Ardestani, A., Yazdanparast, R. 2007. Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chemistry*, 104, 21-29.
- Baltrušaitytė V., Venskutonis P. R., Ceksterytė V. 2007. Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts. *Food Chemistry*, 101, 502-514.
- Benzie I. F. F. Strain J. J. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, 299, 15-27.
- Beretta G., Granata P., Ferrero M., Orioli M., Facino R. M. 2005. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/ fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 533, 185-191.
- Blois M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181, 4617, 1199-1200.
- Dżugan M., Ruszel A., Tomczyk M. 2018. Jakość miódów importowanych dostępnych na rynku podkarpackim. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 25, 4 (117), 127-139.
- Majewska E., Trzaneck J. 2009. Właściwości przeciwutleniające miódów wielokwiatowych i innych produktów pszczelich. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, XLII (4), 1089-1094.
- Majewska E., Drużyńska B., Kowalska J., Wołosiak R., Ciecierska M., Derewiaka D. 2017. Zastosowanie metod fizykochemicznych i chemometrycznych do oceny jakości i autentyczności botanicznej miódów gryczanych. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 589, 59-68.
- Rababah T. M., Al-Omoush M., Brewer S., Alhamad M., Yang W., Alrababah M., Al-Majeed Al-Ghzawi A., Al-U'datt M., Ereifej K., Alsheyab F., Esoh R., Almajwal A. 2014. Total phenol, antioxidant activity, flavonoids, anthocyanins and color of honey as affected by floral origin found in the arid and semiarid mediterranean areas. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38, 1119-1128.
- Singleton V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299, 265-275.
- Socha R., Habryka C., Juszcak L. 2016. Wpływ dodatku propolisu na zawartość wybranych związków polifenolowych oraz aktywność przeciwutleniającą miodu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 5 (108), 127-139.
- Socha R., Habryka C., Juszcak L. 2018. Wpływ dodatku pierzgi na zawartość wybranych związków polifenolowych oraz aktywność przeciwutleniającą miodu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 25, 2 (115), 108-119.
- Wilczyńska A. 2010. Phenolic content and antioxidant activity of different types of polish honey – a short report. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 60, 4, 309-313.
- Wilczyńska A. 2012. Oznaczanie zawartości flawonoidów i fenolokwasów w odmianowych miódach pszczelich. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, XLV, 3, 892-896.
- Wilczyńska A., Przybyłowski P. 2009. Charakterystyka związków fenolowych zawartych w miódach. *Zeszyty Naukowe AM w Gdyni*, 61 (11), 33-38.
- Wilczyńska A., Przybyłowski P. 2010. Colour, phenolic content and antioxidant activity of Polish honeys. *Zeszyty Naukowe UE w Poznaniu*, 158, 7-14.

**Contact address:** Prof. dr hab. Lesław Juszcak, University of Agricultural, Faculty of Food Technology, Balicka 122, 30-149 Kraków, Poland, e-mail: rrjuszcz@cyf-kr.edu.pl



## BEZPEČNOST JEDLÉHO HMYZU SAFETY OF EDIBLE INSECTS

*Lenka Kouřimská*

**Abstract:** Edible insects are rarely used by the European food industry. However, it is the subject of growing interest as an alternative source of raw materials, especially proteins. The risks associated with the use of insects in food production have not yet been sufficiently investigated. The reason is still the lack of science-based knowledge of insect safety and its changes during the processing. Therefore, careful consideration should be given to all microbiological, chemical and physical risks of eating edible insects.

**Keywords:** *edible insects; microbiological safety; toxicity, allergenicity.*

### ÚVOD

Hmyz je rozšířeným zdrojem potravin v mnoha oblastech světa (Anankware et al., 2015). V Evropě je konzumace hmyzu neobvyklá, ale zájem o jedlý hmyz roste jak u konzumentů, tak i u výrobců potravin. Nejčastěji konzumovanými druhy hmyzu v Evropě jsou cvrček domácí (*Acheta domestica*), cvrček banánový (*Gryllus assimilis*), cvrček dvojskvrnný (*Gryllus bimaculatus*), cvrček krátkokřídlý (*Gryllodes sigillatus*), saranče stěhovavá (*Locusta migratoria*), kobylka *Oxya fuscovittata*, saranče americká (*Schistocerca americana*), saranče pustinná (*Schistocerca gregaria*), zavíječ malý (*Achroia grisella*), bourec morušový (*Bombyx mori*), zavíječ voskový (*Galleria melonella*), housenka *Gonimbrasia bellina*, brouk *Alphitobius diaperinus*, potěmnik moučný (*Tenebrio molitor*), potěmnik brazilský (*Zophobas atratus*), mravenec *Atta laevigata*, moucha bráněnka (*Hermetia illucens*), moucha domácí (*Musca domestica*), rus domácí (*Blattella germanica*) a šváb americký (*Periplaneta americana*) (Schlüter et al., 2017).

Hmyz je bohatý na živiny, a v některých případech má vysoký obsah bílkovin a tuků ve srovnání s jinými živočišnými potravinami (vepřové, hovězí a drůbeží) (Rumpold, Schlüter, 2013). Všechny druhy hmyzu obsahují ve svém exoskeletu polysacharidový chitin (polymer N-acetyl-d-glukosaminu). Obsahují také enzymy, např. celulózy nebo proteázy, které by mohly být zajímavé v různých potravinářských aplikacích (Watanebe, Tokuda, 2010; Krishnan et al., 2014). Hmyz tedy představuje nejen alternativní zdroj bílkovin, ale také alternativní zdroj dalších látek zajímavých pro potravinářský průmysl.

V posledních letech se objevují publikace zaměřené na bezpečnost jedlého hmyzu a potravin, které budou hmyz obsahovat (Belluco et al., 2013; Federal Agency for the Safety of the Food Chain, 2014). V roce 2015 zveřejnil Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) stanovisko k používání hmyzu jako potravin a krmiva (EFSA, 2015). Účelem tohoto dokumentu bylo identifikovat potenciální rizika celého řetězce počínajícího chovem hmyzu, přes jeho zpracování a případné izolace některých frakcí. Zvažovány jsou zejména následující aspekty: (i) zda použití a zpracování hmyzu nebo některých jeho složek způsobují nové a dosud neznámé riziko, (ii) zda jsou rizika stejná pro všechny druhy hmyzu nebo zda se liší v závislosti na druhu a stádiu vývoje, (iii) zda jsou k dispozici metody k minimalizaci nebo odstranění rizik nebo zda je třeba tyto postupy nově vyvinout. Předpokládá se, že podmínky v zařízeních pro chov hmyzu jako potravin či krmiva budou vyhovovat příslušným předpisům o bezpečnosti potravin platným pro chov dobytka. Patří mezi ně kontrolované podmínky chovu a krmení, které zabraňují mikrobiální a chemické kontaminaci. Údaje o spotřebě celého hmyzu a rizicích spojených se získáváním hmyzu žijícím ve volné přírodě, jakož i rizika spojená s chovem včel pro med se v tomto dokumentu nezohledňují.

Z hlediska bezpečnosti potravin, které obsahují bezobratlé živočichy, mohou existovat rizika: alergií u citlivých osob, riziko kontaminací pesticidy, těžkými kovy, radionuklidy,

patogenními mikroorganismy (viry, bakterie, paraziti), riziko obsahu přirozeně biologicky toxických látek (biotoxiny), nebezpečí mechanického ucpání trávicího ústrojí (bezoáry) či traumatického poškození sliznic gastrointestinálního traktu (Suchý et al., 2017).

### MIKROBIOLOGICKÁ BEZPEČNOST HMYZU

Mikrobiota hmyzu je velmi složitá (Engel, Moran, 2013; Douglas, 2015; Dillon, Dillon, 2004; Yun et al., 2014). Kromě povrchu těla a ústních orgánů jsou hlavním zdrojem mikroorganismů v hmyzu jejich střeva. Moderní metagenomické analýzy v posledních letech výrazně zvýšily znalosti o mikrobiální biodiverzitě, zejména v gastrointestinálním traktu hmyzu (Krishnan et al., 2014; Yun et al., 2014; Zheng et al., 2013; Jung et al., 2015; Fang et al., 2013; Gupta et al., 2012; Suh et al., 2005).

Použití hmyzu jako potravin se sebou nese potenciální mikrobiologické riziko, protože hmyz může sloužit jako vektor pro mikroorganismy patogenní pro člověka, zvířata a rostliny. Patogeny, které mohou být přenášeny prostřednictvím hmyzu zahrnují viry (Hogenhout et al., 2008), riketsie (Parola et al., 2005), bakterie (Wales et al., 2010), protozoa (Koura et al., 1990), plísně (Phoku et al., 2014), hlístice a další parazity lidského zažívacího traktu (Azambuja et al., 2005). Patogenní mikroorganismy specifické pro hmyz jsou považovány za neškodné pro člověka (Eilenberg et al., 2015). Dosud nebyly popsány žádné patogenní mikroorganismy specifické pro hmyz škodlivé i pro člověka s výjimkou několika zástupců rodu riketsia (Almuzara et al., 2011). Také zatím nebyly popsány žádné priony specifické pro hmyz nebo fakt, že by hmyz sloužil jako přirozený vektor pro priony. Nicméně, přenos prionů na zvířata a na člověka prostřednictvím konzumace hmyzu krmeného potravou obsahující priony nemůže být vyloučen.

Mikroorganismy, které se vyskytují u hmyzu a mohou být pro člověka patogenní či problematické patří k rodům *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus* a *Clostridium* nebo patří mezi *Enterobacteriaceae*, jako jsou *Escherichia*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Shigella* nebo *Yersinia* (Gupta et al., 2012; Skov et al., 2004). Součástí mikrobioty na povrchu nebo ve střevech hmyzu jsou i plísně či kvasinky rodů *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* a *Candida*.

Vzhledem k tomu, že u prakticky všech druhů hmyzu není možné střevo a jeho mikrobiální obsah odstranit, je poměr obsahu střevní mikrobioty k celkové hmotnosti hmyzu důležitý. Objem střevního traktu se pohybuje od 0,05 do 2 ml v závislosti na druhu hmyzu. Některé druhy hmyzu obsahují průměrně  $10^6$ - $10^{12}$  bakterií na mililitr obsahu střeva (Cazemier et al., 1997). Mikrobiální biomasa představuje 1 až 10 % celkového těla hmyzu a závisí na druhu hmyzu (Douglas, 2015). Při zpracování hmyzu je nutno předpokládat, že dochází k vysoké mikrobiální kontaminaci, kterou je třeba eliminovat vhodným způsobem zpracování, nejlépe tepelným zpracováním. Je třeba také poznamenat, že různé krmné substráty a podmínky chovu mohou měnit druhové spektrum střevní mikrobioty hmyzu, stejně jako vliv druhu hmyzu a stadia jeho vývoje (Yun et al., 2014; Jung et al., 2014; Liang et al., 2014; Perez-Cobas et al., 2015).

### CHEMICKÉ A TOXIKOLOGICKÉ ASPEKTY BEZPEČNOSTI HMYZU

Výběr druhů hmyzu vhodných ke konzumaci musí rovněž zahrnovat zvažování toxinů a antinutričních látek, jako jsou oxaláty, taniny, fytáty (Ekop et al., 2010; Shantibala et al., 2014) a thiamináza (Nishimune et al., 2000). Toxiny a antinutriční látky by měly být rozlišeny podle toho, zda jsou hmyzem absorbovány z krmiva nebo syntetizovány samotným hmyzem. Podmínky chovu hmyzu musí splňovat platné předpisy o bezpečnosti potravin. Hmyz vybraný pro výrobu potravin a složek potravin by proto měl být chován a uchováván tak, aby se zabránilo nebo minimalizovalo hromadění externě zavlečených toxinů, léků nebo antinutrientů.

Některé druhy hmyzu syntetizují látky, které jsou pro člověka toxické. Jednou z takovýchto sloučenin je například monoterpen kantaridin, (2,6-dimethyl-4,10-dioxatricyklo [5.2.1.0<sup>2,6</sup>] dekan-3,5-dion). V přírodě jej produkuje především brouk puchýrník lékařský (*Lytta vesicatoria*). Droga z puchýrníků je známá pod názvem španělské mušky. Kantaridin je vázán na proteiny a je součástí hemolymfy i dalších brouků z čeledi majkovitých. Toxické účinky po požití zahrnují obtíže při polykání, nevolnost a zvracení krve (Till, Majmudar, 1981). Výtažky z puchýrníka lékařského se používaly v minulosti pro výrobu nápojů lásky, neboť v nich obsažené látky, zejména pak kantaridin, vyvolávají erekci. Toto užití se však nedoporučuje, protože kantaridin je nejen afrodisiakum, ale též prudký jed a snadno lze překročit smrtelnou dávku (proto byly španělské mušky oblíbeny i mezi traviči). Na předávkování španělskými muškami údajně zemřel španělský král Ferdinand II. Aragonský. U těhotných žen se používal jako abortivum, ovšem i zde je stejný problém s nebezpečím předávkování. Známý jsou případy otravy dobytka v oblastech, kde se puchýrníci přemnožili.

Z dalších příkladů je možno uvést brouky tesaříky, kteří mohou obsahovat toluen. Potemníkovití (*Tenebrionidae*) produkují chinony a alkany (Brown et al., 1992), zatímco někteří motýli rodu *Zygaena* obsahují kyanogenní glykosidy (Zagrobleny et al., 2009). Rizikový potenciál těchto látek musí být zkoumán. Totéž platí pro toxiny, které mohou tvořit mikroorganismy ve střevech hmyzu, například toxiny rodu *Bacillus*, *Clostridium* a *Aspergillus*. Zatím nejsou k dispozici žádné údaje o přítomnosti toxinů v potenciálně jedlých druzích hmyzu. Tradiční konzumace hmyzu v určitých částech světa naznačuje, že jedlý hmyz nepředstavuje žádné zvýšené zdravotní riziko (Anankware et al., 2015; DeFoliart, 1999). V některých zemích, kdy jsou existující znalosti o tradičním používání hmyzu dostatečně komplexní, by toto mohlo sloužit jako základ pro prokázání "historie bezpečného používání." Toto však doposud nebylo vědecky ani systematicky zkoumáno. Pokud by ale docházelo k dalšímu zpracování hmyzu, mohlo by být škodlivé složky přítomné pouze ve stopových množstvích během frakcionace obohaceny spolu s požadovanými složkami. Toxický potenciál antinutričních látek a jejich obsah by měl být minimalizován výběrem vhodných podmínek chovu a zpracování.

### ALERGENICITA HMYZU

V lékařské literatuře byly v souvislosti se spotřebou hmyzu zdokumentovány ojedinělé projevy alergie, včetně anafylaktických reakcí (Ji et al., Yew et al., 2012; Choi et al., 2010). Z členovců (*Arthropoda*) šlo o hmyz (např. včely, chrobáky, kobylky a šváby), pavoukovce (*Arachnida*, např. roztoče) a korýše (*Crustacea*, např. krevety, ). Podobné alergenní struktury byly popsány u měkkýšů (*Mollusca*) (Leung et al., 1996; Kamath et al., 2013). Například tropomyosin může vyvolat alergické reakce na korýše, stejně jako na roztoče a hmyz (např. šváby) (Hemmer, 2010; Reese et al., 1999). Tento účinek byl potvrzen při zkřížené alergii na larvy potemníka moučného (*Tenebrio molitor*) u pacientů s inhalační a potravinovou alergií na roztoče a korýše. Tropomyosin a argininkináza byly identifikovány jako zkřížené reaktivní proteiny. Je proto možné, že u jedinců, kteří jsou alergičtí na korýše a roztoče z domácího prachu, se také projeví alergická reakce na potraviny obsahující proteiny z larev potemníka (Verhoeckx et al., 2014). Vzhledem k poměrně vysoké frekvenci inhalačních alergií na roztoče by mohla mít část populace problémy s alergií na hmyz v porovnání s klasickými potravinovými alergiemi (Calderon et al., 2015; Pomes, Arruda, 2014).

Možná kontaminace hmyzu patogeny se známým alergenním potenciálem, jako jsou *Aspergillus* a *Penicillium*, nebo kvasinkami, jako je *Candida*, by měla být brána v úvahu jako sekundární spouštěč alergických reakcí, tj. reakcí nepřímo způsobených hmyzem. Proto je třeba přijmout taková opatření, která zajistí, aby chovaný hmyz neobsahoval mikroorganismy s alergenním potenciálem.

Hlavní alergenní struktury hmyzu jsou glykoproteiny. Jedná se převážně o proteiny, které lze zjednodušeně označit jako svalové bílkoviny (např. tropomyosin, myosin, aktin, troponin C), buněčné bílkoviny (např. tubulin), cirkulující bílkoviny (například hemokyanin, defensin) a enzymy (např. argininkináza, triosefosfátizomeráza,  $\alpha$ -amyláza, trypsin, fosfolipáza A, hyaluronidáza). Kromě glykoproteinů jsou u členovců známé další alergenní nebo imunomodulační látky. Například galaktózo- $\alpha$ -1,3-galaktóza může vyvolat anafylaktické reakce (Platts-Mills et al., 2015).

Pokud jde o použití některých látek z hmyzu, tak například barvivo karmín získávané z nopálovce karmínového (*Dactylopius coccus*) bylo popsáno jako spouštěč alergických reakcí na potraviny (Wuthrich et al., 1997). Jako další molekulární strukturu s imunomodulačním potenciálem je možno uvést chitin. Bylo zjištěno, že chitin se snadno váže na viciliny - hlavní alergeny některých semen, ořechů a luštěnin jako jsou arašidy a sójové boby (Holzhauser et al., 2009).

Alergické reakce včetně anafylaktických reakcí po konzumaci hmyzu byly zatím nicméně zaznamenány jen v ojedinělých případech. Jako nejzávažnější se zatím jeví alergie na larvy potměníka moučného u jedinců trpících alergií na krevety. Bylo zjištěno, že zahřátí larev nesnižuje jejich alergenicitu, ale modifikuje rozpustnost alergenního proteinu (Broekman et al., 2015). Naproti tomu zkřížená alergie na tropomyosin z jiných druhů potměníků u jedinců alergických na krevety byla snížena po tepelném ošetření larev potměníků a jejich *in vitro* natrávení (van Broekhoven et al., 2016). Je třeba předpokládat, že zvýšená konzumace hmyzu nebo produktů na bázi hmyzu bude spojena se zvýšením frekvence alergických reakcí na hmyz.

Podle nařízení (ES) č. 258/97 lze od 1. ledna 2018 považovat hmyz na potravinu nového typu. Konkrétní druhy jedlého hmyzu je tedy možno uvádět na trh až po posouzení bezpečnosti a schválení, pokud nebyly v EU konzumovány ve významném množství před 15. květnem 1997. Dovoz jedlého hmyzu ze třetích zemí do EU podléhá veterinárním kontrolám.

## ZÁVĚR

K zajištění kvality a bezpečnosti frakcí nebo složek pocházejících z hmyzu je třeba vzít v úvahu následující kritéria:

Při výběru druhů hmyzu, vývojových stádií a podmínek chovu se musí zabránit mikrobiálním a toxikologickým rizikům.

Pro extrakci frakcí a složek potravin musí být hmyz chován za definovaných podmínek chovu a krmení, aby se zabránilo absorpci nežádoucích složek (patogenních mikroorganismů, toxinů, alergenů, antinutrientů a pod.) z krmiva nebo životního prostředí.

Jedlý hmyz musí být vyšetřen na přítomnost mikroorganismů významných pro bezpečnost. Mikroorganismy musí být po inaktivovány pomocí vhodnými postupy, které povedou k účinné inaktivaci střevní mikrobioty, protože u většiny druhů hmyzu není možné trávící trakt odstranit.

Frakce a přísady odvozené od hmyzu musí být zkoumány s ohledem na jejich alergenicitu a imunomodulační potenciál.

Frakce a složky potravin získané z hmyzu musí být analyticky charakterizovány s ohledem na jejich identitu, čistotu a zbytkovou hladinu potenciálně škodlivých látek.

## LITERATURA

- Almuzara, M. N., Palombarani, S., Tuduri, A., Figueroa, S. et al. 2011: First case of fulminant sepsis due to *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica*. *J. Clin. Microbiol.* 49, 2333–2335.
- Anankware, P., Fening, K., Osekre, E., Obeng-Ofori, D. 2015: Insects as food and feed: a review. *Int. J. Agric. Res. Rev.* 3, 143–151.
- Azambuja, P., Garcia, E. S., Ratcliffe, N. A. 2005: Gut microbiota and parasite transmission by insect vectors. *Trends Parasitol.* 21, 568–572.

- Belluco, S., Losasso, C., Maggioletti, M., Alonzi, C. C. et al. 2013: Edible insects in a food safety and nutritional perspective: a critical review. *Compr. Rev. Food Sci. Saf.* 12, 296–313.
- Broekman, H., Knulst, A., den Hartog Jager, S., Monteleone, F. et al. 2015: Effect of thermal processing on mealworm allergenicity. *Mol. Nutr. Food Res.* 59, 1855–1864.
- Brown, W. V., Doyen, J. T., Moore, B. P., Lawrence, J. F. 1992: Chemical composition and taxonomic significance of defensive secretions of some Australian Tenebrionidae (*Coleoptera*). *J. Aust. Ent. Soc.* 31, 79–89.
- Calderon, M. A., Linneberg, A., Kleine-Tebbe, J., De Blay, F. et al. 2015: Respiratory allergy caused by house dust mites: what do we really know? *J. Allergy Clin. Immunol.* 136, 38–48.
- Cazemier, A. E., Hackstein, J. H. P., Op den Camp, H. J. M., Rosenberg, J., van der Drift, C. 1997: Bacteria in the intestinal tract of different species of arthropods. *Microb. Ecol.* 33, 189–197.
- Choi, G. S., Shin, Y. S., Kim, J. E., Ye, Y. M., Park, H. S. 2010: Five cases of food allergy to vegetable worm (*Cordyceps sinensis*) showing cross-reactivity with silkworm pupae. *Allergy*, 65, 1196–1197.
- Commins, S. P., Platts-Mills, T. A. 2013: Delayed anaphylaxis to red meat in patients with IgE specific for galactose alpha-1,3-galactose (alpha-gal). *Curr. Allergy Asthma Rep.* 13, 72–77.
- DeFoliart, G. 1999: Insects as food: why the western attitude is important. *Annu. Rev. Entomol.* 44, 21–50.
- Dillon, R. J., Dillon, V. M. 2004: The gut bacteria of insects: nonpathogenic interactions. *Annu. Rev. Entomol.* 49, 71–92.
- Douglas, A. E. 2015: Multiorganismal insects: diversity and function of resident microorganisms. *Annu. Rev. Entomol.* 60, 17–34.
- EFSA 2015: Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. *EFSA J.* 13, 4257–4317.
- Eilenberg, J., Vlaskov, J., Nielsen-LeRoux, C., Cappellozza, S., Jensen, A. B. 2015: Diseases in insects produced for food and feed. *J. Insects Food Feed*, 1, 87–102.
- Ekop, E. A., Udoh, A. I., Akpan, P. E. 2010: Proximate and anti-nutrient composition of four edible insects in Akwa Ibom State, Nigeria. *World J. Appl. Sci. Technol.* 2, 224–231.
- Engel, P., Moran, N. A. 2013: The gut microbiota of insects—diversity in structure and function. *FEMS Microbiol. Rev.* 37, 699–735.
- Fang, W., Fang, Z., Liu, Z., Yuan, J. et al. 2013: Phylogenetic analysis of bacterial community in the gut of American cockroach (*Periplaneta americana*). *Wei Sheng Wu Xue Bao*, 53, 984–994.
- Federal Agency for the Safety of the Food Chain 2014: Food Safety of Insects Intended for Human Consumption (Scientific Committee Dossier 2014/04; SHC Dossier No. 9160), Brussels, Belgium 2014.
- Gupta, A. K., Nayduch, D., Verma, P., Shah, B. et al. 2012: Phylogenetic characterization of bacteria in the gut of house flies (*Musca domestica* L.). *FEMS Microbiol. Ecol.* 79, 581–593.
- Hemmer, W. 2010: Insects as a cause for allergic reactions. *Denisia*, 381–409.
- Hogenhout, S. A., Ammar el, D., Whitfield, A. E., Redinbaugh, M. G. 2008: Insect vector interactions with persistently transmitted viruses. *Annu. Rev. Phytopathol.* 46, 327–359.
- Holzhauser, T., Wackermann, O., Ballmer-Weber, B. K., Bindslev-Jensen, C. et al. (2009): Soybean (*Glycine max*) allergy in Europe: Gly m 5 ( $\beta$ -conglycinin) and Gly m 6 (glycinin) are potential diagnostic markers for severe allergic reactions to soy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 123, 452–458.
- Ji, K. M., Zhan, Z. K., Chen, J. J., Liu, Z. G. 2008: Anaphylactic shock caused by silkworm pupa consumption in China. *Allergy*, 63, 1407–1408.
- Jung, J., Heo, A., Park, Y. W., Kim, Y. J. et al. 2014: Gut microbiota of *Tenebrio molitor* and their response to environmental change. *J. Microbiol. Biotechnol.* 24, 888–897.
- Kamath, S. D., Abdel Rahman, A. M., Komoda, T., Lopata, A. L. 2013: Impact of heat processing on the detection of the major shellfish allergen tropomyosin in crustaceans and molluscs using specific monoclonal antibodies. *Food Chem.* 141, 4031–4039.
- Koura, E. A., Kamel, E. G. 1990: A study of the protozoa associated with some harmful insects in the local environment. *J. Egypt. Soc. Parasitol.* 20, 105–115.
- Krishnan, M., Bharathiraja, C., Pandiarajan, J., Prasanna, V. A. et al. 2014: Insect gut microbiome—an unexploited reserve for biotechnological application. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 4, S16–S21.
- Leung, P. S., Chow, W. K., Duffey, S., Kwan, H. S. et al. 1996: IgE reactivity against a cross-reactive allergen in crustacea and mollusca: evidence for tropomyosin as the common allergen. *J. Allergy Clin. Immunol.* 98, 954–961.
- Liang, X., Fu, Y., Tong, L., Liu, H. 2014: Microbial shifts of the silkworm larval gut in response to lettuce leaf feeding. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98, 3769–3776.
- Nishimune, T., Watanabe, Y., Okazaki, H., Akai, H. 2000: Thiamin is decomposed due to *Anopheles* spp. entomophagy in seasonal ataxia patients in Nigeria. *J. Nutr.* 130, 1625–1628.
- Parola, P., Davoust, B., Raoult, D. 2005: Tick- and flea-borne rickettsial emerging zoonoses. *Vet. Res.* 36, 469–492.

- Phoku, J. Z., Barnard, T. G., Potgieter, N., Dutton, M. F. 2014: Fungi in housefly (*Musca domestica* L.) as a disease risk indicator—a case study in South Africa. *Acta Trop.* 140, 158–165.
- Platts-Mills, T. A., Schuyler, A. J., Tripathi, A., Commins, S. P. 2015: Anaphylaxis to the carbohydrate side chain alpha-gal. *Immunol. Allergy Clin. North Am.* 35, 247–260.
- Pomes, A., Arruda, L. K. 2014: Investigating cockroach allergens: aiming to improve diagnosis and treatment of cockroach allergic patients. *Methods*, 66, 75–85.
- Reese, G., Ayuso, R., Lehrer, S. B. 1999: Tropomyosin: an invertebrate pan-allergen. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 119, 247–258.
- Rumpold, B. A., Schlüter, O. K. 2013: Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Mol. Nutr. Food Res.* 57, 802–823.
- Shantibala, T., Lokeshwari, R. K., Debaraj, H. 2014: Nutritional and antinutritional composition of the five species of aquatic edible insects consumed in Manipur, India. *J. Insect Sci.* 14, 1–10.
- Schlüter, O., Rumpold, B., Holzhauser, T., Roth, A., Vogel, R. F., Quasigroch, W., Vogel, S., Heinz, V., Jäger, H., Bandick, N., Kulling, S., Knorr, D., Steinberg, P., Engel, K.-H. 2017: Safety aspects of the production of foods and food ingredients from insects. *Mol. Nutr. Food Res.* 61, 1600520.
- Skov, M. N., Spencer, A. G., Hald, B., Petersen, L. et al. 2004: The role of litter beetles as potential reservoir for *Salmonella enterica* and thermophilic *Campylobacter* spp. between broiler flocks. *Avian Dis.* 48, 9–18.
- Suchý, V., Straková, E., Herzig, I. 2017: Nutriční hodnota bezobratlých živočichů a jejich využití ve výživě (současnost a perspektivy). Vědecký výbor výživy zvířat, VÚŽV, 82 s.
- Suh, S. O., McHugh, J. V., Pollock, D. D. 2005: Blackwell, M., The beetle gut: a hyperdiverse source of novel yeasts. *Mycol. Res.* 109, 261–265.
- Till, J. S., Majmudar, B. N. 1981: Cantharidin poisoning. *South Med. J.* 74, 444–447.
- van Broekhoven, S., Bastiaan-Net, S., de Jong, N. W., Wichers, H. J. 2016: Influence of processing and in vitro digestion on the allergic cross-reactivity of three mealworm species. *Food Chem.* 196, 1075–1083.
- Verhoeckx, K. C. M., van Broekhoven, S., den Hartog-Jager, C. F., Gaspari, M. et al. 2014: House dust mite (Der p 10) and crustacean allergic patients may react to food containing yellow mealworm proteins. *Food Chem. Toxicol.* 65, 364–373.
- Wales, A. D., Carrique-Mas, J. J., Rankin, M., Bell, B. et al. 2010: Review of the carriage of zoonotic bacteria by arthropods, with special reference to *Salmonella* in mites, flies and litter beetles. *Zoonoses Public Health*, 57, 299–314.
- Watanabe, H., Tokuda, G. 2010: Cellulolytic systems in insects. *Annu. Rev. Entomol.* 55, 609–632.
- Wuthrich, B., Kagi, M. K., Stucker, W. 1997: Anaphylactic reactions to ingested carmine (E120). *Allergy*, 52, 1133–1137.
- Yew, K. L., Kok, V. S. 2012: Exotic food anaphylaxis and the broken heart: sago worm and takotsubo cardiomyopathy. *Med. J. Malaysia*, 67, 540–541.
- Yun, J. H., Roh, S. W., Whon, T. W., Jung, M. J. et al. 2014: Insect gut bacterial diversity determined by environmental habitat, diet, developmental stage, and phylogeny of host. *Appl. Environ. Microbiol.* 80, 5254–5264.
- Zagrobelyny, M., Dreon, A. L., Gomiero, T., Marcazzan, G. L. et al. 2009: Toxic moths: source of a truly safe delicacy. *J. Ethnobiol.* 29, 64–76.
- Zheng, L., Crippen, T. L., Singh, B., Tarone, A. M. et al. 2013: A survey of bacterial diversity from successive life stages of black soldier fly (*Diptera: Stratiomyidae*) by using 16S rDNA pyrosequencing. *J. Med. Entomol.* 50, 647–658.

**Poděkování:** Tato práce vznikla za podpory projektu „Centrum pro studium vzniku a transformací nutričně významných látek v potravním řetězci v interakci s potenciálně rizikovými látkami antropogenního původu: komplexní posouzení rizika kontaminace půdy pro kvalitu zemědělské produkce“ reg.č.: CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_019/0000845 financovaného z EFRR.

**Kontaktní adresa:** doc. Ing. Lenka Kouřimská, Ph.D., Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 165 00 Praha 6–Suchbát, Česká republika, e-mail: kourimska@af.czu.cz

**SEKCIA 5: Bezpečnosť a kontrola mlieka a mliečnych výrobkov**

# INOVATÍVNE METÓDY V ŠTÚDIU MIKROBIÓMU VO VZORKÁCH BRYNDZE

## INOVATIVE METHODS IN MICROBIOM STUDYING IN SLOVAK CHEESE BRYNDZA

*Tereza Cabicarová, Zuzana Rešková, Zuzana Čaplová, Janka Koreňová, Tomáš Kuchta*

**Abstract:** We focused on one of the typical traditional Slovak specialities, cheese bryndza. This cheese can be prepared from ewes' or combination of ewes' and cow milk. During cheese ripening, microorganisms, especially the group of lactic acid bacteria play an important role. Deep taxonomic understanding of the present microorganisms and their communities helps us either to comprehend and enhance desired underlying food processes like fermentation, or to mitigate contamination and spoilage. In the present work we determine the microbiomes of collected cheese samples made from both pasteurized and non-pasteurized milk by culture-independent analysis based on 16S rDNA amplicon sequencing using the next generation sequencing platform Illumina. Our analysis identified the following genera of lactic acid bacteria - *Lactococcus* spp. as most abundant but also *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* and *Vagococcus*. Especially in samples of non-pasteurized milk we detect possible pathogens of the family *Enterobacteriaceae* and of the genera *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp. and *Staphylococcus* spp.

**Keywords:** cheese bryndza. next generation sequencing – NGS, gene 16S rDNA

### ÚVOD

Medzi naše tradičné slovenské gastronomické špeciality patrí syr bryndza, charakteristický svojou vôňou a chuťou. Na organoleptickej kvalite bryndze sa odráža aj zastúpenie mikroflóry, ktorá môže variovať v závislosti od použitého postupu výroby. Z tohto dôvodu je potrebné poznať napríklad mikrobiologické zloženie syrov vyrobených z nepasterizovaného mlieka (Šaková et al., 2014).

Na stanovenie mikroflóry v potravinách sa bežne používajú kultivačné metódy, pomocou ktorých sa stanovujú počty mikroorganizmov rastúcich na selektívnych médiách. Metódu je možné doplniť o detailnejšiu identifikáciu izolovaných kolónií. Výsledky získané touto cestou sú však nepresné z dôvodu možnej prítomnosti nekultivovateľných baktérií (Mayo et al., 2014). Na presnejšie stanovenie mikrobiómov sa v posledných rokoch zaviedli veľmi efektívne metódy veľkokapacitného paralelného sekvenovania DNA (next generation sequencing, NGS) (Planý et al., 2016). Jednou z najdôležitejších nekultivačných metód identifikácie prokaryontov je 16S rDNA sekvenovanie. Oblasť génu pre 16S ribozomálnu podjednotku je vhodná vzhľadom na prítomnosť deviatich hypervariabilných oblastí využiteľných práve na rozlíšenie baktérií na rodovej úrovni. Na identifikáciu baktérií je možné využiť rôzne kombinácie týchto oblastí. Dnes sú na trhu viaceré NGS systémy, aj vzhľadom na cenu patrí medzi najpoužívanejšie sekvenačná platforma Illumina (MiniSeq, MiSeq, HiSeq) (San Diego, CA, USA) (Cao et al., 2017).

### MATERIÁL A METÓDY

Vzorky bryndze sme zakúpili v obchodných reťazcoch. Na izoláciu zmesnej DNA sme použili súpravu DNeasy Mericon Food Kit (Qiagen, Hilden, Nemecko), chaotropickú extrakciu na tuhej fáze. Koncentráciu získanej DNA sme merali zariadením Qubit 4 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Pomocou PCR sme amplifikovali fragment génov 16S rDNA s danými primérmí (tab. 1). Amplifikáty sme prečistili pomocou kitu QIAquick PCR purification kit (Qiagen, Hilden, Nemecko).



Tabuľka 1: Priméry komplementárne k úseku génu 16S rDNA.

Názov priméru	Sekvencia
27F	5' –AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG- 3'
1062R	5' – ACA GCC ATG CAG CAC CT - 3'

Z amplifikovaných úsekov sme vytvorili knižnice s využitím súpravy Nextera DNA Library Preparation Kit (Illumina, SanDiego, California, USA). Sekvenovanie sa uskutočnilo na prístroji Illumina MiSeq v Univerzitnom vedeckom parku (Univerzita Komenského, Bratislava). Získané výstupy sme analyzovali pomocou programu CLC Genomics Workbench (Qiagen) a porovnali sme ich s databázou GenBank.

### VÝSLEDKY A DISKUSIA

Porovnávali sme päť vzoriek bryndze vyrobených z pasterizovaného mlieka a päť z nepasterizovaného mlieka. Naším cieľom bolo charakterizovať mikrobiálne spoločenstvá v týchto vzorkách pomocou molekulárno-biologických metód. Hlavné pomocou nekultivačnej analýzy s použitím vysokokapacitného paralelného sekvenovania – next generation sequencing (NGS) oblasti génu *16S rDNA*.

Na analýzu vzoriek sme použili sekvenačnú platformu (Illumina Miseq), ktorá sa používa najčastejšie na analýzu úseku dlhého 300 bp s variabilnými úsekmi V3-V4 génu *16S rDNA*. Na identifikáciu mikrobiómu je však možné použiť rôznu oblasť z celkovej dĺžky 1600 bp génu (Claesson et al., 2010). V našej práci sme použili úsek génu *16S rDNA* dlhý 1035 bp, ktorý obsahoval variabilné oblasti od V1 až po V6. Táto metóda vysokokapacitného paralelného sekvenovania variabilných úsekov génu *16S rDNA* nám poskytla dostatočné údaje o zložení mikroflóry vo vzorkách bryndze na úrovni rodu, aj keď v niektorých prípadoch iba na úrovni čeľade.

Tabuľka č. 2: Mikrobiálne spoločenstvá identifikované v jednotlivých vzorkách bryndze vyrobenej z pasterizovaného mlieka

Vzorky bryndze z pasterizovaného mlieka	1. zmesná	2. zmesná	3. 100% ovčia	4. zmesná	5. zmesná
Taxonomické zaradenie					
<i>Lactococcus</i> spp.	95,97%	76,92%	35,69%	79,34%	90,13%
<i>Streptococcus</i> spp.	0,52%	18,10%	44,36%	14,06%	5,76%
<i>Enterococcus</i> spp.	1,95%	0,19%	2,25%	0,00%	0,00%
<i>Lactobacillus</i> spp.	0,00%	1,24%	13,11%	2,99%	1,22%
<i>Leuconostoc</i> spp.	1,07%	0,02%	0,20%	2,00%	0,00%
<i>Vagococcus</i>	0,00%	0,29%	0,43%	0,00%	0,00%
<i>Enterobacteriaceae</i>	0,00%	2,50%	0,88%	0,00%	0,00%
<i>Acinetobacter</i> spp.	0,00%	0,18%	1,90%	0,00%	1,97%
<i>Pseudomonas</i> spp.	0,00%	0,05%	0,00%	0,00%	0,00%
<i>Staphylococcus</i> spp.	0,00%	0,00%	0,10%	0,00%	0,00%
iné	0,39%	0,30%	0,96%	1,46%	0,90%
nezaradené	0,10%	0,21%	0,12%	0,15%	0,02%

Z porovnania výsledných dát s GenBank databázou sme získali očakávané výsledky (tab. 2. a tab. 3) V mikroflóre bryndze z pasterizovaného, aj nepasterizovaného mlieka boli dominantne zastúpené baktérie mliečného kvasenia s hlavnými predstaviteľmi *Lactococcus* spp. Vo vzorkách z pasterizovaného mlieka bolo väčšie zastúpenie, čo je s najvyššou pravdepodobnosťou spôsobené pridaním štartovacích kultúr pri výrobe (D'Auria et al., 2014). Z ostatných laktobacilov sme identifikovali rody *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* a *Vagococcus*. Vo vzorke bryndze 3 vyrobenej

z nepasterizovaného mlieka sme identifikovali tiež väčšie množstvo baktérií z čeľade *Enterobacteriaceae*, ku ktorej patria aj závažné patogény a môžu predstavovať zdravotné riziko pre konzumenta. Túto čeľad' sme zaznamenali aj vo väčšine nepasterizovaných a v dvoch pasterizovaných vzorkách, avšak v malom množstve.

Celkové porovnanie výsledkov poukazuje na veľkú variabilitu v bakteriálnej mikroflore hlavne u vzoriek bryndze vyrobenej z nepasterizovaného mlieka (vzorka 7, 100 % ovčia a 6, zmesná vzorka s minimálny podielom 50 % ovčieho mlieka). Zistili sme prítomnosť viacerých druhov ako *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp. a *Staphylococcus* spp.

Tabuľka č. 3: Mikrobiálne spoločenstvá identifikované v jednotlivých vzorkách bryndze vyrobenej z nepasterizovaného mlieka

Vzorky bryndze z nepasterizovaného mlieka	6. zmesná	7. 100% ovčia	8. zmesná	9. 100% ovčia	10. 100% ovčia
Taxonomické zaradenie					
<i>Lactococcus</i> spp.	49,93%	54,94%	93,79%	66,85%	49,81%
<i>Streptococcus</i> spp.	22,57%	1,81%	0,35%	4,46%	30,56%
<i>Enterococcus</i> spp.	2,40%	1,60%	0,00%	1,83%	1,14%
<i>Lactobacillus</i> spp.	1,86%	1,15%	0,59%	16,12%	10,01%
<i>Leuconostoc</i> spp.	0,18%	0,00%	4,80%	3,37%	0,00%
<i>Vagococcus</i>	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
<i>Enterobacteriaceae</i>	6,45%	26,33%	0,00%	4,60%	3,25%
<i>Acinetobacter</i> spp.	0,56%	4,46%	0,00%	0,00%	1,77%
<i>Pseudomonas</i> spp.	2,17%	5,39%	0,00%	0,00%	0,00%
<i>Staphylococcus</i> spp.	0,21%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
iné	13,26%	3,09%	0,23%	2,33%	3,04%
nezaradené	0,41%	1,23%	0,24%	0,44%	0,42%

#### LITERATÚRA

- Cao, Y., Fanning, S., Proos, S., Jordan, K., Srikumar, Sh. 2017. A review on the applications of next generation sequencing technologies as applied to food-related microbiome studies. *Frontiers in Microbiology* 8, 1829.
- Claesson, M. J., Wang, Q., O'Sullivan, O., Greene-Diniz, R., Cole, J. R., Ross, R. P., and O'Tool, P., W. 2010. Comparison of two next-generation sequencing technologies for resolving highly complex microbiota composition using tandem variable 16S rRNA gene regions. *Nucleic Acids Res.* 38, 1–13
- D'Auria, G., Džunková, M., Moya, A., Tomáška, M., Kološta, M., Kmet, V. 2014. Genomesequencing of *Lactobacillus plantarum* 19L3, a strain proposed as a starter culture for Slovenská bryndza ovine cheese. *Genome Announc.* 2, e00292-14
- Mayo, B., Rachid, C. T. C., Alegria, A., Leite, A. M. O., Peixoto, R. S. Delgado, S. 2014. Impact of Next Generation Sequencing Techniques in Food Microbiology. *Current Genomics*, 15, 293-309
- Planý, M., Kuchta, T., Šoltýs, K., Szemes, T., Pangallo, D., Siekel, P. 2016. Metagenomic analysis of Slovak bryndza cheese using next-generation 16S rDNA amplicon sequencing. *Nova Biotechnologica et Chimica*, 15, s. 23-34.
- Šaková, N., Sádecká, J., Lejková, J., Puškárová, A., Koreňová, J., Kolek, E., Valík, E., Kuchta, T., Pangallo, D. 2015. 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*, 54, s. 239-251

**Pod'akovanie:** Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy APVV-16-0119.

**Kontaktná adresa:** Mgr. Zuzana Rešková, PhD., Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Výskumný ústav potravinársky, Priemyselná 4, 824 75 Bratislava 26, Slovensko

## SLEDOVANIE OBSAHU MOČOVINY VO VZORKÁCH SUROVÉHO KRAVSKÉHO MLIIEKA

### MONITORING OF UREA CONTENT IN SAMPLES OF RAW COW'S MILK

*Margita Čanigová, Viera Ducková, Zuzana Remeňová, Peter Zajác, Miroslav Kročko*

**Abstract:** The aim of the work was to monitor the content of urea in raw cow milk taken in the year 2018. The urea content was monitored in tanker milk samples from the four larger dairies and milk samples from three farm dairies. There was no statistically significant difference between the content of urea in tanker milk and farm milk samples. In farm milk samples, the urea content varied significantly ( $v = 51,02\%$ ). The lowest urea content was found out in milk samples taken in February. There was a statistically high negative correlation between the urea content and the rennetability of milk.

**Keywords:** cow's milk, urea, rennetability, monitoring

### ÚVOD

Jednou z dôležitých zložiek sušiny mlieka sú dusíkaté látky. Z celkového množstva dusíkatých látok pripadá 95 % na bielkoviny. Zvyšok dusíka sa nachádza v nebielkovinových dusíkatých látkach (Ziajki, 2008). Z technologického ako aj zootecnického hľadiska má medzi nebielkovinovými dusíkatými látkami najväčší význam močovina.

Močovina pochádza z detoxikačného procesu amoniaku v pečeni. Samotný amoniak vzniká v dôsledku nadbytku dusíka v bachore, ktorý sa produkuje pri nadbytočnom prijímaní stráviteľných dusíkatých látok a z aminokyselín, ktoré sú katabolizované v procese glukoneogenézy (Rapetti et al., 2014). Podľa Speka et al. (2016) sa približne 26 % prijatého dusíka vylučuje do mlieka. Hoci sa väčšina močoviny vylučuje močom, časť z nej difunduje do krvi a mlieka. To vysvetľuje úzky vzťah medzi koncentráciou močoviny v mlieku a koncentráciou močoviny v krvi (Nousiainen et al., 2004). Medzi hladinou močoviny v krvi a v mlieku sa uvádza vysoko pozitívna korelácia (Aguilar et al., 2012).

U dojnic sa využíva obsah močoviny v mlieku na diagnostikovanie primeranosti skrmovania stráviteľných dusíkatých látok a energie (Nousiainen et al., 2004). Optimálny obsah močoviny v kravskom mlieku je v rozpätí 15 až 30 mg v 100 ml mlieka. Zvýšenie obsahu močoviny v mlieku je spravidla dôsledkom nedostatku energie v krmnej dávke, t.j. relatívnym nadbytkom N-látok, alebo častejšie absolútnym nadbytkom N-látok pri zodpovedajúcom prísune energie.

Odchýlky od očakávaných hodnôt koncentrácie močoviny v mlieku môžu spôsobiť aj iné faktory. Do úvahy prichádzajú napr. plemeno, ročné obdobie, doba odberu vzoriek (Mitchell et al., 2005, Wattiaux et al., 2005, Miglior et al., 2007, Spek et al., 2016, Barros et al., 2019).

Z technologického hľadiska zvýšený obsah močoviny v mlieku môže pôsobiť inhibične na činnosť mliekarenských kultúr, môže predĺžiť dobu zrážania mlieka syridlom prípadne spôsobiť iné technologické problémy (Kováčik et al., 2004).

Cieľom práce bolo zhodnotiť obsah močoviny v mlieku spracovávanom na parené syry v družstevných a priemyselných mliekarnách v priebehu roka. Zistiť vzťah medzi obsahom močoviny a syriteľnosťou mlieka.

### MATERIÁL A METODIKA

Vzorky surového kravského mlieka sa odoberali jedenkrát mesačne počas januára až decembra 2018. Odoberali sa cisternové vzorky v štyroch priemyselných mliekarenských závodoch (označené 1, 3, 6, 8) a bazénové vzorky v troch družstevných mliekarnách (2, 5, 7), ktoré spracúvali vyprodukované mlieko. Základná analýza mlieka vrátane stanovenia obsahu

močoviny sa robila na prístroji Bentech Dairy Spec (*Bentley, Czech*) do 24 hodín po odbere vzoriek. Syriteľnosť mlieka sa stanovovala ako čas v sekundách, za ktorý sa zrazí mlieko s teplotou 35 °C 1 ml syridla.

Získané výsledky sa spracovali v programe Microsoft Excel. K štatistickému vyhodnoteniu sa použil Wilcoxon test.

### VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky stanovenia obsahu močoviny vo vzorkách mlieka uvádza tabuľka 1. Rozdiel v obsahu močoviny medzi cisternovými a bazénovými vzorkami mlieka bol štatisticky nepreukazný. Priemerný obsah močoviny (27,03, resp. 27,85 mg v 100 ml) nepresiahol optimálnu hornú hranicu obsahu močoviny (30 mg v 100 ml) v mlieku. Avšak pri hodnotení jednotlivých výsledkov bol obsah močoviny u cisternových vzoriek mlieka prekročený v 22,5 % vzoriek a v prípade bazénových vzoriek v 23,3 % vzoriek.

Podľa Kováčika et al. (2004) patrí močovina v mlieku vzhľadom na jej metabolický pôvod k najvariabilnejším zložkám mlieka. Z našich výsledkov vyplýva, že počas sledovaného obdobia kolísal viac obsah močoviny v bazénových vzorkách mlieka ako v cisternových vzorkách. Vysvetlenie môže spočívať v tom, že cisternové vzorky mlieka predstavujú priemerné zloženie mlieka viacerých producentov mlieka. Prípadné výkyvy obsahu močoviny v mliekach jednotlivých producentov sa preto v cisternových vzorkách mlieka môžu odstraňovať.

Tab. 1: Obsah močoviny v cisternových a bazénových vzorkách mlieka

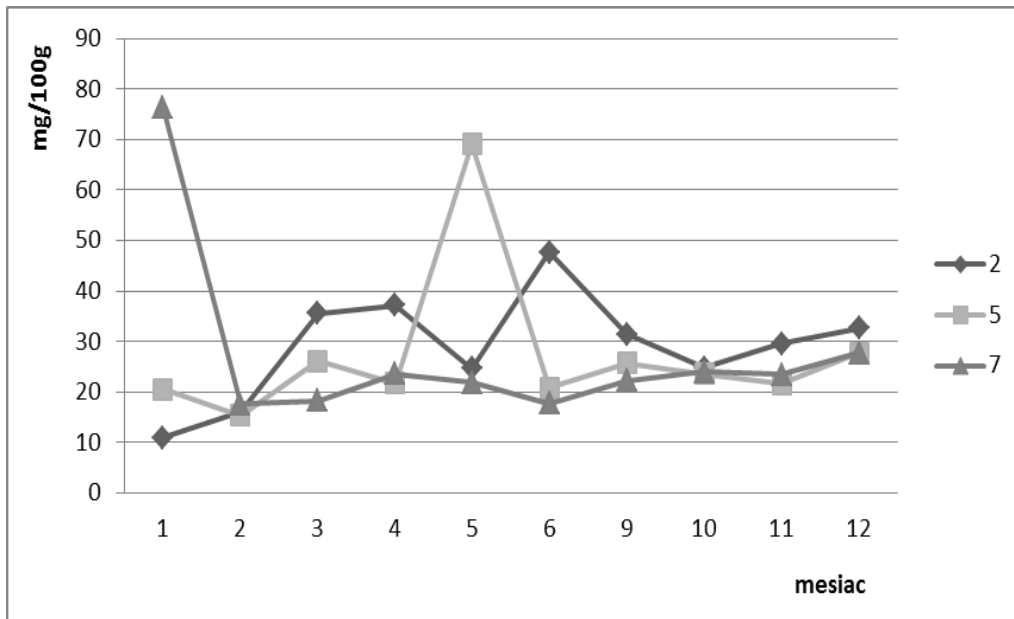
obsah (mg.100ml <sup>-1</sup> )	vzorka	
	cisternová (n=40)	bazénová (n=30)
$\bar{x}$	27,03	27,85
$x_{\max}$	41,30	76,30
$x_{\min}$	12,40	10,90
$s_x$	6,47	14,21
v (%)	23,94	51,02

Obsah močoviny v mlieku je považovaný za vhodný ukazovateľ úrovne výživy kráv, pretože závisí od prívodu proteínu a energie (Nousiainen et al., 2004). Existujú však vedecké práce, ktoré sledovali aj vplyv iných faktorov na obsah močoviny v mlieku. Napr. z výsledkov Fatehi et al. (2012) vyplýva, že najnižší obsah močoviny zisťovali v mesiaci december. V jarných a letných mesiacoch zaznamenali nárast obsahu močoviny v mlieku a následne sa obsah močoviny znižoval. Kolísanie obsahu močoviny dávali do súvisu s teplotami počas sledovaných mesiacov roka.

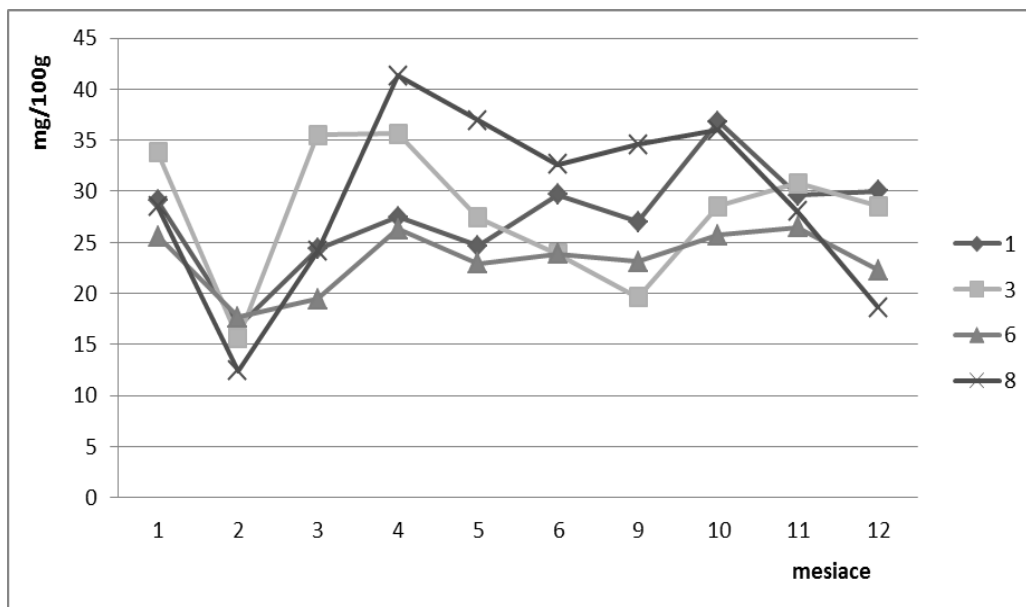
Ako vidieť na obr. 1 časté kolísanie obsahu močoviny v mlieku počas roka sa pozorovalo v mlieku producenta číslo 2. Z obrázku tiež vyplýva, že obsah močoviny v mlieku ďalších dvoch producentov (až na dva odbery) bol vyrovnaný a počas roka len mierne stúpala. V mlieku od producenta č. 2 sa zistila vysoko preukazná negatívna korelácia (-0,576) medzi obsahom močoviny a syriteľnosťou mlieka.

Najnižší obsah močoviny v cisternových vzorkách mlieka bol zistený v mesiaci február. Medzi obsahom močoviny a syriteľnosťou mlieka sa vo všetkých cisternových vzorkách zisťovala negatívna korelácia, avšak jedine v cisternových vzorkách mliekarne č.3 bola korelácia vysoko preukazná (-0,536).

Získané výsledky teda naznačujú, že obsah močoviny v mlieku nie je stabilný a môže sa meniť, čo sa môže prejaviť aj na syriteľnosti mlieka a jeho spracovaní na syry.



Obr. 1 Zmeny obsahu močoviny v bazénových vzorkách mlieka (farmy 2, 5, 7) počas roka



Obr. 2 Zmeny obsahu močoviny v cisternových vzorkách mlieka (mliekarne 1, 3, 6, 8) počas roka

### ZÁVER

Kvalita surového kravského mlieka výraznou mierou ovplyvňuje jeho ďalšie spracovanie na mliečne výrobky. Obsah močoviny v mlieku je na jednej strane ukazovateľom výživy zvierat a na druhej strane môže prítomnosť močoviny v mlieku nežiaducim spôsobom ovplyvniť technologické vlastnosti mlieka. Z pohľadu spracovateľov mlieka na sýry by bolo vhodné venovať patričnú pozornosť aj sledovaniu obsahu močoviny v mlieku.

## LITERATÚRA

- Aguilar, M., Hanigan, M. D., Tucker, H. A., Jones, B. L., Garbade, S. K., Mc Gilliard, M. L., Stallings, C. C., Knowlton, K. F., James, R. E. 2012. Cow and herd variation in milk urea nitrogen concentrations in lactating dairy cattle. In *J. Dairy Sci.*, vol. 95, pp. 7261-7268.
- Barros, T., Reed, K. F., Olmos Colmenero, J. J., Wattiaux, M. A. 2019. Short communication: Milk urea nitrogen as a predictor of urinary nitrogen and urea nitrogen excretions of late-lactation dairy cows fed nitrogen-limiting diets. In *J. Dairy Sci.*, vol. 102, pp.1601-1607.
- Fatehi, F., Zali, A., Honarvar, M., Dehghan-Banadaky, M., Young, A. J., Ghiasvand, M., Eftekhari, M. 2012. Review of the relationship between milk urea nitrogen and days in milk, parity, and monthly temperature mean in Iranian Holstein cows. In *J. Dairy Sci.*, vol. 95, pp. 5156-5163.
- Kováčik, J., Kramárová, M., Massányi, P., Fabiš, M., Bukovinský, M. 2004. Močovina v biologických tekutinách dojníc a technologická kvalita mlieka. In *Rizikové faktory potravinového reťazca IV*, Nitra, s. 128-130.
- Miglior, F., Sewalem, A., Jamrozik, J., Bohmanova, J., Lefebvre, D. M., Moore, R. K. 2007. Genetic analysis of milk urea nitrogen and lactose and their relationships with other production traits in Canadian Holstein cattle. In *J. Dairy Sci.*, vol. 90, pp. 2468-2479.
- Mitchell, R. G., Rogers, G. W., Dechow, C. D., Vallimont, J. E., Cooper, J. B., Sander-Nielsen, U., Clay, J. S. 2005. Milk urea nitrogen concentration: Heritability and genetic correlations with reproductive performance and disease. In *J. Dairy Sci.*, vol. 88, pp. 4434-4440.
- Nousiainen, J., Schingfield, K. J., Huhtanen, P. 2004. Evaluation of milk urea nitrogen as a diagnostic of protein feeding. In *J. Dairy Sci.*, vol. 87, pp. 386-398.
- Rapetti, L., Colombini, S., Galassi, G., Crovetto, G.M., Malagutti, L. 2014. Relationship between milk urea level, protein feeding and urinary nitrogen excretion in high producing dairy goats. In *Small Ruminant Research*, vol. 121, pp. 96-100.
- Spek, J. W., Dijkstra, J., Bannink, A. 2016. Influence of milk urea concentration on fractional urea disappearance rate from milk to blood plasma in dairy cows. In *J. Dairy Sci.*, vol. 99, pp. 3880-3888.
- Wattiaux, M. A., Nordheim, E. V., Crump, P. 2005. Statistical evaluation of factors and interactions affecting dairy herd improvement milk urea nitrogen in commercial Midwest dairy herds. In *J. Dairy Sci.*, vol. 88, pp. 3020-3035.
- Ziajki, S. 2008. *Mleczarstwo*. Olsztynie:Wydawnictwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego, 388 p., ISBN 978-83-7299-536-0

**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](mailto:margita.canigova@uniag.sk)

# POSTAVENIE MLIKA V SÚČASNOM SYSTÉME VÝŽIVOVEJ POLITIKY ŠTÁTU THE POSITION OF MILK IN THE CURRENT SYSTEM OF THE STATE NUTRITION POLICY

*Ján Keresteš, Karol Herian*

**Abstract:** The paper draws attention to the importance of milk and dairy products as foods having an essential role in assuring adequate nourishment to population, while highlighting the strategic significance of food sufficiency. Based on their long-term experience, the authors analyse the current nutrition policy of Slovakia, and point out the reasons of both the insufficient production of milk and the very low consumption of dairy products. In the conclusion, the authors recommend to implement measures that would lead to improvements in the current unfavourable situation in the nutrition politic.

**Keywords:** milk, state nutrition policy, safety food, security food,

## ÚVOD

Mlieko a mliečne výrobky majú svoje hlavné nezastupiteľné miesto vo výžive ľudí, sú nenahraditeľným zdrojom výživných látok dôležitých pre rast a vývoj ľudského organizmu a aj pre riešenie zdravotných problémov ľudí. Mlieko nie je iba bežná potravinu, má podstatne širší i spoločenský význam. Produkcia mlieka je totiž tiež hlavným ekonomickým zdrojom v poľnohospodárskej prvovýrobe, má hlbší ekologický i sociálny prínos pre náš vidiek a je aj nositeľom národných tradícií.

Historický všeobecné axiomy stratégie výživovej politiky zodpovedali danej etape rozvoja výrobných síl a výrobných vzťahov, svojím komerčným obsahom osvojenie si filozofie zameranej na obyvateľstvo. Z nich najznámejšie sú:

- chlieb a hry z obdobia Rímskej ríše
- chlieb náš každodenný daj nám dnes /stredovek/
- chlieb pre vojnu, mlieko pre deti /2. svetová vojna/
- keď bude chlieb ,bude aj pieseň / studená vojna/ .

Podobné axiomy sa môžu aplikovať aj na mlieko a mliečne výrobky.

Svetový mliekarsky kongres v r. 2018 v Južnej Kórey vyhlásil, že „*Mlieko a mliečne výrobky budú slúžiť ako kritický a udržateľný zdroj potravín pre 9 miliárd ľudí, ktorí budú žiť na našej Zemi v roku 2050*“. Mlieko uviedol ako nevyhnutnú potravinu v boji proti chudobe a hladu, pričom zdôraznil význam mlieka pri poskytovaní základných živín hladujúcim ľuďom. Taktiež summit ďalej uviedol, že „*Sedem miliárd ľudí po celom svete nielenže uznáva mlieko ako zdravé jedlo, ale taktiež oceňuje význam mliekarského priemyslu za jeho príspevok k rozvoju a rastu ľudstva*“.

Vychádzajúc zo strategického postavenia a významu mlieka a mliečnych výrobkov je pre každý štát dôležitá jeho výživová stratégia, ktorá podstatnou mierou môže uspokojiť zdravú výživu, ale aj potravinovú dostatočnosť. Autori tohoto príspevku na základe svojich dlhoročných skúseností poukazujú na strategický význam potravinovej dostatočnosti a na príčiny súčasného nepriaznivého stavu v produkcii mlieka a v spotrebe mliečnych výrobkov.

## MLIEKO V SÚČASNOM SYSTÉME VÝŽIVOVEJ POLITIKY

### Prínos mlieka a jeho dostatočnosť

Mlieko a mliečne výrobky sú zdrojom biologicky aktívnych látok nevyhnutných pre zdravý rast a vývoj človeka. Sú to hlavne :

- výživné a stavebné látky pre stavbu tela a rast človeka v detskom veku ,
- látky pre energetické zabezpečenie existencie organizmu,

- zdroj minerálnych látok, vitamínov, hormónov a enzýmov,
- zdroj esenciálnych látok, ktoré si organizmus nevie vyrobiť sám.

Mlieko a mliečne výrobky majú výrazný podiel na výžive ľudí a na formovaní zdravotného stavu obyvateľstva, dlhovekosti a zdravotnej kondícii. Práve vyššie uvedené dopady výživovej politiky možno uviesť do lineárnej funkcie a celoživotného rozdelenia použitých druhov vo fázach života takto :

- posledný trimester intrauterinného života, predčasné narodenie, narodenie po chirurgickom zákroku, nekojenie a nedostatok materinského mlieka, náhradky materinského mlieka do obdobia veku 6 rokov, do obdobia 12 rokov, do veku 30 rokov, do veku 60 rokov a vyššie.

Mlieko a mliečne výrobky sú potraviny na celoživotnú konzumáciu. V Slovenskej republike ročne zomiera na kardiovaskulárne ochorenia 54 % obyvateľov z celkového počtu chorých a na rakovinové ochorenia až 24 % obyvateľov z celkového počtu chorých.

Potravinová dostatočnosť, je základom existencie každého štátu a je prvoradá pre:

- územnú obranu štátu,
- sociálne faktory a dôveru spoločnosti pre funkčnosť štátu,
- modelovanie a programovanie zdravotného stavu obyvateľstva,
- zabezpečenie práce a programy vzdelávania obyvateľstva,
- národnú a kultúrnu identitu národa,
- s dostatkom potravín každý štát lepšie odoláva medzinárodným a geopolitickým záujmom,
- prvoradú existenčnú doktrínu a pri konfliktných a vojnových situáciách, pretože mlieko je sociálne najcitlivejšou potravinou, lebo je bytostne späté s výživou detí.

Novodobé štátnopolitické záujmy charakterizujú stratégiu výživovej politiky ako :

- Safety foods - do ktorej spadá potravinová dostatočnosť a potravinová dostupnosť,
- Security foods - chápaná ako produkcia kvalitných potravín, hygienicky bezpečných so zdravotným benefitom.

Význam mlieka pre zdravie ľudí zdôraznili i odborníci na výživu z celého sveta, keď na svojej konferencii v Interlakene už v r. 1957 odporučili zaviesť „Svetový deň mlieka“. Tento sviatok sa celosvetovo oslavuje 1. júna a počas toho sa pripomína prínos mlieka a mliečnych výrobkov pre zdravie ľudí.

## **Výroba a spotreba mlieka v zahraničí a na Slovensku**

Výroba a spotreba mlieka a mliečnych výrobkov má vo svete veľkú prioritu a mliečne výrobky tvoria dôležitú súčasť výživovej politiky každého štátu. Podľa hodnotenia svetového mliekarstva na kongrese Medzinárodnej mliekarskej federácie v r. 2018 sa celkovo vo svete vyrobilo 696 miliárd kg mlieka. Z toho až 30 % podiel je z Ázie, z EÚ 28 je to 24 %, Severná Amerika 18 %, Južná Amerika 9 %, ostatná Európa 8 %, Afrika 6 % a Oceánia iba 5 %. Ročný nárast produkcie mlieka vo svete je 2,5 %. Zo získaného mlieka najväčší nárast a to až o 16 % je na výrobu syrov.

Pri súčasnom počte obyvateľov na svete 7,5 miliárd je priemerná spotreba mliečnych výrobkov po prepočte na mlieko na osobu a rok 113,0 kg. Vo vyspelých krajinách je však spotreba mlieka a mliečnych výrobkov podstatne vyššia. V štátoch západnej Európy je spotreba mliečnych výrobkov až vyše 320 kg a v iba v Českej republike je 260 kg na osobu a rok. Pritom odporúčaná spotreba mliečnych výrobkov na Slovensku je iba 220 kg na osobu a rok a ani túto hranicu sme nedosiahli.



Slovenská republika do roku 1989 ako súčasť ČSR mala safety foods nadbytočnú a dostupnosť safety foods vyrovnanú teda nadbytky potravín sa vyvážali, kúpyschopnosť obyvateľstva mala index 130 %, chýbali v obchodoch predmety dlhodobej a krátkodobej spotreby /elektronika, autá, výrobky obuvníckeho, textilného, kozmetického priemyslu/.

Od roku 1989 až do roku 2017 safety foods – potravinová dostupnosť klesla na 37,3 % . Safety foods – potravinová dostupnosť je určená nezamestnanosťou, počtom dôchodcov, minimálnou mzdou, daňami, nákladmi na nevýrobné odvetvia /škoolstvo, zdravotníctvo, veda, armáda, štátna správa a pod./ Slovenská republika bola pred štvrtstoročím potravinovo sebestačná a v súčasnosti sa dováža do SR potraviny za viac ako miliardu eur ročne. Vytváranie malých podnikov a predaj z dvora, rozširujú síce sortiment mliečnych výrobkov, no neriešia komoditné zásobovanie obyvateľstva.

Všeobecné údaje o výrobe mlieka, kravského, ovčieho a kozieho, pri odpočte domácej spotreby , nakupovaných výrobkov zo zahraničia, v roku 2017 predstavovali prepočítanú spotrebu mlieka na obyvateľa 145 kg, oproti deklarovaným 762 kg/obyvateľa a je najnižšia v Európe. V roku 1989 spotreba mliečnych výrobkov po prepočte na množstvo mlieka na obyvateľa bola 243 kg obyvateľa.

V posledných rokoch síce naďalej klesá počet dojníc (pokles na 131 tis ks) a naďalej klesá i množstvo vyprodukovaného mlieka (na 840 tis. ton). Celková produkcia mlieka a tiež aj spotreba mlieka a mliečnych výrobkov je stále však nedostatočná a je pod hranicou nutričnej bezpečnosti (180 kg na osobu a rok). Slovensko patrí medzi európske krajiny s najnižšou produkciou mlieka na osobu a tiež s najnižšou spotrebou mliečnych výrobkov. Túto nepriaznivú situáciu je preto potrebné urýchlene riešiť.

### **Príčiny poklesu výroby a spotreby mliečnych výrobkov v Slovenskej republike**

Príčinné vzťahy poklesu spotreby mlieka a mliečnych výrobkov majú dlhodobý charakter a multilaterálny dopad :

- v procese privatizácie došlo k atomizácii podnikov, hoci svetový trend smeroval ku koncentrácii,
- poľnohospodárska prvovýroba pri tendenciách o transparentnosti vytvorila politický názor o ekonomickej ujme v prospech potravinárskeho priemyslu a nutnosti akciových podieloch v prospech poľnohospodárov,
- predaj podnikov zahraničným investorom za neprímerane nízke ceny s odpočtom investičných čiastok,
- nedostatočné dotácie do poľnohospodárskej prvovýroby,
- trhový mechanizmus ako ekonomický faktor a motivačná podmienka neboli uplatnené, ale dotácie na pôdu,
- zisk sa netvoril z nadvýroby, ale z dotácií;
- potom nastavenie systematicky likviduje chovy hospodárskych zvierat,
- nízke dotácie do prvovýroby, tlak na vyššie nákupné ceny surovín pre potravinársky priemysel , likvidujú výrobu a spracovateľov,
- požiadavky obchodných reťazcov na všeobecne nízke ceny nakupovaných potravín vytvárajú nerovnovážne podmienky v prospech zahraničných výrobcov a to z dôvodov rozdielnej úrovne dotácií, ich výšky nasmerovania a návratnosti,
- je rozdielna úroveň frekvencie propagácie domácich a zahraničných výrobkov,
- je rozdielna úroveň a spoločenský formát nadnárodných obchodných reťazcov,
- stále pretrvávajú nedostatočná miera investovania do potravinárskeho priemyslu , hlavne do technológií, ktoré zachovávajú prirodzené hodnoty potravín a opierajúcich sa o vlastné potravinové zdroje,

- využívanie pôdy pre pestovanie plodín s ekonomickou efektívnosťou oproti výživovým potrebám spoločnosti uplatňovaním árendátorského systému prenájmu pôdy a s nezáujmom o ochranu, úrodnosť a investičné zásahy do pôdy a neustály úbytok pôdneho fondu,
- nedostatočné investície do poľnohospodárstva a potravinárskeho priemyslu v oblasti digitalizácie a automatizácie výrobných procesov,
- nedostatok a nedostatočná výchova stredoškolský vzdelaných pracovníkov,
- chov dobytka je ekonomický, biologický, investične a multiaplikačne najnáročnejším odvetvím živočíšnej produkcie,
- nízka úroveň sociálnych istôt ľudí pracujúcich v agrosektore a spoločenské ocenenie, postupná migrácia z dedín do mesta a zahraničia,
- postupné znižovanie výroby a spotreby mlieka a mliečnych výrobkov má vlastné vnútorné a vonkajšie príčiny: /security foods/,
- nákupná cena surového kravského mlieka oproti priemeru cien za liter, u slovenských výrobcov má nižší obsah beztukovej sušiny o 0,3 % , a podobne nižší obsah tuku až o 0,6 % /viď štandard mlieka/,
- zavedený Potravinový kódex uplatňoval filozofiu odstránenie platných STN oproti normotvorbe výrobcu s tým, aby sme mali zrovnateľnú základňu pre export do ostatných štátov EÚ; Skutočnosť v roku 1995 už bola taká, že miera safety foods bola 0,8 a potraviny sa do SR dovážali,
- nový Potravinový kódex umožňoval nebývalé rozšírenie sortimentu výrobkov a uplatňovanie technológii termických, substitučných, analógových, separačných, s vyšším obsahom ingrediencií, používaním emulgátorov, stabilizátorov a pod. To sortiment síce rozšírilo, ale nutrične a bioprotektívne znížilo. Najväčší negatívny dopad na Slovenské syrárstvo malo zavedenie výroby syrových analógov, kedy mliečny tuk bol nahradený palmovým olejom, termizovaná bryndza nebola termix a pod.
- zrušenie výrobnej evidencie založenej na litrovej, sušinovej a tukovej bilancii, na porovnanie hospodárenia a dosiahnutej výťažnosti; Materiálová technicko-hospodárska norma /THN/ je najnižšou podnikovou normou určenou pre robotníkov,
- predaj tepelne neošetreného mlieka z mliečnych automatov je ekonomický a hygienický hazard,
- nedostatočná ochrana, ekonomická, motivačná, propagačná, chránených slovenských výrobkov a zvlášť slovenskej bryndze; Došlo to až tak ďaleko, že stavy oviec nezabezpečujú dostatok ovčieho mlieka a je nutný jeho dovoz zo zahraničia,
- Slovenská republika dováža zo zahraničia viac ako 60 % spotrebovaných mliečnych výrobkov z toho asi 25 % z Českej republiky, z Nemecka 17 %, z Poľska 7 %, menšie množstvá z Francúzska, Rakúska a ostatných štátov,
- celková porušenosť výrobkov predávaných na Slovensku podľa štatistiky uverejnenej ŠVPS SR za rok 2017 predstavuje 8,7 % . Pozitívne sú hodnotené slovenské výrobky; Je potrebné určiť výrobcov a výrobky duálnej kvality a zakázať ich dovoz.

## ZÁVER

Na základe vyššie uvedených skutočností možno konštatovať nasledovné skutočnosti:

- Reštrukturalizácia bioprotektívnej výživy je nutnosťou,
- Vystúpenie Slovenska z Európskej únie by bolo výživovou katastrofou,
- Slovenská republika vstúpila do nového obdobia výživovej politiky, ktorú charakterizujeme ako malnutricia z nadbytku potravín,

### **Odporúčané dlhodobé a strategické ciele :**

- postupne obnoviť slovenskú potravinovú dostatočnosť a konkurencieschopnosť,
- presadzovať rovnaké podmienky podpory poľnohospodárstva i v potravinárstve aké sú v ostatných krajinách EÚ,
- podporovať aktivity na zvýšenie domácej spotreby zdravých potravín a mliečnych výrobkov, vrátane školského stravovania na ODSP,
- zvýšiť záujem mladých ľudí o prácu v poľnohospodárstve, v krajínovotvorbe i v agroturistike,
- lepšie chrániť a využiť domáce zdroje - nevyužitú pôdu a nezamestnaných ľudí,
- zjednodušiť súčasnú platnú legislatívu na rýchlejšie využitie a spracovanie domácich surovín.

Záverom je potrebné odporučiť riadiacim orgánom urýchlene prehodnotiť uvedený nežiaduci stav vo výživovej politike štátu a to zvlášť, zvlášť v oblasti mliečnej výživy. Potrebné je poučiť sa z doterajších chýb, a vytýčiť si dosiahnuteľné strategické dlhodobé ciele na obnovenie potravinovej dostatočnosti. Slovensko má predsa bohaté tradície i v oblasti mliekarstva, má dostatok nevyužitých pasienkov.

### **LITERATÚRA**

- Herian, K. 2018 „Prínos mlieka na výživu ľudí a na jeho spotrebu“, prednáška na STU FCHPT v Bratislave, (v tlači)
- Keresteš, J. 2018 „Mlieko a mliečne výrobky v systéme stratégie výživovej politiky štátu“, prednáška na STU FCHPT v Bratislave, (v tlači)
- Mlieko, Situačná a výhľadová správa k 31.12 2017, MPRV SR, roč. XXV. č.1, 2018
- Svetová mliekarská situácia 2018: Bulletin č.4/2018. Medzinárodná mliekarská federácia IDF

**Kontaktná adresa:** Ing. Ján Keresteš, NIKA, spol. s r. o., Nová 135, 017 01 Považská Bystrica, Ing. Karol Herian, CSc., Rudnayova 47, 01001 Žilina

# POROVNANIE MIKROBIOLOGICKEJ KVALITY VYBRANÝCH JOGURTOV A BIOJOGURTOV COMPARISON OF MICROBIOLOGICAL QUALITY SELECTED YOGHURTS AND BIO-YOGHURTS

*Jana Kolačková, Dagmar Kozelová, Simona Kunová*

**Abstract:** The aim of the present study was to determine and compare the microbiological quality of selected types of yoghurts from conventional and organic farming. We determined the total number of microorganisms (CPM), fibrous microscopic fungi (VMH) and coliform bacteria (KB) using microbiological analysis. We analysed a total of 12 samples. We analysed samples of flavoured yogurt from cow's milk. We used a plate dilution method for microbiological analysis of yogurt samples, we followed the microbiological parameters after product opening and subsequently after 5 days of storage at 4 °C. From the microbiological point of view, the requirements of the Food Code of the Slovak Republic complied with the following samples of organic farming: organic cherry and raspberry yoghurt. From conventional agriculture, only one sample was made: conventional cow chocolate yoghurt. The maximum permissible levels of coliform bacteria after storage exceeded the following samples: conventional cow strawberry yoghurt ( $6.56 \cdot 10^2$  CFU.g<sup>-1</sup> – 2.81 log CFU.g<sup>-1</sup>). Organic farming did not meet the requirements of one sample: organic cow strawberry yoghurt ( $1.81 \cdot 10^2$  CFU.g<sup>-1</sup> – 2.25 log CFU.g<sup>-1</sup>). The maximum allowed limits for fiber microscopic fungi after opening were exceeded: organic cow strawberry yoghurt ( $6.09 \cdot 10^2$  CFU.g<sup>-1</sup> – 2.78 log CFU.g<sup>-1</sup>). Conventional cows strawberries ( $1.09 \cdot 10^3$  CFU.g<sup>-1</sup> – 3.03 log CFU.g<sup>-1</sup>) and cherry ( $5.45 \cdot 10^2$  CFU.g<sup>-1</sup> – 2.73 log CFU.g<sup>-1</sup>) yoghurt. The maximum allowable limits for fibrous microscopic fungi after the 5th day of storage at 4 °C have exceeded those of conventional agriculture: conventional cow strawberries ( $6.50 \cdot 10^4$  CFU.g<sup>-1</sup> – 4.81 log CFU.g<sup>-1</sup>), cherry ( $1.10 \cdot 10^3$  CFU.g<sup>-1</sup> – 3.04 log CFU.g<sup>-1</sup>), raspberry ( $2.36 \cdot 10^3$  CFU.g<sup>-1</sup> – 3.37 log CFU.g<sup>-1</sup>), cranberry ( $5.54 \cdot 10^3$  CFU.g<sup>-1</sup> – 3.74 log CFU.g<sup>-1</sup>), peach - maracuja ( $2.54 \cdot 10^3$  CFU.g<sup>-1</sup> – 3,4 log CFU.g<sup>-1</sup>) yoghurt. Organic farming did not pass these samples: organic cow strawberry ( $1.75 \cdot 10^4$  CFU.g<sup>-1</sup> – 4.24 log CFU.g<sup>-1</sup>), chocolate ( $4.54 \cdot 10^3$  CFU.g<sup>-1</sup> – 3.65 log CFU.g<sup>-1</sup>), cranberry ( $9.00 \cdot 10^2$  CFU.g<sup>-1</sup> – 2.95 log CFU.g<sup>-1</sup>), peach - maracuja ( $8.04 \cdot 10^3$  CFU.g<sup>-1</sup> – 3.09 log CFU.g<sup>-1</sup>) yoghurt.

**Key words:** organic farming, yoghurt, microbiological analysis

## ÚVOD

Mlieko od nepamäti patrí k základnej potrave človeka. Jeho význam vo výžive človeka je preto nesporný. To, že mlieko sa dá spracovať na rôzne výrobky, zvyšuje jeho atraktivnosť a rozmanitosť použitia (Čanigová, 2013). Mlieko predstavuje jednu z najkomplexnejších zložiek ľudskej potravy. Preto sú mlieko a mliečne výrobky považované za súčasť zdravej výživy (Martin - Diana et al., 2003).

Výroba mlieka je hlavným a pracovne, organizačne i ekonomicky najnáročnejším odvetvím živočíšnej výroby, spracovanie mlieka je tak najvýznamnejšou súčasťou potravinárskeho priemyslu (Kvapilík a Syrůček, 2014). Pre výrobu jogurtov sa využíva mlieko rôznych druhov cicavcov. Najväčšie využitie má však mlieko kravské, pretože je bežne dostupné vo väčšine krajín po celom svete (Soukolis et al., 2009). Jogurt je jedným z najpopulárnejších fermentovaných mliečnych výrobkov kvôli svojej nutričnej hodnote a zdraviu prospešným funkciám (Han et al., 2015).

Dominantné postavenie medzi biopotravinami zástava biomlieko (Holko et al., 2011). Podľa Bowdena (2011) biomlieko obsahuje vyššie koncentrácie CLA (konjugovaná kyselina linolová), pôsobiacej proti nádorovým ochoreniam a je bohatšie na celý súbor vitamínov a

minerálov. Biomlieko sa vyznačuje vyšším obsahom vápnika (Sobolewska - Zielińska et al., 2010).

Štúdie, ktoré porovnávajú kvalitu biopotravín a konvenčných potravín bola urobená už celá rada, ale napriek tomu nie je jasné, ktoré z nich sú lepšie. Jednotlivé štúdie sa totiž značne líšia jednak vo výsledkoch, ale hlavne v metódach skúmania. Vzhľadom k tomu, že obchod s bioproduktami patrí v poslednom desaťročí medzi najrýchlejšie sa rozvíjajúce odvetvia a hlavným dôvodom prečo ľudia tieto potraviny kupujú je ich uvádzaný zdravotný prínos, je potrebné uskutočniť ďalší výskum zameraný na posúdenie nutričnej, hygienickej, toxikologickej a hlavne mikrobiologickej kvality (Vašková, 2008).

V každej potravine sa nachádza určité spoločenstvo mikroorganizmov a takmer vždy sa v potravine nachádza mikrobiota (spoločenstvo mikroorganizmov) schopná potravinu znehodnotiť. Preto je potrebné poznať problematiku mikrobiologickej kvality surovín, potravín i hotových produktov určených pre ľudskú konzumáciu (Kačániová, 2012). Podľa odborníkov tvorí mikrobiologická kontaminácia potravín hlavné riziko spojené s potravinami (Špelina et al., 2004).

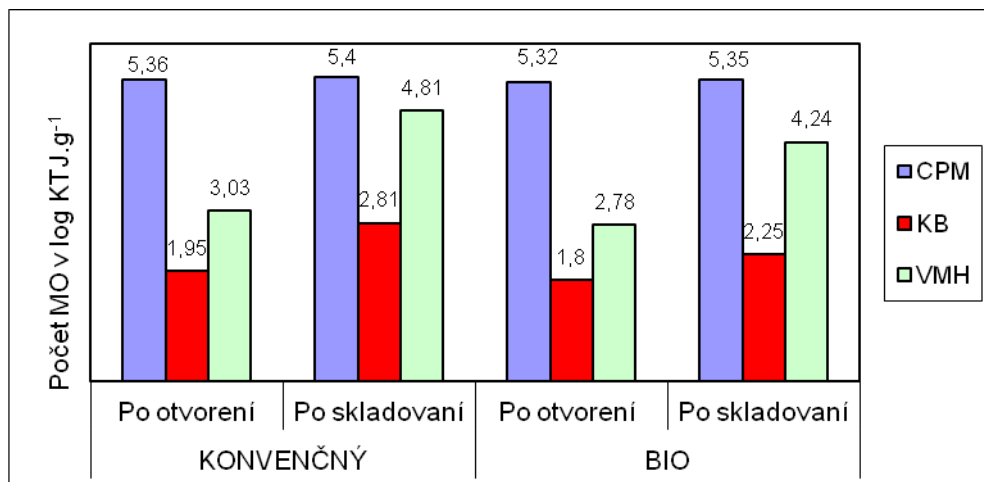
Cieľom práce bolo stanoviť a porovnať mikrobiologickú kvalitu vybraných ochutených jogurtov z kravského mlieka z konvenčného a z ekologického poľnohospodárstva. Zamerali sme sa na mikroorganizmy, ktoré by sa mali podľa teoretických znalostí odlišovať vo výskyte u potravín pochádzajúcich z konvenčnej a ekologickej produkcie.

### METODIKA PRÁCE

Celkovo sme mikrobiologickej analýze podrobili 6 vzoriek mliečnych výrobkov z ekologickej výroby a 6 vzoriek z konvenčnej výroby. Sada vzoriek obsahovala: jahodový, brusnicový, malinový, čokoládový, višňový, broskyňa - marakuja jogurt. Mliečne výrobky sme kupovali vždy tak, aby sme z každého druhu výrobku mali po jednej vzorke z konvenčného aj z ekologického poľnohospodárstva. Z mikrobiologických ukazovateľov sme stanovovali celkový počet mikroorganizmov (CPM), počet koliformných baktérií (KB), počet a druh vláknitých mikroskopických húb (VMH) vo výrobkoch bezprostredne po otvorení a následne po 5. dňoch skladovania pri teplote 4 °C. Na mikrobiologický rozbor mliečnych výrobkov sme použili platňovú zriedovaciú metódu. Zmiešaním 5 g vzorky jogurtu a 45 ml fyziologického roztoku sme získali základné riedenie ( $10^{-1}$ ). Podľa zásad desiatkového systému riedenia sme pripravili ďalšie riedenia od  $10^{-2}$  do  $10^{-4}$ . Príprava riedení vzoriek zodpovedala STN ISO 6887. V každej vzorke sme stanovovali počet koliformných baktérií, celkový počet mikroorganizmov, počet a druh mikroskopických vláknitých húb. Očkovali sme 1 ml v paralelnom dvojnásobnom opakovaní pre každé použité riedenie pri všetkých stanoveniach (STN ISO 6887). Po zaliatí príslušných živných pôd sme Petriho misky nechávali kultivovať pri teplote a dobe kultivácie prislúchajúcu k danému druhu mikroorganizmu v termostate dnom nahor. Po kultivácii sme počítali narastené kolónie. Následne sme jednotlivé výsledky porovnali s PK SR. Druh mikroskopických vláknitých húb sme určili podľa makromorfologických a mikromorfologických znakov. Identifikáciu mikroskopických vláknitých húb podľa mikromorfologických znakov sme urobili v mikroskopických preparátoch, pripravených do kvapky vhodného farbiaceho média. Na prípravu preparátov sme použili kultúry húb po sedemdnovej kultivácii. Pri príprave preparátov sme použili vysterilizované a vychladnuté preparačné ihly, ktorými sme preniesli výsek živnej pôdy spolu s vysporulovanou kultúrou na podložné sklíčko s farbiacim médiom. Prikryli sme ho krycím sklíčkom a pozorovali pod mikroskopom (použili sme objektív s väčším rozlíšením).

## VÝSLEDKY PRÁCE A DISKUSIA

Pre výrobu kyslomliečnych výrobkov je vhodné používať len mlieko vysokej mikrobiologickej kvality s nízkymi celkovými počtami mezofilných mikroorganizmov. Nežiaduci je aj výskyt vyššieho počtu psychrotrofných mikroorganizmov. V mliekarenských podnikoch sa sledujú v kyslomliečnych výrobkoch z mikrobiologických ukazovateľov koliformné baktérie a VMH (Piecková et al., 2002). Indikátorové baktérie a ich počty, ktoré informujú o primárnej a sekundárnej kontaminácii surovín a požívatin, plôch stýkajúcich sa s požívatinami a o zachovaní zásad správnej výrobnjej praxe, technologických postupov a spracovania sú: celkový počet mikroorganizmov (CPM), počet koliformných baktérií (PKB) (Görner a Valík, 2004).



**Obrázok 1:** Hodnoty mikroorganizmov v jahodovom jogurte

Hodnota CPM vo vzorkách jahodového jogurtu sa pohybovali od 5,32 log KTJ.g<sup>-1</sup> v bio jogurte po otvorení do 5,40 log KTJ.g<sup>-1</sup> v konvenčnom jogurte po skladovaní. Najnižšia hodnota KB bola 1,80 log KTJ.g<sup>-1</sup> v bio jogurte po otvorení a najvyššia hodnota PKB bola 2,81 log KTJ.g<sup>-1</sup> v konvenčnom jogurte po skladovaní. Hodnota VMH sa pohybovala od 2,78 log KTJ.g<sup>-1</sup> v bio jogurte po otvorení do 4,81 log KTJ.g<sup>-1</sup> v konvenčnom jogurte po skladovaní (obrázok 1).

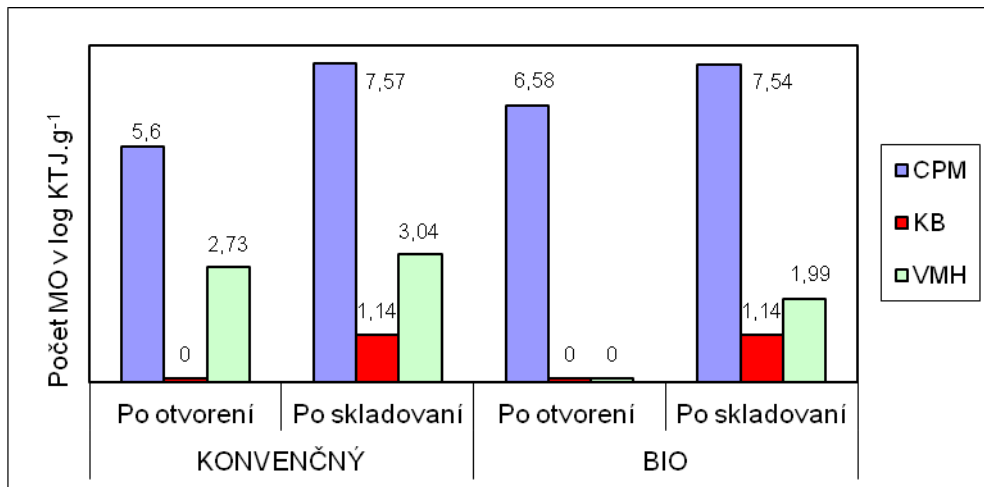
PK SR, ktorý stanovuje maximálne hodnoty PKB 10<sup>2</sup> KTJ.ml<sup>-1</sup> (2,00 log KTJ.g<sup>-1</sup>) v jednej vzorke a vo zvyšných vzorkách stanovuje nulový počet PKB. Maximálny povolený limit VMH je podľa PK SR 5.10<sup>2</sup> KTJ. ml<sup>-1</sup> (2,70 log KTJ.g<sup>-1</sup>) (z 5 vzoriek môže byť uvedená hodnota v 2 vzorkách, vo zvyšných 3 vzorkách je 10<sup>2</sup>).

Hodnoty KB boli vyššie v porovnaní s legislatívnym limitom v oboch vzorkách jahodových jogurtov po skladovaní a VMH po otvorení a taktiež po skladovaní.

Štúdie mikrobiálnej kontaminácie ekologickej a konvenčnej produkcie mlieka poukazujú predovšetkým na vyššie riziká obsahu patogénnych baktérií v biomlieku súvisiacich s vyšším výskytom mastitíd, hlavne stafylokokových, v dôsledku zákazu resp. obmedzenia požívania antibiotík v ekologickom systéme poľnohospodárstva (Ribeiro et al., 2009; Winter a Davis, 2006).

Hodnota CPM vo vzorkách višňového jogurtu sa pohybovala od 5,60 log KTJ.g<sup>-1</sup> v konvenčnom jogurte po otvorení do 7,57 log KTJ.g<sup>-1</sup> taktiež v konvenčnom jogurte po skladovaní. Hodnota KB bola vo vzorkách višňového jogurtu 1,14 log KTJ.g<sup>-1</sup> v jogurtoch po skladovaní, a to v konvenčnom a tiež v bio jogurte. V ostatných vzorkách nebol zaznamenaný

výskyt koliformných baktérií. VMH neboli prítomné v bio jogurte po otvorení, najvyššia hodnota VMH bola 3,04 log KTJ.g<sup>-1</sup> v konvenčnom jogurte po skladovaní (obrázok 2).

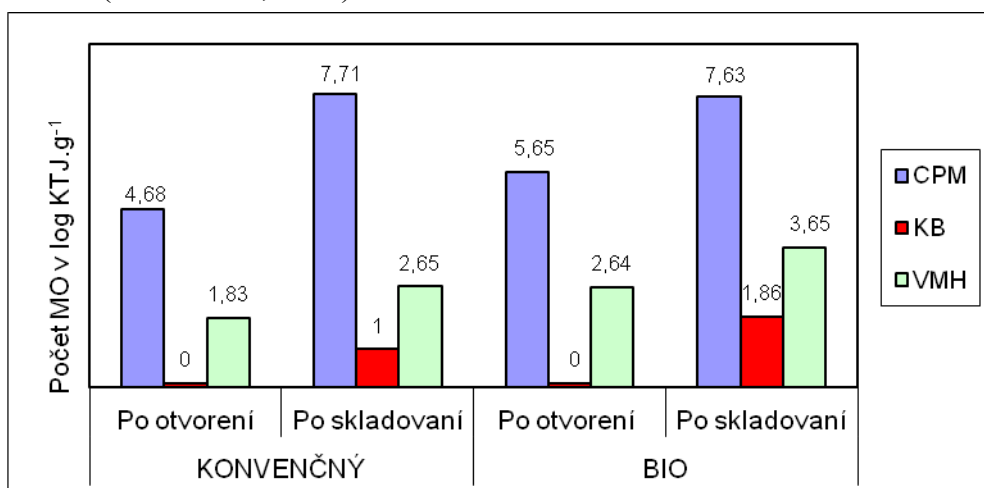


**Obrázok 2:** Hodnoty mikroorganizmov vo višňovom jogurte

Podľa PK SR boli v prípade VMH v konvenčnom jogurte prekročené maximálne povolené limity po otvorení aj po skladovaní.

Nemcová et al. (2010) stanovili celkový počet mikroorganizmov v sledovaných jogurtoch v rozmedzí 4,1 – 7,5. 10<sup>8</sup> KTJ.g<sup>-1</sup>, koliformné baktérie a VMH neboli pozorované.

Zaujímavá z pohľadu podmienok ekologickej produkcie mlieka je aj kontaminácia patogénnymi kmeňmi *Escherichia coli*. Práve podmienky ekologickej produkcie a možnosť jej predaja zo dvora vrátane nepasterizovaného mlieka, zvyšujú možnosti nakazenia človeka týmito kmeňmi (Holko et al., 2011).

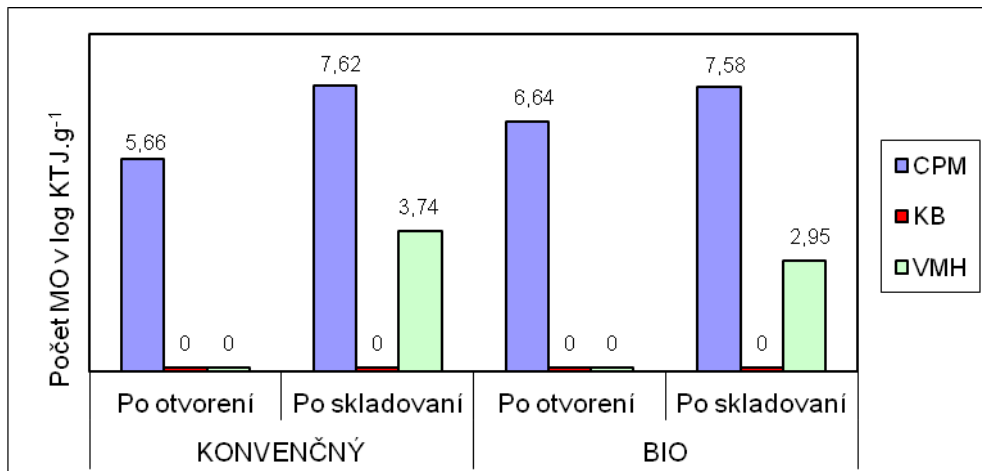


**Obrázok 3:** Hodnoty mikroorganizmov v čokoládovom jogurte

Hodnoty CPM sa vo vzorkách čokoládového jogurtu pohybovali od 4,68 log KTJ.g<sup>-1</sup> v konvenčnom jogurte po otvorení do 7,71 log KTJ.g<sup>-1</sup> taktiež v konvenčnom jogurte po skladovaní. KB neboli prítomné v konvenčnom ani v bio jogurte po otvorení, hodnota KB bola 1,00 log KTJ.g<sup>-1</sup> v konvenčnom jogurte po skladovaní a 1,86 log KTJ.g<sup>-1</sup> v bio jogurte po skladovaní. Hodnoty VMH sa pohybovali od 1,83 log KTJ.g<sup>-1</sup> v konvenčnom jogurte po otvorení do 3,65 log KTJ.g<sup>-1</sup> v bio jogurte po skladovaní (obrázok 3).

Podľa PK SR bio jogurt prekročil maximálne povolené limity. Hodnoty VMH v bio jogurte nespĺňali požiadavky PK SR po skladovaní (4,54.10<sup>3</sup> KTJ.g<sup>-1</sup> – 3,65 log KTJ.g<sup>-1</sup>).

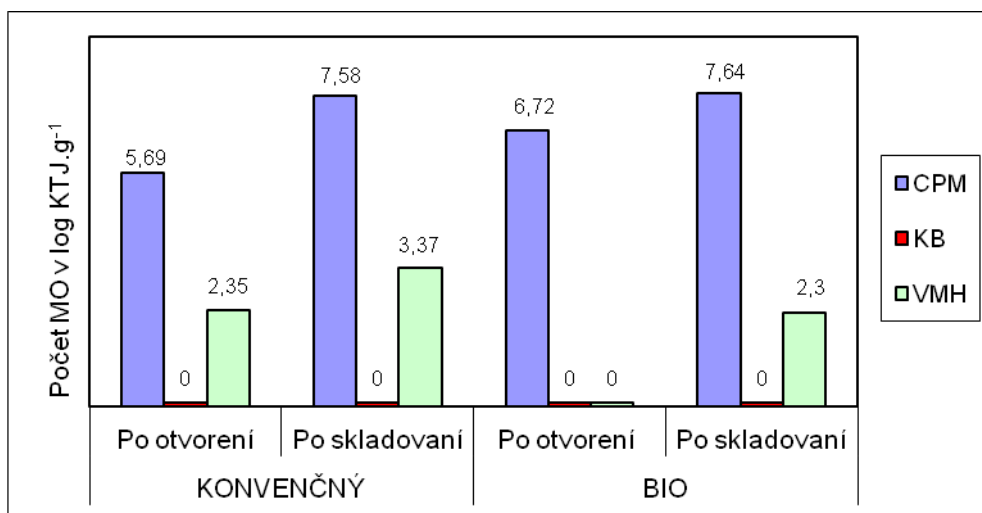
Kvalita jogurtu závisí od usporiadania výrobnjej linky, ošetrení mlieka a ošetrení produktu. Pre zaistenie mikrobiálnej stability výrobku je nepostrádateľná vysoká úroveň hygieny a sanitácie (Plocková, 2012).



**Obrázok 4:** Hodnoty mikroorganizmov v brusnicovom jogurte

Hodnoty CPM vo vzorkách brusnicového jogurtu sa pohybovali od 5,66 log KTJ.g<sup>-1</sup> v konvenčnom jogurte po otvorení do 7,62 log KTJ.g<sup>-1</sup> taktiež v konvenčnom jogurte po skladovaní. KB neboli prítomné vo vzorkách jogurtov počas skladovania. Hodnota VMH bola 2,95 log KTJ.g<sup>-1</sup> v bio jogurte po skladovaní a 3,74 log KTJ.g<sup>-1</sup> v konvenčnom jogurte po skladovaní, v ostatných vzorkách neboli prítomné vláknité mikroskopické huby (obrázok 4). Hodnoty VMH v bio jogurte a tiež konvenčnom jogurte neboli v súlade s legislatívnymi požiadavkami legislatívy po skladovaní.

Na základe publikovaných štúdií je potrebné konštatovať, že vyššie riziko výskytu patogénnych mikroorganizmov v biomlieku a bio mliečnych výrobkoch môže súvisieť napr. so skutočnosťou, že u dojníc z ekologických chovov s voľným typom ustajnenia je riziko výskytu subklinických mastitíd vyššie ako v chovoch konvenčného typu poľnohospodárstva (Busato et al., 2000).



**Obrázok 5:** Hodnoty mikroorganizmov v malinovom jogurte

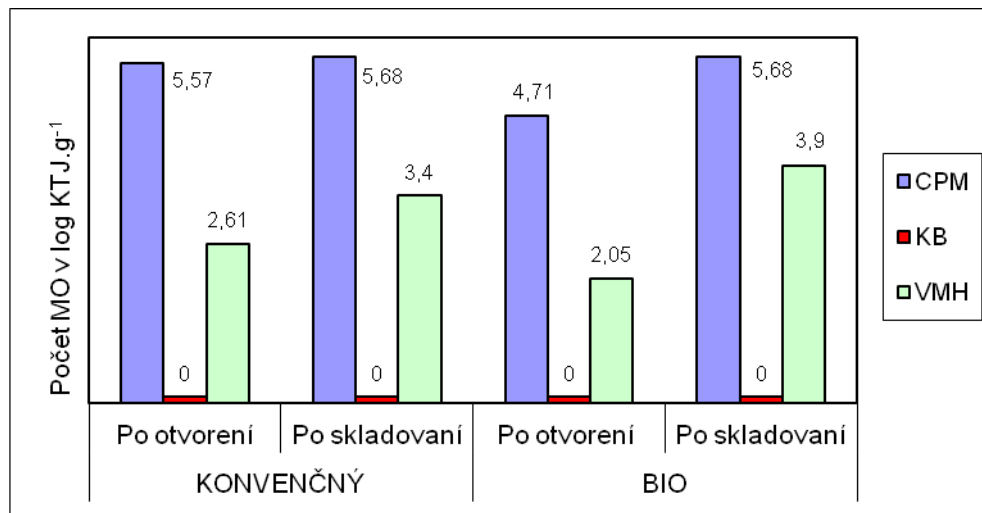
Hodnoty CPM vo vzorkách malinového jogurtu boli v rozmedzí od 5,69 log KTJ.g<sup>-1</sup> v konvenčnom jogurte po otvorení do 7,64 log KTJ.g<sup>-1</sup> v bio jogurte po skladovaní.



Koliformné baktérie neboli zaznamenané vo vzorkách malinového jogurtu. Hodnoty VMH boli v rozmedzí od 2,30 log KTJ.g<sup>-1</sup> v bio jogurte po skladovaní do 3,37 log KTJ.g<sup>-1</sup> v konvenčnom jogurte po skladovaní. V bio jogurte po otvorení neboli zaznamenané VMH (obrázok 5).

Hodnota VMH bola vyššia ako stanovuje legislatíva vo vzorke konvenčného jogurtu po skladovaní.

V ekologických chovoch s produkciou biomlieka možno dosiahnuť a udržať dobrý zdravotný štandard a welfare dojníc. Predpokladá to však vytvorenie prírodných prirodzených podmienok v chovoch zabezpečených kvalitnou kŕmnu dávkou (Seydlová, 2010).



**Obrázok 6:** Hodnoty mikroorganizmov v broskyňovo-marakujuvom jogurte

Hodnoty CPM sa vo vzorkách broskyňovo-marakujuového jogurtu pohybovali od 4,71 log KTJ.g<sup>-1</sup> v bio jogurte po otvorení do 5,68 log KTJ.g<sup>-1</sup> v konvenčnom a tiež bio jogurte po skladovaní. KB neboli prítomné vo vzorkách broskyňovo-marakujuového jogurtu. Hodnoty VMH sa pohybovali od 2,05 log KTJ.g<sup>-1</sup> v bio jogurte po otvorení do 3,90 log KTJ.g<sup>-1</sup> v bio jogurte po skladovaní (obrázok 6).

Celkový počet mikroorganizmov v bio broskyňa - marakuja jogurte po otvorení bol  $5,20 \cdot 10^4$  KTJ.g<sup>-1</sup> (4,71 log KTJ.g<sup>-1</sup>), v konvenčnom jogurte dosiahol vyššiu hodnotu  $3,76 \cdot 10^5$  KTJ.g<sup>-1</sup> (5,57 log KTJ.g<sup>-1</sup>). Po skladovaní bol CPM v oboch jogurtoch rovnaký ( $4,84 \cdot 10^5$  KTJ.g<sup>-1</sup> – 5,68 log KTJ.g<sup>-1</sup>). Počet KB po otvorení aj po skladovaní bol v oboch jogurtoch rovnaký (<10 KTJ.g<sup>-1</sup> – <1 log KTJ.g<sup>-1</sup>). Po otvorení sme v oboch vzorkách pozorovali prítomnosť VMH, rovnako aj po 5 dňoch skladovania. V bio jogurte ich bolo menej po otvorení ( $1,13 \cdot 10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup> – 2,05 log KTJ.g<sup>-1</sup>) ako v konvenčnom jogurte ( $4,09 \cdot 10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup> – 2,61 log KTJ.g<sup>-1</sup>). Po skladovaní to bolo opačne. V bio jogurte ich bolo viac ( $8,04 \cdot 10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup> – 3,09 log KTJ.g<sup>-1</sup>) ako v konvenčnom jogurte ( $2,54 \cdot 10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup> – 3,4 log KTJ.g<sup>-1</sup>).

Hodnoty VMH nespĺňali požiadavky legislatívy v oboch vzorkách po skladovaní.

Počet koliformných baktérii bol vyšší u konvenčných vzoriek po skladovaní. Maximálne povolené limity koliformných baktérii po otvorení neprekročili žiadne vzorky. Maximálne povolené limity koliformných baktérii po skladovaní prekročili bio a konvenčný jahodový jogurt.

Počet VMH bol vyšší u konvenčných vzoriek po otvorení aj po skladovaní. Maximálne povolené limity pre vlákňité mikroskopické huby po otvorení prekročili bio jahodový jogurt a konvenčný jahodový a višňový jogurt. Maximálne povolené limity pre vlákňité mikroskopické huby po 5 dňoch skladovania pri teplote 4 °C prekročili konvenčný jahodový,

višňový, malinový, brusnicový, broskyňa - marakuja jogurt a bio jahodový, čokoládový, brusnicový a broskyňa - marakuja jogurt.

V CPM vzorky pochádzajúce z ekologického a z konvenčného poľnohospodárstva vykazovali podobné výsledky. Najvyššie hodnoty CPM boli rovnako u oboch druhoch vzoriek po skladovaní. Najvyššia hodnota CPM bola v čokoládovom konvenčnom a bio malinovom jogurte po skladovaní.

### Identifikácia vláknitých mikroskopických húb

V konvenčnej vzorke kravskeho jahodového jogurtu sme identifikovali vláknité mikroskopické huby rodu *Cladosporium* a *Aspergillus*. Vo všetkých ostatných konvenčných vzorkách, v ktorých sme zaznamenali prítomnosť VMH sa jednalo o vláknité mikroskopické huby rodu *Penicillium*.

V analyzovaných bio vzorkách v ktorých sme zaznamenali rast VMH sme identifikovali vláknité mikroskopické huby rodu *Paecilomyces*.

Piecková et al. (2002) uvádzajú, že z kolónií mikromycét vykultivovaných z hmoty náhodne vybraných vzoriek jogurtov uchovávaných pri 8 °C patrilo najviac k rodu *Penicillium* (47 % z celkovo 19 izolátov húb). Ojedinele sa vyskytli *Aspergillus nidulans*, *Cladosporium cladosporioides*, *Fusarium sp.*, *Geotrichum candidum*, *Paecilomyces variotii*, *Scopulariopsis sp.*, *Stemphylium sp.*, *sterilné mycélium* a *Trichoderma sp.* Medzi kolóniami mikromycét, ktoré viditeľne vyrástli na povrchu vzoriek, bolo tiež najviac identifikovaných ako *Penicillium sp.* (72 % zo všetkých 29 izolátov), zriedkavo *Aureobasidium pullulans*, *Mucor sp.*, *Phoma sp.* a *Trichoderma sp.*

### ZÁVER

Záverom možno konštatovať, že bio mliečne výrobky dosiahli lepšiu mikrobiologickú kvalitu v mikrobiologických ukazovateľoch KB a VMH oproti konvenčným výrobkom. Čo sa týka CPM oba druhy vzoriek vykazovali približne podobné výsledky. Nami zistené závery poukazujú na to, že výrobcovia v ekologickom poľnohospodárstve dobre poznajú rizikové faktory plynúce z organickej produkcie a preto kladú vyšší dôraz na hygienu pri výrobe biopotravín. Dbajú na osobnú hygienu u zamestnancov, dodržiavajú zásady správnej výrobnéj praxe, správnej hygienickej praxe a HACCP systému počas celej výroby bio výrobkov, čo môže v konečnom dôsledku pozitívne ovplyvniť mikrobiologickú kvalitu. Faktory plynúce z organickej produkcie, ktoré popisujú niektoré štúdie ako negatívne pre mikrobiologickú kvalitu bio mlieka a mliečnych výrobkov teda nie sú rozhodujúce a nielen od nich závisí mikrobiologická kvalita.

### LITERATÚRA

Bowden, J. 2011. *150 najzdravších potravín na svete*. Bratislava : Fortuna Libri, 2011. 352 s. ISBN 978-80-89379-33-0.

Busato, A., Trachsel, P., Schallibaum, M., Blum, J. W. 2000. Udder health and risk factors for subclinical mastitis in organic dairy farms in Switzerland. In *Preventive Veterinary Medicine*, vol. 44, pp. 205-220.

Čanigová, M. 2013. *Technológia mlieka II*. Nitra: SPU, 2013. 159 s. ISBN 978-80-552-0979-1.

Görner, F., Valík, L. 2004. *Aplikovaná mikrobiológia požívatin*. 1. vyd. Bratislava: Malé Centrum, 2004. 528 s. ISBN 80-967064-9-7.

Han, Y., Fu, M., Zhao, X.-H. 2015. The quality of set-style yogurt responsible to partial lactose hydrolysis followed by protein cross-linking of the skim milk. In *International Journal of Dairy Technology*, vol. 68, no. 3, pp. 427-433.

Holko, I., Hrabě, J., Hrabě, F. 2011. Scientific aspects of declared health benefits of organic milk. In *Mlékařské listy*, č. 126, s. 3-7.

Kačaniová, M. 2012. Vplyv mikroorganizmov na kvalitu živočišných produktov. In ČUBOŇ, J. et al. 2012. *Hodnotenie surovín a potravín živočišneho pôvodu*. 1. vyd. Nitra: SPU, s. 279-352. ISBN 978-80-552-0870-1.

Kvapilík, J., Syruček, J. 2014. Syrové kravske mléko a mléčné výrobky. In *Mlékařské listy*, č. 143, s. 7-12.

- Martin - Diana, A. B., Janer, C., Peláez, C., Requena, T. 2003. Development of a fermented goat's milk containing probiotic bacteria. In *International Dairy Journal*, vol. 13, pp. 827-833.
- Němcová, M., Režná, L., Kalhotka, L. 2010. Mikroflóra jogurtů. In *Farmářská výroba syru a kysaných mléčných výrobků VII. 2010: Zborník referátov zo seminára s medzinárodnou účasťou*. Brno : MZLU, s. 106-110. ISBN 978-80-7375-402-0.
- Piecková, E., Valík, E., Görner, F. 2002. Mikroskopické vláknité huby v jogurtoch. Bulletin potravinárskeho výskumu (Bulletin of Food Research) roč. 41, č. 4, s. 291–301.
- Plocková, M. 2012. Technologie mléka a mlékárenských výrobků. In KADLEC, P. et al. *Přehled tradičních potravinářských výrob.* Ostrava: KEY Publishing s.r.o., s. 275. ISBN 978-80-7418-145-0.
- Ribeiro, M. G., Geraldo, J. C., Langoni, H., Lara, G. H. B., Siqueira, A. K., Salerno, T., Fernandes, M. C. 2009. Pathogenic microorganisms, somatic cell count and drug residues evaluation in organic bovine milk. In *Pesquisa Veterinária Brasileira*, vol. 29, no. 1, pp. 52.
- Seydlová, R. 2010. Hygienic milk quality in ecological farm. In *Mlékařské listy* č. 123, s. 7-10.
- Sobolewska – Zielińska, J. et al. 2010. Quality of bio-food from the region of south Poland in comparison with common products. In *Bezpečnosť a kontrola potravín [Zborník na CD ROM]*. Nitra : SPU, s. 201 - 204. ISBN 978-80-552-0350-8.
- Soukoulis, C., Panagiotidis, P. Koureli. R. 2009. Application of Advanced Instrumental Methods for Yogurt Analysis. Critical Reviews. In *Food Science and Nutrition*. vol. 49, no. 2, pp. 153-163. ISSN 1040- 8398.
- Špelina, V. et al. 2004. *Mikrobiologické kontaminanty v potravinách*, Brno : SZÚ, Vědecký výbor pro potraviny
- Vašková, P. 2008. Mikrobiologické aspekty biopotravin a běžných potravin: diplomová práce. Brno : Masarykova univerzita, 79 s.

**Kontaktná adresa:** Ing. Jana Kolačková, Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, E-mail: [jkola@centrum.sk](mailto:jkola@centrum.sk)

# VPLYV PRIDANEJ KULTÚRY NA PRIEBEH ZRENIA SYROV Z NEPASTERIZOVANÉHO OVČIEHO MLIEKA EFFECT OF CULTURE ADDED ON CHEESE MATURING PROCESS FROM UNPASTEURISED EWE'S MILK

*Janka Koreňová, Tereza Cabicarová, Zuzana Čaplová, Tomáš Kuchta*

**Abstract:** The seven of model cheeses from unpasteurised ewe's milk were laboratory prepared by using added culture of five selected strains of lactic acid bacteria (*Lactobacillus fermentum* (TIS 4, TIS 2) *Lactobacillus brevis* (IVB/8, 2F1), *Lactobacillus plantarum* (17 L 1), *Lactobacillus paracasei* (21 L 10) and *Lactococcus lactis* (33S7). The strain were isolated from traditional slovak cheeses and were selected by FT-IR and by phenotypic expression of protease activity by cultivation on the milk agar. The profile of volatile aroma-active compounds of different laboratory prepared cheeses we obtained by gass chromatography-mass spectrometry. The obtained results indicate that added cultures of lactic acid bacteria had influenced the content of volatile aroma-active compounds in cheeses and would lead to preserve the organoleptic quality of traditional cheese products.

**Key words:** lactic acid bacteria, volatile aroma-active compounds, curd cheese

## ÚVOD

Vlastnosti syrov a všeobecne, aj iných mliečnych výrobkov, sú ovplyvnené najmä kvalitou mlieka ako vstupnej suroviny, aplikovaným technologickým postupom a v neposlednom rade aj aktivitou mikroorganizmov, ktoré sa v nich nachádzajú. Tie využívajú rôzne substancie obsiahnuté v mlieku (proteíny, sacharidy, lipidy) a produkujú široké spektrum aróma-aktívnych látok (karboxylové kyseliny, estery a alkoholy), ktoré sa významne podieľajú na vytváraní celkovej organoleptickej kvality výsledného produktu (Šaková et.al., 2015).

Jednou zo základných enzymatických činností mikroorganizmov je proteolýza. Zúčastňujú sa na nej exoproteinázy bunkového obalu (CEPs) napr. PrtP, PrtH, PrtB, PrtR, PrtS, endopeptidázy, a aminotransferázy (napr. pepN, pepX, bcaT a iné). Prostredníctvom enzýmov bunky mikroorganizmov ďalej katabolizujú vzniknuté aminokyseliny až na  $\alpha$ -keto kyseliny, karboxylové kyseliny, až na aldehydy a alkoholy a estery. Niektoré z týchto látok majú potuchnuté, zemité až hnilobné arómy (karboxylové kyseliny), kvasné, alkoholové a ovocné arómy (aldehydy a alkoholy), alebo príjemné kvetinové vône (benzaldehyd, fenyletanol). Spoločne tieto prchavé látky prispievajú k celkovej špecifickej a originálnej organoleptickej kvalite mliečnych výrobkov a syrov (Smid a Kleerebezem, 2014).

Základnými nositeľmi uvedených proteolytických enzýmov v syroch sú baktérie mliečného kysnutia (Ozturkoglu-Budak et.al., 2016). Sú prirodzene prítomné v surovom mlieku, ich zdrojom sú napr. strukové kanálky dojníc, súčasti zariadení na dojenie, voda, pastva, siláž, seno a pod., čím sa určitá mliečna mikroflóra môže spájať s konkrétnou farmou (Verdier-Metz et.al., 2012). Zároveň je v tomto zmysle mikrobiologická kvalita mlieka závislá na meniacich sa klimatických podmienkach, podmienkach sanácie zariadení vnútorného prostredia spracovania mlieka a iných faktorov.

Štandardnú mikrobiologickú kvalitu surového mlieka a výsledného produktu z hľadiska mikroflóry, technologických a organoleptických vlastností. by mohol v kladnom smere ovplyvniť prídavok autochtónnej kultúry baktérií mliečného kysnutia, ktorá by posilnila rozvoj pôvodnej mikroflóry na začiatku procesu zrenia syrov a zároveň by negatívne neovplyvnila typické organoleptické vlastnosti tradičného syra, ako sa môže stať pri použití klasickej štartovacej kultúry.

## MATERIÁL A METÓDY

### *Identifikácia a charakterizácia bakteriálnych kmeňov*

89 bakteriálnych izolátov sme získali izoláciou zo syrov vyrobených zo surového ovčieho mlieka, ktoré sme vytriedili pomocou FT-IR podľa Lejkovej et.al. (2015) a identifikovali PCR amplifikáciou úseku 16S rDNA pomocou primérou 27F a 1062R podľa Berta et.al. (2009). Na PCR amplifikáciu génov pre proteázy *pepX*, *pepN*, *prtP* a *bcaT* u vybraných kmeňov baktérií mliečného kysnutia sme použili postup podľa Čaplovej et.al. (2018). Produkty amplifikácie boli analyzované sekvenovaním vo Vedeckom parku UK v Bratislave. Fenotypovú analýzu proteolytickej aktivity vybraných kmeňov sme uskutočnili na mliečnom agare modifikovanom podľa Ozturkoglu-Budak et.al. (2016).

### *Laboratórna príprava syrov*

Na prípravu syrov sme vybrali 7 kmeňov baktérií mliečného kysnutia na základe výsledkov charakterizácie (Tab. 1). Kmene izolované na pracovisku VÚP-NPPC Bratislava (TIS2; IVB/8; TIS4; 2F1) a na pracovisku VÚM Žilina (17L1; 21L10; 33S7) boli jednotlivo pridané vo forme mliečnych zákysových kultúr do nepasterizovaného ovčieho mlieka na prípravu hrudkových syrov v koncentrácii  $10^6 - 10^7$  KTJ/ml mlieka. 7 syrov s pridanými kultúrami a 2 syry bez pridanej kultúry boli pripravené zrážaním enzymatickým syridlom a zreli pri predpísanej teplote (Valík, 2004).

### *Plynová chromatografia - hmotnostná spektrometria (GC-MS)*

Vzorky syrov (5,0 g) sme podrobili statickej mikroextrakcii na tuhú fázu (SPME) (DVB/Carboxen/PDMS, Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, USA). Prchavé látky sme analyzovali GC-MS Agilent 6890N inertným hmotnostným spektrometrickým detektorom 5973 (Agilent Technologies, Palo Alto, Kalifornia, USA).

### *Senzorické hodnotenie laboratórne pripravených syrov*

Vzorky parených syrov boli senzoricky hodnotené panelom 11 poučených hodnotiteľov v 3 kategóriách: chuť, vôňa, celkový dojem, v ktorých pridelili vzorkám syrov body od 1 do 5 podľa stúpajúcej preferencie. Za účelom vyhodnotenia sme preferencie vyjadrili ako priemerný počet bodov v každej hodnotenej kategórii.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

U každého z vybraných kmeňov baktérií mliečného kysnutia sme identifikovali sekvencie aspoň 3 génov spomedzi *pepX*, *pepN*, *prtP* a *bcaT*. s výnimkou kmeňa *Lb. fermentum* (TIS4), u ktorého nebol amplifikovaný ani jeden z génových úsek pre vybrané enzýmy (Tab. 1). U tohto kmeňa sme zhodne stanovili aj negatívny proteázový fenotyp. Dôvodom negatívneho proteázového fenotypu kmeňa *Lb. brevis* 2F1 na mliečnom agare môžu byť plazmidovo kódované proteázy a slabá proteázová aktivita kmeňa v inom, ako mliečnom prostredí (Ozturkoglu-Budak et.al., 2016). Ovčie hrudkové syry s pridanými kultúrami sme pripravili v dvoch sériách (a, b), v každej sérii bol pripravený aj syr bez pridanej kultúry.

Analýza prchavých látok metódou GC-MS patrí medzi najviac využívané metódy na stanovenie organoleptickej kvality v potravinách, vrátane mliečnych výrobkov (Sádecká et.al., 2016). Pozitívny proteázový fenotyp kmeňov *Lb. fermentum* TIS2 a *Lb. brevis* IVB8 na mliečnom agare koreloval s výsledkami analýzy prítomnosti 3-metylbutanal v syroch pripravených v sérii „a“. Koncentrácie ostatných látok boli rozkolísané, ale v syre bez pridanej kultúry (8a), kde predpokladáme prevažujúce laktokoky, sme zaznamenali silnejší katabolizmus sacharidov (laktózy), resp. slabšiu lipolýzu, ktoré sa prejavili zvýšenou hladinou 2-butanónu, resp. zníženou hladinou kys. oktánovej (Tab. 2).

Najbohatšie zastúpenie všetkých piatich sledovaných organolepticky významných látok sme stanovili vo vzorkách syrov s pridanými kultúrami *Lb. fermentum* TIS2 a *Lb. brevis* IVB8 s pozitívnym proteázovým fenotypom, ale aj v syre bez prídavku kultúry.

Tabuľka 1. Výsledky PCR špecifickej na proteázové gény a výsledky fenotypu proteolýzy baktérií mliečného kysnutia na mliečnom agare

druh	označenie	<i>prtP</i>	<i>pepN</i>	<i>pepX</i>	<i>bcaT</i>	fenotyp
<i>Lactobacillus fermentum</i>	TIS2	+	+	-	+	+
<i>Lactobacillus brevis</i>	IVB/8	+	+	+	-	++
<i>Lactobacillus fermentum</i>	TIS4	-	-	-	-	-
<i>Lactobacillus brevis</i>	2F1	+	+	+	-	-
<i>Lactobacillus plantarum</i>	17L1	-	+	+	+	+
<i>Lactobacillus paracasei</i>	21L10	+	+	-	+	+
<i>Lactococcus lactis</i>	33S7	+	+	+	+	+

Tabuľka 2. Relatívne zastúpenie prchavých aróma-aktívnych látok v modelových syroch s pridanými kultúrami baktérií mliečného kysnutia

Plocha TIC píkov (%)								
č. vzorky syra/séria	1/a	2/a	3/a	4/a	5/b	6/b	7/b	8a/8b
pridaná kultúra	TIS2	TIS4	IVB8	2F1	17L1	21L10	33S7	-
kys. butánová	na	na	na	na	7,21	5,61	8,49	na/5,70
kys. dekánová	na	na	na	na	1,29	1,00	5,52	na/1,24
kys. hexánová	na	na	na	na	9,81	8,86	17,29	na/10,46
kys. izovalérová	na	na	na	na	5,62	6,58	2,97	na/9,67
<b>kys. oktánová</b>	2,43	3,16	3,76	3,59	4,78	6,44	16,14	0,70/5,73
kys. valérová	na	na	na	na	0,06	0,06*	0,08	na/0
acetoín	na	na	na	na	17,57	19,42	6,78	na/10,36
<b>2-butanón</b>	2,04	0,54	0,23	0,17	0	0	0,82	7,93/0,63
2,3-butándión	na	na	na	na	2,78	4,25	0	na/2,12
2-heptanón	na	na	na	na	1,47	2,40	0,77	na/1,77
2-nonanón	na	na	na	na	0,60	0,73	0,12	na/0,23
etylacetát	na	na	na	na	0,54	0,22	0,97	na/0
etylbutanoát	na	na	na	na	0,11	0,10	0,10	na/0,17*
izoamylbutanoát	na	na	na	na	0	0,13	0	na/0,15
2-metylpropanol	na	na	na	na	0,20	0,17	0,34	na/0,41
3-metylbutanol	na	na	na	na	8,79	9,75	14,42	na/18,13
<b>2-fenyletanol</b>	0,51	0,48	0,42	0,65	4,58	1,80	2,53	0,70/4,34
<b>3-metylbutanal</b>	0,89	0,00	0,53	0,00	1,21	1,23	1,87	2,61/2,40

na – neboli analyzované; 8a/8b – vzorky syrov bez pridanej kultúry v sérii „a“ a „b“

Neprítomnosť 3-metylbutanalú sme zaznamenali vo vzorkách syrov s pridanými kultúrami *Lb. brevis* 2F1 a *Lb. fermentum* TIS4, u ktorých sme zistili negatívny proteázový fenotyp (Tab. 2).

Najvyššie rozdiely v koncentráciách aróma-aktívnych látok vo vzorkách syrov v sérii „b“ v porovnaní so syrom bez pridanej kultúry (8b) sme zaznamenali u látok kyselina oktanová, acetoín a kyselina hexánová. Vzorka syra s pridanou kultúrou *Lc. lactis* 33S7 obsahovala o 10,41 % vyššiu koncentráciu kyseliny oktanovej a o 6,83 % vyššiu koncentráciu kyseliny hexánovej v porovnaní so syrom bez pridanej kultúry. Tieto látky majú samostatne nepríjemný senzorický vnem (voskovitá, potuchnutá, ostro štiplavá), ale v komplexnej aróme syra môžu hrať pozitívnu úlohu (Smid a Kleerebezem, 2014).

Vzorka syra s pridanou kultúrou *Lb. paracasei* 21L10 obsahovala o 9,06 % vyššiu koncentráciu acetoínu (maslová, krémová vôňa) v porovnaní so syrom bez pridanej kultúry. Naopak, u vzorky syra bez pridanej kultúry sme zaznamenali o 3,71 - 9,34 % vyššiu koncentráciu 3-metylbutanolu (vôňa čerstvého syra) v porovnaní so vzorkami syrov s pridanými kultúrami (Tab. 2).

Vzorka syra s pridanou kultúrou *Lc. lactis* 33S7, získala najmenej preferenčných bodov od hodnotiteľov (výsledky nie sú uvedené) a zároveň obsahovala vyššiu koncentráciu látok s nepríjemným senzorickým vnemom (voskovitá, potuchnutá, ostro štiplavá) v porovnaní so syrom bez pridanej kultúry (Tab. 2). Naopak, vzorka syra s pridanou kultúrou *Lb. paracasei* 21L10 s najvyšším počtom preferenčných bodov obsahovala vyššiu koncentráciu acetoínu (maslová, krémová vôňa) v porovnaní so syrom bez pridanej kultúry (Tab. 2).

## ZÁVER

Predpoklad kvantitatívnej zmeny produkcie typických senzoricky aktívnych zlúčenín v syroch pomocou mikrobiálnych proteáz sme prostredníctvom použitých metód jednoznačne nepotvrdili, ale v hodnotení organoleptickej kvality syrov sme zaznamenali koreláciu preferencie hodnotiteľov senzorickej analýzy s detekciou prchavých aromatických látok metódou GC-MS. Syr s pridanou kultúrou *Lb. paracasei* (21L10) sa podľa výsledkov senzorického hodnotenia obsahu aróma-aktívnych látok najviac približoval organoleptickému profilu tradičného výrobku – ovčieho syra.

## LITERATÚRA

- Berta, G., Chebeňová, V., Brežná, B. et al., 2009. Identification of lactic acid bacteria in Slovakian bryndza cheese. *J Food Nutr. Res.* 48, 65-71.
- Čaplová, Z., Pangallo, D., Kraková, L. et al., 2018. Detection of genes prtP, pepN, pepX and bcaT involved in formation of aroma-active compounds in lactic acid bacteria from ewes' cheese. *J Food Nutr. Res.* 57, 195-200.
- Lejková, J., Koreňová, J., Ženišová, K. et al., 2015. Isolation of autochthonous lactic acid bacteria from ewes' lump cheese, bryndza cheese and barrelled ewes' cheese, and their characterization using Fourier transform infrared spectroscopy. *J Food Nutr. Res.* 54, 308-313.
- Ozturkoglu-Budak, S., Wiebenga, A., Bron, P. A. et al., 2016. Protease and lipase activities of fungal and bacterial strains derived from an artisanal raw ewe's milk cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 237, 17-27.
- Sádecká, J., Šaková, N., Pangallo, D. et al., 2016. Microbial diversity and volatile odour-active compounds of barrelled ewes' cheese as an intermediate product that determines the quality of winter bryndza cheese. *LWT-Food Sci Technol.* 70, 237-244.
- Smid, E. J., Kleerebezem, M., 2014. Production of aroma compounds in lactic fermentations. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 5, 313-326.
- Šaková, N., Sádecká, J., Lejková, J. et al., 2015. Characterization of May bryndza cheese from various regions in Slovakia based on microbiological, molecular and principal volatile odorants examination. *J Food Nutr. Res.* 54, 239-251.
- Valík, L., 2004. Mikrobiológia syrov. In: Görner, F., Valík, L. (Eds.), Aplikovaná mikrobiológia požívateľin. Malé centrum, Bratislava, pp. 273-338.
- Verdier-Metz, I., Gagne, G., Bornes, S. et al., 2012. Cow teat skin, a potential source of diverse microbial populations for cheese production. *Appl. Environ. Microbiol.*, 78, 326-333.

**Pod'akovanie:** Práca bola vypracovaná s podporou projektu APVV-15-0006.

**Kontaktná adresa:** Ing. Janka Koreňová, PhD., Odbor mikrobiológie, molekulárnej biológie a biotechnológií, VÚP-NPPC, BratislavaNPPC-VÚP, Priemyselná 4; 824 75 Bratislava

**ODHAD SPRÁVANIA SA POPULÁCIÍ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* A  
*ESCHERICHIA COLI* POČAS VÝROBY TRADIČNÝCH PARENÝCH  
SYROV ZO SUROVÉHO MLIEKA  
ESTIMATION OF THE BEHAVIOUR OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*  
AND *ESCHERICHIA COLI* IN THE PRODUCTION OF TRADITIONAL  
STRETCHED CHEESE**

*Eubomír Valík, Pavel Ačai, Veronika Antálková, Veronika Lehotová*

**Abstract:** The behaviour of *E. coli* and presumptive *S. aureus* populations were studied during laboratory production of stretched cheese and within a simulation study as well as. The following main outputs resulted from the simulation. Increase of stretching temperature in 5 °C decreased the number in extra two logs so that *E. coli* and *S. aureus* reached <10<sup>2</sup> CFU/g in 99.2 % and 96.2 % cases. The combination of increased stretching temperature and fresh cheese of better microbiological quality resulted in the *E. coli* numbers lower than 0.5 log CFU/g in all cases and *S. aureus* lower than 10<sup>2</sup> CFU/g in 99.9 % of cases.

**Keywords:** stretching cheese, *E. coli*, *S. aureus*, prediction of behaviour

### ÚVOD

Novšie prístupy k bezpečnosti potravín predstavované odbornej verejnosti po roku 2000 vychádzajú z konceptu primeranej ochrany obyvateľstva a predpokladajú podrobné kvantitatívne analýzy smerujúce od cieľov bezpečnosti potravín definovaných na úrovni konzumenta pozdĺž potravinového reťazca naspäť k prvovýrobe. Na základe takýchto analýz rešpektujúcich vlastnosti - schopnosti identifikovaných nebezpečenstiev vyvolať ochorenie a riziko, t.j. pravdepodobnosť s akou k tomu môže dochádzať, sa definujú požiadavky pre jednotlivé miesta v potravinovom reťazca (Valík, 2010). Významnú úlohu v tejto snahe zohrávajú nielen reálne informácie a poznatky o procesoch využívaných pri opracovaní a spracovaní surovín, výrobe potravín, podmienkach ich uchovávania, vrátane predaja a konzumácie, ale predovšetkým modely prediktívnej mikrobiológie, ktoré môžeme v konkrétnych prípadoch pri simuláciách správania mikroorganizmov využiť (Valík a Ačai, 2016).

Aby sme kvantitatívne opísali správanie sa relevantných mikrobiálnych populácií počas výroby parených syrov, vrátane doby počas uchovávania, realizovali sme 20 nezávislých remeselných výrob s kompletnou mikrobiologickou analýzou v rozhodujúcich krokoch (pred nimi a po nich). Identifikovali procesy, pri ktorých dochádzalo k rastu a rozmnožovaniu, devitalizácii a prežívaniu alebo napríklad rozdeľovaniu populácií mikroorganizmov medzi koagulátom a srvátkou. Na základe množstva získaných údajov sme definovali intervaly zmien v počtoch mikroorganizmov spôsobených technologickými procesmi pri výrobe parených syrov v podobe distribúcií (histogramov). Mnohé súbory číselných údajov vykazovali znaky normálneho rozdelenia, čo pre nás znamenalo, že sme získali rozsahy mikrobiologických ukazovateľov, s ktorými sa iné mikrobiologické údaje získané z praxe v rôznych krokoch výroby parených syrov môžu porovnávať. Takto by sa mohli tiež vyhodnotiť odchýlky od tohto súboru ukazovateľov. Naším cieľom bolo však využiť konkrétne podmienky z experimentálnej prípravy parených syrov, aplikovať v nich prediktívne modely rastu a prežívania *E. coli*, *S. aureus* a baktérií mliečneho kysnutia (Ačai et al., 2016; Valík et al., 2018; den Besten, 2017). Na ich základe by potom remeselní výrobcovia mohli okrem porovnania výsledkov identifikovať príčiny neakceptovateľných odchýlok a riešiť ich.



## MATERIÁL A METÓDY

Na výrobu parených syrov sa použilo surové kravské mlieko z automatu (Homolová ul., Bratislava) a surové ovčie mlieko zo salaša (Ol'ga Apoleníková, SHR, Pružina, Slovenská republika). Pri výrobe syrovej hrudky sme použili komerčné syridlo FROMASE 220 (DSM, Heerlen, Holandsko) a zákysovú kultúru Fresco kultúru DVS 1010 (Christian Hansen, Hørsholm, Dánsko).

Pravdepodobné počty *S. aureus* boli stanovené kultivačne na agare podľa Baird-Parkera, počty koliformných baktérií a *E. coli* na chromogénnom agare Chromocult® Coliform Agar (Merck, Darmstadt, Nemecko; Valík et al., 2012).

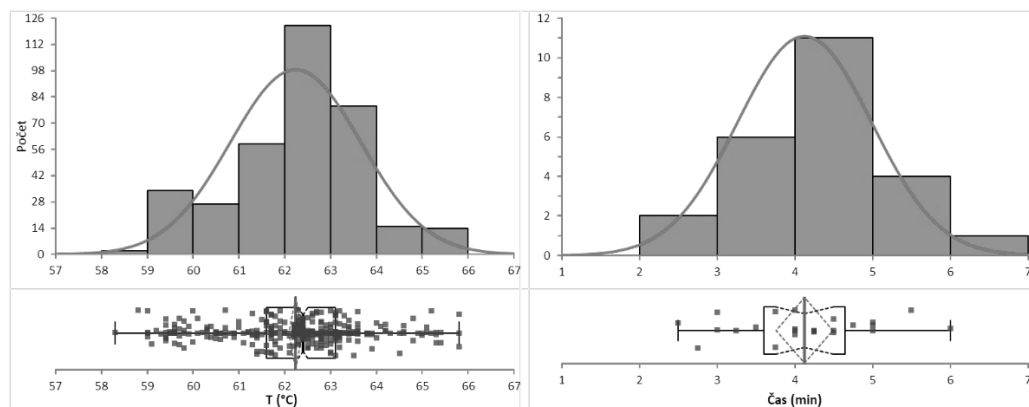
Simulácie správania uvedených baktérií sme vykonali pomocou ModelRisk software (Vose Software, Gent, Belgium) a využitím prediktívnych modelov pre rast a prežívanie *E. coli*, *S. aureus* a baktérií mliečneho kysnutia (Ačai et al., 2016; Valík et al., 2018; den Besten, 2017).

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Mikrobiologickú kvalitu surového mlieka, z ktorého sme vyrábali hrudkový syr, charakterizovali obsahy CPM (celkový počet mikroorganizmov)  $5,0 \pm 0,6 \log \text{KTJ.ml}^{-1}$ , KaVH (kvasinky a vláknité huby)  $3,9 \pm 0,6 \log \text{KTJ.ml}^{-1}$ , KFB (koliformné baktérie)  $2,6 \pm 0,5 \log \text{KTJ.ml}^{-1}$ , *Escherichia coli*  $1,5 \pm 0,7 \log \text{KTJ.ml}^{-1}$  a obsah *Staphylococcus aureus*  $3,0 \pm 0,5 \log \text{ml}^{-1}$ . Pri oddeľovaní srvátky od koagulátu sme zistili, že priemerne 35 % prítomných mikroorganizmov odchádzalo so srvátkou a 65 % zostalo zachytených v hrudkovom syre.

Počas fermentácie mlieka a čerstvej hrudky sa obsahy mikroorganizmov v dôsledku rastu a rozmnožovania zvýšili o  $4,3 \pm 0,7 \log \text{KTJ.g}^{-1}$  (CPM),  $1,5 \pm 0,7 \log \text{KTJ.g}^{-1}$  (KaVH),  $2,4 \pm 0,6 \log \text{KTJ.g}^{-1}$  (KFB),  $1,5 \pm 0,7 \log \text{KTJ.g}^{-1}$  (*E. coli*) a  $1,0 \pm 0,3 \log \text{KTJ.g}^{-1}$  (*S. aureus*).

Parenie hrudky prebiehalo za podmienok znázornených na obr. 1, pričom počas parenia sme zaznamenali nasledovné úbytky prítomných populácií: CPM:  $-2,6 \pm 1,1 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ ; KaVH:  $-2,8 \pm 1,0 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ ; KFB:  $-3,6 \pm 1,0 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ ; *E. coli*:  $-2,0 \pm 0,5 \log \text{KTJ.g}^{-1}$  a *S. aureus*:  $-1,5 \pm 0,7 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ .



**$62,2 \pm 1,4 \text{ } ^\circ\text{C}$**  (58 – 66  $^\circ\text{C}$ )

**$4,1 \pm 0,9 \text{ min}$**  (2,5 – 6,0 min)

Obr. 1: Teploty zaznamenané počas parenia hrudky a príslušná distribúcia časov potrebných na získanie pareniny (napravo)

S vyrobenými parenými syrmi (niťami) sme vykonali skladovacie testy, ktorých výsledky poukázali, že proces parenia nemusí bezpečne devitalizovať prítomné vegetatívne mikroorganizmy a z preživších populácií pre kvalitu a trvanlivosť parených syrov sú určujúce kvasinky a vláknité huby, ktorých rast a rozmnožovanie pokračuje v koexistencii s baktériami mliečneho kysnutia aj pri teplote 6  $^\circ\text{C}$ .

Získané skúsenosti a predovšetkým podmienky panujúce pri remeselnej výrobe parených syrov sme využili pri matematickom modelovaní a simuláciách správania sa zúčastnených populácií mikroorganizmov. Výsledky simulácií vychádzajúcich z reálnych výrob parených nití v laboratóriu sú uvedené v Tab. 1.

Tab. 1: Očakávané počty *E. coli* a *S. aureus* v parených syroch zo surového mlieka určené na základe simulácií (n = 10 000) a vstupov z laboratórnej výroby (n = 20).

Krok	KHP	Priemer	Interval	$<10^4$ KTJ.g <sup>-1</sup>	$10^4 - 10^5$	$>10^5$
00_Čerstvý syr po koagulácii	EC	<b>1,82</b>	0,7 – 3,5	100 %	NA	NA
	ppSA	<b>3,26</b>	2,6 – 4,2	88,9 %	11,1 %	NA
01 po 24 kysnutí	EC	3,11	1,7 – 4,9	<b>97,3 %</b>	2,7 %	NA
	ppSA	4,4	3,7 – 5,1	2,2 %	<b>97,8 %</b>	0,04 %
02 po parení	EC	1,5	-4,4 – 4,1	<b>99,96 %</b>	0,03%	NA
	ppSA	2,2	-5,6 – 4,5	<b>98,0 %</b>	2,0 %	NA
03 po uchovávaní (6°C/6 týždňov)	EC	2,1	-2,1 – 4,3	<b>99,9 %</b>	0,1%	NA
	ppSA	2,7	-3,7 – 4,6	<b>95,6 %</b>	4,4 %	NA

KHP – kritérium hygieny procesu, EC – *E. coli*, ppSA – predpokladaný počet *S. aureus*

## ZÁVER

Práca predstavuje možnosti využitia modelov prediktívnej mikrobiológie pri vývoji a hodnotení mikrobiologickej kvality a bezpečnosti potravín, konkrétne tradičných mliečnych výrobkov vyrábaných zo surového mlieka. Prínosom týchto prístupov je skutočnosť, že v simuláciách správania sa populácií nežiaducich mikroorganizmov je možné meniť vstupné hodnoty a potom bez ďalších mikrobiologických analýz môžeme získať obraz o viacerých možných scenároch ich vývoja v rozhodujúcich krokoch výroby, vrátane vývoja mikrobiologickej kvality počas uchovávaní, v našom prípade tradičných parených syrov.

## LITERATÚRA

- Ačai, P., Valík, E., Medved'ová, A., Roskopf, F. 2016. Modelling and predicting the simultaneous growth of *Escherichia coli* and lactic acid bacteria in milk. *Food Science and Technology International*, 22(6), 475-484.
- den Besten, H. M., Berendsen, E. M., Wells-Bennik, M. H., Straatsma, H., & Zwietering, M. H. (2017). Two complementary approaches to quantify variability in heat resistance of spores of *Bacillus subtilis*. *International Journal of Food Microbiology*, 253, 48-53.
- Valík, E. 2010. Ku konceptom zdravotnej neškodnosti potravín založených na analýze rizika. *Potravinárstvo*, 4, 364-371.
- Valík, E., Ačai, P. 2016. *Prediktívna mikrobiológia a mikrobiologické hodnotenie rizika*. Bratislava: Slovenská technická univerzita.
- Valík, E., Ačai, P., Medved'ová, A. 2018. Application of competitive models in predicting the simultaneous growth of *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria in milk. *Food Control*, 87, 145-152.
- Valík, E., Medved'ová, A., Liptáková, D. 2012. *Laboratórium z mikrobiológie potravín: Skriptá na cvičenia*. Bratislava: Slovenská technická univerzita v Bratislave.

**Pod'akovanie:** Práca bola vypracovaná s podporou projektov APVV-15-0006 a VEGA 1/0532/18

**Kontaktná adresa:** Eubomír Valík, prof. Ing., PhD., Ústav potravinárstva a výživy, oddelenie výživy a hodnotenie kvality potravín, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU v Bratislave, Radlinského 8, 812 37 Bratislava

# PRIAMA DETEKCIA *LISTERIA MONOCYTOGENES* V SYROCH METÓDOU PCR DIRECT DETECTION OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN THE CHEESE BY PCR

*Adriana Véghová, Jana Minarovičová, Tereza Cabicarová, Eva Kaclíková*

**Abstract:** *Listeria monocytogenes* is a food-borne pathogen that can cause the disease listeriosis. Despite the rare occurrence, listeriosis is characterized by a high mortality rate. Therefore, it is very important to monitor food safety. Cheese products are considered the one main sources of the pathogen. The aim of our research was the direct detection of *L. monocytogenes* in various types of cheeses using several DNA extraction methods directly from cheese sample, followed by a species-specific real-time PCR oriented to the *actA* gene. Two laboratory procedures and five commercial kits for DNA extraction from food were used to extract total DNA from cheese and artificially contaminated cheese samples with defined concentrations of *L. monocytogenes*. Resulting data were analysed on the basis of threshold values ( $C_T$ ) of real-time PCR. Obtained results show that all extraction methods are suitable for the extraction of amplifiable bacterial DNA. The detection limit of the extraction methods ranged from  $5 \times 10^3$  to  $2.5 \times 10^2$  CFU/g of cheese sample and the best results were obtained using the commercial kits PowerFood Microbial Isolation Kit and DNeasy Mericon Food.

**Keywords:** *Listeria monocytogenes*, DNA extraction, real-time PCR

## ÚVOD

Prioritou potravinárskeho priemyslu je zabezpečiť výrobu bezpečných a kvalitných potravín. Medzi najzávažnejšie problémy v tejto oblasti patrí kontaminácia potravín a prostredia ich výroby patogénnymi mikroorganizmami. Mikrobiálne kontaminanty sú za určitých podmienok schopné perzistovať v potravinárskych prevádzkach, a tým kontaminovať potravinárske výrobky, ktoré môžu po konzumácii u ľudí vyvolať ochorenia poškodzujúce organizmus a v ťažkých prípadoch zapríčiniť aj smrť. Úlohou potravinárskeho priemyslu je preto vytvoriť opatrenia na zabránenie výskytu patogénnych mikroorganizmov v potravinách. *Listeria monocytogenes* je pôvodcom ochorenia listerióza, ktoré je najčastejšie spôsobené práve konzumáciou kontaminovanej potraviny. Ide o život ohrozujúce ochorenie, ktoré je spájané so septikémiou, potratmi a neurologickými ochoreniami (Disson a Lecuit, 2012; Oevermann, Zurbriggen a Vandeveld, 2010; Siegman-Igra et al., 2002). Má významný dopad na zdravie ľudí pre svoju vysokú úmrtnosť (Maertens de Noordhout a kol., 2014; Swaminathan a Gerner-Smith, 2007). Na detekciu a identifikáciu *L. monocytogenes* sa používajú štandardné metódy založené na kultivačných postupoch, ktoré sú však časovo náročné, čo z hľadiska výroby potravín nie je efektívne. Preto sa do popredia dostávajú molekulárno-biologické metódy ako napríklad metóda real-time PCR, ktorá umožňuje rýchlu a špecifickú detekciu potravinových patogénov. Dôležitým krokom detekcie založenej na PCR je správny postup extrakcie DNA, ktorý poskytne amplifikovateľnú DNA vhodnú na ďalšiu analýzu. Cieľom práce bola priama detekcia patogénnej baktérie *L. monocytogenes* v rôznych typoch syrov za účelom vyhodnotenia a porovnania metód extrakcie DNA z potravín s následnou druhovo-špecifickou real-time PCR.

## MATERIÁL A METÓDY

V práci sme použili ako potravinové matrice syry typu camembert, parenica, mozzarella a romadur. Vzorok syrov sme podrobili mikrobiologickej analýze. Na dôkaz prítomnosti, resp. neprítomnosti *L. monocytogenes* sme použili štandardnú metódu podľa noriem STN EN

ISO 11290-1 (2018) a STN EN ISO 11290-2 (2018). Potravinové matrice sme pripravili nasledovne: 10 g syra sme homogenizovali v 10 ml fyziologického roztoku (0,85 % NaCl) s 10 ks homogenizačných guľôčok po dobu 10 min. pri maximálnych otáčkach homogenizátora IKA ultra turrax tube drive (IKA, Staufen, Nemecko). Na prípravu umelo kontaminovaných vzoriek syrov sme použili zriedené kultúry *L. monocytogenes* NCTC 11994 s určenými koncentráciami, ktoré sme pridali v polovici 10 min. homogenizácie. Na extrakciu DNA zo vzoriek sme použili sedem metód extrakcie: laboratórne postupy cetyltrimetylamóniumbromid (CTAB) (Stefanova et al., 2014) a fenol-chloroformizoamylalkohol (PCI) (Barker et al., 1989 – modifikovaný PCI protokol), jednu komerčnú súpravu založenú na extrakcii kvapalina-kvapalina (Dneasy Mericon Food, Qiagen) a štyri komerčné súpravy na princípe kolónkovej extrakcie na membráne založené na extrakcii kvapalina-tuhá fáza (Presto Food DNA Extraction Kit, Geneaid, PowerFood Microbial DNA Isolation Kit, MO BIO Labs., SpeedTools Food DNA Extraction Kit, Biotools, Nucleospin Food, Macherey-Nagel). Na detekciu extrahovanej DNA *L. monocytogenes* zo vzoriek sme použili druhovo-špecifickú real-time PCR orientovanú na amplifikáciu génu *actA* (Oravcová et al., 2006) a výsledky sme vyhodnotili na základe hodnôt prahového cyklu ( $c_T$ ).

### VÝSLEDKY

Mikrobiologickou analýzou vzoriek syrov sa potvrdila neprítomnosť *L. monocytogenes* v 25 g vzorky ako aj počet *L. monocytogenes* menej ako 100 KTJ.g<sup>-1</sup>. Výsledky detekcie extrahovanej DNA *L. monocytogenes* z umelo kontaminovaných vzoriek syrov pomocou siedmich metód extrakcie sú uvedené v Tabuľke 1. Detekčný limit sa vyhodnotil ako KTJ *L. monocytogenes* na gram vzorky.

**Tabuľka 1:** Výsledky detekčného limitu *L. monocytogenes* v umelo kontaminovaných vzorkách syrov riedeniami kultúry *L. monocytogenes* s výslednou koncentráciou 1x10<sup>4</sup> KTJ.g<sup>-1</sup>, 5x10<sup>3</sup> KTJ.g<sup>-1</sup>, 1x10<sup>3</sup> KTJ.g<sup>-1</sup>, 5x10<sup>2</sup> KTJ.g<sup>-1</sup>, 2,5x10<sup>2</sup> KTJ.g<sup>-1</sup> a 1x10<sup>2</sup> KTJ.g<sup>-1</sup>

Metóda extrakcie	Detekčný limit <i>L. monocytogenes</i>			
	camembert (KTJ.g <sup>-1</sup> )	parenica (KTJ.g <sup>-1</sup> )	mozzarella (KTJ.g <sup>-1</sup> )	romadur (KTJ.g <sup>-1</sup> )
<b>DNeasy Mericon Food</b>	5.0 × 10 <sup>2</sup>	5.0 × 10 <sup>2</sup>	5.0 × 10 <sup>2</sup>	2.5 × 10 <sup>2</sup>
<b>Presto Food DNA Extraction Kit</b>	1.0 × 10 <sup>3</sup>	1.0 × 10 <sup>3</sup>	1.0 × 10 <sup>3</sup>	1.0 × 10 <sup>3</sup>
<b>PowerFood Microbial DNA Isolation Kit</b>	5.0 × 10 <sup>2</sup>	5.0 × 10 <sup>2</sup>	5.0 × 10 <sup>2</sup>	2.5 × 10 <sup>2</sup>
<b>SpeedTools Food DNA Extraction Kit</b>	1.0 × 10 <sup>3</sup>	1.0 × 10 <sup>3</sup>	1.0 × 10 <sup>3</sup>	1.0 × 10 <sup>3</sup>
<b>Nucleospin Food</b>	1.0 × 10 <sup>3</sup>	1.0 × 10 <sup>3</sup>	1.0 × 10 <sup>3</sup>	1.0 × 10 <sup>3</sup>
<b>PCI</b>	5.0 × 10 <sup>2</sup>	1.0 × 10 <sup>3</sup>	5.0 × 10 <sup>3</sup>	1.0 × 10 <sup>3</sup>
<b>CTAB</b>	1.0 × 10 <sup>3</sup>	1.0 × 10 <sup>3</sup>	5.0 × 10 <sup>2</sup>	5.0 × 10 <sup>2</sup>

Z výsledkov vyplýva, že všetky použité metódy extrakcie je možné využiť na získanie amplifikovateľnej DNA vhodnej na detekciu metódou PCR. Detekčný limit extrakčných metód sa pohyboval v rozmedzí od 5x10<sup>3</sup> do 2,5x10<sup>2</sup> KTJ.g<sup>-1</sup> vzorky syra. Najnižší detekčný limit (2,5x10<sup>2</sup> – 5x10<sup>2</sup>) sa dosiahol komerčnými súpravami PowerFood Microbial DNA

Isolation Kit (MO BIO Labs.) a Dneasy Mericon Food (Qiagen). Pri oboch laboratórnych postupoch extrakcie (CTAB a PCI), ktoré sú časovo náročnejšie a pracné, sa dosiahli vyššie hodnoty detekčného limitu.

### ZÁVER

Priama detekcia patogénov v potravinách na základe nekultivačnej príprave vzorky, extrakcii DNA pomocou súprav a následnej amplifikácii DNA metódou real-time PCR predstavuje rýchlu a efektívnu detekciu patogénov v potravinách, pretože poskytujú výsledky do niekoľkých hodín. Naše výsledky potvrdzujú, že použitie komerčných súprav z hľadiska časovej náročnosti je výhodnejšie aj napriek vyšším finančným nákladom.

### LITERATÚRA

- Disson, O., Lecuit, M. 2012, Targeting of the central nervous system by *Listeria monocytogenes*. *Virulence*, 3, 213–221.
- Maertens de Noordhout, C., Devleeschauwer, B., Angulo, F. J., Verbeke, G., Haagsma, J., Kirk, M., Speybroeck, N. 2014, The global burden of listeriosis: A systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, 14, 1073–1082.
- Oevermann, A., Zurbriggen, A., Vandeveldel, M. 2010, Rhombencephalitis caused by *Listeria monocytogenes* in humans and ruminants: A Zoonosis on the rise? *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 632513.
- Oravcová, K., Kačíková, E., Krascenicsová, K., Pangallo, D., Brežná, B., Siekel, P., Kuchta, T. 2006, Detection and quantification of *Listeria monocytogenes* by 5'-nuclease polymerase chain reaction targeting the *actA* gene. *Letters in Applied Microbiology*, 42, 15–18.
- Phenol-Chloroform Isoamyl Alcohol (PCI) DNA Extraction [online]. [Modified from protocols by Barker et al (1998)] Available at: <http://hosted.usf.edu/eoimmunology/wp-content/uploads/2014/07/PCIextraction.pdf>
- Siegmán-Igra, Y., Levin, R., Weinberger, M., Golan, Y., Schwartz, D., Samra, Z., Shohat, T. 2002. *Listeria monocytogenes* infection in Israel and review of cases worldwide. *Emerging Infectious Diseases*, 8, 305–310.
- Stefánova, P. – Taseva, M. – Georgieva, T. – Gotcheva, V. – Angelov, A.: A modified CTAB method for the DNA extraction from soybean and meat products. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 27, 2013, 3803–3810.
- STN EN ISO 11290-1: 2018. Mikrobiológia potravinárskeho reťazca. Horizontálna metóda na dôkaz a stanovenie počtu baktérií *Listeria monocytogenes* a iných druhov *Listeria*. Časť 1: Metóda dôkazu. SÚTN, Bratislava.
- STN EN ISO 11290-2: 2018. Mikrobiológia potravinárskeho reťazca. Horizontálna metóda na dôkaz a stanovenie počtu baktérií *Listeria monocytogenes* a iných druhov *Listeria*. Časť 1: Metóda stanovenia počtu. SÚTN, Bratislava.
- Swaminathan, B. – Gerner-Smidt, P.: The epidemiology of human listeriosis. *Microbes and Infection*, 9, 2007, 1236–1243.

**Pod'akovanie:** Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-16-0119.

**Kontaktná adresa:** Mgr. Adriana Véghová, PhD., NPPC – Výskumný ústav potravinársky, Priemyselná 4, 824 75 Bratislava, e-mail: [veghova@vup.sk](mailto:veghova@vup.sk)

**ZLOŽENIE A FYZIKÁLNO-CHEMICKÉ VLASTNOSTI OVČIEHO MLIIEKA NA  
ZAČIATKU A KU KONCU PRODUKCIE ZRELEHO MLIIEKA  
COMPOSITION AND PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF OVINE MILK AT  
THE BEGINNING AND THE END OF THE MATURE MILK PRODUCTION**

*Lucia Zeleňáková, Margita Čanigová*

**Abstract:** The aim of the work was to analyse the composition and physicochemical properties of ovine milk, depending on the lactation phase. It was found, that milk sampling in May and in September, respectively (the first and the second part of the study) affected the quality parameters of milk. The measured average values of the individual components and physicochemical properties of ovine milk: fat content ( $8.40 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ), protein content ( $5.31 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ), non-fat dry matter content ( $11.22 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ), calcium content ( $210.72 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ), lactose content ( $5.03 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ), active acidity (6.60 pH), titration acidity ( $11.45 \text{ }^\circ\text{SH}$ ), rennetability 92 sec., density ( $1036.60 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ ), freezing point of milk ( $-0.692 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Milk with favorable cheese properties results in a higher mass yield of cheeses with their desired composition.

**Key words:** *ovine milk, composition, physico-chemical properties*

### ÚVOD

Kvalita mlieka je veľmi široký pojem, ktorý v sebe zahŕňa súbor výživových, zdravotných, zoohygienických, technologických, ekonomických i estetických požiadaviek. Pirisi et al. (2000) konštatujú, že kvalitu a zloženie mlieka ovplyvňujú faktory: genetické (plemeno, stádo, jedinec), fyziologické (fáza laktácie, vek, stav a zdravie) a tie, ktoré sa týkajú prostredia (výživa, klíma, sezóna, spôsob dojenia a pod.).

Ovčie mlieko v porovnaní s kravským obsahuje viac bielkovín, tuku i laktózy. Jeho charakteristická vôňa je spôsobená prítomnosťou špecifických mastných kyselín, ktoré sú súčasťou tuku. Charakteristické pre ovčie mlieko sú mastné kyseliny so stredným reťazcom. Pre ľahkú stráviteľnosť sa ovčie mlieko uplatňuje pri liečení chorôb tráviaceho traktu. Ovčie mlieko má vysoký obsah vápnika, zinku a jódu. Vyšší ako v kravskom mlieku je aj obsah horčíka a fosforu. Z vitamínov je v ovčom mlieku obzvlášť vysoký obsah vitamínov B<sub>1</sub> a B<sub>2</sub> (Nadelman et al., 2017). Bielkoviny ovčieho mlieka môžu podľa Michalcovej (2004) medzi 2. a 3. mesiacom laktácie vykazovať pokles, ktorý však súvisí s nedostatočnou výživou, prípadne kŕmením na paši a krmivom nezohľadňujúcim potreby energie na produkciu mlieka.

Špánik (2003) uvádza, že pri podvýžive oviec sa nedostatkom energie znižuje obsah bielkovín v mlieku a zvyšuje podiel močoviny. Mlieko potom vykazuje aj nízke hodnoty beztukovej sušiny, titračnej kyslosti, dochádza k zmenám veľkosti, štruktúry i vlastností kazeínových micel, k zhoršovaniu syriteľnosti mlieka, ako i k zhoršovaniu kysacej schopnosti a tepelnej stability.

Obsah tuku je najviac premenlivou zložkou mlieka a je ovplyvnený radou faktorov (napr. výživa a zloženie kŕmnej dávky, štádium laktácie, plemeno, vek zvierat, zdravotný stav a ochorenia mliečnej žľazy) (Samková et al., 2008; Herian, 2008). Kontová (2001) uvádza, že čím je vyšší obsah bielkovín v mlieku, tým je vyšší aj obsah tuku a k výrobe syra sa spotrebuje menej mlieka.

Koncentrácia laktózy v mlieku závisí od živočíšneho druhu i od plemena zvierat. Na jej množstvo pôsobia aj individuálne faktory, infekcia vemena a najmä fáza laktácie. Mastitída vyvoláva pokles sekrécie laktózy, čo následne spôsobuje zvýšenie hladiny NaCl v mlieku (Potočník et al., 2011). Laktóza spolu so sodíkom, draslíkom a iónmi chloridu sa podieľa na udržiavaní osmotického tlaku vo vemene. Zvýšenie alebo zníženie obsahu laktózy je kompenzované zvýšením alebo znížením obsahu rozpustných solí v mlieku (Kailasapathy,

2008). Michalcová (2004) uvádza, že najnižší obsah laktózy v ovčom mlieku sa zisťuje v období cicania jahniat a počas laktácie sa jej obsah čiastočne zvyšuje.

Podľa Nohálovej et al. (2008) patria minerálne látky k najmenej variabilným zložkám ovčieho mlieka. V ovčom mlieku v porovnaní s kravským mliekom sa nachádza viac fosforu, vápnika a horčíka. Obsah minerálnych látok nemá takú jasnú tendenciu vzostupu počas laktácie ako obsah sušiny, tuku, resp. bielkovín. Nájera et al. (2003) uvádzajú, že na začiatku laktácie je obsah minerálnych látok vyšší, potom klesá a ku koncu laktácie je znova na vzostupe. Bol spozorovaný i pokles obsahu vápnika a fosforu, čím dochádza v posledných mesiacoch laktácie k spomaľovaniu zrážania ovčieho mlieka syridlom. Prítomnosť minerálnych látok, najmä vápnika v mlieku, je veľmi dôležitá pre zrážanie mlieka syridlom pri výrobe syrov, spracovanie syroviny a tvorbu požadovaných senzorických vlastností vyzretého syra.

Medzi najdôležitejšie fyzikálno-chemické vlastnosti mlieka patrí: aktívna kyslosť (pH), titračná kyslosť, syriteľnosť, merná hmotnosť a teplota tuhnutia mlieka. Správna titračná kyslosť mlieka je dôležitá pre pôsobenie syridiel. Nižšie hodnoty titračnej kyslosti mlieka súvisia s nižším obsahom bielkovín v mlieku (Šustová, 2005).

Cieľom práce bolo porovnať základné zloženie a vlastnosti ovčieho mlieka v rôznej fáze laktácie a zhodnotiť možnosť jeho použitia pre výrobu syrov.

## MATERIÁL A METODIKA

Surové ovčie mlieko získané z malých fariem nachádzajúcich sa v Nitrianskom kraji bolo hneď po odbere uchovávané pri teplote 6 °C a následne analyzované s cieľom zhodnotiť a porovnať jeho základné kvalitatívne vlastnosti. Odbery a laboratórne analýzy boli uskutočnené v mesiaci máj (1. časť výskumu) a v mesiaci september (2. časť výskumu). Zloženie mlieka bolo stanovené na prístroji Lactoscan (*Milkotronic*, Bulharsko), ktorý pracuje na princípe merania rýchlosti šírenia sa ultrazvuku v mlieku. *Sledované parametre:*

- merná hmotnosť [ $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$ ]
- tuk [ $\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ]
- bielkoviny [ $\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ]
- laktóza [ $\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ]
- výpočtom stanovené minerálne látky [ $\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ]
- beztuková sušina [ $\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ]
- teplota tuhnutia mlieka [ $^{\circ}\text{C}$ ]

*Okrem toho sa v mlieku stanovovali:* obsah vápnika [ $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ] komplexometrickou titračnou metódou, syriteľnosť [s], titračná kyslosť mlieka [ $^{\circ}\text{SH}$ ] metódou podľa Soxhlet-Henkela a aktívna kyslosť mlieka pH metrom GRYF 209 L (*Gryf*, Česká republika) (Cvak et al., 1992).

Získané výsledky boli štatisticky spracované, pričom sa stanovili: aritmetický priemer ( $\bar{x}$ ),  $x_{\min}$ ,  $x_{\max}$ , smerodajná odchýlka ( $s_x$ ) a variačný koeficient ( $v\%$ ).

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Kvalitatívne ukazovatele ovčieho mlieka definuje STN 57 0510 (1995). Pri výrobe syrov je dôležité venovať pozornosť aj ďalším zložkám a vlastnostiam mlieka, ktoré môžu ovplyvniť ich kvalitu a výťažnosť výroby.

V tab. 1 a 2 sú uvedené výsledky a základné štatistické údaje zloženia a fyzikálno-chemických vlastností ovčieho mlieka, ktoré boli analyzované pre každú časť výskumu zvlášť. V týchto tabuľkách sa nachádzajú i minimálne hodnoty pre jednotlivé zložky predpísané normou pre surové ovčie mlieko, označené ako limity STN.

Ako vyplýva z tab. 1, obsah jednotlivých zložiek v ovčom mlieku sa líšil v závislosti od odberu.

Ovčie mlieko splnilo požiadavky na obsah bielkovín (najmenej  $4,8\text{ g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ ) v zmysle STN. V prvej časti výskumu (máj) sa zistilo priemerne  $4,95\text{ g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$  a v druhej časti (september)  $5,67\text{ g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$  bielkovín. Z výsledkov Klimešovej et al. (2016) taktiež vyplýva,

že vyšší obsah bielkovín v mlieku zistili v mesiaci september v porovnaní s obsahom bielkovín mlieka odobraného a analyzovaného v mesiaci máj.

Bziková (2010) analyzovala zmeny v zložení ovčieho mlieka odoberaného počas 6 mesiacov (od apríla do septembra) z dvoch fariem v Prešovskom kraji. Obsah bielkovín nepatrne kolísal počas prvej polovice laktácie, no do konca laktácie sa zvyšoval. Priemerný obsah bielkovín počas sledovaného obdobia dosiahol hodnotu  $5,26 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  na prvej farme a  $5,32 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  na druhej farme.

Priemerný obsah bielkovín v ovčom mlieku ( $5,31 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ) počas obidvoch častí výskumu bol o  $0,6 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  nižší ako ten, ktorý zaznamenali Michalcová a Krupová (2004). V bazénových vzorkách mlieka odoberaných v mesiacoch máj až august zo 7 podnikov zistili obsah bielkovín v rozsahu  $5,74 - 6,05 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ .

Margetín et al. (1996) udávajú priemerný obsah bielkovín počas dojenej sezóny oviec  $5,34 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , čo korešponduje aj s našimi výsledkami.

Ďalšou zložkou, ktorá bola v ovčom mlieku stanovovaná bol mliečny tuk. Z našich analýz vyplynulo, že v druhej časti výskumu bol obsah tuku v ovčom mlieku vyšší o  $2,19 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  (v prvej časti  $7,3 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , v druhej časti  $9,49 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ). Ovčie mlieko obsahovalo v priemere  $8,4 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  tuku. Miera variability vyjadrená vo variačnom koeficiente dosiahla hodnotu  $14,28 \%$ , čo bolo najviac zo sledovaných ukazovateľov týkajúcich sa zloženia mlieka. Aj napriek nižšiemu obsahu tuku v prvej časti výskumu, všetky vzorky ovčieho mlieka splnili požiadavky v zmysle STN (najmenej  $5,5 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  v ovčom mlieku).

Podľa Špánika (2002) sa obsah tuku v ovčom mlieku počas laktácie mení a môže sa pohybovať v rozmedzí  $3,3 - 12 \%$ . Kuchtík et al. (2002) sledovali zvyšujúce sa obsahy tuku v závislosti odo dňa laktácie, pričom najvyšší rozdiel medzi priemernými obsahmi tuku bol zaznamenaný v intervale medzi 40 a 75 dňom laktácie a v intervale medzi 181 a 248 dňom laktácie.

Laktóza, ktorá bola v rámci výskumu taktiež stanovovaná, má význam najmä ako zdroj energie. V ovčom mlieku bol vyšší obsah laktózy zaznamenaný ku koncu obdobia produkcie zrelého mlieka, pričom rozdiel medzi prvým a druhým odberom bol  $0,69 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Obsah laktózy býva v mlieku pomerne stály, čo dokazuje aj nízky variačný koeficient. Ten dosiahol hodnotu  $7,55 \%$ .

Priemerný obsah laktózy v ovčom mlieku dosiahol hodnotu  $5,03 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ . Nižší priemerný obsah laktózy v ovčom mlieku ( $4,9 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ) za laktačné obdobie zistili Michalcová a Krupová (2004). Podľa Raynal-Ljutovac et al. (2008) sa obsah laktózy v ovčom mlieku môže pohybovať v rozmedzí  $3,6 - 5,5 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ .

Beztuková sušina dosiahla v ovčom mlieku  $11,22 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , čo je nad stanoveným minimálnym obsahom BTS ( $9,5 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ) uvádzaným normou. Vyššie hodnoty beztukovej sušiny sa zistili v mesiaci september. Je to v súlade so zistením napr. Buceka et al. (2014), Klimešovej et al. (2016).

Rozpätie hodnôt obsahu BTS v ovčom mlieku uvádzajú jednotliví autori nasledovne:  $10,6 - 11,4 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  (Čapistrák et al., 1995),  $10,61 - 12,03 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  (Špánik et al., 1997) a  $10,67 - 11,61 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  (Ochodnický et al., 1999).

V ovčom mlieku sa zistil priemerný obsah vápnika  $184,36 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  (prvý odber) a  $237,07 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  (druhý odber).

Vo vzorkách ovčieho mlieka boli stanovené aj vybrané fyzikálno-chemické vlastnosti: aktívna kyslosť (pH), titračná kyslosť, syriteľnosť, merná hmotnosť a teplota tuhnutia mlieka. Priemerné namerané hodnoty sú uvedené v tab. 2.

Jediným ukazovateľom, ktorý počas obidvoch častí výskumu vykazoval minimálnu variabilitu bola merná hmotnosť (hustota). Priemerná hustota ovčieho mlieka bola  $1036,6 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ . Vyššie hodnoty boli zistené ku koncu produkcie zrelého mlieka, pričom rozdiel bol  $3,33 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ .



Tab. 1 Zloženie ovčieho mlieka

Časť výskumu	Ukazovateľ	Bielkoviny [g.100 g <sup>-1</sup> ]	Tuk [g.100 g <sup>-1</sup> ]	Laktóza [g.100 g <sup>-1</sup> ]	BTS [g.100 g <sup>-1</sup> ]	Minerálne látky [g.100 g <sup>-1</sup> ]	Ca <sup>2+</sup> [mg.100 g <sup>-1</sup> ]
Prvá časť výskumu	$\bar{x}$	4,95	7,30	4,69	10,45	0,80	184,36
Druhá časť výskumu	$\bar{x}$	5,67	9,49	5,38	11,98	0,92	237,07
Spolu	$\bar{x}$	5,31	8,40	5,03	11,22	0,86	210,72
	x <sub>min</sub>	4,94	7,29	4,69	10,45	0,80	181,05
	x <sub>max</sub>	5,68	9,51	5,38	11,99	0,92	238,15
	s <sub>x</sub>	0,40	1,20	0,38	0,84	0,07	13,82
	v [%]	7,53	14,28	7,55	7,49	8,14	6,55
Limit STN (57 0510)		najmenej 4,80	najmenej 5,50		najmenej 9,50		

Tab. 2 Fyzikálno-chemické vlastnosti ovčieho mlieka

Časť výskumu	Ukazovateľ	Aktívna kyslosť (pH)	Titračná kyslosť [°SH]	Syriteľnosť [s]	Merná hmotnosť [kg.m <sup>-3</sup> ]	Teplota tuhnutia [°C]
Prvá časť výskumu	$\bar{x}$	6,49	10,9	110	1034,94	-0,623
Druhá časť výskumu	$\bar{x}$	6,7	12	74	1038,27	-0,760
Spolu	$\bar{x}$	6,6	11,45	92	1036,6	-0,692
	x <sub>min</sub>	6,47	10,7	73	1034,93	-0,760
	x <sub>max</sub>	6,75	12,1	112	1038,29	-0,623
	s <sub>x</sub>	0,43	0,85	22,27	1,82	0,08
	v [%]	6,52	7,42	24,21	0,18	11,56
Limit STN (57 0510)			surové mlieko: najviac 12 pasterizované mlieko: najviac 13		najmenej 1033	

Ako konštatuje Zimák (1991), kolísanie hustoty v priebehu laktácie môže byť ovplyvnené samotným zložením ovčieho mlieka, lebo všetky zložky mlieka hustotu zvyšujú, len mliečny tuk ju znižuje. Foltys a Kirchnerová (2009) uvádzajú, že nižšia hustota zrejme súvisí aj s prídavkom vody. Pridaná voda v množstve 1 % znižujemernú hmotnosť asi o  $0,3 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ .

Pre surové ovčie mlieko sa meranie teploty tuhnutia v praxi zatiaľ nepoužíva, pretože neexistujú údaje, čo je normálna hodnota nezvodneného surového ovčieho mlieka. Priemerná hodnota teploty tuhnutia ovčieho mlieka našich vzoriek bola  $-0,692 \text{ }^\circ\text{C}$ . Janštová et al. (2013) zistili hodnotu teploty tuhnutia ovčieho mlieka v rozpätí od  $-0,560 \text{ }^\circ\text{C}$  až do  $-0,875 \text{ }^\circ\text{C}$ . Ešte vyšší rozptyl hodnôt teploty tuhnutia (od  $-0,360$  do  $-0,631 \text{ }^\circ\text{C}$ ) v porovnaní s našimi výsledkami uvádzajú Tomáška et al. (2015).

Naše výsledky týkajúce sa stanovenia titračnej kyslosti korešpondujú s konštatovaním Oravcovej et al. (2003). Títo uvádzajú, že titračná kyslosť ovčieho mlieka je vzhľadom na vyšší obsah bielkovín a minerálnych solí približne o 2 až  $3,2 \text{ }^\circ\text{SH}$  vyššia ako v kravskom mlieku.

Z výsledkov vyplynulo, že vyššie hodnoty titračnej kyslosti boli zaznamenané ku koncu produkcie zrelého ovčieho mlieka ( $12 \text{ }^\circ\text{SH}$ ), čo súvisí s vyšším obsahom bielkovín.

Priemerná hodnota titračnej kyslosti ovčieho mlieka dosiahla úroveň  $11,45 \text{ }^\circ\text{SH}$ , čo je o  $1,21 \text{ }^\circ\text{SH}$  viac, ako uvádzajú Špánik et al. (1997).

V porovnaní so sledovaním hodnôt titračnej kyslosti sa hodnotenie aktívnej kyslosti v praxi využíva menej často. Dôvodom je určitá pufrovacia kapacita mlieka, pH tak v začiatkoch presne nevyjadruje zmeny súvisiace s kyslosťou mlieka.

V ovčom mlieku sa aktívna kyslosť pohybovala v rozmedzí  $6,49 \text{ pH}$  (prvá časť výskumu) a  $6,7 \text{ pH}$  (druhá časť výskumu).

Syriteľnosť mlieka patrí medzi základné technologické vlastnosti mlieka. Vyjadruje jeho schopnosť zrážať sa syridlom a vytvárať zrazeninu požadovaných vlastností (Herian, 2010). Dobrá syriteľnosť (ku koagulácii mlieka dôjde za kratší čas) sa prejavuje na lepšej textúre vyrobeného syra a aj výťažnosti, ktorú ale vo väčšej miere ovplyvňuje obsah vápnika v ionizovanej forme a obsah bielkovín (Legarová a Kouřimská, 2007; Příbyla et al., 2008).

Syriteľnosť hodnotených vzoriek ovčieho mlieka logicky korešpondovala s výsledkami obsahu bielkovín, vápnika a nameranými hodnotami titračnej kyslosti. Po vykonaní skúšky syriteľnosti bola zistená lepšia syriteľnosť mlieka v druhej výskumnej časti ( $74 \text{ sekúnd}$ ). V prvej časti odberu vzoriek došlo ku koagulácii ovčieho mlieka za  $110 \text{ sekúnd}$ .

Z výsledkov zároveň vyplynulo, že syriteľnosť mlieka patrila medzi najvariabilnejšie ukazovatele, o čom svedčí hodnota variačného koeficientu ( $24,21 \%$ ). Môže to súvisieť so subjektivitou hodnotenia koagulácie mliečnych bielkovín.

## ZÁVER

Jasnú zmenu v zložení produkovaného mlieka možno pozorovať pri úzko sezónne spätých produkciách mlieka oviec, a to medzi začiatkom a koncom laktáčnej periódy. Získané výsledky dokazujú, že zloženie ovčieho mlieka okrem iných faktorov ovplyvňuje aj fáza laktácie a najmä produkcie zrelého mlieka, ktoré je určené na konzumáciu, resp. spracovanie na mliečne výrobky pre ľudí. Jednoznačne mlieko odobrané a analyzované v septembri malo vhodnejšie vlastnosti pre výrobu syrov.

Mlieko by malo vykazovať také chemické, fyzikálne, ale aj technologické vlastnosti, aby bolo vhodné pre výrobu syrov, pretože syrárske vlastnosti mlieka sa v konečnom dôsledku odrazia na výslednej kvalite produkovaných syrov. Mlieko s priaznivými syrárskymi vlastnosťami dáva predpoklad vyššej výťažnosti syrov s ich požadovaným zložením.

## LITERATÚRA

- Bucek, P., Kvapilík, J., Kolbl, M. et al. 2014. Ročenka chovu ovčí a koz v České republice za rok 2013.
- Bziková, Z. 2010. Hodnotenie kvality ovčieho mlieka a hrudkového syra. Diplomová práca. 65 s.
- Čapistrák, A., Margetín, M., Kališ, M. et al. 1995. Produkcia a zloženie ovčieho mlieka oviec plemena zošľachtená valaška počas dojenej periódy. In *Živočišna výroba*, 1995, roč. 40, s. 187–190.
- Foltys, V., Kirchnerová, Z. 2009. *Kvalita a zloženie surového kravského mlieka z pohľadu zdravej výživy ľudí*. Dostupné na internete:  
[http://www.agroporadenstvo.sk/potraviny/clanky/mlieko\\_vyziva.htm?start](http://www.agroporadenstvo.sk/potraviny/clanky/mlieko_vyziva.htm?start).
- Herian, K. 2010. Súčasný stav vo výrobe ovčích syrárskych špecialít. In *Bezpečnosť a kvalita mlieka – súčasné problémy“ : Medzinárodná vedecká konferencia. Hygiena alimentorum XXXI. Štrbské pleso : Vysoké Tatry*. 2010, s. 78–84. ISBN 978-80-8077-186-7.
- Janštová, B., Navrátilová, P., Králová, M. et al. 2013. The freezing point of raw and heat treated sheep milk and its variation during lactation. In *Acta Vet. Brno*, 2013, vol. 82, pp. 187-190.
- Kailasapathy, K. 2008. Chemical Composition, Physical and Functional Properties of Milk and Milk Ingredients. In *Dairy Processing and Quality Assurance*. B. m. : John Wiley & Sons. 2008, pp. 75–103. ISBN 978-0-8138-2756-8.
- Klimešová, M., Tomáška, M., Hofericová, M. Et al. 2016. Kvalita ovčieho mlieka a možný vývoj limitného ukazatele celkového počtu mikroorganizmů. In *Mlékařské listy*, 2016, vol. 27, no. 3, pp. 8–13.
- Kontová, M. 2001. Niektoré možnosti zabezpečenia štandardnosti a kvality syrov. In *Mliekarstvo*, 2001, roč. 32, č. 4, s. 14–17.
- Kuchník, J., Kašíková, I., Řezníčková, H. Et al. 2002. Specifika pastevního odchovu. Kvalita ovčieho mlieka při aplikaci polointenzivní výživy na bázi pastvy. In *Náš chov*, 2002, roč. 62, s. 1–2.
- Legarová, V., Kouřimská, L. 2007. Vplyv genetických variant kappa kazeínu na technologické vlastnosti mlieka. In *Bezpečnosť a kontrola potravín: Zborník prác z medzinárodnej vedeckej konferencie*. Nitra : SPU. 2007, s. 248–251.
- Margetín, M., Čapistrák, A., Špánik, J. et al. 1996. Somatické bunky mlieka oviec vo vzťahu k produkcii a zloženiu mlieka počas obdobia cicania a dojenia. In *Živočišna výroba*, 1996, č. 41, s. 543–550.
- Michalcová, A. 2004. Vplyvy pôsobiace na kvalitu ovčích a kozích syrov. In *Farmářská výroba sýrů a kysaných mléčných výrobků II.: Sborník referátů ze semináře s mezinárodní účastí*. Brno : Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. 2004, s. 18–21. ISBN 80-7157-868-1.
- Michalcová, A., Krupová, Z. 2004. Zmeny v kvalite ovčieho mlieka počas dojenej sezóny. In *Aktuálne problémy riešené v agrokomplexe [elektronický zdroj] : Zborník z X. medzinárodného vedeckého seminára*. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita. 2004, s. 368–376. ISBN 80-8069-448-6.
- Nadelman, P., Frazão, J. V., Vieira, T. I. et al. 2017. The performance of probiotic fermented sheep milk and ice cream sheep milk in inhibiting enamel mineral loss. In *Food Research International*, 2017, vol 97, pp. 184–190.
- Nájera, A. I., De Renobales, M., Barron, L. J. R. 2003. Effects of pH, temperature, CaCl<sub>2</sub> and enzyme concentrations on the rennet – clotting properties of milk. In *Food Chem.*, 2003, vol. 80, no. 3, pp. 345–352.
- Nakyinsige, K., Che Man, Y. B. , Sazili, A. Q. 2012. Halal authenticity issues in meat and meat products. In *Meat Science*, 2012, vol. 91, pp. 207–214.
- Nohálová, Z., Kramářová, D., Lazárková, Z. et al. 2008. Stanovení vitamínu B2 v mléce. In *Mléko a sýry : Výsledky přehlídek a sborník přednášek konference*. Praha: VŠCHT. 2008, s. 217–220. ISBN 978-80-7080-695-1.
- Obermaier, O., Čejna, V. 2013. *Jak poznáme kvalitu? Sýry a tvarohy*. Sdružení českých spotřebitelů. 2013. ISBN 978-80-87719-06-0.
- Ochodnický, D. 1999. Renesancia chovu oviec. In *Chovatel'*, roč. 1, 1999, č. 1, s. 16–17.
- Oravcová, M., Margetín, M., Machynová, A. et al. 2003. Vplyv faktorov prostredia na produkciu tuku a bielkovín oviec s využitím údajov o kontrolných nádojoch. In *J. Farm Animal Sci.*, 2003, pp. 83–89. ISBN 80-88872-36-7.
- Potočník, K., Gantner, V., Kuterovac, K. et al. 2011. Mare's milk: composition and protein fraction in comparison with different milk species. In *Mlékarstvo*, 2011, vol. 61, no. 2, pp. 107–113.
- Raynal-Ljutovac, K., Lagriffoul, G., Paccard, P. et al. 2008. Composition of goat and sheep milk products: An update. In *Small Ruminant Res.*, 2008, vol. 79, no 1, pp. 57–72.
- Pirisi, A., Sanna, A., Caria, A. 2000. Raw materials. Quality and Pricing. In *Bulletin of the International Dairy Federation: Proceeding of Development Strategy for the Sheep and Goat Dairy Sector*. IDF, 354/2000. pp. 12–19. ISSN 0250 – 51187.
- Příbyla, L., Čejna, V., Chládek, G. 2008. Variabilita syřitelnosti v bazénových vzorcích kravského mléka. In *Celostátní přehlídka sýrů: Výsledky přehlídek a sborník přednášek semináře mléko a sýry, 2008*. Praha : VŠCHT, s. 33–38. ISBN 978-80-7080-695-1.

- Samková, E., Pešek, M., Špiška, J. 2008 a. Vliv mléčného tuku na zdravotní stav konzumentů a možnosti ovlivnění jeho složení v prvovýrobě. In *Výrobní zemědělská praxe a potravinářské biotechnologické úpravy pro zvýraznění pozitivních zdravotních vlivů mléka a mléčných výrobků*. Rapotín: VÚCHS, 2008, s. 54–67.
- STN 57 0510. 1995. *Ovčie mlieko*.
- Špánik, J., Margetín M., Čapistrák, A. 1997. Zmeny v kvalite mlieka oviec počas laktácie. In: *Zborník referátov z konferencie s medzinárodnou účasťou usporiadanej pri príležitosti 50. výročia založenia VÚŽV*, Nitra, 1997, s. 157.
- Špánik, J. 2002. Kvalita ovčieho mlieka. In: *Perspektívy strojového dojenia oviec na Slovensku*, Nitra VÚŽV, 2002, s. 74–78, ISBN 80-88872-23-5.
- Špánik, J. 2003. Kvalita ovčieho mlieka. In *Chov oviec a kôz*, 2003, roč. 23, č. 1, s. 31– 32.
- Šustová, K. 2005. Problematika sýření mléka a syřidel. In *Farmářská výroba sýrů a kysaných mléčných výrobků II. : Sborník referátů ze semináře s mezinárodní účastí*. 2005, s. 3–6, ISBN 80-7157-868-1.
- Tomáška, M., Hofericová, M., Kološta, M. et al. 2015. Vzťah medzi teplotou tuhnutia a jej ekvivalentom u surového ovčieho mlieka. In *Zborník prác z medzinárodnej vedeckej konferencie Bezpečnosť a kontrola potravín*. Smolenice, s. 108–111.
- Zimák, E. 1991. Mliekarská technológia pre 3. ročník strednej priemyselnej školy potravinárskej, odbor Spracovanie mlieka. Bratislava: Alfa, 1991, 335 s. ISBN 80-05-682-9.

**PodĎakovanie:** Práca bola uskutočnená aj vďaka finančnej podpore projektu APVV-16-0244.

**Kontaktná adresa:** doc. Ing. Lucia Zeleňáková, PhD., Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, FBP, SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 949 76 Nitra. E – mail: [lucia.zelenakova@uniag.sk](mailto:lucia.zelenakova@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](mailto:Margita.Canigova@uniag.sk)

**SEKCIA 6: Bezpečnosť a kontrola mäsa a mäsových výrobkov**

# ANALÝZA VYBRANÝCH UKAZOVATEĽOV TUKOVÉHO PROFILU HOVÄDZIEHO, JAHŇACIEHO A KURČACIEHO MÄSA ANALYSIS OF SELECTED FAT PROFILE INDICATORS IN BEEF, LAMB AND CHICKEN MEAT

*Mária Angelovičová, Michaela Klimentová, Marek Angelovič*

**Abstract:** The purpose of this study was chemical analysis of thigh muscles on some indicators of the fat profile of selected livestock species. The fat in livestock is an important component both for the consumer in terms of choice of both food and health. Thigh muscles for chemical analysis were sampled from cattle, lamb and broiler chickens reared on the farms in Slovakia. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) was used for chemical analysis of thigh muscle samples. Sample measurements were performed using a Nicolet 6700 instrument. An infrared area near to middle was selected to determine fat, cholesterol and fatty acids. The measured values from the chemical analysis were processed using ANOVA SAS software, version 9.3. The fat content was in the range from 0.52 (cattle) to 1.98 g. 100 g<sup>-1</sup> (broiler chickens) and cholesterol from 0.0325, 0.033, resp. (cattle/broiler chickens) to 0.048 g. 100 g<sup>-1</sup> (lamb). The proportion of saturated fatty acids was in the range from 35.92 (cattle) to 39.11% (broiler chickens), monounsaturated fatty acids from 48.71 (cattle) to 52.15% (broiler chickens) and polyunsaturated fatty acids from 8.74 (broiler chickens) to 13.35% (lamb) with a ratio between omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids was in the range from 1 : 15.06 (broiler chickens) to 1 : 22.27 (cattle; 1 : 18.12 at lamb).

**Keywords:** thigh muscle, livestock, fat, cholesterol, fatty acids

## ÚVOD

Tuky sú bohatým zdrojom energie. Poskytujú vitamíny rozpustné v tukoch a tiež esenciálne mastné kyseliny. Zloženie mastných kyselín je dané ich osobitným zastúpením. Je známe, že na hladinu cholesterolu v krvi majú určité mastné kyseliny rôzny účinok (Williamson et al., 2005).

Významnú funkciu pri vytváraní vzhľadu a textúry mäsa má druh a kvalita tuku. Chuť, energetická a výživová hodnota mäsa je ovplyvňovaná tukmi, ktoré sú zdrojom esenciálnych mastných kyselín a v tukoch rozpustných vitamínov (A, D, E, K). Na základe stráviteľnosti živín, vzájomného pomeru určitých druhov mastných kyselín, podľa podielu esenciálnych mastných kyselín, cholesterolu a vitamínov rozpustných v tukoch sa posudzuje biologická hodnota tukov (Jurkovičovej et al., 2008).

Podiel tukov závisí aj od výberu jednotlivých častí jatočného tela zvierat'a, ktoré majú relatívne množstvo podkožného a intermuskulárneho tukového tkaniva (Haščík et al., 2011).

Tuky počas zrenia, starnutia mäsa (*post mortem*) a taktiež aj skladovania podliehajú zmenám, pričom ich význam je závislý od zloženia mastných kyselín v mäse. Týmito zmenami sú negatívne ovplyvňované sensorické vlastnosti mäsa (napr. chuť a farba) a tiež aj nutričné vlastnosti. Množstvo ako aj zloženie tuku v mäse vo veľkej miere závisí od druhu mäsa a tiež z akej časti zabitého zvierat'a pochádza. V závislosti od kŕmenia sa obsah a tiež aj zloženie tuku mäsa môže výrazne odlišovať, a to aj v rámci jedného druhu jatočného zvierat'a. Čo sa týka zloženia mastných kyselín je najmenej výhodný tuk hovädzieho mäsa a naopak tuk hydiny je najvýhodnejší (Lawrie a Ledward, 2006a; 2006b).

Z pohľadu množstva tuku všeobecne neplatia veľmi rozšírené informácie, že biele mäso (hydínové) je menej tučné ako červené mäso (napr. hovädzie, jahňacie) (Dostálová et al., 2005).

Pre spotrebiteľov predstavujú tuky vysoký zdroj energie, asi dvojnásobne viac ako sacharidy a bielkoviny. Denný príjem energie získaný z tuku mäsa predstavuje približne

25 %. Tuk by mal celkovo tvoriť z denného energetického príjmu iba 30 %. Vysoký podiel nasýtených mastných kyselín predstavuje práve tuk z mäsa (Staruch a Pipek, 2008).

Tuk pri senzorických vlastnostiach mäsa zohráva podstatne významnú úlohu, pretože je zdrojom takmer vysokého podielu aromatických látok, a taktiež ovplyvňuje chuť a vôňu mäsa (Haščík et al., 2013).

Kvalita mäsa sa zhoršuje v dôsledku tukovej oxidácie. Mení sa chuť a farba mäsa, a tiež sa znižuje množstvo vody. Polynenasýtené mastné kyseliny sú počas oxidácie tukov menia, pričom sa mení aj chuť mäsa, zapáchajúce zmeny. Proces oxidácie stúpa aj pri jeho nevhodne zvolenom spôsobe skladovania (Shahidi, 2011).

Angelovič et al. (2015) konštatujú, že mechanizmus oxidačnej degradácie môže byť auto-oxidáciou za prítomnosti atmosférického kyslíka.

V ostatnom období sa čoraz viac prejavuje záujem spotrebiteľov o hodnotu obsahu cholesterolu a tiež mastných kyselín vo výrobkoch z kuracieho mäsa. Dôvodom sú srdcovocievne choroby, ktoré úzko súvisia s prijímaním cholesterolu a nasýtených mastných kyselín. Je potrebné, aby sa konzumenti vrátili k strave s vyrovnaným množstvom mastných kyselín a zníženým podielom cholesterolu (Salma et al., 2007).

Predmetom výskumov vždy boli, a aj zostávajú diétne stratégie, ktorých cieľom je dosiahnuť zníženie príjmu nasýtených mastných kyselín a zvýšenie obsahu mastných kyselín mononenasýtených a polynenasýtených v produktoch živočíšneho pôvodu, ktoré sú určené pre spotrebiteľa potravín (Mourot, 2009; Shingfield et al., 2013).

Mäso prežúvavcov má zložitejší mechanizmus tvorby mastných kyselín ako mäso neprežúvavcov, pretože má vyššie zastúpenie trans-mastných kyselín, mastných kyselín s nepárnym počtom atómov, mastných kyselín s rozvetveným reťazcom, ako aj mastných kyselín s konjugovanými dvojitými väzbami. Tvorba takýchto mastných kyselín je na základe enzýmovej aktivity mikroorganizmov v bachore prežúvavcov, ktoré rozkladajú mastné kyseliny z krmiva a štruktúrne zložky rastlín, pričom vznikne viacero produktov, z ktorých iba niektoré sa absorbujú cez tenké črevo a hromadia sa v tukoch živočíšnych tkanív (Krvavica et al., 2013).

V nadväznosti na uvedený literárny prehľad môžeme konštatovať, že tuk v mäse hospodárskych zvierat predstavuje významnú zložku jednak pre spotrebiteľa z aspektu výberu druhu potravín ale aj zdravia. Cieľom našej práce boli chemické analýzy stehnovej svaloviny niektorých ukazovateľov tukového profilu vybraných druhov hospodárskych zvierat.

## MATERIÁL A METODIKA

### Vzorkovanie mäsa

Na chemický rozbor boli odobraté vzorky svaloviny hovädzieho dobytká, jahňatá a brojlerových kurčiat z fariem chovu na Slovensku.

Vzorky svaloviny hovädzieho stehna boli získané z farmy SHR Čačová Angela, ktorá sa nachádza pod Levočskými vrchmi. Na chemickú analýzu bolo použitých náhodne odobratých 6 ks vzoriek zo stehna plemena Limousine, ktoré sú odchovávané pri matke čím najdlhšie, t. j. dlhšie ako je tradičný odstav teliat 8 týždňov. Svalovina bola analyzovaná z jedinca samčieho pohlavia zabitého vo veku 9 mesiacov. Býky boli kŕmené stabilnou dennou dávkou na báze sena, trávnej siláže a doplnkovej jadrovej zmesi.

Vzorky svaloviny jahňacieho stehna boli získané z farmy chovu oviec Bajer Agro spol. s r. o., ktorá sa nachádza pod Levočskými vrchmi. Na chemickú analýzu bolo použitých náhodne odobratých 6 ks vzoriek zo stehna plemena Cigája, ktoré boli odstavené spôsobom tradičného neskorého odstavu vo veku 35 dní. Svalovina bola analyzovaná z jedinca samčieho pohlavia zabitého vo veku 210 dní. Jahňatá boli kŕmené spásaním pasienkového porastu.

Vzorky kurčacích stehien boli získané z Hydinárskej farmy Zámotie, a. s., pod Chopkom. Na chemickú analýzu bolo použitých náhodne vybraných 6 ks stehien finálneho

hybrida Ross 308, zabitého vo veku 41 dní. Brojlerové kurčatá boli kŕmené komerčnými kŕmnymi zmesami určenými pre výkrm kurčiat.

Príprava vzoriek na chemickú analýzu

Na chemickú analýzu bolo pripravených 6 vzoriek zo stehennej svaloviny, 1 ks hovädzieho dobytká, 6 vzoriek zo stehennej svaloviny 1 ks jahňat'a a 6 vzoriek zo stehennej svaloviny 6 ks brojlerových kurčiat. Stehenná svalovina bola pred prípravou vzoriek bez kostí a kože a postupovalo sa v súlade s AOAC 983.18. Stehenná svalovina bola pomletá pomocou laboratórneho homogenizátora. Z každej vzorky bolo navážených 50,0 g na chemickú analýzu.

### Chemická analýza

Infračervená spektroskopia s Fourierovou transformáciou (FTIR) bola použitá na chemickú analýzu vzoriek stehennej svaloviny. Meranie vzoriek sa vykonalo pomocou prístroja Nicolet 6700. Pre určenie tuku, cholesterolu a mastných nasýtených bola zvolená infračervená oblasť blízka strednej.

### Štatistická analýza

Namerané hodnoty z chemickej analýzy boli spracované pomocou postupov ANOVA softvéru SAS (verzia 9.3, SAS Institute Inc., USA, 2008). Priemerné hodnoty ( $\bar{x}$ ), štandardná odchýlka (SD) a variačný koeficient (cv) sú uvedené v tabuľkách.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

### Obsah tuku a cholesterolu v stehennej svalovine hovädzieho dobytká, jahňat'a a brojlerových kurčiat

Tabuľka 1 Priemerný obsah tuku a cholesterolu v stehennej svalovine hovädzieho dobytká, jahňat'a a brojlerových kurčiat a štatistické vyhodnotenie

Ukazovateľ	n	$\bar{x}$	s	$v_k$ , %
Stehenná svalovina hovädzieho dobytká				
Tuk, g.100 g <sup>-1</sup>	6	0,52	0,18	34,61
Cholesterol, g.100 g <sup>-1</sup>	6	0,0325	0,004	12,31
Stehenná svalovina jahňat'a				
Tuk, g.100 g <sup>-1</sup>	6	1,75	0,48	27,43
Cholesterol, g.100 g <sup>-1</sup>	6	0,048	0,007	14,58
Stehenná svalovina brojlerových kurčiat				
Tuk, g.100 g <sup>-1</sup>	6	1,98	0,37	18,69
Cholesterol, g.100 g <sup>-1</sup>	6	0,033	0,012	3,64

$\bar{x}$  – aritmetický priemer, s – smerodajná odchýlka,  $v_k$  – variačný koeficient

Priemerný obsah tuku v stehennej svalovine bol rozdielny pri sledovaní vzoriek získaných z rozličných druhov hospodárskych zvierat. Najnižší priemerný obsah tuku bol zaznamenaný v stehennej svalovine hovädzieho dobytká 0,52 g.100 g<sup>-1</sup> a najvyšší v stehennej svalovine brojlerových kurčiat 1,98 g.100 g<sup>-1</sup>. Tejto vyššej hodnote sa priblížil aj obsah tuku sledovaný v stehennej svalovine jahňat'a. Podľa nameraných hodnôt obsahu tuku pri chemickej analýze bolo najväčšie kolísanie pri stehennej svalovine hovädzieho dobytká ( $v_k = 34,61$  %) a najnižšie pri stehennej svalovine brojlerových kurčiat ( $v_k = 3,64$  %).

Na základe tuku, cholesterolu a obsahu železa sú mäso často široko kategorizované na červené (medzi ktoré patrí hovädzie, jahňacie a i.) alebo biele (napr. kurčacie a i.) mäso (Micha et al., 2013). Obsah tuku v mäse je veľmi variabilný v závislosti od druhu, pôvodu,



rezu a kŕmneho systému (Pereira a Vicente, 2013; Ivanovic et al., 2012). V ostatných rokoch sa mnohé štúdie zamerali na zlepšenie zloženia tuku v mäse a zvýšenie podielu omega-3 mastných kyselín v dôsledku výživy zvierat. Prínosné účinky omega-3 polynenasýtené mastných kyselín sú dobre zdokumentované. Na jednej strane, môže mať tuk negatívny vplyv na ľudské zdravie, ale na druhej strane tuk prispieva k chuti a výživovej hodnote, čo sú dva dôležité kvalitatívne vlastnosti mäsa (Givens et al., 2006).

Priemerný obsah cholesterolu v stehennej svalovine bol takmer rovnaký v stehennej svalovine hovädzieho dobytku  $0,0325 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  a brojlerových kurčiat ( $0,033 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ ) a zvýšený na  $0,048 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  v stehennej svalovine jahňat'a. Podľa nameraných hodnôt obsahu cholesterolu pri chemickej analýze bolo takmer rovnaké kolísanie pri stehennej svalovine hovädzieho dobytku ( $v_k = 12,31 \%$ ) a jahňat'a ( $v_k = 14,58 \%$ ) a nízke pri stehennej svalovine brojlerových kurčiat ( $v_k = 3,64 \%$ ). Simopoulos (2002, 2004) uvádza, že koronárne ochorenie srdca a arterioskleróza patria medzi najdôležitejšie príčiny úmrtnosti u ľudí a sú silne spojené s príjmom cholesterolu a nasýtených mastných kyselín v potravinách. Celkový počet vedeckých dôkazov a experimentálnych údajov však neoveril hypotézu, že diétny cholesterol zvyšuje cholesterol v krvi, a tým zvyšuje riziko kardiovaskulárnych ochorení. Hu et al. (2010) konštatujú, že zvýšený príjem cholesterolu v potravinách (exogénny) je spojený so zníženou syntézou endogénneho *de novo* cholesterolu, pravdepodobne ako kompenzačného mechanizmu, ktorý udržiava cholesterolovú homeostázu konštantnú.

### Podiel nasýtených, mononenasýtených a polynenasýtených mastných kyselín z celkového obsahu mastných kyselín v tuku stehennej svaloviny hovädzieho dobytku, jahňat'a a brojlerových kurčiat

Tabuľka 1 Priemerný podiel nasýtených, mononenasýtených a polynenasýtených mastných kyselín z celkového obsahu mastných kyselín v tuku stehennej svaloviny hovädzieho dobytku, jahňat'a a brojlerových kurčiat a štatistické vyhodnotenie

Ukazovateľ	n	$\bar{x}$	s	$v_k, \%$
Stehenná svalovina hovädzieho dobytku				
Nasýtené mastné kyseliny, %	6	35,92	1,04	2,89
Mononenasýtené mastné kyseliny, %	6	48,71	0,67	1,37
Polynenasýtené mastné kyseliny, $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$	6	12,99	0,51	3,93
Stehenná svalovina jahňat'a				
Nasýtené mastné kyseliny, $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$	6	37,53	1,41	3,76
Mononenasýtené mastné kyseliny, $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$	6	49,12	1,23	2,50
Polynenasýtené mastné kyseliny, $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$	6	13,35	1,43	10,71
Stehenná svalovina brojlerových kurčiat				
Nasýtené mastné kyseliny, $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$	6	39,11	1,19	3,04
Mononenasýtené mastné kyseliny, $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$	6	52,15	1,63	3,13
Polynenasýtené mastné kyseliny, $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$	6	8,74	1,27	14,53

$\bar{x}$  – aritmetický priemer, s – smerodajná odchýlka,  $v_k$  – variačný koeficient

Štatistickým vyhodnotením výsledkov podielu nasýtených, mononenasýtených a polynenasýtených mastných kyselín z celkového obsahu mastných kyselín v tuku stehennej svaloviny sledovaných druhov hospodárskych zvierat bolo zistené, že ich priemerné hodnoty boli porovnateľné pri hovädzom dobytku (35,92 % nasýtené, 48,71 % mononenasýtené a 12,99 % polynenasýtené mastné kyseliny) a jahňati (37,53 % nasýtené, 49,12 % mononenasýtené a 13,35 % polynenasýtené mastné kyseliny). Pri brojlerových kurčatách bol

zistený zvýšený podiel nasýtených (39,11 %) a mononenasýtených mastných kyselín (52,15 %) a znížený podiel polynenasýtených mastných kyselín (8,74 %) z celkového obsahu mastných kyselín v tuku v porovnaní s tými istými mastnými kyselinami v tuku stehennej svaloviny hovädzieho dobytku a jahňata. Podľa nameraných hodnôt podielu skúmaných mastných kyselín pri chemickej analýze bolo pri polynenasýtených mastných kyselinách v tuku stehennej svaloviny pri všetkých sledovaných druhoch hospodárskych zvierat ( $v_k = 3,93$  % hovädzí dobytok,  $v_k = 10,71$  % jahňa a  $v_k = 14,53$  % brojlerové kurčatá) oproti nasýteným alebo mononenasýteným mastným kyselinám. V mnohých publikovaných prácach sú uvedené stratégie kŕmenia hospodárskych zvierat, či sú to prežúvavce alebo neprežúvavce, ktoré smerujú k znižovaniu nasýtených mastných kyselín a zvýšeniu polynenasýtených mastných kyselín, najmä v sérii omega-3 a konjugovanej kyseliny linolovej v živočíšnych produktoch (Wood et al., 2008; Woods a Fearon, 2009). Bolo potvrdené, že diétny príjem nenasýtených mastných kyselín znižuje riziko kardiovaskulárnych ochorení a pravdepodobne aj výskyt niektorých druhov rakoviny, astmy a cukrovky. Potraviny živočíšneho pôvodu boli podrobené kritike z aspektu ich vysokého obsahu nasýtených mastných kyselín, ktoré poškodzujú zdravie (Woods a Fearon, 2009). Podľa meta-analýzy prospektívnych pozorovacích štúdií (Siri-Tarino et al., 2010, de Souza et al., 2015) je známe, že príjem nasýtených mastných kyselín nie je spojený s kardiovaskulárnymi chorobami ani úmrtnosťou na mŕtvicu alebo infarkt myokardu. Namiesto toho bol znížený príjem nasýtených mastných kyselín, ktorý bol nahradený *cis*-polynenasýtenými mastnými kyselinami, spojený so 17% nižším rizikom kardiovaskulárnych príhod (Jakobsen et al., 2009), čo bolo potvrdené randomizovanými kontrolovanými štúdiami (Mozaffarian et al., 2010; Hooper et al., 2015). Problematika mastných kyselín je veľmi zložitá a naďalej otvorenou pre výskum v budúcnosti.

### **Pomer medzi omega-3 a omega-6 polynenasýtenými mastnými kyselinami v tuku stehennej svaloviny hovädzieho dobytku, jahňata a brojlerových kurčiat**

**Tabuľka 1** Priemerná hodnota medzi omega-3 a omega-6 polynenasýtenými mastnými kyselinami v tuku stehennej svaloviny hovädzieho dobytku, jahňata a brojlerových kurčiat a štatistické vyhodnotenie

Ukazovateľ	n	$\bar{x}$	s	$v_k$ , %
Stehenná svalovina hovädzieho dobytku				
Omega-3 : omega-6 polynenasýteným mastným kyselinám	12	1 : 22,27	0,06	10,71
Stehenná svalovina jahňata				
Omega-3 : omega-6 polynenasýteným mastným kyselinám	12	1 : 18,12	1,51	8,33
Stehenná svalovina brojlerových kurčiat				
Omega-3 : omega-6 polynenasýteným mastným kyselinám	12	1 : 15,06	2,81	18,66

$\bar{x}$  – aritmetický priemer, s – smerodajná odchýlka,  $v_k$  – variačný koeficient

Najužší pomer medzi omega-3 a omega-6 polynenasýtenými mastnými kyselinami bol zistený pri svalovine brojlerových kurčiat (1 : 15,06) a najširší pri svalovine hovädzieho dobytku (1 : 22,27). Podľa vypočítaných hodnôt pomeru medzi omega-3 a omega-6 polynenasýtenými mastnými kyselinami bolo najväčšie kolísanie pri stehennej svalovine brojlerových kurčiat ( $v_k = 18,66$  %) a najnižšie pri stehennej svalovine jahňata ( $v_k = 8,33$  %). Givens a Gibbs (2006) usúdili pri exaktnom skúmaní úlohy mäsa ako zdroja omega-3 polynenasýtených

masných kyselín v ľudskej strave, že prínos mäsa k príjmu týchto výhodných masných kyselín v potravinách by mohol byť zvýšený obohatením krmiva hospodárskych zvierat.

## ZÁVER

Výsledky zo sledovania vybraných ukazovateľov tukového profilu hovädzieho, jahňacieho a kurčacieho mäsa môžu pomôcť spotrebiteľom ako informácia z hľadiska výberu potravín a ochrany zdravia. Problematika masných kyselín je vysoko aktuálnou témou na výskum a odbornú diskusiu hlavne vo vzťahu k čoraz častejšie sa vyskytujúcim civilizačným ochoreniam v ostatných rokoch.

## LITERATÚRA

- Angelovič, M., Jablonický, J., Tkáč, Z., Angelovič, M. 2015. Oxidative Stability of Fatty Acid Alkyl Esters: a review. In *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 9, no. 1, pp. 417-426. Dostupné na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuproc.2009.06.009>
- AOAC 983.18. AOAC 983.18-1983 Meat and Meat Products – Preparation of Test Sample Procedure.
- de Souza, R. J., Mente, A., Maroleanu, A., Cozma, A. I. et al. 2015. Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of observational studies. In *BMJ*, vol. 351, h3978. doi: 10.1136/bmj.h3978
- Dostalova J., Hruby S., Turek B. 2005. Konečne znění vyživovych doporučení. In *Výživa a potraviny*, vol. 60, pp. 25-26.
- Givens, D. I., Gibbs, R. A. 2006. Very long chain n-3 polyunsaturated fatty acids in the food chain in the UK and the potential of animal-derived foods to increase intake. Review Paper. In *British Journal of Nutrition Bulletin*, vol. 31, pp. 104-110.
- Givens, D. I., Kliem, K. E., Gibbs, R. A. 2006. Therole of meat as a source of n-3 polyunsaturated fatty acids in the human diet. In *Meat Science*, vol. 74, pp. 209-218.
- Haščík, P., Müller, M., Pavelková, A., Kačániová, M., Čuboň, J., Benczová, E., Habánová, M., Mihok, M., Garlík, J. 2011. Chemical structure of european bison *musculus longissimus dorsi* at different stages of age. In *Potravinárstvo*, vol. 5, no. 2, pp. 17. ISSN 1338-0230. doi: 10.5219/129
- Haščík, P., Elimam, I., Garlík, J., Kačániová, M., Čuboň, J., Bobko, M., Vavrišinová, K., Arpášová, H. 2013. The effect of bee pollen as dietary supplement on meat chemical composition for broiler Ross 308. In *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, vol. 61, no. 1, pp. 71-76.
- Hooper, L., Martin, N., Abdelhamid, A., Davey Smith, G. 2015. Reduction in saturated fat intake for cardiovascular disease. In *Cochrane Database of Systematic Reviews*, vol. 6, CD011737. doi: 10.1002/14651858.CD011737.
- Hu, Y. W., Zheng, L., Wang, Q. 2010. Regulation of cholesterol homeostasis by liver X receptors. In *Clinica Chimica Acta*, vol. 411, pp. 617-625. doi: 10.1016/j.cca.2009.12.027
- Ivanovic, S., Teodorovic, V., Baltic, Z. M. 2012. *Kvalitet mesa – bioske i hemijske opasnosti, Prvo izd.* Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Naučna KMD.
- Jakobsen, M. U., O'reilly, E. J., Heitmann, B. L., Pereira, M. A. et al. 2009. Major types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a pooled analysis of 11 cohort studies. In *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 89, pp.1425-1432.
- Jurkovičová, J., Z. Štefániková, Z., Ševčíková, E. 2008. Význam tukov vo výžive človeka. In *Životné Prostredie*, vol. 42, no. 4, pp. 194-198.
- Krvavica, M., Kegalji, A., Đugum, J., 2013. Masti i masne kiseline ovčjeg mesa. In *Meso – The first Croatian meat journal*, vol. 15, no. 2, pp. 111-121.
- Micha, R., Michas, G., Mozaffarian, D. 2013. Unprocessed Red and Processed Meats and Risk of Coronary Artery Disease and Type 2 Diabetes – an Updated Review of the Evidence. In *Current Atherosclerosis Reports*, vol. 14, no. 6, pp. 515-524. doi: 10.1007/s11883-012-0282-8
- Mozaffarian, D., Micha, R., Wallace, S. 2010. Effects on coronary heart disease of increasing polyunsaturated fat in place of saturated fat: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. In *PLOS Medicine*, vol. 7, e1000252. doi: 10.1371/journal.pmed.1000252
- Lawrie, R., Ledward, D. 2006a. The conversion of muscle to meat. *Lawrie's Meat Science*. Cambridge, UK : Woodhead Publishing Limited. pp. 128-156.
- Lawrie, R., Ledward, D. 2006b. The eating quality of meat. *Lawrie's Meat Science*. Cambridge, UK : Woodhead Publishing Limited. pp. 279-341.
- Mourot, J. 2009. *Optimising the nutritional and sensorial profile of pork*. In KERRY, J. P., LEDWARD, D.: *Improving the Sensory and Nutritional Quality of Fresh Meat*. Cambridge, UK : Woodhead Publishing Limited. pp. 342-355.

- Pereira, P. M. D. C. C., Vicente, A. F. D. R. B. 2013. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. In *Meat Science*, vol. 93, pp. 586-592.
- Salma, U., Miah, A. G., Maki, T., Nishimura, M., Tsujii, H. 2007. Effect of Dietary *Rhodobacter capsulatus* on Cholesterol Concentration and Fatty Acid Composition in Broiler Meat. In *Poultry Science*, vol. 89, no. 9, pp. 1920-1926. ISSN 0032-5791.
- Sas, 2008. 9.3 Enhanced Logging Facilities. [Computer software]. Cary, NC : SAS Institute Inc.
- Shahidi, F. 2011. Assessment of lipid oxidation and off- flavor development in meat and meat products. *Flavor of meat and meat products*. London, U.K. : Chapman & Hall, 2011, pp. 247-266.
- Shingfield, K. J., Bonnet, M., Scollan, N. D. 2013. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. In *Animal*, vol. 7, no. 1, pp. 132-162.
- Simopoulos, A. P. 2002. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. In *Journal of the American College of Nutrition*, vol. 21, no. 6, pp. 495-505.
- Simopoulos, A. P. 2004. Omega-6/omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. In *Food Reviews International*, vol. 20, pp. 77-90.
- Siri-Tarino, P. W., Sun, Q., Hu, F. B., Krauss, R. M. 2010. Meta-analysis of prospective cohort studies evaluating the association of saturated fat with cardiovascular disease. In *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 91, pp. 535-546.
- Staruch, L., Pipek, P. 2008. Nutričné Postavenie Mäsa Vo Výžive. In *Mäso*, Roč. 19, Č. 1, S. 52-58.
- Williamson, C. S., Foster, R. K., S. A. Stanner, S. A., Buttriss, J. L. 2005. Red meat in the diet. In *Nutrition Bulletin*, vol. 30, pp. 323-355. <https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2005.00525.x>
- Wood, J. D., Enser, M., Fisher, A. V., Nute, G. R., Sheard, P. R., Richardson, R. I. 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: a review In *Meat Science*, vol. 78, pp. 343-358.
- Woods, V. B., Fearon, E. A. 2009 Dietary sources of unsaturated fatty acids for animals and their transfer into meat, milk and eggs: a review. In *Livestock Science*, vol. 126, pp. 1-20.

**Kontaktná adresa:** prof. Ing. Mária Angelovičová, CSc., KHBP, FBP, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2 949 76 Nitra, e-mail: maria.angelovicovaniag.sk  
Ing. Michaela Klimentová, KHBP, FBP, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2 949 76 Nitra, e-supermys0@gmail.com  
doc. Ing. Marek Angelovič, PhD., KSVS, TF, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2 949 76 Nitra, e-mail: marek.angelovic.sk

# ÚČINOK PRÍDAVKU BIOFERMENTOVANÉHO KRMIVA NA PROFIL MASTNÝCH KYSELÍN A ROZKLADNÉ ZMENY SVALOVINY BROJLEROVÝCH KURČIAT

## EFFECT OF REFERMENTED CEREAL FEED ON FATTY ACID PROFILE AND DEGRADATION CHANGES IN BROILER MEAT

*Martin Bartkovský, Slavomír Marcinčák, Jozef Nagy, Peter Turek, Tatiana Klempová, Milan Čertík, Marek Hudák*

**Abstract:** Composition of fatty acids of monogastric animals body fat is significantly influenced by the fatty acid composition of feed. Enrichment of fermented cereals with polyunsaturated fatty acids into commercial feeds is therefore promising way of increasing the content of these essential fatty acid within the animals such as broiler chicken. The aim of this work was to analyse effect of addition of 10 % (w/w) fermented cereals into commercial broiler feed on fatty acid profile, chemical composition and stability of chicken meat fat. Statistically significant ( $p < 0.05$ ) was change in n3/n6 fatty acid ratio ( $9,09 \pm 0,99^b$ ) before heat treatment ( $8,98 \pm 0,88^b$ ) in experimental group.

**Key words:** broiler, fatty acid, meat, quality

### ÚVOD

Zaznamenávame stále zvyšujúci sa 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. Chovatelia a producenti sa stále snažia o 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-krmivárskeho hľadiska je preto zaujímavá produkcia PNMK založená na procese polosuchých kultivácií nižších vláknitých húb. Atraktivnosť týchto kultivácií spočíva vo využívaní ľahko dostupných substrátov na báze odpadových produktov z poľnohospodárskej a potravinárskej výroby (otruby, kukuričný šrot). Okrem produkcie PNMK ako sú napr. kyselina gama-linolénová (GLA), dihomogama-linolénová (DGLA), arachidónová (ARA), prítomné nižšie vláknité huby (napr. rody *Cunninghamella*, *Mortierella*, *Thamnidium*) svojou fermentačnou činnosťou eliminujú činnosť antinutričných látok (Čertík, 2013). V predchádzajúcich experimentoch sme potvrdili, 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 prsnej a stehennej svaloviny (chemické zloženie vrátane profilu mastných kyselín pred tepelnou úpravou svaloviny a rozkladné zmeny tukovej zložky brojlerových kurčiat.

### MATERIÁL A METODIKA

V experimente sa použilo 80 kusov hybridu COBB 500. Kurčatá boli rozdelené na kontrolnú a experimentálnu skupinu (40 ks), ktoré dostávali krmivo obohatené o PNMK. V tomto experimente bol použitý kmeň *Mortierella alpina* CCF 2861 ako producent kyseliny arachidónovej (ARA) a eikozapentaenovej (EPA). Na prípravu suspenzie spór, ktorá bola inokulovaná substrátom SSF, sa *M. alpina* CCF 2861 kultivovala počas 10 dní na ryži. Po 10 dňoch sa spóry premyli destilovanou vodou s 0,05 % Tween 80 a prefiltrovali sa cez gázu, aby sa odstránil pevný substrát. Takto pripravená suspenzia spór sa zriedila na koncentráciu  $2 \times 10^5$  spór / ml. Ako substrát sme použili pšeničné otruby na ktoré bol pre produkciu

kyseliny eikozapentaenovej nanosený ľanový olej v koncentrácii 1 % . Kontrolná skupina bola kŕmená štandardnými kŕmnymi zmesami po dobu podávania (42 dní). Experimentálna skupina (fermentované krmivo) bola kŕmená BR1, BR2, BR3 a od 10. dňa výkrmu bola doplnená 10 % podielom fermentovaného krmiva pričom bola štandardná dávka o dané množstvo znížená. Kurčatá mali prístup k vode *ad libitum* a krmivo im bolo podávané 2x denne (ráno/večer). 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 Čertíka, a i. (2008). Oxidácia tukov vo svalovine bola stanovená pomocou metódy tiobarbiturového čísla (TBA) podľa Marcinčáka, a i. (2004).

### VÝSLEDKY A DISKUSIA

V rámci experimentu boli vykonané analýzy mäsa zamerané na obsah mastných kyselín (najmä PNMK). Výsledky analýz stehennej a prsnej svaloviny sú uvedené tabuľke 1.

**Tabuľka 1 Podiel mastných kyselín v stehennej a prsnej svalovine pred tepelným opracovaním**

Mastné kyseliny (%)	Stehno		Prsia	
	K	PS	K	PS
C16:0, PA	16,84± 1,80 <sup>b</sup>	19,95 <sup>a</sup> ± 2,01	19,47±0,91	18,10±2,09
C18:0, SA	12,00 ± 1,43	13,00 ± 0,38	0,35±0,07	0,33±0,009
C18:1-9c, OA	31,00 ± 1,53 <sup>a</sup>	26,45 ± 0,44 <sup>b</sup>	2,96±0,45	2,78±0,44
C18:1-11c, VA	3,60 ± 0,22	3,22 ± 0,41	11,45±0,70	11,28±0,30
C18:2, LA	18,71 ± 0,79 <sup>a</sup>	20,81 ± 0,36 <sup>b</sup>	29,06±1,42	29,14±1,86
C18:3, GLA	0,01 ± 0,006	0,13 ± 0,03	4,12±0,11	3,60±0,7
C18:3, ALA	0,807 ± 0,10	1,02 ± 0,19	17,92±1,48	19,50±1,19
C20:3,DGLA	1,19 ± 0,24	0,78 ± 0,28	0,12±0,02	0,16±0,02
C20:4, ARA	6,57 ± 0,96	6,70 ± 1,10	0,723±0,08	1,078±0,135
C20:5, EPA	0,47 ± 0,15 <sup>a</sup>	0,27 ± 0,10 <sup>b</sup>	0,145±0,01	0,15±0,006
C22:5, DPA	0,27 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,20 ± 0,09 <sup>b</sup>	0,54±0,03	0,64±0,03
C22:6, DHA	0,94 ± 0,22 <sup>a</sup>	0,69 ± 0,17 <sup>b</sup>	0,71±0,12	0,43±0,039
∑NaMK	29,43 ± 0,45	33,64 ± 2,26	1,81±0,31	1,63±0,19
∑NeMK	70,57 ± 1,08 <sup>a</sup>	66,36 ± 0,22 <sup>b</sup>	6,40±0,63	6,43±1,44
∑PNMK n-3	3,39 ± 0,69	3,19 ± 0,46	0,12±0,01	0,206±0,08
∑PNMK n-6	26,84 ± 1,75	28,62 ± 1,72	0,11±0,02	0,102±0,007
Pomer n-6/n-3	8,20 ± 1,42 <sup>a</sup>	9,09± 0,99 <sup>b</sup>	0,63±0,081	0,518±0,04

K – kontrolná skupina , PS – pokusná skupina; NaMK – nasýtené mastné kyseliny, NeMK – nenasýtené mastné kyseliny, PNMK – polynenasýtené mastné kyseliny, <sup>a,b</sup>–štatisticky významný rozdiel v porovnaní s kontrolou platí samostatne pre stehno a pre stehno po tepelnom opracovaní,  $P < 0,05$ .

V Tab.2 je uvedené chemické zloženie stehennej a prsnej svaloviny. Môžeme pozorovať štatisticky významné zmeny v množstve sušiny, tuku a vody, pričom ich obsah mal u stehennej svaloviny znižujúci sa charakter. U prsnej svaloviny sme zistili zvýšenie u množstva sušiny, tuku a najmä bielkovín.

**Tabuľka 2 Chemické zloženie stehennej a prsnej svaloviny**

Stehno	Sušina	Tuk	Voda	Bielkoviny
<b>Kontrola</b>	31,13±0,19 <sup>a</sup>	13,00±0,35 <sup>a</sup>	68,87±0,19 <sup>b</sup>	18,32±0,27
<b>PS</b>	27,74±0,12 <sup>b</sup>	9,04±0,46 <sup>b</sup>	72,26±0,12 <sup>a</sup>	18,35±0,11
<b>Prsia</b>				
<b>Kontrola</b>	25,40±0,40 <sup>b</sup>	9,60±0,30	74,6±0,40 <sup>a</sup>	22,99±0,27 <sup>a</sup>
<b>PS</b>	27,74±0,12 <sup>a</sup>	9,04±0,46	72,26±0,12 <sup>b</sup>	18,35±0,11 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> – hodnoty s rozdielnym označením v slúpci sú štatisticky rozdielne ( $P < 0,05$ ). PS - pokusná skupina

Účinok fermentovaného bioproduktu skrmovaného hydine na rozkladné zmeny tukov mäsa (vyjadreného ako množstvo malónďaldehydu) počas skladovania 7 dní v chladničke je uvedený v tabuľke 3. Z výsledkov vyplýva, že množstvo rozkladných produktov oxidácie tukov v mäse bolo skrmovaním fermentovaného produktu v množstve 10 % štatisticky ovplyvnené a oxidačná stabilita mäsa nižšia v porovnaní s kontrolnou skupinou. Dôsledkom je zvýšený príjem PNMK, ktoré ľahšie podliehajú oxidačným zmenám. Z výsledkov vyplýva, že sme potvrdili náchylnosť PNMK k oxidácii a teda skrmovaním daného fermentovaného krmiva dochádza k rýchlejšiemu priebehu rozkladných zmien tukov.

**Tabuľka 3 Rozkladné zmeny stehennej a prsnej svaloviny vyjadrené ako množstvo Malónďaldehydu**

Stehno	1. deň	7. deň
<b>Kontrola</b>	0,079±0,07 <sup>a</sup>	0,327±0,03 <sup>a</sup>
<b>PS</b>	0,065±0,02 <sup>b</sup>	0,305±0,02 <sup>b</sup>
<b>Prsia</b>		
<b>Kontrola</b>	0,063±0,01 <sup>b</sup>	0,186±0,02 <sup>a</sup>
<b>PS</b>	0,178±0,17 <sup>a</sup>	0,179±0,01 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> – hodnoty s rozdielnym označením v slúpci sú štatisticky rozdielne ( $P < 0,05$ ), PS - pokusná skupina

## ZÁVER

Skrmovanie prefermentovaného bioproduktu, získaného z mlynárskych odpadov, v dávke 10 % ovplyvnilo zloženie profilu mastných kyselín v stehennej a prsnej svalovine kurčiat. Výsledky potvrdzujú, že skrmovaním prefementovaného bioproduktu hydine je možné ovplyvňovať podiel významných mastných kyselín.

## 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 crotheneb *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.

**Pod'akovanie:** Realizácia experimentu bola finančne podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-14-0397

**Kontaktná adresa:** Mgr. Martin Bartkovský, prof. MVDr. Peter Turek, PhD., prof. MVDr. Jozef Nagy, PhD., 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, SR  
MVDr. Marek Hudák: Katedra výživy a dietetiky, UUVLF Košice  
Ing. Tatiana Klempová, PhD., doc. Ing. Milan Čertík, PhD.: Ústav biotechnológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU Bratislava, Radlinského 9, Bratislava.

**VPLYV APLIKÁCIE EXTRAKTU HROZNOVÝCH SEMIEN NA  
OXIDAČNÚ STABILITU A SENZORICKÚ KVALITU MÄSOVÉHO  
VÝROBKU**  
**THE INFLUENCE OF APPLICATION OF GRAPE SEED EXTRACT ON  
OXIDATIVE STABILITY AND SENSORY QUALITY OF MEAT  
PRODUCT**

*Marek Bobko, Miroslav Kročko, Jana Tkáčová, Alica Bobková, Andrea Mendelová,  
Eubomír Belej, Jozef Čurlej, Silvia Jakobová*

**Abstract:** The aim of this work was monitoring of influence of added grape seeds extracts, variants Dunaj and Frankovka modra in amount of 15 ml per one kilogram of raw cooked meat product on oxidation stability. Oxidation stability in raw cooked meat product was indicated by amount of malondialdehyde ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) at 1st, 4th, 7th and 10th day of storage. Concentration of malondialdehyde at samples of raw cooked meat product was determined by TBA method. The best results were recorded after evaluation as well as the lowest amount of malondialdehyde ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) as a fissionable derivative during oxidation of fats at the first tested group Dunaj, which refers to 0,118 ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) on the last day. Maximum quantity of 0,129 ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) MDA was determined for reference sample on the last day of storage. Evaluating sensory quality of products we can state that sensory indicators were equal for each sample. Based on the results of oxidative stability of raw cooked meat product we can state that added grape seeds extracts positively influenced the oxidative stability of fats during storage of the product.

**Keywords:** grape seed extract, oxidation stability, malondialdehyde

## ÚVOD

Oxidácia lipidov a s ňou pôsobiace zmeny patria medzi hlavné príčiny zníženia výslednej kvality produktu. Oxidácia tukov má vplyv na kvalitu mäsových výrobkov, kde dochádza k zmenám, napr. farby, textúry, chuti, konzistencie (Mielink et al., 2006). Okrem zhoršenia kvality negatívny účinok oxidácie lipidov vedie k tvorbe voľných radikálov, ktoré sa podieľajú na ochoreniach a množstve porúch zahŕňajúcich rakovinu, artritídu, aterosklerózu, Alzheimerovu chorobu a diabetes. Na zabránenie oxidácii lipidov v mäsových výrobkoch je možné použiť syntetické antioxidanty. Avšak syntetické antioxidanty, ako je butylhydroxyanizol a butylhydroxytolón majú obmedzené použitie v potravinách (Baydar et al., 2007). V súčasnosti je trendom využívanie prírodných antioxidantov pred syntetickými. K prírodným antioxidantom, ktoré sa aplikujú do potravín, patria antioxidanty získané z rastlinných materiálov. Tieto antioxidanty nielen priaznivo pôsobia na oxidáciu tukovej zložky, ale taktiež ovplyvňujú aj chuťový profil vyrábaného produktu. Flavonoidy, najsilnejšie antioxidačné zlúčeniny rastlinných fenolických látok sa vyskytujú v zelenine, ovocí, bobuliach, bylinkách a čajových listoch (Wrolstad a Skrede, 2002). Vysoký antioxidačný potenciál má aj hrozno, resp. odpadové produkty pri produkcii vína. Na európskej úrovni je produkcia hroznových výliskov približne 8 miliónov ton ročne (Burg et al., 2014). Významnú časť hroznového výlisku tvorí semeno hrozna (Maier, 2009). Hroznové semená majú silnú antioxidačnú schopnosť vďaka vysokému obsahu polyfenolových zlúčenín. Polyfenolové zlúčeniny v semenách hrozna sú v rozmedzí 60-70 %, v šupke 28-35% a v plodoch iba 10 % (Nawaz et al., 2006). V posledných rokoch sa výrazne zvýšil dopyt po používaní prírodných antioxidantov, akým aj extrakt z hroznových semien, ktorý obsahuje proantokyandíny, inhibujú oxidačné reakcie tým, že sú oxidované sami (Sanchez-Moreno et al., 1999). Fenolické látky v hroznových semenách sa pohybujú od 80 % do 99 %, z ktorých najdôležitejší je resveratrol. Na základe zistení mnohých výskumov (Guerra-Rivas et al., 2016, Brenes et al., 2016) bolo preukázané, že aplikácia hroznových semien má pozitívny



účinok na zlepšenie jatočnej výťažnosti kurčiat a oxidačnej stability mäsových výrobkov, produkciu vajec (Kara a Kocaoglu-Guclu, 2012). Cieľom tejto štúdie bolo určiť vplyv aplikácie extraktu hroznových semien odrôd Dunaj, Frankovka modrá, Cabernet Sauvignon do diela mäkkého mäsového výrobku na oxidačnú stabilitu mäkkého mäsového výrobku skladovaného pri teplote 4 °C.

## MATERIÁL A METODIKA

### Výroba mäkkého mäsového výrobku

Mäkký mäsový výrobok sme vyrobili z bravčového mäsa, ktoré sme zomleli na rezačke s otvormi 5 mm. Po zomletí sme k dielu pridali kutrovací prípravok, soliacu zmes, čierne a nové korenie, vodu, pálivú papriku, sladkú papriku a cesnakovú pastu. Bravčové mäso spolu s prídavnými látkami sme kutrovali päť minút na jemné pojivé dielo. Mäsové dielo sme plnili do baraních čriev o priemere 22 mm. Po naplnení sme mäsový výrobok následne údili a tepelne opracovali, pre dosiahnutie teploty najmenej 70 °C vo všetkých častiach výrobku počas doby 10 minút. Následne sme mäkký mäsový výrobok ochladili na teplotu 4 °C. Na získanie výsledkov sme vyrobili 4 skupiny mäkkých mäsových výrobkov:

- kontrolná skupina (KS) – bez prídavku extraktu,
- 1. pokusná skupina (1. PS) - 15 ml extraktu hroznových semien odrody Dunaj,
- 2. pokusná skupina (2. PS) - 15 ml extraktu hroznových semien odrody Frankovka modrá.

### Príprava hroznových extraktov

Získanie extraktu z hroznových semien bolo realizované podľa postupu (Shirahige et al., 2010). Homogenizované hroznové semená (20 g) sa nechali v trepačke premiešať v sklenenej banke a pridalo sa do banky ešte 100 ml 80 % etanolu a nechalo sa po dobu 24 hodín v tmavom prostredí odležať pri izbovej teplote. Následne sa kvapalná fáza oddelí od tuhej fázy filtráciou. Do odmernej banky sme pridali filtrát a ten sa doplnil do 100 ml 80 % etanolom. Tekutá frakcia sa následne vo vákuovej rotačnej odparke odparovala pri 65 °C. Odvážený suchý zvyšok sa opäť rozpustil v 50 ml vody. Získaný extrakt sa následne aplikoval do diela mäkkého mäsového výrobku v objeme 10 ml na 1 kg mäsového diela.

### Stanovenie oxidačnej stability

Na stanovenie oxidačnej stability mäsového výrobku sme použili metodiku podľa Marcínčáka et al. (2010), pričom absorbanca vzoriek bola meraná pomocou UV-VIS spektrofotometra (Jenway UV-VIS) pri vlnovej dĺžke 532 nm s vyjadrením výsledkov množstvom MDA ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Analýzu mäkkého mäsového výrobku na posúdenie priebehu oxidačných zmien sme realizovali na (1., 4., 7., 10. deň skladovania).

### Hodnotenie senzorickej kvality

Senzorickú kvalitu mäsového výrobku sme sledovali a hodnotili na štvrtý deň skladovania za účasti päťčlenného senzorickeho panelu. V zmysle legislatívnych požiadaviek na hodnotenie senzorickej kvality mäsových výrobkov sme sledovali nasledovné ukazovatele senzorickej kvality: povrchový vzhľad a farba, vzhľad a farba nákroja, konzistencia, vôňa a chuť za použitia 5 - bodového systému.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Oxidácia lipidov v mäse a mäsových výrobkoch je komplexný proces, ktorého dynamika závisí od mnohých faktorov vrátane chemického zloženia, prístupu k svetlu a kyslíku, skladovacej teploty a doby skladovania. Technologické operácie pri výrobe mäsových výrobkov spôsobujú degradáciu svalového membránového systému a majú silný vplyv na oxidáciu tukovej zložky mäsového výrobku (Karakaya et al., 2011). Tepelné

opracovanie urýchľuje oxidačné procesy, čo významne ovplyvňuje hodnotu MDA. Výsledky oxidačnej stability mäkkého mäsového výrobku počas 10 dňového chladiarenského uskladnenia pri teplote +4 °C sú uvedené v tabuľke č. 1

**Tabuľka č. 1** Oxidačná stabilita mäsového výrobku v jednotlivých sledovaných dňoch experimentu (MDA v mg.kg<sup>-1</sup>)

		Deň skladovania			
		1.deň	4.deň	7.deň	10.deň
KS	x	<b>0,103</b>	<b>0,113</b>	<b>0,121</b>	<b>0,129</b>
	S.D.	0,003	0,002	0,002	0,006
1. PS	x	<b>0,094</b>	<b>0,108</b>	<b>0,114</b>	<b>0,118</b>
	S.D.	0,001	0,004	0,012	0,011
2. PS	x	<b>0,103</b>	<b>0,107</b>	<b>0,115</b>	<b>0,122</b>
	S.D.	0,005	0,007	0,001	0,010

Poznámka: x - aritmetický priemer, S.D. = smerodajná odchýlka, KS - kontrolná skupina (mäsový výrobok bez prídavku extraktu), 1.PS - 10 ml extraktu hroznových semien odrody Dunaj, 2. PS - 10 ml extraktu hroznových semien odrody Frankovka modrá.

Na konci skladovania (10. deň) sme zaznamenali v oboch pokusných skupinách s prídavkami extraktov hroznových semien jednotlivých odrôd vyššiu oxidačnú stabilitu a teda nižšiu hodnotu MDA v porovnaní s kontrolnou skupinou bez prídavku extraktov, u ktorej bola zaznamenaná najvyššia produkcia MDA (0,129 mg.kg<sup>-1</sup>). Z pokusných skupín s prídavkom rozdielnych extraktov hroznových semien sme zaznamenali najvyššiu mieru oxidačnej stability v pokusnej skupine s prídavkom extraktu odrody Dunaj (0,118 mg.kg<sup>-1</sup>). Obsah MDA v pokusnej skupine s prídavkom hroznového extraktu odrody Frankovka modrá na konci doby chladiarenského uskladnenia bol 0,122 mg.kg<sup>-1</sup>. Dosiahnuté výsledky realizovaného experimentu poukazujú na vyššiu mieru oxidačnej stability po aplikácii prírodných antioxidantov formou extraktu hroznových semien a sú v súlade so zisteniami Özvural a Vural (2013) a Ryu et al. (2014), ktorí zhodne zistili zvýšenie oxidačnej stability v mäsovéch výrobkoch po aplikácii prírodných antioxidantov.

**Tabuľka č. 2** Bodové hodnotenie jednotlivých ukazovateľov senzorickej kvality (x±S.D.)

Ukazovateľ	KS	1.PS	2.PS
povrchový vzhľad a farba	4,62±0,47	4,62±0,55	4,43±0,47
vzhľad a farba nákroja	4,77±0,26	4,57±0,43	4,62±0,47
konzistencia	4,87±0,25	4,70±0,24	4,82±0,23
vôňa	4,82±0,23	4,75±0,28	4,62±0,25
chuť	4,25±0,20	4,47±0,49	4,55±0,30

KS - kontrolná skupina (mäsový výrobok bez prídavku extraktu), 1.PS - 10 ml extraktu hroznových semien odrody Dunaj, 2. PS - 10 ml extraktu hroznových semien odrody Frankovka modrá.

Hodnotením senzorickej kvality sme zistili, že senzorické ukazovatele vo všetkých sledovaných skupinách boli vyrovnané. Rozdiely medzi pokusnými skupinami s prídavkom extraktu hroznových semien a kontrolnou skupinou bez prídavku extraktov hroznových semien boli minimálne. Pri hodnotení najdôležitejších ukazovateľov zo spotrebiteľského hľadiska vône a chuti sme pri hodnotení vône zaznamenali vyššiu senzorickej kvality pri kontrolnej skupine a naopak pri hodnotení chute sme zaznamenali vyššie priemerné hodnoty v pokusných skupinách s prídavkom extraktu hroznových semien (**Tab. 2**).

## ZÁVER

Na základe dosiahnutých výsledkov oxidačnej stability mäkkého mäsového výrobku po 10 dňovom chladiarenskom uskladnení pri teplote 4 °C môžeme odporučiť ako najvhodnejšie použitie prírodných antioxidantov do diela mäsového výrobku vo forme extraktu hroznových semien odrôd Dunaj a Frankovka modrá na zvýšenie oxidačnej stability a tým aj predĺženia skladovateľnosti mäsového výrobku pri zabezpečení požadovanej senzorickej kvality mäsového výrobku.

## LITERATÚRA

- Baydar, N. G., Özkan, G., Yasar, S. 2007. Evaluation of the antiradical and antioxidant potential of grape extracts. In *Food Control*, vol. 18, no. 9, p. 1131-1136.
- Brenes, A., Viveros, A., Chamorro, S., Arija, I. 2016. Use of polyphenol-rich grape by-products in monogastric nutrition. A review. In *Animal Feed Science and Technology*, vol. 211, p. 1-17.
- Burg, P., Dědina, M., Hejtmankova, A., Hejtmankova, K., Jelinek, A., Lachman, J., Lipavsky, J., Mašan, V., Pivec, V., Skala, O., Střalkova, R., Taborsky, J., Zemanek, P. 2014. The study of biologically active compounds in grapevine seeds and annual shoots and possibilities obtaining oil from the seeds. Brno : Mendelova univerzita v Brně, 2014, 1st ed., 93 p. ISBN 978-80-7509-165-9.
- Guerra-Rivas, C., Vieira, C., Rubio, B., Martínez, B., Gallardo, B., Mantecón, A. R., Lavín, P., Manso, T. 2016. Effects of grape pomace in growing lamb diets compared with vitamin E and grape seed extract on meat shelf life. In *Meat Science*, vol. 116, p. 221-229.
- Kara, K., Kocaoglu-Guclu, B. 2012. The Effects of Different Molting Methods and Supplementation of Grape Pomace to the Diet of Molted Hens on Postmolt Performance, Egg Quality and Peroxidation of Egg Lipids. In *Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University*, vol. 9, p. 183-196.
- Karakaya, M., Bayrak, E., Ulusoy, K. 2011. Use of natural antioxidants in meat and meat products. In *Journal of Food Science and Engineering*, vol. 1, p. 1-10.
- Maier, T., Schieber, A., Kammerer, D. R., Carle, R. 2009. Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as valuable source of phenolic antioxidants. In *Food Chemistry*, vol. 112, no. 3, p. 551-559.
- Marcinčák, S., Popelka, P., Šimková, J., Marcinčáková, D., Martonová, M. 2010. Oxidative stability of chilled chicken meat after feeding of selected plants. In *Potravinárstvo*, vol. 4, no. 3, p. 46-49.
- Mielink, M. B., Olsen, E., Vogt, G., Adeline, D., Skrede, G. 2006. Grape seed extract as antioxidant in cook, cold store turkey meat. In *LWT - Food Science and Technology*, vol. 39, no. 3, p. 191-198.
- Nawaz, H., Shi, J., Mittal, G. S., Kakuda, Y. 2006. Extraction of polyphenols from grape seeds and concentration by ultrafiltration. In *Separation and Purification Technology*, vol. 48, no. 2, p. 176-181.
- Özvural, E. B., Vural, H. (2011). Grape seed flour is a viable ingredient to improve the nutritional profile and reduce lipid oxidation of frankfurters. In *Meat Science*, vol. 88, no. 1, p. 179-183.
- Özvural, E. B., Vural, H. 2013. Which is the best grape seed additive for frankfurters: extract, oil or flour? In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 94, no. 4, p. 792-797.
- Ryu, K. S., Shim, K. S., Shin, D. 2014. Effect of Grape Pomace Powder Addition on TBARS and Color of Cooked Pork Sausages during Storage. In *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, vol. 34, no. 2, p. 200-206.
- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. A., Saura-Calixto, F. 1999. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wine, grape juices and related polyphenolic constituents. In *Food Research International*, vol. 32, no. 6, p. 407-412.
- Shirahigue, L. D., Plata-Oviedo, M., De Alencar, S. M., D'arce, M. A. B. R., De Souza Vieira, T. M. F., Oldoni, T. L. C., Contreras-Castillo, C. J. 2010. Wine industry residue as antioxidant in cooked chicken meat. In *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 45, no. 5, p. 863-870.
- Skrede, G., Wrolstad, R. 2002. Flavonoids from Berries and Grapes. In: Shi J, Mazza G, eds. *Functional Foods: Vol 2. Biochemical and Processing Aspects*. Boca Raton. FL: CRC Press; 2002: 71-133.

**Pod'akovanie:** Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-17-0508.

**Kontaktná adresa:** doc. Ing. Marek Bobko, PhD., Katedra hodnotenia a spracovania živočíšnych produktov, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, SPU v Nitre. Tr. A. Hlinku 2, 949 01 Nitra. Email:marek.bobko@uniag.sk

# POSÚDENIE TEXTURÁLNEHO PROFILU SPIŠSKÝCH PÁRKOV FALŠOVANÝCH PRÍDAVKOM KURACIEHO MÄSA INSTRUMENTAL TEXTURE EVALUATION OF SPISSKE FRANKFURTERS COUNTERFEID BY CHICKEN MEAT

*Jozef Čurlej, Lubomír Belej, Marek Bobko, Silvia Jakobová, Alica Bobková, Jozef Golian*

**Abstract:** The aim of this study was to analyse the texture of frankfurters based on the traditional recipe for Spisske frankfurters but with the targeted addition of chicken meat to the final portion of one, two and three percent. Firmness and Work of shear were analysed before and after the product was heated. The highest average values in both parameters were identified in the case of a product with 1 % of chicken meat before and after the heat treatment (31,163N vs. 26,533N; 269,264N.s<sup>-1</sup> vs 274,216N.s<sup>-1</sup> before or after heating). The subsequent statistical analysis reveal several significant differences between the evaluated samples.

**Keywords:** Spisske frankfurters, Chicken meat, Firmness, Work of shear

## ÚVOD

Spotrebiteľia sa čoraz viac zaujímajú o prepojenie zdravia a stravovacích návykov z hľadiska kvality potravín, ktoré ponúka potravinársky priemysel, najmä mäso a mäsové výrobky s vysokou nutričnou hodnotou definovanou obsahom bielkovín (Sousa et al., 2017). Na trhu sa ponúka široké spektrum mäsových produktov od rôznych producentov, s rôznym deklarovaným zložením a za rôznu predajnú cenu. Medzi populárnu kategóriu tejto skupiny výrobkov patria párky. Tieto emulgované mäsové výrobky sa radia medzi obľúbené produkty po celom svete kvôli ich rýchlej a ľahkej príprave (Sousa et al., 2017). V ponuke je široké portfólio, ktorého cenová politika odzrkadľuje finančnú náročnosť produkcie, definovanú samotným zložením výrobku, či tradíciou výroby. V tejto súvislosti sa konzumenti čoraz viac zameriavajú pri svojej voľbe na potraviny s vyššou prídavnou hodnotou, vo vzťahu k ich pôvodu, či v neposlednom rade nutričnou hodnotou zakúpeného produktu aj napriek vyššej cene. Zloženie párkov ponúkaných na trhu je rozmanité, v ich zložení sa vyskytuje bravčové mäso, hovädzie mäso, hydina, viacero prísad, ako napr. fosfáty a ďalšie zložky. Okrem uvedeného, pri výrobe sa do týchto produktov pridávajú tuky (Abdolghafour a Saghir, 2015). Ďalej sa využíva široká škála proteínov, akými sú škrob, rastlinné proteíny, mliečne proteíny, antioxidanty a podobne (Tarté, 2009; Abdolghafour a Saghir, 2015) v závislosti od konkrétneho produktu. Ďalším využívaným proteínom je kolagén, ktorý zlepšuje senzorické vlastnosti, zvyšuje schopnosť zadržiavať vodu (Prabhu et al. 2004) a zvyšuje obsah proteínov (Sousa et al., 2017). Kolagén, hlavný proteín kože sa počas tepelnej úpravy stáva želatínou. Želatína sa bežne používa napríklad vo varených klobásach kvôli zlepšeniu ich tuhosti (Feiner 2006).

Avšak, aj napriek zavedenému systému kontrol nad potravinami uvádzanými na trh sa objavujú prípady úmyselného, či neúmyselného falšovania výrobkov, medzi ktoré spadajú aj produkty z kategórie tých, ktoré sú držiteľom označenia zaručene tradičná špecialita, z čoho vyplýva nutnosť presného dodržiavania receptúry aj s ohľadom na zabezpečenie dostatočnej prevencie náhodnej kontaminácie finálneho výrobku.

Na posúdenie testovaných potravín existuje viacero prístupov zameraných na stanovenie fyzikálnych, chemických a v neposlednom rade biologických propozícií (proteínový resp. DNA profil). Z hodnotenia fyzikálnych vlastností, ktoré sa odvíjajú od samotného zloženia výrobku a reflektujú následné vnímanie potraviny spotrebiteľom sa v poslednej dobe čoraz viac dostávajú do popredia inštrumentálne analýzy textúry. Tieto prístupy hodnotenia predstavujú krok k objektivizácii výsledkov, v prípade zabezpečenia

štandardných podmienok merania. Textúra potravín je definovaná ako všetky reologické a štrukturálne (geometrické aj povrchové) vlastnosti produktu, ktoré sú vnímané mechanickými, hmatovými a ak je to možné, tak aj zrakovými a sluchovými receptormi (Lawless a Heymann, 1999).

Nosnou myšlienkou prípravy nami hodnotených výrobkov so zámerným pridaním kuracieho mäsa bola identifikácia citlivosti DNA čipov pre záchyt aj malých množstiev iných druhov mias v zložení, ako stanovuje receptúra pre výrobu tradičnej špeciality Spišské párky. Doplnkovým a zároveň hlavným cieľom tejto práce bolo identifikovanie možných zmien v textúre, so zameraním na hodnotenie tuhosti a práce v strihu, cestou inštrumentálnej analýzy Warner – Bratzlerovým strihovým testom, v porovnaní s kontrolnou vzorkou vyrobenou bez prídavku kuracieho mäsa.

## MATERIÁL A METÓDY

### Laboratórny materiál, prístrojové zabezpečenie

Kuter, Rezačka, Vákuová narážka, Rezná doska, Nôž, Údiareň, Chladnička, Varič, Teplomer, Textúrometer TA XT2 Plus, Warner Bratzlerová sonda

### Príprava vzoriek

#### *Zloženie*

Hovädzie mäso s obsahom tuku max. 10 %; bravčové mäso s obsahom tuku max. 10 %; bravčové mäso s obsahom tuku max. 50 %; bravčové kože; pitná voda; dusitanová soliaca zmes (na solenie mäsa); paprika mletá sladká (100 ASTA); paprika mletá páľivá; polyfosfáty (E 450 a E 451); kyselina askorbová (E 300); obal baranie črevá. Experimentálny prídavok pozostával z kuracieho mäsa (prsna svalovina), pridaného do finálnej zmesi produktu v pomere 1, 2 a 3 %.

#### *Výroba produktu*

Jednotlivé druhy mias po nakrájaní boli zomleté na rezačke s reznou doskou 8 mm. Z kože bola pripravená kožová emulzia. Pomletá zmes a kožová emulzia boli kutrované po dobu troch minút s prídavkom šupinového ľadu do jemne pojivého diela, ktoré bolo následne plnené do baranieho čreva. Takto pripravené párky boli následne zaúdené a tepelne opracované pri teplote 72 °C po dobu 10 minút v jadre výrobku.

### Textúrometrická analýza

#### *Nastavenie prístroja*

Pre - Test Speed: 1,5 mm.s<sup>-1</sup>; Test Speed: 1,5 mm.s<sup>-1</sup>; Post - Test Speed: 10 mm.s<sup>-1</sup>; Distance: 30 mm

#### *Analýza textúry*

- A) Pred ohrevom – párky temperované na teplotu laboratórneho prostredia 25 °C
- B) Po ohreve – párky privedené po bod varu a následne schladené na teplotu laboratórneho prostredia 25 °C

#### *Analýza dát*

Exponent (Stable Microsystems, UK), Tanagra (Tanagra software, FR)

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Zaznamenané priemerné hodnoty pre parameter Tuhosť (N) sa pohybovali v intervale 16,521N - 31,163N v prípade jeho posudzovania v stave pred varením (**Tab. 1, Graf 1**).

**Tabuľka 1** Hodnoty v posudzovaných parametroch Tuhosť a Práca v strihu

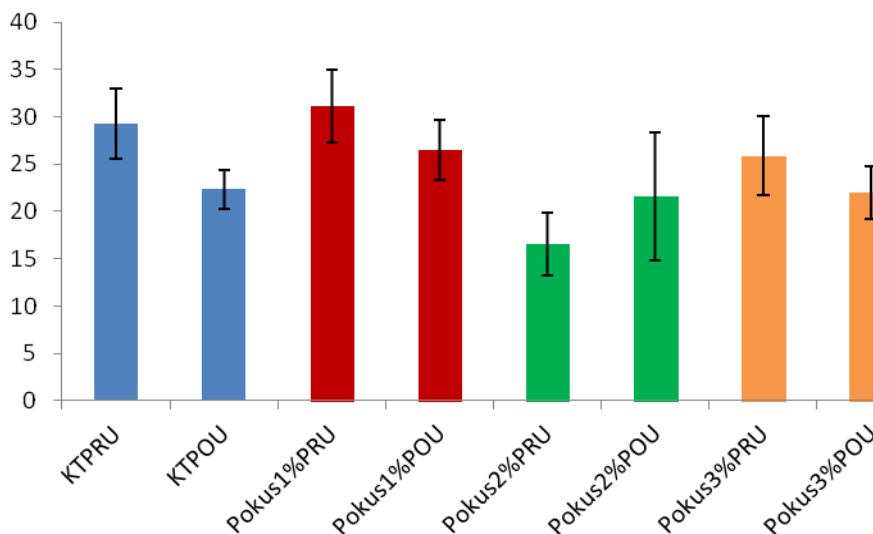
TUHOŠŤ (N)								
	Kontrola		Pokus 1 %		Pokus 2 %		Pokus 3 %	
	Pred V.	Po V.	Pred V.	Po V.	Pred V.	Po V.	Pred V.	Po V.
AVE	29,233	22,340	31.163	26,533	16,521	21,580	25,842	22,006
S.D.	3,704	2,080	3,811	3,158	3,332	6,798	4,174	2,801
C.V.	12,669	9,308	12,229	11,903	20,167	31,50	16,154	12,729

PRÁCA V STRIHU (N.s <sup>-1</sup> )								
	Kontrola		Pokus 1 %		Pokus 2 %		Pokus 3 %	
	Pred V.	Po V.	Pred V.	Po V.	Pred V.	Po V.	Pred V.	Po V.
AVE	240,775	213,456	269,264	274,216	209,489	221,868	206,537	206,561
S.D.	29,459	20,563	29,465	32,103	30,208	38,738	26,176	16,354
C.V.	12,235	9,633	10,943	11,707	14,420	17,460	12,674	7,917

\* AVE – Priemerná hodnota; S.D. – Smerodajná odchýlka; C.V. – Koefficient variability  
 Pred V. – pred uvarením; Po V. – po uvarení

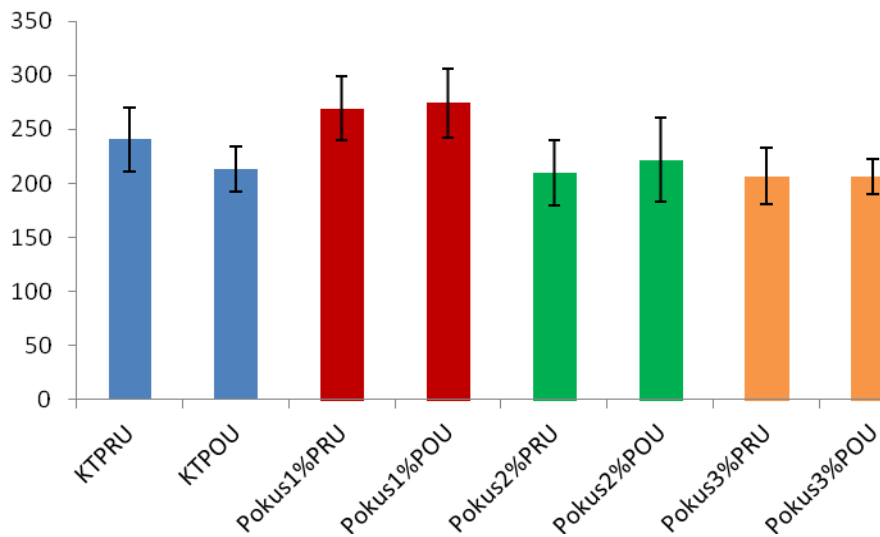
Procesom varenia došlo k očakávaným zmenám hodnôt v nasledovnom intervale: 21,580 N – 26,533 N. Najvyššie uvedené hodnoty boli identifikované v prípade produktu s prídavkom 1 % kuracieho mäsa, zhodne pre oba spôsoby úpravy produktu pred meraním. Nami identifikované priemerné hodnoty pre parameter tuhosť vo fáze pred procesom varenia sa pohybujú v intervale hodnôt, zaznamenaných v práci **Belej et al. (2019)**, ktorých hodnoty varírovali v rozpätí 15,988 N – 42,000 N, v závislosti od výrobcu.



**Graf 1** Parameter Tuhosť

Pri zameraní sa na parameter Práca v strihu v stave pred varením boli identifikované hodnoty v intervale 206,537 N.s<sup>-1</sup> – 269,264 N.s<sup>-1</sup>. K zmenám došlo procesom varenia s nasledovným intervalom hodnôt: 206,561 N.s<sup>-1</sup> – 274,216 N.s<sup>-1</sup>. Rovnako, ako v prípade parametra Tuhosť bol identifikovaný totožný podiel produktu s obsahom 1% kuracieho mäsa na najvyšších hodnotách parametra Práca v strihu (**Tab. 1, Graf 2**). Konfrontáciou nami zistených hodnôt pre posudzovaný parameter práca v strihu bol identifikovaný súlad s intervalom hodnôt (92,756 N.s<sup>-1</sup> – 286,887 N.s<sup>-1</sup>) zaznamenaných Belejom et al. (2019). Na základe rozdielov v hodnotách posudzovaných parametrov naprieč vzorkami možno

konštatovať zhodu so závermi o vplyve rôznych faktorov na vlastnosti výrobku, prezentovanými v práci Galvão et al. (2011), ktorí vo svojej štúdií posudzovali vplyv zmien v zložení vybraných druhov párkov na určité parametre produktu.



**Graf 2** Parameter Práca v strihu

Po spracovaní nameraných hodnôt (30 opakovaní merania pre každý z hodnotených parametrov, pre každý hodnotený produkt a jeho úpravu) štatistickým programom Tanagra (párový T-test) boli identifikované nasledovné rozdiely, pri rozličných stupňoch preukaznosti ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ;  $p < 0,001$ ). Uvedené preukaznosti sú prezentované v Tabuľke 2.

**Tabuľka 2** Preukaznosť rozdielov v parametroch textúry

Tuhosť pred uvarením	Tuhosť po uvarení	Práca v strihu pred uvarením	Práca v strihu po uvarení
a <sub>VS</sub> b*	a <sub>VS</sub> b***	a <sub>VS</sub> b***	a <sub>VS</sub> b***
a <sub>VS</sub> c***		a <sub>VS</sub> c***	
a <sub>VS</sub> d**		a <sub>VS</sub> d***	
b <sub>VS</sub> c***	b <sub>VS</sub> c**	b <sub>VS</sub> c***	b <sub>VS</sub> c***
b <sub>VS</sub> d***	b <sub>VS</sub> d***	b <sub>VS</sub> d***	b <sub>VS</sub> d***
c <sub>VS</sub> d***			

\* Preukaznosť rozdielov:  $p < 0,05$ \*;  $p < 0,01$ \*\*;  $p < 0,001$ \*\*\*    <sup>a</sup>Kontrola; <sup>b</sup>Pokus 1 %; <sup>c</sup>Pokus 2 %; <sup>d</sup>Pokus 3 %

## ZÁVER

Proces výroby až do podoby finálneho produktu predstavuje komplex krokov, ktorých vzájomná previazanosť a prísne dodržiavanie pracovného postupu zásadne ovplyvňujú ukazovatele kvality a bezpečnosti výrobku. Postup výroby produktov z kategórie tých, ktoré sú nositeľom označenia Zaručene tradičná špecialita si vyžaduje striktné dodržiavanie receptúry, bez čoho i len najmenšieho pochybenia. Na základe výstupov z inštrumentálnych analýz je možné stanoviť určitý štandard produktu, ktorý by reflektoval jeho zloženie a vedel by poskytnúť cenné informácie pre prípad kontroly originality určitej skupiny potravinárskych produktov. V prípade nami vykonanej analýzy je zároveň možné poukázať na zásadný vplyv dodržania technológie výroby, kde i len malé odchýlky v teplotách, či dĺžke spracovania dokážu zásadne ovplyvniť finálnu textúru tejto kategórie výrobkov i napriek

identickému zloženiu. Rozdielnosti zaznamenané v našich meraniach boli s najväčšou pravdepodobnosťou spôsobené prístrojovým vybavením, kde nebolo možné zabezpečiť úplnú homogenizáciu párkovej zmesi, vrátane jej chladenia v kritickej fáze kurovania, čo sa podpísalo na finálnej textúre výrobkov. Tým pádom nie je možné dať do jednoznačnej súvislosti podiel kuracieho mäsa na hodnotách posudzovaných parametrov. Na základe uvedeného výsledky tejto analýzy majú skôr orientačný charakter, bude nevyhnutné optimalizovať naše podmienky výroby takým spôsobom, aby sa čo najviac priblížili tým vo veľkovýrobe.

#### LITERATÚRA

- Abdolghafour, B., Saghir, A. 2015. Development in sausage production and practices-A review. In *Journal of Meat Science and Technology*, vol. 2, p. 40-50.
- Belej, L., Golian, J., Čurlej, J., Bobko, M. 2019. Hodnotenie texturálnych vlastností spišských párkov. In *Maso*, roč. 1, s. 41-43.
- Feiner, G. 2006. *Cooked sausages*. Meat Products Handbook, p. 239-286. New York, NY, USA. CRC press Inc. <https://doi.org/10.1533/9781845691721.2.239>
- 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*, vol. 89, no. 4, p. 519-525.
- Lawless, H. T., Heymann, H. H. 1999. *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*. New York, NY : Chapman and Hall. 827 p. ISBN 978-08-342-1752-2.
- Sousa, S. C., Fragoso, S. P., Penna, C. R. A., Arcanjo, N. M. O., Silva, F. A. P., Ferreira, V. C. S., Barreto, M. D. S., Araujo, B. J. 2017. Quality parameters of frankfurters-type sausages with partial replacement of fat by hydrolyzed collagen. In *LWT – Food Science and Technology*, vol. 76,7p. 320-325. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.034>.
- Prabhu, G. A., Doerschler, D. R., Hull, D. H. 2004. Utilization of pork collagen protein in emulsified and whole muscle meat products. In *Journal of Food Science*, vol. 69, p. 388-392. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb10703.x>
- Tarté, R. 2009. Meat-derived protein ingredients. In *Ingredients in meat products*, p. 145-171. New York, NY, USA: Springer. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-71327-4\\_7](https://doi.org/10.1007/978-0-387-71327-4_7)

**Pod'akovanie:** Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-17-0508.

**Kontaktná adresa:** Ing. Jozef Čurlej, PhD., Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika, Email: [jozef.curlej@uniag.sk](mailto:jozef.curlej@uniag.sk)



# VPLYV PROTEKTÍVNEJ MIKROBIÁLNEJ KULTÚRY NA KVALITU SOLNÉHO ROZTOKU V PROCESSE MOKRÉHO SOLENIA MÄSA EFFECT OF PROTECTIVE MICROBIAL CULTURE ON BRINE QUALITY IN WET SALTING PROCESS OF MEAT

*Miroslav Kročko, Ivona Steinhublová, Margita Čanigová, Viera Ducková, Marek Bobko*

**Abstract:** The aim of the work was to determine the effect of bacterial protective culture containing CNC strains *Staphylococcus carnosus* and *Staphylococcus xylosus* (Indasia, Germany) on the microbiological quality of the saline solution during wet salting of meat. The results show that the very presence of 10% salt and nitrite does not prevent the decline of microorganisms in saline solutions used for salting meat. Protective culture helped reduce the number of unwanted microorganisms and promoted lactobacilli. However, the demonstrably higher antibacterial effect of the protective culture, determined on the basis of the number of psychotropic microorganisms, was found to be combined with the spice extract.

**Keywords:** meat, wet salting, protective culture, bacteria, quality

## ÚVOD

Solenie je jedným z najstarších procesov konzervácie mäsa. Na ošetrovanie kusov mäsa sa bežne používal roztokom chloridu sodného alebo sa mäso pokrylo vrstvou suchej soli. Samotná soľ spôsobila zníženie hodnoty aktivity vody v mäse, čím zabránila mikrobiálnemu poškodeniu a nežiaducim organoleptickým zmenám. Staroveký Sumeri sa považujú za prvú civilizáciu, ktorá už okolo roku 3000 pred našim letopočtom využívala soľ na konzervovanie mäsa a rýb. Soľ z mŕtveho mora sa prvý krát použila v starovekej Palestíne už v roku 1600 pred našim letopočtom. Číňania a Gréci používali aj kamennú soľ, ktorú neskôr používali aj staroveký Rimania. Postupom času sa zistilo, že len niektoré druhy soli pomohli aj v rozvoji žiaduceho sfarbenia a charakteristickej chuti mäsa. Vyšetrovanie v devätnástom storočí odhalilo, že dusičnan sodný, prítomný ako nečistota v týchto soliach, je zodpovedný za rozvoj charakteristickej farby a chute soleného mäsa. Neskôr sa zistilo, že k požadovanému efektu dochádza prostredníctvom mikrobiálnej redukcie dusičnanov na dusitany. Z následných experimentov sa vydali regulácie na priame pridávanie dusitanu sodného s cieľom predĺžiť trvanlivosť mäsa za súčasného zachovania farby a požadovanej chuti. Súčasná prax zahŕňa okrem pridávania dusitanu sodného aj askorbáty alebo erytorbáty, prísady ako napr. sladidlá, fosfáty, koreniny a dymová aróma. Metódy solenia možno rozdeliť na dve základné kategórie a to suché a mokré (soľanka, nálev, soľný roztok). Suché solenie je najstaršia tradičná technika, pri ktorej sa soľ s dusitanmi alebo aj dusičnanmi aplikuje na povrch mäsa. V procesoch solenia soľankou sa jednotlivé zložky rozpúšťajú vo vode za vzniku nálevu, v ktorom sa mäso prirodzene nachádza po určitú dobu alebo sa vstrekuje priamo do mäsa (Shahidi a Samaranayka, 2004). Rýchlosť difúzie soli a funkčných prísad do suroviny závisí od koncentrácie soli, veľkosti jednotlivých kusov suroviny, obsahu väzivových a tukových častí, ktoré účinkujú ako bariéra voči difúzii a tumblovania (miešanie s cieľom aktivácie bielkovín) (Kročko et al., 2018).

Dusitany spolu so sodíkom síce v procese solenia inhibujú smrteľné neurotoxíny tvoriace baktériami druhu *Clostridium botulinum*, avšak v procese tepelného spracovania spojeného s vysokou teplotou (vyprážanie) sa reakciou dusitanou s voľnými aminokyselinami a aminými môžu tvoriť škodlivé N-nitrozamíny (Shahidi a Samaranayka, 2004).

Výroba fermentovaných mäsových výrobkov sa v prvej miere opiera o metabolické aktivity baktérií mliečneho kysnutia a následne kataláza pozitívnych kokov, najmä skupiny koaguláz-negatívnych stafylokokov (CNS). Na druhej strane sa vo výrobe solených mias už dlhšiu dobu

sledujú v prvom rade CNS. Ich použitie zvyčajne vedie k vhodnému vytvoreniu farby mäsa založenému na ich aktivite nitrátovej reduktázy, zatiaľ čo ich katalázová aktivita znižuje oxidačné poškodenie. Navyše metabolizmus CNS prispieva k chuti, aj keď presné účinky je ťažké odhadnúť. Existujú dôvody domnievať sa, že tieto základné technologické charakteristiky CNS možno ďalej rozšíriť skúmaním ich celkového metabolického potenciálu. Racionálny výber CNS kmeňov môže viesť k vývoju nových kultúr so zvýšenou funkčnosťou. Ich schopnosť prispievať k tvorbe farby mäsa by mohla byť optimalizovaná tak, aby sa znížilo množstvo potrebných soliacich zmesí, a to buď výberom účinných kmeňov CNS redukujúcich dusičnan alebo preskúmaním potenciálnej alternatívy založenej na aktivite syntázy oxidu dusnatého. Nakoniec kmene CNS produkujúce bakteriocín môžu ponúknuť roztoky na bioprotekciu voči mäsovým patogénom, ako je *Clostridium botulinum* a *Staphylococcus aureus* (Sánchez Mainar et al., 2017).

Cieľom práce bolo stanoviť vplyv bakteriálnej protektívnej kultúry obsahujúcej CNC kmene *Staphylococcus carnosus* a *Staphylococcus xylosus* (Indasia, Nemecko) na mikrobiologickú kvalitu solného roztoku počas mokrého solenia mäsa.

### MATERIÁL A METÓDY

Vzorky mäsa (karé) sa narezali tak, aby sa dosiahla ich hmotnosť 100 g. Pomer suroviny a nálevu sa nastavil 1:3. Príprava 300 ml solného roztoku kontrolnej skupiny (K) pozostávala z 10 % prídavku NaNO<sub>2</sub>, pokusnej skupiny P1 z 10 % prídavku NaNO<sub>2</sub> a protektívnej kultúry v množstve 0,1g. Pre pokusnú skupinu P3 sa najskôr do 500 ml vody pridalo 0,5 g bobkového listu; 0,5 g celého čierneho korenia; 0,5 g celého jalovca a 0,5 g celého nového korenia. V uzatvorenej nádobe sa roztok priviedol k varu po dobu 10 minút a po vychladnutí sa do 300 ml tohto roztoku pridala protektívna kultúra v množstve 0,1g a 10 % prídavok NaNO<sub>2</sub>. Komerčná protektívna kultúra obsahuje kmene *Staphylococcus carnosus* a *Staphylococcus xylosus* (Indasia, Nemecko) v množstve log 11 KTJ.g<sup>-1</sup>. Vzorky mäsa sa po vložení do solného roztoku uchovávali pri teplote 4 ± 1 °C po dobu 14 dní.

Stanovenie koliformných baktérií sa uskutočnilo na živnej pôde VRB po 24 hodinovej kultivácii pri teplote 30 °C ± 1 °C (STN ISO 4832).

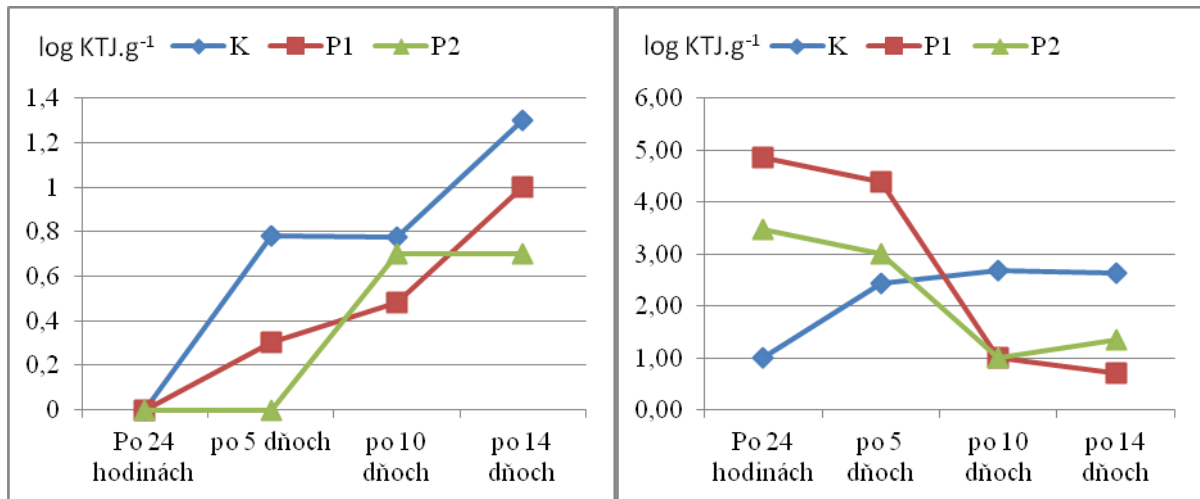
Celkový počet psychrotrofných mikroorganizmov (CPM) sa stanovoval na živnej pôjde GTKA po 10 dňoch kultivácie pri teplote 4 ± 1 °C.

Baktérie rodu *Lactobacillus* sa stanovovali na živnej pôde MRS kultiváciou pri teplote 37 °C ± 1 °C. Po 5 dňoch kultivácie sa odčítali ich počty (STN ISO 15214, 2002).

Celkový počet streptokokov sa stanovil na živnej pôde M17 inkubáciou pri teplote 37 ± 1 °C po dobu 3 dni (STN ISO 15214).

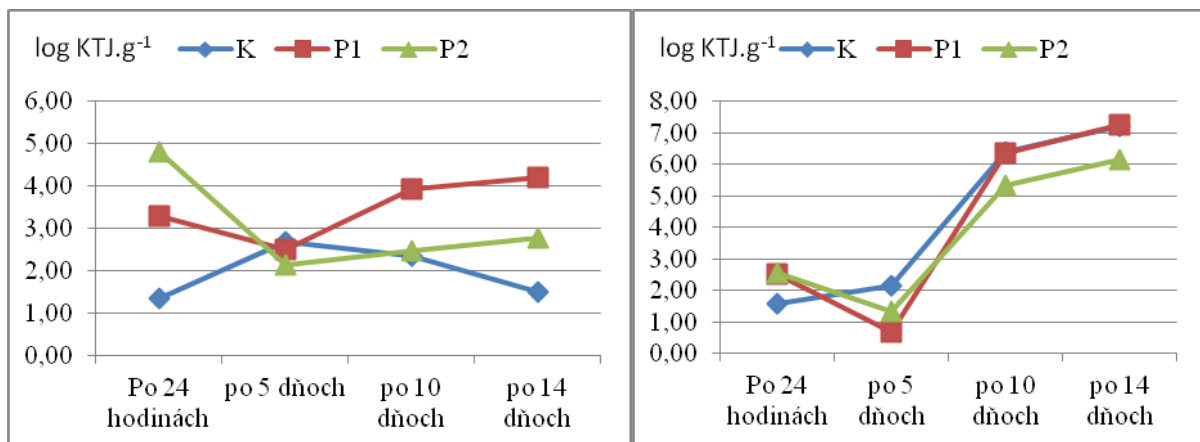
### VÝSLEDKY A DISKUSIA

Proces solenia a následného sušenia mäsa je najbežnejší spôsobom ošetrenia mäsa, ktorým sa získava bezpečný výrobok určený aj na priamu spotrebu konzumentmi. Vzhľadom k tomu je dôležité zabezpečiť dostatočný baktericídny účinok soliacich roztokov najmä voči koliformným baktériám a streptokokom (Cardoso-Toset et al., 2017).



Obrázok 1 Celkový počet koliformných mikroorganizmov (vľavo) a streptokokov (vpravo) v soľnom roztoku v priebehu mokrého solenia

Celkový počet koliformných mikroorganizmov sa vo vzorkách soľných roztokov na konci doby mokrého solenia pohyboval v rozmedzí od 0,7 do 1,3 log KTJ.ml<sup>-1</sup>. Najnižšie počty koliformných mikroorganizmov sa zaznamenal vo vzorkách s prídavkom extraktu korenín. Celkový počet streptokokov sa vo vzorkách soľných roztokov od 0,7 do 2,65 log KTJ.ml<sup>-1</sup>. Najnižšie počty tejto skupiny mikroorganizmov sme zaznamenali vo vzorkách s prídavkom protektívnej kultúry.



Obrázok 3 Celkový počet laktobacilov (vľavo) a psychrotrofných mikroorganizmov v soľnom roztoku v priebehu mokrého solenia

V dôsledku prítomnosti soli a dusitanov v soľných roztokoch, sme v prípade psychrotrofných mikroorganizmov očakávali ich postupné znižovanie. Toto očakávanie sme potvrdili len po 5 dňoch solenia mäsa. Následne sa počty psychrotrofných mikroorganizmov preukazne zvýšili po 10 a 14 dňoch solenia až na úroveň 6,16 (P2) – 7,26 (K,P1) log KTJ.g<sup>-1</sup>. V soľnom roztoku pripraveného z výluhu z korenín sa počet týchto mikroorganizmov zistil v porovnaní s ostatnými sledovanými skupinami soľných roztokov preukazne nižší o 1,1 log KTJ.g<sup>-1</sup>. Tento nárast môže v prípade kontrolnej skupiny súvisieť s nárastom sprievodnej mikroflóry charakteristickej pre soľné roztoky a mäso, ale v prípade skupiny P1 a P2 môže súvisieť aj s rozvojom CNS kmeňov, ktoré sa priamo pridávali do soľných roztokov týchto skupín. Naše zistenia sú v súlade so zisteniami Binici a Kaya (2017), ktorí počas mokrého solenia rýb

taktiež zaznamenali nárast počtu psychrotrofných mikroorganizmov po 15 dňoch až na úroveň 8 log KTJ.g<sup>-1</sup>.

### ZÁVER

Z výsledkov vyplýva, že samotná prítomnosť 10 % soli a dusitanov nezabezpečí pokles mikroorganizmov v solných roztokoch používaných pre solenie mäsa. Protektívna kultúra napomohla k zníženiu počtu nežiaducich mikroorganizmov a podporila rast laktobacilov. Avšak preukazne vyšší antibakteriálny účinok protektívnej kultúry stanovený na základe počtu psychrotrofných mikroorganizmov sa zistil ak sa kombinovala spolu s výluhom z korenín.

### LITERATÚRA

- Binici a Kaya. 2017. Effect of brine and dry salting methods on the physicochemical and microbial quality of chub (*Squalius cephalus* Linnaeus, 1758). In *Food Science and Technology*, vol. 38, s 66-70.
- Cardoso-Toset, F., Luque, I., Moreles-Partera, A. et al. 2017. Survival of *Streptococcus suis*, *Streptococcus dysgalactiae* and *Trueperella pyogenes* in dry-cured Iberian pork shoulders and loins. In *Food Microbiology*, vol. 61, s. 66-71.
- Kročko, M., Bobko, M., Haščik, P. 2018. Technológia spracovania mäsa II. SPU: Nitra, 162 s. ISBN 978-80-552-1789-5
- Sánchez Mainar, M. Stavropoulou, D. A., Leroy, F., 2017. Exploring the metabolic potential of coagulase-negative staphylococci to improve the quality and safety of fermented meats: a review. In *Int. J. Food Microbiol.* roč. 247, 24–37.
- Shahidi, F. A. Samaranyaka, A. G. P. 2004. Curing/brine. In W. K. Jensen (Ed.), *Encyclopedia of meat sciences* p. 366–374 (1st ed.). Oxford: Elsevier.
- STN ISO 4832: Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu koliformných baktérií. Metóda počítania kolónií.
- STN ISO 15214: Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu mezofilných kyslomliečnych baktérií. Metóda počítania kolónií kultivovaných pri 30 °C.

**Kontaktná adresa:** Ing. Miroslav Kročko, PhD., Katedra hodnotenia a spracovania živočíšnych produktov, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Email: mirokrocko@yahoo.com

## QUALITY OF SAUSAGES FROM TERMOND WHITE, POPIELNO WHITE AND CROSSBREED RABBITS

*Lukas Migdal, Piotr Kulawik, Joanna Tkaczewska, Sylwia Pałka, Michał Kmiecik, Anna Migdal, Władysław Migdal*

**Abstract:** Increasing consumers knowledge of the links between diet and health has raised the awareness and demand for functional food. Rabbit meat offers excellent nutritive and dietetic properties. We analysed sausages made from three rabbits breeds. We found that sausage made from Popielno White rabbits had lowest fat content (6.81 %) compared to sausage made from Termond White and crossbreed rabbits (10.19% and 10.61%, respectively). Products made from all breeds had high protein level (24.27 % - 27.7 %). We conclude that sausage from rabbits can be valuable products which will fit consumers demand for high quality meat products.

**Keywords:** rabbit, sausage, fat content, protein content

### INTRODUCTION

Rabbit meat offers excellent nutritive and dietetic properties which is why it can be counted as a functional food. Its composition showed it is a good source of protein with a large amount of essential amino acids, low fat content, high energy values and easily digestible. These properties proved that rabbit meat can be recommended especially for children and the seniors, as well as for the standard consumer. There are many commercial breeds (like New Zealand White and Termond White Rabbits) as well as autochthonous, local breeds (like Popielno White rabbits)

### MATERIALS AND METHODS

Animals were kept at Experimental Station of Department of Genetics and Animal Breeding. Animals were kept in a heated hall furnished with water supply (nipple drinkers), lighting (14D:10N) and exhaust ventilation. Water and feed were available ad libitum - the pelleted commercial diet contained 15 % crude protein, 16.1 % crude fibre and 3.5 % crude fat. The rabbits were weaned at week 5 of life and slaughtered at week 12. Crossbreed rabbits were progeny of Termond White and Popielno White rabbits. The animals were slaughtered after 24 h fasting, under a permit from the II Local Ethics Committee in Kraków (no 37, 30 th May 2016). After 24 h chilling carcasses were transported in ice to the laboratories of Food Technology Department of the University of Agriculture in Cracow. After cutting off the loins, the residual meat was from the carcasses was separated from the bones and connective tissue, and grinded using a MADDO MEW 613 (Dornhan, Germany) meat grinder. Part of the grinded meat was taken for the analysis of proximate composition, while the rest was mixed with spices using a Mainca RM-20 automatic mixer (Barcelona, Spain). The detailed recipe of each sausage is minced rabbit meat, NaCl and black pepper .

The analysis of proximate composition were performed according to the AOAC (2007) methods: the protein content was analysed using Kjeldahl method, fat content was analysed using Soxhlet method, dry matter was analysed by drying the sample for 24 h at 105°C, and ash content was determined by burning the sample at 550 °C for 6 h.

The statistical analysis was performed using a Statistica v13.1 software (Statsoft, Tulsa, USA). The comparison of differences between means was determined by one-way ANOVA with Tukey post-hoc test. The null hypothesis was discarded with the confidence interval of 0.05 ( $p < 0.05$ ). The analysis was performed separately for the raw meat and sausages.

## RESULTS AND DISCUSSION

Results of dry matter, ash, fat and protein content, are presented in Table 1.

Table 1. Chemical composition of raw meat and sausages made from three different rabbits

	dry matter (%)	ash (%)	protein (%)	fat (%)
TW raw meat	27.88 <sup>c</sup> ±0.50	1.14 <sup>a</sup> ±0.05	22.16 <sup>a</sup> ±2.54	4.82 <sup>a</sup> ±0.46
PW raw meat	23.21 <sup>a</sup> ±0.45	1.17 <sup>a</sup> ±0.04	22.46 <sup>a</sup> ±0.83	2.50 <sup>a</sup> ±1.13
CB raw meat	27.41 <sup>b</sup> ±2.95	1.23 <sup>a</sup> ±0.03	21.58 <sup>a</sup> ±0.47	4.94 <sup>a</sup> ±0.84
TW sausage	38.37 <sup>c</sup> ±0.33	2.08 <sup>a</sup> ±0.01	27.77 <sup>b</sup> ±0.31	10.19 <sup>b</sup> ±0.49
PW sausage	35.13 <sup>b</sup> ±0.26	2.32 <sup>b</sup> ±0.03	24.27 <sup>a</sup> ±0.22	10.61 <sup>b</sup> ±0.35
CB sausage	34.12 <sup>a</sup> ±0.34	2.25 <sup>b</sup> ±0.08	27.70 <sup>b</sup> ±0.85	6.81 <sup>a</sup> ±0.12

TW – Termond White; PW – Popielno White; CB – crossbreed rabbits

Raw meat of rabbits were characterized by high level of protein between 22.46±0.83 for Popielno White and 21.58±0.47 for crossbreed rabbits. For protein and fat content we did not find statistical differences between breeds. Moreover protein are easy digestible which increase biological value of rabbit meat (Dalle Zotte and Szendro, 2011). Moreover health problems and scandals hitting livestock production (BSE, dioxins, influenza) so far did not affect rabbit production. This may increase consumers trust for rabbit meat which with good composition (high protein value and low fat and cholesterol content) prove high quality of this product (Cavabi et al., 2009). Only in dry matter we found differences between all breeds (Table 1).

Sausages are one of the oldest forms of processed food. Results showed that the fat content of rabbits sausage vary between 10.19±0.49% and 6.81±0.12%. Wambui et al. 2016 reported that rabbit sausages were lower than in average frankfurter-type sausages (lower than 20 %) – authors reported 12.06±1.35 protein and 20.45±1.15 fat content for sausages made with addition of 20 % vegetable oil. Our results showed that raw rabbit meat can be used for sausages production and there is no need of additional components like oils/fat. The proximate composition of sausages increased compared to the raw material from which they were made. This is due to the evaporation of water from the raw material during sausage processing, especially during smoking and steaming.

Similar sausages made from chicken contain about 15 % fat (Araújo et al., 2019). For frankfurter-type sausages fat content were between 26.17±1.31% and 13.09±0.41% with PSFM addiction (Choe et al. 2013). Differences between obtained results comes from different recipes (mostly different meat content and additives) which strongly influence on results obtained. Here we showed that sausages made only from rabbit meat, without additional fat/oils are very valuable products with good parameters.

## REFERENCES

- AOAC 2007. Official Methods of Analysis of AOAC International. Association of Official Analysis Chemists International, 18th edn.,
- Araújo, Í. B. S., Lima, D. A. S., Pereira, S. F., Madruga M. S. 2019. Quality of low-fat chicken sausages with added chicken feet collagen. *Poultry Science* 1;98(2):1064-1074.
- Cavani, C., Petracci, M., Trocino, A., Xiccato, G. 2009. Advances in research on poultry and rabbit meat quality. *Italian Journal of Animal Science* 8, 2: 741-750.
- Choe, J. H., Kim, H. Y., Lee, J. M., Kim, Y. J., Kim, C. J. 2013. Quality of frankfurter-type sausages with added pig skin and wheat fiber mixture as fat replacers. *Meat Science* 93, 4: 849-854.
- Dalle Zotte, A., Szendrő, Z. 2011. The role of rabbit meat as functional food *Meat Science* 88, 3: 319-331.
- Wambui, J. M., Karuri, E. G., Wanyoike, M. M. M. 2016. Interaction among Nutritive, Textural, and Sensory Properties of Rabbit Sausages. *Journal of Food Processing* Volume 2016, Article ID 4059023, 6 pages

**Acknowledgements:** This research was financed by the National Centre for Research and Development (Poland) decision number LIDER/27/0104/L-9/17/NCBR/2018

**Corresponding author:** *Dr Łukasz Migdał*, Department of Genetics and Animal Breeding, Faculty of Animal Sciences. University of Agriculture in Krakow, al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków, Poland. Email: lukasz.migdal@urk.edu.pl

*Kulawik Piotr*, Department of Animal Product Technology, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow, Poland

*Tkaczewska Joanna*, Department of Animal Product Technology, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow, Poland

*Palka Sylwia*, Department of Genetics and Animal Breeding, Faculty of Animal Sciences. University of Agriculture in Krakow, Poland

*Kmieciak Michał*, Department of Genetics and Animal Breeding, Faculty of Animal Sciences. University of Agriculture in Krakow, Poland

*Migdał Anna*, Institute of Veterinary Sciences, Faculty of Animal Sciences. University of Agriculture in Krakow, Poland

*Migdał Władysław* Department of Animal Product Technology, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow, Poland

## THE CHEMICAL COMPOSITION OF TRADITIONAL EUROPEAN SAUSAGES

*Władysław Migdał, Čedomir Radović, Vladimir Živković, Maria Walczycka, Marzena Zajęc, Joanna Tkaczewska, Piotr Kulawik, Ewelina Węsierska, Łukasz Migdał, Anna Migdał*

**Abstract:** Central-Eastern Europe is famous of sausages production such delighted as: *kranjska klobasa, csabai kolbász, mangalica kolbász, slavonski kulen, kulenova seka, češnjovka, domaća kobasica, zlatiborski kulen, levačka kobasica, sremska kobasica, hauswurst*. The aim of work was the assessment of chemical composition of traditional European sausages (produced in Poland, Czech Republic, Slovakia, Serbia, Austria and Italy) obtained from meat of autochthonous pigs bred in a traditional way. The analysed sausages differed in chemical composition and it was caused by different recipes and differences in raw meat chemical composition originating from native pigs breeds. The highest differences were present in the fat content in sausages. All analysed sausages fulfilled the new requirements of the European Union concerning maximum PAH levels in the selected foodstuffs as considered in the Commission Regulation (EC) no 835/2011.

**Keywords:** traditional sausages, chemical composition, PAHs

### INTRODUCTION

The raw materials originating from native animal breeds (Mangalica, Moravka, Black Slavonian, Pulawska, Zlotnicka White and Spotted pigs) are applied for production of the best quality traditional, local products. These products are produced and preserved with traditional methods. The most popular traditional product is a sausage produced of grinded meat with addition of fat and some spices. The name “sausage” originates the most probably from pra-Slavic word *klbasa – klbъ* – something coil, rolled and convex. Some authors do not exclude the borrowing from a Turkish word *külbastı* (grilled roast). In Polish language the word “kiełbasa” is known from Medieval ages. From XIV century Poland was famous for sausages production, mainly because of popular, at that time, royal hunting. The hunting events had the most often taken place during autumn and winter delivering the raw meats for smoked meats and sausages production. Nowadays sausages are produced from different kinds of meats and fat so they are divided into groups: pork, beef, horse, sheep, goat, nutria, game – sausages. They are stuffed into natural casings (guts) or in collagen, cellulose, polyamide casings; smoked in a natural smoke provided from combusting of dried deciduous trees wood and are a delicacy on the tables all over the world. In New Zealand are produced local *cabanossi*, latin Americans and Spaniards are specialists of *chorizo*, Swedish people are proud of beef-pork *falukorv* and Turkish produce the beef *sucuk*. There are the delicacy pickled sausages *isan* in Tajland; in Republic of South Africa beef-pork-lamb *boerewors* and *lap-cheong* in China.

Central-Eastern Europe is famous of sausages production. Poland is famous of pork and pork-beef sausages (*krakowska, lisiecka, żywiecka, śląska, tuchowska, jałowcowa, myśliwska, wiejska*) and of popular in XX century beef - *serwolotka*. Czech Republic have their *špekáčky, utopence* and *tatowe klobásy*, in Slovakia, there is popular *Kranjska klobasa*, in Hungary *csabai kolbász, mangalica kolbász, Gyulai pároskolbász*, in Croatia *Slavonski kulen, kulenova seka, Češnjovka, domaća kobasica* and in Serbia *Zlatiborski kulen, levačka kobasica, sremska kobasica*. These sausages are the traditional products produced from meat of native species of animals, according to traditional technology subjected to traditional smoking. Food smoking is one of the oldest food preservation techniques. Smoking is process of saturating with smoked food products which have been cured or salted and dried.



Traditional smoking is a process, performed in accordance with artistry and knowledge of local producers, which includes drying, cold, warm and hot smoking and hot smoking and baking, to receive pale, dark, brown, cherry etc. color, depending on centuries old local tradition, conducted in traditional smoke chambers, in which the smoke and temperature is generated from burning of thick deciduous tree wood, with proper humidity in a fireplace located directly inside the chamber and above which in a certain distance is located the smoked and processed product, hanging on the smoking sticks.

In the scope of project “*The ways of usage and the preservation of genetic resources of farm animals under sustainable development*” co-financed by the National Centre for Research and Development within the framework of the strategic R&D program “Environment, agriculture and forestry” – BIOSTRATEG, contract number: BIOSTRATEG2/297267/14/NCBR/2016 there were analyzed traditional products of animal origin. The product were purchased from different regions of Poland where there were produced of raw materials obtained from homeland breeds – the meat products of Pulawska, Zlotnicka Spotted and White pigs. Also, in scope of own scientific project, the traditional sausages from Czech Republik, Slovakia, Hungary, Austria and Italy were analyzed.

The aim of work was the assessment of chemical composition of traditional European sausages (produced in Poland, Czech Republic, Slovakia, Serbia, Austria and Italy) obtained from meat of native pigs breeds bred in a traditional way.

## MATERIALS AND METHODS

The sausages samples were bought in local shops or directly from producers. The total sample of sausage type was at least 1kg and the minimum of primary bought samples amount was 3 (repetitions). The sausages were packed in aluminum foil and placed in a cooling container according to the Commission Regulation (EU) no nr 836/2011 issued at 19<sup>th</sup> August 2011 r. containing changes with reference to Commission Regulation (WE) nr 333/2007 concerning the sampling and analyses methods for official control of levels of cadmium, mercury, inorganic tin, 3-MCPD and of benzo(a) pyrene in food.

The total samples of sausages were minced to obtain the average samples which were subjected to chemical analyses. The following items were estimated in the traditional sausages samples:

- water content according to the standard *PN-ISO 1442:2000*,
- fat content according to the standard *PN-ISO 1444:2000*,
- protein content by Kjeldahl method *PN-75/A-04018*,
- total ash content according to the standard *PN-ISO 936:2000*,
- total carbohydrates content was calculated assuming that the all total solids and water stand for 100%
- PAHs content – with Quechers metod – extraction and homogenisation with acetonitryl and with mixture of specific reagents; the extract was analysed with technique of reverse phase-high performance liquid chromatography (RP-HPLC) method with fluorescent detector (FLD) in the laboratory of J.S. HAMILTON POLAND S.A

## RESULTS AND DISCUSSION

The chemical composition of analyzed sausages is presented in Table 1. The analyzed sausages differed as chemical composition and it was caused by different recipes and differences in raw meat chemical composition originating from native pigs breeds. The highest differences were present in the fat content in sausages, at average – from 14.74% in jałowcowa sausage to 55.05% sausage from Mangalica pig meat. Makala et al. (2008) when analyzing 16 kinds of sausages, present on Warsaw market in 2006-2007, produced from

medium minced stuffing, also stated the discrepancies in chemical composition of these products. Daszkiewicz et al. (2015) analyzed pork meat products (of well known Polish brand), popular among consumers, bought at Olsztyn market and obtained that the chemical component with the largest spread of variability was fat and with the smallest water content. Similar tendency was revealed by Grześkowiak et al. (2011) analyzing medium comminuted sausages present at Polish market. Džinic et al (2016) showed that the level of fat between sausages of *čajna* ranged from 36.77% to 48.31%. Petrović et al. (2011) found similar values in *Petrovska klobasa*, traditional fermented sausage, where fat content ranged from 34.09% to 46.01%. Also similar results were obtained by Ikonić et al. (2010).

Table 1. The chemical composition of traditional European sausages

Country	Sausages	Chemical composition (%)				
		Dry matter	Protein	Lipids	Ash	Carbohydrate
Poland	sausage złotnicka (Złotnicka Spotted)	60.96	21.66	35.00	3.63	0.67
	Jałowcowa sausage (Złotnicka white)	49.26	28.76	14.74	5.14	0.62
	sausage nadwieprzańska Puławska	36.49	17.54	16.66	2.16	0.13
	Serwolotka (polish red cattle)	45.48	21.69	20.71	2.26	0.82
Slovakia	Mangalica klobasa	59.38	30.41	23.56	4.91	0.50
	Home produced sausage		29.50	27.10	3.86	0.62
Czech Republik	Tatova klobasa	45.50	26.67	13.56	4.35	0.92
	Kabanos Bublá	80.03	35.02	36.74	5.85	2.42
Hungary	Csabai Kolbasz	59.64	18.94	35.37	4.13	1.20
	Mangalica Kolbasz	60.85	19.20	37.01	3.79	0.85
Serbia	Mangalica klobasa	79.58	20.54	55.05	3.51	0.48
	Sremska klobasica	75.90	24.02	44.80	6.05	1.03
	Petrovska klobasa	73.20	26.20	39.90	4.22	2.88
Austria	Hauswurst	82.42	35.10	41.16	5.84	0.32
	Sausage with pumpkin seeds	85.14	29.47	49.03	5.79	0.85
Italy	Da Carlo	67.09	34.86	26.61	5.18	0.44

In Table 2 is presented the content of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sausages. All analyzed sausages were in accordance with new requirements of the European Union concerning maximum levels PAH in the selected foodstuffs as considered in the Commission Regulation (EC) no 835/2001. Dobriková and Světliková (2007) revealed that from 10 841 food products of animal origin such as smoked meat products, canned meat products, poultry products, fish and fish products and animal fats to be sold on the Slovakian market and analyzed for the presence of benzo[*a*]pyrene (BaP) in accredited state control laboratories in

the frame of official controls and monitoring of food quality during 1994–2005 only 1.6% of all foods PAHs contents were above the limit in European Commission Regulation (EC) No 1881/2006.

Table 2. Content of polycyclic aromatic hydrocarbons in sausages ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

Country	Sausages	Polycyclic aromatic hydrocarbons PAHs ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )				
		Benzo(a) pyrene	Benzo(b) fluoranthene	Benz(a) anthracene	Chrysene	$\Sigma$ PAHs Benzo(a)pyrene, Benz(a)anthracene, Chrysene, Benzo(b)fluoranthene
Poland	sausage złotnicka (Zlotnicka Spotted pigs)	0.2 $\pm$ 0.1	< 0.5	0.5 $\pm$ 0.2	7.8 $\pm$ 1.2	8.4 $\pm$ 2.5
	Jałowcowa (Zlotnicka white pigs)	0.7 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.1	2.3 $\pm$ 0.2	5.5 $\pm$ 3.2	9.0 $\pm$ 2.7
	sausage nadwieprzańsk a (Pulawska pigs)	< 0.57	< 0.86	0.96 $\pm$ 0.288	0.71 $\pm$ 0.21 3	< 3.1
	Serwolotka (polish red cattle)	0.2 $\pm$ 0.1	< 0.5	0.6 $\pm$ 0.3	4.4 $\pm$ 2.6	5.2 $\pm$ 1.6
Slovakia	Mangalica klobasa	< 0.2	< 0.5	< 0.5	1.6 $\pm$ 0.9	< 2.0
	Home produced sausage	< 0.5	< 0.6	< 0.5	< 0.8	< 2.4
Hungary	Csabai Kolbasz	< 0.2	< 0.5	< 0.5	< 0.8	< 2.0
	Mangalica Kolbasz	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.8	< 2.3
Serbia	Mangalica klobasa	1.90 $\pm$ 0.57	2.40 $\pm$ 0.72	4.40 $\pm$ 1.32	2.10 $\pm$ 0.63	10.8 $\pm$ 1.32
	Sremska klobasica	< 0.2	< 0.2	< 0.7	< 0.96	< 2.1
	Petrovska klo basa	< 0.2	< 0.5	< 0.5	< 0.8	< 2.0
Austria	Hauswurst	< 0.2	< 0.5	< 0.5	2.8 $\pm$ 1.6	< 2.8
	Sausage with pumpkin seeds	< 0.2	< 0.5	< 0.5	1.5 $\pm$ 0.6	< 1.5
Italy	Da Carlo	< 0.2	< 0.5	< 0.5	< 0.8	< 2.0

Waszkiewicz –Robak et al.(2014) showed that the smoking process of meat products contributes in growth of levels of individual PAHs in amounts from, at about, 22 to 40 % in comparison to those before smoking. It was also shown that the kind of fat added to fatteners fodder used as raw meat material source for production of smoked meat products, influenced significantly on kind and amount of PAHs in the final products. Ciecierska and Obiedzinski (2007) revealed that the traditional method of smoking influenced on the higher level of pollution by PAHs in the most of analyzed them samples.

For all smoked products obtained in a traditional way and in an industrial way of smoking there was observed that the total sum of PAHs content and the levels of individual PAHs in the central part of products was significantly lower in comparison to the outer part of the same product. Kubiak et al. (2011) consider that for traditional way of smoking basing on natural air flow and/or convection, the critical point for diminishing PAHs presence in the final products is the experience and skills allowing to rule the pyrolysis reaction conditions.

#### REFERENCES

- Ciecierska M., Obiedzinski M. 2007. Influence of smoking process on polycyclic aromatic hydrocarbons' content in meat products. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 6 (4), 17-28
- Commission Regulation (EU) No 835/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs Text with EEA relevance
- 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 Text with EEA relevance
- Daszkiewicz T., Markowski M., Zapotoczny P., Winarski R., Kubiak D., Hnatyk N., Koba-Kowalczyk M. 2015. Chemical composition and pH of processed pork meat products supplied by a renowned polish manufacturer. *Polish Journal of Natural Sciences*, 30 (3), 275-283
- Dobriková E., Světlíková A. Occurrence of benzo[a]pyrene in some foods of animal origin in the Slovak Republic. *Journal of Food and Nutrition Research* Vol. 46, 2007, No. 4, pp. 181-185
- Džinić N., Ivić M., Jokanović M., Šojić B., Škaljac S., Tomović V. 2016 Chemical, Color, Texture and Sensory Properties of Čajna Kobasica, a Dry Fermented Sausage. *Quality of life*, 13, 1-2
- Grześkowiak E., Magda F., Lisiak D. 2011. Ocena zawartości fosforu oraz jakości mięsa i przetworów mięsnych dostępnych na rynku krajowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2 (75), 160-170
- Ikonić P., Petrović Lj., Tasić T., Džinić N., Jokanović M., Tomović V. 2010. Physicochemical, biochemical and sensory properties for the characterization of Petrovskáklobása (traditional fermented sausage). *Acta periodica technologica*. 41, 19–31
- Kubiak M., Polak M., Siekierko U. 2011. Zawartość B(a)P w rynkowych przetworach mięsnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 3, 120-129
- Makala H., Tyszkiewicz S., Wawrzyniewicz M. 2008. Characteristics of sensory quality and profile of popular market semi-coarse ground sausages. *Acta Agrophysica*, 11(1): 117–130
- Petrović, Lj, Džinić N, Ikonić, P, Tasić, T, Tomović, V. 2011. Quality and safety standardization of traditional fermented sausages. *Tehnologija mesa*, 52, 234-244
- Waszkiewicz-Robak B., Szerk 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. *Żywn. Nauka Technol. 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 adress:** prof. Władysław Migdał, DSc. Department of Animal Product Technology, University of Agriculture in Kraków, ul. Balicka 122, 31-149 Kraków, Poland. Email: [wladyslaw.migdal@urk.edu.pl](mailto:wladyslaw.migdal@urk.edu.pl)  
*Walczycka Maria, Zajac Marzena, Tkaczewska Joanna, Kulawik Piotr, Węsierska Ewelina*  
Department of Animal Product Technology, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow, Poland  
*Radović Čedomir, Živković Vladimir* Institute for Animal Husbandry in Belgrade-Zemun, Serbia  
*Migdał Łukasz* Department of Genetics and Animal Breeding, Faculty of Animal Sciences. University of Agriculture in Krakow, Poland  
*Migdał Anna* Institute of Veterinary Sciences, Faculty of Animal Sciences. University of Agriculture in Krakow, Poland

# VYUŽITÍ VEDLEJŠÍCH BÍLKOVINNÝCH PRODUKTŮ Z PORÁŽKY DRŮBEŽE NA PŘÍPRAVU KOLAGENU

## UTILISATION OF PROTEIN BY-PRODUCTS FROM POULTRY SLAUGHTERHOUSES FOR THE PREPARATION OF COLLAGEN

*Aneta Polaštková, Pavel Mokrejš, Robert Gál, Jitka Baďurová*

**Abstrakt:** Collagen is a water-soluble protein that is obtained by digestion of skins, bones, tendons, and other collagen-rich products. The slaughter of poultry produces a large amount of by-products. These by-products include, for example, poultry heads, legs, guts, and more. The aim of the work was to find out the possibilities of extraction of protein products from chicken stomachs after previous treatment with proteolytic enzyme. Further prepared 1st grade hydrolysates are subjected to physico-chemical tests to determine their quality (e.g. viscosity, clarity, content of inorganic substances, etc.). The effect of selected processing parameters (extraction temperature and time) on the (total) extraction efficiency was also monitored. The amount of enzyme added and the time of enzymatic treatment were constant in all experiments. The methodology of work was based on factorial experiments. The chicken stomachs were chosen as the by-product of the protein industry. The procedure was based on the grinding of the raw material onto the size of the defined size and the subsequent removal of non-collagen proteins and the slimming with 0.05 % NaOH, respectively with acetone. Extraction of hydrolysate of 1st and 2nd grade was carried out with subsequent filtration and drying. The yields of 2nd grade hydrolysate were 2.26 to 4.23 %. The amount of the extracted 1<sup>st</sup> grade hydrolysates ranged from 5.13 to 24.75 %. The ash content of the 1st grade hydrolysates ranged from 1.22 to 6.61 %. The clearance of 6.67 % hydrolysate solutions (measured at  $\lambda = 640$  nm) was determined in the range of 0.9-2.5 %. The pH ranged from 6.8 to 7.4.

**Keywords:** clarity, extraction, hydrolysate, collagen, chicken stomach, viscosity

### ÚVOD

Odpady, které vznikají při porážce živočichů, především savců, ale také ryb a ptáků, se využívají již odnepaměti. Nejprve sloužily k výrobě kusů oděvů a jednoduchých nástrojů, ale postupně našly tyto odpady širší možnosti využití. Velmi důležitým produktem při zpracování živočišných produktů je želatina, popř. hydrolyzát. Jedná se o přímý a potřebný zdroj bílkovin pro organismus, protože obsah proteinů a aminokyselin (AMK) je značný. V tabulce č. 1 můžeme vidět obsah AMK v kuřecích žaludcích. Celkový obsah AMK je 763,96 g/kg v sušině. Velké zastoupení zde má kyselina asparagová, kyselina glutamová a také leucin, lysin a arginin. V menší míře jsou zastoupeny AMK cysteinu, metioninu, histidinu a tryptofanu. (Zarkadas et.al., 1998).

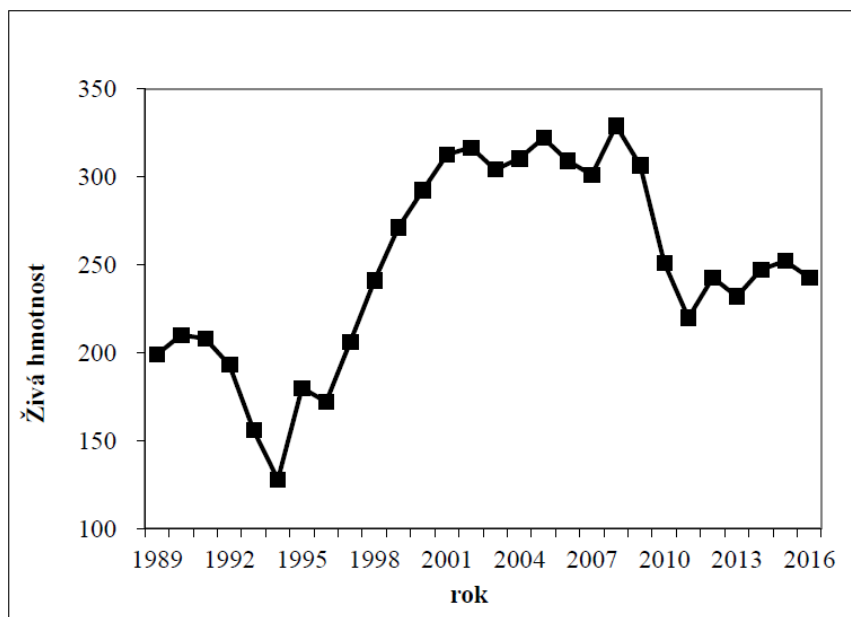
Při jatečném opracování zvířecích těl vznikají nepoživatelné odpady. Tyto odpady lze však dále zpracovávat na výrobu želatin, hydrolyzátů, ale také na výrobu krmné směsi a různých dekorativních předmětů. Odpady obsahují důležité živiny, jako jsou bílkoviny, minerály, vitamíny, ale také tuky. (Cheremisinoff et.al., 2013) Odpady z jatek dělíme na pevné a kapalné. Mezi pevné odpady z jatek patří kosti, kůže, žaludky, srdce atd. Kosti a kůže tvoří značnou část pevných odpadů z jatek. Kůže představují až 8 % z živé hmotnosti zvířete. Kosti představují až 13 % z živé hmotnosti zvířete. Kosti najdou své uplatnění především při výrobě krmných směsí, želatin a masokostní moučky. Kůže poté při produkci usní na výrobu sedacích souprav, kožených oděvů a také želatiny.

Tabulka 1 Obsah aminokyselin (AMK) v kuřecích žaludcích (Zarkadas et.al., 1998)

Název AMK	Obsah AMK v sušině (g/kg)	Název AMK	Obsah AMK v sušině (g/kg)
Kys. asparagová	70,26	Metionin	20,03
Treonin	35,19	Izoleucin	36,03
Serin	34,23	Leucin	53,63
Kys. glutanová	130,53	Tyrosin	23,23
Prolin	39,73	Fenylalanin	31,79
Glycin	40,07	Histidin	15,41
Alanin	30,07	Lysin	52,79
Cystein	20,04	Arginin	54,89
Valin	34,24	Tryptofan	6,84

Vnitřnosti jsou všechny orgány z trávicí, dýchací, nervové, oběhové a vylučovací soustavy. Krky, játra a srdce se využívají k přímé konzumaci. Ostatní vnitřnosti jsou přepracovány jako další přísada do produktů, např. do krmných směsí, výroba moučky a želatiny. Mezi vnitřnosti se řadí i drůbeží žaludky, konkrétně kuřecí žaludky. Žaludek je nepárový orgán, který je součástí trávicího ústrojí, ve kterém probíhá trávení pomocí enzymů a pomocí působení kyseliny chlorovodíkové. Žaludek je rozdělen na část svalnatou a na část žláznatou a představuje až 3 % z živé hmotnosti zvířete. Mezi kapalně odpady z jatek patří krev a odpadní voda. Krev představuje až 8 % z živé hmotnosti zvířete a využívá se na výrobu krevní moučky. Odpadní voda obsahuje proteiny, tuky a organismy. (Duben, 2000; Marvan, 1992)

Produkce jatečného opracování drůbeže na území ČR v posledních 30 letech značně kolísala. Na obrázku č. 1 můžeme vidět celkovou produkci na jatkách v letech 1989 – 2016. V letech 1989 až 1992 byla roční produkce kolem 200 000 tun, avšak v roce 1994 produkce poklesla na zhruba 125 000 tun. Od roku 1994 do roku 2002 produkce jatečných odpadů vzrostla ze 125 000 tun na 325 000 tun a poté po dobu 7 let stagnovala. V roce 2011 produkce opět klesla na 220 000 tun a od roku 2012 produkce stagnuje v intervalu od 220 000 tun do 250 000 tun. (USDA, 2015) Vzhledem k roční produkci drůbeže vzniká velké množství těchto odpadů a mnoho z nich obsahuje značnou část kolagenu (běháky, hlavy, kůže, žaludky) a jsou tedy vhodným alternativním zdrojem kolagenu.



Vedlejší živočišné produkty se zařazují do specifických kategorií, které odpovídají úrovni rizika pro zdraví lidí a zvířat. Tyto specifikace vyplývají z nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009 o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty. Vedlejší živočišné produkty se dělení do třech kategorií. Produkty první kategorie zahrnují celá těla a všechny části zvířete podezřelé z infekce. Produkty druhé kategorie zahrnují hnůj, obsah trávicího traktu, vedlejší produkty živočišného původu obsahující rezidua povolených látek. Produkty třetí kategorie zahrnují těla poražených zvířat a jejich části, které jsou vhodné k lidské spotřebě, ale z obchodního důvodu je nelze klasifikovat jako produkty určené k lidské spotřebě. Tyto produkty se dají v průmyslu využívat k výrobě krmných směsí. (Evropský parlament a rada evropské unie, 2009) Při jatečném opracování zvířecích těl vznikají i drůbeží žaludky. Žaludek se u drůbeže skládá ze dvou částí, a to z části svalnaté a části žláznaté. Avšak pouze část svalnatá je považována za požitelný produkt. Žaludek tvoří kolem 3 % hmotnosti drůbeže, ale vnitřnosti až 8 % z celkové hmotnosti drůbeže. Pro praxi se komerčně získaná želatina skládá z 18 aminokyselin, z nichž 9 je esenciálních. Chybí zde esenciální aminokyselina zvaná tryptofan. Základní vlastností želatiny je, že je bez zápachu a chuti, má lehce nažloutlou barvu, je křehká a transparentní. Želatina má uplatnění především v potravinářském průmyslu, ale také v kosmetickém, farmaceutickém, medicínském a fotografickém průmyslu. (Haug et.al., 2011)

Želatiny se dělí podle typu opracování na želatiny typu A a želatiny typu B. Při opracování výchozí suroviny pomocí kyselin, kdy pH je udržováno v intervalu od 1,5 až do 3 a surovina se opracovává po dobu 8 až 30 hodin, získáme želatinu typu A. Oproti tomu, pokud opracováváme výchozí surovinu pomocí zásady, kdy pH je udržováno kolem 10 až 12 a surovina se opracovává do dobu až 20 dní, se získá želatina typu B. (Haug et.al., 2011)

Naše pracoviště se dlouhodobě zabývá zpracováním jatečných odpadů, např. zpracování kožního odpadu pomocí enzymatické hydrolýzy nebo získání bílkovinných produktů z kuřecích běháků. (Janáčková et.al., 2006; Mokrejš et.al., 2017) Práce se zabývala zpracováním kuřecích žaludků vznikajících při jatečném zpracování zvířecích těl a jeho následnou enzymatickou hydrolýzou s cílem navrzení extrakce hydrolyzátu s maximální výtěžností a s nejideálnějšími požadovanými vlastnosti a aplikací ve vhodném průmyslu.

Cíle příspěvku jsou navrzení technologických podmínek extrakce bílkovinného hydrolyzátu, biotechnologické opracování kuřecích žaludků s využitím komerční proteázy, posouzení vlivu jednotlivých faktorů (teploty a doby extrakce) na množství a kvalitu vyextrahovaných hydrolyzátů, navrzení extrakce hydrolyzátu s maximální výtěžností a charakterizace získaných produktů a zhodnocení výsledků pro praxi.

## MATERIÁLY A METODIKA

Metodika práce byla založena na faktorových pokusech. Jedná se o optimalizační metodu, která je časově náročnější a velmi citlivá na chybu měření, ale poskytuje rozsáhlé množství informací. Cílem je navrhnout takové uspořádání pokusů, které bude nejlépe vystihovat vliv těchto faktorů. Teplota extrakce (faktor A) bude v intervalu od 60 do 72 °C s tím, že se teplota bude měnit v krocích po 3 °C. Doba extrakce (faktor B) bude ve dvou definovaných úrovních, a to 15 a 60 minut. Množství přídavku enzymu (0,4 % enzymu vztaženo na sušinu materiálu) a doba enzymatického opracování (48 hodin) bude konstantní u všech experimentů. Úplný faktorový plán, který se používá při nižším počtu faktorů, spočívá v postupném otestování všech možných kombinací faktorů. Pokud jsou uvažovány dvě úrovně faktoru (horní a dolní hodnota), používá se k určení množství pokusů vzorec  $2^k$ , kde „k“ je počet faktorů. Při úplných faktorových plánech jsou provedeny všechny možné kombinace úrovní sledovaných faktorů. Vzhledem k množství experimentů se úplný faktorový plán zjednodušuje různými způsoby, například využitím jedno faktorového plánu nebo částečného faktorového plánu,

který navrhuje jen polovinu, čtvrtinu nebo osminu pokusů oproti úplnému faktorovému plánu. Další možností jsou takzvané smíšené faktorové experimenty. Při jejich plánování je navržen různý počet úrovní pro jednotlivé faktory. Pro počet experimentů se použije vzorec  $j^m \times k^n$ , tj.  $m$  faktorů je dáno o  $j$  úrovních a  $n$  faktorů o  $k$  úrovních. (Beneš et.al., 1957)

Jako vedlejší bílkovinný produkt jatečního průmyslu byly zvoleny kuřecí žaludky. Surovinu dodala firma RACIOLA Uherský Brod, spol. s.r.o. Složení vstupní suroviny je uvedeno v tabulce č. 2. Kuřecí žaludky byly rozmělněny na částice o velikosti cca 3 mm pomocí upravené řezačky masa, a poté zamrazeny pro další zpracování. Obsah sušiny a minerálních látek byl stanoven dle „Standardní testovací metody pro jedlé želatiny“. (Gelatin manufacturers institute of America, 2013) Celkový obsah bílkovin byl stanoven pomocí Kjeldahlova dusíkové metody. Podíl kolagenu byl stanoven pomocí zjištění obsahu hydroxyprolinu vynásobený koeficientem 8. Obsah hydroxyprolinu je nutno stanovit definovanou metodou ISO 3496-1978. Obsah tuku byl zjištěn pomocí extrakční metody dle Soxhleta.

Tabulka 2 Složení vstupní suroviny

Obsah sušiny (%)	Celkový obsah bílkovin <sup>1)</sup> (%)	Podíl kolagenu <sup>1)</sup> (%)	Obsah tuku <sup>1)</sup> (%)	Minerální látky <sup>1)</sup> (%)
19,10±0,05	75,6±0,8	98,5±0,1	27,10±0,01	3,900±0,005

1) % v sušině produktu

## POUŽITÉ PŘÍSTROJE, POMŮCKY A CHEMIKÁLIE

Řezačka masa SPAR Mixer SP-100AD-B (TH Industry RD, Taiwan), pH metr WTW pH 526, přístroj extrakční dle Soxhleta, ruční ponorný mixér TEFAL (HB711), třepací přístroj LT 2, laboratorní váhy Kern 440–47, analytické laboratorní váhy Kern 770, sušárna MEMMERT ULP 400, sušárna WTB Binder E-28-TB1, topné hnízdo LTHS 250 a 500 (výrobce Brněnská Drutěva v.a.), topná deska Schott s magnetickým míchadlem, Sevens-LFRA analyzátor (pro stanovení pevnosti gelu), diferenční snímací kalorimetr DSC1 Mettler Toledo, plastové lahve se šroubovacím uzávěrem o objemu 2 l pro odstranění nekolagenních bílkovin, Erlenmayerova baňka 2 l pro odtučnění, Erlenmayerova baňka 0,5 l pro enzymatické opracování, odměrný válec 25 ml, 250 ml, pipeta 2 ml, Petriho misky, váženky, baňka pro stanovení pevnosti gelu dle Blooma, filtrační papír nízké hustoty – KA-1 (Filpap, ČR), kovové sítko s rozměrem ok 0,5×0,5 mm, stříčka s destilovanou vodou, nůžky, keramický kelímek, nepřilnavé podložky pro vysušení, enzym POLARZYME 6.0 T, 0,05% roztok NaOH, aceton, 3% roztok HCl, chloroform, etanol, destilovaná voda. Enzym POLARZYME 6.0 T je enzym, který se řadí do třídy proteázy.

## METODY ANALÝZY SUROVIN A PRODUKTŮ

Pro analýzy hydrolyzátů byly použity postupy „Standardní testovací metody pro jedlé želatiny“. (Galatin manufacturers institute of America, 2013) Jedná se o stanovení obsahu sušiny a popelovin, stanovení kinematické viskozity a stanovení čirosti hydrolyzátu.

**Stanovení obsahu sušiny** bylo provedeno u odtučněné suroviny. Výsledek byl použit pro navážku přidaného enzymu v gramech (w/w) podle faktoru A. Byla provedena dvě stanovení, ze kterých se poté vypočítal potřebný průměr. Misky byly vloženy do sušárny a sušeny při 103±1 °C po dobu 3 h. **Stanovení obsahu popelovin** bylo provedeno ze získaných vzorků. Vzorek v kelímku byl spalován nad kahanem v digestoři po dobu 1 hodiny. Následně byl kelímek umístěn do muflové pece na dobu 3 hodin. Pec byla předem vyhřátá na 600 °C. Výpočet sušiny a obsahu popelovin byl proveden podle následujícího vztahu:

$$X = \frac{m_1}{m_0} \cdot 100 (\%)$$



*X ... obsah sušiny/popelovin ve vzorku [%],  $m_1$  ... hmotnost vzorku/kelímku po vysušení/spálení [g],  $m_0$  ... hmotnost vzorku/kelímku před vysušením/spálením [g]*

**Stanovení kinematické viskozity** bylo stanoveno pomocí měření doby průtoku, 17 ml roztoku hydrolyzátu v destilované vodě o koncentraci 6,67 % (w/w), Ubbelohdeho viskozimetrem při teplotě 60 °C. Naměřená doba průtoku byla přepočítána na viskozitu dosazením do níže uvedeného vzorce.

$$v = k \cdot t - \frac{B}{t}$$

*v ... kinematická viskozita [ $\text{mm}^2/\text{s}$ ], B ... konstanta ke korekci na kinetickou energii určená z rozměrů viskozimetru (2,8), k ... konstanta viskozimetru zjištěná ověřenou kalibrační kapalinou (0,5), t ... aritmetický průměr změřených průtoků dob [s]*

**Stanovení čirosti hydrolyzátu.** Čirost 6,67 % hydrolyzátového roztoku se stanoví při 45 °C měřením transmitance přes kyvetu 1 cm při vlnové délce 640 nm (předem provedena kalibrace na destilovanou vodu).

## POSTUP PRÁCE

Blokové schéma postupu práce opracování rozemletých surových kuřecích žaludků na hydrolyzát I. a II. jakosti je uvedeno na obrázku č. 2.

**Rozemletí surových kuřecích žaludků.** Žaludky byly rozmělněny na částice o velikosti cca 3 mm pomocí upravené řezačky masa a poté zamrazeny pro další zpracování.

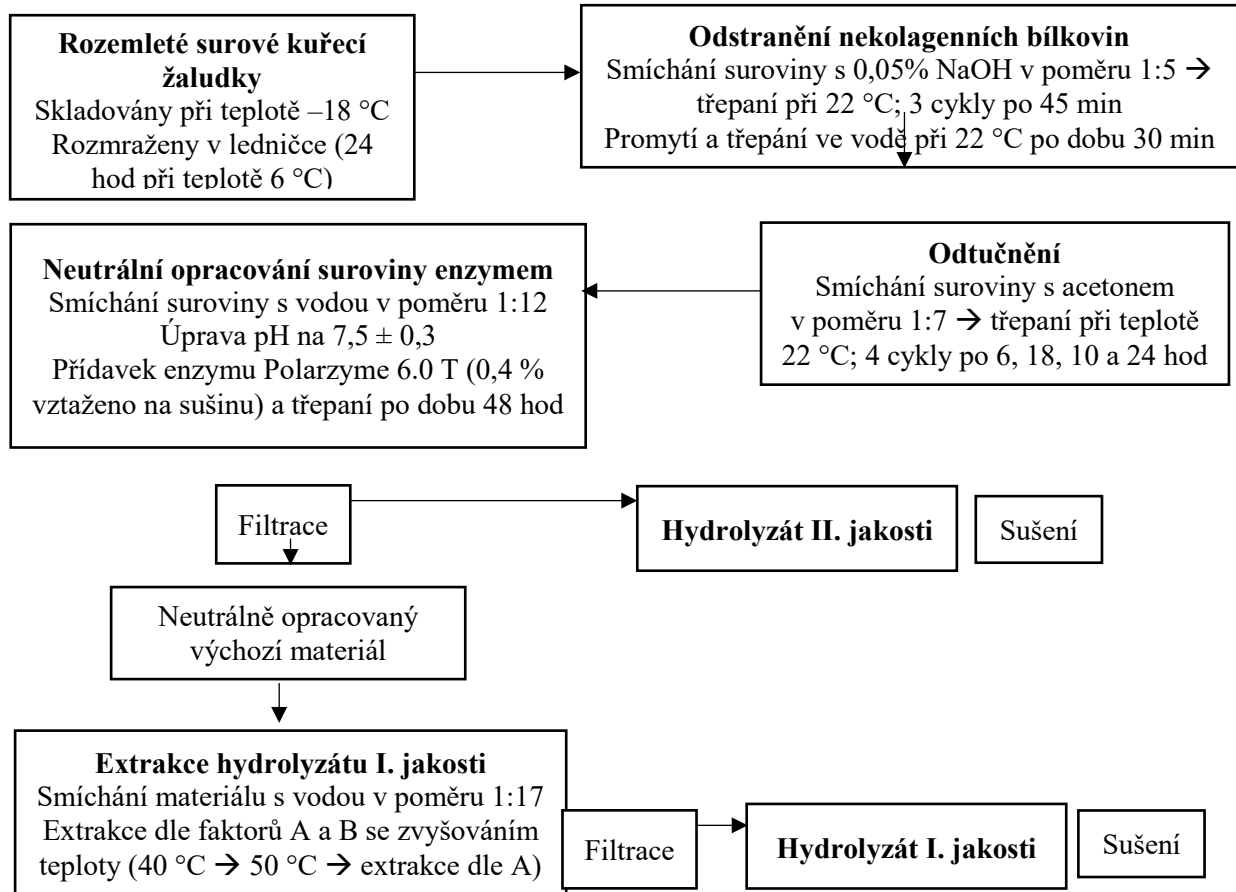
**Odstranění nekolagenních bílkovin.** Opakovaně 3× po sobě bylo provedeno smíšení suroviny s 0,05 % NaOH v poměru 1:5 (w/v), a následně třepání 45 min při pokojové teplotě. Poté byla surovina smíchána s vodou v poměru 1:5 (w/v) a třepána dalších 30 min při pokojové teplotě. Následovala filtrace a promytí vodou. Surovina byla poté rozprostřena na plechu a vložena do sušárny s cirkulací vzduchu, kde se sušila při teplotě 35 °C cca 48 hodin. Po usušení byla surovina pomocí mixéru rozmělněna na menší částice o velikosti cca 3 mm.

**Na odtučnění přesušené suroviny** byl použit aceton, kdy byla surovina smíchána s acetonem v poměru 1:7 (w/v) v Erlenmayerově baňce. Směs byla třepána při pokojové teplotě, na třepačce po dobu 58 hodin. Byly provedeny 4 navazující třepací cykly (vždy s novým rozpouštědlem), výměna rozpouštědla proběhla po 6, 18, 10 a 24 hodinách třepání. Po ukončení odtučňování byla po filtraci odtučněná surovina rozprostřena na plech a nechala se volně ležet k dosušení. Odtučněná surovina byla skladována v uzavřené nádobě.

**Pro neutrální opracování suroviny enzymem** byl použit následující postup. Surovina + destilovaná voda byla smíchána v poměru  $\approx$  1:12. Po cca 15 minutách třepání bylo upraveno pH na  $7,5 \pm 0,3$  pomocí 3% roztoku HCl. Byl přidán enzym v množství 0,4 %. Dále pokračovalo třepání při pokojové teplotě po dobu 48 hodin. Po uplynutí 48 hodin byla provedena filtrace přes kuchyňské sítko, které bylo opatřeno ještě 3 vrstvami PA tkaniny, a ta byla vysušena s nerozloženým podílem. Přefiltrovaná kapalina byla vylita na nepřilnavou podložku a vysušena (tento vyextrahovaný podíl byl označen jako „hydrolyzát II. jakosti“). Materiál zachycený na kuchyňském sítku byl důkladně promyt vodou z kohoutku, aby se odstranil veškerý enzym.

**Extrakce hydrolyzátu I. jakosti.** Promytý materiál byl smíchána s destilovanou vodou v poměru  $\approx$  1:17. Směs byla zahřata na teplotu 40 °C a po dosažení teploty se míchala 30 minut, byl zaznamenán čas, za který bylo dosaženo teploty 40 °C. Následně byla teplota směsi zvýšena na 50 °C a po dosažení této teploty se míchala 30 minut. Nakonec byla směs zahřata na konečnou extrakční teplotu podle faktoru B (tj. 60, 63, 66, 69 nebo 72 °C) a po dosažení této teploty byl extrahován hydrolyzát I. jakosti podle faktoru A (15 nebo 60 minut). Ihned po

uplynutí času extrakce byla provedena filtrace a přefiltrovaná kapalina byla zahřáta k varu a při této teplotě se udržovala po dobu 3 minut (je to z důvodu inaktivace zbytků enzymu). Vzniklý roztok byl nalit na plech o ploše 600 cm<sup>2</sup> s nepřilnavou fólií a vysušen při 45 °C, cca 2 dny a vysušený film byl zvážen. Nerozložený podíl byl vysušen při 103 °C a následně zvážen spolu s tkaninou použitou při filtraci (PA tkanina byla zahrnuta do hmotové bilance).

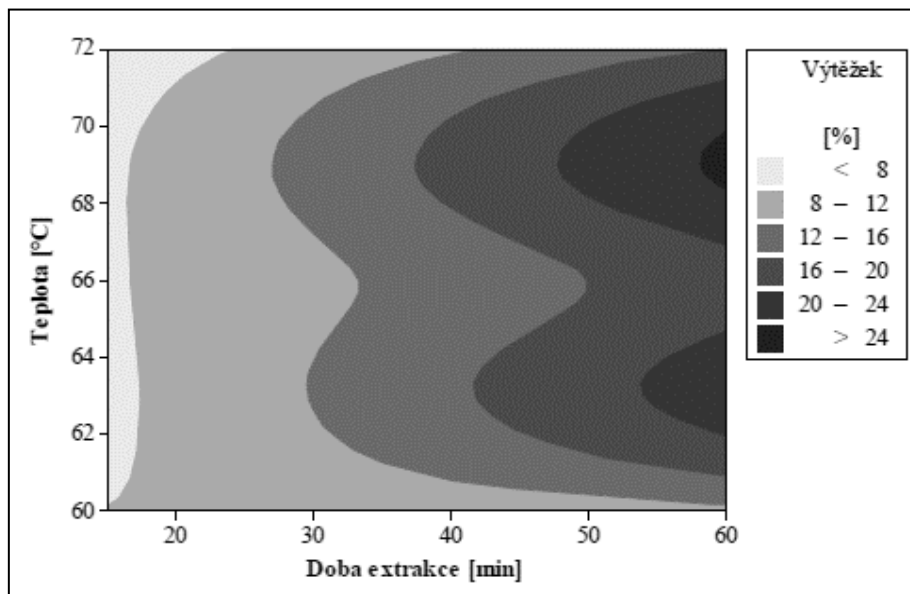


Obrázek 2 Blokové schéma opracování kuřecích žaludků na hydrolyzát I. jakosti

## VÝSLEDKY A DISKUZE

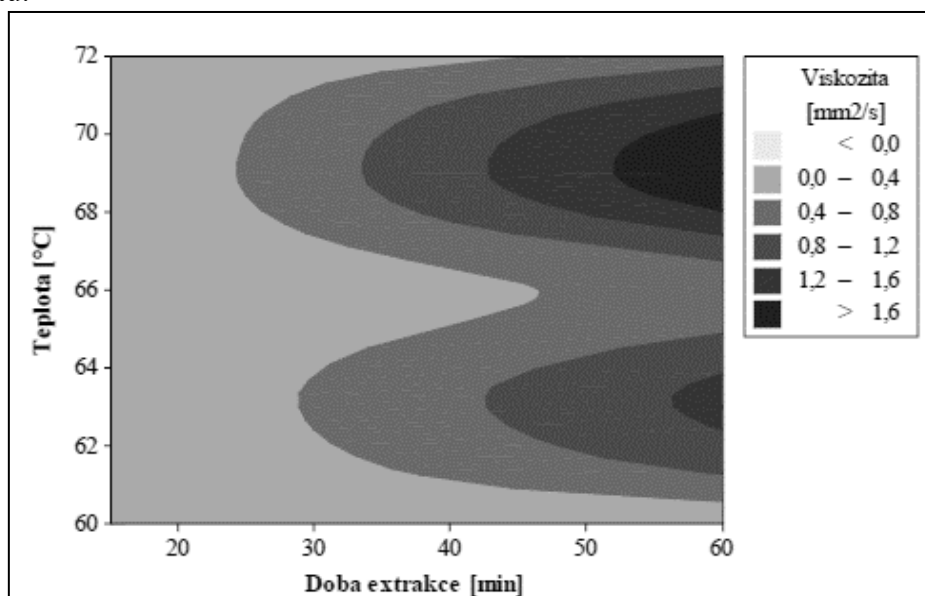
V průběhu experimentů bylo připraveno 11 hydrolyzátů dle rozpisu v tabulce č. 3. Množství hydrolyzátu II. jakosti získaného po enzymatickém opracování v 1. stupni se pohybovalo od 2,26 % do 4,23 %. Výtěžek hydrolyzátu I. jakosti byl 5,94 až 24,75 %. Množství nerozloženého podílu po extrakci se pohybovalo mezi 62,47 – 88,50 %. Celková účinnost extrakce byla v intervalu od 9,86 do 32,84 %. Obsah popelovin byl stanoven v rozmezí hodnot od 1,22 do 6,61 %. Naměřené hodnoty viskozity byly 0,57 – 1,94 mm<sup>2</sup>/s. Některé vzorky nebyly měřeny z důvodu malého množství vyextrahovaných hydrolyzátů, pro které nemohl být připraven roztok o předepsané koncentraci (minimální potřebné množství roztoku je 16 ml a ve výsledcích je u takovýchto vzorků uvedena viskozita = 0). Naměřené hodnoty pH se pohybovaly v rozmezí od 6,8 do 7,4. Sušina u odtučněné suroviny byla stanovena v rozmezí 93,11 – 94,82 % a zbytkový tuk odtučněné suroviny byl stanoven v množství 9,55 %. Měřením transmitance 6,67% roztoku hydrolyzátů byly zjištěny hodnoty 0,9 – 2,5 %. Výsledky experimentů byly zpracovány pomocí software MiniTab 15, který slouží pro statistické zpracování dat.

Rozpis experimentů s technologickými podmínkami, charakterizací procesu a charakterizací připravených hydrolyzátů je uveden v tabulce č. 3.



Obrázek 3 Množství vyextrahovaného hydrolyzátu v závislosti na teplotě a době extrakce

Z obrázku č. 3 je patrné, že nejvyššího výtěžku hydrolyzátu bylo dosaženo při extrakci trvající 60 minut při teplotě 69 °C. To odpovídá pozorování v průběhu prováděných extrakcí, kdy při překročení teploty 65 °C došlo k redukci objemu částic suroviny a ke změně jejich zabarvení (z lehce nažloutlé se změnila na světle hnědou). Zároveň je z grafu vidět, že při zvýšení teploty extrakce na 72 °C došlo ke snížení množství extrahované hydrolyzátu o 35 %. Z grafu dále vyplývá, že při extrakci trvající 15 minut nemá teplota na výtěžek téměř žádný vliv, a při překročení teploty 70 °C, u takto krátké extrakce, dochází k poklesu výtěžku hydrolyzátu.



Obrázek 4 Viskozita v závislosti na teplotě a době extrakce

Z obrázku č. 4 vyplývá, že při krátké době extrakce nemá teplota žádný vliv na viskozitu získaných hydrolyzátů a její hodnoty jsou velmi nízké. To se změnilo při prodloužení

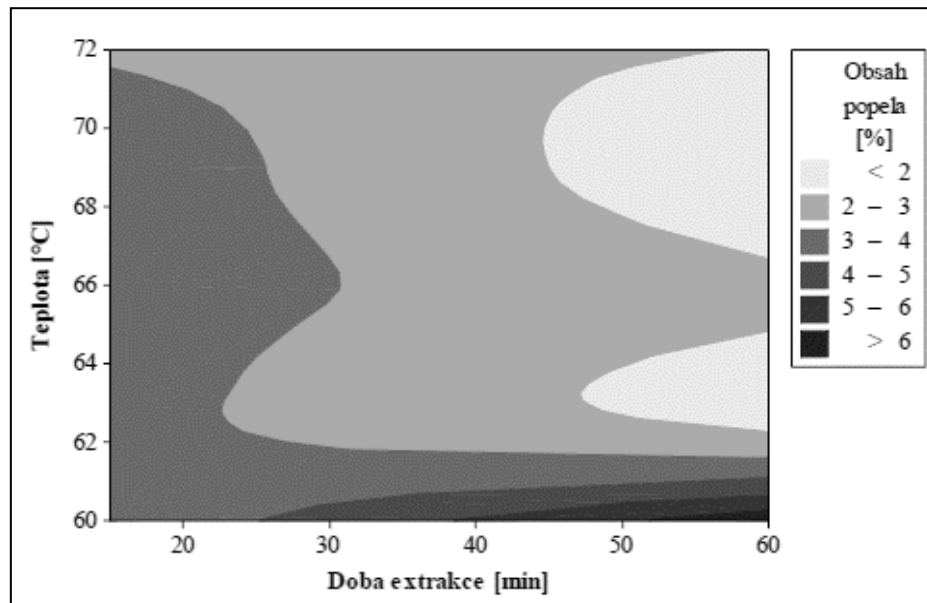
Tabulka 3 Rozpis experimentů s technologickými podmínkami, charakterizací procesu a charakterizací připravených hydrolyzátů

Exp. č.	Technologické podmínky		Charakterizace procesu					Charakterizace hydrolyzátu			
	Faktor A Teplota extrakce hydrolyzátu (°C)	Faktor B Doba extrakce hydrolyzátu (min)	Výtěžek hydrolyzátu II. jakosti (%)	Výtěžek hydrolyzátu I. jakosti (%)	Množství nerozloženého podílu (%)	Celková účinnost extrakce (%)	Bilanční chyba (%)	Obsah popela <sup>1)</sup> (%)	Viskozita (mm <sup>2</sup> /s)	pH	Sušina (%)
1	60	15	3,15	8,06	85,3	11,21	3,5	3,23	0,00	6,8	94,43
2	60	60	3,66	5,13	84,7	14,65	6,5	6,61	0,00	7,0	94,22
3	63	15	3,69	7,23	87,6	10,91	1,5	3,31	0,00	6,9	94,46
4	63	60	3,30	21,98	62,5	31,87	5,7	1,49	1,30	7,1	94,61
5	66	15	2,26	7,60	88,5	9,86	1,7	3,43	0,00	6,8	94,14
6	66	60	3,69	18,44	69,0	29,20	5,4	2,20	0,57	7,1	93,11
7	69	15	3,69	7,37	83,4	16,00	3,2	3,55	0,00	7,0	93,61
8	69	60	3,12	24,75	67,1	32,84	1,0	1,22	1,94	7,4	94,32
9	72	15	4,23	5,94	79,8	16,85	10,0	2,83	0,00	7,1	93,20
10	72	60	3,66	16,12	70,9	26,67	6,0	1,94	0,57	7,3	93,47
11 <sup>2)</sup>	66	40	4,10	11,50	83,4	18,32	1,5	2,29	0,00	7,0	94,58

1) % v sušině produktu

2) Referenční experiment bez enzymatického opracování suroviny

extrakční doby. Při prodloužení extrakční doby a zvýšení extrakční teploty na 69 °C vykazovaly hydrolyzáty nejvyšší hodnotu 1,94 mm<sup>2</sup>/s. Hydrolyzát extrahovaný při vyšší teplotě měl ale opět hodnotu viskozity nižší, a to 0,57 mm<sup>2</sup>/s.



Obrázek 5 Obsah popelovin v závislosti na teplotě a době extrakce

Z obrázku č. 5 vyplývá, že obsah popelovin byl v extrahovaných hydrolyzátech značně variabilní a v mnoha případech výrazně překračoval maximální hodnotu povolenou pro jedlé želatiny. Nejvyšší obsah popelovin, překračující tuto hranici více jak trojnásobně, byl zjištěn u hydrolyzátů extrahovaných při nízkých teplotách po delší dobu.

## ZÁVĚR

Práce se zabývala zpracováním kuřecích žaludků, vznikajících při jatečném zpracování zvířecích těl. Při práci byla zpracovávána tkáň kuřecích žaludků a pro opracování suroviny před extrakcí hydrolyzátů byl zvolen biotechnologický postup. Byly navrženy faktorové pokusy podle smíšeného schématu, kdy byly sledovány dva faktory s různým počtem úrovní (faktor A, teplota s pěti úrovněmi 60 až 72 °C a faktor B, doba extrakce s dvěma úrovněmi 15 a 60 min). V průběhu experimentu byly nejprve z rozemletých kuřecích žaludků (velikost částic 3 mm) odstraněny nekolagenní bílkoviny a pigmenty pomocí roztoku NaOH, následovalo rozemletí usušené suroviny a její odtučnění v acetonu. Odtučněná surovina byla před extrakcí hydrolyzátů opracována pomocí enzymu a poté proběhla vlastní extrakce v horké vodě podle faktorů A a B. Extrahované hydrolyzáty byly vysušeny v tenkém filmu a následně podrobeny analýze pro posouzení vlivu procesních parametrů na účinnost extrakce a kvalitu získaných produktů.

Při experimentech bylo dosaženo výtěžku hydrolyzátu II. jakosti v rozmezí 2,26 až 4,23 %. Množství extrahovaných hydrolyzátů bylo v rozmezí 5,13, a to při teplotě 60 °C a době extrakce 60 min, až 24,75 % (při teplotě 69 °C a době extrakce 60 min). Obsah popelovin se pohyboval v intervalu od 1,22 (při teplotě 69 °C a době extrakce 60 min) až do 6,61 % (při teplotě 60 °C a době extrakce 60 min). Čírost 6,67 % roztoků hydrolyzátů (měřeno při  $\lambda=640$  nm) byla stanovena v rozmezí 0,9–2,5 %. Hodnota pH se pohybovala od 6,8–7,4.

#### LITERETURA

- Beneš, Milan a Likeš, Jiří. Faktorové experimenty v průmyslovém výzkumu. 1957, Sv. 1, 2, stránky 18 – 30.
- Duben, Josef. Agris. [Online] Státní veterinární správa, 28. listopadu 2000. [Citace: 10. ledna 2018.] [http://www.agris.cz/zemedelstvi?id\\_a=98678](http://www.agris.cz/zemedelstvi?id_a=98678).
- Evropský parlament a rada evropské unie. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009. EUR-Lex. [Online] 21. října 2009. [Citace: 10. prosince 2017.]. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX:32009R1069>.
- Gelatin Manufacturers Institute of America, Inc. GELATIN MANUFACTURERS INSTITUTE OF AMERICA. [Online] 2013. [Citace: 17. 3 2018.] <http://www.gelatin-gmia.com>.
- HAUG, I. J. a DRAGET, K. I. Gelatin. [autor knihy] G. O. PHILIPS a P. A. WILLIAMS. Handbook of Food Proteins. 1. Cambridge: Woodhead Publishing, 2011, 5, stránky 92 – 113; ISBN 978–1–84569–758–7.
- Cheremisinoff, Nicholas, Rosenfield, Paul A Davletshin, Anton. Meat Processing and Rendering. Responsible Care: A New Strategy for Pollution Prevention and Waste Reduction Through Environment Management. místo neznámé: Elsevier, 2013, 6.5, stránky 422 – 424, ISBN: 9780127999852.
- Janáčková, Dagmar, Kolomazník, Karel, Mokrejš, Pavel, Vašek, Vladimír., Optimization of enzymatic hydrolysis of leather waste, World Science and Engineering Academy and Science, 2006, ISSN 1109-2777.
- Marvan, František. Morfologie hospodářských zvířat. 1. Praha: Zemědělské nakladatelství Brázda, 1992. ISBN: 80-209-0226-0.
- Mokrejš, Pavel, Gál, Robert, Janáčková, Dagmar, Plšková, Mária, Zacharová, Michaela. Chicken paws by-products as an alternative source of proteins. *Oriental Journal of Chemistry*, 2017, vol. 33, ISSN 0970-020 X.
- USDA. United States Department of Agriculture. [Online] 2015. [Citace: 23. dubna 2018.] <https://www.usda.gov>.
- Zarkadas, Constantinos G. A Maloney, Sean. Assessment of the Protein Quality of the Smooth Muscle Myofibrillar and Connective Tissue Proteins of Chicken Gizzard. *Poultry Science*. 1. květen 1998, Sv. 77, stránky 770–779; <https://doi.org/10.1093/ps/77.5.770>.

**Kontaktní adresa:** Bc. Aneta Polaščíková, Ústav inženýrství polymerů, Fakulta technologická, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Vavrečkova 275, 760 01 Zlín, Česká republika, e-mail: [a\\_polastikova@utb.cz](mailto:a_polastikova@utb.cz)

# VPLYV PODÁVANIA HUMÍNOVÝCH LÁTOK VO VÝKRME BROJLEROVÝCH KURČIAT NA SENZORICKÉ PARAMETRE PRODUKOVANÉHO MÄSA THE EFFECT OF HUMIC SUBSTANCES SUPPLEMENTATION DURING BROILER FATTENING ON SENSORY PARAMETERS OF PRODUCED MEAT

*Boris Semjon, Dana Marcinčáková, Iveta Jad'uttová, Martin, Bartkovský, Peter Váczi,  
Alena Nagyová, Slavomír Marcinčák*

**Abstract:** In this work we analysed the effect of 0.80 % and 1.00 % supplementation of humic substances in broiler nutrition during their fattening period. We have examined the effect of feed supplementation on the sensory parameters of the breast meat after cooking. We found a statistically significant effect of 1.00 % humic substances addition on the scent, brightness and redness of the meat ( $p < 0.05$ ). The assessors rated the experimental groups with a higher points than control group. We can conclude that humic substances influenced the sensory quality of produced poultry meat.

**Keywords:** poultry, meat, sensory analysis, quality, CIElab

## ÚVOD

Kvalita produkovaného hydinového mäsa závisí aj od výkrmu a zloženia kŕmnej dávky. Z perspektívneho hľadiska pre konzumentov je hydinové mäso veľmi atraktívny a dôležitý prvok vo výžive ľudí, pre jeho nutričné a dietetické vlastnosti, senzoricke kvalitu, ale aj rýchlu kulinársku prípravu (Vašková et al., 2018).

Humínové látky sú produktom rozloženia organickej hmoty, čiastočne rastlinného pôvodu (Arif et al., 2018) a pôdnych zložiek (Rath et al., 2006). Tieto látky majú účinky podobné rastovým faktorom a preto majú viaceré zdravotné účinky a nutričné benefity ako kŕmne aditíva vo výžive domácich zvierat (Ozturk et al., 2012). Použitie humínových látok vo výžive zvierat bolo hlavnou myšlienkou náhradnej terapie v etiológii chorôb tráviaceho systému ako hnačkový syndróm alebo podvýživa (Esenbuğa et al., 2008). Pri utilizácii humínových látok vo výkrme brojlerov pozorovali autori Arif et al. (2004) lepšiu konverziu krmiva a zníženie mortality. Humínové látky sa môžu pridávať vo výžive zvierat do kŕmnej zmesi alebo do vody (Žatko et al., 2014).

Cieľom experimentu bolo posúdiť vplyv prídavku humínových látok v rôznych koncentráciách na senzoricke parametre prsnej svaloviny brojlerov.

## MATERIÁL A METÓDY

Protokol pre tento experiment bol schválený Etickou komisiou pre starostlivosť zvierat Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach (Slovenská republika). Pokus sme vykonali v zmysle smernice Európskeho Parlamentu a Rady o ochrane zvierat používaných na vedecké účely (Smernica 2010/63/EU, 2010) a s povolením Štátnej veterinárnej a potravinovej správy Slovenskej republiky č. 3040/14-221. Pre účely tohto experimentu sme získali 90 kusov jednodňových brojlerových kurčiat COBB 500 (*Gallus gallus domesticus*) zo spoločnosti Hydina Slovensko (Slovenská republika). Kurčatá sme rozdelili do troch skupín: kontrolná a dve pokusné skupiny (30 ks v každej skupine). Kurčatá boli kŕmené komerčnými kŕmnymi zmesami (DeHeus, Bučovice, Česká republika) podľa veku kurčiat – BR1 štartovacia (od 1. do 10. dňa), BR2 rastová (od 11. do 31. dňa) a BR3 finálna (od 32. do 39. dňa). Kŕmna dávka kurčiat pokusných skupín bola obohatená humínovými látkami v koncentrácii 0,8 % (pokusná skupina A) a 1,0 % (pokusná skupina B). Zvieratá mali prístup

k vode a krmivu *ad libitum* počas celej doby výkrmu. Vo všetkých skupinách zvierat neboli počas experimentu pozorované klinické príznaky ochorenia alebo abnormálneho úhynu.

Senzorické vlastnosti vzoriek hydínového mäsa sme hodnotili v senzorickom laboratóriu vybudovaného podľa všeobecného návodu na usporiadanie senzorických pracovísk (ISO 8589, 2007) v Inštitúte vzdelávania veterinárnych lekárov, Košice, Slovenská republika. Vzorky mäsa (prsnej svaloviny hydiny) sme predkladali hodnotiteľom uvarené vo vode pri 70 °C po dobu 10 minút v jadre mäsa, osušené a následne porciované v rozmeroch 25 x 25 x 25 mm, ktoré boli uložené na bielych plastových tanieroch označené samostatne trojčiferným číslom. Pred predkladením na posudzovanie boli vzorky temperované na teplotu 18 ± 2 °C. Posudzovatelia vyplňali protokol pre hedonické senzorické hodnotenie, ktorý bol zostavený podľa Lawlessa a Heymanna (2010). Protokol hodnotenia obsahoval jednotlivé organoleptické vlastnosti typické pre varené hydínové mäso. Hodnotitelia posudzovali každú predloženú vzorku pomocou päť-bodovej stupnice. Posúdili pritom vôňu, chuť, šŕavnatosť, krehkosť a celkovú prijateľnosť predkladaných vzoriek.

Kolorimetrické parametre surovej prsnej svaloviny brojlerových kurčiat sme analyzovali pomocou prístroja Chroma meter CR-410 (meracia plocha Ø 50 mm, priemerné denné osvetlenie s teplotou farby približne 6500 K (D65), štandardný pozorovací uhol 2°, Konica Minolta, Sensing, Inc., Japan) pomocou programu Color Data Software CM-S100w SpectraMagic™ NX (Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japan, 2014). Pre štatistické vyhodnotenie sme použili software R - statistics (R Core Team, 2017). Získané výsledky organoleptického hodnotenia sme analyzovali štatistickou metódou jednocestnej analýzy rozptylov (ANOVA) a Tukeyho testom pre viacnásobné porovnávanie priemerov na hladine štatistickej významnosti  $p < 0,05$ . Vplyv suplementácie humínových látok vo výkrme brojlerových kurčiat sme zvolili ako hlavný faktor týchto metód.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tomto experimente sme senzoricky posudzovali vzorky mias prsnej svaloviny brojlerových kurčiat po uvarení. Posudzovatelia hodnotili vôňu, chuť, šŕavnatosť, krehkosť a celkovú prijateľnosť vzoriek na päť bodovej stupnici (Tabuľka 1).

**Tabuľka 1** Výsledky senzorického hodnotenia mäsa prsnej svaloviny brojlerových kurčiat po tepelnom ošetrení (priemer ± SD)

Parameter	Kontrolná skupina	Skupina A (+ 0,80 % HL)	Skupina B (+ 1,00 % HL)	p - hodnota
Vôňa	3,17 ± 0,75 <sup>b</sup>	3,83 ± 1,17 <sup>ab</sup>	4,50 ± 0,55 <sup>a</sup>	< 0,05
Chuť	3,75 ± 0,61 <sup>a</sup>	4,17 ± 0,98 <sup>a</sup>	4,00 ± 0,63 <sup>a</sup>	> 0,05
Šŕavnatosť	2,58 ± 0,49 <sup>a</sup>	3,83 ± 1,17 <sup>a</sup>	2,83 ± 0,98 <sup>a</sup>	> 0,05
Krehkosť	3,50 ± 1,05 <sup>a</sup>	3,67 ± 1,21 <sup>a</sup>	3,00 ± 0,63 <sup>a</sup>	> 0,05
Celková prijateľnosť	3,19 ± 0,19 <sup>a</sup>	3,88 ± 0,86 <sup>a</sup>	3,58 ± 0,38 <sup>a</sup>	> 0,05

HL – humínové látky; Priemery zdieľajúce zhodný horný index v riadkoch nie sú vzájomne štatisticky významne rozdielne (Tukeyho test,  $p < 0,05$ ).

Z dosiahnutých výsledkov senzorického hodnotenia vzoriek mias sme zistili štatisticky významný rozdiel pokusných skupín oproti kontrolnej skupine len v organoleptickom parametri vône. Hodnotitelia ohodnotili vôňu mäsa pokusnej skupiny B 1,42-násobne vyšším počtom bodov oproti kontrolnej skupine, pričom tento rozdiel bol zistený na hladine štatistickej významnosti  $p < 0,05$ . Vôňa mäsa pokusnej skupiny A bola taktiež ohodnotená vyšším počtom bodov (3,83 ± 1,17) oproti kontrolnej skupine (3,17 ± 0,75), avšak tento rozdiel priemerov nebol štatisticky významne rozdielny ( $p > 0,05$ ).



V ostatných sledovaných senzoričných parametroch sme nepozorovali štatisticky významné rozdiely medzi kontrolnou skupinou a oboma pokusnými skupinami.

Farbu vzoriek sme vyhodnotili v kolorimetrických parametroch  $L^*$  (jas),  $a^*$  (červenosť),  $b^*$  (žltosť). Výsledky meraní kolorimetrických parametrov vzoriek prsnej svaloviny kontrolnej a pokusných skupín sú uvedené v tabuľke 2. Z dosiahnutých výsledkov objektívneho merania farby vzoriek sme zistili klesajúce hodnoty jasu mäsa v závislosti od prídavku 0,80 % resp. 1,00 % prídavku humínových látok vo výžive brojlerových kurčiat. Najvyššiu hodnotu  $L^*$  kolorimetrického parametru  $60,98 \pm 2,02$  sme zistili vo vzorkách kontrolnej skupiny a najnižšiu hodnotu  $58,10 \pm 1,31$  v pokusnej skupine B. Rozdiel v jase vzoriek medzi kontrolnou a pokusnou skupinou B bol štatisticky významne rozdielny ( $p < 0,05$ ).

V parametri  $a^*$  sme pozorovali taktiež štatisticky významný nárast tohto kolorimetrického parametra v pokusných skupinách v porovnaní s kontrolnou skupinou ( $p < 0,05$ ). Naše výsledky merania červenosti mäsa brojlerových kurčiat sa zhodujú s Ozturkom et al., (2012), ktorí taktiež pozorovali nárast  $a^*$  hodnoty v súvislosti s prídavkom humínových látok vo výkrme brojlerov, avšak naše výsledky merania jasu vo všetkých skupinách vzoriek potvrdili opačný jav a to, že prídavok humínových kyselín spôsobil stmavnutie prsnej svaloviny mäsa. Ozturk et al., (2012) zistili štatisticky významný rozdiel v jase mäsa brojlerových kurčiat jedine medzi kontrolnou a pokusnou skupinou s najvyšším prídavkom humínových látok 450 ppm. Na kolorimetrické parametre mäsa hydiny môže vplývať aj pH. Fletcher (1999) pozoroval v svalovom tkanive hydiny svetlejšiu farbu práve vtedy keď v ňom zistili taktiež nižšie pH. To sa zhoduje s ďalšími štúdiami v ktorých sledovali vplyv pH na farbu hydínového mäsa (Ozturk et al., (2012).

**Tabuľka 2** Výsledky merania kolorimetrických parametrov mäsa prsnej svaloviny brojlerových kurčiat po tepelnom ošetrení (priemer  $\pm$  SD)

Parameter	Kontrolná skupina	Skupina A (+ 0,80% HL)	Skupina B (+ 1,00% HL)	<i>p</i> - hodnota
$L^*(D65)$	$60,98 \pm 2,02^a$	$60,38 \pm 1,21^{ab}$	$58,10 \pm 1,31^b$	$< 0,05$
$a^*(D65)$	$10,90 \pm 1,12^b$	$12,27 \pm 0,18^a$	$12,14 \pm 0,81^a$	$< 0,05$
$b^*(D65)$	$11,78 \pm 0,97^a$	$10,82 \pm 2,72^a$	$11,21 \pm 0,99^a$	$> 0,05$

HL – humínové látky; Priemery zdieľajúce zhodný horný index v riadkoch nie sú vzájomne štatisticky významne rozdielne (Tukeyho test,  $p < 0,05$ ).

### ZÁVER

V tejto práci sme analyzovali vplyv 0,80 % a 1,00 % prídavku humínových látok vo výžive brojlerov počas ich výkrmu ktorý trval 38 dní. Sledovali sme vplyv suplementácie krmiva na senzoričné parametre prsnej svaloviny po ich tepelnom opracovaní. Zistili sme štatisticky významný vplyv 1,00 % prídavku humínových látok na vôňu, jas a červenosť mäsa ( $p < 0,05$ ). V senzoričkom hodnotení celkovej prijateľnosti posudzovateľa priemerne ohodnotili pokusné skupiny vyšším počtom bodov ako kontrolnú skupinu, a preto môžeme tvrdiť, že humínové látky vplývajú aj na senzoričnú kvalitu produkovaného hydínového mäsa, avšak to si vyžaduje vykonanie ďalších experimentov.

### LITERATÚRA

Arif, M., Rehman, A., El-Hack, M. E. A., Saeed, M., Khan, F., Akhtar, M., Swelum A. A., Saadeldin, I. M., Alowaimer, A. N. 2018. Growth, carcass traits, cecal microbial counts, and blood chemistry of meat-type quail fed diets supplemented with humic acid and black cumin seeds. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, roč. 31, č. 12, s. 1930-1938. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0148>

- Esenbuğa, N., Macit, M., Karaoglu, M., Aksu, M. I., Bilgin, O. C. 2008. Effects of dietary humate supplementation to broilers on performance, slaughter, carcass and meat colour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, roč. 88, č. 7, s. 1201-1207. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3199>
- Fletcher, D. L. 1999. Broiler breast meat color variation, pH, and texture. *Poultry Science*, roč. 78, s. 1323-1327. <https://doi.org/10.1093/ps/78.9.1323>
- ISO 8589: 2007. Senzorická analýza. Všeobecný návod na usporiadanie senzorických pracovísk
- Lawless, H. T., Heymann, H. 2010. Descriptive Analysis. In Lawless, H. T. Heymann, H. Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices New York: Springer-Verlag, s. 227-257. ISBN-13: 978-1-4419-6487-8. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6488-5\\_10](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6488-5_10)
- Ozturk, E., Ocak, N., Turan, A., Erener, G., Altop, A., Cankaya, S. 2012. Performance, carcass, gastrointestinal tract and meat quality traits, and selected blood parameters of broilers fed diets supplemented with humic substances. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, roč. 92, č. 1, s. 59-65. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4541>
- Rath, N. C., Huff, W. E., Huff, G. R. 2006. Effects of humic acid on broiler chickens. *Poultry Science*, roč. 85, č. 3, s. 410-414. <https://doi.org/10.1093/ps/85.3.410>
- R Core Team. 2017. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Smernica Európskeho Parlamentu a Rady č. 2010/63/EÚ z 22.9.2010 o ochrane zvierat používaných na vedecké účely. *Official Journal of Europe Union* L 276, 20.10.2010, s. 33-79.
- Vaškova, J., Patlevič, P., Žatko, D., Marcinčák, S., Vaško, L., Krempaská, K., Nagy, J. 2018. Effects of humic acids on poultry under stress conditions. *Slovenian veterinary research*, roč. 55, č. 4, s. 245-53. <http://dx.doi.org/10.26873/SVR-469-2018>
- Žatko, D., Vašková, J., Vaško, L., Patlevič, P. 2014. The effect of humic acid on the content of trace element in mitochondria. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, roč. 9, č. 4, s. 315-9. <https://doi.org/10.3844/ajavsp.2014.315.319>

**Pod'akovanie:** Táto práca bola podporená Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky prostredníctvom grantu VEGA č. 1/0408/17.

**Kontaktná adresa:** MVDr. Boris Semjon, PhD., Katedra hygieny a technológie potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika, e-mail: [boris.semjon@uvlf.sk](mailto:boris.semjon@uvlf.sk)

MVDr. Dana Marcinčáková, PhD., MVD. Peter Váczi, PhD. Katedra farmakológie a toxikológie, UVLF Košice  
Mgr. Martin Bartkovský, doc. MVDr. Slavomír Marcinčák, PhD. Katedra hygieny a technológie potravín, UVLF Košice, Komenského 73, 041 81 Košice

MVDr. Alena Nagiová, PhD.: Katedra životného prostredia, veterinárnej legislatívy a ekonomiky, UVLF Košice

**SEKCIA 7: Bezpečnosť a kontrola potravín rastlinného pôvodu**

## COMPARISON OF TRADITIONAL AND VEGETARIAN DIET IN THE CONTEXT OF IRON AND VITAMIN C DIETARY INTAKE

*Agnieszka Filipiak-Florkiewicz, Dominika Witek, Adam Florkiewicz*

**Abstract:** The aim of the study was to compare the intake of iron and vitamin C with a traditional and vegetarian diet. Based on the conducted studies, it can be concluded that the lack of products of animal origin in the diet does not increase a risk of iron deficiency, in comparison to traditional diet. Moreover, vitamin C intake among vegetarian is significant higher than in consumers prefer traditional model of nutrition.

**Key words:** vegetarian diet, iron, vitamin C

### OBJECTIVES

Vegetarianism exclude the consumption of meat foods from slaughter animals, poultry, and sometimes also fish. Vegetarianism has become more popular in recent years, and a lot of information is now emerging that provides an insight into the differences between those following a traditional (including animal and plant origin products) diet and those following plant-based diets. Despite the popular opinion that vegetarianism is a healthy nutrition model, there are some areas for concern and careful planning is necessary to ensure that the diet is well balanced [Czerwińska and Gulińska 2008, Phillips 2005, Stankiewicz and Sułkowska 2014]. There are variety of reasons why people are vegetarian, or choose to avoid some or all animal products, although for the majority of people the reasons for having a plant-based diet are economic, ethical, ecological health concerns; sensory and taste preferences as well as philosophical/religious reasons.

The aim of the study was to compare the intake of iron and vitamin C with a traditional and vegetarian diet.

### MATERIAL AND METHODS

The study was conducted among 75 vegetarians and 95 people using the traditional model of nutrition. Research was carried out in the spring and summer period using the 24-hour dietary recall [https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjKz4im583gAhWSwMQBHf5bB\\_4QFjAAegQICRAB&url=https%3A%2F%2Fdietassessmentprimer.cancer.gov%2Fprofiles%2Frecall%2F&usg=AOvVaw3\\_8YAEExgPzY-yqY-qdfsVF](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjKz4im583gAhWSwMQBHf5bB_4QFjAAegQICRAB&url=https%3A%2F%2Fdietassessmentprimer.cancer.gov%2Fprofiles%2Frecall%2F&usg=AOvVaw3_8YAEExgPzY-yqY-qdfsVF) method of 4 days, ie: Monday, Wednesday, Friday and Sunday.. The Diet 5 software was used to calculated intake of iron and vitamin C.

### RESULTS

Consumption of vitamin C (men -236,2446 mg, women - 230.2191 mg) and iron (men - 16.3350 mg, women - 13.8840 mg) was greater among men than in women (tab. 1, 2). The average daily intake of vitamin C by women was 160.1626 mg/ person, while men 187,5808 mg /person. The median for iron was also higher in men (15.1888 mg / person) than in women (12.4655). Statistical analysis confirmed significant variation in vitamin C intake depending on sex.

Dietary intake of vitamin C with both traditional and vegetarian diets exceeded the reference value (tab. 3). However, in the case of iron, the intake of this ingredient by women (traditional and vegetarian diets) was much lower than the recommended amount. Iron consumption by men exceeded the standards specified for this ingredient (independently of diet). Statistical analysis confirmed significant differences in vitamin C intake depending on

the diet, both for women and men. Simultaneously there was not differences between diets in iron intake ( $p>0.05$ ).

Table 1. Dietary intake of vitamin C and iron – vegetarian diet

<b>Women</b>					
<b>Ingredient:</b>	Unit	$\bar{x} \pm SD$	MIN	MAX	Me
<b>vitamin C</b>	mg	230,21±238,39	7,72	1680,75	160,16
<b>Iron</b>	mg	13,88±6,09	3,83	33,45	12,46
<b>Men</b>					
<b>Ingredient:</b>	Unit	$\bar{x} \pm SD$	MIN	MAX	Me
<b>vitamin C</b>	mg	236,24±202,44	49,53	1389,56	187,58
<b>Iron</b>	mg	16,33±6,69	6,88	50,97	15,18

Table 2. Dietary intake of vitamin C and iron – traditional diet

<b>Women</b>					
<b>Ingredient:</b>	Unit	$\bar{x} \pm SD$	MIN	MAX	Me
<b>vitamin C</b>	mg	163,38±1202,93	2,78	18030,23	57,39
<b>Iron</b>	mg	17,31±49,17	2,59	739,95	11,50
<b>Men</b>					
<b>Ingredient:</b>	Unit	$\bar{x} \pm SD$	MIN	MAX	Me
<b>vitamin C</b>	mg	79,59±119,48	0,00	1046,82	44,12
<b>Iron</b>	mg	13,06±6,03	2,47	29,08	11,77

Table 3. Vitamin C and iron - Implementation of Dietary Reference Intakes [%]

<b>Ingredient:</b>	<b>Kind of diet</b>			
	Vegetarian		Traditional	
	Women	Men	Women	Men
<b>Vitamin C</b>	307,0	262,5	217,9	88,4
<b>Iron</b>	77,1	163,3	96,2	130,6

### CONCLUSIONS

Based on the conducted studies, it can be concluded that the lack of products of animal origin in the diet does not increase a risk of iron deficiency, in comparison to traditional diet. Moreover, vitamin C intake among vegetarian is significant higher than in consumers prefer traditional model of nutrition.

### REFERENCES

- Czerwińska D. Gulińska E. 2008. Podstawy żywienia człowieka. Warszawa. WSiP.  
 Phillips F. Vegetarian nutrition. Nutrition Bulletin, 2005, 30, 132–167.  
 Stankiewicz J. Sułkowska A. 2014. Ocena poziomu wiedzy konsumentów w zakresie aspektów związanych z dietą wegetariańską. Zeszyty Naukowe Akademii Morskiej w Gdyni, 86: 147-153.

**Contact adress:** *Agnieszka Filipiak-Florkiewicz, Dominika Witek*, Department of Nutrition Technology and Consumption, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow, Krakow, Poland  
*Adam Florkiewicz* Department of Food Analysis and Quality Assessment, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow, Krakow, Poland

## MLÝNSKÝ PRŮMYSL V ČR - KVALITA POTRAVINÁŘSKÉ PŠENICE MILLING INDUSTRY IN CZECH REPUBLIC – FOOD WHEAT QUALITY

*Marie Hrušková, Pavel Filip*

**Abstract:** Only 1.2 mil tons of food wheat (1/4 of Czech production) are using for human consumption after milling on edible products in 44 industrial mills. Ten huge corporations with modern Buhler technology equipment elaborate 80% of all crop amount. Commercial food wheat belongs to quality classes E, A, B according to recommendation of UKZUZ Brno. Expert groups (SDO and KDO) evaluate about 15 variety of winter and 10 variety of spring wheat every year. Quality of supplied wheat to mills go through testing at research institution VUZ Kroměříž. Nearly 300 samples describe average level of wheat quality including changes during year and locality growing. Czech system of evaluated wheat quality is connected with Food law (1997) and individual producer standards. Result sets from several year evaluate many problems due to variety, locality and condition of climate during planting.  
**Keywords:** milling industry, wheat quality testing, quaity flour results from 1918 crop

### ÚVOD

Světovou produkci obilovin tvoří kukuřice (cca 1 000 mil. t) a dále jsou zastoupeny pšenice a rýže (cca 700 mil. t). Rozdíly ve světě souvisí s životní úrovní a podmínkami pěstování, např. v některých zemích Asie a Afriky uvádí FAO zvýšení produkce až 2,2 % ročně v důsledku lepších technologií pěstování. Pro potravinářské užití je v celosvětovém měřítku na prvním místě pšenice (zpracování 2016/17 cca 450 mil. t) před rýží a kukuřicí. V zemích EU a USA produkce pšenice stagnuje nebo mírně klesá v souvislosti s poklesem počtu obyvatel a změnou životního stylu zaměřeného na zdravou výživu. V ČR kolísala produkce potravinářské pšenice v letech 2010 - 2017 mezi 4,5 až 5,4 mil. t. Pro zpracování ve mlýnech bylo v tomto období dodáno cca 1,2 mil. ročně, které se zpracovává v 44 mlýnech. Deset velkých českých společností zpracuje cca 80 % celkové roční produkce (Filip, 2017).

Kvalita potravinářské pšenice pro mlýnské zpracování je určena vnitřními a vnějšími faktory, které lze jen částečně ovlivnit v prvovýrobě (Hrušková *et al.*, 2011.) Genetický vnos je do značné míry eliminován klasifikací odrůd do jakostních tříd, které provádí UKZÚZ Brno ve spolupráci s komisemi odborníků (SDO, KDO) na základě tříletých odrůdových zkoušek pěstování v odlišných půdních a klimatických podmínkách v celé ČR. Hodnocení jakosti vychází ze vzorků získaných z ošetřené varianty pěstování. Podle náročnosti jednotlivých stanovení jsou každoročně analyzovány vzorky z 5-19 zkušebních lokalit. Základní dělení odrůd se provádí z pohledu jejich vhodnosti pro pekárenské využití (výrobu kynutých těst). Rozdělují se do čtyř jakostních kategorií: na elitní (E), kvalitní (A), chlebové (B) a nevhodné pro pekařské využití (C). Bodové hodnocení kvality (Tab. 1) je založeno na posouzení 6 jakostních znaků v relaci se standardem (odrůda Sulamit).

Tab. 1. Hodnocení výsledků zkoušení odrůd potravinářské pšenice – body (ÚKZÚZ Brno, 2018)

Kategorie jakosti	C	B	A	E
Číslo poklesu	< 3	3	5	6
Obsah dusíkatých látek v sušině	< 2	2	4	6
Zeleného test	< 4	4	5	7
Vaznost mouky	< 2	2	4	6
Objemová hmotnost	< 4	4	5	6
Objemová výtěžnost pečiva	< 4	4	6	8

Komplexní model hodnocení kvality potravinářské pšenice a mlýnských výrobků podle Ústavu sacharidů VŠCHT Praha zahrnuje 6 subsystémů a celkem cca 30 zkoušek:

**Jakostní znaky pšenice**

OH, tvrdost PSI, HTZ, bílkoviny, SDS, číslo poklesu

**Technologické - mlynářské znaky pšenice**

výtěžnost mouky a otrub (šrotové a vymílací)

**Jakostní znaky pšeničné mouky**

popel, bílkoviny, Zeleny test, číslo poklesu, retenční kapacita

**Reologické znaky pšeničné mouky**

hodnocení na farinografu, extenzografu /alveografu, amylografu a RVA  
hodnocení na mixolabu

**Reologické znaky pšeničného těsta fermentovaného**

hodnocení na fermentografu, maturografu a OTG přístroji

**Spotřebitelské znaky pečiva**

měrný objem, tvar, sensorické hodnocení, penetrace, obrazová analýza

### VÝSLEDKY A DISKUSE

Hodnocení kvality komerční potravinářské pšenice z jednotlivých krajů byly zpracovány ve VUZ Kroměříž a presentovány na Konferenci Jakost obilovin 2018. Hodnocení bylo provedeno pro základní jakostní znaky (obsah bílkovin ČSN 46 11 00-2, Zelenyho test ISO 55 29 a číslo poklesu ISO EN 30 93). Z výsledků rozborů pro 500 vzorků (Tab. 2) jsou zřejmé neprůkazné rozdíly základních jakostních znaků (obsah bílkovin, ČP a ZT) mezi českými a moravskými kraji. Také jakost pšeničné mouky podle výsledky mlýnů velmi dobrá, protože průměrný obsah bílkovin činil 13,5 %. Další kvalitativní znaky kolísaly v obvyklém rozmezí (Zelenyho test 42 - 46 ml, číslo poklesu 300 – 350 s). Obecná doporučení pro standardní pekařské užití pšeničné mouky z loňské sklizně pšenice uvádí, že přídavek KA není nezbytný. Užití sladových přípravků bude efektivní v závislosti na s ožení a dávkování používaných zlepšovacích přípravcích

Tab. 2 Hodnocení kvality potravinářské pšenice – sklizeň 2018.

	ČR	Čechy	Morava
<b>Bílkoviny (%)</b>	13,5	13,5	13,6
<b>Zelenyho test (ml)</b>	45	45	45
<b>Číslo poklesu (s)</b>	328	327	329

Sledování analytických a zejména reologických vlastností pšeničné mouky a z ní vyrobeného těsta je časově a investičně náročné. Pro operativní kontrolu se v mlýnech a pekárnách uplatňují screeningové rychlometody. Do této skupiny patří např. NIR spektrofotometry. Filtrové přístroje typu Inframatic rychle a s dostatečnou přesností stanoví analytické znaky (vlhkost, popel, mokřý lepek, bílkoviny) ve mlýně a mohou být kalibrovány pro orientační určení vaznosti vody a Zelenyho sedimentační hodnoty. Dispersní NIR spektrofotometry umožňují predikci některých extenzografických a alveografických charakteristik. Ani do budoucna nelze předpokládat, že NIR přístroje nahradí funkci reologických přístrojů. (Příhoda a Hrušková, 2007, Hrušková *et al.*, 2014, Švec *et al.*, 2015).

## ZÁVĚR

Technologická jakost pšeničných mouk je určena obsahem hlavních složek – bílkovin a škrobu. Množství a kvalita lepkových bílkovin se uplatňuje ve všech fázích výroby pšeničného těsta a rozhodujícím způsobem ovlivňuje spotřebitelskou jakost pekařských výrobků. Zpracování pšenice pro lidskou výživu představuje soubor fyzikálně-mechanických operací, produkujících mlýnské výrobky určené pro konkrétní užití, které podmiňuje zpracování potravinářské pšenice požadovaných vlastností. Odrůdy potravinářské pšenice tvoří základ komerčních dodávek do mlýnů a jejich objektivní zkoušení zaručuje požadované parametry mlýnských výrobků.

## LITERATURA

- Filip, P. 2017. Mlýnský průmysl v České republice. In *Mlýnářská ročenka 2017*, 7-20, ISSN 1214 6374.
- Příhoda, J., Hrušková M. 2007. Hodnocení kvality, Mlýnářská technologie I. SPM Praha, ISBN 978-80-239-9475-9.
- Příhoda. J., Skřivan. P., Hrušková. M. 2003 *Cereální chemie a technologie I*, VŠCHT Praha.
- Hrušková, M., Švec, I., Kocourková Z. 2011. Interaction between wheat variety and harvest year analysed by statistical methods, *Cereal Technology (Getreidetechnologie)* 4, 44-151, ISSN 1869-2203.
- Hrušková, M., Bouzová, M., Švec I. 2014. Aktivní látky přidané k pšeničné mouce-predikce technologických účinků reologickými znaky, *Mlýnářské noviny* 4(151), 12-15.
- Švec I., Hrušková M., Heroudková, K. 2015. Chemical and rheological evaluation of composite flour with chia and teff for cookies produce. *Cereal Technology* 2, 74-87.

**Kontaktní adresa:** doc. Ing. Marie Hrušková, CSc., SPM Praha, Na Pankráci 30, 14 000 Praha 4, ČR



## LABORATÓRNA ANALÝZA KORENINOVEJ PAPRIKY LABORATORY ANALYSIS OF SPICY PEPPER

*Lubomír Lopašovský, Lucia Zeleňáková, Simona Kunová, Miroslava Kačániová*

**Abstract:** The aim of the present study was laboratory analysis of quality indicators of pepper. There were analysed 10 samples in two series. *Bacillus cereus*, coliforms and filamentous microscopic fungi were examined within the microbiological examination. Plate dilution method was used to microbiological examination. The number of *Bacillus cereus* ranged from  $1.8 \times 10^1$  CFU.g<sup>-1</sup> to  $3.1 \cdot 10^2$  CFU.g<sup>-1</sup>, the number of coliforms ranged from  $1.4 \times 10^1$  CFU.g<sup>-1</sup> to  $1.1 \times 10^3$  CFU.g<sup>-1</sup>, the number of filamentous microscopic fungi ranged from  $2.27 \times 10^1$  CFU.g<sup>-1</sup> to  $1.36 \times 10^2$  CFU.g<sup>-1</sup> in the first series of samples. The number of *Bacillus cereus* ranged from  $4.5 \times 10^1$  CFU.g<sup>-1</sup> to  $2.8 \times 10^2$  CFU.g<sup>-1</sup>, number of coliforms ranged from  $1.36 \times 10^1$  CFU.g<sup>-1</sup> to  $1.1 \times 10^3$  CFU.g<sup>-1</sup> and number of filamentous microscopic fungi ranged from  $2.7 \times 10^1$  CFU.g<sup>-1</sup> to  $1.31 \times 10^2$  CFU.g<sup>-1</sup> in the second series of samples. There were examined chemical elements (Al, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Sr) in samples of pepper. The method of high pressure microwave decomposition of organic material and atomic absorption spectrometry were used. The amount of aluminium ranged from 127.90 mg.kg<sup>-1</sup> to 131,85 mg.kg<sup>-1</sup>, cadmium from 0.10 mg.kg<sup>-1</sup> to 0.18 mg.kg<sup>-1</sup>, copper from 6.75 mg.kg<sup>-1</sup> to 7.15 mg.kg<sup>-1</sup>, manganese from 13.45 mg.kg<sup>-1</sup> to 14.12 mg.kg<sup>-1</sup>. Amount of lead ranged from 0.20 mg.kg<sup>-1</sup> to 0.52 mg.kg<sup>-1</sup>, strontium ranged from 13.52 mg.kg<sup>-1</sup> to 13.67 mg.kg<sup>-1</sup>. The presence of molybdenum, chromium and nickel was not found. The detected amount of chemical elements has been compared with the results of other publications.

**Key words:** spicy pepper, microorganisms, chemical elements

### ÚVOD

Koreninou sa rozumie časť rastlín, a to najmä koreň, cibuľa, kôra, listy, byliny, plody, semená alebo časti z nich spracované nie viac ako je technologicky nevyhnutné (Vyhláška MPA RV SR č. 309/2015). Korenie obsahuje veľké množstvo rastlinných zmesí, ktoré sa používajú na ochucovanie a tým zlepšujú sensorické vlastnosti potravín (Farkas a Mohácsi-Farkas, 2014).

Korenie sa používa v potravinárskom priemysle ako prírodná látka slúžiaca na predĺženie trvanlivosti potravín. Mnoho bylínok a korenín sa používa za účelom obmedzenia, či odstránenia patogénnych baktérií a zvyšujú tak celkovú kvalitu potravinárskych výrobkov. Prítomnosť týchto látok je i súčasťou systému obrany rastlín pred napadnutím mikroorganizmami. Účinnosť antimikrobiálnych látok korenín závisí od pH, teploty skladovania, prítomnosti kyslíka a od množstva aktívnych zložiek (Ceylan a Fung, 2004).

Koreniny a bylinky zvyčajne obsahujú rôzne mikroorganizmy, vrátane baktérií a ich spór, ktoré môžu prežiť v podmienkach s nízkou vlhkosťou. Medzi mikroorganizmy, ktoré sú odolné voči nízkym hodnotám aktivity vody, patria *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, ale aj niektoré druhy rodov *Aspergillus*. a *Penicillium* (Fogele et al., 2018).

Mikroorganizmy, vyskytujúce sa v pôde a vo vode, sú schopné adherovať na povrchy rastlín, kde môžu dobre prežívať a ďalej sa prenášať až do finálnych výrobkov. Pri skladovaní môžu takéto mikroorganizmy spôsobovať ich kazenie (Vlková et al., 2011).

Zdravotná bezpečnosť a jej protiklad rizikovosť je v súčasnosti jedným z hlavných problémov potravinárskej výroby. Bezpečné potraviny sú potraviny, ktoré neobsahujú patogénne organizmy ani cudzorodé, zdraviu škodlivé alebo toxické látky (Görner

a Valík, 2004). Otázky bezpečnosti potravín predstavujú možnosť diskusie vedeckých pracovníkov na medzinárodnej pôde (Zhou et al., 2015).

Mikrobiologická kvalita korenia odráža stav hygieny v regióne, kde bolo korenie pestované a vyrobené. Keď sa pestuje, zbiera a spracováva v teplom a vlhkom prostredí, môže obsahovať rôznorodú mikroflóru pochádzajúcu z miesta pôvodu. Preto môže cudzokrajné korenie predstavovať možnú cestu prenosu nákazy. Po pridaní do potraviny s vyššou vlhkosťou sa môžu mikroorganizmy rýchlejšie rozmnožovať a potravina sa kazí. Korenie môže obsahovať patogénne mikroorganizmy, ktoré môžu byť rizikom pre ľudské zdravie, predovšetkým pridaním do pokrmov, ktoré nie sú ďalej tepelne spracovávané. Medzi tieto mikroorganizmy patria baktérie rodu *Salmonella*, ďalej *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, sporotvorné mikroorganizmy, ako sú *Bacillus cereus* a *Clostridium perfringens* a v malých množstvách sa tiež môžu vyskytovať vláknité mikroskopické huby a kvasinky (rody *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*), ktoré sú nebezpečné z hľadiska produkcie aflatoxínov (Witkowska, et al., 2010).

Kačániová a Tančinová (2012) uvádzajú, že pomnožením *Bacillus cereus* v potravine na  $10^7$  KTJ.g<sup>-1</sup>, u detí  $10^5$  KTJ.g<sup>-1</sup>, dochádza k otravám. Najčastejšie ide o potraviny, v ktorých sú obilniny a škrob (polievky, varená ryža, pudinky, zemiaková kaša). *Bacillus cereus* produkuje dva typy toxínov. Zvracanie, spôsobené emetickým toxínom, je charakterizované nauzeou, zvracaním a abdominálnymi kŕčmi, inkubačná doba je 0,5 – 6 hodín. Podobá sa stafylokokovej enterotoxikóze s rovnakými symptómami a inkubačnou dobou. Nákaza enterotoxínom sa prejavuje brušnými kŕčmi a hnačkou s inkubačnou dobou 8 – 16 hodín. Pripomína otravu jedlom kontaminovaného *Clostridium perfringens*. Prejavy oboch typov chorôb ustupujú zvyčajne do 24 hodín (Arnesen et al., 2008; Todar et al., 2011).

Vláknité mikroskopické huby sú chemoorganotrofné mikroskopické vláknité eukaryotické mikroorganizmy, ktoré zaraďujeme do ríše *Fungi*. Majú veľký ekonomický význam, mnoho z nich parazituje na plodinách (sú fytopatogénne) alebo vyvolávajú kazenie uskladneného ovocia a zeleniny, či potravín živočíšneho pôvodu. Tiež ide o významných producentov antibiotík. Na druhej strane produkujú mykotoxíny, čo môže vyvolať vážne zdravotné komplikácie (Bursová et al., 2014).

V moderných analytických postupoch sa pracuje prevažne v uzavretom systéme a za zvýšeného, či vysokého tlaku. Tieto metódy pracujú s dynamickým režimom, kde riadime teplotu v závislosti od času. K účinnejšiemu rozkladu sa využívajú mikrovlnné vlny. Prináša to niekoľko výhod. Jednou z nich je skrátenie času mineralizácie. Doba rozkladu sa skraca z niekoľkých hodín na desiatky minút. To nám samozrejme umožní pracovať rýchlejšie a urobiť analýzu väčšieho množstva vzoriek. Najväčšou výhodou je však účinnejšie rozrušenie organickej matrice (Mader a Čurdová, 1997; Krakovská a Kuss, 2001).

Metódy rozkladu biologického materiálu sa najčastejšie delia na rozklady suché, mokré a iné techniky. Jednotlivé skupiny sa delia v závislosti od teploty, tlaku, chemických činidiel a zariadeniach, ktoré sa v procese rozkladu používajú. V súčasnosti je najrozšírenejším rozkladom mokrý rozklad s použitím kyselín a nasleduje suchý otvorený rozklad - spopolnenie (Kolihová a Száková, 2000; Krakovská a Kuss, 2001).

Cieľom práce bolo uskutočniť mikrobiologické vyšetrenie vybraných vzoriek koreninovej papriky platňovou zriedňovacou metódou, získané výsledky porovnať s požiadavkami PK SR a s prácami zaoberajúcimi sa touto problematikou, a stanoviť vybrané chemické prvky vo vzorkách koreninovej papriky pomocou atómovej absorpčnej spektrometrie a získané výsledky následne porovnať s príslušnou normou a s prácami zaoberajúcimi sa príslušnou problematikou.

## METODIKA PRÁCE

Analyzovali sme spolu desať vzoriek koreninovej papriky v dvoch sériách, pričom štyri vzorky pochádzali od slovenského výrobcu, štyri od rakúskeho výrobcu a po jednej vzorke od českého a maďarského výrobcu. V deviatich prípadoch išlo o sladkú koreninovú papriku, v jednom prípade o sladkú údenú koreninovú papriku.

Mikrobiologické vyšetrenie sme uskutočnili v mikrobiologickom laboratóriu na Katedre hygieny a bezpečnosti potravín SPU v Nitre. Zistené hodnoty mikroorganizmov sme porovnávali s požiadavkami platnej legislatívy a s vedeckými prácami zameranými na danú problematiku. Stanovenie kontaminujúcich prvkov sme robili v troch vybraných obchodných vzorkách sladkej koreninovej papriky. Analýzu sme vykonali v laboratóriu Katedry bioenergetiky a analýzy prvkov Fakulty biológie a poľnohospodárstva Univerzity v Rzeszówe. Získané hodnoty jednotlivých chemických prvkov sme porovnávali s príslušnou legislatívnou normou a s vedeckými prácami zameranými na danú problematiku.

**Tabuľka 1** Požiadavky na mikrobiologickú kvalitu korenín a zmesí korenín (Výnos MP SR a MZ SR č. 06267/2006- SL)

	<b>n</b>	<b>c</b>	<b>m (KTJ.g<sup>-1</sup>)</b>	<b>M (KTJ.g<sup>-1</sup>)</b>
<b>Koliformné baktérie</b>	5	0	10 <sup>4</sup>	-
<b>Vláknité mikroskopické huby</b>	5	2	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
<b>Sulfitredukujúce klostrídie</b>	5	2	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>
<i>Bacillus cereus</i>	5	2	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>

- „n“ počet vzoriek určený na mikrobiologické vyšetrenie (rozsah výberu),
- „m“ množstvo mikroorganizmov, ktoré sa pripúšťa v rozsahu výberu „n“ v ustanovenom množstve vzorky,
- „M“ medzná hodnota počtu mikroorganizmov v ustanovenom množstve vzorky, ktorý sa ešte pripúšťa, ale len v počte vzoriek, ktorý je menší ako „c“ alebo sa rovná „c“ ,
- „c“ je počet vzoriek z rozsahu výberu „n“, v ktorých sa pripúšťa najviac medzná hodnota „M“, pričom platí, že vo vzorkách v počte „n“ mínus „c“ môže byť najviac hodnota „m“.

Stanovenie koliformných baktérii sme robili podľa STN ISO 4832 : 2009. Ako kultivačné médium sme použili agarové médium s kryštálovou violeťou, neutrálnou červeňou, žlčovými soľami a laktózou (VČŽL).

Stanovenie vláknitých mikroskopických húb sme robili podľa STN ISO 21527-2 : 2010, ako kultivačné médium sme použili agar s kvasničným extraktom, glukózou a chloramfenikolom (GKCH).

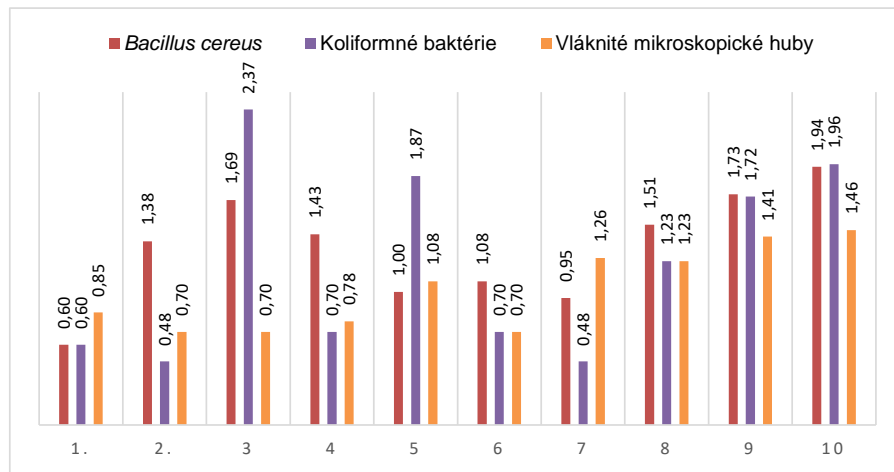
Stanovenie *Bacillus cereus* sme robili podľa STN ISO 7932 : 2004 a ako kultivačné médiu sme použili Mac Conkey agar.

V rámci analytického vyšetrenia vzoriek sme metódou atómovej absorpčnej spektrometrie stanovovali tieto chemické prvky: Al, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Sr. Princíp tejto metódy spočíva v tom, že vzorka sa sublimuje prostredníctvom programovaného mikrovlnného ohrevu v uzavretej teflónovej nádobe s kyselinou dusičnou. Väčšina organických látok pritom zoxiduje. Proces je založený na princípe snímania tlaku. Výsledkom je číry roztok, ktorý je po zriedení vhodný na analýzu pomocou atómovej absorpčnej spektrometrie.

## VÝSLEDKY PRÁCE A DISKUSIA

### Výsledky mikrobiologického vyšetrenia

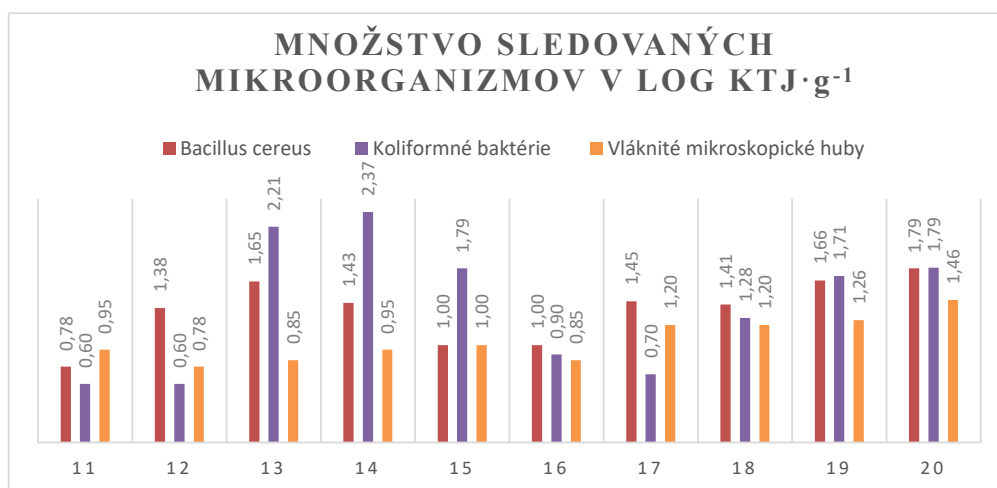
Výsledky mikrobiologického vyšetrenia koreninovej papriky sú uvedené v grafoch na obr. 1 a 2, resp. v tabuľkách 2 a 3.



**Obr. 1** Počty sledovaných mikroorganizmov v prvej sérii vzoriek (log KTJ.g<sup>-1</sup>)

**Tabuľka 2** Štatistické vyjadrenie počtu sledovaných mikroorganizmov v prvej sérii vzoriek (log KTJ.g<sup>-1</sup>)

Sledovaný mikroorganizmus	n	X <sub>min</sub>	X <sub>max</sub>	$\bar{x}$	S <sub>x</sub>
<i>Bacillus cereus</i>	10	0,60	1,94	1,33	0,41
Koliformné baktérie	10	0,48	2,37	1,21	0,71
Vláknité mikroskopické huby	10	0,70	1,46	1,02	0,31



**Obrázok 2** Počty sledovaných mikroorganizmov v druhej sérii vzoriek

Množstvo *Bacillus cereus* v prvej sérii analyzovaných vzoriek sa pohybovalo v rozmedzí od  $1,8 \cdot 10^1$  KTJ.g<sup>-1</sup> (0,60 log KTJ.g<sup>-1</sup>) do  $3,1 \cdot 10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup> (1,94 log KTJ.g<sup>-1</sup>). Koliformné baktérie sa nachádzali v počtoch  $1,4 \cdot 10^1$  KTJ.g<sup>-1</sup> (0,48 log KTJ.g<sup>-1</sup>) až  $1,1 \cdot 10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup> (2,37 log KTJ.g<sup>-1</sup>). Množstvo vláknitých mikroskopických húb

v analyzovaných vzorkách sa pohybovalo od  $2,27 \cdot 10^1$  KTJ.g<sup>-1</sup> (0,70 log KTJ.g<sup>-1</sup>) do  $1,36 \cdot 10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup> (1,46 log KTJ.g<sup>-1</sup>).

**Tabuľka 3** Štatistické vyjadrenie počtu sledovaných mikroorganizmov v druhej sérii vzoriek (log KTJ.g<sup>-1</sup>)

Sledovaný mikroorganizmus	Počet hodnôt	Minimum	Maximum	Priemer	Štandardná odchýlka
<i>Bacillus cereus</i>	10	0,78	1,79	1,36	0,33
Koliformné baktérie	10	0,60	2,37	1,40	0,67
Vláknité mikroskopické huby	10	0,78	1,46	1,05	0,22

Výnos MP SR a MZ SR č. 06267/2006-SL uvádza v rámci požiadaviek na mikrobiologickú kvalitu korenín a zmesí korenín limitnú hodnotu pre *Bacillus cereus*  $10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup>. Hariram a Labbé (2018) uvádzajú, že priemerný počet *Bacillus cereus* v ich vzorkách bol  $1,1 \cdot 10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup>. Všetky analyzované vzorky koreninovej papriky vyhovovali vyššie uvedeným mikrobiologickým požiadavkám. Pre koliformné baktérie uvedený výnos uvádza limitnú hodnotu  $10^4$  KTJ.g<sup>-1</sup>. V našich vzorkách to bolo  $1,1 \cdot 10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup>. González et al. (2017) zistili vo vzorkách koreninovej papriky  $1,8 \cdot 10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup> koliformných baktérií. Pre vláknité mikroskopické huby je vo výnose č. 06267/2006-SL uvedené limitné množstvo  $10^5$  KTJ.g<sup>-1</sup>. Najvyššia hodnota vláknitých mikroskopických húb v našich vzorkách bola  $1,4 \cdot 10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup>, všetky vzorky teda vyhoveli legislatívnym požiadavkám. Laciaková et al. (2005) stanovili vo vzorkách sladkej koreninovej papriky počet vláknitých mikroskopických húb  $2,10 \cdot 10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup>, Večeřová (2012) o niečo nižšie počty ( $1,9 \cdot 10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup>). Z mikrobiologického hľadiska boli baktériami *Bacillus cereus* najmenej kontaminované vzorky rakúske, po nich nasledovali vzorky slovenské a vzorka česká a maďarská. Hodnotenie je iba orientačné, lebo počty vzoriek neboli rovnaké. Koliformnými baktériami boli najmenej kontaminované vzorky rakúske, po nich nasledovali vzorky slovenské a vzorka česká a maďarská. Hodnotenie je opäť iba orientačné, lebo počty vzoriek neboli rovnaké. Vlákňitými mikroskopickými hubami boli najmenej kontaminované vzorky slovenské, po nich nasledovali vzorky rakúske a vzorka česká a maďarská. Hodnotenie je opäť iba orientačné, lebo počty vzoriek neboli rovnaké.

### Výsledky chemického vyšetrenia

Výsledky stanovenia vybraných chemických prvkov sú v tabuľke 4. Metódou vysokotlakového mikrovlnného rozkladu organického materiálu a následným stanovením množstva kontaminantov pomocou atómovej absorpčnej spektrometrie sme získali výsledky množstiev stanovovaných kontaminantov.

**Tabuľka 4** Výsledky stanovenia chemických prvkov v koreninovej paprike

Chemický prvok	Namerané hodnoty (mg.kg <sup>-1</sup> )	X <sub>min</sub>	X <sub>max</sub>	$\bar{x}$	S <sub>x</sub>
Al	130,45	127,90	131,85	130,06	2,00
	131,85				
	127,90				
Cd	0,10	0,10	0,18	0,13	0,03
	0,18				
	0,13				
Cr	0	0	0	0	0
	0				
	0				
Cu	6,80	6,75	7,15	6,90	0,21
	7,15				
	6,75				
Mn	13,50	13,45	14,12	13,69	0,37
	14,12				
	13,45				
Mo	0	0	0	0	0
	0				
	0				
Ni	0	0	0	0	0
	0				
	0				
Pb	0,52	0,20	0,52	0,40	0,18
	0,20				
	0,50				
Sr	13,52	13,52	13,67	13,60	0,07
	13,62				
	13,67				

Najvyššie množstvo hliníka v analyzovaných vzorkách bolo 131,85 mg.kg<sup>-1</sup>, najnižšie 127,90 mg.kg<sup>-1</sup>. Množstvo stroncia v našich vzorkách bolo od 13,52 mg.kg<sup>-1</sup> do 13,67 mg.kg<sup>-1</sup>. Najmenšie množstvo mangánu bolo 13,45 mg.kg<sup>-1</sup>, najvyššie 14,12 mg.kg<sup>-1</sup>.

Van Asselt et al. (2016) uvádzajú, že v Nariadení ES č. 1881/2006 nie je stanovené limitné množstvo kadmia pre koreniny, avšak uvádza limitné množstvo pre čerstvé bylinky a to 0,20 mg.kg<sup>-1</sup>. Hodnoty kadmia v našich vzorkách boli v rozmedzí 0,10 – 0,18 mg.kg<sup>-1</sup>. Fedorová a Trebichalský (2017) stanovili vo vzorkách koreninovej papriky množstvo kadmia v rozmedzí 0,13 – 0,15 mg.kg<sup>-1</sup>. Matus a Tóth (2017) uvádzajú obsah kadmia v rozmedzí hodnôt 0,03 – 0,08 mg.kg<sup>-1</sup>.

Zejnnullahu et al. (2017) stanovili vo vzorkách koreninovej papriky 2,61 – 4,27 mg.kg<sup>-1</sup> chrómu. Obsah chrómu v našich vzorkách sme nezistili.

Matus a Tóth (2017) ďalej uvádzajú, že množstvo medi vo vzorkách bolo v rozmedzí 6,10 – 11,30 mg.kg<sup>-1</sup>. Tyagi a Kalpana (2014) stanovili množstvo medi 6,47 – 15,40 mg.kg<sup>-1</sup>. V našich vzorkách sa množstvo medi pohybovalo v rozmedzí 6,75 – 7,15 mg.kg<sup>-1</sup>.

Nkansah a Amoako (2010) vo svojej práci uviedli, že množstvo niklu v ich vzorke bolo 0,36 mg.kg<sup>-1</sup>. V našich vzorkách sme nikl nezistili.

Fedorová a Trebichalský (2017) stanovili množstvo olova vo vzorkách koreninovej papriky 0,96 – 1,50 mg.kg<sup>-1</sup>. Tyagi a Kalpama (2014) zistili vyššie hodnoty a to 2,10 – 6,10 mg.kg<sup>-1</sup>. V našich vzorkách sme stanovili množstvo olova v rozmedzí 0,20 – 0,52 mg.kg<sup>-1</sup>.

## ZÁVER

Mikrobiologickým vyšetrením sme vo vzorkách koreninovej papriky stanovovali počet *Bacillus cereus*, koliformných baktérií a vláknitých mikroskopických húb. Počet *Bacillus cereus* v prvej sérii vzoriek bol od  $1,8 \cdot 10^1$  KTJ.g<sup>-1</sup> do  $3,1 \cdot 10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup>, počet koliformných baktérií

v rozmedzí  $1,4 \cdot 10^1$  KTJ.g<sup>-1</sup> –  $1,1 \cdot 10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup> a vláknité mikroskopické huby v prvej sérii vzoriek boli v počte  $2,27 \cdot 10^1$  KTJ.g<sup>-1</sup> až  $1,36 \cdot 10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup>. V druhej sérii vzoriek bol počet *Bacillus cereus*  $4,5 \cdot 10^1$  KTJ.g<sup>-1</sup> až  $2,8 \cdot 10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup>, koliformné baktérie boli v počte  $1,36 \cdot 10^1$  KTJ.g<sup>-1</sup> až  $1,1 \cdot 10^3$  KTJ.g<sup>-1</sup> a vláknité mikroskopické huby v počte od  $2,7 \cdot 10^1$  KTJ.g<sup>-1</sup> do  $1,31 \cdot 10^2$  KTJ.g<sup>-1</sup>. Všetky vzorky vyhovel platným legislatívnym požiadavkám. Na základe tejto skutočnosti môžeme usúdiť, že v procese skladovania a spracovania nedošlo k významnej kontaminácii suroviny. Urobili sme aj poradie vzoriek podľa stúpajúcej mikrobiálnej kontaminácie, ale iba orientačne, lebo počty vzoriek neboli rovnaké.

V rámci stanovovania vybraných chemických prvkov sme stanovili množstvá týchto prvkov: Al, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Sr. Množstvo hliníka v našich vzorkách bolo 127,90 mg.kg<sup>-1</sup> – 131,85 mg.kg<sup>-1</sup>, kadmia od 0,10 mg.kg<sup>-1</sup> do 0,18 mg.kg<sup>-1</sup>, meď od 6,75 mg.kg<sup>-1</sup> do 7,15 mg.kg<sup>-1</sup>. Množstvo mangánu bolo 13,45 mg.kg<sup>-1</sup> – 14,12 mg.kg<sup>-1</sup>. Olovo v našich vzorkách bolo prítomné od 0,20 mg.kg<sup>-1</sup> do 0,40 mg.kg<sup>-1</sup>. Množstvo stroncia v našich vzorkách bolo 13,52 mg.kg<sup>-1</sup> – 13,67 mg.kg<sup>-1</sup>. Prítomnosť chrómu, molybdénu a niklu sme vo vzorkách nezistili.

V porovnaní s inými prácami zameranými na daný druh analýzy môžeme skonštatovať, že celkové množstvo stanovovaných chemických prvkov v našich vzorkách bolo nižšie. Z toho sa dá usúdiť, že analyzované koreninové papriky boli pestované v environmentálne menej zaťaženej oblasti. prípadne nedošlo ku kontaminácii v procese skladovania a spracovania suroviny.

## LITERATÚRA

- Arnesen, P.S., Fagerlund, L. A, Granum, P.E. 2008. From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. In *FEMS Microbiology Reviews*, vol. 32, p. 579-606 [online]. ISSN 1574-6976. Dostupné na internete: [http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/\(ISSN\)1574-6976](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/(ISSN)1574-6976).
- Bursová, Š., Necidová, L., Dušková., M. 2014. *Mikrobiologie potravin mikrobiologické laboratorní metody. Obecná mikrobiologie* [online], Brno : Veterinárni a farmaceutická univerzita, 117 s. [cit. 2018-01-12].
- Ceylan, E., Fung, D.Y.C. 2004. Antimicrobial activity of spices. In *Journal of Rapid, Methods and Automation in Microbiology*, vol. 12, p. 1 – 55. ISSN 1745-4581.
- Farkas, J., Mohácsi-Farkas, Cs. 2014. Safety of Food and Beverages: Spices and Seasonings. In *Encyclopedia of Food Safety* [online], vol. 3, p. 324 – 330 [cit. 2017-12-20].
- Fedorová, N., Trebichalský, P. 2017. *Rizikové kovy v potravinách: bakalárska práca*. Nitra : SPU, 72 s.
- Fogele, B., Granta, R., Valcina, O., Bērziņš, A. 2018. Occurrence and diversity of *Bacillus cereus* and moulds in spices and herbs. In *Food Control* [online], vol. 83, p. 69-74 [cit. 2018-01-03].
- González-Melo, M. G., Romero, S. M., Arjona, M., Larumbe, A. G., Vaamonde, G. 2017. Microbiological quality of Argentinian paprika Calidad microbiológica del pimenton argentino. In *Revista Argentina de Microbiología* [online], vol. 49, p. 339 – 349 [cit. 2018-02-28]. ISSN 3025-7541. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.02.006>.
- González, M. G., Romero, S. M., Arjona, M., Larumbe, A. G., Vaamonde, G. 2017. Microbiological quality of Argentinian paprika Calidad microbiológica del pimenton argentino. In *Revista Argentina de Microbiología* [online], vol. 49, p. 339 – 349 [cit. 2018-02-28]. ISSN 3025-7541. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.02.006>.
- Görner, F., Valík, L. 2004. *Aplikovaná mikrobiológia požívatin*. 1. vyd. Bratislava : Mladé centrum, 528 s. ISBN 80-967064-9-7.
- Hariram, U., Labbé, R. G. 2018. Growth and inhibition by spices of spores of enterotoxigenic *Bacillus cereus* in cooked rice. In *Food control* [online], vol. 64, p. 60.
- Kačániová, M., Tančinová, D. 2012. *Prediktívna mikrobiológia v potravinárstve*. 1. vyd. Nitra : SPU, 123 s. ISBN 978-80-552-0729-2.

- Kolihová, D., Száková, J. 2000. *Atómová absorpční spektrometrie III : Kurz pro pokročilé*. Praha : Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, s. 57 – 64.
- Krakovská, E., Kuss, H. M. 2001. *Rozklady v analytické chemii : Súčasný stav a trendy*. 1. vyd. Košice : Viena, 226 s. ISBN 80-88922-48-8.
- Laciaková, A., Čonková, E., Pipová, M., Laciak, V. 2005. Kontaminácia potravín vláknitými mikroskopickými hubami. In *Rizikové faktory potravinového reťazca 2005*. Nitra : SPU, 194-198. ISBN 80-8069-594-6.
- Mader, P., Čurdová, E. 1997. Metody rozkladu biologických materiálov pro stanovení stopových prvků. In *Chemické listy* [online], roč. 91, s. 227 – 236 [cit. 2018-02-20]. ISSN 1213-7103. Dostupné na internete: [http://chemicke-listy.cz/docs/full/1997\\_04\\_227-236.pdf](http://chemicke-listy.cz/docs/full/1997_04_227-236.pdf).
- Matus, Á., Tóth, T. 2017. *Stanovenie obsahu rizikových prvkov a celkového obsahu polyfenolov v koreninovej paprike: diplomová práca*. Nitra : SPU, 50 s.
- Nkansah, M. A., Amoako, C. O. 2010. Heavy metal content of some common spices available in markets in the Kumasi metropolis of Ghana. In *American journal of scientific and industrial research* [online], © 2010 [cit. 2018-02-28]. ISSN 2153-649X. doi:10.5251/ajsir.2010.1.2.158.163.
- STN ISO 4832. 2009. *Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu koliformných baktérií. Metóda počítania kolónii*.
- STN ISO 7932. 2004. *Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda stanovenia počtu Bacillus cereus. Metóda počítania kolónii kultivovaných pri 30 °C*.
- STN ISO 21521-2. 2010. *Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu kvasiniek a vláknitých mikroskopických húb. Časť 2. Metóda počítania kolónii vo výrobkoch s aktivitou vody menšou ako 0,95 alebo rovnajúcou sa 0,95*.
- Todar, K. 2011. *Bacillus cereus Food Poisoning*. In *Todar's Online Textbook of Bacteriology* [online], © 2011 [cit. 2017-12-20]. Dostupné na internete: <http://textbookofbacteriology.net/B.cereus.html>.
- Tyagi, R., Kalpana, S. 2014. Uptake of heavy by *Capsicum annum* in selected agricultural areas around Kota City. In *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*. vol. 4, p. 3785 – 3789. ISSN 2249-1929.
- Van Asselt, E. D., Banach, J. L., Van Der Fels-Klerx, H. J. 2016. Prioritization of chemical hazards in spices and herbs for European monitoring programs. In *Food control* [online], vol. 83, p. 7 – 17 [cit. 2018-02-28]. ISSN 0956-7135. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.023>.
- Večerová, E. 2012. *Mikrobiálny obraz koření: diplomová práca*. Brno : Masarykova univerzita.
- Vlková, E., Rada, V., Killer, J. 2011. *Potravinárska mikrobiologie*. 1. vyd. Praha : Česká zemědělská univerzita, ISBN 978-80-213-2402-2.
- VYHLÁŠKA MININISTERSTVA PÔDOHOSPODÁRSTVA A ROZVOJA VIDIEKA SR č. 309/2015 o pochutinách, jedlej soli, dehydrovaných pokrmoch, polievkových prípravkoch a o ochucovadlách.*
- Výnos Ministerstva pôdohospodárstva a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky č. 06267/2006-SL, zo 6. februára 2006, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky upravujúca mikrobiologické požiadavky na potraviny a na obaly na ich balenie.*
- Witkowska, A. M., Hickey, D. K., Alonsko-Gomes, M., Wilkinson, M.G. 2010. The microbiological quality of commercial herb and spice preparations use in the formulation of a chicken supreme ready meal and microbial survival following a simulated industrial heating process. In *Food control*, vol. 22, p. 616 – 625. ISSN 0956-7135.
- Zejnnullahu, B., Kucaj, E., Abazi, U., Harizaj, F. 2017. Evaluation of Heavy Metal Content in Capsicum Annuum In Obiliq, Kosovo. In *American Journal of Engineerin Research (AJER)*, vol. 6, p. 186 -189. 2320-0847.
- Zhou, J., Li, K., Liang, Q. 2015. Food safety controls in different governance structures in China's vegetable and fruit industry. In *Journal of Integrative Agriculture* [online], vol. 14, p. 2189 – 2202 [cit. 2017-12-30]. ISSN 2095-3119. doi: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(15\)61115-7](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(15)61115-7).

**Pod'akovanie:** Práca bola uskutočnená aj vďaka finančnej podpore projektu KEGA č. 007SPU-4/2017.

**Kontaktná adresa:** MVDr. Lubomír Lopašovský, PhD., Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, FBP, SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra. E – mail: [lubomir.lopasovsky@uniag.sk](mailto:lubomir.lopasovsky@uniag.sk)



# VPLYV SKLADOVANIA A TEPELNEJ ÚPRAVY NA KVALITU VYBRANÝCH ODRÔD ZEMIAKOV THE EFFECT OF STORAGE AND HEAT TREATMENT ON THE QUALITY OF SELECTED VARIETIES OF POTATOES

*Ján Mareček, Andrea Mendelová*

**Abstract:** We analyzed parameters of the quality of stored potato tubers before the heat treatment (dry matter content, starch content of the tubers, content of reducing carbohydrates and content of simple carbohydrates). After the heat treatment, we evaluated the table values and color of the potato chips after frying. Analyzed varieties were: Magda, Megan, Red Anna, Agila, Spinela and Malvína. Storage was carried out under standard conditions in the refrigerator box. The highest dry matter content 23.51% was in the Spinela variety. At the beginning of storage, Megan's variety contained the highest amounts of starch (19.56%). The Spinela variety also contains the lowest value of reducing carbohydrates (0.16%). The lowest amount of simple carbohydrates was in Malvína variety (0.52%). In the evaluation of the color of potato chips, the highest score reached varieties Megan and Malvína. Variety Red Anna reached the highest amount of points at the table values during the entire storage period (88-80). In terms of storage and processing the most suitable variety was Malvína variety.

**Key words:** carbohydrates, potato, potato chips, quality, table value

## ÚVOD

Chemické zloženie zemiakov vplýva na spracovanie a je ovplyvnené niekoľkými faktormi, ako je produkčná oblasť, pôda, klimatické podmienky a spôsob skladovania (Leonel et al., 2017).

Vysoká hladina redukujúcich cukrov spôsobuje neenzymatické hnednutie pri vyprážaných výrobkoch, ktorá vzniká v dôsledku reakcie medzi redukujúcimi sacharidmi a aminokyselinami. Táto reakcia je známa pod názvom Maillardova reakcia. Maximálna hladina redukujúcich cukrov v lupienkoch sa pohybuje od 0,2 do 0,3 % a v prípade hranolčiekov je hodnota od 0,3 do 0,5 %. Vyšší obsah sacharózy spôsobuje sladkú chuť pri vyprážaných výrobkoch a varených zemiakoch. Maximálna akceptovateľná hodnota sacharózy je 0,15 % pre lupienky a pre hranolčky je 0,10 až 0,15 % (Rady a Guyer, 2015).

Zemiaky sú vo všeobecnosti pred každou konzumáciou tepelne opracované. Základným spôsobom je varenie vo vode. Varenie dokáže výrazne ovplyvniť chemické, fyzikálne a biologické vlastnosti, ktoré vedú k zmyslovým, výživovým a textúrnym zmenám. Tieto zmeny môžu byť škodlivé, alebo prospešné pre ľudské zdravie. Napríklad varenie deaktivuje mikroorganizmy, antinutričné zložky a zvyšuje stráviteľnosť jedál a biologickú dostupnosť živín. Varenie sa podieľa na tvorbe štruktúrnych a prospešných zlúčenín, ktoré dodávajú zemiakom krehkosť, chuť, farbu (Tian et al., 2016). Chuť varených zemiakov je odlišná od surových hľúz. Za chuť sú zodpovedné prchavé zlúčeniny, ktoré dodávajú typickú arómu varených zemiakov. Bolo identifikovaných viac ako 140 prchavých zlúčenín vo varených zemiakoch (Blanda et al., 2016).

Smaženie je jedným z najstarších spôsobov tepelného spracovania, ktoré sa používa na prípravu rôzneho spektra potravín. V priebehu smaženia dochádza k mnohým chemickým zmenám, ako je mazovatenie škrobu, denaturácia bielkovín, povrchové hnednutie, rýchle odparenie vody a absorpcia oleja. Smaženie vplýva aj na senzorické vlastnosti, ako je chuť, farba a textúra (Pedreschi, Moyano, 2005). Voda v surovine sa v priebehu smaženia postupne odparuje a čiastočne sa nahrádza olejom. Celkový obsah oleja vo finálnom produkte je asi 40 %. Absorpcia oleja je ovplyvnená rôznymi faktormi, ako je teplota a čas vyprážania, zloženie potravín (Bouaziz et al., 2016). Vyprážanie zahŕňa oxidáciu, hydrolýzu a polymerizáciu,

v dôsledku čoho sa produkuje veľká skupina nežiaducich zlúčenín. Tieto látky sa môžu vyskytovať v oleji alebo vo vyprášaných potravinách (Kmieciak et al., 2017).

Cieľom práce bolo analytické hodnotenie vybraného súboru skladovaných odrôd konzumných zemiakov a následne realizácia tepelného spracovania vzoriek odrôd zemiakov formou parenia hľúz a smaženia zemiakových plátok, ich senzorické zhodnotenie a posúdenie vhodnosti odrôd na tieto spôsoby úpravy.

## MATERIÁL A METODIKA

Vzorky boli odoberané z Výskumného a šľachtiteľského ústavu zemiakárskeho vo Veľkej Lomnici a z ÚKSÚP Bratislava, pracovisko Spišská Belá. Z každej odrody sme odobrali 2 kg hľúz v každom odbere (2017/2018, odbery 1. október, 2. január, 3. apríl). Podmienky skladovania: chladiaci box, teplota 5 – 6 °C, relatívna vlhkosť vzduchu 83-85 %. Odrody: Magda (SB), Megan (SB), Red Anna (SB), Agila (SB), Spinela (VL), Malvína (VL).

**Vzorky:** Odroda Spinela - pôvodná slovenská odroda, patrí medzi stredne skoré odrody. Zaraďuje sa medzi varný typ B. Farba dužiny žltá a šupky červená. Po uvarení majú hľuzy pevnú konzistenciu a sú slabo múčnaté. Odroda Malvína – pôvodná slovenská odroda, patrí medzi skoré odrody. Zaraďuje sa medzi varný typ B. Farba dužiny a šupky je žltá. Po uvarení majú hľuzy pevnú konzistenciu bez tmavnutia. Odroda Magda - patrí medzi stredné skoré odrody konzumných zemiakov. Zaraďuje sa medzi varný typ B/A. Farba dužiny a šupky je žltá. Hľuzy majú pevnú konzistenciu. Odroda Megan - patrí medzi stredné skoré odrody konzumných zemiakov. Zaraďuje sa medzi varný typ B. Farba dužiny a šupky je žltá. Odroda Red Anna - patrí medzi poloskoré odrody konzumných zemiakov. Zaraďuje sa medzi varný typ B-BA. Farba dužiny žltá a šupky červená. Po uvarení je príjemnej chuti a vône, má svoju typickú až takmer kukuričnú chuť. Odroda Agila - patria medzi skoré odrody konzumných zemiakov. Zaraďuje sa medzi varný typ A/B. Farba dužiny žltá a šupky červená. Hľuzy majú pevnú konzistenciu a sú slabo múčnaté. Využívajú sa ako prílohy k jedlám.

**Metódy práce:** **Stanovenie sušiny** - zemiaková homogenizovaná hmota sa najprv preduší pri teplote 60 °C 3 hodiny a následne sa dosuší pri teplote 105 °C podobu 3 hodín až do konštantnej hmotnosti. **Stanovenie škrobnatosti** – polarimetricky, metóda podľa Ewersa. Škrob sa mení v dôsledku hydrolýzy v prostredí zriedenej kyseliny chlorovodíkovej za varu. Následne sa určí uhol otáčania roviny polarizovaného svetla na polarimetri. **Stanovenie jednoduchých sacharidov** - na stanovenie sa využíva titračná metóda. Somogyiho činidlo redukuje prítomné sacharidy. Nasleduje kolorimetria farebného komplexu vzniknutej medňatej zlúčeniny s arzénomolybdenovým činidlom podľa Nelsona. **Stanovenie redukujúcich sacharidov** - redukujúce sacharidy vyredukovujú z Fehlingovho roztoku oxid medňý. Nadbytočné množstvo nezreagovaných medňatých iónov sa stanoví jodometricky. Medňaté ióny reagujú v kyslom prostredí s jodidom draselným a uvoľnený jód sa titruje odmerným roztokom tiosíranu sodného.

**Senzorické hodnotenie smažených lupienkov** - podľa Colour cards for quality evaluation of potato chips, vydané The Institute Storage and Processing of Agricultural produce, Wageningen, The Netherlands, European Association for Potato research (stupnica farebnej škály smažených výrobkov 9 až 1). Pracovný postup: čistenie hľúz – rezanie na plátky 1 mm – smaženie pri teplote 160 °C cca 2-3 min. vo fritéze (olej Fritol) – hodnotenie. Posudzovanie vykonali 5 zaškolení hodnotitelia.

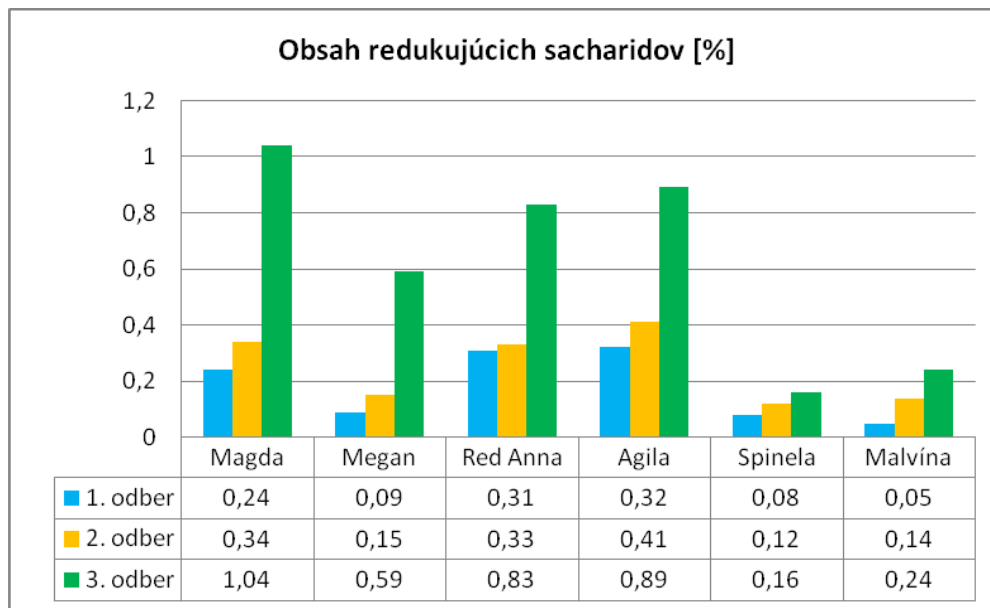
**Stanovenie stolovej hodnoty** - vykonávajú 5 zaškolení posudzovatelia. Hodnotia sa jednotlivé znaky s výsledným hodnotením max. 100 b. Hodnotí sa (STN 46 2211): vzhľad čerstvých surových, nešúpaných hľúz, vzhľad hľúz na povrchu a na reze po uvarení, vôňa, chuť a prehľadnosť, pevnosť dužiny a varivosť, trvanlivosť (tmavnutie po uvarení).

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Predpokladom výberu kvalitnej suroviny na spracovanie je posúdenie jej chemického zloženia a zložiek, ktoré sú významné pre predpokladaný účel využitia. Analytické hodnotenie predchádza samotnému potravinárskemu spracovaniu zemiakových hľúz. Sušina je významným parametrom, ktorý v posledných rokoch vplyvom pestovania pod závlahami a využívaním skorých odrôd zaznamenáva v hľuzách konzumných odrôd nižšie hodnoty, ako je v literárnych zdrojoch uvádzané. V analyzovaných hľuzách pri 1. odbere (október) sa hodnoty sušiny pohybovali v rozmedzí od 25,18 % do 20,56 %. Pri 2. odbere (január) sa hodnoty sušiny pohybovali v rozmedzí od 24,62 % do 18,65 %. Pri 3. odbere (apríl) sa hodnoty sušiny pohybovali v rozmedzí od 23,51 % do 15,63 %. Najvyšší obsah sušiny sa zistil pri odrode Spinela 23,51 %. Najnižšiu hodnotu dosiahla odroda Agila (15,63 %). Vyšší obsah je stabilizujúcim znakom z hľadiska skladovania a aj potravinárskeho využitia.

Škrob je hlavnou obsahovou zložkou sušiny zemiakových hľúz. V závislosti od odrody, priebehu klimatických podmienok pestovania a skladovania sa jeho obsah môže meniť. Dochádza k spravidla k jeho poklesu, ako dôsledok využitia na procesy dýchania a premeny na jednoduchšie formy sacharidov (Mareček et al., 2016). Priemerný obsah škrobu pri konzumných odrodách po zbere je +/- 17 %, pri škrobnatých typoch 20-22 %. Pri 1. odbere sa hodnoty škrobu pohybovali v rozmedzí od 19,56 % do 15,14 %. Pri 2. odbere sa hodnoty sušiny pohybovali v rozmedzí od 17,41 % do 13,12 %, čím nastal pokles obsahu s pribúdajúcou dĺžkou skladovania. Pri 3. odbere sa hodnoty sušiny pohybovali v rozmedzí od 14,88 % do 9,76 %. Na začiatku skladovania odroda Megan obsahovala najvyššie množstvo škrobu až 19,56 %. Počas skladovania však došlo k poklesu a na konci skladovania najviac škrobu obsahovala odroda Spinela v množstve 14,18 %. Hodnota obsahu škrobu po zbere zvyčajne koreluje obsah sušiny, neskôr sa tento rozdiel zväčšuje s nárastom jednoduchých a redukujúcich sacharidov vplyvom skladovania.

Redukujúce sacharidy zohrávajú významnú úlohu pri tepelnej úprave zemiakov smažením v tuku, kedy pri zvýšenom množstve nastáva Maillardova reakcia, ktorej následkom je hnednutie smažených výrobkov, tvorba tmavohnedých škvrn, alebo vznik akrylamidu (Singh a Kaur, 2016). Najnižšia hodnota redukujúcich sacharidov bola nameraná v odrode Spinela, čo je významné z hľadiska využitia odrody na produkciu smažených výrobkov (tab.1). Obsahy jednoduchých sacharidov pri 1. odbere sa pohybovali v rozmedzí od 0,52 % do 0,81%. Pri 2. odbere v rozmedzí od 0,61 % do 0,86 %. Pri 3. odbere sa hodnoty jednoduchých sacharidov pohybovali v rozmedzí od 0,75 % do 1,32 %. Najnižšiu hodnotu jednoduchých sacharidov mala odroda Malvína.



**Obrázok 1**  
**Redukujúce sacharidy podľa odrôd a odberov (%)**

Vo výskume sa posudzoval vplyv tepelnej úpravy smažením v tuku na kvalitu zemiakových plátkov (0,5 mm) za vzniku zemiakových lupienkov ako finálneho výrobku. Tieto boli posudzované podľa medzinárodnej štandardizovanej stupnice IBVL farebnej škály finálneho výrobku. Čím má lupienok svetlejšiu farbu (žltá, zlatistá), má najvyššie hodnotenie (9). Pri hodnotení farby zemiakových lupienkov bola najlepšie hodnotená odroda Megan a Malvína, ktoré aj na konci skladovania po tepelnej úprave mali najvyššie hodnotenie senzorickej kvality lupienkov (8).

Pri stanovení stolovej hodnoty sa postupovalo podľa STN46 2211, kde boli znaky hľúz posúdené pred tepelnou úpravou a po nej. Bol vybraný šetrný spôsob parenín (parák zemiakov Braun, 100 °C, 25 min.). Hodnotenie bolo podľa deskriptora pre bodové posúdenie stolovej hodnoty. Vplyvom tepelnej úpravy horúcou parou, čo je klasický spôsob kuchynskej prípravy zemiakov, odroda Red Anna dosiahla počas celého skladovacieho obdobia pri hodnoteniach najviac bodov (88 až 80).

### ZÁVER

V súbore hodnotených šiestich odrôd sa posudzovali znaky suroviny pred samotným spracovaním (obsah sušiny, škrobnatosť, obsah jednoduchých a redukujúcich cukrov) a po tepelnej úprave (stolová hodnota po parení a farba smažených lupienkov). Po šiestich mesiacoch skladovania (október – apríl) nebol zaznamenaný negatívny vplyv na vybranú odrodu. Všetky posudzované odrody môžeme hodnotiť ako vhodné na skladovací proces. Tepelná úprava smažením v tuku mala rôzny vplyv na odrody, vzhľadom na dĺžku skladovania. Najlepšie farebné škály mali odrody Malvína a Megan, čo spôsobila nízka hladina redukujúcich cukrov a vyšší obsah sušiny v hľúzach. Pri hodnotení vplyvu tepelnej úpravy vodnou parou na senzorickejšiu kvalitu hľúz odrôd si najstabilnejšie a najvyššie hodnotenie zachovala odroda Red Anna.

## LITERATÚRA

- Blanda, Giampaolo, Cerretani, Lorenzo, Comandini, Patrizia, Toschi, Gallina Tullia, Lercker, Giovanni. 2016. Investigation of off-odour and off-flavour development in boiled potatoes. In *Food Chemistry*, vol. 118, no. 2, pp. 283-290. ISSN 0308-8146.
- Bouaziz, Fatma et al. 2016. Feasibility of using almond gum as coating agent to improve the quality of fried potato chips : Evaluation of sensorial properties. In *LWT – Food Science and Technology*, vol. 65, pp. 800-807. ISSN 0023-6438. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.09.009
- Kmiecik, Dominik, Kobus-Cisowska, Joanna, Korczak, Józef. 2017. The content of anti-nutritional components in frozen fried-potato products. In *LWT – Food Science and Technology*, vol. 85, pp. 275-282. ISSN 0023-6438.
- Leonel, Magali et al. 2017. Chemical composition of potato tubers : the effect of cultivars and growth conditions. In *Journal of Food Science and Technology*, vol. 54, no. 8, pp. 2372-2377. ISSN 0022-1155. DOI: 10.1007/s13197-017-2677-6#citeas4
- Mareček, Ján, Ivanišová, Eva, Frančáková, Helena, Musilová, Janette, Krajčovič, Tomáš, Mendelová, Andrea. 2016. Evaluation of primary and secondary metabolites in selected varieties of potatoes. In *Potravinárstvo*, vol. 10, no. 1, pp. 145-161. ISSN 1337-0960. DOI: 10.5219/562
- Pedreschi, Franco, Moyano, Pedro. 2005. Oil uptake and texture development in fried potato slices. In *Journal of Food Engineering*, vol. 70, no. 4, pp. 557-536. ISSN 0260-8774.
- Rady, M. Ahmed, Guyer, E. Daniel. 2015. Evaluation of sugar content in potatoes using NIR reflectance and wavelength selection techniques. In *Postharvest Biology and Technology*, vol. 103, pp. 17-26. ISSN 0925-5214. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2015.02.012
- Singh, Jaspreet, Kaur, Lovedeep. 2016. *Advances in Potato Chemistry and Technology*. 2 vyd. Elsevier: Academic Press. 752s. ISBN 978-0-12-800002-1
- STN 46 22 11. Stolová hodnota zemiakov.
- Tian, Jinhu, Chen, Jianchu, Y. E, Xingqian. Chen, Shigou. 2016. Health benefits of the potato affected by domestic cooking : A review. In *Food Chemistry*, vol. 202, pp. 165-175. ISSN 0308-8146. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.01.120

**Pod'akovanie:** Táto práca bola podporovaná projektom VEGA č.1/0280/17 „Validácia vývoja funkčných potravín pomocou senzorickej analýzy a prístrojov umelej percepcie“.

**Kontaktná adresa:** doc. Ing. Ján Mareček, PhD., Katedra skladovania a spracovania rastlinných produktov FBP SPU, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

# HODNOTENIE ZÁVISLOSTI MEDZI FYZIKÁLNYMI A CHEMICKÝMI UKAZOVATEĽMI KVALITY ZELENÉHO HRÁŠKU EVALUATION OF THE DEPENDENCE BETWEEN PHYSICAL AND CHEMICAL INDICATORS OF THE QUALITY OF THE GREEN PEAS

*Andrea Mendelová, Eubomír Mendel, Ján Mareček*

**Abstract:** The aim of the thesis was to determine the effect of correlation between the hardness of fresh peas and the proportion of alcohol insoluble substances of frozen peas. We carried out the evaluation in the varieties of peas Karin, Cabree, Atempo, Banf, Prémio, Ambassador, Mastin and Elvas, harvested at varying sizes and hardness. Samples of biological material were grown in the south of the region of Banská Bystrica. The freezing of the peas took place in the real conditions of Equus Vinica company. We found a strong correlation between tenderometric hardness ( $^{\circ}T$ ) and alcohol content of insoluble substances (AIS - %). The result of the test is a regression line on which we can predict the content of alcohol insoluble substances in frozen peas.

**Keywords:** frozen peas, hardness, quality, alcohol insoluble substances

## ÚVOD

Hrach siaty (*Pisum sativum* L.) je jeden z významnejších druhov zeleniny pestovaných v miernom podnebnom pásme pre produkciu nezrelých semien (hrášku), prípadne celých sladkých strukov. Celková produkcia hrášku v celosvetovom meradle sa od roku 1993 neustále zvyšuje. Medzi hlavných pestovateľov hrášku vo svete patrí Čína (1 300 915 ha), India (380 000 ha), Spojené štáty (77 090 ha), Spojené kráľovstvo (34 553 ha) a Alžírsko (34 110 ha) (Zhang et al., 2016). Na Slovensku sa v roku 2017 hrach siaty pre produkciu zeleného hrášku pestoval na výmere 1 111 ha a produkcia hrášku dosahovala hodnotu 2 872 t (Meravá, 2018).

Zelený hrášok je veľmi populárna zelenina, odporúčaná dietológmi pre svoje komplexné zloženie. Nezrelé semená obsahujú bielkoviny a esenciálne aminokyseliny, sacharidy, vlákninu, makro a mikroelementy najmä draslík, fosfor, vápnik, horčík, železo a vitamíny C, B1, B2, PP, E a karotenoidy luteín, zeaxantín a  $\beta$ -karotén (Szymanowska et al., 2009). Zo sacharidov sú v zelenom hrášku zastúpené monosacharidy, oligosacharidy i polysacharidy. Hlavné monosacharidy sú glukóza a fruktóza. Semená hrášku obsahujú 0,3 % glukózy a 0,2 % fruktózy. Z disacharidov sa v hrášku vo väčšom množstve vyskytuje sacharóza a z oligosacharidov prevládajú hlavne rafinóza, stachyóza, verbaskóza (Crampton, 2017).

Dozrievaním hrášku sa v zrnách výrazne znižuje obsah monosacharidov a oligosacharidov a zvyšuje množstvo škrobu, ktorý spôsobuje tvrdosť zrn. Zrelosť hrášku sa v praxi posudzuje práve podľa tvrdosti zrn, ktorá sa zisťuje pomocou špeciálnych prístrojov. Určenie optimálnej zrelosti sa vykonáva aj stanovením v alkohole nerozpustných látok, medzi ktoré patrí vláknina, bielkoviny a škrob. Stupeň zrelosti je považovaný za dôležitý ukazovateľ kvality hrášku určeného na ďalšie spracovanie (Fellows, 2009). Aj Nleya et al. (2013) uvádzajú, že látky nerozpustné v alkohole (AIS) sa používajú ako index zrelosti pre zelený hrášok. Dozrievaním hrášku cukry konvertujú na škrob, semená zvyšujú svoju tvrdosť a zvyšuje sa aj obsah v alkohole nerozpustných látok a sušiny, čo pre spotrebiteľov v konečnom dôsledku znamená nižšiu senzorickú kvalitu v čerstvom stave a aj po mrazení.

Cieľom práce bolo určiť koreláciu vzťahu medzi tvrdosťou čerstvého hrášku stanovenou tenderometricky a podielom v alkohole nerozpustných látok v mrazenom hrášku.

## MATERIÁL A METODIKA

V práci sme hodnotili 8 odrôd hrášku zberaného v rôznej tvrdosti. Boli to odrody Karina, Cabree, Atempo, Banf, Prémio, Ambassador, Mastin, Elvas. Porasty sa pestovali na južnom Slovensku v oblasti Vinice, Mužle, Tekovských Lužanoch, Sklabinej, Plášťovciach, Veľkej Čalomiji a Nýrovciach.

Semená hrášku boli analyzované v čerstvom stave tenderometricky. Hrášok sme po vyselektovaní strukov a nečistôt vytriedili podľa veľkosti pomocou sít na tri frakcie 504 čo predstavuje priemer 9-10 mm, 503 (Ø 8-9 mm) a 502 (Ø 6-8 mm). Každú frakciu sme minimálne 3 krát zmerali pomocou tenderometra. Meranie sa vykonáva pomocou špeciálne kalibrovanej strižnej bunky. Výsledok ( T ) predstavuje odpor, ktorý kladú stláčané a strihané zrná hrášku čepeli tenderometra.

Na stanovenie podielu v alkohole nerozpustných látok (AIS) v mrazenom hrášku sme použili metodiku podľa Edelenbos et al. (2001). 250 g vzorky sme zmiešali s 250 ml destilovanej vody a jemne homogenizovali. Do Erlenmeyerovej banky sme navázili 20 g homogenizovanej vzorky, pridali sa 125 ml 95 % etanolu a vložili do vodného kúpeľu na 30 minút. Následne sme dekantovali sa najväčšie množstvo tekutiny nachádzajúcej sa nad usadeninou. Zostávajúcu hmotu homogenizovaného hrášku sme premývali pomocou malého množstva 80 % alkoholu, až do chvíle, kedy nebola kvapalina bezfarebná. Na filtráciu sme použili Buechnerov lievik s filtračným papierom. Odfarbenú usadeninu na filtračnom papieri sme rovnomerne rozmiestnili a vložili do vysúšačky. Sušenie prebiehalo pri teplote 100 °C po dobu 2 hodín.

Proces mrazenia hrášku prebiehal vo fluidnom zmrazovači podniku Equus a.s. Bratislava, mraziareň Vinica a pozostával z nasledovných krokov. Semená sa po doprave do spracovateľského podniku vytriedili, čím sa zbavili strukov, lístia a iných rastlinných prímiesí, následne sa prali, blanširovali vo vodnom kúpeľi pri teplote 92-95 °C po dobu 3-4 minút. Po blanširovaní sa hrášok schladil studenou vodou sústavou trysiek a cez vibračný stôl sa dopravoval do fluidného zmrazovacieho tunela. Mrazenie hrášku prebiehalo pri zmrazovacej teplote -37 až -39 °C po dobu 8-10 minút, pričom výstupná teplota hrášku nesmie byť vyššia ako -18 °C. Po mrazení nasledovalo optické a veľkostné triedenie, balenie a skladovanie pri teplote min. -18 °C a nižšej.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na základe tenderometrických meraní tvrdosti jednotlivých vzoriek hrášku sme zistili, že čím bol hrášok v rámci odrody väčší, mal aj vyššiu tenderometrickú tvrdosť. Pri menších odrodách hrášku klesala tenderometrická tvrdosť a tým aj podiel v alkohole nerozpustných látok (Tabuľka 1).

Najvyššiu tvrdosť sme namerali pri vzorke hrášku odrody Ambassador (182 °T). Táto hodnota bola nameraná pri priemere hrášku 9-10 mm. Druhú najvyššiu tvrdosť mala aj odroda Atempo (175 °T), ktorá bola nameraná pri priemere 8-9 mm. Najnižšiu tvrdosť mali odrody Mastin a Elvas s hodnotou 96 °T pri priemere hrášku 6-8 mm.

Po stanovení podielu v alkohole nerozpustných látok sme zistili, že odroda hrášku Ambassador, ktorá mala aj najvyššiu tenderometrickú tvrdosť, mala aj najvyšší podiel v alkohole nerozpustných látok s hodnotou 21,8 %. S klesajúcou tenderometrickou tvrdosťou, klesali aj hodnoty podielu v alkohole nerozpustných látok v jednotlivých odrodách. Pri odrodách hrášku Mastin a Elvas, ktoré mali najnižšiu tvrdosť boli hodnoty podielu v alkohole nerozpustných látok 10,1 % (Mastin) a 12,9 % (Elvas).

**Tabuľka 1 Hodnotenie veľkosti, tenderometrickej tvrdosti a podielu v alkohole nerozpustných látok**

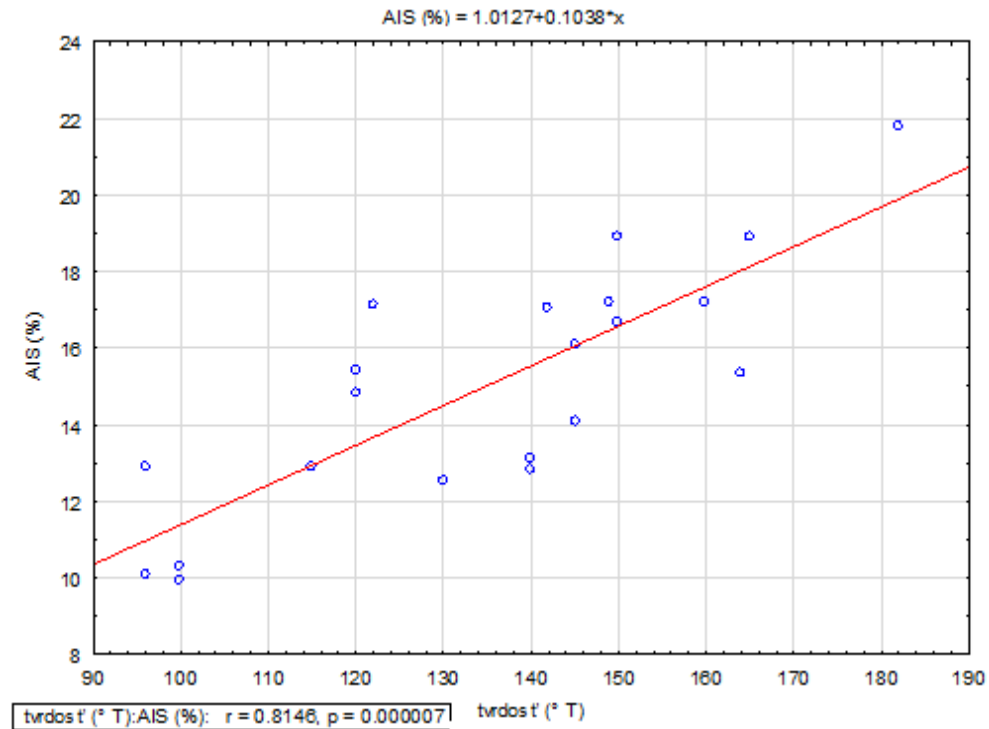
Odroda	Veľkosť	Tvrdosť (°T)	AIS (%)
<b>Karina</b>	503	132	15,5
<b>Cabree</b>	503	168	14,2
<b>Atempo</b>	503	175	13,8
<b>Banf (Tekovské Lužany)</b>	504	145	16,1
	503	130	12,5
	502	100	9,9
<b>Banf (Sklabiná)</b>	504	150	16,7
	503	145	14,1
	502	100	10,3
<b>Prémio (Nýrovce)</b>	504	150	18,9
	503	142	17,0
	502	115	12,9
<b>Prémio (Sklabiná)</b>	504	165	18,9
	503	160	17,2
	502	140	12,8
<b>Ambassador</b>	504	182	21,8
	503	149	17,2
	502	120	14,8
<b>Mastin</b>	504	164	15,3
	503	144	13,1
	502	96	10,1
<b>Elvas</b>	504	122	17,1
	503	120	15,4
	502	96	12,9

Podľa Edelenbosa et al. (2001) sa počas dozrievania hrášku zvyšuje hodnota tenderometrickej tvrdosti, obsah v alkohole nerozpustných látok a obsah škrobu a hrášok sa stáva tvrdším, menej šťavnatým a menej sladkým. Pevné látky nerozpustné v alkohole sú zvyšky obsahujúce škrob, vlákninu a bielkoviny. Edelenbos et al. (2001) zistili, že najdôležitejšie parametre kvality vyjadrené senzoricke ako múčnatosťou a šťavnatosťou, úzko súviseli s AIS, obsahom sušiny a škrobu. Pre všetky tieto parametre existuje silný vzájomný vzťah. Autori zistili, že obsah škrobu, ako aj hodnota AIS sú pri predpovedaní kvality senzorickej štruktúry mrazeného zeleného hrášku veľmi významnými faktormi.

Nleya et al. (2013) uvádzajú, že senzorickej kvalita zmrazeného zeleného hrášku, predovšetkým texturálne vlastností, sú dajú predpovedať na základe výsledkov fyzikálno-chemických analýz, najmä podielu pevných látok nerozpustných v alkohole, obsahu škrobu, tvrdosti a Brixu. Všeobecne platí, že v rámci odrody, hrášok menšej veľkostnej triedy má lepšiu senzorickej kvalitu. Menšie zrná v rámci odrody sú sladšie, menšie, šťavnatejšie a jemnejšie než zrná väčších rozmerov.

Autori Sorensen et al. (2003) sledovali úrodnosť a štruktúru semien zeleného hrášku v dvoch odrodách Novella a Avola. Autori rovnako poukazujú na to, že kvalita textúry vo vysokej miere koreluje so stupňom zrelosti, hodnotou tenderometrickej tvrdosti a koncentráciou AIS. Rýchle tenderometrickej meranie je preto rýchlym a zároveň spoľahlivým ukazovateľom pre určovanie najvhodnejšieho termínu zberu hrášku na mrazenie.





**Obrázok 1**  
**Regresná priamka závislosti medzi podielom v alkohole nerozpustných látok a tenderometrickou tvrdosťou**

Hodnotením korelačných závislostí Pearsonovým korelačným koeficientom sme zistili štatisticky preukaznú korelačnú závislosť ( $r=0,8146$ ;  $P<0,01$ ) medzi tenderometrickou tvrdosťou a podielom v alkohole nerozpustných látok. Výsledkom testovania je regresná priamka  $AIS (\%) = 1,0127+0,1038x$ , na základe ktorej môžeme predikovať obsah v alkohole nerozpustných látok v mrazenom hrášku.

Olaeta-Coscorroza (2000) sledoval vplyv zrelosti, spracovania a mraziarenského skladovania na fyzikálne, chemické a senzorické vlastnosti zmrazeného hrášku odrody Venus. Autor zistil, že hodnota tenderometrickej zrelosti je výrazne ovplyvnená stupňom zrelosti. Menej zrelý hrášok mal nižšiu hodnotu tvrdosti ako prezretý hrášok. Významná korelácia medzi hodnotou tenderometrickej tvrdosti a senzorickým hodnotením poukazuje na to, že meranie tvrdosti semien sa môže použiť ako veľmi presný indikátor zrelosti a senzorickej kvality.

## ZÁVER

Cieľom práce bolo určiť koreláciu vzťahu medzi tenderometrickou tvrdosťou čerstvého hrášku a podielom v alkohole nerozpustných látok v mrazenom hrášku. V našej práci sme najvyššiu tenderometrickú tvrdosť zistili vo vzorke hrášku odrody Ambassador (182 °T). Najnižšiu tvrdosť mali odrody Mastin a Elvas (96 °T). Po stanovení podielu v alkohole nerozpustných látok (AIS) bolo zistené, že odroda hrášku Ambassador, ktorá mala aj najvyššiu tenderometrickú tvrdosť, mala aj najvyššie AIS s hodnotou 21,8 %. S klesajúcou tenderometrickou tvrdosťou, klesali aj hodnoty AIS v jednotlivých odrodách. Najnižšiu hodnotu AIS mali odrody Mastin a Elvas. Hodnotením korelačných závislostí Pearsonovým korelačným koeficientom sme zistili štatisticky preukaznú korelačnú závislosť medzi tenderometrickou tvrdosťou a podielom v alkohole nerozpustných látok.

## LITERATÚRA

- Crampton, Linda. 2017. *Green Peas: Varieties, Nutrition Facts, Recipes, and Poems*. [online]. [cit. 2019-03-02]. Dostupné na internete: <https://delishably.com/vegetable-dishes/Green-Peas-Nutrition-Interesting-Facts-and-a-Poem>
- Edelenbos, Merete, Thybo, Anette, Erichsen, Lars, Wienberg, Lisbeth, Andersen, Lars. 2001. Relevant measurements of green pea texture. In *Journal of Food Quality*, vol. 24, no. 1, pp. 91-110. DOI: 10.1111/j.1745-4557.2001.tb00594.x
- Fellows, P. J. 2009. *Food Processing Technology: Principles and Practice*. Third edition. Elsevier : CRC Press. 928 s. ISBN 978-1-84569-216-2.
- Meravá, Eva. 2018. *Zelenina. Situačná a výhľadová správa k 31. 12. 2017*. Bratislava : Výskumný ústav ekonomiky poľnohospodárstva a potravinárstva. 54 s. ISSN 1338-8010.
- Nleya, Kathleen M., Minnaar, Amanda, De Kock, Henriette. 2013. Relating physico-chemical properties of frozen green peas (*Pisum sativum* L.) to sensory quality. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 94, no.5, pp. 857-865. DOI: 10.1002/jsfa.6315
- Olaeta - Coscorroza, Jose A. 2000. Effect of maturity on the physical, chemical and sensory properties of frozen peas. In *Food Science and Technology* [online],[cit. 2019-03-02]. Dostupné na: [https://ir.library.oregonstate.edu/concern/graduate\\_thesis\\_or\\_dissertations/7d278x26b](https://ir.library.oregonstate.edu/concern/graduate_thesis_or_dissertations/7d278x26b)
- Sorensen, Jorn Nygaard, Edelenbos, Merete, Wienberg, Lisbeth. 2003. Drought Effects on Green Pea Texture and Related Physical-Chemical Properties at Comparable Maturity. In *Journal of the American Society for Horticultural Science* [online], vol. 128, no. 1, pp. 128-135 [cit. 2019-03-02]. Dostupné na internete: [https://www.researchgate.net/publication/266528539\\_Drought\\_Effects\\_on\\_Green\\_Pea\\_Texture\\_and\\_Related\\_Physical-Chemical\\_Properties\\_at\\_Comparable\\_Maturity](https://www.researchgate.net/publication/266528539_Drought_Effects_on_Green_Pea_Texture_and_Related_Physical-Chemical_Properties_at_Comparable_Maturity)
- Szymanowska, Urszula, Jakubczyk, Anna, Baraniak, Barbara, Kur, Agnieszka. 2009. Characterisation of lipoxygenase from pea seeds (*Pisum sativum* var. *Telephone* L.). In *Food Chemistry*, vol. 116, no. 4, pp. 906-910. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.03.045
- Zhang, Xiaoyan, Wan, Shuwei, Hao, Junjie, Hu, Jinguo, Yang, Tao, Zong, Xuxiao. 2016. Large-scale evaluation of pea (*Pisum sativum* L.) germplasm for cold tolerance in the field during winter in Qingdao. In *The Crop Journal*, vol. 4, no. 5, pp. 377-383. DOI: 10.1016/j.cj.2016.06.016

**Pod'akovanie:** Táto práca bola podporená projektom VEGA č.1/0280/17 „Validácia vývoja funkčných potravín pomocou senzorickej analýzy a prístrojov umelej percepcie“.

**Kontaktná adresa:** doc. Ing. Andrea Mendelová, PhD. Katedra skladovania a spracovania rastlinných produktov, FBP SPU, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

**MIKROBIÁLNA ROZMANITOSŤ, HLAVNÉ PRCHAVÉ  
AROMATICKÉ LÁTKY A DYNAMIKA ICH VZNIKU V PRIEBEHU  
VÝROBY VÍNA  
MICROBIAL DIVERSITY, THE MAIN VOLATILE AROMATIC  
SUBSTANCES AND DYNAMICS OF THEIR FORMATION DURING  
THE PRODUCTION OF WINE**

*Katarína Ženišová, Zuzana Čaplová, Tereza Cabicarová, Katarína Šoltys,  
Tomáš Kuchta*

**Abstract:** Quality of wine depends mostly on several factors such as vine variety, climatic conditions, soil composition, grape processing as well as microbial communities. We analysed grape must, the fermenting must and wine before and after filtration of variety Pinot blanc from the Small Carpathian region using by non-culture approach based on amplification of 16S rDNA and internal transcribed spacer region and sequencing. By using Next-generation Sequencing (NGS), we created an original methodology with accurate and sensitive analysis of microbial communities. Volatile aroma compounds were analysed by GC – MS (gas chromatography–mass spectrometry). Examination of the original microflora in the Slovak wine-growing regions leads to the improvement and use of original local strains in production, for strains from abroad. The work has contributed to the deepening knowledge about the microflora relevant to Slovak wine and viticulture. The natural microflora, which is characteristic of the region, and which affects the oenological characteristics of the wine, has been identified.

**Key words:** wine, NGS, gas chromatography, yeast

### ÚVOD

Vína z odrody Rulandské biele (Pinot blanc) sú chuťovo plné a extraktívne, aróma pripomína citrusové plody s tónmi lipového kvetu, prípadne iných kvetov. Acidita by mala byť svieža, súčasne nie príliš drsná, ale príjemná (Pospíšilová et al., 2005). Za alkoholovú fermentáciu sú zodpovedné kvasinky a svojim metabolizmom významne ovplyvňujú kvalitu a senzorické vlastnosti budúceho vína. Kvasenie hroznového muštu nikdy nie je výsledkom aktivity jedného druhu alebo jedného kmeňa kvasiniek. Finálny produkt je dôsledkom kombinovaného pôsobenia rôznych druhov mikroorganizmov, ktoré sa počas fermentačného procesu presadzujú viac alebo menej úspešne a viac alebo menej úspešne ovplyvňujú aj kvalitu vznikajúceho vína (Furdíková et al., 2014). Zastúpenie aromatických látok vo víne je veľmi rôznorodé. Zatiaľ sa rozlišuje 600 až 800 aromatických zlúčenín. Napriek tomu, že sa rozlišuje tak vysoký počet aromatických zlúčenín, len obmedzený počet významne prispieva k aróme vína. Rozdielne množstvo závisí od odrody, zrelosti hrozna, podnebia a pôdy (Rapp, 1998). Jednotlivé zlúčeniny vznikajú v rôznych štádiách výroby vína a ich koncentrácia sa v čase mení. Zložky primárnej arómy pochádzajú z hrozna, sekundárna aróma vzniká v procese spracovávania muštu a fermentácie a terciárna aróma vzniká počas zrenia a starnutia vína (Furdíková et al., 2007).

### MATERIÁL A METÓDY

Zloženie mikroflóry sme sledovali v mušte, fermentovanom mušte, v mladom víne, víne pred filtráciou a víne po filtrácií. Vzorky hrozna odrody Rulandské biele sme získali z Malokarpatskej vinohradníckej oblasti, z Modry, z ročníka 2017. Víno bolo vyrobené dvoma spôsobmi, v prvom spôsobe sme do muštu pridali komerčne dostupné kvasinky

(*Saccharomyces cerevisiae*) a v druhom spôsobe neboli pridané komerčné kvasinky (spontánne kvasenie).

#### *Paralélne sekvenovanie (NGS)*

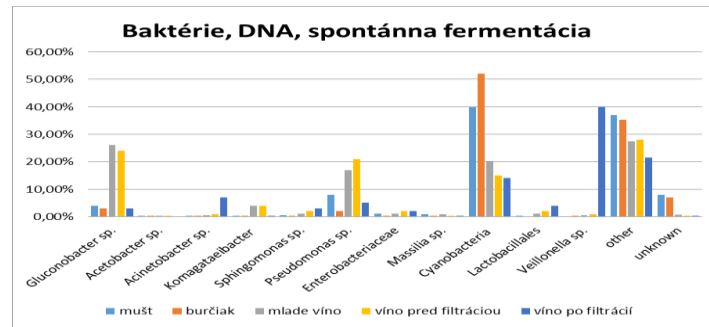
Zo vzoriek sme extrahovali DNA použitím komerčnej súpravy DNeasy mericon Food Kit (Qiagen). Objem na extrakciu bol 2000  $\mu$ l. Pri vzorkách mladého vína (M3) bolo potrebné objem zvýšiť na 4000  $\mu$ l, pretože sediment bol veľmi malý. Koncentráciu získanej DNA sme merali po derivatizácii fluorescenčne prístrojom Qubit 4 (ThermoFisher). Pomocou univerzálnych primérov so špecifickými adaptérovými sekvenciami sme amplifikovali úsek génu kódujúceho 16S rRNA pre prokaryotické mikroorganizmy a medzerníkovú oblasť medzi génmi pre rRNA na identifikáciu eukaryontov (huby, kvasinky). Po amplifikácii sme vzorky prečistili pomocou kitu QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen). Z amplifikovaných frakcií metagenómu sme vytvorili knižnice a analyzovali ich na prístroji Illumina MiSeq v Univerzitnom vedeckom parku (Univerzita Komenského, Bratislava). Získané sekvencie sme analyzovali pomocou programu CLC Genomics Workbench, kde sme sekvencie upravili a porovnali s programom nBLAST (NCBI).

#### *Separácia prchavých látok*

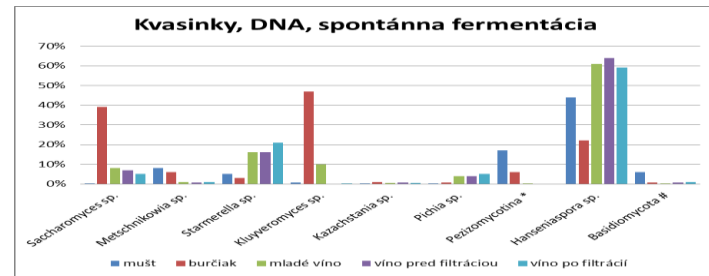
Za účelom identifikácie senzoricke významných látok sa použila tiež GC-MS analýza pri vzorkách vína pred a po filtrácii. Prchavé látky boli extrahované z 10 ml vzorky pomocou mikroextrakcie na tuhej fáze (SPME) s vláknom s aktívnou vrstvou polydimethylsiloxánu a divinylbenzénu (PDMS/DVB) s hrúbkou vrstvy 65  $\mu$ m (Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, USA). Extrahované zlúčeniny z vlákna boli desorbované pri 250 °C počas 2 min v nástrekovom module plynového chromatografu 6890N (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA) spojeného s hmotnostným spektrometrom 5973 (Agilent Technologies) a vybaveného polyetylénglykolovou (PEG) kolónou DB-WAXetr s vysokou polaritou (dĺžka 30 m, vnútorný priemer 0,25, hrúbka stacionárnej fázy 0,5  $\mu$ m; Agilent Technologies). Priemerná rýchlosť nosného plynu hélia bola 34 cm/s pri konštantnom prietoku. Použilo sa ionizačné napätie (EI) 70 eV. Identifikácia prchavých zlúčenín sa uskutočnila porovnaním hmotnostných spektier s knižnicou NIST 14 MS (National Institute Standards and Technology, Gaithersburg, Maryland, USA).

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Doteraz sme študovali mikrobiálnu diverzitu zavedenými nekultivačnými metódami ako PCR-klonovanie a alebo PCR-DGGE (Brežná et al., 2010; Ženišová et al., 2014; Godálová et al., 2016). V súčasnosti je však už k dispozícii ešte efektívnejšia technika, menovite paralelné sekvenovanie DNA (Next generation sequencing, NGS). Údaje získané v rámci tejto štúdie poskytujú dôkazy o bohatej prítomnosti prokaryotickej a eukaryotickej mikroflóry. V analyzovaných vzorkách sa vyskytovali nasledujúce rody baktérií *Gluconobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *Acetobacter* sp., *Acinetobacter* sp., a iné. Výskyt baktérií v jednotlivých štádiách výroby je znázornený na obr. 1. Z kvasiniek boli identifikované rody *Saccharomyces* sp., *Metschnikowia* sp., *Hanseniaspora* sp., *Pichia* sp. a iné. Výskyt kvasiniek v jednotlivých štádiách výroby je znázornený na obr. 2. Vzorky obsahovali environmentálne mikroorganizmy a mikroorganizmy potrebné pre fermentáciu vína, detegované bolo aj nízke množstvo patogénov, ktoré boli pravdepodobne prenesené do vzorky pri manipulácii pracovníkmi.



**Obr. 1:** Zastúpenie baktérií v priebehu výroby vína, pri spontánnej fermentácii



**Obr. 2:** Zastúpenie kvasiniek v priebehu výroby vína, pri spontánnej fermentácii

### *Separácia prchavých látok*

Škála aróma-aktívnych látok produkovaná rôznymi nesacharomycétovými kvasinkami je dobre preštudovaná (Rossouw a Bauer, 2016 Herrero et al., 2016). Pomocou GC – MS analýzy sme identifikovali 21 prchavých zlúčenín vrátane esterov, fenyletylov, alkoholov a mastných kyselín, ktoré sme zvolili na základe literatúry, konzultácií s odborníkmi v danej oblasti a na základe našich doterajších skúseností. Výsledky uvádza Tab. 1. Identifikovaných bolo 8 esterov a 2 fenyletyly, vrátane etylacetátu, izoamylacetátu, etylhexanoátu, hexylacetátu, etyloktanoátu, etyldekanoátu, etyl-9-dekanoátu, etyldodekanoátu, fenyletylacetátu a 2-fenyletanolu. Medzi vzorkami Pinot Blanc so štartovacou kultúrou a bez štartovacej kultúry boli významné rozdiely v koncentráciách niektorých esterov. Víno Pinot blanc so štartovacou kultúrou obsahovalo vyššie koncentrácie piatich esterov a to izoamylacetátu, hexylacetátu, etyl-oktanoátu, etyldodekanoátu a fenyletylacetátu. Víno Pinot blanc bez štartovacej kultúry obsahovalo viac etyldodekanoátu, 3-metyl-1-butanolu a 2-fenyletanolu. Vína sa líšili v obsahu niektorých mastných kyselín. Vzorky vína so štartovacou kultúrou obsahovali vyššie koncentrácie určitých mastných kyselín vrátane kyseliny hexánovej, kyseliny oktanovej a kyseliny dekanovej. Proces filtrácie vína nemal významný vplyv na aromatický profil vzoriek vín.

## **ZÁVER**

Použitím paralelného sekvenovania sme ako prvý na Slovensku vytvorili originálnu metodiku s presným a citlivým analyzovaním mikrobiálnych spoločenstiev vo vybraných vzorkách. Výsledky poukazujú na odlišnosti medzi vzorkami vyrobenými so štartovacou kultúrou a bez nej, a menšie rozdiely medzi jednotlivými šaržami pred filtráciou a po filtrácii. Proces filtrácie vína nemal významný vplyv na aromatický profil vzoriek vín. Práca prispela k prehĺbeniu vedomostí týkajúcich sa mikroflóry relevantných pre slovenské vinárstvo a vinohradníctvo.

**Tab. 1.** Výsledky relatívnej kvantifikácie vybraných prchavých aróma-aktívnych látok vo vzorkách vína Pinot blanc ročník 2017

Retenčný čas	Zlúčenina	Popis arómy	Relatívna plocha píku (%)			
			So štartérom		Bez štartéra	
			Pred filtráciou	Po filtrácii	Pred filtráciou	Po filtrácii
4,27	Etylacetát	kyslá, ovocná, lak na nechty	2,01	2,29	2,06	2,04
7,62	Propanol	drsňá	0,34	0,21	0,24	0,22
9,22	Izobutanol	kvetinová, ruža, ovocná	0,11	0,09	0,41	0,53
9,81	Izoamylacetát	banán, hruška	10,58	9,53	5,81	8,77
12,46	Izopentanol	banán, ovocie	8,79	9,03	16,25	16,10
13,08	Etylhexanoát	zelené jablko	3,23	3,12	2,38	2,55
14,19	Hexylacetát	sladká, parfémová	2,01	2,02	0,20	0,22
16,45	Hexanol	sladká, parfémová	0,13	0,14	0,35	0,41
18,67	Etyloctanoát	mydlová, ovocná, ananás, hruška, kvetinová	12,79	12,98	9,55	9,81
19,25	Acetic acid	octová	0,77	0,97	1,15	0,97
21,45	2,3-butándiol	ovocný, krémový, maslový	1,06	1,61	1,72	1,27
23,79	Etyldekanoát	kvetinová, mydlová	4,40	4,38	3,17	3,51
25,09	Etyl 9-dekanoát	ovocná, olejová	0,61	0,79	0,49	0,57
28,19	2-fenyletylacetát	sladká, medová, kvetinová, ruža	5,33	5,24	2,73	2,98
28,46	Ethyl dodekanoát	sladká, mydlová, rumová, kvetinová	0,12	0,06	0,046	0,02
28,59	Kyselina hexánová	tuková, pot	0,17	0,14	0,03	0,08
30,21	2-fenyletanol	kvetinová, ruža, ovocná	6,55	6,57	9,16	9,45
32,99	Kyselina oktánová	drsňá, stuchnutá	6,59	7,27	4,28	4,96
37,01	Kyselina dekánová	tuková	9,76	10,08	6,49	7,59
38,12	Kyselina 9-decénová	vosková rastlinná, ovocná tuková, mydlová	1,69	2,33	2,24	2,36
40,68	Kyselina dodekanová	tuková, kokos, vavrín	0,31	0,20	0,17	0,18

#### LITERATÚRA

- Brežná, B., Ženišová, K., Chovanová, K., Chebeňová, V., Kraková, L., Kuchta, T. and Pangallo, D., 2010. Evaluation of fungal and yeast diversity in Slovakian wine-related microbial communities. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 98(4), pp.519-529.
- Furdíková, K., Malík, F. 2014. Spôsoby vedenia alkoholovej fermentácie. *Vinič a víno*, In: *Vinič a víno*, 5, 156-158.
- Furdíková, K., Malík, F. 2007. Vplyv kvasiniek na aromatický profil vína, *Vinič a víno*, 7, 61–63.
- Godálová, Z., Kraková, L., Puškárová, A., Bučková, M., Kuchta, T., Píknová, E. and Pangallo, D., 2016. Bacterial consortia at different wine fermentation phases of two typical Central European grape varieties: Blaufränkisch (Frankovka modrá) and Grüner Veltliner (Veltlínske zelené). *International Journal of Food Microbiology*, 217, 110-116.
- Herrero, P., Sáenz-Navajas, P., Culleré, L. Ferreira, V., Chatin A., Chaperon V. Litoux-Desrues, F., Escudero A. 2016 Chemosensory characterization of Chardonnay and Pinot Noir base wines of Champagne. Two very different varieties for a common product. *Food Chemistry* 207, 239-250

- Pospíšilova, D., Sekera, D., Ruman, T., 2005: *Ampelografia Slovenska*. Výskumná a šľachtiteľská stanica vinárska a vinohradnícka Modra, 367. ISBN: 80-96-9350-9-7
- Rapp, A. 1998. *Volatile flavour of wine: Correlation between instrumental analysis and sensory perception*. 42 (06), 351–363,
- Rossouw, D. and Bauer, F.F., 2016. Exploring the phenotypic space of non-Saccharomyces wine yeast biodiversity. *Food Microbiology*, 55, 32-46.
- Ženišová, K., Chovanová, K., Chebeňová-Turcovská, V., Godálová, Z., Kraková, L., Kuchta, T., Pangallo, D. and Brežná, B., 2014. Mapping of wine yeast and fungal diversity in the Small Carpathian wine-producing region (Slovakia): evaluation of phenotypic, genotypic and culture-independent approaches. *Annals of Microbiology*, 64(4), 1819-1828.

**Pod'akovanie:** Práca bola podporená projektom APVV-16-0264: Zvýšenie organoleptickej kvality vína aplikáciou nesacharomycétových koštartérov optimalizovanou na základe analýzy mikrobiológie použitím NGS a analýzy arómy

**Kontaktná adresa:** Ing. Katarína Ženišová, PhD., NPPC – Výskumný ústav potravinársky, Priemyselná 4, P.O. Box 25, 824 75 Bratislava 26

## **PREZENTÁCIE FIRIEM A SPONZOROV**



## NIR ANALÝZA - SPOLEHLIVÁ KONTROLA JAKOSTNÍCH PARAMETRŮ V POTRAVINÁŘSKÉM PRŮMYSLU NIR ANALYSIS -

*René Bien*

**NIR metoda** ovlivnila v posledních 30 letech zásadním způsobem hodnocení kvality nejen v potravinářském průmyslu, ale i v rostlinné prvovýrobě, u skladovatelů obilí a v krmivářském průmyslu. Dá se říci, že přímo určuje rozvoj těchto odvětví, např. ve vertikále zpracování obilovin převzala NIR metoda, především pro stanovení N-látek, dominantní postavení. Na tento technický pokrok reaguje normotvorná činnost zakotvením parametrů a postupů jejich sledování (např. ČSN EN ISO 12099 - Krmiva, obiloviny a mlýnské výrobky - Směrnice pro aplikaci blízké infračervené spektrometrie).

NIR analýza je celosvětově rozšířená operativní metoda poskytující **výsledky v aktuálním čase**, tzn. ještě ve výrobní technologii, před zabalením a expedicí. Její hlavní předností je **schopnost určit souběžně během jednoho měření obsahu řady látek**, především základních živin (vlhkosti, bílkovin, tuku, vlákniny, popela, škrobu, svalové bílkoviny, soli, vodní aktivity apod.). Doba trvání analýzy se pohybuje od několika sekund do cca 1 min.

**Princip metody** spočívá v měření odraženého, popř. prošlého, záření vzorkem v oblasti vlnových délek od cca 900-2600 nm (blízká infračervená oblast). Část energie tohoto elektromagnetického záření je pohlcována absorberými, což jsou dvouatomové vazby C-H, N-H, O-H, S-H, které jsou obsaženy v charakteristických skupinách látek, jako např. bílkoviny, tuky, sacharidy apod. Příčinou absorpce světla je změna rotačně-vibračních stavů těchto vazeb. Jejich počet je úměrný koncentraci řady komplexních látek v analyzovaném materiálu, a je proto možné tyto závislosti (kalibrace) analyticky využít.

Chyba měření se nejčastěji vyjadřuje jako směrodatná odchylka rozdílů získaných metodou kalibrační (referenční pro daný parametr) a metodou NIR, ta se nejčastěji pohybuje mezi 1,2 -1,5 násobkem reprodukovatelnosti kalibrační metody. Hodnoty chyby měření se nedají paušalizovat a jsou závislé na konkrétním produktu, způsobu NIR měření, koncentračním rozsahu apod. Pro praxi důležitá je i práce s nejistotou měření, která se dá vyjádřit např. jako dvojnásobek směrodatné odchylky a je to interval, ve kterém se s 95% pravděpodobností nachází správná hodnota parametru.

Díky vyhodnocovací části softwaru, který je většinou součástí přístroje, lze každý parametr graficky znázornit a sledovat jeho průběh v nastavených limitech.

Díky rychlosti NIR měření je možné tuto metodu využívat i pro **on-line aplikace**. V samotném výrobním procesu je ekonomicky efektivní sledování např. tuku nebo obsahu vody. Na základě výsledků měření může být proces výroby optimalizován, například upraveno dávkování. Procesy monitorování a dávkování mohou být propojeny a lze je automatizovat.

**Kontaktní adresa:** Ing. René Bien, O.K. SERVIS BioPro, s.r.o. Bořetická 2668/1, 193 00 Praha 9 (ČR)  
r.bien@oks.cz



## Retrospektiva imunokastrace v Čechách a na Slovensku

Kastrace kanečků určených do výkrmu po narození se v chovech prasat využívá již mnoho let. Podle znění Bruselské deklarace se členské státy Evropské unie zavázaly skončit s tradiční metodou zamezující riziku výskytu kančího pachu ve vepřovém masu chirurgické kastrace kanečků bez anestezie do roku 2018.

**Řešením může být tzv. kastrace imunologická, která je založena na dočasném působení aktivních látek v těle kance. Tyto látky dočasně omezují aktivitu varlat a tak potlačují kančí zápach masa.**

Alternativa chirurgické kastrace kanečků ve formě imunokastrace je na českém a slovenském trhu k dispozici od roku 2009. Díky zavedenému tradičnímu postupu kastrace se pochopitelně prosazovala pomalu. Překážky nevznikaly v prvovýrobě vepřového masa – během prvního roku si imunokastrace našla 12 stálých uživatelů – chovatelů. Bariéry se vyskytovaly spíše u zpracovatelů, veterinárně hygienické kontroly na jatkách a prodejního článku. Jako výrobci vakcíny se nám nedařilo vysvětlit, že nejde o hormonální aplikaci, ale o imunologický preparát. Velmi obdobná situace byla i v ostatních zemích Evropy s výjimkou Belgie, kde se imunokastrace prosadila přibližně u 35% produkce kanců ve výkrmu.

Na začátku roku 2018 se vytvořila podpora ve formě národní dotace pro podporu alternativy chirurgické kastrace bez anestezie. Paradoxem je, že podpora není určena pro alternativu imunokastrace, navzdory jejím prokázáním výhodám pro chovatele/producenty i zpracovatele jatečného těla. Vakcinování kanečci využívají totiž až do druhé vakcinační dávky svůj samčí potenciál. To se projeví hlavně ve **zlepšení konverze krmiva** a tedy ve **zkrácení doby výkrmu a ve výsledku také v menší produkci prasečí kejdy**. S čímž nutně souvisí i environmentální pohled na produkci, a ačkoliv pravdou je, že se v našich zeměpisných šířkách na něj doposud moc nedalo, doba se mění... Dalším benefitem je **lepší zmasilost imunokastrovaných kanců** ve srovnání s kastráty. Ve většině chovů dochází také ke **snížení mortality u vakcinovaných kanečků** díky tomu, že se nedochází ke kastrační ráně, tedy většímu riziku infekce (hlavně streptokoky). Tato kastrační rána se zpravidla kryje lokálně antibiotiky a tak přichází do zúčtování ve prospěch imunokastrace i **menší spotřeba antibiotik**, rovněž hojně diskutované téma v posledních letech.

Bude tak jistě zajímavé, jaké budou kontrolní mechanismy na využití chirurgické kastrace s anestézií kanečků v provozních podmínkách, neb z hlediska rutinního provozu je to velmi problematické řešení.

Širší prosazení imunokastrace kanců je předmětem konsenzu mnoha subjektů v dodavatelsko - odběratelských vztazích a kontrolních institucí. Jednoduché nebude ani rozptýlení obav laické veřejnosti z konzumace produktů z imunokastrovaných zvířat, protože maso konzumující veřejnost není pochopitelně objektivně a plně informována. Jinak by se musela nutně pozastavit nad množstvím hormonů, které se například používá v postupech řízení reprodukce skotu, kdy takto ošetřená zvířata jsou někdy vybrakována a jdou rovněž do potravního řetězce. Naopak, co se imunokastrace týče, obdobný imunologický produkt se od r. 2013 například používá v Jižní Americe pro samčí populaci skotu ke zklidnění agresivního chování. Kdo má tedy rád „argentinský steak“ s velkou pravděpodobností konzumuje produkt ze zvířete, které bylo také ošetřeno imunokastrací.

# Fast GC-MS/MS Analysis Of Multicomponent Pesticide Residues (360) In Food Matrix

Hendrik J. Schulte; Hans-Ulrich Baier; Stéphane Moreau  
Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Germany

## 1. Introduction

Contamination of food products with pesticides is a growing concern because of recognized adverse health effects, increasing world-wide usage of pesticides, and increasing imports of raw foodstuffs from foreign sources.

Consequently, the number of samples as well as monitored pesticides became significantly higher in the last decade. To handle this high sample load, a Quick, Easy and Cheap cleanup procedure called QuEChERS was established<sup>[1]</sup>. Unfortunately, samples prepared by this method contain large matrix signals which complicate an accurate pesticide quantification. Due to this drawback the use of tandem MS instruments using multiple reaction mechanisms (MRM) became more frequent in the last years, as it increases selectivity and sensitivity. Beside matrix interference the analysis time is a crucial point when handling a high sample load in routine work. The usage of narrow bore capillary columns has been shown to be a powerful tool to drastically reduce the analysis time while maintaining chromatographic resolution in different GCMS applications<sup>[2]</sup>. Combining the speed of fast GC and the selectivity of tandem MS is a powerful tool to increase laboratory efficiency and reduce working costs. As fast GC reduces the peak width at half height (FWHM) down to about 1 s the detector must be able to follow sharp increases of signals. Therefore, fast MRM switching modes with no interfering cross talks are needed.

The potential of this approach is demonstrated in the actual study by analyzing 360 pesticides in apple QuEChERS extract in less than 10 minutes.

## 2. Experimental

### 2.1 Sample preparation

Apple extract was used as test sample matrix. The sample matrix was extracted and subjected to cleanup using the well-established QuEChERS procedure. A 6-point calibration curve (0.5 ppb to 100 ppb) was created by spiking the blank sample matrix using internal standard technique. The spiking solution contained an overall number of 360 different pesticides and TPP as internal standard.

Table 1: Analytical Conditions

GC	
Instrument:	GCMS-TQ8040 (Shimadzu, Japan)
Software:	GCMSsolution 4.2 with smartMRM and MRM Optimization Tool
Injector:	Optic-4, IP deactivated liner with glass insert
PTV Programme:	70 °C, 15 °C/s to 280 °C, 1.2 min, 15 °C/s to 320 °C, 6 min
Split:	Splitless Injection (1.3 min)
Injection Volume:	1 µL
Column:	5 MS 20 m, 0.18 mm, 0.18 µm
GC Oven	80 °C, 1 min, 35 °C/min to 210 °C, 25 °C/min to 320 °C, 2 min
MS	
Transfer Line	300 °C
Ion Source:	200 °C
Emission Current:	100 µA
Ionization Mode:	El, 70 eV
Mass Resolution:	Q1 0.8 Da, Q3 at 3.0 Da (FWHM)
CID Gas:	Argon (200 kPa)
Loop Time:	0.18 s
Acquisition Mode:	MRM
Min Dwell time per MRM	3 ms
Processing Window	±0.1 min

### 2.2 Sample measurement

A Shimadzu GCMS-TQ8040 equipped with the GL Sciences multi-mode inlet Optic-4 and an AOC5000 Plus was used for sample measurement. MRMs and collision energies (CE) were taken from Shimadzu's SmartDB for pesticides. MRMs and CEs for pesticides missing in the database were determined by the fully automatic MRM Optimization Tool available in the actual version of GCMSsolution. SmartMRM was utilized for the measurement time optimization. The algorithm guaranteed a processing time window not below 12 seconds for each compound and a dwell time per MRM of at least 3 msec. All compounds were measured with one quantifier and one qualifier. Table 1 gives a detailed summary of analytical conditions.

## 3. Results

Figure 1 shows the full chromatogram of the measured 360 pesticides. It can be seen that all compounds elute in less than 10 minutes. Moreover, a strong tendency for co-elutions is evident. To follow such a high information density, the use of a highly selective detector like a triple quad MS is inevitable.

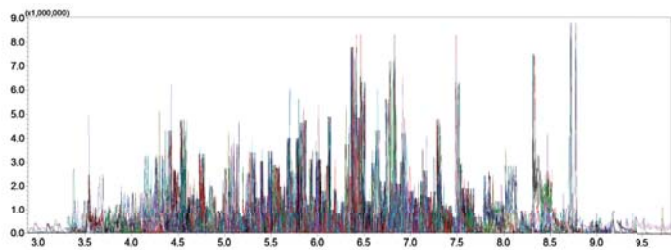


Figure 1: Chromatogram 360 Pesticides In Apple Extract

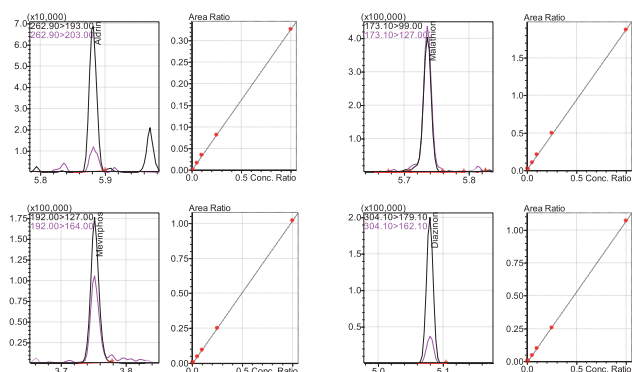


Figure 2: Calibration Curve (0.5 ppb – 100 ppb) and Peak Profile at 5 ppb (Aldrin, Malathion, Mevinphos and Diazinon)

Results shown in figure 1 were obtained using a 5 ms 20 m, 0.18 mm, 0.18 µm fast GC column. It is noteworthy that there are columns available, which have lower dimensions and offer even faster chromatographic results. Using fast GC columns, two contradictory effects have to be taken into account when choosing ideal measurement conditions. On the one hand the lower inner diameter and higher possible heating rates enable sharpened peaks and consequently higher S/N ratios. On the other hand the sample capacity decreases by lowering the column dimensions, which results in lower absolute sample amounts and minimization of sensitivity<sup>[3]</sup>. Therefore, the used intermediate column is a good compromise to decrease analysis time while maintaining high sensitivity.

The calibration results determined with the setup can prove the aforementioned assumption. Matrix calibration curves (0.5 ppb – 100 ppb) were measured for all 360 pesticides. The linear correlation factor was higher than 0.9980 for every compound. Nearly all components were detectable at the lowest concentration of 0.5 ppb. Figure 2 shows peak profiles and calibration curves for some typical pesticides. As already indicated by the correlation factor, linearity is very good for all compounds.

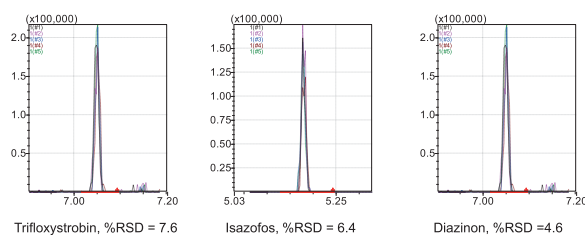


Figure 3: Superimposition of 5 unsmoothed peaks and RSD% of 3 compounds measured at 3 ms dwell time

Peak widths at half maximum (FHMW) are easily decreased below 1 sec using fast GC separation. This decline was also found for the peaks shown in figure 2. Furthermore, it is known that for a good reproducibility at least 10 data points per peak are needed<sup>[4]</sup>. To enable this number of data points a loop time of 0.18 s was chosen. As in some parts of the chromatogram up to 30 compounds eluted in the same processing window and for each compound two transitions (1 Quantifier and 1 Qualifier) were needed, the total number of transitions reached up to 60 per data point. Consequently, the lowest dwell time per MRM was in some cases 3 msec. At this short dwell times, precision and speed of the instrument become very important to obtain good reproducibility for all measured transitions. Figure 3 shows superimpositions and RSD-values of three different peaks measured with a data point dwell time of 3 msec. It is evident that RSDs for these peaks are below 10%. This high degree of precision was found for most of the compounds. It has to be mentioned that for some compounds %RSD-values were merely below 15%. As this %RSD-values are also found at higher dwell times, it can be concluded that the lack of precision is not caused by the mass spectrometer but by active sites in liner or column. Further optimization of the sample introduction by improved liner deactivation will help to decrease %RSD for these few compounds as well.

## 4. Conclusion

The actual study shows the successful combination of fast GC and tandem mass spectrometry. It was possible to determine 360 pesticides spiked in a QuEChERS apple extract with excellent calibration curve linearity and good reproducibility in less than 10 minutes. The shown application can help to increase routine laboratory efficiency.

## 5. Literature

- [1] QuEChERS, European Standard, EN 15662,
- [2] Baier, H.-U. In *Practical Gas Chromatography: A Comprehensive Reference*; Dettmer-Wilde, K.; Engewald, W., Eds.; 2014; Chapter 12; to be published,
- [3] Mondello, L. et al., *Journal of Chromatography A*, 2004, 1035, 237-247,
- [4] Mastovska, K., Lehota, S. J.; *Journal of Chromatography A*, 2003, 1000, 153–180.



# NIR ANALÝZA

SPOLEHLIVÁ KONTROLA  
JAKOSTNÍCH PARAMETRŮ



## NIR analyzátor DA 7250

- **Stolní analyzátor s diodovým polem**, vhodný pro analýzu zrna, prášků, pelet, past (masných výrobků), kalů apod.
- Lze použít pro téměř všechny typy vzorků bez požadavku na speciální úpravu vzorků.

## On-line analyzátor DA 7440

- **Analyzátor pro monitoring kvalitativních parametrů** umístěný přímo nad pásem ve výrobním procesu.
- Možnost řízení technologických procesů např. dávkování surovin, optimalizace teploty sušení apod.



## Inframatic 9520

- **Stolní NIR analyzátor** určený speciálně pro analýzu mouky a semoliny.
- Poskytuje informace pro sledování a optimalizaci mlýnského procesu. Rychlé výsledky hodnot popela, bílkovin, vlhkosti, lepku a dalších umožní optimalizovat výtěžnost v reálném čase.

## FT-NIR Spektrometr MPA

- **Spolehlivý víceúčelový FT-NIR analyzátor** ke kontrole kvality např. mléčných výrobků všech typů (tekuté, viskózní, pastovité i pevné formy) a olejů apod.



O.K. SERVIS BioPro, s.r.o. | Bořetická 2668/1, 193 00 Praha  
+420 281 091 460, +420 841 111 114 | info@oks.cz

O.K. SERVIS BioPro SK, s.r.o. | Bulharská 70, 821 04 Bratislava  
+421 243 634 967 | bratislava@oks.cz

® O.K. SERVIS  
**BioPro**  
www.biopro.cz

## **dodáva diagnostické súpravy a prístroje pre chemické a mikrobiologické analýzy potravín, krmív a kontrolu kvality hygieny a sanitácie**

### **Okrem iného ponúkame:**

- rýchle testy na kontrolu alergénov, mykotoxínov, inhibičných látok v mlieku
- rýchle metódy stanovenia patogénov ako Salmonella, Listeria, Cronobacter a.i.
- pomôcky na odber vzoriek z jatočných zvierat – abrazívne hubky
- prístroj na rýchlu kontrolu hygieny - 3M Clean Trace luminometer LM1
- živné pôdy Solabia BIOKAR a 3M PETRIFILM platničky - rýchla mikrobiologická kontrola
- enzymatické testy – chemické zloženie potravín (kyseliny, cukry, vláknina a.i.)
- presné analyzátory obilnín, krmív, mäsa, mlieka a produktov z nich

**Radi vám poskytneme informácie o všetkých dodávaných testoch  
a urobíme ich prezentáciu priamo u vás.**



**[www.noackgroup.com](http://www.noackgroup.com)**

**NOACK Slovakia spol. s r.o.  
Seberíniho 1  
821 03 Bratislava  
Tel.: +42 12 434 116 31  
Fax: +42 12 434 116 32  
E-mail: [noacksk@noack.sk](mailto:noacksk@noack.sk)**

# DIAGNOSTICKÉ TESTY

- *Mykotoxíny*
- *Alergény*
- *Vitamíny*
- *RIL v mlieku*
- *PCR*
- *Sacharidy, kyseliny*
- *Iné*





## **ekológia - potravinárstvo - krmovinarstvo farmácia - zdravotníctvo - poľnohospodárstvo**

### **Základné údaje o spoločnosti**

EL spol. s r.o. so sídlom v Spišskej Novej Vsi je súkromná firma založená v r. 1992.

V súčasnosti spoločnosť zamestnáva viac než 90 zamestnancov rôznych špecializácií, ktorých odbornosť pokrýva všetky práce zahrnuté v našich produktoch.

Akreditované skúšobné laboratóriá EL spol. s r.o. poskytujú chemické, fyzikálno-chemické, mikrobiologické, biologické a ekotoxikologické skúšky včítane vzorkovacích prác v nasledovných typoch vzoriek:

- vody pitné, podzemné, povrchové, pramenité, minerálne, vody na kúpanie, liečivé, závlahové, priemyselné, odpadové a osobitné, destilované a dojčenské
- poživatiny - potraviny, pochutiny, nápoje, výživové doplnky; kozmetické výrobky;
- farmaceutické suroviny, liečivá a pomocné látky, farmaceutické výrobky - lieky, vody pre farmaceutické účely (Aqua purificata, Aqua ad iniectionem, čistená voda na riedenie dialyzačných roztokov)
- krmivá, krmné zmesi, poľnohospodárske produkty, biologické materiály
- odpady, kaly a výluhy tuhých materiálov
- pôdy, zeminy, horniny, geologické materiály, nerastné suroviny, uhlie a popol
- hnojivá, pôdne pomocné látky a pestovateľské substráty
- chemické látky, priemyselné výrobky, hračky

### **Platné osvedčenia a povolenia EL spol. s r.o.**

**OSVEDČENIE O AKREDITÁCIÍ č. S-025**, podľa medzinárodnej normy **ISO/IEC 17025**, SNAS, Skúšanie a analýzy vzoriek a produktov v rámci fixného aj flexibilného rozsahu akreditácie, vzorkovanie. Prvá akreditácie udelená v roku 1996.

**OSVEDČENIE O DORŽIAVANÍ SPRÁVNEJ VÝROBNEJ PRAXE VÝROBCOM (SVP) č.: SK/021V/2018**, ktorým ŠÚKL schvaľuje EL spol. s r. o. ako kontrolné skúšobné laboratórium na vykonávanie kontroly kvality – farmaceutického skúšania vyrábaných aj dovážaných liekov.

Mikrobiologické skúšky – sterilné aj nesterilné lieky, chemické a fyzikálne skúšky, biologické skúšky.

**ROZHODNUTIE** Štátneho ústavu pre kontrolu liečiv (č. povolenia: Š-08/08 ), ktorým ŠÚKL schvaľuje EL spol. s r.o. ako kontrolné laboratórium na vykonávanie farmaceutického skúšania.

**CERTIFIKÁT SPRÁVNEJ VÝROBNEJ PRAXE**, vydaný Ústavom štátnej kontroly veterinárnych biopreparátov a liečiv na činnosť kontrolného laboratória na vykonávanie kontroly kvality – farmaceutického skúšania vyrábaných aj dovážaných veterinárnych liekov.

Mikrobiologické skúšky – sterilné aj nesterilné lieky, chemické a fyzikálne skúšky, biologické skúšky.

**ROZHODNUTIE Štátnej kúpeľnej komisie Ministerstva zdravotníctva SR, číslo: 14421-20/2006/ŠKK** o zápise do zoznamu akreditovaných laboratórií, ktoré sú oprávnené vykonávať chemické, fyzikálno-chemické, mikrobiologické a biologické analýzy prírodných liečivých vôd a prírodných minerálnych vôd potrebné na konanie podľa zákona, MZSR

**OSVEDČENIE O SPÔSOBILOSTI vykonávať výskum a vývoj**, MŠVVaŠ SR, číslo: 2017/15931:2-26C0

**ZMLUVNÉ KONTROLNÉ LABORATÓRIUM** kontrované a auditované vládou agentúrou **USA - FDA** (Food and Drugs Administration, USA), ktorá je zodpovedná za kontrolu a reguláciu potravín, potravinových doplnkov, liečiv, kozmetických prípravkov, lekárskeho prístrojov, biofarmaceutických a krvných produktov v tejto krajine.



## **ekológia - potravinárstvo - krmovinarstvo farmácia - zdravotníctvo - poľnohospodárstvo**

### **Špeciálna ponuka služieb – Novinka**

#### **Špeciálne skúšky a analýzy v potravinách a v jednotlivých častiach rastlín:**

**Identifikácia a kvantifikácia bioaktívnych látok ako komponentov pre nové potraviny, zdravú výživu a zlepšenie kvality života.**

Biologicky aktívne zložky potravín pôsobia ako lapače radikálov, antioxidanty, substráty pre biochemické reakcie, inhibítory, príp. aktivátory enzymatických reakcií. Medzi látky s takýmito účinkami patria terpenoidy (fytosteroly, karotenoidy), fenolové látky (antokyaníny, flavonoidy), alkaloidy, ďalšie zlúčeniny obsahujúce dusík (glukozinoláty). Súčasným svetovým trendom v potravinárskom priemysle je fortifikácia zdraviu prospešnými zložkami prírodného pôvodu. Niektoré z nich prejavujú antioxidačný účinok voči pôsobeniu radikálov, čo má veľký význam pri ochrane zdravia, ale i pri ochrane potravín.

Medzi potravinovými antioxidantami je najpočetnejšie zastúpená skupina fenolových a polyfenolových látok. Technika LC-MS/MS umožňuje stanovenie biologicky aktívnych látok v potravinách, krmivách, bioenergetických produktoch, rastlinných materiáloch a zložkách životného prostredia v akomkoľvek stave.

### **Analýza antioxidantov**

#### **Stanovenie antioxidačnej kapacity**

##### **Stanovenie vybraných druhov polyfenolov:**

Rutin hydrat (Rutin hydrate), kyselina chlorogenová (Chlorogenic acid), kyselina gallová (Gallic acid), kávová kyselina (Caffeic acid), protokatechínová kyselina (Protocatechuic Acid (P)), katechín (Catechin, (+)-(P)), p-hydroxybenzoová kyselina (Hydroxybenzoic acid, 4-(P)), vanilínová kyselina (Vanillic acid), (-),epikatechín (Epicatechin, (-)-(P)), p-kumarová kyselina (hydroxy-škoricová kyselina) (Coumaric acid, trans-P-(P)), syringová kyselina (Syringic acid (P)), sinapová kyselina (Sinapic Acid(RG) ), 4'-5,7- Trihydroxyflavan (Hydroxyflavanone, 4'-(RG), ferulová kyselina (Ferulic acid, trans-(P)), Myricetin (Myricetin (Cannabiscetin)(P)), quercetin dihydrát (Quercetone dihydrate (SH)), kaempferol (Kaempferol (SH)), Tanín (Tannin (Tannic acid)(RG), resveratrol (Resveratrol (P)), genistín (Genistin(AS)), hesperidín (Hesperidin)

### **Stanovenie vitamínov**

#### **Stanovenie pridaných, ako aj prirodzených obsahov vitamínov**

Vitamíny rozpustné vo vode: C, B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9, B12. inozitol;

Vitamíny rozpustné v tuku: A, E, D, K.

### **Stanovenie pesticídov**

zo skupiny organochlórovaných pesticídov  
zo skupiny triazínových pesticídov  
zo skupiny organofosfátových pesticídov  
zo skupiny pyretroidov vybraných pesticídov

### **Stanovenie toxínov**

Aflatoxíny, ochratoxín A, deoxynivalenol, zearalenón, trichotecény, fumonizíny, patulín

### **Stanovenie amínokyselín**

- **kyslá hydrolyza** - kyselina asparágová, treonín, serín, kyselina glutámová, prolín, glycín, alanín, valín, izoleucín, leucín, tyrosín, phenylalanín, histidín, lyzín, arginín  
- **oxidatívna hydrolyza** - metionín, cystín  
- **bázická hydrolyza** – tryptofán

### **Iné parametre a skupinové stanovenia**

Mentol, pulegón, mentofurán; trans anetol,  $\alpha$ ,  $\beta$  tujón, akrylamid, kapsaicín, piperín, analýza pitnej vody - minimálny rozbor, úplný rozbor, mikrobiologická analýza, analýza minerálnych, pramenitých a dočenských vôd podľa PK, analýza odpadových vôd, agrochemické skúšanie pôd (ASP), skúšky stability, vývoj a validácia rôznych metód podľa požiadaviek.



Názov: Bezpečnosť a kontrola potravín  
(Zborník prác zo XVI. vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou online)

Zostavili:

prof. Ing. Jozef Golian, Dr., Ing. Jozef Čapla, PhD.

Vydanie: prvé

Vydavateľ: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Vydanie: prvé

Rok vydania: 2019

Neprešlo redakčnou úpravou vo vydavateľstve SPU v Nitre.

ISBN 978-80-552-1978-3

DOI: <https://doi.org/2019.9788055219783>