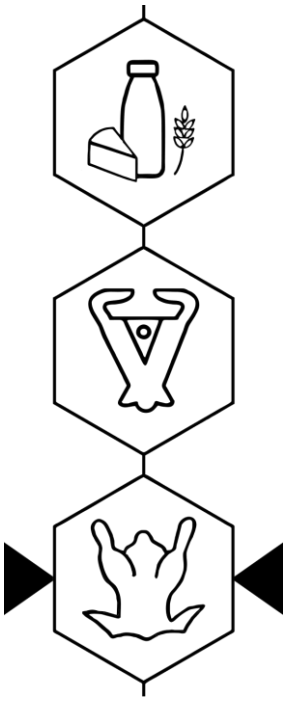
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín
Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky
Národný kontaktný bod pre vedeckú a technickú spoluprácu s úradom EFSA v SR
Štátna veterinárna a potravinová správa Slovenskej republiky
Únia hydinárov Slovenska
Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárske vedy pri SAV v Bratislave

HYGIENA ALIMENTORUM XLV

Medzinárodná vedecká konferencia

pod záštitou Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky

Trendy produkcie a predaja kvalitných a bezpečných produktov z hydiny, rýb a zveri



Zborník vedeckých príspevkov z medzinárodnej vedeckej konferencie

Scientific Proceedings of the International Scientific Conference

14. – 16. máj, 2025
Hotel Patria**** - Štrbské Pleso
Slovenská republika

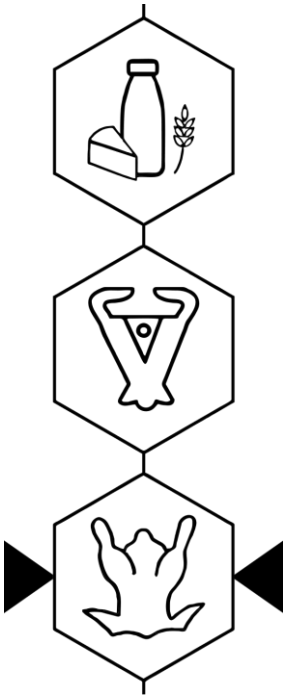
HYGIENA ALIMENTORUM XLV | 14. – 16. máj 2025

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín
Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky
Národný kontaktný bod pre vedeckú a technickú spoluprácu s úradom EFSA v SR
Štátna veterinárna a potravinová správa Slovenskej republiky
Únia hydinárov Slovenska
Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske
a veterinárske vedy pri SAV v Bratislave

HYGIENA ALIMENTORUM XLV

Medzinárodná vedecká konferencia
pod záštitou Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky

Trendy produkcie a predaja kvalitných a bezpečných produktov z hydiny, rýb a zveri



Zborník vedeckých príspevkov z medzinárodnej vedeckej konferencie

Scientific Proceedings of the International Scientific Conference

14. – 16. máj, 2025
Hotel Patria**** - Štrbské Pleso
Slovenská republika

ZOSTAVILA

BODNÁROVÁ Libuša, MVDr.
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika

RECENZOVALI

VAŠKOVÁ Janka, prof. RNDr., PhD.
Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Slovenská republika
HUDÁK Marek, MVDr., PhD.
Regionálna veterinárna a potravinová správa Bardejov, Slovenská republika
MAŠLEJ MILOŠ, MVDr., PhD.
Regionálna veterinárna a potravinová správa Bratislava, Slovenská republika

ODBORNÝ A ORGANIZAČNÝ GARANT KONFERENCIE

POPELKA Peter, prof. MVDr., PhD.
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika

MEDZINÁRODNÝ PROGRAMOVÝ VÝBOR

BURSOVÁ Šárka, doc. MVDr., Ph.D.
Fakulta veterinárnej hygieny a ekológie, Veterinárna univerzita Brno, Česká republika
GOLIAN Jozef, prof. Ing., Dr.
Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita Nitra, Slovenská republika
CHUDÝ Martin, MVDr.
Štátna veterinárna a potravinová správa Slovenskej republiky
KRAJČOVIČ Martin
Slovenská aliancia moderného obchodu, Slovenská republika
MARCINČÁK Slavomír, prof. MVDr., PhD.
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika
MIGDAL Wladyslaw, prof. dr. hab.
Fakulta potravinárskej technológie, Poľnohospodárska univerzita Krakov, Poľsko
MOLNÁR Daniel, Ing. Mgr.
Únia hydinárov Slovenska, Slovenská republika
NAGY Jozef, prof. MVDr., PhD.
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika
PAULSEN Peter, prof. Dr. Med. Vet. Dipl. ECVPH
Univerzita veterinárnej medicíny, Viedeň, Rakúsko
SALEK Richardos Nikolaos, doc. Ing., Ph.D.
Fakulta technologická, Univerzita Tomáše Bati v Zlíne, Česká republika
SØRENSEN Mette, prof. MVDr., PhD.
Fakulta biovied a akvakultúry, Univerzita Bodø, Nórsko
TREMLOVÁ Bohuslava, prof. MVDr., Ph.D.
Fakulta veterinárnej hygieny a ekológie, Veterinárna univerzita Brno, Česká republika
VANKOVÁ Petra, Ing., PhD.
Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky
ZDOLEC Nevijo, prof. MVDr., PhD.
Fakulta veterinárnej medicíny, Záhrebská univerzita, Chorvátsko

ORGANIZAČNÝ VÝBOR

BARTKOVSKÝ Martin, Mgr., PhD.
BELÁS Dávid, Ing.
JEVINOVÁ Pavlína, MVDr., PhD.
KYJACOVÁ Klára, Ing.
MARCINČÁK Slavomír, prof. MVDr., PhD.
MESARČOVÁ Lýdia, MVDr., PhD.
REGECOVÁ Ivana, doc. MVDr., PhD.
REITZNEROVÁ Anna, MVDr., PhD.
SEMJON Boris, doc. MVDr., PhD.
VÁRADY Matúš, Mgr., PhD.

GENERÁLNY PARTNER

TAURIS ® GROUP

HLAVNÍ PARTNERI

BILLA, s.r.o.
Domäsko, s.r.o.
Labaš, s.r.o.
Potraviny FRESH, s.r.o.
SYRÁREŇ BEL SLOVENSKO, a.s.
TESCO STORES SR, a.s.
Vector Invest, s.r.o.

MEDIÁLNI PARTNERI

Maso.cz - odborný časopis pro obor zpracování masa
FOLIA VETERINARIA - vedecké periodikum Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

SPONZORI

Dalton, spol. s r.o. - Staromestská Mäsiareň
MINERÁLNE VODY, a.s., Prešov
Rybárstvo Požehy, s.r.o.
URPINER - BANSKOBYSTRICKÝ PIVOVAR, a.s.

VYSTAVOVATELIA

BioIng, s.r.o.
Biomedica Slovakia, s.r.o.
BIOTECH, s.r.o.
GeneProof, a.s.
JEMO TRADING, s.r.o.
NOACK - SLOVAKIA, s.r.o.
O.K. SERVIS BioPro, s.r.o.

OBSAH | TABLE OF CONTENTS

1. Ailer, L., Golian, J., Jakabová, S.: ZMENY TEXTÚRNYCH VLASTNOSTÍ MÄSA SUMČEKA AFRICKÉHO VPLYVOM TEPELNÝCH ÚPRAV A SKLADOVANIA | CHANGES IN TEXTURAL PROPERTIES OF AFRICAN CATFISH MEAT DUE TO HEAT TREATMENT AND STORAGE.12
2. Bartkovský, M., Gregová, K., Máčalka, J.: VPLYV PRODUKCIE MEDU NA ANTIOXIDAČNÉ VLASTNOSTI MEDOVINY | EFFECT OF THE HONEY PRODUCTION ON THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF MEAD.....18
3. Bartlová, M., Křištofová, K., Pospiech, M., Javůrková, Z., Čaloudová, J., Havlová, L., Tremlová, B.: VLIV BIOAKTIVNÍCH LÁTEK NA ANTIOXIDAČNÍ VLASTNOSTI PROTEINOVÝCH KOMPLEXŮ | EFFECT OF BIOACTIVE COMPOUNDS ON THE ANTIOXIDANT PROPERTIES OF PROTEIN COMPLEXES..... 25
4. Bino, E., Pogány Simonová, M., Lauková, A.: SÚ ENTEROKOKY Z TRUSU SŔN POTENCIÁLNY REZERVOÁR PATOGÉNNYCH KMEŇOV AKO MOŽNÉ RIZIKO PRE ZVIERA A ČLOVEKA? | ARE ENTEROCOCCI FROM ROE DEER FAECES A POTENTIAL RESERVOIR OF PATHOGENIC STRAINS AS A POSSIBLE RISK FOR ANIMALS AND HUMANS? 32
5. Čurlej, J., Zajác, P., Čapla, J.: KONTAMINÁCIA MÄSA A MÄSOVÝCH VÝROBKOV MIKROPLASTMI: ZDROJE, MECHANIZMY A ZDRAVOTNÉ DÔSLEDKY | MICROPLASTIC CONTAMINATION OF MEAT AND MEAT PRODUCTS: SOURCES, MECHANISMS AND HEALTH IMPLICATIONS..... 38
6. Dančová, N., Gregová, G., Szabóová, T., Hajdučková, V.: ANTIMIKROBIÁLNA REZISTENCIA VZDUCHOM PRENÁŠANÝCH STAFYLOKOKOV V CHOVE HYDINY | ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF AIRBORNE STAPHYLOCOCCI IN POULTRY BREEDING..... 54
7. Dvořák, P., Beňová, K. Tomko, M.: DEKONTAMINACE 137CS U MRAŽENÉHO DRŮBEŽÍHO MASA PŘI TEPELNÉ ÚPRAVĚ ROZTOKEM NACL | DECONTAMINATION OF 137CS IN FROZEN POULTRY MEAT DURING HEAT TREATMENT WITH NACL SOLUTION..... 59
8. Farkašová, Z., Zigo, F., Lacková, Z., Timkovičová Lacková, P., Vargová, M.: RÝCHLE KULTIVAČNÉ TESTY NA DETEKCIU MASTITÍD U DOJNÍC | RAPID CULTIVATION TESTS FOR MASTITIS DETECTION IN DAIRY COWS..... 66
9. Fikselová, M., Ondrášková, J., Zeleňáková, L., Židek, R., Lukáčová, S., Čapla, J., Kunová, S.: MÚČNE ČERVY AKO POTENCIONÁLNY ZDROJ PROTEÍNOV PRE INOVATÍVNE BEZGLUTÉNOVÉ POTRAVINY | MEALWORMS AS A POTENTIAL PROTEIN SOURCE FOR INNOVATIVE GLUTEN-FREE FOODS..... 74
10. Gondeková, M., Demo, P., Bučko, O.: NUTRIČNÉ ZLOŽENIE BRAVČOVÉHO MÄSA NA SLOVENSKU | NUTRITIONAL COMPOSITION OF PORK MEAT IN SLOVAKIA 84
11. Gregová, G., Dančová, N., Szabóová, T., Klein, R.: KOAGULÁZA-NEGATÍVNE STAFYLOKOKY U HYDINY: MIKROBIOLOGICKÉ RIZIKÁ A VÝZNAM PRE BEZPEČNOSŤ POTRAVÍN | COAGULASE-NEGATIVE STAPHYLLOCOCCI IN POULTRY: MICROBIOLOGICAL RISKS AND SIGNIFICANCE FOR FOOD SAFETY 95

12. Gryger, T., Salek, R. N.: VLIV PEKTINU NA FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ, TEXTURNÍ A ORGANOLEPTICKÉ VLASTNOSTI MODELOVÝCH TVAROHOVÝCH POMAZÁNEK BĚHEM SIMULOVANÝCH VIBRACÍ | EFFECT OF PECTIN ON THE PHYSICOCHEMICAL, TEXTURAL, AND ORGANOLEPTIC PROPERTIES OF MODEL QUARK CHEESE SPREADS DURING SIMULATED VIBRATIONS 100
13. Hajdučková, V., Hudecová, P., Király, J., Teleky, J., Pilipčinec, E.: VÝSKYT REZISTENTNÝCH IZOLÁTOV YERSINIA RUCKERI ZÍSKANÝCH ZO PSTRUHA DÚHOVÉHO | OCCURRENCE OF RESISTANT ISOLATES OF YERSINIA RUCKERI OBTAINED FROM RAINBOW TROUT 112
14. Havlová, L., Králová, M., Pospiech, M., Javůrková, Z., Bartlová, M., Tremlová, B.: VLIV RŮZNÝCH ČINIDEL POUŽITÝCH PŘI PŘÍPRAVĚ VZORKŮ NA VÝSLEDKY ELEKTROFORÉZY | EFFECT OF DIFFERENT REAGENTS USED IN SAMPLE PREPARATION ON ELECTROPHORESIS RESULTS 117
15. Hreško Šamudovská, A., Jančatová, T., Harčárová, M., Marcin, A., Hreško, S., Bujňák, L.: POROVNANIE ÚČINKU DVOCH RÔZNYCH KONCENTRÁCII HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA JATOČNÉ UKAZOVATELE U BROJLEROVÝCH KURČIAT | COMPARISON OF THE EFFECT OF TWO DIFFERENT CONCENTRATIONS OF HUMIC SUBSTANCES ON CARCASS INDICATORS IN BROILER CHICKENS 123
16. Hriciková, S., Kožárová, I.: STANOVENIE MINIMÁLNEJ INHIBIČNEJ KONCENTRÁCIE HUMÍNOVÝCH LÁTOK VOČI ESCHERICHIA COLI A SALMONELLA ENTERICA | DETERMINATION OF THE MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION OF HUMIC SUBSTANCES AGAINST ESCHERICHIA COLI AND SALMONELLA ENTERICA 131
17. Hudecová, P., Hajdučková, V., Király, J., Koščová, J.: ANTIBAKTERIÁLNA AKTIVITA ÉTERICKÝCH OLEJOV VOČI IZOLÁTOM YERSINIA RUCKERI ZÍSKANÝCH ZO PSTRUHA DÚHOVÉHO | ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS AGAINST YERSINIA RUCKERI ISOLATES OBTAINED FROM RAINBOW TROUT 138
18. Chomová, N., Ratvaj, M., Mudroňová, D., Popelka, P., Mareš, J., Palíková, M., Faldyna, M.: PROTILÁTKOVÁ IMUNITNÁ ODPOVEĎ U PSTRUHA DÚHOVÉHO PO SUPLEMENTÁCII PROBIOTIKAMI A NÁSLEDNEJ INFEKCII AEROMONAS SALMONICIDA | ANTIBODY IMMUNE RESPONSE IN RAINBOW TROUT AFTER PROBIOTIC SUPPLEMENTATION AND SUBSEQUENT INFECTION WITH AEROMONAS SALMONICIDA 143
19. Jakabová, S., Árvay, J., Ailer, L., Grófová, M., Golian, J.: ANALÝZA BIOGÉNNYCH AMÍNOV V MÄSE SUMČEKA AFRICKÉHO PO TEPELNOM OŠETRENÍ | ANALYSIS OF BIOGENIC AMINES IN AFRICAN CATFISH MEAT AFTER HEAT TREATMENT 150
20. Javůrková, Z., Pospiech, M., Bartlová, M., Havlová, L., Křištofová, K., Čaloudová, J., Tremlová, B.: POROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ IN-HOUSE A KOMERČNÍ ELISA METODY PRO STANOVENÍ MNOŽSTVÍ LEPKU | COMPARISON OF RESULTS BETWEEN IN-HOUSE AND COMMERCIAL ELISA METHODS FOR GLUTEN QUANTIFICATION 157

21. Jevinová, P., Pipová, M., Regecová, I., Gerbačová, K., Olekšáková, M.: ASPERGILLUS OCHRACEUS AKO MOŽNÝ KONTAMINANT SLEPAČÍCH VAJEC – VPLYV TEPLOTY NA JEHO RAST A PRODUKCIU OCHRATOXÍNU A | ASPERGILLUS OCHRACEUS AS A POTENTIAL CONTAMINANT OF HEN EGGS – THE EFFECT OF TEMPERATURE ON ITS GROWTH AND OCHRATOXIN A PRODUCTION 163
22. Ježek, F., Kameník, J., Dušková, M., Veselá, H., Ondruchová, S., Svobodová, H.: FYZIKÁLNĚ CHEMICKÉ PARAMETRY MLETÉHO MASA A MASNÝCH POLOTOVARŮ | PHYSICOCHEMICAL PARAMETERS OF MINCED MEAT AND MEAT PREPARATIONS 172
23. Kaluža, M., Macháček, M.: RYCHLÉ DETEKČNÍ METODY A JEJICH VYUŽITÍ V MONITORINGU HYGIENY PROSTŘEDÍ ZVÍŘAT | RAPID DETECTION METHODS FOR MONITORING ENVIRONMENTAL HYGIENE IN ANIMAL HOUSING 179
24. Kimáková, T., Megyesy Eftimová, Z.: ORTUŤ V RYBÁCH AKO RIZIKOVÝ FAKTOR ZDRAVIA | MERCURY IN FISH AS A HEALTH RISK FACTOR 194
25. Király, J., Hajdučková, V., Hudecová, P., Teleky, J., Pilipčinec, E.: RIZIKÁ VÝSKYTU CAMPYLOBACTER SPP. SPOJENÉ SO SPRACOVANÍM HYDINOVÉHO MÄSA | RISKS OF CAMPYLOBACTER SPP. ASSOCIATED WITH POULTRY MEAT PROCESSING 202
26. Kiššová, Z., Karaffová, V., Herich, R., Vinclérová, V., Čechová, M., Mudroňová, D.: VPLYV DÁVOK SALMONELLA ENTERITIDIS NA KULTÚRU ILEÁLNYCH EXPLANTOV KURČIAT: POZNATKY Z KONTROLOVANEJ EX VIVO ŠTÚDIE | THE EFFECT OF SALMONELLA ENTERITIDIS DOSES ON CHICKEN ILEAL EXPLANT CULTURE: INSIGHTS FROM A CONTROLLED EX VIVO STUDY 207
27. Klempaiová, M., Cabanová, L.: STANOVENIE DOBY TRVANLIVOSTI POTRAVINÁRSKYCH VÝROBKOV | SHELF-LIFE DETERMINATION OF FOOD PRODUCTS 216
28. Kollár Moskáľová, L., Ratvaj, M., Chomová, N., Mudroňová, D.: VPLYV VYBRANÝCH HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA ZMENY V RELATÍVNEJ GÉNOVEJ EXPRESII PRE VYBRANÉ ANTIMIKROBIÁLNE PEPTIDY U VČELY MEDONOSNEJ | EFFECT OF SELECTED HUMIC SUBSTANCES ON CHANGES IN RELATIVE GENE EXPRESSION FOR SELECTED ANTIMICROBIAL PEPTIDES IN HONEY BEES 219
29. Korénekova, B., Kožárová, I., Jevinová, P.: POROVNANIE FYZIKÁLNYCH A CHEMICKÝCH VLASTNOSTÍ JEDNODRUHOVÝCH A VIACDRUHOVÝCH KVETOVÝCH MEDOV | COMPARISON OF PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF SINGLE-SPECIES AND MULTI-SPECIES FLOWER HONEYS 227
30. Korénekova, B., Kožárová, I.: POUŽÍVANIE PROBIOTÍK V KONTEXTE PRODUKČNÉHO ZDRAVIA HYDINY | THE USE OF PROBIOTICS IN THE CONTEXT OF POULTRY PRODUCTION HEALTH 233
31. Kováčová, M., Záhumenská, J., Megyesy Eftimová, Z., Dudriková, E.: HYGIENICKÉ RIZIKÁ SPOJENÉ S TECHNOLOGICKOU ÚPRAVOU MRAZENÝCH POTRAVÍN | HYGIENIC RISKS ASSOCIATED WITH THE TECHNOLOGICAL PROCESSING OF FROZEN FOODS 238

32. Kožárová, I., Hriciková, S., Koréneková, B.: MONITORING REZÍDUÍ KOKCIDIOSTATÍK V PRODUKTOCH HYDINY V KONTEXTE NOVÉHO DIZAJNU PLÁNOV KONTROLY REZÍDUÍ | MONITORING OF COCCIDIOSTAT RESIDUES IN POULTRY PRODUCTS IN THE CONTEXT OF THE NEW DESIGN OF RESIDUE CONTROL PLANS 245
33. Kudrnáčová, E., Kokošková, T., Lebedová, N., Bureš, D.: VLIV MRAŽENÍ NA FYZIKÁLNÍ, TECHNOLOGICKÉ A ORGANOLEPTICKÉ VLASTNOSTI MASA FARMOVĚ CHOVANÝCH DAŇKŮ (DAMA DAMA) | EFFECT OF FREEZING ON THE PHYSICAL, TECHNOLOGICAL, AND ORGANOLEPTIC PROPERTIES OF MEAT FROM FARMED FALLOW DEER (DAMA DAMA) 250
34. Lacková, Z., Zigo, F., Farkašová, Z., Ondrašovičová, S., Vargová, M., Pecka-Kielb, E.: VÝSKYT A ETIOLÓGIA MASTITÍD V PRODUKČNÝCH CHOVOCH DOJNÍC | INCIDENCE AND ETIOLOGY OF MASTITIS IN DAIRY COWS FARMS 260
35. Madžunkov, M., Cintula, B.: AKTUÁLNA SITUÁCIA A PERSPEKTÍVA V CHOVE PSTRUHA DÚHOVÉHO NA SLOVENSKU | CURRENT SITUATION AND PESPECTIVE IN RAINBOW TROUT BREEDING IN SLOVAKIA 267
36. Macháček, M., Kabrhel, V.: MONITORING DEZINFEKCE STÁJÍ V CHOVECH BROJLERŮ – PRVNÍ KROK K ZAJIŠTĚNÍ KVALITY DRŮBEŽÍHO MASA | DISINFECTION EFFECT MONITORING IN BROILER HALLS – FIRST STEP TO POULTRY MEAT QUALITY 270
37. Marcinčák, S., Reitznerová, A., Semjon, B., Nosková, E., Bartkovský, M., Marcinčáková, D., Čertík, M., Klempová, T., Nagy, J.: FERMENTOVANÉ PRODUKTY A HUMÍNOVÉ LÁTKY VO VÝŽIVE HYDINY, NOVÝ PRÍSTUP K PRODUKCII BEZPEČNÝCH A FUNKČNÝCH POTRAVÍN | FERMENTED PRODUCTS AND HUMIC SUBSTANCES IN POULTRY NUTRITION A NEW APPROACH TO THE PRODUCTION OF SAFE AND FUNCTIONAL FOODS 282
38. Marcinčáková, D., Hudáková, N., Amrit, S. F. K., Busuttil, N., Legáth, J.: ÚČINOK KANABIDIOLU NA BUNKOVÚ PROLIFERÁCIU A MIGRÁCIU | EFFECT OF CANNABIDIOL ON THE CELL PROLIFERATION AND MIGRATION 289
39. Mašková, Z., Medo, J., Hleba, L., Kolesár, E., Urminská, D., Ivanišová, E., Tančinová, D., Urminská, J., Barboráková, Z.: MIKROBIÓM LARIEV HERMETIA ILLUCENS: VPLYV RÔZNEHO KRMIVA NA ICH BEZPEČNOSŤ A POTENCIÁLNE POTRAVINÁRSKE VYUŽITIE | MICROBIOME OF HERMETIA ILLUCENS LARVAE: THE IMPACT OF DIFFERENT FEEDS ON THEIR SAFETY AND POTENTIAL USE IN FOOD INDUSTRY 297
40. Megyesy Eftimová, Z., Zahumenská, J., Dudriková, E., Kováčová, M.: VPLYV TECHNOLOGICKEJ ÚPRAVY NA SEKUNDÁRNE METABOLITY V MRAZENÝCH POTRAVINÁCH | INFLUENCE OF TECHNOLOGICAL TREATMENT ON SECONDARY METABOLITES IN FROZEN FOODS 314
41. Mesarčová, L., Reitznerová, A., Skurková, L., Marcinčák S.: NAJČASTEJŠIE NEBEZPEČENSTVÁ VZNIKAJÚCE POČAS OMRAČOVANIA BROJLEROVÝCH KURČIAT NA BITÚNKU | THE MOST COMMON HAZARDS ARISING DURING STUNNING OF BROILER CHICKENS IN THE SLAUGHTERHOUSE 325

42. Mesárošová, A., Bobko, M., Bobková, A., Čech, M., Demianová, A., Švecová, T., Jurčaga, L.: JAZVEC EURÓPSKY (MELES MELES) AKO ALTERNATÍVNY ZDROJ MÄSA PRE POTRAVINOVÝ PRIEMYSEL | THE EUROPEAN BADGER (MELES MELES) AS AN ALTERNATIVE MEAT SOURCE FOR THE FOOD INDUSTRY 332
43. Migdał, W., Oleszczuk L., Kubat, J., Migdał, Ł.: VADY A ODCHÝLKY KVALITY JATOČNÝCH TIEL HYDINY NA POĽSKÝCH BITÙNKOCH | DEFECTS AND QUALITY DEVIATIONS OF POULTRY CARCASSES IN POLISH SLAUGHTERHOUSES 339
44. Mudroňová, D., Popelka, P., Ratvaj, M., Chomová, N., Kollár Moskáľová, L., Žitňan, R., Sasáková, N.: VPLYV PROBIOTICKÉHO KRMIVA NA PRODUKČNÉ PARAMETRE PSTRUHOV DÚHOVÝCH A KVALITU VODNÉHO PROSTREDIA V AKVAKULTÚRE | THE EFFECT OF PROBIOTIC FEED ON RAINBOW TROUT PRODUCTION PARAMETERS AND AQUATIC ENVIRONMENT QUALITY IN AQUACULTURE 358
45. Nagyová, A., Takáčová, D., Korim, P., Nagy, J.: POŽIADAVKY NA ZDRAVOTNÚ BEZPEČNOSŤ PRODUKTOV RYBOLOVU V SÚLADE S PRÁVNYMI PREDPISMI | FOOD SAFETY REQUIREMENTS FOR FISHERY PRODUCTS IN ACCORDANCE WITH LEGISLATION 366
46. Necidová L., Bursová Š., Haruštiaková D., Zouharová A., Bartáková K.: SLEDOVÁNÍ CELKOVÉHO POČTU MIKROORGANISMŮ U VZORKŮ CHLAZENÝCH DRŮBEŽÍCH PRSOU S OHLEDEM NA PORUŠENÍ TEPLOTY PŘI TRANSPORTU | THE AEROBIC PLATE COUNT MONITORING IN CHILLED CHICKEN BREAST SAMPLES WITH RESPECT TO TEMPERATURE CHANGES DURING TRANSPORT 381
47. Nosková, E., Reitznerová, A., Mesarčová, L., Várady, M., Semjon, B., Marcinčák, S.: SENZORICKÁ KVALITA FERMENTOVANÝCH SALÁM PO APLIKÁCIÍ EXTRAKTOV RASTLÍN | SENSORY QUALITY OF FERMENTED SAUSAGES AFTER APPLICATION OF PLANT EXTRACTS 388
48. Ondrašovičová, S., Zigo, F., Lacková, Z., Farkašová, Z., Pecka-Kielb, E.: VPLYV SEZÓNNYCH ZMIEN A ŠTÁDIA LAKTÁCIE NA PARAMETRE MLIEKA | IMPACT OF SEASONAL CHANGES AND LACTATION STAGE ON MILK PARAMETERS 396
49. Pitoňáková, T., Koščová, J.: HYGIENICKÉ RIZIKÁ SPOJENÉ S VÝSKYTOM YERSINIA ENTEROCOLITICA VO VYSOKOHORSKOM PROSTREDÍ | HYGIENE RISKS ASSOCIATED WITH THE OCCURRENCE OF YERSINIA ENTEROCOLITICA IN HIGH-ALTITUDE ENVIRONMENTS 403
50. Pospiech, M., Dobeš, J., Bartlová, M., Javůrková, Z., Tremlová, B., Marcinčák, S., Csilla, B., Hernik, J.: ROZMANITOST PYLOVÝCH TAXONŮ V EVROPSKÝCH MEDECH | DIVERSITY OF POLLEN TAXA IN EUROPEAN HONEYS 408
51. Pospiech, M., Křištofová, K., Bartlová, M., Havlová, L., Javůrková, Z., Čaloudová, J., Tremlová, B.: VLIV NANOČÁSTIC NA ANTIOXIDAČNÍ VLASTNOSTI PROTEINOVÝCH KOMPLEXŮ | EFFECT OF NANOPARTICLES ON ANTIOXIDANT PROPERTIES OF PROTEIN COMPLEXES 415

52. Ratvaj, M., Mudroňová, D., Toporčák, J., Kollár Moskáľová, L., Chomová, N.: PLATFORMA B-THENET AKO NÁSTROJ VZDELÁVANIA NIELEN VČELÁRSKEJ VEREJNOSTI A SLEDOVANIE PREFERENCIÍ SPOTREBITEĽOV VČELÁRSKYCH PRODUKTOV | THE B-THENET PLATFORM AS A TOOL FOR EDUCATING NOT ONLY THE BEEKEEPING PUBLIC AND TRACKING THE PREFERENCES OF CONSUMERS OF BEEKEEPING PRODUCTS..... 424
53. Regecová, I., Výrostková, J., Semjon, B., Jevinová, P., Bartkovský, M., Eftimová Megyesy, Z., Marcinčák, S.: IDENTIFIKÁCIA ENOLOGICKY VÝZNAMNÝCH NON-SACCHAROMYCES KVASINIEK V MACEROVANOM MUŠTE | IDENTIFICATION OF ENOLOGICALLY SIGNIFICANT NON-SACCHAROMYCES YEASTS IN MACERATED MUST 432
54. Reitznerová, A., Várady, M., Mesarčová, L., Molnár, L., Marcinčák, S., Popelka, P.: VPLYV SPÔSOBU LOVU NA FYZIKÁLNO-CHEMICKÉ VLASTNOSTI DANIELIEHO MÄSA Z FARMOVÉHO CHOVU | EFFECT OF HUNTING METHOD ON PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF FARMED FALLOW DEER MEAT 438
55. Reitznerová, A., Mesarčová, L., Kloncková, S., Várady, M., Bartkovský, M., Marcinčák, S.: VPLYV PRÍDAVKU RASTLINNEJ VLÁKNINY NA FARBU FRANKFURTSKÝCH PÁRKOV | EFFECT OF THE ADDITION OF VEGETABLE FIBRE ON THE COLOUR OF FRANKFURTER SAUSAGES 446
56. Rybnikár, S.: OZNAČOVANIE ENVIRONMENTÁLNYCH CHARAKTERISTÍK NA POTRAVINÁCH | LABELLING OF ENVIRONMENTAL CHARACTERISTICS ON FOOD..... 452
57. Sasáková, N., Popelka, P., Štrkolcová, G., Takáčová, D., Kachnič, J., Vargová, M., Veszelits Laktičová, K., Hromada, R.: ZMENY KVALITY VODY V RYBOCHOVNOM ZARIADENÍ | CHANGES OF WATER QUALITY IN RAINBOW TROUT FARMING 460
58. Semjon, B., Bartkovský, M., Megyesy Eftimová, Z., Očenáš, P., Marcinčák S.: VPLYV MACERÁCIE A PRÍDAVKU KVASINKOVEJ KULTÚRY SACCHAROMYCES CEREVISIAE V TECHNOOGII VÝROBY VÍNA NA SENZORICKÚ KVALITU SLOVENSKÉHO TOKAJSKÉHO VÍNA ODRODY LIPOVINA | INFLUENCE OF MACERATION AND ADDITION OF SACCHAROMYCES CEREVISIAE YEAST CULTURE IN WINE PRODUCTION TECHNOLOGY ON THE SENSORY QUALITY OF SLOVAK TOKAJ WINE OF THE LIPOVINA VARIETY..... 465
59. Semjon, B., Bartkovský, M., Megyesy Eftimová, Z., Regecová, I., Marcinčák, S.: ANALÝZA KOLORIMETRICKCKÝCH PARAMETROV VYBRANÝCH BIELYCH VÍN Z MALOKARPATSKEJ A VÝCHODOSLOVENSKEJ VINOHRADNÍCKEJ OBLASTI | ANALYSIS OF COLORIMETRY PARAMETERS OF SELECTED WHITE WINES FROM THE LITTLE CARPATHIAN AND EAST SLOVAK VINEYARD REGIONS..... 474
60. Slepičková, M., Šupíková, Š.: VČELAŘŮV ROK A KVALITA MEDU | BEEKEEPER´S YEAR AND QUALITY OF HONEY 482
61. Sørensen, M.: PRODUKCIA LOSOSA V NÓRSKU - TRENDY, VÝZVY A HROZBY | SALMON PRODUCTION IN NORWAY – TRENDS, CHALLENGES AND THREATS 496
62. Stachová Sejáková Z., Čonka, K., Gago, F., Drobná, B., Murín, M.: POPS V SLEPAČÍCH VAJCIACH PÔVODOM ZO SLOVENSKA | POPS IN HEN EGGS ORIGINATING FROM SLOVAKIA 499

63. Staruch, L., Riečanová, R., Bodík, I., Ďurka, E.: CHEMICKÉ ZLOŽENIE ANATOMICKÝCH CELKOV DIVIAKA LESNÉHO (SUS SCROFA) | CHEMICAL COMPOSITION OF ANATOMICAL PARTS OF THE WILD BOAR (SUS SCROFA) 504
64. Stojanová, K., Bursová, Š., Necidová, L., Haruštiaková, D., Pechanová, K., Mátl, P.: KINETIKA RŮSTU TOXIGENNÍCH BACILLUS CEREUS V PŠENIČNÝCH TĚSTOVINÁCH | THE GROWTH KINETICS OF TOXIGENIC BACILLUS CEREUS IN WHEAT PASTA 509
65. Szabóová, R., Herich, R., Levkut, M., Hudec, E., Ševčíková, Z., Čechová, M., Faixová, Z., Karaffová, V.: PROLIFERAČNÁ AKTIVITA MYOCYTOV MUSCULUS PECTORALIS MAJOR AKO POTENCIÁLNY PRODUKČNÝ MARKER U HYDINY | PROLIFERATIVE ACTIVITY OF MUSCULUS PECTORALIS MAJOR MYOCYTES AS A POTENTIAL PRODUCTION MARKER IN POULTRY 517
66. Šiška, L., Pětová, M., Gál, Novosad, O., Salek, R. N.: VLIV SUROVINOVÉ SKLADBY NA VYBRANÉ VLASTNOSTI DRŮBEŽÍCH MASOVÝCH POMAZÁNEK | IMPACT OF RAW MATERIAL COMPOSITION ON SELECTED PROPERTIES OF POULTRY MEAT SPREADS 525
67. Takáčová, D., Nagyová, A., Sasáková, N., Beregszásziová, N.: OCHRANA RÝB V PRÁVNYCH PREDPISOCH SLOVENSKEJ REPUBLIKY A EURÓPSKEJ ÚNIE | FISH PROTECTION IN THE SLOVAK REPUBLIC AND EUROPEAN UNION LEGAL RULES 539
68. Valo, M. Svitana, J.: DODRŽIAVANIE HYGIENICKÉHO DIZAJNU PRI ODVODNENÍ – KLÚČ K BEZPEČNOSTI V MÄSOSPRACUJÚCICH PREVÁDZKACH | THE IMPORTANCE OF HYGIENIC DESIGN IN DRAINAGE SYSTEMS OF MEAT PROCESSING PLANTS 547
69. Vanková, P., Dringušová, G., Lépesová, K.: AKTIVITY ÚRADU EFSA V SÚVISLOSTI S VÝSKYTOM A ŠÍRENÍM ENTEROBAKTERIÍ PRODUKUJÚCICH KARBAPENEMÁZY V POTRAVINOVOM REŤAZCI | ACTIVITIES OF EFSA IN CONNECTION WITH THE OCCURENCE AND SPREAD OF CABAPENEMASE-PRODUCING ENTEROBACTERALES 552
70. Várady, M., Tauchen, J., Jevinová, P., Popelka, P.: VPLYV FERMENTÁCIE KÁVY Z POHĽADU JEJ KVALITY A BEZPEČNOSTI | THE EFFECT OF COFFEE FERMENTATION IN TERMS OF QUALITY AND SAFETY 555
71. Vargová, M., Veszelits Laktičová, K., Sasáková, N., Zigo, F., Farkašová, Z., Lacková, Z., Výrostková, J.: ZHODNOTENIE SANITAČNÝCH OPATRENÍ Z HĽADISKA OCHRANY ZDRAVIA KONZUMENTA | EVALUATION OF SANITATION MEASURES FROM THE PERSPECTIVE OF CONSUMER HEALTH PROTECTION 561
72. Veselá, H., Dušková, M., Kameník, J., Svobodová, H., Ondruchová, S., Ježek, F.: MIKROBIOLOGICKÁ KVALITA MLETÉHO MASA A MASNÝCH POLOTOVARŮ | MICROBIOLOGICAL QUALITY OF MINCED MEAT AND MEAT PREPARATIONS 566
73. Veszelits Laktičová, K., Vargová, M., Hromada, R., Sasáková, N.: BEZPEČNOSŤ VÝROBY PRODUKTOV V PODNIKU SPRACUJÚCOM RYBY | PRODUCTION SAFETY OF PRODUCTS IN THE FISH PROCESSING PLANT 573
74. Zábolyová, N., Lauková, A., Pogány Simonová, M.: POSTBIOTICKÉ SUBSTANCIE PRE INHIBÍCIU METICILÍN-REZISTENTNÝCH STAFYLOKOKOV V CHOVE KRÁLIKOV | POSTBIOTIC SUBSTANCES FOR METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCI INHIBITION IN RABBIT HUSBANDRY 578

75. Zábrodská, B., Brücknerová, T., Nekvapil, J., Vepřková, E.: VÝVOJ PH, HMOTNOSTNÍCH ZTRÁT GRILOVÁNÍM A KŘEHKOSTI MASA BÝKŮ PLEMENE WAGYU V PRŮBĚHU ZRÁNÍ | DEVELOPMENT OF PH, GRILLING WEIGHT LOSS AND TENDERNESS OF WAGYU BULLS MEAT DURING MATURATION 584
76. Zeleňáková, L., Fikselová, M.: MÄSOVÉ POKRMY AKO SÚČASŤ ŠKOLSKÉHO STRAVOVANIA Z POHĽADU HYGIENY PROCESU VÝROBY A MIKROBIOLOGICKEJ KVALITY | MEAT DISHES AS PART OF SCHOOL CATERING FROM THE PERSPECTIVE OF PRODUCTION PROCESS HYGIENE AND MICROBIOLOGICAL QUALITY 601
77. Zigo, F., Lacková, Z., Farkašová, Z., Ondrášovičová, S., Hoppejová, T., Vargová, M., Výrostková, J., Regecová, I.: SKÚMANIE PRENOSU STAFYLOKOKOV V RÁMCI ZDRAVOTNÉHO KONCEPTU "ONE HEALTH" | INVESTIGATION OF THE CARRIAGE IN STAPHYLOCOCCAL SPECIES WITHIN THE FRAMEWORK OF THE ONE HEALTH APPROACH 610

ZMENY TEXTÚRNYCH VLASTNOSTÍ MÄSA SUMČEKA AFRICKÉHO VPLYVOM TEPELNÝCH ÚPRAV A SKLADOVANIA

CHANGES IN TEXTURAL PROPERTIES OF AFRICAN CATFISH MEAT DUE TO HEAT TREATMENT AND STORAGE

Ailer Lucia[1], Golian Jozef[2], Jakabová Silvia[2]

[1]Výskumné centrum AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika

[2]Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of different heat treatment methods and storage time on the textural properties of African catfish (*Clarias gariepinus*) meat. Samples were prepared using baking, vacuum packing, and sous-vide cooking, and analyzed on days 0, 7, and 14 of storage. Texture analysis was conducted using a Warner-Bratzler blade to determine toughness (N/mm.s) and firmness (N/mm). Results showed a significant increase in both toughness and firmness in baked and vacuum-packed samples over time, reaching the highest values on day 14 (17.45 N/mm.s and 1.90 N/mm for baked; 13.10 N/mm.s and 1.33 N/mm for vacuum-packed). In contrast, sous-vide samples exhibited a significant decrease in textural parameters during storage, maintaining the lowest values after 14 days (3.18 N/mm.s and 0.22 N/mm). The findings indicate that sous-vide is the most suitable method for preserving tenderness and textural quality of fish meat during storage. This research contributes to optimizing processing techniques for improved sensory quality of fish products.

Key words: African catfish, texture, heat treatment, storage, sous-vide

ÚVOD

Rybné hospodárstvo je odvetvím poľnohospodárskej výroby, ktoré sa vyznačuje viacerými regionálnymi diferenciáciami. V podmienkach Slovenska sa budeme zaoberať diferenciáciami na úrovni krajov, ktoré sú determinované ich odlišnými podmienkami, aktivitou subjektov v odvetví rybného hospodárstva a rozdielnou intenzitou činnosti užívateľov v jednotlivých rybárskych revíroch. Rozdiely na úrovni krajov charakterizujeme na základe analýzy údajovo rozmiestnení a počte subjektov rybného hospodárstva a rybárskych revírov (Némethová et al., 2016). Ideálne by sa ryby mali uchovávať naživе, no pre priestorové obmedzenia a komplikovanú manipuláciu sa zvyčajne skladujú po usmrtení. Ako ľahko

podliehajúca skaze sa ryba, ktorú domácnosti spracúvajú najmä na vnútroštátnej úrovni, bežne chladí, aby sa predĺžila jej trvanlivosť. Na zachovanie čerstvosti sa odporúča skladovať ryby pri teplotách 0 – 5 °C alebo ich zmraziť pod –18 °C. Hoci chladenie spomaľuje kazenie, stále chýbajú podrobné štúdie o vplyve teploty a jej kolísania na kvalitu rýb počas skladovania v domácich chladničkách. Teploty v chladničkách často kolíšu, najmä keď sa dvere pri každodennom používaní často otvárajú (Harrington et al., 2017), čo ovplyvňuje kvalitu uložených rýb. Takéto výkyvy sťažujú udržiavanie stabilnej vlhkosti a teploty, čo môže časom zhoršovať kvalitu (Pamungkas et al., 2024). Textúra rybieho mäsa je výrazne ovplyvnená tepelnou úpravou a podmienkami skladovania. Metódy tepelnej úpravy, ako sú varenie, dusenie a varenie metódou sous-vide, môžu meniť lipidový a prchavý profil rýb, čo má vplyv na ich senzorické vlastnosti. Napríklad dusenie a sous-vide varenie preukázateľne menia prchavý profil európskeho morského vlka, najmä u chovaných jedincov, v dôsledku miernej degradácie lipidov a bielkovín, zatiaľ čo varenie má na pôvodné vlastnosti ryby minimálny vplyv (Nieva-Echevarría et al., 2017). Aplikácia povlakov, ako je zmes chitosánu a želatíny, môže ovplyvniť textúru rybích placiek zvýšením ich pružnosti a zachovaním čerstvosti, čo sa prejavuje zníženými ukazovateľmi skazenia (López-Caballero et al., 2005). Tepelná úprava môže taktiež viesť k zhnednutiu farby a zmäknutiu textúry v surimi produktoch, hoci alternatívne metódy, ako je ošetrenie elektrónovým lúčom, dokážu zachovať čerstvé fyzikálno-chemické vlastnosti bez zhoršenia textúry (Jaczynski a Park, 2003). Pochopenie týchto zmien je kľúčové pre optimalizáciu spracovateľských techník s cieľom zachovať kvalitu a senzorickú príťažlivosť rybích produktov počas skladovania a konzumácie.

MATERIÁL A METODIKA

V experimente boli použité vzorky sumčeka afrického (*Clarias gariepinus*), chovaného na Slovensku, poskytnutého spoločnosťou HBP, a.s., Agro rybia farma o.z., Handlová, Slovensko. Na analýzu sa použilo 10 ks filetov jednotlivo vákuovo balené s hmotnosťou cca 300g/balenie. Filety bez kože boli analyzované v čerstvom stave a v 3 rôznych variantoch tepelného spracovania. Experimentálne varianty boli nasledovné: čerstvé – čerstvé filety spracované v deň dodania (13.11.2024), pečenie – tepelná úprava čerstvej svaloviny pečením pri 180 °C 30 minút, sous-vide varenie – varenie pri teplote 50 °C počas 60 min, sterilizovanie – varenie počas 60 min pri 120 °C. Vzorky boli počas procesu pečenia uzatvorené vo vreckách na pečenie, pri varení sous-vide boli vzorky vákuovo zabalené a pri sterilizácii boli vzorky v hrubostenných sklenených nádobách, určených na sterilizáciu. Na stanovenie texturálnych parametrov húževnatosti a pevnosti vzoriek bol použitý textúrometer TA.XT Plus vybavený sondou Warner Bratzler (Tabuľka 1) a každá vzorka bola meraná 15-krát. Získané výsledky

boli spracované pomocou štatistického softvéru XLSTAT 2021.1.1. Výsledky boli vyhodnotené pomocou Shapiro-Wilkovho testu, ANOVA a Tukeyho testu na hladine významnosti $p \leq 0,05$.

Tabuľka č 1 Technické nastavenia texturometra TA.XT Plus

Technické nastavenia	
Testovací režim	Meranie kompresnej sily
Možnosť	Späť na začiatok
Rýchlosť pohybu sondy pred testovaním	1,50 mm/s
Rýchlosť pohybu sondy počas testovania	1,50 mm/s
Rýchlosť pohybu sondy po testovaní	10,00 mm/s
Hĺbka vniknutia sondy do produktu	30 mm
Typ spustenia	Automaticky – 40 g
Režim resetovania	Automaticky
Frekvencia zberu údajov	200 pps
Sonda (HDP/BS) (Warner Bratzler strižná metóda)	Snímač zaťaženia 5 kg

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Tabuľka 2 zobrazuje priemer nameraných hodnôt pre jednotlivé vzorky, a to aj s príslušnou štandardnou odchýlkou. Bland et al. (2018) vo svojej štúdii zistil, že pevnosť svalových vlákien rýb úzko súvisí so schopnosťou svalového tkaniva zadržiavať vodu. Veland et al. (1999) skúmali tuhosť mäsa atlantického lososa (*Salmo salar*). Meranie bolo vykonané pomocou čepeľového testu Warner-Bratzler a analýzy textúrneho profilu. Obe metódy preukázali schopnosť rozlíšiť medzi čerstvými vzorkami lososa a vzorkami skladovanými po dobu 24 dní. Porovnanie týchto dvoch testov ukázalo, že analýza pomocou čepele Warner-Bratzler bola citlivejšia, a teda presnejšia. Jain et al. (2007) sa vo svojej štúdii zamerali na tvrdosť mäsa kapra rohatec (*Labeo rohita*) počas jeho skladovania na ľade po dobu ôsmich dní. Tento parameter bol denne meraný pomocou texturometra TA-Hdi (Stable Micro Systems, Anglicko) s piestom a snímačom zaťaženia 50 kg, a softvérom Texture Expert Exceed. Hmotnosť surových vzoriek rýb so zachovanou kožou bola približne 400 g. Každé meranie pozostávalo z troch opakovaní a výsledky húževnatosti sa pohybovali od 588,9 N/mm.sec do 713,2 N/mm.sec. Naše výsledky ukazujú, že čerstvé vzorky mali húževnatosť 4,53 N/mm.s a pevnosť 0,46 N/mm. Pečené vzorky sa po 14 dňoch výrazne spevnili (17,45 N/mm.s; 1,90

N/mm), rovnako ako vákuové (13,10 N/mm.s; 1,33 N/mm). Naopak, sous-vide vzorky po 14 dňoch zmäkli (3,18 N/mm.s; 0,22 N/mm), čo z nich robí najjemnejšiu alternatívu pri dlhšom skladovaní. Rozdiel vo výsledkoch možno teda pripísať aj použitiu iného druhu ryby. Okrem toho sme v našej práci použili vzorky s vyššou hmotnosťou a iný typ texturometra s menšou záťažou v porovnaní s touto štúdiou.

Zajíčková (2018) sa vo svojej štúdii zamerala na meranie pevnosti surových vzoriek tresky, ktoré boli skladované pri mrazivých teplotách po dobu šiestich mesiacov. Meranie bolo vykonané pomocou zariadenia TIRAtest 27025, ktoré sa bežne používa na hodnotenie mechanických vlastností rôznych materiálov. Pomocou penetračného testu bol zaznamenaný údaj o sile, ktorú bolo potrebné vyvinúť, aby nôž prenikol do testovanej vzorky.

Tabuľka 2 Priemerné namerané hodnoty húževnatosti a pevnosti vzoriek sumčeka afrického

Spôsob úpravy	Deň spracovania	Práca noža/húževnatosť (N/mm.sec)	Pevnosť (N/mm)
		Priemer ± SD	Priemer ± SD
čerstvý	0. deň	4,527 ± 0,558	0,459 ± 0,038
pečený	0. deň	4,921 ± 1,960a	0,461 ± 0,176a
	7. deň	14,44 ± 4,27b	1,73 ± 0,50b
	14. deň	17,45 ± 3,85c	1,90 ± 0,42b
vákuový	0. deň	2,049 ± 0,597a	0,224 ± 0,084a
	7. deň	13,15 ± 4,33b	1,58 ± 0,55b
	14. deň	13,10 ± 1,88b	1,33 ± 0,28b
sous-vide	0. deň	6,610 ± 1,198a	0,697 ± 0,139a
	7. deň	2,56 ± 1,26b	0,21 ± 0,12b
	14. deň	3,18 ± 0,61b	0,22 ± 0,05b

Poznámka: a, b, c znamenajú, že riadky s rôznym veľkým písmenom sú štatisticky odlišné (Tukeyho test, $p < 0,05$).

ZÁVER

Výsledky štúdie potvrdzujú, že spôsob tepelnej úpravy a dĺžka skladovania po rozmrazení výrazne ovplyvňujú textúrne vlastnosti mäsa sumčeka afrického. Najvyššiu húževnatosť a pevnosť po 14 dňoch skladovania dosiahli pečené vzorky (17,45 N/mm.s; 1,90 N/mm) a vákuovo balené vzorky (13,10 N/mm.s; 1,33 N/mm), čo poukazuje na zníženú jemnosť a zvýšenú tuhosť mäsa. Naopak, najnižšie hodnoty boli zaznamenané pri sous-vide úprave (3,18 N/mm.s; 0,22 N/mm), ktorá si aj po 14 dňoch uchovala najjemnejšiu konzistenciu. Táto metóda sa preto javí ako najvhodnejšia z pohľadu zachovania kvality mäsa počas skladovania. Zistenia môžu slúžiť ako podklad pre optimalizáciu technologických postupov spracovania rýb s cieľom zabezpečiť čo najvyššiu senzorickú kvalitu finálnych produktov.

LITERATÚRA

1. BLAND, J. M. 2018. Comparison of sensory and instrumental methods for the analysis of texture of cooked individually quick frozen and fresh-frozen catfish fillets. In *Food Science & Nutrition.* ISSN 2048-7177, vol. 6, no. 6, p. 1692-1705.
2. HARRINGTON, L. 2017. Quantifying energy savings from replacement of old refrigerators. In *Energy Procedia*. ISSN 1876-6102, vol. 121, p. 49-56.
3. JACZYNSKI, J. et al. 2003. Physicochemical Properties of Surimi Seafood as Affected by Electron Beam and Heat. In *Journal of Food Science*. ISSN 0022-1147, vol. 68, no. 5, p. 1626-1630.
4. JAIN, D. et al. 2007. Evaluation of texture parameters of Rohu fish (*Labeo Rohita*) during iced storage. In *Journal of Food Engineering*. ISSN 0260-8774, vol. 81, no. 2, p. 336-340.
5. LÓPEZ-CABALLERO, M. E. et al. 2005. A chitosan–gelatin blend as a coating for fish patties. In *Food Hydrocolloids*. ISSN 0268-005X, vol. 19, no. 2, p. 303-311.
6. NÉMETHOVÁ, J. et al. 2016. Regional Differentiations of Fisheries in Slovakia. In *Geografické informácie*. ISSN 1337-9453, vol. 20, no. 2, p. 675-690.
7. NIEVA-ECHEVARRÍA, B. et al. 2017. Changes provoked by boiling, steaming and sous-vide cooking in the lipid and volatile profile of European sea bass In *Food Research International*. ISSN 0963-9969, vol. 99, p. 630-640.
8. PAMUNGKAS, A. et al. 2024. Characterization of temperature and quality changes in African catfish (*Clarias gariepinus*) during domestic refrigeration. In *BIO Web Conf.* ISSN 2117-4458, vol. 136, p. 02007.

9. VELAND J. O. et al. 1999. The texture of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle as measured instrumentally using TPA and Warner – Bratzler shear test. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*. ISSN 1097-0010, vol. 79, no. 12, p. 1737-1746.
10. ZAJÍČKOVÁ M. 2018. Influence of freezer storage on sensory quality and chemical composition of fish meat: ingenier thesis. Mendel University in Brno. 116 p.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-22-0402, č. APVV-17-0508.

Kontaktná adresa: Ailer Lucia, VC Agrobiotech, SUA in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika; E-mail: lucia.benesova@uniag.sk

VPLYV PRODUKCIE MEDU NA ANTIOXIDAČNÉ VLASTNOSTI MEDOVINY

EFFECT OF THE HONEY PRODUCTION ON THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF MEAD

Bartkovský Martin, Gregová Kristína, Máčalka Jakub

Katedra hygieny a technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

The aim of this study was to analyze how variations in honey type (blossom, honeydew, mixed), processing, storage, and botanical origin influence the content of bioactive compounds such as polyphenols, flavonoids, and enzymes, and thus the overall antioxidant capacity of mead. Mead samples were prepared using different kinds of honey, and their chemical parameters (pH, titratable acidity, alcohol, sugars), total phenolic, flavonoid content and antioxidant activity.

Key words: mead, honey, polyphenols, antioxidant, quality

ÚVOD

Medovina je považovaná za jeden z najstarších alkoholických nápojov. Podľa legiend ju užívali antickí bohovia a bola známa vo viacerých starovekých civilizáciách. Dnes však medovina zažíva renesanciu, keďže jej produkcia je ekologickejšia než výroba piva či vína. Včelárstvo podporuje biodiverzitu a komunitné iniciatívy, pričom včelie úle možno nájsť aj na strechách veľkomiest ako New York či Londýn (Beňová a kol., 2010). Antioxidačné vlastnosti medoviny sú úzko späté s obsahom bioaktívnych látok v mede, ktoré sa menia v závislosti od pôvodu nektáru, včelárskych postupov a podmienok skladovania (Tupec, 2013). Produkcia medu a jeho následné spracovanie zohrávajú kľúčovú úlohu pri určovaní jeho chemického zloženia a kvalitatívnych vlastností. Spôsob získavania nektáru včelami, podmienky v úli, techniky extrakcie medu a jeho skladovanie majú priamy vplyv na zachovanie biologicky aktívnych látok obsiahnutých v mede (Hooper, 2010). Antioxidačné vlastnosti medoviny sú úzko spojené s kvalitou a zložením medu, ktorý sa používa pri jej výrobe. Med je bohatý na biologicky aktívne látky, medzi ktoré patria predovšetkým fenolové zlúčeniny, flavonoidy a enzýmy. Tieto zložky majú významný vplyv na schopnosť medoviny neutralizovať voľné radikály, čím pomáhajú chrániť bunky pred oxidačným stresom a prispievajú k jej priaznivým účinkom na zdravie (Fiľo, 2021). Fenolové zlúčeniny a flavonoidy patria medzi najvýznamnejšie antioxidanty v mede. Ich množstvo a zloženie závisí od botanického pôvodu

medu, pričom multiflorálne medy a tmavšie druhy medu (napríklad lesný, gaštanový alebo pohánkový med) majú spravidla vyšší obsah týchto látok. Tieto zlúčeniny prispievajú nielen k antioxidačným, ale aj protizápalovým a antimikrobiálnym vlastnostiam medoviny, čím zlepšujú jej kvalitatívne a senzorické vlastnosti (Švecová a kol., 2015).

MATERIÁL A METODIKA

Pre potreby výskumu sme nakúpili vzorky z obchodnej site. Vzorky boli rozdelené anonymne ako vzorka 1. až vzorka 4. Vzorky sa líšili zložením a použitým medom pri výrobe medoviny. Všetky vzorky boli vyrobené teplou metódou varenia medu – zahrievaním, nie na studeno. Pri výrobe vzoriek bol použitý kvetový med (vz. 1), kvetový a repkový med (vz. 2), kvetový, lipový a medovicový med (vz.3) a kvetový a slnečnicový med (vz. 4). Vzorky boli následne laboratórne vyšetrené a podrobené analýzam.

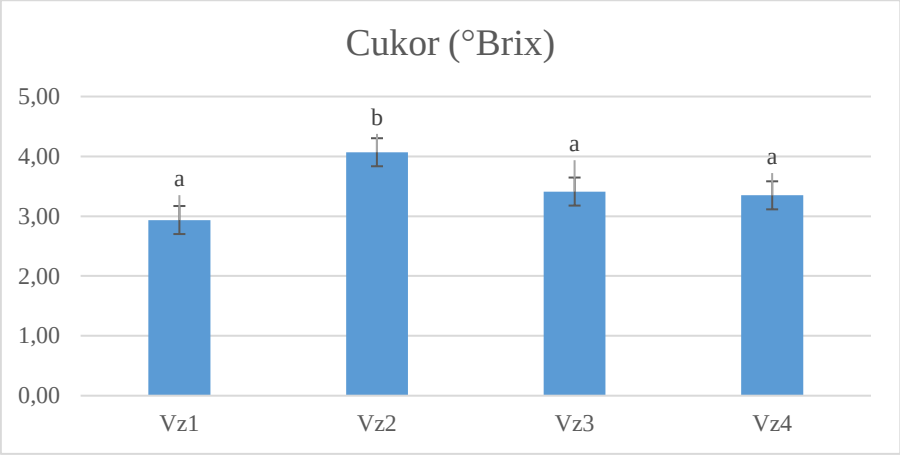
Celkové rozpustné tuhé látky medoviny sa stanovili pomocou refraktometra (ATC, Xindacheng, Čína) kalibrovaného destilovanou vodou a výsledok sa vyjadril ako % Brix. pH sa meralo pomocou pH metra (Mettler Toledo™, Manchester, Salford, UK). Obsah alkoholu sa meral s využitím ebuliometrickej metódy pomocou prístroja Ebulioskop (Dujardin – Salleron ref. 160350T – 160350D, France). Celkový obsah fenolov (TPC) vo vzorkách medoviny bol meraný metódou Folin-Ciocalteu, podľa metódy Essiedu et al. (2021). Celkový obsah flavonoidov sa meral pomocou kolorimetrickej metódy podľa Essiedu et al., (2021). Antioxidačná aktivita vzoriek medoviny sa analyzovala pomocou testu aktivity zachytávania radikálov 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl (DPPH), ako bolo opísané v publikácii Adadi et al., (2018).

Výsledky práce boli spracované štatistickým programom Graph Pad Prism 3.0 (1999). Spracované výsledky sú vyjadrené ako aritmetický priemer (x) a smerodajná odchýlka (± sd). Výsledky boli navzájom porovnávané jednocestnou – ANOVA metódou.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky hodnotenia zvyškového cukru sú zobrazené v grafe č. 1. Na základe výsledkov vidíme, že sledované vzorky dosiahli štatisticky významné rozdiely ($P<0,05$). Najvyššie hodnoty zvyškového cukru dosiahla vzorka č.2 (4,07 °Brix). Najnižšie hodnoty naopak vzorka č.1 (2,94 °Brix). Množstvo zvyškového cukru nám priamo poukazovalo aj na zmeny v množstve alkoholu.

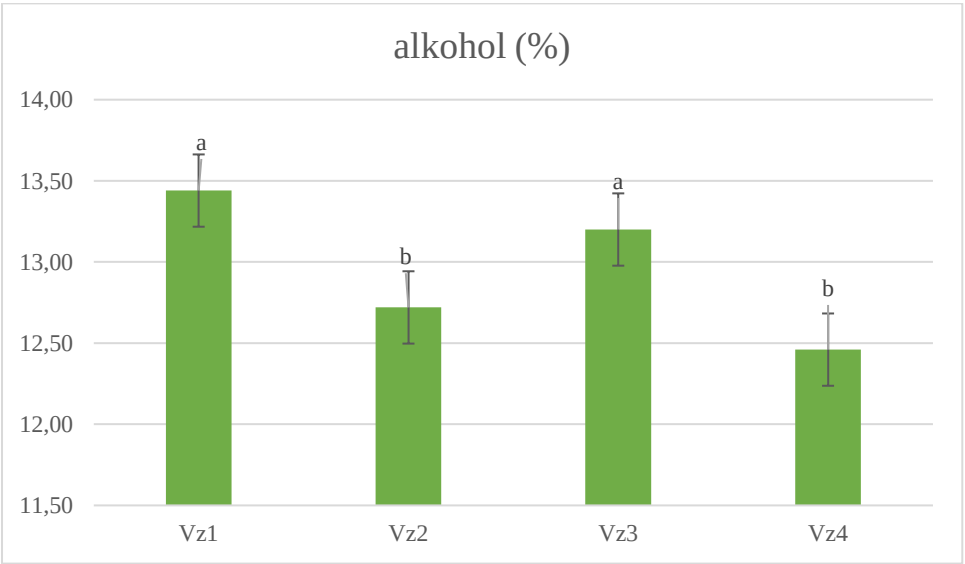
Graf 1 Meranie zvyškového cukru vyjadrené ako °Brix



Zdroj: Vlastný graf, a,b – indexy zobrazujú štatistickú významnosť (P<0,05) medzi jednotlivými vzorkami

Vyšší alkohol môže byť žiaduci pre silnejšiu medovinu, zatiaľ čo nižší alkohol a vyšší cukor vytvárajú sladší, dezertný charakter. Merania % alkoholu sú zobrazené v grafe č. 2. Ako vidíme na základe výsledkov zvyškového cukru, štatisticky najvyššie % alkoholu (P<0,05) dosiahla vzorka č. 1 (13,44 %). Vzorka č. 2 obsahovala nižšie % alkoholu (12,72 %). Druhé najvyššie % alkoholu dosiahla vzorka č. 3 (13,20 %) a najnižšie % bolo zaznamenané vo vzorke č. 4 (12,46 %).

Graf 1 Meranie alkoholu vyjadrené v %

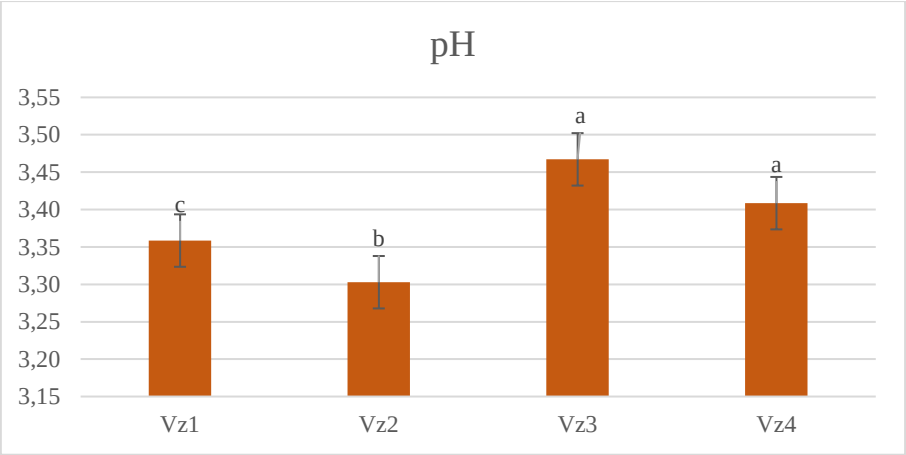


Zdroj: Vlastný graf; [a,b] – indexy zobrazujú štatistickú významnosť (P<0,05) medzi jednotlivými vzorkami

Nižšie pH znamená vyššiu sviežosť a stabilitu proti mikroorganizmom, zatiaľ čo vyššie pH môže vytvárať jemnejšiu chuť. V grafe č. 3 sú zobrazené merania pH v jednotlivých

vzorkách. Vo vzorke č. 1 bolo nameraných 3,36. Najnižšiu hodnotu pH mala vzorka č. 2 (3,30), čo môže zvýrazniť sviežosť chuti. Naopak najvyššie namerané pH mala vzorka č. 3 (3,47). Vo vzorke č. 4 sa nameralo pH v hodnote 3,41.

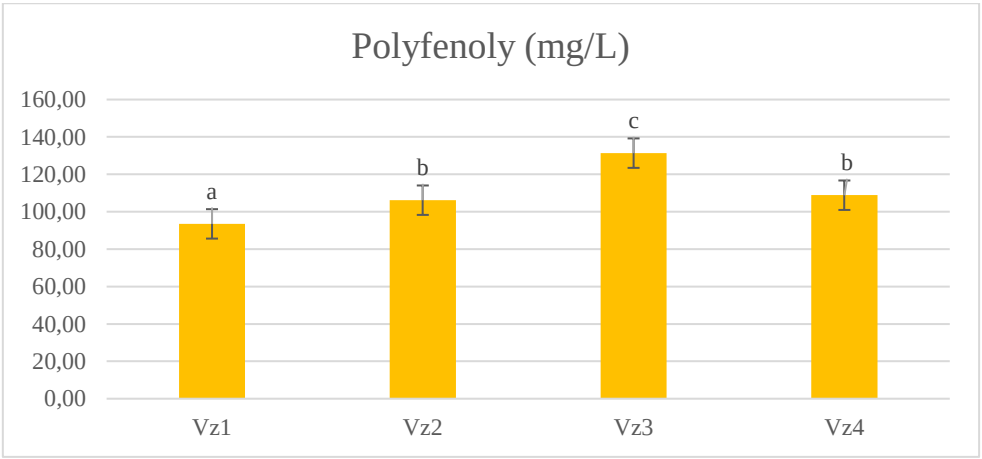
Graf 2 Meranie pH medoviny



Zdroj: Vlastný graf; [a,b] – indexy zobrazujú štatistickú významnosť (P<0,05) medzi jednotlivými vzorkami

Vyšší obsah polyfenolov môže zlepšiť zdravotné benefity a predĺžiť trvanlivosť medoviny. V grafe č. 4 sa nachádzajú výsledky z merania obsahu polyfenolov vyjadrených v mg/L. Najnižšia koncentrácia polyfenolov sa nachádzala vo vzorke č. 1 (93,5 mg/L), čo znamená nižšiu ochranu proti oxidácii. Vzorka č. 2 obsahovala 106,17 mg/L. Najvyšší obsah polyfenolov sa nachádzal vo vzorke č. 3 (131,33 mg/L), čo naznačuje bohatý zdroj prírodných antioxidantov. Vo vzorke č. 4 bolo namerané 108,83 mg/L.

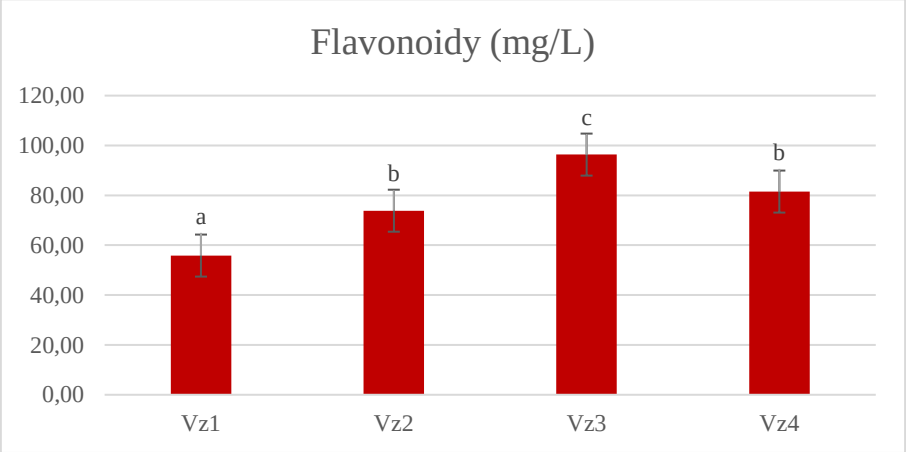
Graf 4 Meranie polyfenolov vyjadrených v mg/L



Zdroj: Vlastný graf; [a,b,c] – indexy zobrazujú štatistickú významnosť (P<0,05) medzi jednotlivými vzorkami

Flavonoidy prispievajú ku stabilite medoviny. V grafe č. 5 sú popísané výsledky z merania Flavonoidov v medovine vyjadrených v mg/L. Najnižšia hodnota bola nameraná vo vz. č.1 (55,83 mg/L). Vo vzorke č. 2 bola nameraná vyššia hodnota (73,83 mg/L). Najvyššia nameraná hodnota bola vo vzorke č. 3 (96,33 mg/L). Vo vzorke č. 4 sa namerala hodnota 81,5 mg/L.

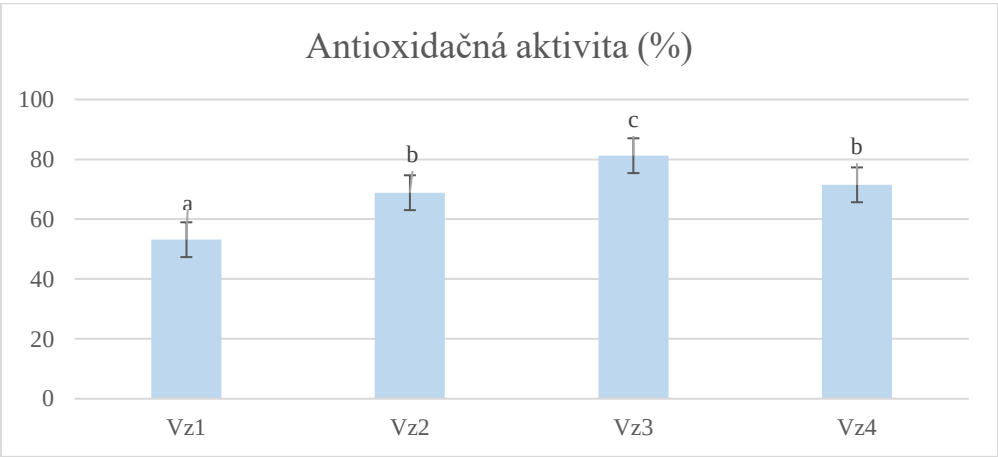
Graf 5 Meranie Flavonoidov vyjadrených v mg/L



Zdroj: Vlastný graf; [a,b,c] – indexy zobrazujú štatistickú významnosť (P<0,05) medzi jednotlivými vzorkami

Vyššia antioxidačná aktivita znamená lepšie zdravotné benefity a vyššiu stabilitu medoviny. V grafe č. 6 sú popísané výsledky z merania antioxidačnej aktivity vyjadrenej v %. Najnižšiu antioxidačnú aktivitu mala vzorka č. 1 (53,15%) . Druhú najnižšiu antioxidačnú aktivitu mala vzorka č. 2 (68,86%). Najvyššiu antioxidačnú aktivitu dosiahla vzorka č. 3 (81,23), čo súvisí s jej vysokým obsahom polyfenolov a flavonoidov. Vo vzorke č. 4 bola nameraná antioxidačná aktivita 71,49 %.

Graf 6 Meranie antioxidačnej aktivity metódou DPPH vyjadrenej v %



Zdroj: Vlastný graf; [a,b,c] – indexy zobrazujú štatistickú významnosť (P<0,05) medzi jednotlivými vzorkami

Aj keď zohrávajú hlavný faktor medy využité vo výrobe, jednotlivé chemické a fyzikálne vlastnosti môžu byť ovplyvnené pridávaním a upravovaním výrobného procesu, podľa Essiedu a kol. (2024) je možné zvýšiť množstvo polyfenolov a flavonoidov pridaním brezovej šťavy a ibištekového čaju do procesu výroby, ktorý však v danej štúdii znížil obsah alkoholu.

Štúdia od Kawa-Rygielska a kol. (2019) preukázala, že použitie rôznych aditív vo forme prášku z červených hroznových semienok, sirupov z arónie, a púpavy ovplyvnila priebeh kvasenia ako aj ich fyzikálno-chemické a antioxidačné vlastnosti. Najsilnejšiu antioxidačnú aktivitu a najprínosnejšie chemické zloženie stanovili v medovine s prídavkom prášku z hroznových jadierok, taktiež zlepšil skóre v senzorickom hodnotení, vďaka čomu môže zlepšiť trhovú hodnotu.

ZÁVER

Výsledky jednoznačne potvrdili, že zvolená včelárska prax výrazne ovplyvňuje zloženie a kvalitu medu, najmä obsah bioaktívnych látok, ako sú polyfenoly, flavonoidy a enzýmy s antioxidačným účinkom. Med získaný udržateľným spôsobom chovu včiel – pri ktorom boli včely vystavené pestrej kvetovej pastve, minimalizovalo sa kŕmenie cukrovými roztokmi a obmedzilo používanie syntetických chemických zásahov – mal vyššiu antioxidačnú kapacitu v porovnaní s medom z intenzívnejších chovov. Tento kvalitatívny rozdiel sa preniesol aj do medoviny: medoviny vyrobené z takto kvalitného medu vykazovali významne vyšší celkový antioxidačný potenciál a obsah polyfenolov.

POĎAKOVANIE

Týmto by som sa chcel poďakovať Kristíne Gregovej a Jakubovi Máčalkovi za spoluprácu pri získavaní a spracovaní vzoriek.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ADADI, P., KOVALEVA, E.G., GLUKHAREVA, T.V., BARAKOVA, N.V., 2018. Production and investigations of antioxidant-rich beverage: utilizing Monascus purpureus IHEM LY2014-0696 and various malts. Agron. Res. 16 (S2), 1312–1321.
2. BEŇOVÁ, B., & HÁJEK, T. (2010). Utilization of coulometric array detection in analysis of beverages and plant extracts. Procedia Chemistry, 2, 92–100. <http://dx.doi.org/10.1016/j.proche.2009.12.015.>
3. ESSIEDU, J. a kol., 2024, *Physiochemical, antioxidant activity, and sensory characteristics of mead produced with Hibiscus sabdariffa and Betula pendula* (Birch

sap). [cit. 2025-01-15].Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103189>

4. ESSIEDU, JUSTICE A., ADADI, PARISE, KOVALEVA, ELENA G., 2021. Production and characterization of beer supplemented with Hibiscus sabdariffa (Malvaceae). Food Frontiers 3, 328–338.
5. FIĽO P. a kol., Príručka začínajúceho včelára [online] 2021. [cit. 2025-01-15]. Dostupné na internete: < https://vcelari.sk/wp-content/uploads/2024/02/Prirucka-zacinajuceho-vcelara-Interreg.pdf> ISBN 978-80-970326-7-8
6. HOOPER, T., 2010 Guide to Bees and Honey. Northern Bee Books; 4th edition. ISBN: 978-1904846512.
7. KAWA-RYGLIESKA, J. a kol., 2019 *Fuit and herbal meads – Chemical composition and antioxidant activities.* Department of Fermentation and Cereals Technology, Faculty of Food Science, Wroclaw University of Environmental and Life Sciences, Chełmońskiego 37, 51-630, Wrocław, Poland
8. ŠVECOVÁ, B., BORDOVSKÁ, M., KALVACHOVÁ, D., & HÁJEK, T. (2015). Analysis of Czech meads: Sugar content, organic acids content and selected phenolic compounds content. Journal of Food Composition and Analysis, 38, 80–88.
9. TUPEC, M., 2013, Antioxidační vlastnosti léčivých rostlin. Bakalářská práce, vedoucí Hýsková, Veronika. Praha: Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra biochemie.

Kontaktná adresa: Martin Bartkovský, Department of Food Hygiene and Technology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: martin.bartkovsky@uvlf.sk

VLIV BIOAKTIVNÍCH LÁTEK NA ANTIOXIDAČNÍ VLASTNOSTI PROTEINOVÝCH KOMPLEXŮ

EFFECT OF BIOACTIVE COMPOUNDS ON THE ANTIOXIDANT PROPERTIES OF PROTEIN COMPLEXES

Bartlová Marie, Křištofová Kateřina, Pospiech Matej, Javůrková Zdeňka, Čaloudová Jana, Havlová Lenka, Tremlová Bohuslava

Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika

ABSTRACT

Antioxidants are compounds that act against free radicals. Their ability to reduce oxidative activity is defined as antioxidant capacity. Antioxidant capacity can be measured by different methods based on different principles. In the practical part, the antioxidant capacity was measured by Folin-Ciocalteu assay, FRAP, ABTS and DPPH of dissolved gliadin samples and different concentrations of antioxidants (gallic acid, quercetin and rutin). The results confirmed that interactions may occur between antioxidants and proteins, which may influence the antioxidant capacity.

Key words: Folin-Ciocalteu assay, FRAP, ABTS, DPPH, gallic acid, rutin, quercetin

ÚVOD

Antioxidanty jsou sloučeniny, které působí proti volným radikálům tím, že zasahují do oxidačního procesu a tím ho mohou zpomalovat (Kedare and Singh, 2011; Munteanu and Apetrei, 2021). Antioxidační kapacitu lze měřit různými metodami, mezi nejpoužívanější se řadí metoda FRAP (ferric reducting antioxidant potential), ABTS (2,2-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát)), DPPH (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl) a metoda Folin–Ciocalteu.

Metoda DPPH je založena na měření kapacity antioxidantů vůči DPPH, což je stabilní volný radikál. Lichý elektron atomu dusíku v DPPH se redukuje přijetím atomu vodíku z antioxidantů na odpovídající hydrazin. Díky lichému volného elektronu v molekule má roztok tmavě fialovou barvu, jakmile se elektron spáruje (DPPH se smísí s látkou, která elektron může darovat) roztok se začne odbarvovat v závislosti na počtu odebraných elektronů. Absorbance roztoku se měří při vlnové délce 517 nm (Kedare and Singh, 2011).

Metoda FRAP je založena na redukci komplexu železitých iontů (Fe^{3+}) pomocí antioxidantů v kyseleném prostředí (pH 3,6). Kyselé prostředí je důležité pro zachování

rozpustnosti železa, navíc nízké pH snižuje ionizační potenciál a zvyšuje redoxní potenciál. Při této metodě se měří schopnost antioxidantu redukovat oxidant, přičemž dochází ke změně barvy (měří se při vlnové délce 593 nm). Stupeň zbarvení koreluje s koncentrací celkové antioxidační kapacity (Munteanu and Apetrei, 2021).

Při metodě ABTS je ABTS oxidováno oxidanty na svůj radikálový kationt $ABTS^{\cdot+}$, který má intenzivní zbarvení. Principem této metody je měření antioxidační kapacity, kdy testované sloučeniny snižují zbarvení reakcí s radikálem ABTS (Gulcin, 2020).

Metoda Folin-Ciocalteu assay se používá k měření celkového obsahu polyfenolů (TPC) (Torres *et al.*, 2024). Jak už je zřejmé z názvu metody, pro stanovení fenolických látek se používá Folin-Ciocalteuovo činidlo, které obsahuje molybden. Principem stanovení je redukce Mo^{6+} (žlutá barva) na Mo^{5+} (modrá barva). Pro reakci je důležitá přítomnost uhličitanu sodného pro zajištění alkalického prostředí (Chen *et al.*, 2015; Platzer *et al.*, 2021).

Cílem práce bylo zjištění vlivu interakce gliadinu s různými koncentracemi vybraných antioxidantů na antioxidační vlastnosti.

MATERIÁL A METODIKA

V rámci této práce byly připraveny vzorky vybraných antioxidantů v různých koncentracích. Jednalo se o kyselinu gallovou (MP Biomedicals, CHN), kvercetin a rutin (Sigma-Aldrich, USA), které byly rozpuštěny v 55% ethanolu. Antioxidanty měly různou rozpustnost, proto byly vytvořeny nejprve nasycené zásobní roztoky, které byly dále ředěny 55 % ethanolem.

Koncentrace jednotlivých antioxidantů byly následující:

Kyselina gallová: 39,30 mg/g, 31, 44 mg/g, 23,58 mg/g, 15,72 mg/g, 7,86 mg/g, 3,93 mg/g, 2,62 mg/g, 1,31 mg/g, 0,66 mg/g.

Kvercetin: 8,52 mg/g, 6,82 mg/g, 5,11 mg/g, 3,41 mg/g, 1,70 mg/g, 0,85 mg/g, 0,57 mg/g, 0,28 mg/g, 0,14 mg/g.

Rutin: 8,08 mg/g, 6,46 mg/g, 4,85 mg/g, 3,23 mg/g, 1,62 mg/g, 0,81 mg/g, 0,54 mg/g, 0,27 mg/g, 0,14 mg/g.

Ke každému vzorku byl přidán rozpuštěný gliadin (Sigma-Aldrich, USA). Množství gliadinu tvořilo v každém vzorku koncentraci 10 mg/g. Také byl připraven vzorek, který neobsahoval žádný přídavek antioxidantu. Jednalo se o kontrolní vzorek, který obsah pouze 55% ethanol a rozpuštěný gliadin v koncentraci 10 mg/g.

Metodické postupy metod FRAP, ABTS a DPPH byly provedeny podle Xiao *et al.* (2020). Metoda Folin-Cicoalteu byla stanovena podle Zhang *et al.* (2006). Vzorky byly měřeny

v mikrotitračních destičkách za použití UV-VIS readeru M200 INFINITE 200PRO (TECAN, Rakousko).

Výsledky byly statisticky vyhodnoceny pomocí Kruskal-Wallisova testu s mnohonásobným porovnáním Tukey HSD a Pearsonovým korelačním testem na hladině významnosti $p<0,05$ v programu XLSTAT (Addinsoft, USA).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky metod Folin-Cicoalteu, FRAP, ABTS a DPPH pro jednotlivé vzorky jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka č. 1, Rozdílný obsah polyfenolů a antioxidační aktivity u analyzovaných vzorků

Vzorek [mg/g]	Folin-Cicoalteu [mmol GAE/l]	FRAP [mmol TE/l]	ABTS [mmol TE/l]	DPPH [%]
Gli 0	1,215 ^{ab}	0,016 ^{a}	79,638 ^{d}	36,806 ^{a}
Rut 0,14	1,073 ^{a}	0,087 ^{ab}	2,496 ^{ab}	53,767 ^{ab}
Rut 0,27	1,439 ^{ab}	0,087^{b}	2,724 ^{ab}	65,405 ^{cde}
Rut 0,54	1,530 ^{abc}	0,193 ^{abc}	9,730 ^{bcd}	62,395 ^{abc}
Rut 0,81	1,580 ^{abcd}	0,316 ^{abcd}	4,367 ^{abc}	66,252 ^{de}
Rut 1,62	2,296 ^{bcde}	0,435 ^{bcde}	1,764 ^{ab}	65,135 ^{bcde}
Rut 3,23	3,233 ^{cde}	0,688 ^{bcde}	1,871 ^{ab}	67,310 ^{e}
Rut 4,85	5,914 ^{cde}	1,128 ^{cde}	9,600 ^{abcd}	66,024 ^{cde}
Rut 6,46	7,296 ^{de}	1,489 ^{de}	0,013 ^{a}	63,927 ^{abcde}
Rut 8,08	8,236 ^{e}	1,719 ^{e}	12,914 ^{cd}	63,759 ^{abcd}
Kve 0,14	1,179 ^{ab}	0,246 ^{a}	7,435 ^{bc}	62,227 ^{de}
Kve 0,28	1,152 ^{a}	0,275 ^{ab}	-2,514 ^{ab}	61,343 ^{cde}
Kve 0,57	1,496 ^{abcd}	0,341 ^{abc}	-4,648 ^{ab}	61,884 ^{e}
Kve 0,85	1,966 ^{abcde}	0,778 ^{abcd}	-9,283 ^{a}	60,531 ^{abcde}
Kve 1,7	2,833 ^{bcdef}	0,704 ^{abcd}	-8,292 ^{a}	58,249 ^{abcd}
Kve 3,41	5,600 ^{cdef}	1,040 ^{bcd}	2,009 ^{abc}	56,921 ^{ab}
Kve 5,11	6,553 ^{def}	1,534 ^{cd}	3,679 ^{abc}	57,438 ^{abc}
Kve 6,82	8,391 ^{ef}	1,619 ^{d}	23,746 ^{c}	58,460 ^{abcde}

Pokračovanie tabuľky 1, Rozdílný obsah polyfenolů a antioxidační aktivity u analyzovaných vzorků

Vzorek [mg/g]	Folin-Cicoalteu [mmol GAE/l]	FRAP [mmol TE/l]	ABTS [mmol TE/l]	DPPH [%]
Kve 8,52	9,558 ^{f}	1,873 ^{d}	15,325 ^{c}	58,670 ^{abcde}
Gal 0,66	7,401 ^{ab}	0,973 ^{ab}	57,959 ^{ab}	64,834 ^{ab}
Gal 1,31	18,901 ^{abc}	1,076 ^{abc}	63,452 ^{ab}	65,062 ^{ab}
Gal 2,62	24,866 ^{abcd}	2,170 ^{abcd}	37,665 ^{a}	65,147 ^{ab}
Gal 3,93	48,961 ^{abcde}	2,139 ^{abcd}	217,147 *	65,261 ^{ab}
Gal 7,86	82,212 ^{bcde}	4,509 ^{bcde}	26,010 ^{a}	71,011 ^{bc}
Gal 15,72	270,693 ^{cde}	9,034 ^{cde}	68,051 ^{ab}	71,822 ^{bc}
Gal 23,58	284,023 ^{de}	9,087 ^{de}	69,145 ^{b}	70,632 ^{bc}
Gal 31,44	310,813 ^{e}	13,115 ^{de}	66,680 ^{ab}	73,720 ^{c}
Gal 39,3	315,097 ^{e}	13,333 ^{e}	67,158 ^{ab}	73,318 ^{c}

Gli – gliadin, Gal – kyselina gallová, Kve – kvercetin, Rut – rutin. Rozdílný index znamená statistický rozdíl ve sloupcích. * extrémní hodnota

Mnohonásobné porovnání výsledků potvrzuje rozdíly v antioxidační aktivitě v závislosti na koncentraci vzorku. Výsledky metody Folin-Cicoalteu a FRAP korelují s koncentrací vzorků, tzn. nejvyšší absorbance byla naměřena u vzorků s nejvyšší koncentrací antioxidantů. U metody ABTS hodnoty nevykazují lineární korelaci. Důvodem by mohla být interakce antioxidantu s proteinem. Arts *et al.* (2001) potvrzují, že antioxidační kapacita může být ovlivněna interakcí mezi antioxidanty a proteiny, přičemž antioxidační kapacita v této studii byla měřena také metodou ABTS. U kyseliny gallové v koncentraci 3,93 mg/g byla naměřena hodnota 217,17 mmol TE/l. Tato hodnota je o řád vyšší než ostatní výsledky měření. Z tohoto důvodu byla tato hodnota vyloučena jako hodnota extrémní.

Při metodě DPPH dochází ke spárování volného elektronu s antioxidantem a následným odbarvením roztoku, což se projeví poklesem absorbance (Kedare and Singh, 2011). Výsledky stanovení DPPH jsou uvedeny v procentech, kdy platí, čím vyšší procentuální hodnota, tím nižší absorbance byla naměřena. U kyseliny gallové a rutinu byla lineární korelace prokázána, avšak u kvercetinu je tendence opačná. Arts *et al.* (2001) zjistili, že ve vzorcích, které obsahují proteiny a antioxidanty může docházet k maskování antioxidační kapacity. Tzn., že naměřená antioxidační kapacita vzorku obsahujícího proteiny a antioxidantu je menší než

antioxidační kapacita samotného antioxidantu. Míra maskování antioxidační kapacity může však být u jednotlivých antioxidantů různá.

Výsledky antioxidační aktivity čistého gliadinu jsou v souladu s jinými autory, kteří potvrzují antioxidační vlastnosti proteinů nebo peptidů v roztocích (Ke *et al.*, 2023). Interakci mezi peptidy a fenolickými látkami vlašských ořechů a její vliv na antioxidační aktivitu zkoumali také Su *et al.* (2017). Zjistili, že fenolické látky se mohou vázat na hydrofobní místa peptidů a tím měnit jejich konformaci. Díky této vazbě mají proteinové hydrolyzáty z ořechů silnější antioxidační schopnost, nicméně její zvýšení závisí na poměru proteinů a fenolických látek (*Su et al.*, 2017).

Dále byla ověřena závislost antioxidačních testů na koncentraci bioaktivních látek pomocí Pearsonova korelačního koeficientu. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka č. 2, Korelační závislost antioxidačních testů ke vzrůstající koncentraci bioaktivních látek

Metoda	Kyselina gallová (R2)	Kvercetin (R2)	Rutin (R2)
Folin-Cicoalteu [mmol GAE/l]	**0,942**	**0,992**	**0,990**
FRAP [mmol TE/l]	**0,976**	**0960**	**0,994**
ABTS [mmol TE/l]	-0,116	0,001	-0,245
DPPH [%]	**0,571**	0,139	**0,387**

Tučně zvýrazněné hodnoty mají korelační závislost potvrzenou Pearsonovým testem ($p<0,05$)

Pro metody Folin-Cicoalteu a FRAP byla potvrzena silná korelační závislost pro všechny zkoušené antioxidanty. U metody DPPH byla zjištěna střední korelace pro kyselinu gallovou, pro kvercetin byla zjištěna velmi slabá korelace a u rutinu byla zaznamenána slabá korelace. U metody ABTS byla zjištěna u kvercetinu velmi slabá kladná korelace, u kyseliny gallové a rutinu byla zjištěna velmi slabá záporná korelace. Výsledky tedy potvrdily vzrůstající antioxidační vlastnosti, které byly očekávány s ohledem na vzrůstající obsah bioaktivních látek, kromě metody ABTS a kvercetinu u metody DPPH. Podobného výsledku bylo dosaženo při interakci kaseinu a kvercetinu (Ke *et al.*, 2023), dalších bioaktivních látek (Quan *et al.*, 2019, Ares *et al.*, 2001). Trend růstu antioxidační kapacity není plně lineární, což poukazuje na interakci mezi gliadinem a bioaktivními látkami.

ZÁVĚR

Výsledky této práce potvrdily, že mohou mezi bioaktivními látkami a proteiny vznikat interakce. Avšak míra interakce je závislá na druhu antioxidantu. Byla zjištěna silná korelační závislost u všech použitých antioxidantů v metodách Folin-Ciocalteu a FRAP. Naopak nejslabší korelační závislost byla zjištěna u metody ABTS a DPPH.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce vznikla za podpory projektu ITA Veterinární univerzity Brno s názvem Vedlejší produkty rostlinného původu jako součást nových biodegradabilních/jedlých produktů pro ochranu životního prostředí a mechanismus ochrany zdraví před alergenními složkami potravin.

POUŽITÁ LITERATURA

1. ARTS, M.J.T.J., HAENEN, G.R.M.M., VOSS, H.-P., BAST, A. Masking of antioxidant capacity by the interaction of flavonoids. *Food and Chemical Toxicology*, 2001, vol. 39, p. 787-791. DOI: 10.1016/s0278-6915(01)00020-5
2. GULCIN, I. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicilogy*. 2020, vol. 96, p. 651-715. DOI: 10.1007/s00204-020-02689-3
3. CHEN, L.Y., CHENG, C.W., LIANG, J.Y. Effect of esterification condensation on the Folin–Ciocalteu method for the quantitative measurement of total phenols. *Food Chemistry*, 2015, vol. 170, p. 10-15. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.08.038
4. KE, C., LIU, B., DUDU, O.E., ZHANG, S., MENG, L., WANG, Y., WEI, W., CHENG, J., YAN, T. Modification of structural and functional characteristics of casein treated with quercetin via two interaction modes: Covalent and non-covalent interactions. *Food Hydrocoloids*, 2023, vol. 137, p. 1-12. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2022.108394
5. KEDARE, S.B., SINGH, R.P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 2011, vol. 48, p. 412-422. DOI: 10.1007/s13197-011-0251-1
6. MUNTEANU, I.G., APETREI, C. Analytical Methods Used in Determining antioxidant activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*,2021, vol. 22, no. 7. DOI: 10.3390/ijms22073380
7. QUAN, T.H., BENJAKUL, S., SAE-LEAW, T., BALANGE, A.K., MAQSOOD, S. Protein–polyphenol conjugates: Antioxidant property, functionalities and their applications. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, vol. 91, p. 507-517. DOI: 10.1016/j.tifs.2019.07.049

8. PLATZER, M., KIESE, S., HERFELLNER, T., SCHWEIGGERT-WEISZ, U., Eisner, P. How does the phenol structure influence the results of the folin-ciocalteu assay? *Antioxidants*, 2021, vol. 10, no. 5. DOI: 10.3390/antiox10050811
9. SU, S., WAN, Y., GUO, S., ZHANG, C., ZHANG, T., LIANG, M. Effect of peptide–phenolic interaction on the antioxidant capacity of walnut protein hydrolysates. *International journal of food science and technology*, 2018, vol. 53. no. 2, p. 508-5015. DOI: 10.1111/ijfs.13610
10. TORRES, P., OSAKI, S., SILVEIRA, E., dos SANTOS, D.Y.A.C., CHOW, F. Comprehensive evaluation of Folin-Ciocalteu assay for total phenolic quantification in algae (Chlorophyta, Phaeophyceae, and Rhodophyta). *Algal research-biomass biofuels and bioproducts*, 2024, vol. 80. DOI: 10.1016/j.algal.2024.103503
11. XIAO, F., XU, T., LU, B., LIU, R. Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Frontiers*, 2020, vol. 1, p. 60-69. DOI: 10.1002/fft2.10
12. ZHANG, Q., ZHANG, J., SHEN, J., SILVA, A., DENNIS, D.A., BARROW, C.J. A simple 96-well microplate method for estimation of total polyphenol content in seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, 2006, vol. 18, p. 445-450. DOI: 10.1007/s10811-006-9048-4

Kontaktní adresa: Mgr. Bartlová Marie, Ph.D., Department of Plant Origin Food Science, University of Veterinary Sciences Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Czech Republic; E-mail: bartlovam@vfu.cz

SÚ ENTEROKOKY Z TRUSU SŔN POTENCIÁLNY REZERVOÁR PATOGÉNNYCH KMEŇOV AKO MOŽNÉ RIZIKO PRE ZVIERA A ČLOVEKA?

ARE ENTEROCOCCI FROM ROE DEER FAECES A POTENTIAL RESERVOIR OF PATHOGENIC STRAINS AS A POSSIBLE RISK FOR ANIMALS AND HUMANS?

Bino Eva, Pogány Simonová Monika, Lauková Andrea

Centrum Biovied SAV, v.v.i, Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice, Slovensko

ABSTRACT

The animal microbiota plays a key role in maintaining health, disease resistance and influences digestion, immune responses and overall vitality. While the microbiota of domesticated species is relatively well studied, the microbial communities of wild/game animals such as roe deer (*Capreolus capreolus*) remain largely unexplored. In this study, we focused on enterococci isolated from faeces of wild roe deer living in eastern Slovakia. The aim was to assess wild/game animals potential as a reservoir of pathogenic strains with emphasis on the presence of virulence factors. Using the MALDI-Tof mass spectrometry, several enterococcal species, were identified, some of which exhibited pathogenic character. These findings suggest that wild ruminants may serve as an environmental reservoir for potentially risky enterococci. Our study highlights the importance of monitoring the wild animals microbiota as part of One Health approach, as their microorganisms may pose a risk not only for wild animals, but also for livestock and human.

Key words: enterococci, roe deer, faeces, virulence factors

ÚVOD

Mikrobiota cicavcov, a najmä črevná mikrobiota, zohráva kľúčovú úlohu pri udržiavaní homeostázy v organizme ako aj metabolických funkcií, obranyschopnosti a celkového zdravia hostiteľa. V ostatných desaťročiach sa výskum črevnej mikrobioty zameriaval najmä na človeka a hospodárske zvieratá, kde bol preukázaný podiel mikrobioty na tráviacich procesoch, na syntéze vitamínov, dozrievaní imunitného systému a v ochrane pred patogénmi. Voľne žijúce prežúvavce sú v mikrobiológii zaujímavým študijným materiálom, nakoľko súčasné vedomosti o zložení ich mikrobioty sú aj kvôli ťažko dostupnému terénu pri získavaní vzoriek obmedzené. Srnčia zver (*Capreolus capreolus*) patrí medzi bežné voľne žijúce prežúvavce strednej Európy, pričom na Slovensku je rozšírená najmä v lesnatých a poľnohospodársky využívaných oblastiach. Srnce obývajú rozmanité biotopy, kde sa dostávajú do kontaktu s rôznymi

environmentálnymi faktormi, vrátane antropogénnych vplyvov ako je urbanizácia, poľnohospodárska činnosť, či kontaminácia pôdy a vody. Tieto faktory môžu ovplyvňovať aj zloženie ich črevnej mikrobioty, vrátane výskytu potenciálne patogénnych baktérií (Semedo et al., 2003). Enterokoky sú bežnou súčasťou črevnej mikrobioty mnohých cicavcov, vrátane človeka. Z fyziologického hľadiska sa považujú za komenzálne baktérie, avšak za určitých podmienok môžu prechádzať do formy oportunistických patogénov. V humánnej medicíne enterokoky, najmä druhy *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium* často spôsobujú infekcie močových ciest, endokarditídy, meningitídy či sepsy. Tieto vlastnosti sú často spojené s ich schopnosťou adhézie na epitel, tvorbou biofilmu, produkciou extracelulárnych enzýmov a prítomnosťou rôznych génov virulencie (napr. esp, gel, efaA, cyl). Zatiaľ čo výskyt virulentných faktorov u enterokokov izolovaných z ľudí a hospodárskych zvierat bol intenzívne študovaný, informácie o týchto vlastnostiach u kmeňov pochádzajúcich z voľne žijúcej zveri sú obmedzené. Zistenie prítomnosti týchto faktorov u enterokokov z voľne žijúcich populácií by mohlo naznačovať, že príroda môže slúžiť ako dôležitý rezervoár potenciálne patogénnych mikroorganizmov. Tieto mikroorganizmy sa môžu šíriť v rámci ekosystému a potenciálne predstavovať riziko pre zdravie iných živočíchov, vrátane človeka – napríklad prostredníctvom priameho kontaktu, kontaminácie vody alebo pôdy. Cieľom tejto práce bolo testovať virulentné vlastnosti enterokokov izolovaných z trusu srnčej zveri na území východného Slovenska.

MATERIÁL A METODIKA

Zmesné vzorky trusu (20) boli odobraté od voľne žijúcich sŕn z oblasti Zádiel na východnom Slovensku a následne v transportnom boxe prepravené do laboratória na ďalšiu analýzu. Spracované boli štandardnou mikrobiologickou metódou podľa ISO a vysiate na rôzne selektívne média, pre enterokoky na M-Enterococcus agar (Difco, USA). Kmene enterokokov boli identifikované pomocou hmotnostnej laserovej spektrometrie (MALDI-Tof MS). Následne sa zisťovala pomocou PCR prítomnosť génov faktorov virulencie (Gel, Esp, Cyl, Efa, Agg, Hyl, IS16, ccf a cpd). PCR reakcie boli optimalizované individuálne pre každý cieľový gén s použitím špecifických primerov publikovaných v predchádzajúcich štúdiách. Amplifikované produkty boli vizualizované pomocou elektroforézy v 1 % agarózovom géli. Prítomnosť jednotlivých génov bola následne potvrdená porovnaním veľkosti fragmentov s molekulovou hmotnostnou stupnicou.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V rámci izolácie bolo detegovaných 25 enterokokov z trusu voľne žijúcej srnčej zveri (*Capreolus capreolus*). Na základe druhovej identifikácie boli kmene rozdelené ku trom druhom: *Enterococcus faecalis* (9 kmeňov), *Enterococcus mundtii* (15 kmeňov) a *Enterococcus casseliflavus* (1 kmeň).

Analýza prítomnosti génov virulencie ukázala, že najčastejšie detegovaným génom bol *esp*, ktorý bol prítomný v 16 z 25 kmeňov (64 %), prevažne u kmeňov druhu *E. mundtii* (14 z 15). Gény *ccf* a *hyl* boli zaznamenané zhodne v 13 kmeňoch (52 %), pričom gén *hyl* sa výrazne častejšie vyskytoval u druhu *E. faecalis*, gén *ccf* bol prítomný najmä u kmeňov *E. faecalis* a v jednom prípade u *E. casseliflavus*. Gény *gel* a *cpd* sa vyskytli zhodne v 11 kmeňoch (44 %), a tiež dominovali u kmeňov druhu *E. faecalis*. Gény *efaAFM* sa potvrdili v 7 prípadoch (28 %). Gén *cyl*, spájaný s výraznou patogenitou, sa nevyskytol ani v jednom z analyzovaných kmeňov. Tabuľka 1 poskytuje prehľad výskytu jednotlivých génov v závislosti od druhovej príslušnosti baktérií.

Tabuľka č. 1, Prítomnosť faktorov virulencie

Kmeň	Gel	Esp	Cyl	Efa AFM	Efa AFS	Agg	Hyl	IS16	ccf	cpd
EFSr1/1/24- *Enterococcus faecalis*	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+
EMSr1/2/24- *Enterococcus mundtii*	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
EMSr2/1/24- *Enterococcus mundtii*	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
EFSr5/1/24- *Enterococcus faecalis*	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+
EFSr5/2/24- *Enterococcus faecalis*	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+
EMSr6/1/24- *Enterococcus mundtii*	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
EFSr6/2/24- *Enterococcus faecalis*	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+
EMSr8/1/24- *Enterococcus mundtii*	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
EMSr9/2/24- *Enterococcus mundtii*	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
ECSr10/1/24- *Enterococcus casseiflavus*	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
EFSr11/1/24- *Enterococcus faecalis*	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+
EMSr13/1/24- *Enterococcus mundtii*	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
EFSr13/2/24- *Enterococcus faecalis*	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-
EMSr14/1/24- *Enterococcus mundtii*	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
EMSr15/1/24- *Enterococcus mundtii*	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+
EMSr17/1/24- *Enterococcus mundtii*	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+
EMSr18/1/24- *Enterococcus mundtii*	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
EMSr19/1/24- *Enterococcus mundtii*	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
EMSr1/1/24- Enterococcus mudtii	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
EFSr1/2/24- Enterococcus faecalis	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+

Pokračovanie Tabuľka 1, Prítomnosť faktorov virulencie

Kmeň	Gel	Esp	Cyl	Efa AFM	Efa AFS	Agg	Hyl	IS16	ccf	cpd
EMSr2/1/24- Enterococcus mudtii	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+
EFSr5/1/24- Enterococcus faecalis	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+
EMSr16/1/24- Enterococcus mudtii	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
EMSr17/1/24- Enterococcus mudtii	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
EFSr18/1/24- Enterococcus faecalis	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+

Zdroj: Vlastná tabuľka, Gel-želatináza. Esp- enterokokový povrchový proteín, Cyl- cytolyzín, Efa/AFM- *Adhezín BS,* Efa/AFS- *Adhezín BS,* Agg- agregačný proteín, Hyl- hyaluronidáza, IS16- transpozičný element, ccf/cpd – pohlavný feromón

Tieto výsledky poukazujú na druhovo špecifické rozloženie virulentných faktorov. Kým druh *E. faecalis* sa vyznačoval komplexnejšími virulentnými profilmi (najčastejšie kombinácie 3–5 pozitívnych génov), *E. mundtii* síce dominoval početnosťou, no vo väčšine prípadov niesol len jeden alebo dva gény (najčastejšie *esp*). Kmeň *E. casseliflavus* (ECSr10/1/24) bol pozitívny len na gén *ccf*. Získané výsledky poukazujú na prítomnosť viacerých génov spojených s virulenciou u enterokokov izolovaných z trusu srnčej zveri, čo podporuje hypotézu, že voľne žijúce živočíchy môžu slúžiť ako environmentálny rezervoár potenciálne patogénnych kmeňov. Najmä druh *E. faecalis*, ktorý sa tradične spája s infekciami u ľudí, vykazoval vyššiu genetickú vybavenosť virulentnými faktormi v porovnaní s *E. mundtii*, ktorý je považovaný za menej virulentný druh (Aguilar-Toalá et al., 2018).

Vysoká frekvencia génu *esp* (64 %) u analyzovaných kmeňov, predovšetkým u druhu *E. mundtii*, bola prekvapujúca, keďže tento gén sa zvyčajne spája s kmeňmi *E. faecalis* z klinického prostredia (Ruiz-Garbajosa, et al., 2006). *Esp* zohráva úlohu pri adhézii na epitel a pri tvorbe biofilmu, čo zvyšuje schopnosť baktérií perzistovať v hostiteľovi aj v prostredí. Jeho výskyt u enterokokov z voľne žijúcich živočíchov môže naznačovať prenos genetickej informácie medzi rôznymi prostrediami alebo pôsobenie selekčného tlaku v rámci bakteriálnych populácií. Na druhej strane, gény ako *gel* či *IS16* sa očakávane vyskytovali prevažne u kmeňov druhu *E. faecalis*, čo korešponduje s predchádzajúcimi zisteniami z iných štúdií (Stępień-Pyśniak et al., 2019).

Zaujímavý je aj výskyt génu *hyl* u viac ako polovice kmeňov. Hoci sa jeho presná úloha vo virulencii enterokokov stále skúma, spája sa so schopnosťou degradovať extracelulárnu matricu a podporovať šírenie baktérií v tkanivách (Mah et al., 2001). Jeho detekcia aj u kmeňa *E. mundtii*, čo je druh považovaný za menej patogénny, naznačuje potrebu dôkladnejšieho hodnotenia tohto faktora.

Absencia génu *cyl*, ktorý kóduje cytolyzín – významný virulentný faktor spájaný s vysokou mortalitou pri infekciách, môže byť dôsledkom neklinického pôvodu kmeňov (Lopes et al., 2024). Prítomnosť viacerých virulentných faktorov však aj napriek tomu ukazuje, že enterokoky z voľne žijúcich živočíchov môžu disponovať genetickým vybavením potenciálne nebezpečným pri prenose do nového hostiteľa.

Naše výsledky sú v súlade s prácami, ktoré poukazujú na virulentný potenciál enterokokov izolovaných z voľne žijúcich vtákov, hlodavcov či hospodárskych zvierat (Yahia et al., 2018). Tieto nálezy naznačujú potrebu dlhodobého monitoringu mikrobioty voľne žijúcej zveri v rámci konceptu One Health, ktorý zdôrazňuje prepojenie medzi zdravím zvierat, ľudí a životným prostredím.

ZÁVER

Výsledky testovania preukázali, že enterokoky izolované z trusu voľne žijúcej srnčej zveri nesú viaceré gény spojené s virulenciou, predovšetkým gény *esp*, *gel*, *hyl* a *IS16*. Kmene *Enterococcus faecalis* vykazovali komplexné virulentné profily, podobné tým, ktoré sú charakteristické pre klinicky významné kmene. Tieto zistenia poukazujú na potenciálnu úlohu voľne žijúcich živočíchov ako environmentálneho rezervoára mikroorganizmov s patogénnym potenciálom. Výsledky poukazujú na potrebu ďalšieho výskumu a monitorovania mikrobioty voľne žijúcich druhov v kontexte konceptu One Health.

POĎAKOVANIE

Výsledky vznikli v rámci projektov COST CA22166 (SafeGameMeat) a VEGA 2/0005/21.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AGUILAR-TOALÁ, J. E. et al., (2018): Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. In *Trends in Food Science & Technology*. Vol. 75, 105–114.
2. LOPES, J. et al., (2024): Genomic analysis of *Enterococcus faecium* from non-clinical settings: antimicrobial resistance, virulence, and clonal population in livestock and the urban environment. In *Frontiers in Microbiology*. 15, s. 1466990.
3. MAH, T. F. a kol. (2001): Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. In Trends in Microbiology, Vol.9, s. 34-39.
4. RUIZ-GARBAJOSA, et al. (2006): High prevalence of *esp* among *Enterococcus faecalis* isolates from inpatients and correlation with biofilm production and gelatinase activity. In *Journal of Clinical Microbiology*. 44, s. 955–958.

5. SEMEDO, T. et al. (2003): Comparative study using type strains and clinical and food isolates to examine hemolytic activity and occurrence of the cyl operon in enterococci. In J. Clin. Microbiol. Vol.41, s. 2569–2576.
6. STEPIEN-PYSNIAK, D. et al**.** (2019). Biofilm formation capacity and presence of virulence factors among commensal *Enterococcus* spp. from wild birds. In *Scientific Reports*, 9(1), 11204.
7. YAHIA, H. B. et al., (2018): Antimicrobial resistance and genetic lineages of faecal enterococci of wild birds: Emergence of vanA and vanB2 harbouring *Enterococcus faecalis*. In *International Journal of Antimicrobial Agents*. 52(6), s. 936-941.

Kontaktná adresa: Bino Eva, CBv SAV v.v.i., org. zl. Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice, Slovensko; E-mail: bino@saske.sk

KONTAMINÁCIA MÄSA A MÄSOVÝCH VÝROBKOV MIKROPLASTMI: ZDROJE, MECHANIZMY A ZDRAVOTNÉ DÔSLEDKY

CONTAMINATION OF MEAT AND MEAT PRODUCTS WITH MICROPLASTS: SOURCES, MECHANISMS AND HEALTH CONSEQUENCES

Čurlej Jozef, Zajác Peter, Čapla Jozef

Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda A.Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika

ABSTRACT

Plastic contamination in food has become a growing concern, with microplastic and nanoplastic fragments being increasingly detected in meat and meat products. This review explores the pathways through which plastic fragments infiltratDe meat, emphasizing three primary contamination sources: cutting boards, packaging materials, and livestock feed. Plastic cutting boards, particularly those made of polyethylene and polypropylene, release significant quantities of microplastics during meat processing, contributing to contamination at the retail and household levels. Additionally, extruded polystyrene trays and synthetic fibers from meat packaging have been identified as another major source of plastic contamination, with fragments migrating from the packaging to the meat surface. Beyond post-slaughter contamination, evidence suggests that plastic particles are ingested by livestock through contaminated feed and water, leading to accumulation in tissues, milk, and blood, raising concerns about long-term bioaccumulation in the human diet. The potential health risks associated with ingesting these plastic fragments remain largely uncertain, though emerging research indicates possible gut microbiota disruption, chemical leaching, and systemic toxicity. This review also discusses existing regulatory gaps, highlights mitigation strategies such as alternative packaging materials and safer food processing practices, and identifies future research priorities to address the risks associated with plastic contamination in meat products.

Key words: microplastics, meat contamination, cutting boards, packaging materials, food safety

ÚVOD

Kontaminácia potravín plastmi bola identifikovaná ako závažný problém, najmä pokiaľ ide o prítomnosť mikroplastov a nanoplastov v mäse a mäsových výrobkoch. Rozšírené využívanie plastov naprieč potravinového reťazca, od nástrojov na spracovanie cez obaly až po krmivá pre zvieratá, vedie k prestupu plastových fragmentov do potravinárskych produktov.

Viaceré nedávno realizované štúdie potvrdili, že plastové dosky na krájanie, bežne používané pri príprave potravín, sú priamym zdrojom kontaminácie mäsa mikroplastmi, čím významne prispievajú k podielu plastových fragmentov nachádzajúcich sa v potravinových produktoch (Habib et al., 2022a; Yadav et al., 2023). Navyše, potravinové obalové materiály z extrudovaného polystyrénu, ktoré sa vo veľkej miere využívajú na balenie mäsa, boli identifikované ako ďalší významný zdroj kontaminácie, keďže plastové častice sa uvoľňujú z obalových materiálov a priľnú na povrch mäsa (Kedzierski et al., 2020). Okrem priamej kontaminácie počas spracovania potravín existujú dôkazy o tom, že hospodárske zvieratá sú vystavené plastom prostredníctvom kontaminovaného krmiva, vody a environmentálnych zdrojov, čo vyvoláva obavy z bioakumulácie plastových častíc v poživateľných tkanivách, mlieku a krvi hospodárskych zvierat (van der Veen et al., 2022; Mamun, 2024). Mikroplasty, definované ako plastové častice menšie ako 5 mm, pochádzajú z rôznych zdrojov, vrátane degradácie väčších plastových materiálov, uvoľňovania z bežných spotrebiteľských výrobkov a priemyselného znečistenia (Mamun, 2024). Tieto fragmenty sú dnes považované za perzistentné kontaminujúce látky v potravinovom reťazci, čo vyvoláva obavy v súvislosti s ich potenciálnymi zdravotnými účinkami na ľudí. Prítomnosť mikroplastov v krmive pre hospodárske zvieratá poukazuje na to, že ku konzumácii plastmi nemusí dochádzať až pri porážke a následnom spracovaní. Van der Veen et al. (2022) identifikovali polyetylén (PE), polystyrén (PS) a polyvinylchlorid (PVC) ako dominantné plastové polyméry prítomné v krvi, mlieku a mäse hospodárskych zvierat, čo je dôkazom toho, že plastmi kontaminované krmivo je priamou cestou prenosu mikroplastov z farmy do potravinového reťazca. Podobné výsledky uvádza Mamun (2024), ktorý poukazuje na rozsiahly vplyv plastovej kontaminácie na zdravie zvierat, reprodukčnú efektivitu a mikrobiálnu rezistenciu. Po požití sa mikroplasty môžu hromadiť v tkanivách zvierat, čo môže viesť k systémovému zápalu, oxidačnému stresu a toxikologickým účinkom, ktoré sa môžu následne preniesť na konzumentov takto ovplyvnenej produkcie. Hromadenie mikroplastov v mäsových produktoch je v dnešnej dobe už pomerne dobre zdokumentované. Vzorky hovädzieho a bravčového mäsa z fariem a supermarketov obsahovali plastové polyméry v detekovateľných koncentráciách, pričom hladiny PE v hovädzom mäse sa pohybovali od 150 do viac ako 7700 µg/g u bravčového mäsa medzi 88 a 690 µg/g (Khan et al., 2024). Iná štúdia hodnotiaca koncentrácie mikroplastov vo vzorkách krvi hospodárskych zvierat potvrdila prítomnosť PVC, PE a styrénových polymérov u 100 % testovaných kráv a ošípaných, čím prináša ďalšie priame dôkazy o expozícii hospodárskych zvierat plastom (Jeong et al., 2024). Ďalšie dôkazy o prítomnosti mikroplastových častíc v mlieku živých zvierat poukazujú na prenos týchto častíc z krvného obehu, čím je deklarovaná rizikovosť z pohľadu celo-systémovej intoxikácie organizmu (Heo,et al., 2024). Okrem

kontaminácie krmiva k mikroplastovej kontaminácii významne prispievajú aj metódy spracovania a balenia mäsa. Viaceré štúdie preukázali, že plastové častice sa uvoľňujú z polypropylénových a polyetylénových dosiek určených na krájanie, sekanie a prípravu potravín (Yadav et al., 2023; Habib et al., 2022b). Pôsobením noža na plastový povrch dosky dochádza k uvoľňovaniu mikroskopických plastových fragmentov, ktoré kontaminujú mäso. Podobne v maloobchodnom predaji bežne používané obalové materiály vyrobené z extrudovaného polystyrénu boli identifikované ako zdroj kontaminácie, nakoľko uvoľňujú plastové častice do baleného mäsa, ktoré nemusia byť odstránené umytím a následnou úpravou (Kedzierski et al., 2020). Tieto cesty kontaminácie zdôrazňujú naliehavosť riešenia plastovej kontaminácie v procese manipulácie s potravinami s cieľom znížiť expozíciu človeka mikroplastom. Napriek narastajúcim dôkazom o prítomnosti mikroplastov v mäse a mäsových výrobkoch ostávajú dlhodobé zdravotné účinky konzumácie týchto častíc stále do veľkej miery neidentifikované. V súčasnosti publikovaný výskum naznačuje, že mikroplasty môžu pôsobiť ako nosiče nebezpečných chemických látok, vrátane endokrinných disruptorov, ťažkých kovov a perzistentných organických polutantov, ktoré sa môžu uvoľňovať do potravín a predstavovať toxikologické riziká (Mamun, 2024). Okrem toho nedávne štúdie identifikovali asociáciu konzumácie mikroplastov s dysbalancom črevnej mikrobioty, so zmenami v imunitnom systéme a zvýšenou priepustnosťou gastrointestinálneho traktu, čo môže významne negatívne pôsobiť na ľudské zdravie (van der Veen et al., 2022). Vzhľadom na uvedené riziká regulačné orgány začali vyzdvihovať potrebu zavádzania prísnejších kontrol používania plastov pri výrobe a balení potravín či štandardizovaných metodík na odhaľovanie ich prítomnosti.

Cieľom tejto štúdie je zhrnutie súčasných poznatkov o cestách kontaminácie mäsa a mäsových výrobkov plastovými fragmentmi, pričom zdôrazňuje kľúčové zdroje a mechanizmy kontaminácie, vrátane možných zdravotných následkov. Zároveň navrhuje regulačné opatrenia na minimalizáciu plastovej kontaminácie mäsa s cieľom zvýšiť bezpečnosť potravín a znížiť riziká pre verejné zdravie.

1 ZDROJE KONTAMINÁCIE PLASTOVÝMI FRAGMENTAMI

1.1 Krájacie dosky a nástroje ako zdroj kontaminácie

Plastové dosky na krájanie boli identifikované ako významný a často prehliadaný zdroj mikroplastovej kontaminácie mäsa a iných potravinových produktov. Počas prípravy dochádza k mechanickému oderu pôsobením nožov a iných rezných nástrojov, čo vedie k uvoľňovaniu mikroplastových častíc, ktoré sa následne môžu prenášať na spracovávané potraviny (Yadav et al., 2023; Habib et al., 2022a). Rozsah kontaminácie závisí od viacerých faktorov, vrátane materiálu dosky na krájanie, techniky krájania, ostrosti noža a dĺžky používania (Rochman et

al., 2015). Publikované štúdie v tomto smere poukazujú na to, že najčastejšie používané krájacie dosky v domácnostiach či pri komerčnom využití sú vyrobené z polypropylénu a polyetylénu, pričom tieto materiály sú náchylné na degradáciu a uvoľňovanie mikroplastov (Yadav et al., 2023). Autori ďalej uvádzajú, že sekanie na polypropylénových doskách spôsobuje výrazne vyššie uvoľňovanie mikroplastov (až 79,4 milióna mikroplastových častíc za rok) v porovnaní s polyetylénovými doskami (14,5 až 71,9 milióna častíc za rok), pričom úroveň kontaminácie môže dosiahnuťaž 50,7 g mikroplastov na osobu ročne. Zároveň množstvo uvoľnených častíc a ich hmotnosť sa zvyšuje opakovaným používaním krájacích dosiek. Opakované krájanie na rovnakých misteach dosky vytvára hlboké drážky, ktoré ešte viac zvyšujú fragmentáciu plastu v priebehu času (Habib et al., 2022b; Mason et al., 2018). Yadav et al. (2023) ďalej uvádzajú, že množstvo uvoľnených mikroplastov závisí od typu krájanej potraviny, kde štruktúra potravín a obsah vody môžu ovplyvňovať mieru opotrebovania plastových povrchov (Yadav et al., 2023). Štúdia Habib et al. (2022a) potvrdzuje tieto zistenia analýzou vzoriek surového mäsa, pričom odhalila prítomnosť polyetylénových mikroplastových častíc v mäse v dôsledku oderu z plastových dosiek na krájanie. Detegované mikroplastové častice mali priemernú veľkosť 1279,2 ± 835,0 µm, čo poukazuje na pomerne široký rozsah vo veľkosti fragmentov v porovnaní s mikroplastmi pochádzajúcimi z iných zdrojov, ako sú plastové obaly alebo environmentálne znečistenie. Realizované štúdie zároveň poukazujú na to, že dosky na krájanie vyrobené z plastu predstavujú priamy a okamžitý zdroj kontaminácie počas spracovania mäsa (Habib et al., 2022b). Umývanie a varenie mäsa sa považujú za stratégie pre zníženie mikroplastovej kontaminácie, avšak len ako čiastočne účinné praktiky. V tomto smere Habib et al. (2022a) uvádzajú, že krátkodobé oplachovanie mäsa (10 sekúnd) neviedlo k významnému zníženiu kontaminácie mikroplastmi a iba dôkladné umývanie (trvajúce 3 minúty alebo dlhšie) malo významný účinok, pričom úroveň kontaminácie klesla na 0,07 mikroplastovej častice na gram mäsa. Napriek dôkladnému umývaniu nebolo dosiahnuté úplné odstránenie mikroplastových fragmentov, čo podporuje opodstatnenosť obáv z expozície mikroplastom prostredníctvom potravy. Navyše, mikroplasty, ktoré sa pri varení alebo vyprážaní roztavia, môžu pri ochladení vytvárať zmenené polymérne štruktúry, ktoré zostávajú v mäse (Habib et al., 2022a). Tento fenomén poukazuje na to, že tepelná úprava nemusí eliminovať mikroplastovú kontamináciu, môže však meniť fyzikálno-chemické vlastnosti plastu, čím môže ovplyvniť jeho interakciu s organizmom konzumenta. Identifikácia plastových dosiek na krájanie ako primárneho zdroja mikroplastovej kontaminácie mäsa zdôrazňuje potrebu zlepšenia bezpečnostných opatrení pri manipulácii s potravinami a zavedenia prísnejších regulačných opatrení. Dosky na krájanie vyrobené z plastu sú síce široko používané pre svoju dostupnosť, trvanlivosť a jednoduchú údržbu, avšak ich tendencia uvoľňovať plastové

fragmenty do potravín vyvoláva vážne zdravotné obavy. Konzumácia mikroplastov pochádzajúcich z dosiek na krájanie predstavuje z dlhodobého hľadiska chronickú expozíciu, keďže tieto nástroje sú každodenne používané pri príprave jedál (Yadav et al., 2023). Vzhľadom na rastúce dôkazy o konzumácii mikroplastov a ich potenciálnych zdravotných rizikách boli ako bezpečnejšie alternatívy navrhnuté materiály, ako sú drevené dosky na krájanie alebo kompozitné materiály s nižšou mierou oderu. Napriek tomu je potrebný ďalší výskum na posúdenie dlhodobých následkov expozície mikroplastom z dosiek na krájanie a na vývoj bezpečnejších materiálov pre kontakt s potravinami, ktoré minimalizujú kontamináciu (Boucher a Friot, 2017).

Nože a ďalšie rezné nástroje zohrávajú kľúčovú úlohu pri spracovaní mäsa, nedávne výskumy identifikovali tieto nástroje ako významný zdroj mikroplastovej kontaminácie. Oder plastových rukovätí a plastom potiahnutých čepelí v dôsledku mechanického opotrebovania vedie k uvoľňovaniu mikroplastových fragmentov do spracovávaných potravín (Kedzierski et al., 2020). Miera uvoľňovania mikroplastov z nožov a iných rezných nástrojov závisí od viacerých faktorov, vrátane zloženia plastovej rukoväte, frekvencie používania a spôsobov čistenia. Polyetylén a polypropylén sú bežne používané na výrobu rukovätí nožov pre ich vysokú odolnosť, avšak publikované štúdie zistili, že neustále mechanické namáhanie vedie k postupnej fragmentácii, pri ktorej sa uvoľňujú mikroplastové častice s veľkosťou od 10 do 500 µm (Mason et al., 2018). Tieto častice následne priľnú na povrch mäsa a sú ťažko odstrániteľné bežnými postupmi umývania (Daniel et al., 2021). Štúdie uskutočnené v podnikoch na spracovanie mäsa preukázali, že opakované rezy a mechanické trenie výrazne zvyšujú množstvo mikroplastových fragmentov uvoľnených do mäsových produktov (Habib et al., 2022a). Expozícia plastových rukovätí nožov vysokým teplotám a chemickým čistiacim prostriedkom urýchľuje ich degradáciu, čo prispieva k uvoľňovaniu mikroplastových častíc (Prata, 2018). Snaha o zníženie mikroplastovej kontaminácie z nožov a iných rezných nástrojov zahŕňa prechod na alternatívne materiály rukovätí, ako sú drevo, nehrdzavejúca oceľ a keramické materiály. Niektorí výrobcovia zaviedli spevnené plastové rukoväte s vysokou odolnosťou voči opotrebovaniu, avšak ich dlhodobá rezistencia je predmetom rozsiahlejšieho výskumu (Luqman et al., 2021).

1.2 Obalové materiály ako zdroj kontaminácie

Plastové obaly sú v mäsovom priemysle široko používané pre svoju odolnosť, nízku hmotnosť a schopnosť predĺžiť trvanlivosť mäsa tým, že vytvárajú bariéru proti environmentálnym faktorom. Avšak, rôzne publikované štúdie čoraz častejšie poukazujú na to, že tieto obalové materiály významne prispievajú ku kontaminácii mäsových produktov mikroplastovými fragmentmi. Tento proces je ovplyvnený faktormi, ako sú zloženie obalového materiálu, podmienky skladovania či mechanický stres počas prepravy a manipulácie (Kedzierski et al., 2020). Predĺžený kontakt medzi mäsom a plastovým obalom zvyšuje riziko akumulácie mikroplastov. Vyššie teploty počas skladovania a prepravy podporujú degradáciu plastových polymérov, čo vedie k intenzívnejšiemu uvoľňovaniu mikroplastov (Mathlouthi, 1994). mechanické interakcie definované trením medzi mäsom a plastovými táckami počas manipulácie a prepravy rovnako prispievajú k prenosu plastových častíc (Schymanski et al., 2018). Medzi najbežnejšie používané obalové materiály patria materiály vyrobené z extrudovaného polystyrénu (XPS), ktoré boli identifikované ako významný zdroj mikroplastovej kontaminácie baleného mäsa. Štúdia analyzujúca mäso balené v polystyrénových táckach zistila, že úroveň mikroplastovej kontaminácie sa pohybovala v rozmedzí od 4,0 do 18,7 MP - XPS/kg mäsa, pričom častice boli detegované na vnútorných aj vonkajších stranách tacky (McNeill et al., 1990). Uvedená štúdia ďalej poukazuje, že plastové fragmenty identifikované vo vzorkách mäsa zodpovedali zloženiu XPS tácky, čo jednoznačne poukazuje na priamu kontamináciu z obalového materiálu. Okrem povrchovej kontaminácie, mikroplastové fragmenty boli integrované v povrchovej vrstve mäsa, čo ich robí ťažko odstrániteľnými jednoduchým opláchnutím (Schymanski et al., 2018). Niektoré štúdie posudzujúce zdravotné riziká uvádzajú, že styrenové monoméry uvoľňované z XPS obalov môžu predstavovať endokrinné a karcinogénne riziko, hoci na úplné posúdenie potenciálnej toxicity týchto látok je potrebný ďalší výskum (Rist et al., 2018). Okrem pevných plastových častíc predstavuje ďalší kritický problém plastových obalov pri mäse kontaminácia syntetickými vláknami, ktoré môžu pochádzať z fólií a vonkajších vrstiev obalu. Tieto vlákna, často zložené z polyetyléntereftalátu alebo polypropylénu, sa môžu oddeľovať v dôsledku mechanického namáhania alebo interakcií a priľnúť na povrch mäsa (Mason et al., 2018). Rozsiahla analýza baleného mäsa odhalila, že okrem mikroplastových fragmentov sa vo vzorkách mäsa často nachádzali aj syntetické vlákna, čo naznačuje, že obalové materiály predstavujú priame aj nepriame zdroje plastovej kontaminácie mäsových produktov (Boucher a Friot, 2017). Jedným z problémov pri riešení mikroplastovej kontaminácie pochádzajúcej z obalov u mäsa je obtiažnosť ich odstránenia umývaním alebo tepelnou úpravou. Dostupné štúdie poukázali, že opláchnutie mäsa vodou pred prípravou je často neúčinné pri eliminácii

mikroplastových fragmentov aj z vyššie uvedených dôvodov, navyše, varenie plastové častice nerozkladá, miesto toho môže viesť k ich chemickej zmene alebo hlbšej migrácii do štruktúry mäsa (McNeill et al., 1990), teda plastové častice z obalov zostávajú prítomné aj v konečnom produkte určenom na spotrebu. Uvedené zistenia poukazujú na naliehavú potrebu prijímania prísnejších regulácií v používaní plastových obalov pre potravinové produkty, ako aj na vývoj bezpečnejších, biologicky odbúrateľných obalových riešení, ktoré minimalizujú migráciu mikroplastov do mäsa (Oßmann et al., 2018).

1.3 Poľnohospodárska prvovýroba ako vektor kontaminácie

Kontaminácia krmív pre hospodárske zvieratá plastami bola identifikovaná ako významný zdroj príjmu mikroplastov hospodárskymi zvieratami, čo vedie k následnej kontaminácii mäsa, mlieka a ďalších živočíšnych produktov. Štúdie realizované v tejto oblasti potvrdzujú, že rôzne plastové polyméry, vrátane polyvinylchloridu (PVC), polyetylénu (PE), polypropylénu (PP), polystyrénu (PS) a polymetylmetakrylátu (PMMA), sa bežne nachádzajú vo vzorkách krmiva pre zvieratá (van der Veen et al., 2022; Jeong et al., 2024). Jedným z hlavných dôvodov mikroplastovej kontaminácie v krmive je nesprávna manipulácia a skladovanie. Holandský úrad pre bezpečnosť potravín uvádza, že poľnohospodári často nechávajú plastové obaly prichytené na siláži alebo balíkoch sena, čím sú zvieratá priamo vystavené požitiu plastov (Food Safety Authority of the Netherlands, 2019). Okrem plastových obalov dochádza ku kontaminácii mikroplastmi aj počas priemyselnej výroby krmiva, najmä v prípade peletovaného krmiva, ktoré prechádza rozsiahlym procesom drvenia, miešania a extrúzie. Štúdia zaoberajúca sa analýzou krmiva pre hospodárske zvieratá zistila, že hodnoty kontaminácie PVC sa pohybovali v rozmedzí od 339 do viac ako 2600 $\mu g.g^{-1}$, PE od 223 do 2400 $\mu g.g^{-1}$ a polyméry styrénu boli detegované v koncentráciách medzi 39 a 740 $\mu g.g^{-1}$. U vzoriek čerstvého krmiva v danej štúdii (napr. tráva) nebola zistená žiadna detekovateľná mikroplastová kontaminácia, čo zdôrazňuje úlohu priemyselného spracovania ako kľúčového zdroja kontaminácie (an der Veen et al., 2022). Vzhľadom na uvedené riziká sú nevyhnutné prísnejšie regulácie pri spracovaní krmiva a výrobe obalov pre krmivá.

Kontaminácia organizmu hospodárskych zvierat mikroplastmi je v súčasnej dobe dokumentovaným procesom, Výskum realizovaný v tejto oblasti preukázal, že plastové častice prítomné v krmive môžu byť absorbované do krvného obehu hospodárskych zvierat (Leslie et al., 2022). Prítomnosť mikroplastov v krvi je kľúčovým indikátorom systémovej expozície, keďže krv transportuje tieto častice po celom tele, čo môže viesť k ich akumulácii v orgánoch, ako sú pečeň a obličky (Deng et al., 2017). Štúdia analyzujúca krv ošípaných a hovädzieho dobytka zistila prítomnosť plastových častíc v 100 % testovaných vzoriek, pričom najčastejšie

detegovanými polymérmi boli polyetylén, polystyrén a polyvinylchlorid (Dong et al., 2021). Uvedené zistenia prinášajú reálne obavy o prenose mikroplastov z krmiva zvierat až do potravinových produktov. Iná štúdia prináša zistenia o prítomnosti plastových častíc v 75 % vzoriek hovädzieho a bravčového mäsa, čo potvrdzuje obavy, že mikroplasty môžu pretrvávať v tkanivách zvierat a následne byť konzumované ľuďmi (Mamun et al., 2023). Zdravotné dôsledky expozície hospodárskych zvierat mikroplastom sú stále predmetom výskumu. Viacerí autori uvádzajú, že chronická expozícia môže viesť k zápalovým reakciám, oxidačnému stresu či narušenej absorpcii živín. Ďalej, publikované laboratórne štúdie preukázali, že príjem mikroplastov mení zloženie črevnej mikrobioty a ovplyvňuje imunitný systém zvierat, čo môže mať dlhodobé následky na zdravie a produktivitu hospodárskych zvierat (Lu et al., 2018). Okrem vyššie uvedených priamych rizik, plastové častice môžu slúžiť ako nosiče toxických látok, ako sú ťažké kovy a perzistentné organické polutanty, ktoré môžu zvýšiť riziko intoxikácie u exponovaných zvierat (Leslie et al., 2022). Budúci výskum mal by sa zamerať na kvantifikáciu retencie mikroplastov v rôznych živočíšnych tkanivách, pochopenie dlhodobých zdravotných aspektov a posúdenie potenciálnych rizík pre ľudí pri konzumácii mäsa a mliečnych výrobkov (Deng et al., 2017).

2. REGULAČNÉ OPATRENIA A STRATÉGIE NA ZNÍŽENIE KONTAMINÁCIE

2.1 Súčasné regulačné opatrenia týkajúce sa plastovej kontaminácie v potravinách

Regulačné opatrenia súvisiace s kontamináciou potravín mikroplastmi sa v jednotlivých krajinách výrazne líšia. Európska únia (EÚ) zaviedla regulácie týkajúce sa materiálov prichádzajúcich do styku s potravinami, so stanovením migračných limitov, avšak explicitné prahové hodnoty pre mikroplastovú kontamináciu zostávajú zatiaľ nedefinované (PlasticsEurope, 2018). Podobne aj Úrad pre kontrolu potravín a liečiv v USA (FDA) reguluje bezpečnosť potravinových obalov, so zameraním najmä na chemickú migráciu, avšak nevenuje pozornosť prítomnosti mikroplastových častíc v potravinách, čo vytvára významnú regulačnú medzeru (Baner, 2000). Napriek týmto snahám sa súčasné politiky primárne zameriavajú na chemické zložky v plastoch, zatiaľ čo fyzická prítomnosť mikroplastových častíc v potravinových produktoch ostáva nedostatočne regulovaná (Mathlouthi, 1994). Jedným z hlavných problémov pri presadzovaní regulácií týkajúcich sa mikroplastovej kontaminácie je nedostatok štandardizovaných metód detekcie, čo sťažuje účinné monitorovanie dodržiavania predpisov (PlasticsEurope, 2012). Regionálne rozdiely v regulačných prístupoch ešte viac komplikujú presadzovanie týchto noriem, niektoré krajiny zaviedli prísne štandardy pre obalové materiály, zatiaľ čo iné nemajú explicitné smernice týkajúce sa migrácie mikroplastov (Oßmann et al., 2018). Napríklad krajiny ako Nemecko a Francúzsko zaviedli zákaz používania

určitých plastových materiálov v potravinových obaloch, avšak širšie medzinárodné regulácie na obmedzenie expozície mikroplastom zostávajú nejednotné a fragmentované (Lange a Wyser, 2003). Vedecké štúdie realizované.v súčasnosti poukazuujú na to, že mikroplasty v potravinách, balených nápojoch a spracovaných mäsových produktoch nepochádzajú len z obalov, ale aj z priemyselného spracovania a prepravy (Schymanski et al., 2018). Súčasné zákony o bezpečnosti potravín však často prehliadajú sekundárne zdroje plastovej kontaminácie a zameriavajú sa predovšetkým na primárne obalové materiály. Navyše, regulačné orgány zatiaľ nestanovili bezpečné limity konzumácie mikroplastov, čo ponecháva otvorené otázky týkajúce sa dlhodobých zdravotných rizík spojených s ich príjmom (Rist et al., 2018). Na riešenie týchto nedostatkov musia regulačné orgány vyvinúť harmonizované medzinárodné normy pre mikroplastovú kontamináciu potravín, vrátane jednotných testovacích protokolov a právne záväzných limitov pre obsah mikroplastov v balených potravinových produktoch. Posilnenie cezhraničnej regulačnej spolupráce a zvýšenie zodpovednosti potravinárskeho priemyslu prostredníctvom povinného hlásenia rizík plastovej kontaminácie by mohlo zlepšiť opatrenia na presadzovanie predpisov (McNeill et al., 1990). Okrem toho investície do alternatívnych biologicky odbúrateľných obalových riešení a inovácií v oblasti materiálov bezpečných pre kontakt s potravinami by mohli pomôcť znížiť celkovú expozíciu plastom v potravinových reťazcoch, pričom by boli v súlade s cieľmi udržateľnosti (Baner, 2000).

2.2 Smerovanie výskumu a legislatívy

Kontaminácia mäsa a mäsových výrobkov mikroplastmi si vyžaduje presné metódy detekcie a kvantifikácie na posúdenie potenciálnych rizík pre ľudské zdravie. Využíva sa viacero analytických techník, pričom medzi najbežnejšie patria Fourierova transformovaná infračervená spektroskopia (FTIR) a Ramanova spektroskopia, ktoré umožňujú identifikáciu plastových častíc na základe ich chemického zloženia. FTIR v režime zoslabenej úplnej reflexie (ATR) umožňuje priamu identifikáciu polymérov v mäsových vzorkách bez potreby zložitej prípravy vzoriek, zatiaľ čo Ramanova spektroskopia poskytuje vyššie rozlíšenie na detekciu menších mikroplastov integrovaných v tkanivách (Zhou et al., 2022). Identifikácia morfológie mikroplastov sa vykonáva pomocou stereoskopickej a elektrónovej mikroskopie, ktoré umožňujú určiť veľkosť a povrchové vlastnosti častíc. Tieto metódy však neposkytujú chemickú špecifikáciu, preto si presná identifikácia polymérov vyžaduje spektroskopické analýzy (Schindelin et al., 2012). Na kvantifikáciu mikroplastovej kontaminácie vo vzorkách potravín sa bežne využíva softvér na analýzu obrazu, ktorý poskytuje cenné informácie o úrovni kontaminácie mäsa (Schneider et al., 2012). Na detekciu plastových fragmentov v mäse sa používajú aj analytické metódy, ako je pyrolýzna plynová chromatografa s hmotnostným

spektrometrom (Py-GC/MS). Táto technika umožňuje rozklad mikroplastových častíc na špecifické zložky, čo umožňuje presnú identifikáciu polymérov (polyetylén, polypropylén a polystyrén) (Dawson et al., 2018). Diferenciálna skenovacia kalorimetria (DSC) sa využíva na analýzu mikroplastov ovplyvnených pôsobením tepla, čo umožňuje detekciu polymérov u kontaminovaných mäsových produktoch (Mourad, 2010). Napriek účinnosti týchto metód aktuálne sú výzvy pri štandardizácii detekčných protokolov naprieč laboratóriami. Rozdiely v technikách prípravy vzoriek, použitej metóde detekcie a citlivosti prístrojov môžu viesť k variabilite výsledkov zistenej kontaminácie. Nedávne štúdie v tomto smere poukazujú na to, že integrácia hyperspektrálneho zobrazovania a spektroskopie založenej na strojovom učení by mohla zlepšiť presnosť detekcie a umožniť identifikáciu mikroplastov v reálnom čase v komplexných potravinových matriciach (Cella et al., 2022). Zavedenie štandardizovaných metodík na detekciu mikroplastov v mäsových produktoch je teda nevyhnutné na zabezpečenie spoľahlivého hodnotenia rizík pre spotrebiteľov.

ZÁVER

Kontaminácia produkcie mäsa mikroplastami ostáva pretrvávajúcim problémom. Súčasná legislatíva sa primárne zameriava na riadenie plastového odpadu než na špecifickú kontamináciu potravinových produktov. Európska únia podnikla kroky na reguláciu mikroplastov prostredníctvom obmedzenia úmyselne pridávaných mikroplastov v rámci nariadenia REACH, ktoré obmedzuje ich použitie v priemyselných aplikáciách, avšak priamo neupravuje mikroplasty pochádzajúce zo spracovania potravín alebo obalových materiálov (European Chemicals Agency, 2019). V potravinárskom priemysle stanovujú predpisy Európskej únie o materiáloch prichádzajúcich do styku s potravinami nariadenie (ES) č. 1935/2004 a špecifické opatrenia týkajúce sa plastov, ako nariadenie (EÚ) č. 10/2011, bezpečnostné kritériá pre používanie plastov v obaloch potravín, avšak nevenujú sa migrácii mikroplastov do mäsových produktov (EC, 2004; EC, 2011). Podobne aj Úrad pre kontrolu potravín a liečiv v USA (FDA) stanovil limity pre nepriame potravinové aditíva, avšak neexistujú žiadne konkrétne politiky týkajúce sa prítomnosti mikroplastov v spracovanom mäse alebo krmive pre zvieratá (FDA, 2024). Kritická medzera v regulácii sa týka aj dosiek na krájanie vyrobených z plastu a ďalších nástrojov používaných v mäsovom priemysle. Výskumy realizované v súčasnosti poukazujú na to, že dosky na krájanie z plastu významne prispievajú k mikroplastovej kontaminácii, avšak doposiaľ neexistujú žiadne regulačné opatrenia, ktoré by vyžadovali používanie alternatívnych materiálov s nižšou mierou opotrebovania, ako sú sklo, nehrdzavejúca oceľ alebo sklokeramické dosky (EC, 2004). Zavedenie politík, ktoré by podporovali používanie neplastových alebo materiálov s nízkym indexom oteru v

potravinárskom spracovaní, by mohlo výrazne znížiť úroveň kontaminácie. Ďalšou regulačnou potrebou je štandardizácia metód detekcie mikroplastov v mäsových produktoch. V súčasnosti neexistuje medzinárodne akceptovaná metóda na kvantifikáciu mikroplastovej kontaminácie v potravinách, čo vedie k rozdielom v hodnoteniach rizík a komplikáciám pri presadzovaní predpisov (ECHA, 2019). Zavedenie jednotného prístupu, ktorý by potenciálne integroval pokročilé techniky, ako sú pyrolýzna plynová chromatografa s hmotnostným spektrometrom a Ramanova spektroskopia, by zvýšilo spoľahlivosť monitorovania kontaminácie na rôznych trhoch (EC, 2011). Dôležitú úlohu v tvorbe politík zohráva aj povedomie verejnosti a spotrebiteľská angažovanosť. Publikované štúdie poukazujú, že dopyt spotrebiteľov po potravinách bez plastov už viedol k zmenám na trhu, avšak regulačné orgány musia tieto snahy podporiť zavedením jasnejších požiadaviek na označovanie a transparentnosť týkajúcu sa expozície plastom v potravinách (FDA, 2024). Politiky podporujúce používanie biologicky odbúrateľných alebo kompostovateľných obalov spolu s peňažnými stimulmi pre udržateľné alternatívy by mohli podporiť prijatie bezpečnejších materiálov v priemysle. Okrem potravín samotných, nevyhnutné sú prísnejšie kontroly mikroplastovej kontaminácie v krmivách pre hospodárske zvieratá, keďže štúdie preukázali, že plastové fragmenty v krmivách prispievajú k ich bioakumulácii v mäsových a mliečnych produktoch (ECHA, 2019). Regulačné orgány by mali presadzovať prísnejšie normy pre bezpečnosť krmív, ktoré by vyžadovali, aby výrobcovia eliminovali plastové komponenty a zabezpečili správne nakladanie s obalovými materiálmi. Okrem oblasti výskumu zameraného na zisťovanie ptítomnosti plastových fragmentov v potravinách či krmivách, súčasne je nevyhnutné posudzovanie ich zdravotného rizika, aj s ohľadom na nastavenia budúcich legislatívnych noriem. Doposiaľ pretrvávajú významné medzery v poznatkoch týkajúcich sa ich vplyvu na ľudskú fyziológiu. Budúci výskum by sa mal prioritne zamerať na pochopenie toho, ako mikroplasty interagujú s biologickými systémami, či sú schopné prekročiť črevnú bariéru a aké môžu byť ich potenciálne účinky na kľúčové orgány, ako sú pečeň, obličky a mozog. Okrem toho sú potrebné epidemiologické štúdie na posúdenie toho, či dlhodobá expozícia mikroplastom prostredníctvom potravy koreluje so zvýšeným rizikom metabolických porúch, porúch imunitného systému alebo chronických zápalových ochorení.

V závere možno konštatovať, že riešenie mikroplastovej kontaminácie v produkcii mäsa si vyžaduje komplexné reformy politík, vrátane prísnejších regulácií materiálov, štandardizovaných metodík detekcie a posilnenia ochrany spotrebiteľov. Bez regulačných zásahov bude mikroplastová kontaminácia naďalej predstavovať riziko pre bezpečnosť potravín a verejné zdravie.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu vedy a výskumu, projekt č. APVV-23-0036 – Optimalizácia detekčných metód na prítomnosť mikroplastov v potravinách.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Baner, A. L. (2000). Partition coefficients. In Plastic Packaging Materials for Food (pp. 79–123). Wiley. https://doi.org/10.1002/9783527613281.ch04
2. Boucher, J., & Friot, D. (2017). Primary microplastics in the oceans: A global evaluation of sources. IUCN International Union for Conservation of Nature. https://doi.org/10.2305/iucn.ch.2017.01.en
3. Cella, C., La Spina, R., Mehn, D., Fumagalli, F., Ceccone, G., Valsesia, A., & Gilliland, D. (2022). Detecting Micro- and Nanoplastics Released from Food Packaging: Challenges and Analytical Strategies. In Polymers (Vol. 14, Issue 6, p. 1238). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/polym14061238
4. Daniel, D. B., Ashraf, P. M., Thomas, S. N., & Thomson, K. T. (2021). Microplastics in the edible tissues of shellfishes sold for human consumption. In Chemosphere (Vol. 264, p. 128554). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128554
5. Dawson, A. L., Kawaguchi, S., King, C. K., Townsend, K. A., King, R., Huston, W. M., & Bengtson Nash, S. M. (2018). Turning microplastics into nanoplastics through digestive fragmentation by Antarctic krill. In Nature Communications (Vol. 9, Issue 1). Springer Science and Business Media LLC. https://doi.org/10.1038/s41467-018-03465-9
6. Deng, Y., Zhang, Y., Lemos, B., & Ren, H. (2017). Tissue accumulation of microplastics in mice and biomarker responses suggest widespread health risks of exposure. In Scientific Reports (Vol. 7, Issue 1). Springer Science and Business Media LLC. https://doi.org/10.1038/srep46687
7. Dong, H., Chen, Y., Wang, J., Zhang, Y., Zhang, P., Li, X., Zou, J., & Zhou, A. (2021). Interactions of microplastics and antibiotic resistance genes and their effects on the aquaculture environments. In Journal of Hazardous Materials (Vol. 403, p. 123961). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123961
8. EC. European Commission. (2004). *Regulation (EC) No 1935/2004 of the European Parliament and of the Council of 27 October 2004 on materials and articles intended to come into contact with food*. https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32004R1935

9. EC. European Commission. (2011). *Commission Regulation (EU) No 10/2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food*. https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32011R0010
10. ECHA. European Chemicals Agency. (2019). *REACH Restriction on Intentionally Added Microplastics*. https://echa.europa.eu/
11. FDA. U.S. Food and Drug Administration. (2024). *Microplastics and Nanoplastics in Foods* https://www.fda.gov/food/environmental-contaminants-food/microplastics-and-nanoplastics-foods
12. Food Safety Authority of the Netherlands (NVWA) (2019). Advice on PFOA and GenX in food *NVWA Report*. https://english.nvwa.nl/documents/consumers/food/safety/documents/advice-on-pfoa-and-genx-in-food
13. Habib, R. Z., Kindi, R. A., Salem, F. A., Kittaneh, W. F., Poulose, V., Iftikhar, S. H., Mourad, A.-H. I., & Thiemann, T. (2022a). Microplastic Contamination of Chicken Meat and Fish through Plastic Cutting Boards. In International Journal of Environmental Research and Public Health (Vol. 19, Issue 20, p. 13442). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/ijerph192013442
14. Habib, R. Z., Poulose, V., Alsaidi, R., al Kendi, R., Iftikhar, S. H., Mourad, A.-H. I., Kittaneh, W. F., & Thiemann, T. (2022b). Plastic cutting boards as a source of microplastics in meat. In Food Additives & Contaminants: Part A (Vol. 39, Issue 3, pp. 609-619). Informa UK Limited. https://doi.org/10.1080/19440049.2021.2017002
15. Heo, S. J., Moon, N., & Kim, J. H. (2024). A systematic review and quality assessment of estimated daily intake of microplastics through food. In Reviews on Environmental Health. Walter de Gruyter GmbH. https://doi.org/10.1515/reveh-2024-0111
16. Jeong, E., Lee, J.-Y., & Redwan, M. (2024). Animal exposure to microplastics and health effects: A review. In Emerging Contaminants (Vol. 10, Issue 4, p. 100369). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.emcon.2024.100369
17. Kedzierski, M., Lechat, B., Sire, O., Le Maguer, G., Le Tilly, V., & Bruzaud, S. (2020). Microplastic contamination of packaged meat: Occurrence and associated risks. In Food Packaging and Shelf Life (Vol. 24, p. 100489). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100489
18. Khan, A., Qadeer, A., Wajid, A., Ullah, Q., Rahman, S. U., Ullah, K., Safi, S. Z., Ticha, L., Skalickova, S., Chilala, P., Bernatova, S., Samek, O., & Horky, P. (2024). Microplastics in animal nutrition: Occurrence, spread, and hazard in animals. In Journal

of Agriculture and Food Research (Vol. 17, p. 101258). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101258

19. Lange, J., & Wyser, Y. (2003). Recent innovations in barrier technologies for plastic packaging—a review. In Packaging Technology and Science (Vol. 16, Issue 4, pp. 149-158). Wiley. https://doi.org/10.1002/pts.621
20. Leslie, H. A., van Velzen, M. J. M., Brandsma, S. H., Vethaak, A. D., Garcia-Vallejo, J. J., & Lamoree, M. H. (2022). Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood. In Environment International (Vol. 163, p. 107199). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107199
21. Luqman, A., Nugrahapraja, H., Wahyuono, R. A., Islami, I., Haekal, M. H., Fardiansyah, Y., Putri, B. Q., Amalludin, F. I., Rofiqa, E. A., Götz, F., & Wibowo, A. T. (2021). Microplastic Contamination in Human Stools, Foods, and Drinking Water Associated with Indonesian Coastal Population. In Environments (Vol. 8, Issue 12, p. 138). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/environments8120138
22. Mamun, A. A., Prasetya, T. A. E., Dewi, I. R., & Ahmad, M. (2023). Microplastics in human food chains: Food becoming a threat to health safety. In Science of The Total Environment (Vol. 858, p. 159834). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159834
23. Mamun, T. I. (2024). From feed to food: Unveiling the widespread impact of microplastics on animal and human health. In New Microbes and New Infections (Vol. 62, p. 101461). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.nmni.2024.101461
24. Mason, S. A., Welch, V. G., & Neratko, J. (2018). Synthetic Polymer Contamination in Bottled Water. In Frontiers in Chemistry (Vol. 6). Frontiers Media SA. https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00407
25. Mathlouthi, M. (Ed.). (1994). Food Packaging and Preservation. Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2173-0
26. McNeill, I. C., Zulfiqar, M., & Kousar, T. (1990). A detailed investigation of the products of the thermal degradation of polystyrene. In Polymer Degradation and Stability (Vol. 28, Issue 2, pp. 131-151). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/0141-3910(90)90002-o
27. Mourad, A.-H. I. (2010). Thermo-mechanical characteristics of thermally aged polyethylene/polypropylene blends. In Materials & Design (Vol. 31, Issue 2, pp. 918–929). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.matdes.2009.07.031
28. Oβmann, B. E., Sarau, G., Holtmannspötter, H., Pischetsrieder, M., Christiansen, S. H., & Dicke, W. (2018). Small-sized microplastics and pigmented particles in bottled

mineral water. In Water Research (Vol. 141, pp. 307-316). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.05.027

29. PlasticsEurope. (2012). Plastic packaging: Born to protect. *PlasticsEurope Report.* https://plastics.fi/app/uploads/2024/10/final_pe_packaging_en_310812.pdf
30. PlasticsEurope. (2018). Plastics—the Facts 2018. *PlasticsEurope Report.* https://plasticseurope.org/wp-content/uploads/2021/10/2018-Plastics-the-facts.pdf
31. Prata, J. C. (2018). Airborne microplastics: Consequences to human health? In Environmental Pollution (Vol. 234, pp. 115-126). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.043
32. Rist, S., Carney Almroth, B., Hartmann, N. B., & Karlsson, T. M. (2018). A critical perspective on early communications concerning human health aspects of microplastics. In Science of The Total Environment (Vol. 626, pp. 720-726). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.092
33. Rochman, C. M., Tahir, A., Williams, S. L., Baxa, D. V., Lam, R., Miller, J. T., Teh, F.-C., Werorilangi, S., & Teh, S. J. (2015). Anthropogenic debris in seafood: Plastic debris and fibers from textiles in fish and bivalves sold for human consumption. In Scientific Reports (Vol. 5, Issue 1). Springer Science and Business Media LLC. https://doi.org/10.1038/srep14340
34. Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden, C., Saalfeld, S., Schmid, B., Tinevez, J.-Y., White, D. J., Hartenstein, V., Eliceiri, K., Tomancak, P., & Cardona, A. (2012). Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. In Nature Methods (Vol. 9, Issue 7, pp. 676–682). Springer Science and Business Media LLC. https://doi.org/10.1038/nmeth.2019
35. Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. In Nature Methods (Vol. 9, Issue 7, pp. 671–675). Springer Science and Business Media LLC. https://doi.org/10.1038/nmeth.2089
36. Schymanski, D., Goldbeck, C., Humpf, H.-U., & Fürst, P. (2018). Analysis of microplastics in water by micro-Raman spectroscopy: Release of plastic particles from different packaging into mineral water. In Water Research (Vol. 129, pp. 154-162). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.11.011
37. van der Veen, I., van Mourik, L. M., van Velzen, M. J. M., Groenewoud, Q. R., & Leslie, H. A. (2022). Plastic Particles in Livestock Feed, Milk, Meat, and Blood: A Pilot Study. *Environment & Health, Report EH22-01*, pp.1–48. https://www.plasticsoupfoundation.org/rapporten/Final-Report-pilot-study-plastic-particles-in-livestock-feed-milk-meat-and-blood-SIGNED-1.pdf

38. Yadav, H., Khan, M. R. H., Quadir, M., Rusch, K. A., Mondal, P. P., Orr, M., Xu, E. G., & Iskander, S. M. (2023). Cutting Boards: An Overlooked Source of Microplastics in Human Food? In Environmental Science & Technology (Vol. 57, Issue 22, pp. 8225-8235). American Chemical Society (ACS). https://doi.org/10.1021/acs.est.3c00924
39. Zhou, X., Wang, J., & Ren, J. (2022). Analysis of Microplastics in Takeaway Food Containers in China Using FPA-FTIR Whole Filter Analysis. In Molecules (Vol. 27, Issue 9, p. 2646). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/molecules27092646

Kontaktná adresa: Ing. Jozef Čurlej, PhD., Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika; E-mail: jozef.curlej@uniag.sk

ANTIMIKROBIÁLNA REZISTENCIA VZDUCHOM PRENÁŠANÝCH STAFYLOKOKOV V CHOVE HYDINY

ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF AIRBORNE STAPHYLOCOCCI IN POULTRY BREEDING

Dančová Nikola[1], Gregová Gabriela[1], Szabóová Tatiana[1], Hajdučková Vanda[2]

[1]Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat

[2]Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

A high concentration of *Staphylococcus* spp., including resistant strains, is characteristic of bioaerosols collected from poultry breeding environments. Our study aimed to isolate and identify staphylococci from broiler poultry breeding bioaerosol samples and to determine their phenotypic antimicrobial resistance profiles. Based on the results of the Staphytest 24, the isolates were identified as *Staphylococcus lentus* (57.9%), *Staphylococcus xylosus* (26.3%), and *Staphylococcus sciuri* (15.8%), with all three species classified as coagulase-negative staphylococci. The highest resistance rates were observed against tetracycline (78.9%), moxifloxacin (73.7%), trimethoprim (68.4%), and erythromycin (52.6%). Elevated resistance was also noted against oxacillin, clindamycin, ciprofloxacin, and ampicillin. Nearly all analyzed isolates exhibited multidrug resistance. Our results highlight the need for rational use of antimicrobials, improvement of hygiene and sanitation measures, and introduction of systematic monitoring of antimicrobial resistance in poultry breeding environments.

Key words: staphylococci, air, poultry breeding, antimicrobial resistance

ÚVOD

Vzduch v prostredí intenzívneho chovu hydiny predstavuje významný vektor šírenia mikroorganizmov, vrátane stafylokokov (Clauß et al. 2022). Vzhľadom na vysokú koncentráciu zvierat na malom priestore, zvýšenú prašnosť a neustálu cirkuláciu vzduchu ide o prostredie s výrazným potenciálom pre šírenie rozličných mikroorganizmov prostredníctvom aerosólov. Tieto mikroorganizmy sa do ovzdušia uvoľňujú z podstielky, exkrementov, krmiva, samotných zvierat alebo pracovníkov, ktorí môžu byť asymptomatickými prenášačmi (Sanz et al. 2021).

V snahe o prevenciu a terapiu infekčných ochorení patrí hydinársky priemysel medzi jedného z najväčších spotrebiteľov antimikrobiálnych látok (Kovács et al. 2025). Tento trend je však sprevádzaný s narastajúcim problémom antimikrobiálnej rezistencie. Nadmerným

a nesprávnym používaním antimikrobiálnych látok sa vytvára na mikroorganizmy selekčný tlak, v dôsledku ktorého sa v prostredí udržiavajú a šíria rezistentné kmene, ktoré predstavujú vážnu hrozbu nielen pre zdravie zvierat, ale aj pre zdravie ľudí (Karwowska 2024).

Stafylokoky predstavujú rôznorodú skupinu baktérií, ktoré sú súčasťou normálnej mikroflóry zdravých jedincov a bežne sa vyskytujú aj v rôznych prostrediach, vrátane chovu hydiny (Matos et al. 2024). Najčastejšie izolovaným a najpatogénnejším druhom z hydiny je *Staphylococcus aureus* (Abreu et al. 2023). V poslednom období však narastá význam aj koaguláza-negatívnych stafylokokov (*S. epidermidis, S. xylosus, S. cohnii, S. lentus, S. hyicus, S. saprophyticus, S. sciuri, S. gallinarum*) a to pre ich schopnosť spôsobovať infekcie u hydiny i ľudí, ako aj pre častú rezistenciu voči bežne používaným antimikrobiálnym látkam (Matos et al. 2024). Stafylokokové infekcie v chove hydiny predstavujú závažný globálny problém, ktorý vedie k ekonomickým stratám v dôsledku vzniku chronických infekcií, zníženej produkcie a zvýšenej mortality (Abreu et al. 2023).

V rámci koncepcie „One Health“ je v spoločnom záujme ochrany zdravia dôležité študovať prepojenie zdravia ľudí, zvierat a ekosystémov, pretože komplexný prístup s dôrazom na zníženie spotreby antimikrobiálnych látok vedie k produkcii zdravých potravín (OIE 2006).

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky vzduchu boli odobrané z prostredia počas odchovu brojlerovej hydiny chovanej na hlbokej podstielke. Pomocou prenosného aeroskopu MAS-100 Eco® (Merck, Nemecko) boli vzorky bioaerosólu nasaté cez perforované veko prístroja priamo na povrch kultivačných médií v štandardných Petriho miskách. Na izoláciu stafylokokov boli použité selektívne médiá, konkrétne Chapman - Mannitol Salt agar (Bio-Rad, Francúzsko) a modifikovaný HiCrome™ Staph agar base (HiMedia, India), inkubované pri 37°C počas 24 hodín.

Následne bola vykonaná identifikácia získaných izolátov pomocou biochemickej súpravy STAPHYtest 24 (Erba Lachema, Česká republika) podľa pokynov výrobcu. Minimálna inhibičná koncentrácia (MIC) na určenie fenotypovej antimikrobálnej rezistencie bola stanovená mikrodilučnou kolorimetrickou metódou podľa Gattringera et al. (2002) pomocou komerčnej diagnostickej súpravy (Bel-Miditech, Slovenská republika). Interpretácia výsledkov hodnôt MIC jednotlivých antimikrobiálnych látok bola vykonaná podľa klinických hraničných hodnôt opísaných v EUCAST (verzia 14.0; 2024).

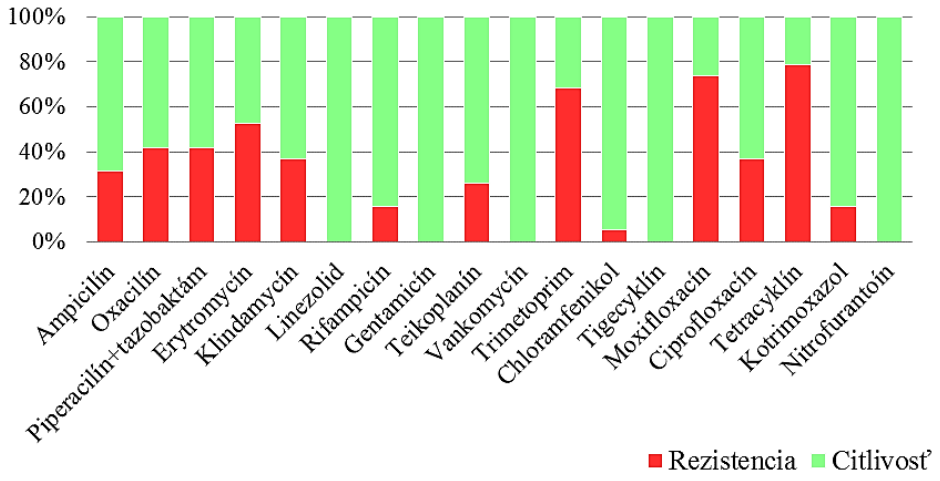
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vysoká koncentrácia baktérií z čeľade *Staphylococcaceae* je charakteristická pre bioaerosóly odobrané z prostredia chovov hydiny (Clauß et al. 2022), pričom koaguláza-negatívne stafylokoky (CoNS) sú oveľa častejšie izolované v porovnaní s koaguláza-pozitívnymi stafylokokmi (CoPS) (Szafraniec et al. 2022). Po ukončení inkubácie bola na kultivačných médiách hodnotená forma rastu a vzhľad bakteriálnych kolónií. Na základe výsledkov biochemickej analýzy boli získané izoláty (n=38) identifikované ako *Staphylococcus lentus* (57,9 %), *Staphylococcus xylosus* (26,3 %) a *Staphylococcus sciuri* (15,8 %). Všetky tri identifikované druhy patria medzi koaguláza-negatívne stafylokoky. Ako uvádzajú Stępień-Pyśniak et al. (2017), práve *S. lentus*, *S. xylosus*, *S. cohnii* a *S. hyicus* sú najbežnejšie druhy CoNS spojené s infekčnými ochoreniami u hydiny.

Medzi najbežnejšie používané antimikrobiálne látky pri chove hydiny patria tetracyklíny, β-laktámy, aminoglykozidy, makrolidy, sulfónamidy a trimetoprim, pričom mnohé z nich sú dôležité aj v humánnej medicíne (Chen et al. 2025). Podľa Lu et al. (2020), stafylokoky vyizolované z chovov hydiny a hospodárskych zvierat majú rôzne profily antimikrobiálnej rezistencie. Naše výsledky hodnôt MIC preukázali najvyššie percento rezistencie u vyšetrovaných stafylokokov na tetracyklín, moxifloxacín, trimetoprim a erytromycín. Rezistencia na β-laktámy bola na úrovni 31,6% (ampicilín) a 42,1% (oxacilín a piperacilín+tazobaktám). Zvýšená miera rezistencie (> 36%) bola zaznamenaná na klindamycín a ciprofloxacín. Spoločným znakom bola 100% citlivosť izolátov na vankomycín, gentamicín, nitrofurantoín a linezolid (Obrázok č. 1) Tieto antimikrobálne látky by predstavovali vhodnú voľbu pre prípadnú liečbu stafylokokových infekcií.

V súčasnosti bol zaznamenaný nárast prevalencie multirezistentných CoNS (Lu et al. 2020). Takmer u všetkých nami skúmaných stafylokokov bola preukázaná multirezistencia, t.j odolnosť voči trom a viacerým antimikrobiálnym látkam troch alebo viacerých relevantných skupín antimikrobiálnych látok, čo je v súlade aj so štúdiami iných autorov (Silva et al. 2022; Lu et al. 2020). Uvedené štúdie poukazujú na fakt, že chovy hydiny môžu slúžiť ako významné rezervoáre rezistentných stafylokokov, ktoré predstavujú riziko nielen pre zvieratá, ale aj pre ľudské zdravie prostredníctvom ďalšieho šírenia do životného prostredia.

Obrázok č. 1, Detegované percento rezistencie a citlivosti u vyšetrovaných stafylokokov



ZÁVER

Intenzívne chovy hydiny sú asociované s vyššími koncentráciami stafylokokov v bioaerosóle, vrátane multirezistentných druhov. Naše výsledky zdôrazňujú potrebu racionálneho používania antimikrobiálnych látok, zlepšenia hygienických a sanitačných opatrení a zavedenia systematického monitorovania antimikrobiálnej rezistencie v prostredí chovov hydiny. Účinná prevencia pred šírením multirezistentných stafylokokov je kľúčová pre ochranu zdravia zvierat, ľudí a integrity životného prostredia.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola zrealizovaná vďaka podpore projektu APVV-23-0488.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ABREU, R. et al. Antimicrobial Drug Resistance in Poultry Production: Current Status and Innovative Strategies for Bacterial Control. In *Microorganisms*. ISSN 2076-2607, 2023, vol. 11, no. 4, 953.
2. CLAUß, M. et al. Development of a Novel Bioaerosol Chamber to Determine Survival Rates of Airborne Staphylococci. In *Atmosphere*. ISSN 2073-4433, 2022, vol. 13, no. 6, 869.
3. EUCAST. Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters, verzia 14.0. 2024. Dostupné na internete: <https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_14.0_Breakpoint_Tables.pdf>.

4. GATTRINGER, R. et al. Evaluation of MIDITECH automated colorimetric MIC reading for antimicrobial susceptibility testing. In *Journal of Antimicroial Chemotherapy*. ISSN 1460-2091, 2002, vol. 49, no. 4, p. 651–659.
5. CHEN, Y. et al. Antibiotic resistance gene pollution in poultry farming environments and approaches for mitigation: A system review. In *Poultry Science*. ISSN 1525-3171, 2025, vol. 104, no. 3, 104858.
6. KARWOWSKA, E. Antibiotic Resistance in the Farming Environment. In *Applied Sciences*. ISSN 2076-3417, 2024, vol. 14, no. 13, 5776.
7. KOVÁCS, L. et al. Antimicrobial Susceptibility Profiles of Commensal *Staphylococcus* spp. Isolates from Turkeys in Hungarian Poultry Farms Between 2022 and 2023. In *Antibiotics*. ISSN 2079-6382, 2025, vol. 14, no. 2, 200.
8. LU, Y. et al. High concentration of coagulase-negative staphylococci carriage among bioaerosols of henhouses in Central China. In *BMC Microbiology*. ISSN 1471-2180, 2020, vol. 20, p. 1–9.
9. MATOS, M. et al. Co-Infection of Chickens with *Staphylococcus lentus* and *Staphylococcus aureus* from an Outbreak of Arthritis, Synovitis, and Osteomyelitis Argues for Detailed Characterisation of Isolates. In *Animals*. ISSN 2076-2615, 2024, vol. 14, no. 17, 2574.
10. OIE. Report of the sixth meeting of the oie working group on animal production food safety. 2006.
11. SANZ, S. et al. Airborne Dissemination of Bacteria (Enterococci, Staphylococci and *Enterobacteriaceae*) in a Modern Broiler Farm and Its Environment. In *Animals*. ISSN 2076-2615, 2021, vol. 11, no. 6, 1783.
12. SILVA, V. et al. Multidrug-Resistant Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci in Healthy Poultry Slaughtered for Human Consumption. In *Antibiotics*. ISSN 2079-6382, 2022, vol. 11, no. 3, 365.
13. STĘPIEŃ-PYŚNIAK, D. et al. *Staphylococcus simulans* associated with endocarditis in broiler chickens. In *Avian Pathology*. ISSN 0307-9457, 2017, vol. 46, no. 1, p. 44–51.
14. SZAFRANIEC, G.M. et al. Review on skeletal disorders caused by *Staphylococcus* spp. in poultry. In *Veterinary Quarterly*. ISSN 1875-5941, 2022, vol. 42, no. 1, p. 21–40.

Kontaktná adresa: Dančová Nikola, Department of Public Veterinary Medicine and Animal Welfare, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: Nikola.Dancova@uvlf.sk

DEKONTAMINACE ^{137}Cs U MRAŽENÉHO DRŮBEŽÍHO MASA PŘI TEPELNÉ ÚPRAVĚ ROZTOKEM NaCl

DECONTAMINATION OF ^{137}CS IN FROZEN POULTRY MEAT DURING HEAT TREATMENT WITH SALINE SOLUTION

Dvořák Petr [1], Beňová Katarína [2], Tomko Martin [2]

[1]*Veterinární univerzita Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav biologie a chorob volně žijící zvěře, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika*

[2]*Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra biológie a fyziológie, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika*

ABSTRACT

As a result of nuclear power plant accidents or the use of nuclear weapons contamination of radiocesium in the poultry (*Gallus gallus f. domesticus*) meat is common. Simple gastronomic finish cooking is in a pressure cooker. The breast and thigh muscles were thawed and boiled for 5 minutes in deionized water, or 0.5% NaCl solution. This procedure decreased activity concentration of radiocesium approximately by 35 % in the case of breast muscles and by 50% in the case of thigh muscles, however the results variability was significant. NaCl addition increased the effect insignificantly. An activity concentration of ^{137}Cs was measured by gamma-spectrometry.

Key words: decrease in activity concentration, poultry meat, heat-pressure boiling, food safety, radiocesium

ÚVOD

Havárie jaderných zřízení (Černobyl, Fukušima) nebo použití jaderných zbraní, kterými je v současné době vyhrožováno, představují reálné riziko kontaminace potravních řetězců radionuklidy. Z nich je vzhledem k dlouhému poločasu přeměny 30 let nejvýznamnější zejména izotop ^{137}Cs. Pokud by byla potravinová zvířata zevně nebo vnitřně kontaminována radioaktivním spadem je významné použít v průmyslových i domácích podmínkách jednoduché technologické postupy, kterými je možné snížit aktivitu radiocesia v mase. Tyto metody by měly co nejméně ovlivňovat nutriční hodnotu nebo organoleptické vlastnosti (Petäjä et al., 1992).

Relativně efektivního snížení radioaktivity v mase lze dosáhnout ošetřením roztokem NaCl, neboli kuchyňskou či jedlou solí, která je pro konzumenty snadno dostupná. Může být použita ve formě marinády nebo slaného nálevu, tzv. solanky. Ošetření solí tzv. nasucho sníží aktivitu ^{137}Cs pouze částečně. (Dvořák et al., 2008; Beňová et al., 2016). Tyto postupy jsou jedním z nejstarších způsobů konzervování.

Většina prací se zabývá snížením aktivity postčernobylského radiocesia v mase divokých prasat, která stále představují zejména na Šumavě (ČR) problém (Kouba et al., 2013; Dvořák et al., 2016). Jak jsme dříve informovali (Dvořák et al. 2020), solení na sucho vykázalo pokles aktivity pouze o 12 až 18 %. Následné nakládání do láku se směsí chloridu sodného a dusičnanu draselného a zejména při jeho dvojnásobné výměně vedlo ke snížení aktivity ^{137}Cs nejméně o 72 %. O možnostech snížení aktivity ^{137}Cs u mraženého drůbežího masa však informace nejsou dostatečné.

MATERIÁL A METODIKA

Zmrazená svalovina brojlerových kuřat (*Gallus gallus f. domestica*) hybridů ISSA 715 Vedette a Ross 208, která byla uměle kontaminována ^{137}Cs pocházela z krmných experimentů na MENDELU.

Prsní svalovina byla rozmrazena a rozdělena na pravou a levou část. Porovnávala se vstupní hmotnostní aktivita pravé a levé části prsou. V každé z nich tedy byla stanovena hmotnostní aktivita ^{137}Cs (v tabulkách označeno jako svalovina). Následně byla každá část rozdělená na další dvě poloviny a zvážena. Sledovalo se snižování hmotnostní aktivity v deionizované H_2O vůči 0,5% roztoku NaCl, Množství vody i roztoků bylo vždy v poměru 1:10 (svalovina : voda nebo roztok). Po zvážení byla provedena úprava v tlakovém hrnci s dobou varu 5 minut. Po této úpravě se znovu stanovila hmotnostní aktivita (v tabulkách označeno jako maso) a dále též objemová aktivita výluhu (tab.1).

Svalovina stehen (tab. 2) byla rozmrazena, zvážena a následně stanovena její počáteční aktivita. Další postup byl analogický jako u prsní svaloviny.

Aktivita ^{137}Cs byla stanovena pomocí gamaspektrometrických tras Canberra (USA), které se skládaly z germaniových detektorů HPGe GC2020 (účinnost 20% a rozlišení 1,8 keV) a HPGe GC4018 S/N (účinnost 40 % a rozlišení 1,72 keV). Systém gamaspektrometrie s vysokým rozlišením byl certifikován Českým metrologickým institutem (ČMI – Praha). Stanovení bylo prováděno v 200 ml lahvičkách a 450 ml Marinelliho nádobách. Doba měření byla osmnáct hodin (T = 64 800 s). Výsledky byly zpracovány programy Genie 2000 (Canberra) a Gamvin (Nuvia Třebíč). U výsledků obou geometrií stanovení byla prováděna korekce na měrnou hmotnost, u lahviček též korekce na objem vzorku.

Jako základní statistické parametry byly stanoveny aritmetický průměr (MEAN), směrodatná odchylka průměru (SEM), medián a variační rozpětí definované minimem a maximem. Pro porovnání efektu technologických postupů byl použit dvouvýběrový párový t-test na střední hodnotu.

VÝSLEDKY

V tab. 1 jsou uvedeny základní statistické parametry hmotnostních aktivit při použití roztoku 0,5 % NaCl u svaloviny prsou. Ze středu na levou i pravou stranu jsou postupně uváděny hmotnostní aktivity vstupní svaloviny, dále masa po zpracování a výluhu. Poslední, krajní sloupce uvádí procentuální snížení kontaminace ^{137}Cs ošetřeného masa ve srovnání se vstupní svalovinou. Poslední řádek ukazuje hladiny významnosti (pravděpodobnost) párového t-testu při testování rozdílu aritmetických průměrů sloupců se shodnými druhy vzorků.
Rozdíl mezi hmotnostní aktivitou pravé a levé vstupní svaloviny o 8 Bq.kg^{-1} je zcela nevýznamný (p=0,674). Je důkazem přesnosti stanovení obou gamaspektrometrických tras za předpokladu homogenního rozložení ^{137}Cs v prsní svalovině. Obdobně nebyl prokázán rozdíl mezi hmotnostní aktivitou ošetřeného masa ve vztahu k přídavku NaCl. Rozdíl 7 Bq.kg^{-1} je opět zcela nevýznamný (p = 0,161) i při vysoké variabilitě vyjádřené málo rozdílnými a zároveň relativně vyššími hodnotami SEM (107,2 a 124,4).

Podobná situace je u objemové aktivity výluhů. Rozdíl 3 Bq.l^{-1} je statisticky nevýznamný (p=0,162), i přes nízký rozdíl ve variabilitě výsledků vyjádřené skoro totožnými hodnotami SEM (8,2 a 9,0). Přesnost stanovení je v tomto případě vyšší, neboť se jedná o větší objemy vzorku s převažujícími stanoveními v Marinelliho nádobě (450 ml).

Hlavní výsledky tab. 1 však představuje procento snížení kontaminace, které je přibližně 35 %. Nebyla prokázána závislost na přídavku NaCl, rozdíl (35,83 % vůči 34,48 %) není statisticky významný (p=0,873). To je dáno i velkým variačním rozpětím (rozdíl mezi maximem a minimem). Minimální efekt při použití roztoku NaCl dosáhl pouze 13,88 %, zatím co maximální efekt u čisté vody dosáhl 58,48% snížení.

V tab. 2 jsou uvedeny základní statistické parametry hmotnostních aktivit při použití roztoku 0,5 % NaCl u stehenní svaloviny. Obdobně jako u tab. 1 jsou ze středu na levou i pravou stranu postupně uváděny hmotnostní aktivity vstupní svaloviny, dále masa po zpracování a výluhu. Poslední, krajní sloupce uvádí procentuální snížení kontaminace ^{137}Cs ošetřeného masa ve srovnání se vstupní svalovinou. Poslední řádek tabulky uvádí hladiny významnosti (pravděpodobnost) párového t-testu při testování rozdílu aritmetických průměrů sloupců se srovnávacími druhy vzorků.

Tabulka č. 1 Snížení aktivity ^{137}Cs drůbeží prsní svaloviny tepelnou tlakovou úpravou v poměru 1 : 10 s roztokem 0,5 % NaCl ve srovnání s čistou vodou

			maso	svalovina		maso		
	snížení o	výluh	NaCl	pravá	levá	bez soli	výluh	snížení o
	%	Bq.l^{-1}	Bq.kg^{-1}	Bq.kg^{-1}	Bq.kg^{-1}	Bq.kg^{-1}	Bq.l^{-1}	%
MEAN	35,83	28	366	531	523	373	31	34,48
SEM	9,52	8,2	107,2	169,2	161,6	124,4	9,0	7,77
Medián	34,43	25	343	451	440	366	29	36,06
Minimum	13,88	3	10	33	33	14	3	16,80
Maximum	70,24	51	619	944	945	769	57	58,48
p					0,674	0,161	0,162	0,873

MEAN aritmetický průměr; SEM směrodatná odchylka průměru; p hladina významnosti párového t testu

Rozdíl mezi hmotnostní aktivitou pravé a levé stehenní svaloviny o 11 Bq.kg^{-1} není významný (p=0,473). Je důkazem přesnosti stanovení obou gamaspektrometrických tras za předpokladu homogenního rozložení ^{137}Cs ve stehenní svalovině. Obdobně nebyl prokázán rozdíl mezi hmotnostní aktivitou ošetřeného masa ve vztahu k přídavku NaCl. Rozdíl 4 Bq.kg^{-1} mezi hmotnostní aktivitou ošetřeného masa ve vztahu k přídavku NaCl. je opět nevýznamný (p = 0,734) i při vysoké variabilitě vyjádřené málo rozdílnými a zároveň relativně vyššími hodnotami SEM (34,3 a 28,7).

Podobná situace je u objemové aktivity výluhů. Rozdíl 1 Bq.l^{-1} je statisticky zcela nevýznamný (p=0,165), i přes nízký rozdíl ve variabilitě výsledků vyjádřené skoro totožnými hodnotami SEM (1,7 a 1,9). Přesnost stanovení je v tomto stanovení vyšší, neboť se jedná o větší objemy vzorku s převažujícími stanoveními v Marinelliho nádobě (450 ml).

Zásadní výsledky tab. 2 však představuje snížení kontaminace stehenní svaloviny, které je přibližně 50 %. Nebyla prokázána závislost na přídavku NaCl, rozdíl (52,22 vůči 49,55) není statisticky významný (p=0,218). To je dáno i velkým variačním rozpětím (rozdíl mezi maximem a minimem). Minimální efekt při použití roztoku NaCl dosáhl pouze 22,92 %, zatím co maximální efekt 68,85 %, zatím co u čisté vody byl efekt snížení v intervalu 16,54 ,% až 74,33 %. Přesto však v těchto parametrech je hodnota medianu velmi blízko hodnotě aritmetického průměru, což statisticky odpovídá normálnímu rozdělení hodnot procentuálního snížení aktivity u všech sledovaných vzorků.

Tabulka č. 2 Snížení aktivity ^{137}Cs drůbeží stehenní svaloviny tepelnou tlakovou úpravou v poměru 1 : 10 s roztokem 0,5 % NaCl ve srovnání s čistou vodou

			maso	svalovina		maso		
	snížení o	výluh	NaCl	pravá	levá	bez soli	výluh	snížení o
	%	Bq.l^{-1}	Bq.kg^{-1}	Bq.kg^{-1}	Bq.kg^{-1}	Bq.kg^{-1}	Bq.l^{-1}	%
MEAN	52,22	12	100	175	164	96	13	49,55
SEM	4,17	1,7	34,3	42,9	34,8	28,7	1,9	4,58
Medián	59,74	11	61	155	142	67	13	51,93
Minimum	22,92	3	15	39	41	19	3	16,54
Maximum	68,53	25	500	672	494	350	29	74,33
p					0,473	0,734	0,165	0,218

MEAN aritmetický průměr; SEM směrodatná odchylka průměru; p hladina významnosti párového t testu

DISKUSE

Lofti et al. (1990) ve studii o snižování obsahu radioaktivního obsahu masa během vaření ukázali, že pokud se maso vaří v 1% slané vodě po dobu jedné hodiny, aktivita klesá o 20 % oproti nevařeným vzorkům.

Halford (1987) stanovil pokles aktivity ^{137}Cs ve tkáních vodních ptáků po tepelné úpravě pečením (210 °C, 60 minut). Významný rozdíl 27 % ($P < 0,05$) zaznamenal u vzorků svaloviny, Ve vzorku jater došlo k redukci o 10 % a v případě žaludku nenastala změna, přestože ho tvoří z velké části příčně pruhovaná svalovina. Stagnace hodnot byla i v případě štítné žlázy, kde se ale takový výsledek očekával.

Petäjä et al. (1992) tepelně upravil kontaminované sobí maso (1 kg) varem po dobu 3 hodin při 180 °C. Obsah radioaktivního cesia snížil o 26 – 31 %. Pro srovnání u obdobného vzorku při tepelné úpravě pečením dosáhl rozdílu o 49 % a při kombinaci solení (5% nálev po dobu dvou dnů) a úpravy varem v destilované vodě o 54 %.

Dopad použití ošetření solí na redukci radiocesia byl také studován u ryb. Aktivita v rybím mase byla snížena o 50 % po čtyřech hodinách buď použitím 5% fyziologického roztoku (0,9% NaCl) a vody, nebo promýváním po dobu 8 hodin (Petäjä et all. 1992).

Dvořák a Kunová (2006) stanovili redukci aktivity radiocesia v mase divokých prasat po použití tepelného ošetření varem za zvýšeného tlaku a docílili rovněž významného snížení hmotnostní aktivity ^{137}Cs o 50 %.

Vzhledem k tomu, že mezi kontaminujícími radionuklidy těsně po havárii jaderného zařízení nebo po použití jaderné zbraně převažuje ze skupiny radiojódů především izotop ^{131}I s fyzikálním poločasem přeměny 8 dnů, představuje zmrazení na dobu přibližně 3 měsíců (10 poločasů) jednoduchou technologii vedoucí k snížení kontaminace radiojódů na akceptovatelné minimum. Po této době přetrvává kontaminace masa radiocesiem, případně u jaderných zbraní i radiostronciem.

Samotné částečně dekontaminované maso je vhodné jako surovina pro kulinářskou úpravu v běžné domácnosti i do průmyslově produkovaných masných výrobků. Výhodami jsou vysoká účinnost a relativně nízké ekonomické náklady. Mezi nevýhody patří menší chuťová atraktivita výrobků, riziko potenciálního rozšíření mikrobiální kontaminace v případě máčení a úbytek živin (Petäjä et al. 1992).

ZÁVĚR

Závěrem možno konstatovat, že tepelná tlaková úprava kontaminované svaloviny je vhodnou technologií, pokud není bez významného naředění spotřebován bujón.

POUŽITÁ LITERATURA

1. BEŇOVÁ, K., DVOŘÁK, P., TOMKO, M., FALIS, M. (2016): Artificial environmental radionuclides in Europe and methods of lowering their foodstuff contamination–a review. Acta Veterinaria Brno, 85, č. 1, 105-112.
2. DVOŘÁK, P., BEŇOVÁ, K. (2022): Distribuce 137Cs v mase divokých prasat. Maso, 33, č. 3, 50-53.
3. DVOŘÁK, P., DOLEŽALOVÁ, J., BEŇOVÁ, K. (2020): Snižování aktivity radiocesia v mase divokých prasat lákováním. Maso, vol. 31, č. 5, 53-56.
4. DVOŘÁK, P., KUNOVÁ, V. (2006): The reduction of the activity concentration of radiocaesium in meat by heat-pressure boiling. Fol Vet, 50, 12-13.
5. DVOŘÁK, P., KUNOVÁ, V., KUNOVÁ, J., BEŇOVÁ, K. (2008): Radiocesium activity reduction in boar meat by brining. Radiation and environmental biophysics, , 47, č.1, 179-182.
6. HALFORD, D.K. (1987): Effect of cooking on radionuclide concentrations in waterfowl tissues. Journal of environmental radioactivity, 5, č. 3, 229-233.
7. LOFTI, M., NATARO, M., PIERMATTEI, S., TOMMASINO, L. AND AZIMI-GARAKANI, D. (1990): Radiocaesium contents of meat in Italy after the Chernobyl accident and their changes during the cooking process. Journal of environmental radioactivity, 12, č.2, 179-183.

8. KOUBA, F. CIPÍNOVÁ E., DRÁPAL, J, HANZAL V, MALENA M, VERNEROVÁ K (2013): Monitoring radioaktivity u černé zvěře v jihočeském regionu. Maso, č. 6, 40-42.
9. PETÄJÄ, E., RANTAVAARA, A., PAAKKOLA, O. AND PUOLANNE, E. (1992): Reduction of radioactive caesium in meat and fish by soaking. Journal of environmental radioactivity, 16, č.3, 273-285.

Kontaktní adresa: prof. MVDr. Petr Dvořák, CSc., Ústav biologie a chorob volně žijící zvěře, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika, E-mail: dvorakp@vfu.cz

RÝCHLE KULTIVAČNÉ TESTY NA DETEKCIU MASTITÍD U DOJNÍC

RAPID CULTIVATION TESTS FOR MASTITIS DETECTION IN DAIRY COWS

Farkašová Zuzana[1], Zigo František[1], Lacková Zuzana[1], Timkovičová Lacková Petra[1], Vargová Mária[2]

[1]Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

[2]Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

This study objective was to evaluate and compare two methods for rapid detection of udder pathogens: MicroMast rapid plates versus ClearMilk Test. Both methods belong to cultivation laboratory methods for the detection of Gram-positive (staphylococci and streptococci), and Gram-negative bacteria directly under on-farm conditions. During the study 520 cows were investigated on dairy farms localized in the east of Slovakia. Subsequently, 144-quarter milk samples from the positive cows with California mastitis test scores 1-3 have undergone laboratory cultivation on both rapid tests. Values obtained from these tests show the sensitivity of positive samples using the MicroMast test at the level of 84.7% and the sensitivity of the ClearMilk test at the level of 93.1%. After biochemical and protein identification of cultured isolates, on both rapid tests MicroMast test and ClearMilk were identified as the main pathogens present *Staphylococcus* spp. *(S. aureus* and *S. chromogenes)* and *Streptococcus* spp. *(Str. bovis*). Based on the results, both tests are comparable and therefore they can potentially be used in practice for the rapid detection of udder pathogens.

Keywords: dairy cows, mastitis, MicroMast test, ClearMilkTest, udder pathogens

ÚVOD

V celosvetovom meradle sa mastitídy dojníc považujú za jednu z najčastejších chorôb dojníc. Ich prevalencia sa v rôznych častiach sveta líši, pretože je ovplyvnená mnohými rizikovými faktormi, ako sú faktory životného prostredia, hostiteľa alebo patogénov mliečnych žliaz (Nayan et al., 2014).

K dnešnému dňu bolo zaznamenaných viac ako 135 rôznych pôvodcov intramamárnej infekcie (IMI) u prežúvavcov vrátane baktérií, vírusov, kvasiniek a rias. Až 95 % IMI je väčšinou spôsobených baktériami (Tančin a Uhrinčať, 2014).

Správna liečba mastitídy je založená na preventívnom aj liečebnom pôsobení. S rastúcimi obavami z antimikrobiálnej rezistencie sa dôrazne odporúča liečiť iba štvrte s intramamárnou infekciou. Z tohto dôvodu je zásadná včasná a presná diagnóza. Možnosť detekcie a charakterizácie mastitídy priamo na farme by bola veľmi užitočná pri výbere správneho protokolu riadenia. Niektoré diagnostické nástroje v teréne sa už bežne používajú na detekciu mastitídy, ako napríklad kalifornský test mastitídy (Tomassoni et al., 2023).

Diagnostické testy na detekciu mastitídy sa delia na nepriame, ktorými stanovujeme počet somatických buniek (SCC) v mlieku v prípadoch subklinickej mastitídy, a priame tzv. kultivačné metódy slúžiace na identifikáciu pôvodcov zápalu vemena pri všetkých formách mastitídy. Podľa miesta použitia ich rozdeľujeme na poľnohospodárske a laboratórne metódy. Laboratórna diagnostika pozostáva z bakteriologických, cytologických a biochemických vyšetrení (Škarda a Škardová, 2000). Vykonáva sa na krvnom agare alebo špeciálnych agarach. Na charakterizáciu patogénov na rôznych fylogenetických úrovniach možno použiť rôzne identifikačné testy založené na analýze DNA. Tieto metódy dokážu zistiť buď DNA alebo RNA.

Cieľom tejto štúdie bolo vyhodnotiť a porovnať dve metódy rýchlej detekcie patogénov vemena: platne MicroMast verzus test ClearMilk. Obe metódy patria ku kultivačným laboratórnym metódam na detekciu Gram+ (stafylokokov a streptokokov) a Gram-baktérií priamo v podmienkach farmy.

MATERIÁL A METODIKA

Počas štúdie bolo skúmaných 520 dojníc na farmách plemena holštajnský dobytok lokalizovaných na východe Slovenska. Priemerná dojivosť bola 9 000 kg na laktáciu. Vzorky mlieka dojníc boli odobraté počas dojenia (jednotlivé vzorky zo všetkých štyroch štvrtín vemena).

Hodnotenie zdravia vemena u všetkých dojníc zahŕňalo klinické vyšetrenie, senzorickú analýzu prvých strekov mlieka z každej štvrte, po ktorej nasledovalo hodnotenie pomocou kalifornského testu mastitídy (CMT) (nepriamy diagnostický test, Krause, Dánsko). CMT bola vykonaná podľa Jacksona a Cockrofta (2002) s použitím rovnakých objemov mlieka a alkyl-arylsulfonátu a bola hodnotená ako: 0) negatívna (-) s SCC 0 - 200 000/ml, neinfikovaná, zdravá štvrť, bez zahustenia zmesi; 1) dubiózna (±) s SCC 200 000 - 400 000/ml, možná infekcia, mierne zahustenie zmesi; 2) slabo pozitívna (+) s SCC 400 000 - 650 000/ml, infikovaná, zreteľné zahustenie zmesi, ale bez tendencie k tvorbe gélu; 3) pozitívna (++) infikovaná s SCC nad 850 000/ml, zreteľné zahustenie zmesi s tendenciou vytvárať gél (obr. 1).

Z každej štvrte s pozitívnym výsledkom CMT (v rozmedzí od 1 do 3) sme odobrali vzorku mlieka na bakteriologickú kultiváciu a vzorku na stanovenie počtu somatických buniek (144 vzoriek mlieka). Určili sme počet somatických buniek na zariadení Somacount 150 (Bentley Instruments, Inc., Chaska, Minnesota, USA). Rovnaké vzorky boli použité na kultiváciu patogénov vemena na platniach MicroMast (Prášek, Svetlá nad Sázavou, Česká republika) a test ClearMilk (LabMediaServis s.r.o, Jaromer, Česká republika).

MicroMast Rapid Test

Tento test je určený na rýchlu 24-hodinovú kultiváciu vzoriek priamo v podmienkach farmy. Výsledky boli analyzované po 24 hodinovej kultivácií pri 37°C pre každú platňu, ktorá je rozdelená do troch zón (obr. 1).

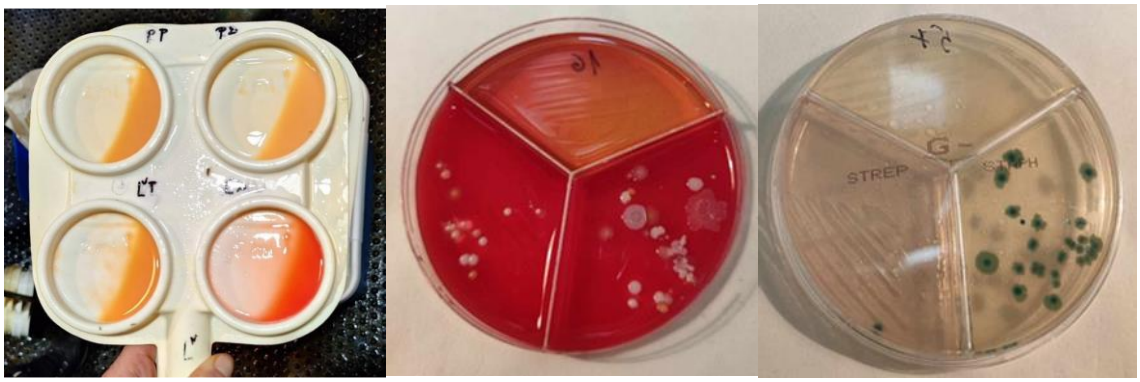
Rast v prvej zóne "A" sa používa na vylúčenie kontaminácie vzorky a ako potvrdenie rastu (neselektívny agar). Druhá zóna "B" je určená na identifikáciu gram pozitívnych patogénov, ako sú *S. aureus*, CNS, *Strept. agalactiae*, *Strept. uberis*, *Enterococcus* spp., *Corynebacterium* spp. alebo *Bacillus* spp. Tretia zóna "C" je určená na identifikáciu gram negatívnych patogénov vrátane *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas* spp.

ClearMilk Test

Tento test sa používa na rýchlu 24-hodinovú kultiváciu vzoriek mlieka v podmienkach na farme. Vzorky mlieka boli aplikované na povrch platne tromi rôznymi selektívnymi chromogénnymi agarmi. Výsledky boli analyzované po inkubácii každej platničky, ktorá je rozdelená do troch zón (obr. 1):

Sektor G-: rastú tu farebne odlíšené baktérie, ktoré patria do skupiny tzv. gram negatívnych tyčiniek. Stafylokokový sektor: rastú tu baktérie rodu *Staphylococcus* spp. Streptokokový sektor: rastú tu baktérie rodu *Streptococcus* spp.

Obrázok č. 1 Pozitívny CMT (s pozitívnym skóre 3 v pravej zadnej štvrti) a kultivácia vzoriek na platniach MicroMast a ClearMilk teste



VÝSLEDKY A DISKUSIA

Mastitída sa považuje za globálne ochorenie, ktoré sa prejavuje v rôznych formách (subklinických, chronických a klinických), ktoré sú spôsobené najmä nákazlivými a environmentálnymi baktériami. Jedným z prvých ukazovateľov infekcie vemena je zvýšený počet somatických buniek (SCC), často spojený so zníženou produkciou mlieka (Halasa et al., 2007).

Somatické bunky zostávajú cenným nástrojom na počiatočné hodnotenie mlieka, pretože rozdiely medzi zdravými a chorými zvieratami sú zrejmé. Kalifornský test mastitídy (CMT) sa bežne používa na farmách na rýchle hodnotenie štvrtinových vzoriek mlieka, najmä na detekciu subklinických foriem mastitídy, ale neumožňuje identifikáciu patogénov (Tančin a Tančinová, 2008; Tomassoni et al., 2023).

Po kontrole a palpácii vemena v našom experimente sa vykonal CMT na prvých vzorkách mlieka od každej z 520 dojníc. Z 2 080 skúmaných štvrtí bolo 49 atrofovaných, alebo bez produkcie mlieka. Z 2031 hodnotených štvrtí bolo 1887 (92,9 %) negatívnych so skóre CMT 0. Pozitívne vzorky so skóre CMT 1 až 3 v počte 144 (7,09 %) boli testované na patogény mliečnej žľazy pomocou dvoch kultivačných metód.

V súčasnosti je riešením vývoj metód rýchleho testovania vzoriek na farme, ktoré skracujú čas a náklady spojené s prepravou vzoriek a laboratórnou detekciou (Prášek, 2023).

Po 24 hodinách kultivácie na platniach MicroMast boli bakteriálne patogény vemena potvrdené u 122 vzoriek (84,7 %) v sektoroch B a C, určené na rozlíšenie medzi gram pozitívnymi (72,1 %) a gram negatívnymi (27,9 %) baktériami. Bol potvrdený súčasný rast v sektore A pre všetky pozitívne prípady rastu v sektoroch B alebo C, kontaminácia vzorky bola vylúčená. V 22 prípadoch (15,3 %) boli vzorky negatívne bez rastu kolónií vo všetkých sektoroch.

Pri hodnotení rastu na teste ClearMilk za rovnakých kultivačných podmienok bola pozitivita zaznamenaná v 134 prípadoch (93,1 %). V sektore určenom na rast gram pozitívnych baktérií z kmeňa *Streptococcus* spp. bol pozitívny rast zistený v 25,4 % prípadov, v sektore pre *Staphylococcus* spp. bola miera pozitivity zaznamenaná v 61,2 % prípadov a v sektore rastu pre gram negatívne baktérie bol rast zaznamenaný v 13,4 % vzoriek. V 10 negatívnych vzorkách (6,9 %) sa rast kolónií nepozoroval ani v jednom sektore.

Podľa Hogeveen et al. (2021) a Woudstra et al. (2023) predstavuje mastitída vemena významný zdravotný problém kvôli širokej škále pôvodcov.

Holko et al. (2019) vo svojej štúdii zistili, že mnohé prípady intramamárnych infekcií (IMI) v slovenských stádach dojníc sú spôsobené gram pozitívnymi mikroorganizmami ako *Staphylococcus* spp. alebo *Streptococcus* spp., čo potvrdila aj naša štúdia. Z koaguláza-

negatívnych stafylokokov bol v oboch testoch najčastejšie potvrdený *S. chromogenes* (15,3 % a 18,1 %). Ďalšie CNS (*S. epidermidis, S. sciuri*) boli vo väčšej miere izolované a následne identifikované z testu ClearMilk (8,3 %, 6,9 %).

V štúdii Hisira et al. (2020) boli najrozšírenejšími baktériami koaguláza-negatívne stafylokoky (50 %), nasledované *Enterococcus* spp. (16,7 %), *Proteus* spp. (11,1 %) a *Aerococcus viridians* (11,1 %). Podobné výsledky ako v našej štúdii popisujú Prášek et al. (2024), kde bol najčastejší *Streptococcus uberis* izolovaný u 16 (51,6 %), koaguláza-negatívne stafylokoky (CNS) v 8 (25,8 %), *E. coli* v 5 (16,1 %) a žiadny nárast v 2 (6,5 %) prípadoch. Prevalencia IMI spôsobená koliformnými baktériami dosahuje až 20,0 % v závislosti od štruktúry poľnohospodárskeho podniku a hygienických podmienok (Holko et al. 2019).

V našej štúdii bola prevalencia *E. coli* 15,9 %, respektíve 12,5 %, čo však neznižuje závažnosť infekcie, pretože stále ide o relatívne vysoké percento výskytu. Napriek akceptovanej úlohe týchto baktérií ako častých patogénov spôsobujúcich mastitídu u kráv sa patogenita rôznych druhov CNS (koaguláza-negatívne stafylokoky) značne líši (Sameer et al. 2018). Ďalšie typy baktérií v našej štúdii boli počas obdobia štúdie zastúpené *Streptococcus agalactiae, E. coli, Enterococcus* spp. a *Bacillus* spp.

Pri porovnaní testov MicroMast a ClearMilk bola pozorovaná vyššia citlivosť pozitívnych vzoriek v teste ClearMilk na úrovni 93,1 % v porovnaní s kultiváciou na platni MicroMast pri 84,7 % (tabuľka č. 1).

Saila et al. (2023) opísali štúdiu pomocou testu kultúry na farme (OFC; Mastatest HiSCC; Mastaplex Limited), ktorý na detekciu patogénov subklinickej mastitídy používa náplň s 2 × 12 jamkami, čo umožňuje analyzovať 1 vzorku v duplikátoch (24 jamiek) alebo 2 vzorky analyzované súčasne, každá v 12 jamkách. Výsledky analýz mlieka sa uvádzajú hierarchicky (*S. aureus* → CNS → iné grampozitívne alebo koliformné/gramnegatívne → bez prítomnosti baktérií) a odosielajú sa e-mailom do 24 hodín. Ako bolo stanovené referenčnou normou S43 a testom OFC, asi 45 % z 228 súhrnných vzoriek mlieka obsahovalo *S. aureus* s prevalenciou v rozmedzí od 20 % do 84 % v 9 farmách. Testovacia metóda OFC spoľahlivo identifikuje prítomnosť *S. aureus* v štvrťovom mlieku a súhrnnom kravskom mlieku od kráv s SCC ≥ 150 000 buniek/ml. Pri absencii *S. aureus* v tomto mlieku spoľahlivo identifikuje CNS v kombinovanom kravskom mlieku. V porovnaní s referenčným štandardom bola metóda rýchla s výsledkami vrátenými do 24 hodín od naplnenia kazety.

Len výsledky spoľahlivého testu na farme by sa mali použiť na informovanie o nákladných rozhodnutiach (napr. zadržanie mlieka, poradie dojenia, utratenie kráv s opakujúcimi sa infekciami) a na selektívne používanie antibiotík. (McDougall et al., 2022, Saila et al,. 2023). Preto je dôležité poznať spoľahlivosť testovacej metódy [t. j. zhodu s referenčným

štandardom (RM), špecifickosťou (Sp) a citlivosťou (Se)] pri klasifikácii kravy (alebo dokonca štvrtiny) ako kravy s IMI alebo bez nej. Najlepšie sa to robí porovnaním výsledkov testu na farme so zlatým štandardom, ktorý je 100% presný, ale keďže pre IMI neexistuje žiadny takýto zlatý štandard, porovnanie sa uskutoční s akceptovaným referenčným štandardom pri zohľadnení obmedzení tohto akceptovaného štandardu (Dohoo et al., 2011).

Výsledky izolácie patogénov pomocou platní Micromast a rýchlych farmárskych testov ClearMilk v našej štúdii boli potvrdené dvoma metódami bežne používanými na izoláciu a diagnostiku patogénov vemena v laboratórnych podmienkach. Výskyt jednotlivých patogénov, či už gram negatívnych alebo gram pozitívnych, bol v našom prípade porovnateľný pri použití oboch testov.

Tabuľka č. 1, Porovnanie patogénov na základe kultivácie na MicroMast a ClearMilk

	MicroMast platne		ClearMilk Test	
Patogén vemena	Pozitívne	% (zo 144 vzoriek)	Pozitívne	% (zo 144 vzoriek)
Staphylococcus spp.				
S. aureus	23	*15,9*	24	*16,7*
S. intermedius	8	*5,5*	6	*4,1*
*S. chromogenes**	22	*15,3*	26	*18,1*
*S. epidermidis**	7	*4,9*	12	*8,3*
*S. sciuri**	2	*1,4*	10	*6,9*
Streptococcus spp.	-	-	5	*3,5*
Streptococcus bovis	16	*11,1*	23	*15,9*
Ostatné patogény				
E. coli	23	*15,9*	18	*12,5*
Proteus spp.	11	*7,6*	-	-
Bacillus spp.	6	*4,1*	-	-
Zmiešaná IMI infekcia**	4	*6,9*	10	*2,8*
Spolu	122	*84,7*	134	*93,1*

KNS* – Koaguláza-negatívne stafylokoky; Zmiešaná IMI infekcia** - zmiešaná intramamárna infekcia reprezentovaná pozitívnymi vzorkami s dvomi alebo viacerými patogénmi vemena.

ZÁVER

Výsledky získané z tejto štúdie nám umožnili preukázať, že aj keď použitie CMT v podmienkach farmy neumožňuje identifikáciu patogénu, môže naznačovať prebiehajúci alebo začínajúci zápal vemena. Porovnaním dvoch rýchlych metód kultivácie vzoriek mlieka bola citlivosť pozitívnych vzoriek pozorovaná na 84,7 % na platniach MicroMast a až 93,1 % pri použití testu ClearMilk. Potvrdenie prítomnosti *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., významného podielu koaguláza-negatívnych stafylokokov a *E. coli* vo vzorkách mlieka mastitídnych kráv zdôrazňuje potenciálne zdravotné riziká pre konečných spotrebiteľov. Preto je nevyhnutné, aby poľnohospodári mohli čo najskôr identifikovať infekčné zvieratá. Použitie CMT na zistenie potenciálneho rizika mastitídy, najmä v prípadoch subklinických infekcií, doplnené rýchlymi kultivačnými testami na identifikáciu konkrétnej skupiny patogénov, je jedným zo spôsobov, ako priamo zachytiť infekcie spôsobené patogénmi vemena na farme, čím sa začne včasná liečba a zníži sa negatívny vplyv mastitídy na zdravie kráv. Na základe výsledkov sú oba použité testy porovnateľné, a preto ich možno v praxi použiť na rýchlu detekciu patogénov vemena. Výhodou testu ClearMilk môže byť presnejšia detekcia a rýchlejšia diferenciácia patogénov G+ vďaka oddeleným zónam pre *Staphylococcus* spp. a *Streptococcus* spp.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-22-0457 a projektami VEGA č. 1/0162/23 a KEGA 011UVLF-4/2024.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Dohoo, I. R., Smith, J., Andersen, S., Kelton, D.F., Godden, S. (2011): Diagnosing intramammary infections: Evaluation of definitions based on a single milk sample. J Dairy Sci 94: 250–261
2. Halasa, T., Huijps, K., Osteras, O., Hogeveen, H. (2007): Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. Vet Quart 29: 18-31
3. Hisira, V,. Slovak, P., Marčeková, P., Kadáši, M., Mudroň, P. (2020). Assessment of udder health in lame cows. Acta vet Brno 89: 133–140
4. Hogeveen, H., Huijps, K., Lam, T. J. (2021): Economic aspects of mastitis: New developments. N Z Vet J 59: 16–23
5. Holko, I., Tančin, V., Vršková, M., Tvarožková, K. (2019): Prevalence and antimicrobial susceptibility of udder pathogens isolated from dairy cows in Slovakia. The Journal of dairy research 86 (4): 436–439

6. Jackson, P., Cockcroft, P. (2002): Clinical examination of farm animals. Blackwell Science Ltd., Oxford, UK: 154-166
7. McDougall, S., Clausen, L. M., Hussein, H. M., Compton, C. W. R. (2022): Therapy of subclinical mastitis during lactation. Antibiotics (Basel) 11: 209
8. Nayan, V., Bhardwaj, A., Balhara, A. (2014): Mastitis in buffalo: Risk factors. (Online: http://www.buffalopedia.cirb. res.in/2014, accessed on 4th April 2014)
9. Prášek, J, (2023): *Micromast test.* Veterinary practice (in Czech) Available at: http://www.josefprasek.cz/micromast-examination-procedure/
10. Saila, S., Bork, O., Tucker, I. G., Cranefield, S., Bryan, M. A. (2023): Evaluation of an on-farm culture system for the detection of subclinical mastitis pathogens in dairy cattle. JDS Communications 4 (4): 298-302
11. Škarda, J., Škardová, O. (2000): Výživa. In: Program péče o produkci a zdraví stáda dojnic (in czech). Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha: 41 – 55.
12. Tančin, V., Tančinová, D. (2008): Machine milking and milk quality. Nitra: SCPV: 47–74
13. Tančin, V., Uhrinčať, M. (2014): The effect of somatic cells on milk yield and milk flow at quarter level. Veterinarija ir Zootechnika 66: 69−72
14. Tommasoni, Ch., Fiore, E., Lisuzzo, A., Gianesella, M. (2023): Mastitis in Dairy Cattle: On-Farm Diagnostics and Future Perspectives Animals (Basel) 15: 2538.
15. Woudstra, S., Wente, N., Zhang, Y., Leimbach, S., Kirkeby, C., Gussmann, M. K., Krömker, V. (2023): Reservoirs of *Staphylococcus spp.* And *Streptococcus spp.* Associated with Intramammary Infections of Dairy Cows. Pathogens 12: 699

Kontaktná adresa: MVDr. Zuzana Farkašová, PhD., Department of Animal Nutrition and Husbandry, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: zuzana.farkasova@uvlf.sk

MÚČNE ČERVY AKO POTENCIONÁLNY ZDROJ PROTEÍNOV PRE INOVATÍVNE BEZGLUTÉNOVÉ POTRAVINY

MEALWORMS AS A POTENTIAL PROTEIN SOURCE FOR INNOVATIVE GLUTEN-FREE FOODS

Fikselová Martina, Ondrášková Jana, Zeleňáková Lucia, Židek Radoslav, Lukáčová Stanislava, Čapla Jozef, Kunová Simona

FBP SPU Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 01, Nitra

ABSTRACT

Edible insect is considered to be the one of the most promising alternative protein sources. In the case of a gluten-free diet, people are not supplied to the body in sufficient quantities of protein. Mealworm is a rich source of protein and does not contain any gluten, therefore it can be a solution to increase protein intake in a gluten-free food for people suffering from celiac disease or gluten allergy. In this work, the addition of mealworms to gluten-free crispbreads in the amounts of 5 and 10%, with different fruit and vegetable juice variants was performed. Subsequently, the developed products were analyzed for protein and dry matter content and texturometric properties. The control sample contained 12.8% protein in dry matter, by addition of 10% mealworm powder, the protein content increased to 19.07%, by 49%. The dry matter content did not change significantly by addition of mealworms. Their addition changed the texture of the crispbreads; the higher addition of mealworms, the lower force was required for compression. Due to its nutritional value, low environmental impact and culinary versatility, edible insect has the potential to contribute to the enrichment of the gluten-free food supply.

Key words: mealworm, gluten - free products, knäckebrots, protein, dry matter

ÚVOD

V súčasnej dobe je jedným z kľúčových trendov v oblasti výživy a potravinárstva hľadanie alternatívnych zdrojov bielkovín. Jedným z najinovatívnejších a zároveň najkontroverzných riešení je využitie jedlého hmyzu ako potraviny, čo predstavuje výzvu aj príležitosť pre potravinársky priemysel. Medzi rôzne druhy jedlého hmyzu, ktoré boli schválené EK do potravín patria aj múčne červy (*Tenebrio molitor*), so širokými možnosťami využitia v rôznych potravinárskych produktoch (Erricová et al., 2022). Múčiar obyčajný označovaný ako múčny červ, je členom radu Coleoptera z čeľade Tenebrionidae. Jeho vývinový cyklus je zložený zo 4 fáz – vajíčko, larva, kukla a dospelý jedinec. Larvy sa ľahko množia, môžu sa produkovať bez výrazných problémov (Oonincx et al., 2019). Larvy obsahujú 25 % – 63 %

bielkovín v sušine, v závislosti od typov chovných substrátov použitých na ich chov (Syahrulawal et al., 2023). Aminokyselinový profil lariev *Tenebrio molitor* zahŕňa všetky esenciálne aminokyseliny potrebné pre ľudskú výživu (Hong et al., 2020). Obsahujú asi 27 % tuku, v závislosti od obsahu ostatných živín a spôsobu spracovania (Kotsou et al., 2023). V prípade bezlepkových múk možno pridaním jedlého hmyzu dosiahnuť nielen nutričné obohatenie, ale aj prijateľné technologické vlastnosti, zlepšenie niektorých vlastností finálneho produktu, ako je konzistencia (Adamek et al., 2023). Popularita hmyzu sa zvyšuje nielen vďaka hľadaniu udržateľných zdrojov bielkovín, ale aj vďaka potenciálnym nutričným a zdravotným výhodám, ktoré môže jedlý hmyz predstavovať (Adamek et al., 2023). Hmyzie prídavky by mohli byť dobrým zdrojom bielkovín najmä v bezlepkových produktoch, keď sa hľadajú náhrady za gluténový proteín (Zielińska a Pankieviwiczová, 2020). *Tenebrio molitor* môže byť na trh uvedený ako sušený celok alebo ako súčasť iných potravinárskych výrobkov (proteínové výrobky, sušienky, cestoviny) (Vykonávacie Nariadenie Komisie (EÚ) 2021/882).

Cieľom práce bola príprava a následná analýza bezgluténových pekárskych produktov (knäckebrotov) na báze prídavku múčnych červov (*Tenebrio molitor*). Vyvinuté výrobky s max. 10 % prídavkom hmyzieho prášku porovnať s kontrolnou vzorkou. Analyzovať ich z hľadiska obsahu sušiny, bielkovín a texturometrických vlastností.

MATERIÁL A METÓDY

Bezlepkové výrobky s prídavkom múčnych červov (*Tenebrio molitor*)

Sušené červy určené do potravín boli zomleté na prášok a použité na prípravu bezlepkových knäckebrotov s 5 a 10 % prídavkom. Ako základ navrhovaných výrobkov bola použitá kukuričná múka. Ďalej boli použité slnečnicové, ľanové a sezamové semená, rôzne príchute vo forme ovocných a zeleninových štiav, slnečnicový olej a soľ.

Postup prípravy vzoriek obohatených o múčne červy

Pri príprave knäckebrotov bola navážená kukuričná múka, slnečnicové, ľanové a sézamové semená, soľ. Hmyzí prášok z múčnych červov bol použitý do všetkých vzoriek okrem kontrolnej, s prídavkom 5 % a 10 %. Po premiešaní surovín bol do cesta pridaný olej a šťava zohriata na teplotu 50 °C. Následne bolo cesto rozvaľkané na hrúbku 1,5 - 2 mm a vykrojené boli štvorce s veľkosťou 4 x 4 cm. Knäckebroty boli pečené pri teplote 150 - 160 °C, 20 minút. Celkovo bolo vytvorených 11 vzoriek, z toho 5 vzoriek – 5 príchutí s 5 % prídavkom hmyzieho prášku z múčnych červov a 5 vzoriek – 5 príchutí s 10 % prídavkom hmyzieho prášku z múčnych červov (tab. 1). Kontrolná vzorka sa pripravila bez pridania hmyzieho prášku a príchute, s pridaním vody.

Tab. 1 Zoznam vyvinutých výrobkov

Výrobok		**Prídavok *T. molitor***	**Použité druhy štiav**
1	Kontrolná vzorka	bez prídavku	voda
2	mango-jablko	5 %	mangová dreň 25 % + jablková šťava 75 %
3	pomaranč	5 %	pomarančová šťava 100 %
4	mrkva	5 %	mrkvová šťava 100 % + zázvor (0,35 g zázvoru na 180 g cesta)
5	cvikla	5 %	cviklová šťava 100 %
6	jablko	5 %	jablková šťava 100 % + škorica (0,35 g škorice na 180 g cesta)
7	mango-jablko	10 %	mangová dreň 25 % + jablková šťava 75 %
8	pomaranč	10 %	pomarančová šťava 100 %
9	mrkva	10 %	mrkvová šťava 100 % + zázvor (0,35 g zázvoru na 180 g cesta)
10	cvikla	10 %	cviklová šťava 100 %
11	jablko	10 %	jablková šťava 100 % + škorica (0,35 g škorice na 180 g cesta)

Stanovenie obsahu sušiny v knäckebrotoch

Stanovenie sušiny sa realizovalo na elektronickej sušiacej váhe KERN DAB 100-3 (KERN & SOHN GmbH, Balingen, Germany) pri teplote 110 °C. Vzorka sa navážila v množstve 2.000±0.001 g a obsah sušiny sa stanovil po vysušení do konštantnej hmotnosti.

Stanovenie obsahu bielkovín v knäckebrotoch

Homogenizovaná vzorka sa navážila 0.3000 ± 0.0001 g na analytických váhach Sartorius TE214S-0CE (Sartorius Servis s. r. o., Bratislava, Slovakia) do sklenenej trubice (Foss Analytical AB, Höganäs, Sweden). K vzorkám sa pridalo 5 ml koncentrovanej kyseliny sírovej (p. a., 96 %, Centralchem, Bratislava, Slovakia) a katalyzátor s obsahom 1,5 g K_2SO_4 + 7,5 mg Se (1000 Kjeltabs Auto, Foss Analytical AB, Höganäs, Sweden). Vzorky sa termicky rozložili v zariadení TecatorTM Digestor Auto (Foss Analytical AB, Höganäs, Sweden) pri teplote 420 °C počas 100 min. Po vychladení sa k vzorkám pridalo 15 ml deionizovanej vody. Následne sa vzorky destilovali v zariadení KjeltecTM 8200 Auto Distillation Unit (Foss Analytical AB, Höganäs, Sweden) s prídavkom zmesi acidobázických indikátorov. Takto pripravené vzorky sa titrovali odmerným roztokom HCl s koncentráciou 0,1 $mol.dm^{-3}$ (Constantal HCl, Microchem s. r. o., Pezinok, Slovakia). Od spotreby roztoku na titráciu vzoriek sa odčítala spotreba odmerného roztoku pre titráciu slepej vzorky.

Výsledok sa vyhodnotil podľa vzorca:

$$Obsah\ bielkovín\ v\ \% = \frac{\text{Spotreba HCl (ml)} * 0{,}14 * 6{,}25}{\text{návažok (g)}}$$

Prepočet bielkovín na 100 % sušinu:

$$\%\ bielkovín\ (100\ \%\ suš.) = \frac{\text{bielkoviy} * 100}{(100 - \text{vlhkosť}\ \%)}$$

Texturometrické stanovenie knäckebrotov

Textúra výrobkov bola hodnotená na analyzátore textúry TA.XT Plus (Stable Micro Systems, Veľká Británia). Textúra knäkebrotov bola hodnotená s použitím 5-lopatkovej Kramerovej sondy (HDP/KS5) pomocou 30 kg silomeru a vyjadrená ako meranie sily v kompresii (N/sec), resp. ako lámavosť pripravenej vzorky.

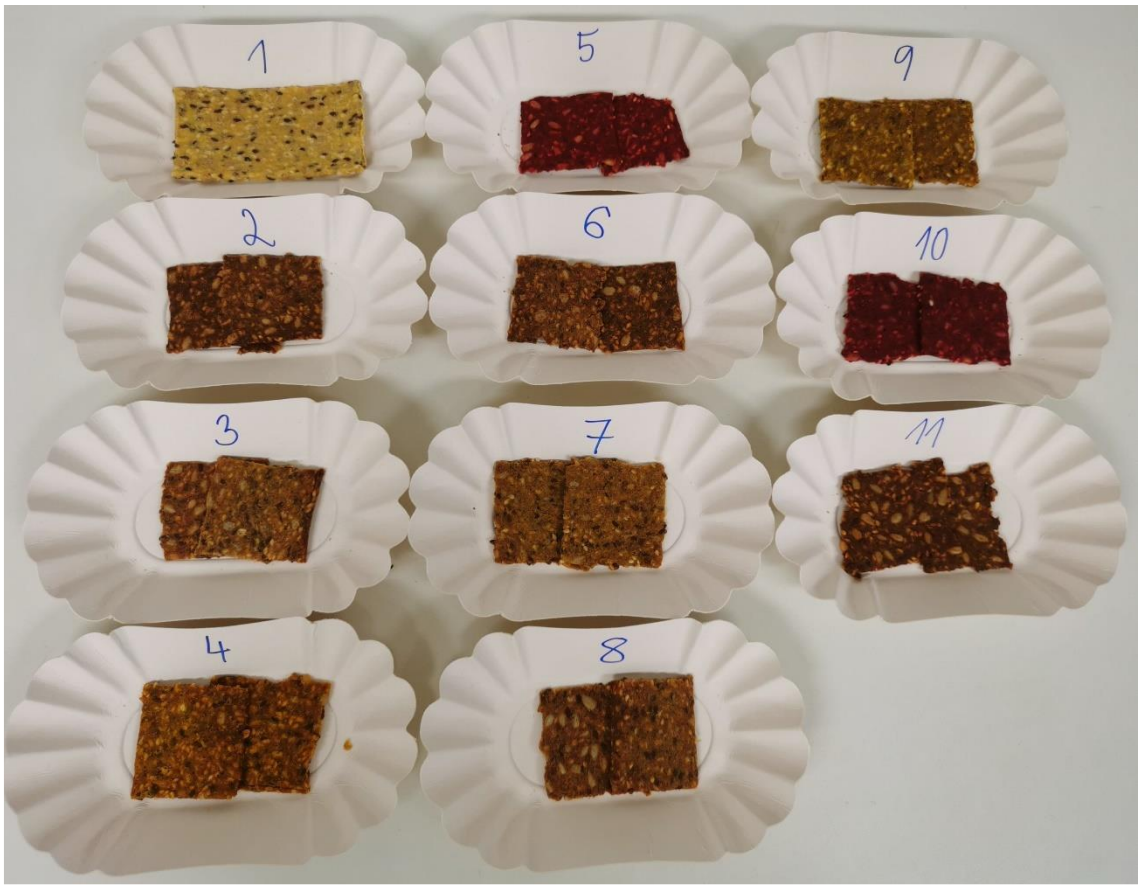
Výsledky sú uvedené ako priemerné stanovenia pre jednotlivé navrhované vzorky (kontrolná, s 5 a 10 % prídavkom).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

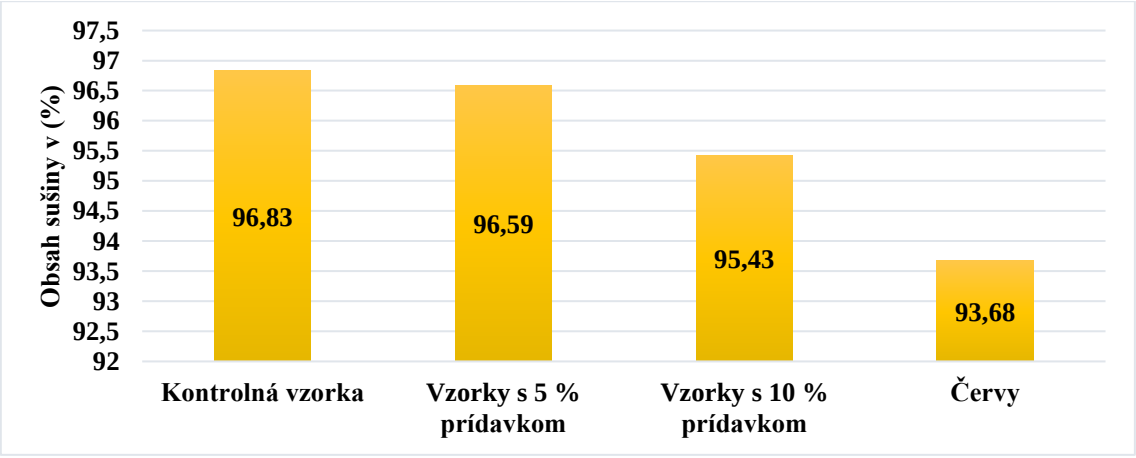
Štúdia prezentovaná kolektívom autorov Schöslerová et al. (2012) poukazuje, že akceptácia hmyzu v potravinárskych výrobkoch spotrebiteľmi sa zvýšila, keď hmyz nebol viditeľný vo výrobkoch. Vizuálny dojem je rozhodujúci, pretože je prvou možnosťou pre spotrebiteľa vytvoriť si názor na produkt (Gantnerová et al., 2022).

Obohatenie základných potravín na báze obilnín o hmyz, zvyšuje podiel bielkovín a tukov a je vhodné na prevenciu nutričných nedostatkov v populáciách, ktoré majú ťažký prístup k potravinám bohatým na bielkoviny. Vhodným použitím hmyzu ako prídavku nie sú ohrozené senzorické vlastnosti (chuť, vzhľad, textúra, farba atď.) ani technologické vlastnosti produktov (Acosta-Estrada et al., 2021).

V sušine sú obsiahnuté všetky podstatné látky, ako bielkoviny, nenasýtené mastné kyseliny, vrátane kyseliny olejovej, kyseliny linolovej a tiež vitamíny a minerálne látky, ako sodík, horčík, draslík, fosfor, zinok (Kröncke et al., 2023).

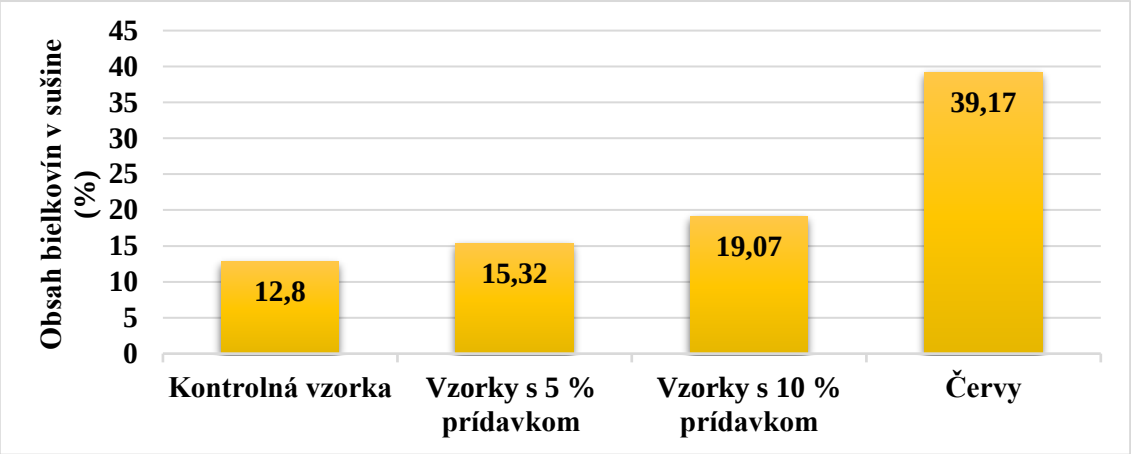


Obrázok 1 Vzorky vyvinutých bezgluténových knäckebrotov



Graf 1 Obsah sušiny v knäckebrotoch (%)

Kontrolná vzorka knäckebrotu obsahovala 96,83 % sušiny. Po pridaní 5 % prídavku múčnych červov sa jej hodnota znížila na 96,59 % , po pridaní 10 % prídavku múčnych červov sa obsah sušiny znížil o 1,43 % na hodnotu 95,43 %. Samotné červy *Tenebrio molitor* obsahovali 93,68 % sušiny (graf 1).



Graf 2 Obsah bielkovín prepočítaný na sušinu (%)

Bezgluténové výrobky sú ochudobnené o cenné zložky ako sú bielkoviny, vitamíny či minerálne látky (Naqash et al., 2017). Obohatením bezgluténových knäckebrotov práškom z múčnych červov sme docielili zvýšenie obsahu bielkovín. Kontrolná vzorka obsahovala 12,8 % bielkovín v sušine, po pridaní 5 % prášku z múčnych červov sa zvýšil obsah bielkovín na 15,32 % a po pridaní 10 % prášku z múčnych červov nastal nárast obsahu bielkovín vo výrobku na 19,07 % (graf 2).

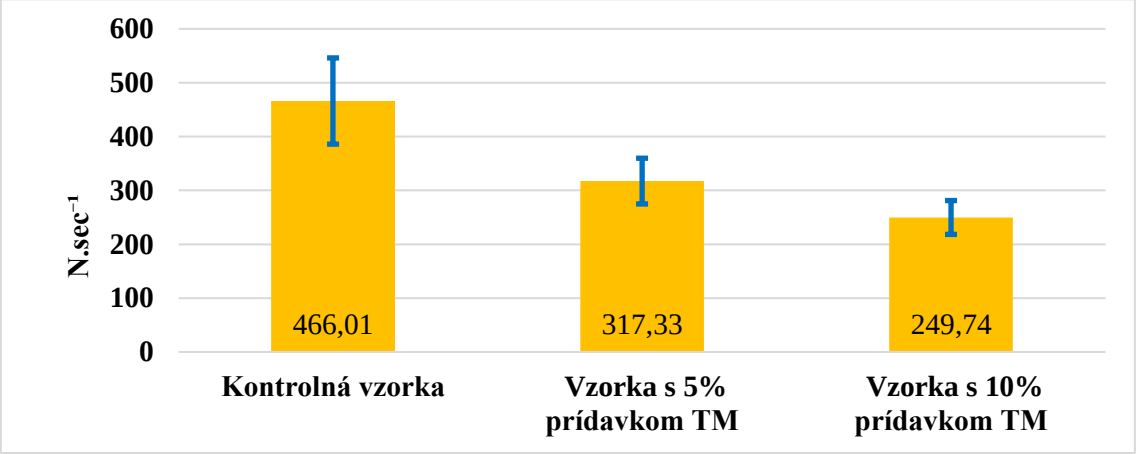
V prípade bezgluténovej diéty sa bielkovín do tela dostáva nedostatočné množstvo (Jones, 2017). Prášok z lariev *Tenebrio molitor* je bohatým zdrojom bielkovín (Syahrulawal et al., 2023), ako sa potvrdilo aj v našom prípade (39,17 %) a neobsahuje lepok.

Larvy múčneho červa majú dobre vyvážený profil esenciálnych aj neesenciálnych aminokyselín. Obsah esenciálnych aminokyselín spĺňa požiadavky pre dospelých, odporúčané FAO/WHO.

Roncolini et al. (2019) testovali zahrnutie prášku z múčnych červov (*Tenebrio molitor*) do chlebového cesta pri 5 a 10 % náhrade múky z mäkkej pšenice (*Triticum aestivum*) na výrobu chlebov obohatených o bielkoviny. Pridanie prášku z múčnych červov neovplyvnilo negatívne technologické vlastnosti cesta ani chleba. Všetky testované cestá vykazovali rovnakú schopnosť kysnutia, chleby s 5 % prídavkom vykazovali najvyšší špecifický objem a najnižšiu tuhosť. Chleby obohatené o 10 % prídavok prášku z múčnych červov vykazovali výrazné zvýšenie obsahu voľných aminokyselín, a to najmä esenciálnych aminokyselín ako sú tyrozín, metionín, izoleucín a leucín.

Výroba bezgluténových pekárskych produktov prináša množstvo technologických výziev, ktoré vyplývajú z absencie lepku. Lepok má v pekárskych výrobkoch kľúčovú úlohu pri tvorbe štruktúry, elasticity cesta a zachovaní vlhkosti, čo priamo ovplyvňuje textúru, objem a trvanlivosť výrobkov. Jeho absencia má za následok, že bezgluténové výrobky majú často

horšiu štruktúru, menší objem a sú krehkejšie v porovnaní s výrobkami z obilnín. Tieto produkty môžu byť tiež suchšie a menej pružné, čo ovplyvňuje ich konzistenciu a celkovú kvalitu (Santos et al., 2021). V našom prípade boli knäckebroty s prídavkom jedlého hmyzu krehkejšie v porovnaní s kontrolnou vzorkou bez prídavku hmyzu (graf 3), čo hodnotíme veľmi pozitívne.



Graf 3 Výsledky texturometrického stanovenia knäckebrotov – meranie sily v kompresii (N.sec $^{-1}$)

Texturometrickým stanovením knäckebrotov môžeme konštatovať, že najväčšiu silu potrebnú na kompresiu potrebovala kontrolná vzorka bez prídavku múčnych červov, a to 466,01 N.sec $^{-1}$. Pridaním 5 % prášku z múčnych červov nastalo zníženie kompresie na 317,33 N.sec. $^{-1}$. Najnižšia sila potrebná na kompresiu bola zistená pri vzorke s 10 % prídavkom múčnych červov, a to 249,74 N.sec. $^{-1}$ (graf č. 3). Čím bol prídavok múčnych červov vyšší, tým bola sila potrebná na kompresiu nižšia, tzn. so zvyšujúcim sa prídavkom múčnych červov sa lámavosť vzorky znižovala. Mohlo to byť spôsobené zvýšeným obsahom tuku v larvách múčnych červov, ktoré obsahujú v priemere až 27 % tuku (Kotsou et al., 2023).

Djouadi et al. (2022) pozorovali taktiež pokles tvrdosti výrobkov typu krekry pri zapracovaní hmyzieho prášku. Nastalo zníženie tvrdosti približne o 30 % v porovnaní kontrolnej vzorky a výrobkami s 15 % prídavkom hmyzieho prášku. Čím viac prídavku *Tenebrio molitor* je zapracovaného, tým menšia sila je potrebná na zlomenie výrobku, t. j. krekry sa stanú krehkejšie. Tento pokles tvrdosti je sprevádzaný skrátením doby lámania štruktúry, t. j. k lámaniu štruktúry dochádza skôr, čo je spojené s väčšou chrumkavosťou. Toto sa potvrdilo aj v našom prípade pri texturometrickom stanovení knäckebrotov, kde nastalo zníženie sily potrebnej na zlomenie približne o 46 % pri knäckebrotoch s 10 % prídavkom v porovnaní s kontrolnou vzorkou.

V prípade bezlepkových múk možno pridaním jedlého hmyzu dosiahnuť nielen nutričné obohatenie ale aj prijateľné technologické vlastnosti, ako je konzistencia. Fortifikácia cesta na prípravu bezlepkového pečiva jedlým hmyzom ovplyvňuje zmenu textúrnych vlastností v priebehu času, hmyzí prášok spomaľuje tvrdnutie produktu počas skladovania (Adamek et al., 2023).

ZÁVER

Bezgluténové múky, ako sú ryžová, kukuričná alebo škroby, majú vo všeobecnosti nižší obsah bielkovín, vlákniny či iných živín v porovnaní so pšeničnou múkou. Preto je dôležité hľadať vhodné alternatívy a doplnkové suroviny, ktoré zvýšia ich výživovú hodnotu. Fortifikácia pekárenských výrobkov jedlým hmyzom zvyšuje v nich obsah bielkovín, vitamínov či minerálnych látok. Po pridaní 10 % prášku z múčnych červov nastalo v našom prípade zvýšenie obsahu bielkovín vo výrobku cca o 49 %. Pri texturometrickom hodnotení knäckebrotov, nastalo zníženie sily potrebnej na zlomenie výrobku cca o 46 % pri knäckebrotoch s 10 % prídavkom TM.

Prínosom tejto práce pre priemysel ako aj pre spotrebiteľov je navrhnutie obohatených výrobkov pre osobité kategórie ľudí, ktorí sú odkázaní na bezgluténovú diétu. Vďaka svojej nutričnej hodnote, nízkemu vplyvu na životné prostredie a kulinárskej všestrannosti má jedlý hmyz potenciál prispieť k obohateniu potravinovej ponuky.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená projektom KEGA č. 013SPU-4/20 a KEGA č. 002SPU-4/2025.

ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

1. ACOSTA – ESTRADA, B. A. – REYES, A. - ROSELL, C. M. – RODRIGO, D. 2021. Benefits and Challenges in the Incorporation of Insects in Food Products. *Nutritional Epidemiology.* Online. Vol. 8. Dostupné na: <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.687712>
2. ADAMEK, M. – ZVONKOVÁ, M. – BUREŠOVÁ, I. – BURAN, M. – ŠEVČÍKOVÁ, V. – ŠEBESTÍKOVÁ, R. – ADÁMKOVÁ, A. – SKOWRONKOVÁ, N. – MLČEK, J. 2023. Use of a Thermodynamic Sensor in Monitoring Fermentation Processes in Gluten-Free Dough Proofing. Sensors. Online. Vol. 23, no. 1, s. 534. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/s23010534>

3. DJOUADI, A. – SALES, J. R. – CARVALHO, M. O. – RAYMUNDO, A. 2022. Development of Healthy Protein-Rich Crackers Using *Tenebrio molitor* Flour. *Foods*. Online. Vol. 11, no. 5. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/foods11050702>
4. ERRICOVÁ, S. – SPAGNOLETTA, A. – VERARDIOVÁ, A. – MOLITERNI, S. – DIMATTEO, S. – SANGIORGIO, P. 2022. Tenebrio molitor as a source of interesting natural compounds, their recovery processes, biological effects, and safety aspects. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safery. Onlione. Vol. 21, no. 1, s. 148-197. Dostupné na: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12863>
5. GANTNEROVÁ, M. – KRÓL, K. – PIOTROWSKA, A. – SIONKOVÁ, B. – SADOWSKA, A. – KULIK, K. – WIACEK, M. 2022. Adding Mealworm (*Tenebrio molitor* L.) Powder to Wheat Bread: Effects on Physicochemical, Sensory and Microbiological Qualities of the End-Product. *Molecules*. Online. Vol. 27, no. 19. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/molecules27196155>
6. HONG, J. – HAN, T. – KIM, Y. Y. 2020. Mealworm (Tenebrio molitor Larvae) as an Alternative Protein Source for Monogastric Animal: A Review. Animals. Online. Vol. 10, no. 11, s. 2068. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/ani10112068>
7. JONES, A. L. 2017. The Gluten-Free Diet: Fad or Necessity? *Diabetes Spectr*. Online. Vol. 30, no. 2, s. 118-123. Dostupné na: <https://doi.org/10.2337/ds16-0022>
8. KOTSOU, K. – CHATZIMITAKOS, T. – ATHANASIADIS, V. – BOZINOU, E. – ATHANASSIOU, C. G. – LALAS, S. I. 2023. Innovative Applications of Tenebrio molitor Larvae in Food Product Development: A Comprehensive Review. Foods. Online. Vol. 12, no. 23. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/foods12234223>
9. KRÖNCKE, N. – WITTKE, S. – STEINMANN, N. – BENNING, R. 2023. Analysis of the Composition of Different Instars od *Tenebrio molitor* Larvae using Near – Infrared Reflectance Spectroscopy for Prediction of Amino and Fatty Acid Contect. *Insects.* Online. Vol. 14, no. 4. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/insects14040310>
10. NAQASH, F. – GANI, As. – GANI, Ad. – MASOODI, F. A. 2017. Gluten-free baking: Combating the challenges - A review. *Trends in Food Science & Technology.* Online. Vol. 66, s. 98-107. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.06.004>
11. OKAIYETO, S. A. et al. 2024. How to enhance the acceptability of insects food— A review. Food Frontiers. Online. Vol. 5, no. 2, s. 311-328. Dostupné na: <https://doi.org/10.1002/fft2.349>
12. OONINCX, D. - VAN BROEKHOVEN, S. - VAN HUIS,A. - VAN LOON, JJA. 2019. Feed Conversion, Survival and Development, and Composition of Four Insect Species

on Diets Composed of Food By-Products. PLOS ONE. Online. Vol. 14, no. 10. Dostupné na: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222043>

13. RONCOLINI, A. – MILANOVIČ, V. – CARDINALI, F. – OSIMANI, A. et al. 2019. Protein fortification with mealworm (*Tenebrio molitor L.*) powder: Effect on textural, microbiological, nutritional and sensory features of bread. *PLOSE ONE.* Online. Vol. 14, no. 2. Dostupné na: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211747>
14. SANTOS, F. G. – TATELLI C. – MUNIZ D. G. - CAPRILES V. D. 2021. The impact of dough hydration level on gluten-free bread quality: A case study with chickpea flour. *International Journal of Gastronomy and Food Science.* Online. Vol. 26. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100434>
15. SCHÖSLER, H. - BOER, J. D. - BOERSEMA, J. J. 2012. Can we cut out the meat of the dish? Constructing consumer-oriented pathways towards meat substitution. *Appetite*. Online. Vol. 58, no 1. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.appet.2011.09.009>
16. SYAHRULAWAL, L. - TORSKE, M.O. - SAPTOTA, R. et al. Improving the nutritional values of yellow mealworm Tenebrio molitor (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae as an animal feed ingredient: a review. Journal of Animal Science and Biotechnolgy. Online. Vol. 14, no. 146. Dostupné na: <https://doi.org/10.1186/s40104-023-00945-x>
17. VYKONÁVACIE NARIADENIE KOMISIE (EÚ) 2021/882 z 1. júna 2021, ktorým sa podľa nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2015/2283 povoľuje umiestnenie sušených lariev múčiara obyčajného Tenebrio molitor na trh ako novej potraviny a ktorým sa mení vykonávacie nariadenie Komisie (EÚ) 2017/2470. (Online). Dostupné na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SK/TXT/HTML/?uri=CELEX:32021R0882&from=EN>
18. ZIELIŃSKA, E. – PANKIEWICZOVÁ, U. 2020. Nutritional, Physiochemical, and Antioxidative Characteristics of Shortcake Biscuits Enriched with Tenebrio molitor Flour. Molecules. Online. Vol. 25, no. 23. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/molecules25235629>

Kontaktná adresa: Fikselová Martina, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic; E-mail: martina.fikselova@uniag.sk

NUTRIČNÉ ZLOŽENIE BRAVČOVÉHO MÄSA NA SLOVENSKU

NUTRITIONAL COMPOSITION OF PORK MEAT IN SLOVAKIA

Gondeková Martina [1], Demo Peter [1], Bučko Ondřej [2]

[1]Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky

[2] Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda Andreja Hlinku 2, Chrenová, 949 76 Nitra

ABSTRACT

The aim of this study was to analyse the basic chemical composition and fatty acid profile of *musculus longissimus dorsi* in pork meat. The results showed that the average protein content was 23.63 g.100 g-¹, slightly higher than those reported in other studies. The intramuscular fat content, excluding the subcutaneous layer, was 1.62 g.100 g-¹. The cholesterol content was found to be 45 mg.100 g-¹, which is lower than the average reported in most comparative studies. The fatty acid profile showed a content of saturated fatty acids (SFA) of 34.66%, monounsaturated fatty acids (MUFA) of 49.53% and polyunsaturated fatty acids (PUFA) of 12.20%. The PUFA/SFA ratio was 0.35, slightly below the recommended dietary threshold of 0.4. The results suggest a favourable nutritional profile of the pork studied, with potential for further improvement through optimised animal nutrition and breeding to increase PUFA levels. This study contributes to the understanding of pork quality from a nutritional and consumer health perspective.

Key words: pork meat, chemical composition, nutritional quality, PUFA/SFA ratio

ÚVOD

Bravčové mäso je jedným z najvýznamnejších zdrojov živočíšnych bielkovín v celosvetovej výžive, pričom jeho kvalita závisí od viacerých faktorov vrátane genetického pôvodu, spôsobu chovu, kŕmneho režimu a technologického spracovania (Lin et al., 2024; Lebret a Čandek-Potokar, 2021). Okrem toho majú na kvalitu mäsa vplyv aj podmienky pred porážkou a samotné procesy spracovania, ktoré môžu ovplyvniť senzorické vlastnosti a technologickú použiteľnosť mäsa (Sionek a Przybylski, 2016).

Globálny obchod s bravčovým mäsom zohráva kľúčovú úlohu v potravinárskom priemysle, pričom najväčšími exportérmi sú krajiny ako Spojené štáty, Európska únia a Brazília. Napriek ekonomickým výhodám medzinárodného obchodu môže dlhá prepravná trasa negatívne ovplyvniť kvalitu mäsa v dôsledku zmeny teploty, oxidácie lipidov a mikrobiálnej

kontaminácie (Vicente a Pereira, 2024; Sionek a Przybylski, 2016). Chladenie a mrazenie síce pomáhajú predĺžiť trvanlivosť, avšak môžu ovplyvniť štruktúru a šťavnatosť mäsa (Lebret a Čandek-Potokar, 2021). Z tohto dôvodu spotrebitelia čoraz viac uprednostňujú domáce mäso, ktoré nielenže prejde kratšou cestou od farmára k spotrebiteľovi, ale často spĺňa aj prísnejšie normy kvality a čerstvosti. Lokálne bravčové mäso tak predstavuje nielen výživovo hodnotnejšiu, ale aj ekologickejšiu alternatívu, keďže minimalizuje uhlíkovú stopu spojenú s jeho transportom (Cegiełka et al., 2024).

Slovensko však nie je sebestačné v bravčom mäse a preto je nútené bravčové mäso dovážať z okolitých krajín (Gálik et al., 2024; Kotyza et al., 2018) a mäso v niektorých prípadoch nacestuje viac ako 3500 km po krajinách EÚ. Nízky počet jatočných ošípaných na Slovensku sa prejavuje poklesom domácej produkcie bravčového mäsa. Slovenskí chovatelia ošípaných sú v súčasnosti schopní dodať na domáci trh len tretinu dopytovaného objemu bravčového mäsa. Naopak, dopyt spotrebiteľov neustále rastie, čo sa prejavuje zvýšenou spotrebou mäsa. Bravčové mäso je najviac konzumované mäso na Slovensku a podľa ŠÚ SR bola spotreba bravčového mäsa v roku 2023 na úrovni 37,2 kg na obyvateľa (ŠÚ SR, 2023). Slovenský potravinársky priemysel je v dôsledku nedostatočných a neefektívnych spracovateľských kapacít schopný pokryť spotrebiteľský dopyt len na 28 až 32 % (Gálik et al., 2024).

Významná časť dovážaného mäsa pochádza práve z krajín, kde je produkcia bravčového mäsa koncentrovaná, no často chýbajú dostupné informácie o jeho kvalite, spôsobe spracovania a transportu. Slovenskému spotrebiteľovi sa tak ponúka široká škála mäsa rôzneho pôvodu. Dôležitým aspektom pri dovoze mäsa je dodržiavanie chladiaceho reťazca, keďže porušenie teplotného reťazca môže viesť k zhoršeniu nutričných, senzorických a technologických vlastností a bezpečnosti mäsa (Sionek a Przybylski, 2016).

V tejto štúdii sme sa zamerali na vybrané nutričné parametre bravčového mäsa dostupného v obchodných sieťach a na iných predajných miestach na Slovensku.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky mäsa

Vzorky čerstvého bravčového karé (*musculus longissimus dorsi*) rôzneho pôvodu boli zakúpené v obchodných sieťach a na ďalších schválených predajných miestach čerstvého mäsa na Slovensku. Nákup prebiehal raz mesačne v rokoch 2019 – 2024, pričom bolo naraz zakúpených 4 až 6 vzoriek s rôznym pôvodom. Celkovo bolo analyzovaných 279 vzoriek z ôsmich krajín: Slovensko (n = 68), Nemecko (n = 62), Poľsko (n = 58), Španielsko (n = 44), Česká republika (n = 15), Portugalsko (n = 14), Maďarsko (n = 10) a Belgicko (n = 8).

Zakúpené boli celé balenia mäsa, ktoré boli buď vákuovo balené, balené v ochrannej atmosfére, alebo pochádzali z pultového predaja čerstvého mäsa. Hmotnosť jedného balenia bola minimálne 0,5 kg. Po zakúpení boli vzorky uskladnené v chladiacom zariadení pri teplote +2 až +4 °C až do času analýzy. Všetky vzorky boli analyzované pred uplynutím doby spotreby uvedenej na obale v danom mesiaci.

Nutričné hodnotenie

Zhomogenizované vzorky mäsa (plátok bravčového karé 200 g) boli podrobené nutričnej analýze na prístroji FoodScan LAB Analyzer (FOOS, Dánsko), kde bol analyzovaný obsah bielkovín, vody, tuku (Tuk 1), kolagénu a soli. Vzorka bola analyzovaná s povrchovou vrstvou tuku.

Na prístroji Nicolet 6700 FT-IR Spectrometer (Thermo Scientific) bolo merané spektrum zloženia mastných kyselín, obsah cholesterolu a tuku (Tuk 2). Na analýzu bola použitá vzorka čistej svaloviny (50 g), bez povrchového tuku.

Štatistická analýza

Základné štatistické analýzy boli vykonané pomocou softvérového balíka SAS Ver. 9.2. (SAS, 2009).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Základné chemické zloženie svalu MLD je uvedené v tabuľke č.1. Skobrák a Bodnár (2012) vo svojom prehľade uvádzajú obsah bielkovín v rozpätí od 19,1 do 24, 2 g.100 g^{-1}. Priemerný obsah bielkovín v našich analyzovaných vzorkách bol 23,63 g.100 g^{-1}, čo je mierne vyššie ako hodnoty uvádzané v iných štúdiách (Kim et al., 2008; Parunovic et al., 2013; Tomovic et al. 2014; Paura et al., 2019), kde sa obsah bielkovín pohyboval v rozpätí od 21,7 do 23,4 g.100 g^{-1}. Jacyno et al. (2006) uvádzajú vo svojej štúdii vyšší obsah bielkovín pri skupine ošípaných s vyšším podielom mäsa (mäsitosť) (24,1 g.100 g^{-1}). Pri druhej skupine s nižším podielom mäsa namerali hodnoty porovnateľné s našimi (23,5 g.100 g^{-1}).

Obsah intramuskulárneho tuku vrátane povrchového tuku (Tuk 1) je v našej štúdii vyšší v porovnaní s optimálnym rozsahom intramuskulárneho tuku pre optimálnu senzorickú kvalitu bravčového mäsa, ktorý sa pohybuje v rozmedzí 2 až 3 g.100 g^{-1} (Bejerholm a Barton Gade, 1986; Devol et al., 1988). Fernandez et al. (1999) uvádzajú vo svojej štúdii, že vplyv zvýšenej úrovne intramuskulárneho tuku je priaznivý len vtedy, ak nie je vyšší ako 2,5 ±3,5 g.100 g^{-1}. Peinado et al. (2008) namerali tiež vyšší obsah intramuskulárneho aj povrchového tuku (3,9 – 4,6 g.100 g^{-1}). Priemerný obsah tuku v našej štúdii bez povrchovej vrstvy tuku (Tuk 2) bol 1,62

g.100 g^{-1}, čo je nižšie ako hodnoty uvádzané autormi Jacyno et al. (2006) (2,07 – 2,79 %), Kim et al. (2008) (2,02 g.100 g^{-1}), Parunovic et al. (2013) (4,23 g.100 g^{-1}) a Paura et al. (2019) (2,7 – 5,6 g.100 g^{-1}). Tomovič et al. (2014) naopak uvádzajú ešte nižšie hodnoty (1,39 – 1,48 g.100 g^{-1}).

Keeton a Endy (2004) deklarujú obsah vody v čerstvom bravčovom mäse približne 75 %. Podobne, Lawrie a Ledward (2006) vo svojej publikácii tiež uvádzajú, že svalovina mäsa obsahuje približne 75 % vody, pričom tento podiel môže byť ovplyvnený faktormi, ako sú druh mäsa, plemeno, vek zvieraťa a výživový stav. V našej štúdii bol priemerný obsah vody nižší (71,26 g.100 g^{-1}). Guang – Zhi et al. (2008), ktorí skúmali kvalitu mäsa u piatich plemien ošípaných zistili podobne nižšie hodnoty ako my (69,65 – 72,00 g.100 g^{-1}). Aj Parunovic et al. (2013) uviedli podobné hodnoty. Naopak, iní autori (Peinado et al., 2014; Kim et al. 2008) zaznamenali vyššie hodnoty vody vo svalovine (74,4 – 75,51 g.100 g^{-1}).

Cholesterol v bravčovom mäse je ovplyvnený zrelosťou, druhom svalu alebo výsekovej časti mäsa, hrúbkou tuku, výživou zvierat, stupňom mramorovania a genetickou variabilitou (Dorado et al. 1999; Fernandez et al., 1999; Bragagnolo a Rodriguez-Amaya 2002; Bragagnolo 2009; Cannata et al. 2010). V našej štúdii sme zaznamenali obsah cholesterolu v svale *longissimus dorsi* na úrovni 45 mg.100 g^{-1}, čo predstavuje nižšiu hodnotu v porovnaní s viacerými publikovanými výskumami. Napríklad Kim et al. (2008) uvádzajú obsah cholesterolu v uvedenom svale na úrovni 63,63 mg.100 g^{-1}. Podobne Paura et al. (2019) zaznamenali hodnoty v rozmedzí 57,3 až 62,4 mg.100 g^{-1} a Jacyno et al. (2006) udávajú rozpätie od 57,7 do 63,2 mg.100 g^{-1}. Parunović et al. (2013) uvádzajú hodnoty od 47,1 do 62,9 mg.100 g^{-1} v závislosti od genotypu ošípaných. Naopak, Bahelka et al. (2020) uvádzajú ešte nižšie hodnoty, a to v rozmedzí od 31 do 41 mg.100 g^{-1}, v závislosti od pohlavia a kategórie zvierat. Z uvedeného porovnania vyplýva, že nami získaná hodnota sa nachádza pod priemerom väčšiny štúdií, no stále nad hodnotami uvádzanými Bahelkom et al. (2020), čo môže byť ovplyvnené viacerými faktormi, ako sú genetika, výživa, technológia chovu.

TABUĽKA Č. 1, CHEMICKÉ ZLOŽENIE MLD

Ukazovateľ	Priemer	Minimum	Maximum	Smerodajná odchýlka	Variačný koeficient
Obsah bielkovín, g.100 g^{-1}	23,63	21,09	25,46	1,18	4,99
Tuk 1, g.100 g^{-1}	4,28	0,35	8,87	2,63	61,55
Tuk 2, g.100 g^{-1}	1,62	0,28	7,46	0,92	57,13
Obsah cholesterolu, mg.100 g^{-1}	45	23	98	11,15	24,51
Obsah vody, g.100 g^{-1}	71,26	69,42	74,83	4,25	5,96
Obsah kolagénu, g.100 g^{-1}	0,72	0,23	1,42	0,30	42,04
Obsah soli, g.100 g^{-1}	0,39	0,12	0,70	0,14	36,23

Tuk 1 – obsah tuku s povrchovou vrstvou tuku MLD

Tuk 2 - obsah tuku bez povrchovej vrstvy tuku MLD

Intramuskulárny tuk a zloženie mastných kyselín ovplyvňujú kvalitu mäsa (Siret et al., 1997; Font I Furnols et al., 2008). Vplyvom množstva konzumovaných mastných kyselín na zdravie spotrebiteľa sa zaoberalo mnoho vedeckých štúdií. Ich nadmerný príjem prostredníctvom konzumácie mäsa môže viesť k ochoreniam súvisiacim s artérioskleróz0u (Grys, 1995). Kým nasýtené mastné kyseliny (SFA) sú považované za rizikový faktor pre kardiovaskulárne ochorenia a niektoré druhy rakoviny (Burr et al., 1989; Hrbotický a Weber, 1993), polynenasýtené mastné kyseliny (PUFA) sú účinné pri ich prevencii (Simopoulos, 1991; Weber et al., 1993; Willett, 1994). Preto odborníci na výživu odporúčajú zníženie celkového príjmu tukov, najmä SFA a trans mastných kyselín (Brouwer et al., 2010; USDA & HHS, 2010).

Výsledky zloženia mastných kyselín sú uvedené v tabuľke č. 2. V našej štúdii sme zaznamenali obsah nasýtených mastných kyselín na úrovni 34,66 %, čo predstavuje nižšiu hodnotu v porovnaní s viacerými inými autormi. Napríklad Parunović et al. (2013) uvádzajú hodnoty v rozmedzí od 33,8 do 43,4 %, v závislosti od genotypu ošípaných. Bahelka et al. (2020) namerali hodnoty 38,57 až 39,54 %, Kim et al. (2008) uvádzajú 38,09 %, a Jacyno et al. (2006) udávajú rozsah od 36,46 do 37,57 %. Z uvedeného porovnania vyplýva, že obsah SFA

v našej vzorke je na dolnej hranici týchto rozmedzí, čo môže byť z pohľadu výživových odporúčaní pozitívne.

Z hľadiska mononenasýtených mastných kyselín (MUFA), ktoré sú považované za prospešnejšie zložky tukov v ľudskej výžive, sme v našej štúdii zaznamenali ich podiel na úrovni 49,53 %. Táto hodnota je veľmi blízka výsledkom uvádzaným Bahelkom et al. (2020), ktorí namerali 47,45 až 49,18 %, a porovnateľná s údajmi Jacyno et al. (2006), kde sa hodnoty pohybovali medzi 50,05 a 50,79 %. Mierne vyššiu hodnotu uvádza Kim et al. (2008), konkrétne 51,59 %, zatiaľ čo Parunović et al. (2013) zaznamenali širšie rozpätie od 44,9 do 58 %, v závislosti od genotypu. Naše výsledky tak spadajú do stredu tohto rozsahu, čo poukazuje na vyvážený profil MUFA, zodpovedajúci kvalitnému bravčovému mäsu.

V prípade polynenasýtených mastných kyselín, ktoré majú priaznivý účinok na zdravie a sú známe svojimi protizápalovými a kardioprotektívnymi vlastnosťami, sme namerali hodnotu 12,20 %. Táto hodnota je porovnateľná s výsledkami Bahelku et al. (2020), ktorí zaznamenali 12,24 až 12,48 %, a nachádza sa mierne nad rozmedzím udávaným Parunovićom et al. (2013), kde sa hodnoty PUFA pohybovali medzi 5,21 a 11,47 %. Kim et al. (2008) uvádzajú nižšiu hodnotu (10,32 %), zatiaľ čo Jacyno et al. (2006) zaznamenali rozpätie od 11,38 do 13,28 %. Z uvedeného vyplýva, že naša hodnota PUFA patrí medzi vyššie a z pohľadu nutričnej kvality mäsa je veľmi priaznivá, keďže vyšší podiel PUFA je často žiadaný pre svoju preventívnu úlohu vo výžive človeka.

Z výživového hľadiska je dôležitým ukazovateľom aj pomer PUFA/SFA, ktorý v našej štúdii dosiahol hodnotu 0,35. Výživové odporúčania pritom uvádzajú, že tento pomer by mal byť minimálne 0,4 (Department of Health, UK, 1994), pričom niektoré zdroje odporúčajú hodnoty až nad 0,45–0,5. Naša hodnota tak mierne zaostáva za odporúčaným minimom, čo poukazuje na priestor pre zlepšenie s cieľom zvýšiť podiel PUFA na úkor SFA.

TABUĽKA Č. 2, ZLOŽENIE MASTNÝCH KYSELÍN V MLD (% FAME)

Ukazovateľ	Priemer	Minimum	Maximum	Smerodajná odchýlka	Variačný koeficient
Kyselina myristová, C 14:0	1,35	1,26	1,46	0,035	2,58
Kyselina palmitová, C 16:0	24,4	23,38	25,15	0,222	0,91
Kyselina stearová, C 18:0	10,77	10,08	11,57	0,25	2,32
Spolu SFA	34,66	31,91	38,55	1,22	3,53
Kyselina olejová, C 18:1 n-9	37,34	15,83	47,56	4,10	10,99
Kyselina eikosenová, C 20:1	0,87	0,19	0,85	0,12	21,61
Spolu MUFA	49,53	45,58	55,45	1,5	3,03
Kyselina linolenová, C 18:3 n-3	0,19	0,05	0,28	0,03	17,29
Kyselina linolová, C 18:2 n-6	5,65	3,04	8,44	0,90	15,96
Spolu PUFA	12,20	7,28	15,26	1,05	8,63
n3 PUFA	0,52	0,36	0,66	0,06	10,74
n6 PUFA	9,62	3,80	12,43	1,13	11,72
PUFA/SFA	0,35	0,23	0,4	0,86	2,45

FAME - metylester mastnej kyseliny; SFA - nasýtené mastné kyseliny; MUFA - mononenasýtené mastné kyseliny; PUFA - polynenasýtené mastné kyseliny

ZÁVER

Výsledky našej štúdie poukazujú na to, že analyzované vzorky svaloviny *musculus longissimus dorsi* – bravčové karé, vykazujú priaznivé nutričné parametre v porovnaní s hodnotami uvádzanými v literatúre. Obsah bielkovín bol mierne vyšší ako priemery uvádzané inými autormi, zatiaľ čo obsah tuku bez povrchovej vrstvy bol nižší. Nižší obsah nasýtených mastných kyselín (SFA) a priaznivý podiel mononenasýtených (MUFA) a polynenasýtených (PUFA) mastných kyselín svedčia o dobrom nutričnom profile mäsa. Napriek tomu, že pomer PUFA/SFA nedosahuje odporúčanú hranicu 0,4, výsledky sú z pohľadu výživy konzumenta

stále priaznivé. Výskum zároveň poukazuje na potenciál optimalizácie výživy a chovu zvierat s cieľom zlepšiť pomer esenciálnych mastných kyselín a tým aj kvalitu bravčového mäsa v jednotlivých členských štátoch EÚ, odkiaľ sa mäso na Slovensko dováža.

POĎAKOVANIE

Článok vznikol s podporou projektu: Efektívnejšie zvieratá, menšia environmentálna záťaž, kvalitná produkcia v rámci RPVV 2019 - 2021 a Moderné a akceptovateľné systémy chovu a šľachtenia hospodárskych zvierat v rámci RPVV 2022 – 2024 a s podporou partnera a odoberateľa výsledkov Zväzu chovateľov ošípaných na Slovensku, družstvo.

POUŽITÁ LITERATÚRA:

1. BAHELKA, I. et al. Amino acid, fatty acid and chemical composition of meat and fat from entire males, castrates and gilts. Acta Fytotechnica et Zootechnica, Nitra, ISSN 1336-9245, 2020, roč. 23, č. 3, s. 167–173. https://dx.doi.org/10.15414/afz.2020.23.03.167-173
2. BEJERHOLM, C. – BARTON-GADE, P. A. Effect of intramuscular fat level on eating quality of pig meat. Proceedings of the 32nd European Meeting of Meat Research Workers, Ghent, 1986, s. 389–391.
3. BRAGAGNOLO, N. Cholesterol and cholesterol oxides in meat and meat products. In: NOLLET, L. M. L. – TOLDRÁ, F. (eds.), Handbook of Muscle Foods Analysis, Florida: CRC Press, ISBN 978-1-4200-4367-1, 2009, s. 187–219.
4. BRAGAGNOLO, N. – RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Simultaneous determination of total lipids, cholesterol and fatty acids in meat and backfat of suckling and adult pigs. Food Chemistry, Amsterdam, ISSN 0308-8146, 2002, roč. 79, s. 255–260. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00136-X
5. BROUWER, I. A. et al. Effect of animal and industrial trans-fatty acids on HDL and LDL cholesterol levels in humans – a quantitative review. PLoS One, San Francisco, ISSN 1932-6203, 2010, roč. 5, č. 3, s. 1–10.
6. BURR, M. L. et al. Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: Diet and reinfarction trial (DART). The Lancet, London, ISSN 0140-6736, 1989, s. 757–761.
7. CANNATA, S. et al. Effect of visual marbling on sensory properties and quality traits of pork loin. Meat Science, Amsterdam, ISSN 0309-1740, 2010, roč. 85, č. 3, s. 428–434. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.02.011

8. CEGIEŁKA, A. et al. Environmental benefits of local pork production: Reducing carbon footprint through shorter supply chains. Sustainability, Basel, ISSN 2071-1050, 2024, roč. 16, č. 5, čl. 2890. https://doi.org/10.3390/su16052890
9. DEVOL, D. L. et al. Variation in composition and palatability traits and relationships between muscle characteristics and palatability in a random sample of pork carcasses. Journal of Animal Science, Champaign, ISSN 0021-8812, 1988, roč. 66, s. 385–395.
10. DEPARTMENT OF HEALTH, UK. Nutritional aspects of cardiovascular disease. Report on Health and Social Subject No. 46. London: Her Majesty's Stationery Office, 1994.
11. DORADO, M. et al. Cholesterol and fat contents of Spanish commercial pork cuts. Meat Science, Amsterdam, ISSN 0309-1740, 1999, roč. 51, č. 4, s. 321–323. https://doi.org/10.1016/S0309-1740(98)00126-0
12. FERNANDEZ, X. et al. Influence of intramuscular fat content on the quality of pig meat – 2. Consumer acceptability of m. longissimus lumborum. Meat Science, Amsterdam, ISSN 0309-1740, 1999, roč. 53, č. 1, s. 67–72. https://doi.org/10.1016/s0309-1740(99)00038-8
13. FONT I FURNOLS, M. et al. Consumers' sensory acceptability of pork from immunocastrated male pigs. Meat Science, Amsterdam, ISSN 0309-1740, 2008, roč. 80, s. 1013–1019.
14. GÁLIK, J. et al. Analysis of Slovakia's pork meat market: Production deficits and import dependencies. Agricultural Economics, Praha, ISSN 0139-570X, 2024, roč. 70, č. 3, s. 123–135. https://doi.org/10.17221/123/2024-AGRICECON
15. GRYS, S. The role of gamma-linolenic acid in human organism. In: Oil from evening primrose in prophylaxis and therapy, Łódź: Makolab, 1995, s. 22–34.
16. GUANG-ZHI, R. et al. Study on the correlations between mineral contents in *Musculus Longissimus Dorsi* and meat quality for five breeds of pigs. American Journal of Animal and Veterinary Sciences, New York, ISSN 1557-4555, 2008, roč. 3, č. 1, s. 18–22. https://doi.org/10.3844/ajavsp.2008.18.22
17. HRBOTICKÝ, N. – WEBER, P. Dietary habits and cardiovascular risk. In: NERI SERNERI, G. G. et al. Atherosclerosis, Inflammation and Thrombosis. Florence: Scientific Press, 1993, s. 131–152.
18. JACYNO, E. et al. Influence of pig meatiness on pork meat quality. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, Olsztyn, ISSN 1230-0322, 2006, roč. 56, č. 2, s. 137–140.
19. KEETON, J. T. – EDDY, S. Chemical and physical characteristics of meat. In: JENSEN, W.K. et al. Encyclopedia of Meat Sciences. Oxford: Elsevier, 2004, s. 210–218.

20. KIM, J. et al. Characterization of nutritional value for twenty-one pork muscles. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, Seoul, ISSN 1011-2367, 2008, roč. 21, č. 1, s. 138–143. https://doi.org/10.5713/ajas.2008.70208
21. KOTYZA, P. et al. Import dependency of pork meat in Central European countries. Central European Journal of Economic Modelling and Econometrics, Warszawa, ISSN 2080-0886, 2018, roč. 10, č. 2, s. 115–130. https://doi.org/10.24425/cejeme.2018.125144
22. LAWRIE, R. A. – LEDWARD, D.A. Lawrie's Meat Science. 7. vyd. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd. & CRC Press LLC, 2006. ISBN 978-0-8493-9721-0.
23. LEBRET, B. – ČANDEK-POTOKAR, M. Review: Pork quality attributes from farm to fork. Part I. Carcass and fresh meat. Animal, Cambridge, ISSN 1751-7311, 2021, roč. 15, č. 11, čl. 100356. https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100376
24. LIN, X. et al. Investigation of heat-induced pork batter quality detection and analysis using Raman spectroscopy combined with deep learning algorithms. Food Chemistry, Amsterdam, ISSN 0308-8146, 2024, roč. 412, čl. 135548.
25. PARUNOVIĆ, N. et al. Carcass properties, chemical content and fatty acid composition of the *musculus longissimus* of different pig genotypes. South African Journal of Animal Science, Pretoria, ISSN 0375-1589, 2013, roč. 43, č. 2, s. 123–136.
26. PAURA, L. et al. Analysis of chemical composition in pork *longissimus muscle* of Latvian breed pigs. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis, Brno, ISSN 1211-8516, 2019, roč. 67, č. 5, s. 1189–1194. https://doi.org/10.11118/actaun201967051189
27. PEINADO, J. et al. Influence of castration of females on growth performance and carcass and meat quality of heavy pigs destined to the dry-cured industry. Journal of Animal Science, Champaign: American Society of Animal Science, ISSN 0021-8812, 2008, roč. 86, s. 1410–1417.
28. SIMOPOULOS, A. P. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. American Journal of Clinical Nutrition, Bethesda: American Society for Clinical Nutrition, ISSN 0002-9165, 1991, roč. 54, s. 438–463.
29. SIONEK, B. – PRZYBYLSKI, W. Effect of pre-slaughter conditions on pork quality and technological usefulness. Meat Science, Amsterdam: Elsevier, ISSN 0309-1740, 2016, roč. 119, s. 50–56. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.025
30. SKOBRÁK, E. B. – BODNÁR, K. The main chemical composition parameters of pork (review). Review on Agriculture and Rural Development, Kaposvár, ISSN 2063-4803, 2012, roč. 1, č. 2, s. 534–540.

31. SIRET, F. et al. Consumer acceptability and characterization of the cooking odour of pork with different androstenone and skatole contents: comparison of two cooking procedures. In: BONNEAU, M. et al. (eds.) Boar Taint in Entire Male Pigs. Wageningen: Wageningen Pers, 1997. EAAP Publication no. 92, s. 161–164. ISBN 90-74134-84-5.
32. ŠTATISTICKÝ ÚRAD SLOVENSKEJ REPUBLIKY. Spotreba potravín v Slovenskej republike. [online]. Bratislava: ŠÚ SR, 2023. Dostupné na internete: https://slovak.statistics.sk [cit. 2025-03-24].
33. TOMOVIĆ, V. M. et al. Technological quality and composition of the *M. semimembranosus* and *M. longissimus dorsi* from Large White and Landrace pigs. Agricultural and Food Science, Helsinki: Scientific Agricultural Society of Finland, ISSN 1459-6067, 2014, roč. 23, č. 1, s. 9–18. https://doi.org/10.23986/afsci.8577
34. USDA – HHS. Dietary Guidelines for Americans 2010. Washington, DC: Department of Health and Human Services – Department of Agriculture, 2010. Dostupné na internete: http://www.cnpp.usda.gov/DGAs2010-DGACReport.htm
35. VICENTE, F. – PEREIRA, P.C. Pork meat composition and health: A review of the evidence. Foods, Basel: MDPI, ISSN 2304-8158, 2024, roč. 13, č. 12, čl. 1905. https://doi.org/10.3390/foods13121905
36. WEBER, P. C. et al. Fatty acids and their diverse functions: A challenge to future food production. In: Proceedings of the 44th Annual Meeting EAAP, Copenhagen, 1993, s. 19–27.
37. WILLETT, W. C. Diet and health – What should we eat? Science, Washington, DC: American Association for the Advancement of Science, ISSN 0036-8075, 1994, roč. 265, s. 532–537.

Kontaktná adresa: Gondeková Martina, National Agricultural and Food Centre-Research Institute for Animal Production Nitra, Institute of Animal Husbandry Systems, Breeding and Product Quality, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky, Slovak Republik, E-mail: martina.gondekova@nppc.sk

KOAGULÁZA-NEGATÍVNE STAFYLOKOKY U HYDINY: MIKROBIOLOGICKÉ RIZIKÁ A VÝZNAM PRE BEZPEČNOSŤ POTRAVÍN

COAGULASE-NEGATIVE STAPHYLLOCOCCI IN POULTRY: MICROBIOLOGICAL RISKS AND SIGNIFICANCE FOR FOOD SAFETY

Gregová Gabriela[1], Dančová Nikola[1], Szabóová Tatiana[1], Klein Róbert[2]

[1]Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat,

[2]Klinika prežúvavcov, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

Poultry meat plays a crucial role in human nutrition, yet its production also poses microbiological hazards. The primary concern is the presence of coagulase-negative staphylococci (CoNS), which are known to be reservoirs of antimicrobial resistance genes and can produce biofilms, presenting an increasing threat to food safety. Their capability to survive in the environment for extended periods and infiltrate final products heightens the risk of infection transmission to humans via the food chain. Enhancing hygiene practices, regulating antimicrobial usage, and implementing preventive strategies are essential for reducing these risks within the food chain.

Key words: coagulase-negative staphylococci, poultry, antimicrobial resistance, food safety

ÚVOD

Hydinársky priemysel patrí medzi najrýchlejšie sa rozvíjajúce odvetvia živočíšnej výroby na svete, čo je spojené aj s vysokou spotrebou antimikrobiálnych látok (Kovács et al. 2025). Podľa dostupných údajov Organizácie pre výživu a poľnohospodárstvo globálna spotreba hydinového mäsa v priebehu rokov neustále narastá a v mnohých krajinách už prevyšuje spotrebu hovädzieho, bravčového či jahňacieho mäsa (FAO 2023). Tento trend je podporený nielen ekonomickými faktormi (krátky výkrmový cyklus, vysoká konverzia krmiva, nižšia cena), ale aj zdravotnými a kultúrnymi preferenciami konzumentov (nižší obsah lipidov, vysoký obsah stráviteľných bielkovín, absencia náboženských obmedzení). V posledných rokoch dochádza k výraznému nárastu produkcie brojlerových kurčiat (Yue et al. 2024).

Hydinové mäso je považované za výživovo hodnotný, kvalitný a ekonomicky dostupný zdroj živočíšnych proteínov, a preto má nezastupiteľné miesto vo výžive ľudí. Z nutričného hľadiska predstavuje hydinové mäso bohatý zdroj živočíšnych bielkovín, s obsahom všetkých

esenciálnych aminokyselín, vitamínov skupiny B (najmä B3, B6 a B12) a minerálnych látok (Fe, Zn, Se, P). V porovnaní s červeným mäsom má hydina nižší obsah lipidov, ktoré sú obsiahnuté prevažne v koži (Marangoni et al. 2015).

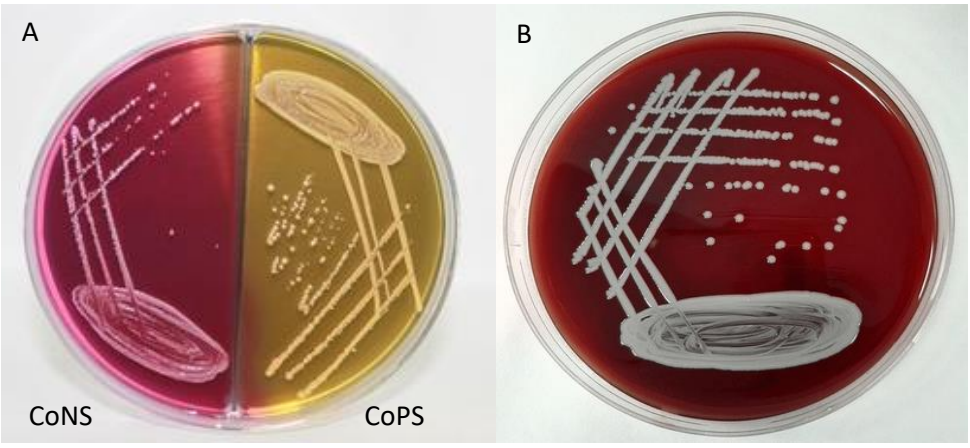
Hydinársky priemysel však čelí aj viacerým výzvam, ktoré sa týkajú welfare zvierat, hygieny výroby, antimikrobiálnej rezistencie či environmentálnej udržateľnosti. Intenzifikácia chovov s vysokou koncentráciou zvierat na malých plochách a časté používanie antimikrobiálnych látok v chovoch prispievajú k vzniku a šíreniu rezistentných mikroorganizmov, ktoré môžu byť prítomné aj v hydinovom mäse a potenciálne sa prenášať na človeka prostredníctvom potravinového reťazca. Medzi najvýznamnejšie patogény spojené s antimikrobiálnou rezistenciou v tomto odvetví patria zástupcovia rodov *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli, Enterococcus* spp. a *Staphylococcus* spp. (Abreu et al. 2023).

CHARAKTERISTIKA KOAGULÁZA-NEGATÍVNYCH STAFYLOKOKOV A ICH VÝSKYT U HYDINY

Koaguláza-negatívne stafylokoky (CoNS) predstavujú rozsiahlu skupinu Gram-pozitívnych, fakultatívne anaeróbnych, nepohyblivých a nesporulujúcich kokov patriacich do čeľade *Staphylococcaceae*. Baktérie sú zvyčajne kataláza-pozitívne a oxidáza-negatívne (Szafraniec et al. 2020). Na rozdiel od koaguláza-pozitívnych stafylokokov (CoPS) neprodukujú enzým koagulázu, čo umožňuje ich rozlíšenie v laboratórnej diagnostike. Kým v minulosti boli CoNS považované za menej patogénne alebo nepatogénne baktérie, v súčasnosti sú známe ako oportúnne patogény v humánnej aj veterinárnej medicíne (Michalik et al. 2020).

Stafylokoky sa bežne vyskytujú v prostredí chovu a spracovania hydiny. Tvoria prirodzenú mikroflóru kože, slizníc či peria vtákov, ako aj zvierat a ľudí. Ich prítomnosť bola potvrdená aj v rôznych zložkách prostredia – vo vzduchu, podstielke, krmive, vode, exkrementoch, pôde či na povrchoch zariadení. Niektoré druhy môžu spôsobiť oportúnne infekcie, a to najmä pri oslabenej imunite, pri poraneniach alebo nevhodnej hygiene chovu. Stafylokokové infekcie predstavujú globálny problém v oblasti zdravia, welfare a ekonomiky v hydinárskej produkcii. Najčastejšie izolované CoNS spojené s infekciami hydiny sú *S. lentus*, *S. xylosus*, *S. cohnii* a *S hyicus* (Szafraniec et al. 2020; Sorour et al. 2023; Lu et al. 2020). U hydiny sú CoNS a CoPS častými pôvodcami dermatitíd a pododermatitíd, artritíd, osteomyelitíd, septikémii, bakteriémii, infekcii reprodukčného systému a pod. (Silva et al. 2022).

Obrázok č. 1, Kultivácia CoNS na Mannitol Salt agare (A) a krvnom agare (B)



Zdroj: www.shutterstock.com

RIZIKÁ SPOJENÉ S KOAGULÁZA-NEGATÍVNYMI STAFYLOKOKMI V POTRAVINOVOM REŤAZCI

Pri produkcii hydinového mäsa predstavujú CoNS potenciálne mikrobiologické riziko, najmä v súvislosti so stúpajúcou antimikrobiálnou rezistenciou a schopnosťou tvorby biofilmu, čo má zásadný význam pre verejné zdravie (Michalik et al. 2020).

Antimikrobiálna rezistencia predstavuje jednu z najzávažnejších výziev v oblasti verejného zdravia a produkcie bezpečných potravín. Významným problémom je rezistencia na meticilín (MRCoNS), ktorá je najčastejšie podmienená prítomnosťou génu *mecA*, kódujúceho penicilín viažuci proteín PBP2a s nízkou afinitou k β-laktámovým antibiotikám, avšak niektoré štúdie uvádzajú prítomnosť génu *mec*C, homológu *mec*A. Gény *mec* sa nachádzajú na mobilnom genetickom elemente nazývanom stafylokokový kazetový chromozóm mec (SCC mec). U viacerých druhoch CoNS je častá rezistencia aj na tetracyklín (Bertelloni et al. 2023). Osman et al. (2016) zaznamenali výskyt vankomycín-rezistentných CoNS v hydinovom mäse v Egypte. Izoláty CoNS z hydiny, hydinového mäsa a prostredia často vykazujú multirezistenciu, čím sa výrazne obmedzujú možnosti terapie (Lu et al. 2020).

CoNS izolované zo zdravej hydiny, hydinového mäsa a životného prostredia sú považované za dôležité rezervoáre génov antimikrobiálnej rezistencie, faktorov virulencie a exotoxínov, ktoré sa môžu horizontálnym génovým transferom prenášať na CoPS, ako aj na iné druhy baktérií (Mourenza et al. 2021).

Ďalším významným faktorom virulencie CoNS je ich schopnosť tvoriť biofilm, čiže komplexné spoločenstvo buniek obklopených extracelulárnou matricou. Biofilm umožňuje baktériám adherovať k rôznym povrchom, chráni baktérie pred účinkom antimikrobiálnych, dezinfekčných a čistiacich látok a umožňuje prežívanie baktérií aj v nepriaznivých podmienkach prostredia. Táto schopnosť zvyšuje pravdepodobnosť,

že CoNS prežijú rôzne technologické procesy a kontaminujú konečný výrobok, najmä ak nie sú dôsledne dodržané hygienické postupy počas porážania, spracovania a balenia (Silva et al. 2022). Z pohľadu verejného zdravia je preto výskyt rezistentných a biofilm-tvoriacich CoNS v hydinárskom priemysle závažnou hrozbou, ktorá si vyžaduje systematický monitoring, racionálne používanie antimikrobiálnych látok a prísne hygienicko-sanitačné opatrenia počas celého výrobného reťazca (Huber et al. 2010).

ZÁVER

Koaguláza-negatívne stafylokoky predstavujú významný mikrobiologický faktor ovplyvňujúci kvalitu a bezpečnosť hydinového mäsa. Ich schopnosť prežívať v biofilme a narastajúca antimikrobiálna rezistencia predstavujú vážne riziká pre zdravie spotrebiteľov a zároveň znižujú účinnosť hygienických a sanitačných opatrení v potravinárskom priemysle. Prevencia týchto rizík si vyžaduje koordinované opatrenia v oblasti chovu, spracovania a kontroly kvality počas celého výrobného reťazca.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Slovenskou agentúrou pre výskum a vývoj v rámci grantu č. APVV-23-0488 a KEGA 009UVLF-4/2025.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ABREU, R. et al. Antimicrobial Drug Resistance in Poultry Production: Current Status and Innovative Strategies for Bacterial Control. In *Microorganisms*. ISSN 2076-2607, 2023, vol. 11, no. 4, 953.
2. BERTELLONI, F. et al. Antimicrobial Resistant Coagulase-Negative Staphylococci Carried by House Flies (*Musca domestica*) Captured in Swine and Poultry Farms. In *Antibiotics.* ISSN 2079-6382, 2023, vol. 12, no. 4, 636.
3. FAO. *World Livestock Production Systems*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2023. Dostupné na internete: https://www.fao.org
4. HUBER, H. et al. (2010). Prevalence and characteristics of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from poultry and their environment. In *Veterinary Microbiology*. ISSN 1873-2542, 2010, vol. 144, no. 3-4, p. 376-382.
5. KOVÁCS, L. et al. Antimicrobial Susceptibility Profiles of Commensal *Staphylococcus* spp. Isolates from Turkeys in Hungarian Poultry Farms Between 2022 and 2023. In *Antibiotics.* ISSN 2079-6382, 2025, vol. 14, no. 2, 200.

6. LU, Y. et al. High concentration of coagulase-negative staphylococci carriage among bioaerosols of henhouses in Central China. In *BMC Microbiology*. ISSN 1471-2180, 2020, vol. 20, no. 21, p. 1-9.
7. MARANGONI, F. et al. Role of poultry meat in a balanced diet aimed at maintaining health and wellbeing: an Italian consensus document. In *Food & Nutrition Research*. ISSN 1654-661X, 2015, vol. 59, no. 1, 27606.
8. MICHALIK, M. et al. Coagulase-negative staphylococci (CoNS) as a significant etiological factor of laryngological infections: a review. In *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. ISSN 1476-0711, 2020, vol. 19, 26.
9. MOURENZA, Á. et al. Novel Treatments and Preventative Strategies Against Food-Poisoning Caused by Staphylococcal Species. In *Pathogens*. ISSN 2076-0817, 2021, vol. 10, no. 2, 91.
10. OSMAN, K. et al. Prevalence of the antibiotic resistance genes in coagulase-positive- and negative-*Staphylococcus* in chicken meat retailed to consumers. In *Frontiers in Microbiology*. ISSN 164-302X, 2016, vol. 7, 1846.
11. SILVA, V. et al. Multidrug-Resistant Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylococci in Healthy Poultry Slaughtered for Human Consumption. In *Antibiotics*. ISSN 2079-6382, 2022, vol. 11, no. 3, 365.
12. SOROUR, H.K. et al. Characterization and pathogenicity of multidrug-resistant coagulase-negative *Staphylococci* isolates in chickens. In *International Microbiology*. ISSN 1139-6709, 2023, vol. 26, no. 4, p. 989-1000.
13. SZAFRANIEC, G.M. et al. A Review of Current Knowledge on *Staphylococcus agnetis* in Poultry. In *Animals*. ISSN 2076-2615, 2020, vol. 10, no. 8, 1421.
14. YUE, K. et al. Insights into the evaluation, influential factors and improvement strategies for poultry meat quality: a review. In *npj Science of Food*. ISSN 2396-8370, 2024, vol. 8, 62.

Kontaktná adresa: Gregová Gabriela, Department of Public Veterinary Medicine and Animal Welfare, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: Gabriela.Gregova@uvlf.sk

VLIV PEKTINU NA FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ, TEXTURNÍ A ORGANOLEPTICKÉ VLASTNOSTI MODELOVÝCH TVAROHOVÝCH POMAZÁNEK BĚHEM SIMULOVANÝCH VIBRACÍ

EFFECT OF PECTIN ON THE PHYSICOCHEMICAL, TEXTURAL, AND ORGANOLEPTIC PROPERTIES OF MODEL QUARK CHEESE SPREADS DURING SIMULATED VIBRATIONS

Gryger Tomáš, Salek Richardos Nikolaos

Ústav technologie potravin, Fakulta technologická, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Vavrečkova 5669, 760 01 Zlín, Česká republika

ABSTRACT

This study investigated the effects of incorporating high-esterified pectin and applying simulated mechanical vibrations on the physicochemical, textural, and organoleptic properties of Quark cheese spreads (QCS). Model QCS samples were prepared with pectin concentrations of 0.50, 0.75, and 1.00% w/w, respectively, and subjected to vibrational loading to simulate transportation conditions. Basic physicochemical parameters (including dry matter content, and pH), and water activity, were measured on day 2 after preparation (6 ± 2 °C). Vibrations had a significantly affected sample hardness and water holding capacity, with increasing pectin concentrations resulting in higher hardness and improved emulsion stability, particularly in non-vibrated QCS samples. Conversely, vibrational loading reduced both hardness and water holding capacity, while the control sample (without pectin addition) exhibited textural defects and phase separation (excluded from further analyzes). In addition, sensory evaluation revealed minimal influence of vibrations on assessor perception, except for the highest pectin concentration (1.00% w/w). Overall, vibrations adversely affected the textural properties and water holding capacity of the QCS model samples. Moreover, pectin at concentrations of 0.50 and 0.75% w/w proved to be an effective stabilizing agent. The findings of this study may support the development of improved formulations and transportation strategies for QCS and similar spreadable dairy products.

Keywords: tvarohová pomazánka, vysokoesterifikovaný pektin, vibrační zatížení, textura, stabilita

ÚVOD

Čerstvé sýry představují rozmanitou skupinu mléčných výrobků, z nichž mnohé mají roztíratelnou konzistenci. V kontextu označování se jedná o varianty smetanových nebo tvarohových sýrů (Česko, 2016). Obě skupiny splňují obecnou definici a požadavky standardu pro cream cheese (CC) uvedené v Codex Alimentarius (FAO, 1973). Společnou charakteristikou je bílá až světle žlutá barva a jemně smetanová či nakyslá chuť. Konzistence se pohybuje od hladké až po mírně zrnitou. Obvyklým použitím CC je přímá konzumace s pečivem, nicméně slouží také jako základ pro pomazánky, zálivky a dezerty (Schulz-Collins & Senge, 2004; Obermaier et al., 2016).

Výroba obecně zahrnuje kyselé srážení tepelně ošetřeného a standardizovaného mléka mezofilními kulturami s možným přídavkem malého množství syřidla. Vzniklá sýřenina se poté koncentruje např. odkapáváním, odstředěním nebo membránovou separací. (Wolfschoon Pombo, 2021). Doba použitelnosti bývá obvykle navýšena termizací zpracované sýřeniny. Horká hmota je na závěr plněna do spotřebitelských obalů, tzv. hot-pack (Schulz-Collins & Senge, 2004). Alternativně lze podobné výrobky připravit smícháním tvarohu, smetany, podmáslí, mléka a dalších složek za současného míchání a zahřívání (Vincová et al., 2023; Gurbuz et al., 2024).

Pro zajištění požadované textury a stability lze využít přídavku stabilizátorů a zahušťovadel (např. škrobu, karubinu nebo pektinu). Většina takových látek patří mezi hydrokoloidy, které zabraňují uvolňování syrovátky během skladování a vzhledem ke schopnosti tvořit gely také ovlivňují texturní, reologické a organoleptické vlastnosti výrobku (Williams & Phillips, 2009). Pektin je dostupný hydrokoloid účinný v nízkých koncentracích. Chemicky se jedná o heteropolysacharid založený na kyselině polygalakturonové. Podle stupně esterifikace řetězce methanolem se dělí na vysokoesterifikovaný (HM) a nízkoesterifikovaný (LM). Gelovatění u HM pektinu probíhá v kyselém prostředí (pH < 4) s vyšším obsahem refraktometrické sušiny (> 55 % w/w), zatímco LM pektin tvoří gely v přítomnosti vápenatých kationtů (Endreß & Christensen, 2009).

Role stabilizátorů je důležitá také z pohledu zajištění kvality potravin během přepravy, kdy mají zásadní vliv mechanické faktory jako otřesy a vibrace (Körzendörfer, 2022). Ty mohou výrazně poškodit texturu a snížit senzorickou přijatelnost. Účinky vibrací byly studovány např. u ovoce a zeleniny, vajec, majonézy a jogurtů (Mackson & Singh, 1991; Berardinelli et al., 2003; Fernando et al., 2018; Das et al., 2019; Lu et al., 2020; Temme et al., 2021). U všech zmíněných potravin byl zaznamenán negativní vliv vibrací na kvalitu, stabilitu, trvanlivost a senzorickou přijatelnost. Vyjma jogurtů nebyl tento faktor sledován u jiných mléčných výrobků s vyšším obsahem sušiny a pevnější bílkovinnou sítí. Cílem této práce bylo

proto sledovat účinky přídavku HM pektinu (0,50; 0,75 a 1,00 % w/w) a vibrací (simulace přepravy) na vybrané vlastnosti modelových vzorků tvarohových pomazánek (TP).

MATERIÁL A METODIKA

Pro výrobu vzorků s cílovým obsahem sušiny 35 % w/w a tuku v sušině 60 % w/w s přídavky HM pektinu 0,50; 0,75 a 1,00 % w/w byly použity uvedené suroviny: Tvaroh tučný (sušina 28 % w/w, tuk 11 % w/w; Jaroměřická mlékárna a.s., Jaroměřice nad Rokytnou, Česko), Zakysaná smetana (sušina 40 % w/w, tuk 36 % w/w; BOHEMILK a.s., Opočno, Česko), Pektin Classic CD 202 (DE ≤ 68 %; kyselina galakturonová ≤ 75%; Mw ≈ 145 kDa; Herbstreith & Fox GmbH, Neuenbürg, Německo), pitná voda a NaCl. Suroviny byly zpracovány v zařízení Thermomix TM6 (Vorwerk & Co. Thermomix GmbH, Wuppertal, Německo) při 3100 ot./min s výdrží 10 min při 80 °C. Horká hmota byla nalita do kónických hliníkových kelímků uzavřených víčky. Vzorky byly skladovány při 6 ± 2 °C.

Po uplynutí 24 h byly vzorky vloženy do nádoby vibračního generátoru Test Sieve Shaker HAVER EML 200 Digital Plus T (Haver & Boecker OHG, Oelde, Německo). Simulované horizontálně působící vibrační zatížení trvalo 60 min při frekvenci 50 Hz a amplitudě 2,5 mm. Během experimentu byly vzorky chlazeny gelovými sáčky (6 ± 2 °C).

Následující analýzy byly provedeny 24 h po vibračním zatížení (tj. 2 dny od výroby vzorků). Obsah sušiny byl stanoven 3krát podle normy ISO 5534. Vodní aktivita byla stanovena zařízením AquaLab 4TE (Decagon Devices, Inc., Pullman, WA, USA) při 25,0 ± 0,1 °C ve 3 opakováních. Hodnota pH byla stanovena vpichovou sondou Foodcare HI 99161 (Hanna Instruments Ltd., Woonsocket, RI, USA) v 6 náhodných místech vzorku při 22 ± 1 °C.

Texturní atribut tvrdost (Hardness, N) byl zjištěn pomocí analyzátoru textury TA.XT plus (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, UK). Upevněný otevřený vzorek byl penetrován nerezovou cylindrickou sondou (20 mm) do hloubky 10 mm při rychlosti 2 mm/s s deformací 25 %. Počáteční síla byla nastavena na 5 g. Záznam byl vyhodnocen v softwaru Texture Exponent Lite (v. 4.0.13.0, Stable Micro Systems Ltd.). Měření bylo provedeno při 22 ± 1 °C ve 3 opakováních.

Stabilita emulze vzorků byla testována jako kapacita zadržování vody podle Kůrové et al. (2022) s úpravami. Vzorek o hmotnosti 10 ± 1 g (m_1) převedený do polypropylenové 50ml zkumavky (výška 115,0 mm, vnitřní průměr 30,0-mm; P-LAB a.s., Praha, Česko) byl centrifugován při 6000 ot./min po dobu 20 min. Poté byl odstraněn supernatant a usazenina (m_2) byla zvážena; výsledek byl vypočten jako m_2/m_1, vyjádřený v %. Každý vzorek byl měřen 3krát.

Senzorická analýza byla provedena v souladu s normami ISO 8586 a ISO 8589. Panel

čítal 21 hodnotitelů (14 žen a 7 mužů; 24–66 let), kterým bylo předloženo 25 ± 2 g vzorku o teplotě ~20 °C. Jako neutralizátor byl podáván toastový chléb a voda. Pro atributy vzhled, tvrdost, roztíratelnost a homogenita byla použita stupnice (1: vynikající, 3: dobré, 5: nepřijatelné), pro cizí pachy a příchutě (1: nepatrné, 3: střední, 5: nadměrné) a pro celkový dojem (1: vynikající, 4: dobré, 7: velmi špatné). Analýza byla zopakována 2krát.

Získané výsledky byly hodnoceny z hlediska normální distribuce (Shapiro-Wilkův test; hladina významnosti 0,05). Následně byla u dat provedena neparametrická analýza rozptylu (Kruskal-Wallisův a Wilcoxonův test; při hladině významnosti 0,05). K analýze byl použit software Minitab 16 (Minitab Ltd.).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Po vibračním zatížení byly vzorky vizuálně prohlédnuty, zda neutrpěly změny vylučující je z následných analýz. Kontrolní vzorek vystavený vibracím (bez pektinu) vykazoval závažnou změnu struktury a oddělení fází, jak ukazuje obrázek č. 1. To bylo pravděpodobně způsobeno poškozením bílkovinné sítě a následnou agregací uvolněných tukových kuliček. Tento vzorek byl tudíž vyloučen.

Obrázek č. 1, Kontrolní vzorek TP (vlevo) a vzorek TP s 0,50 % w/w pektinu (vpravo)



Výsledky fyzikálně-chemické analýzy jsou uvedeny v tabulce č. 1. Obsah sušiny se pohyboval v rozmezí 35,1–35,7 % w/w, což korespondovalo s cílovou hodnotou 35 % w/w. Hodnota pH byla stanovena v rozsahu 4,21–4,27. Aktivita vody oscilovala mezi 0,992–0,997. Podobnost zjištěných výsledků je nezbytná pro zajištění vzájemné porovnatelnosti vyrobených vzorků TP, neboť tyto parametry významně ovlivňují jejich texturní, reologické a organoleptické vlastnosti (Weiserová et al., 2011). Stanovené pH je typické pro výrobky typu CC (Schulz-Collins & Senge, 2004; Vincová et al., 2023). Trmčić et al. (2017) uvádí pro čerstvé

sýry (tvaroh) aktivitu vody 0,98–0,99. Lze shrnout, že hodnoty pH ani vodní aktivity nebyly významně ovlivněny přídavkem pektinu ani působením vibrací ($p > 0,05$).

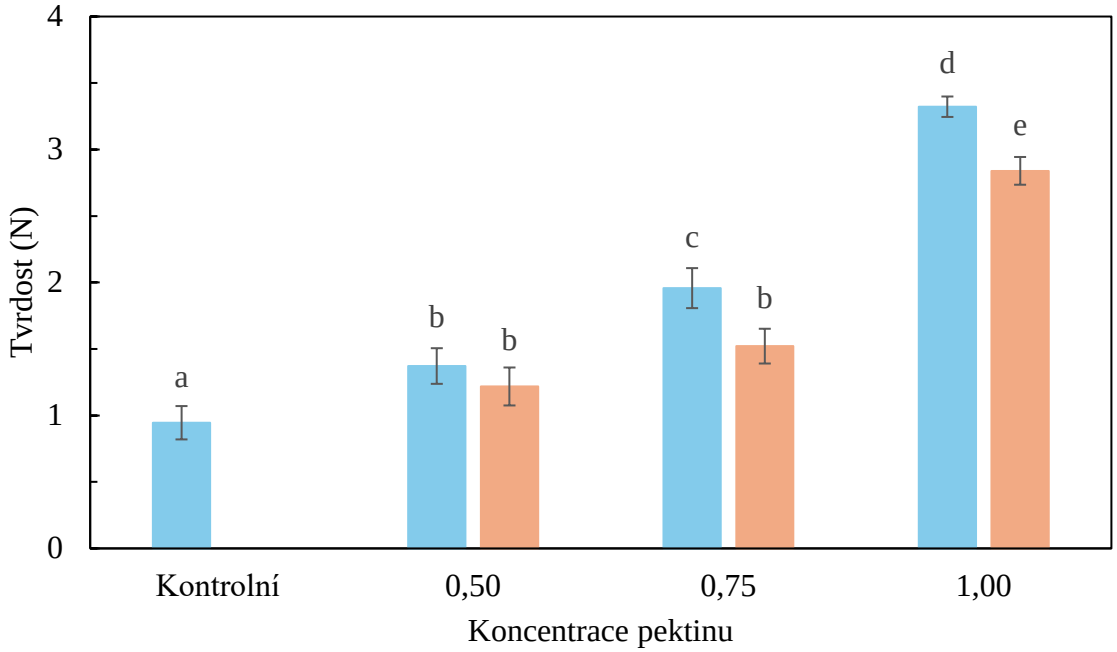
Tabulka č. 1, Výsledky fyzikálně-chemické analýzy vzorků TP

Koncentrace pektinu (% w/w)	Obsah sušiny (% w/w)	Aktivita vody	pH
Nevibrovaný			
Kontrolní	$35,47 \pm 0,18^{a,A}$	$0,997 \pm 0,001^{a,A}$	$4,272 \pm 0,004^{a,A}$
0,50	$35,51 \pm 0,22^{a,A}$	$0,993 \pm 0,001^{a,A}$	$4,253 \pm 0,005^{a,A}$
0,75	$35,12 \pm 0,19^{a,A}$	$0,993 \pm 0,001^{a,A}$	$4,232 \pm 0,004^{a,A}$
1,00	$35,74 \pm 0,34^{a,A}$	$0,992 \pm 0,002^{a,A}$	$4,213 \pm 0,010^{a,A}$
Vibrovaný			
Kontrolní	–	–	–
0,50	$35,58 \pm 0,34^{a,A}$	$0,994 \pm 0,001^{a,A}$	$4,267 \pm 0,010^{a,A}$
0,75	$35,27 \pm 0,21^{a,A}$	$0,996 \pm 0,002^{a,A}$	$4,220 \pm 0,006^{a,A}$
1,00	$35,53 \pm 0,37^{a,A}$	$0,994 \pm 0,001^{a,A}$	$4,233 \pm 0,019^{a,A}$

Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± SD.
Rozdíl mezi koncentrací pektinu v rámci (ne)vibrovaných vzorků je ve sloupci označen různými indexy malých písmen ($p < 0,05$). Rozdíl mezi (ne)vibrovanými vzorky v rámci stejné koncentrace je ve sloupci označen různými indexy velkých písmen ($p < 0,05$).

Vývoj texturní tvrdosti vzorků TP je ilustrován na obrázku č. 2. Přídavek pektinu významně ovlivnil tvrdost vzorků ($p < 0,05$). S vyšším přídavkem pektinu postupně narůstala tvrdost nevibrovaných i vibrovaných vzorků, přičemž byl zaznamenán trend v poklesu hodnoty vlivem účinku vibrací v rámci vzorků se stejnou koncentrací pektinu, konkrétně u 0,75 a 1,00 % w/w. Tento rozdíl mohl být způsoben strukturální změnou bílkovinné sítě, u které došlo vlivem mechanického stresu vyvolaného vibracemi k poškození a oslabením její mocnosti. Zatímco přidaný HM pektin patrně vytvářel stabilní pevný gel, který ztužoval vnitřní strukturu vzorků a do určité míry kompenzoval vliv vibrací.

Obrázek č. 2, Vývoj texturního atributu tvrdosti nevibrovaných (■) a vibrovaných (■) vzorků TP



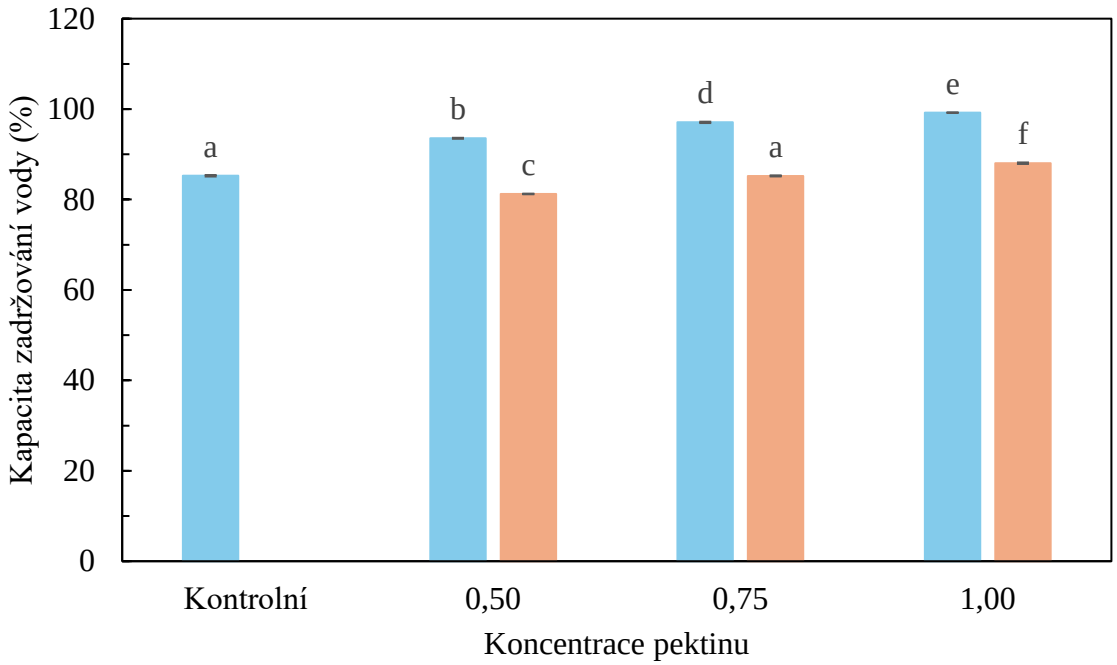
Různá písmena (a–e) označují významné rozdíly při $p < 0,05$; chybové úsečky vyjadřují SD.

Macků et al. (2008) zmiňují, že tvrdost tavených sýrů s vyšším přídavkem pektinu nelineárně roste. Podle Gabriele et al. (2001) je zvýšení tvrdosti způsobeno silnějšími interakcemi mezi pektinovými řetězci, které tvoří trojrozměrnou síť uvnitř sýrové matrice. Proces gelovatění HM pektinu vyžaduje nízké hodnoty pH (2,5–4,2) a přítomnost refraktometrické sušiny, která omezuje množství dostupné vody. To vede ke stabilizaci vazebných zón pektinových řetězců, které ve výsledku tvoří gel vzájemně propojených molekul pektinu obsahující uvnitř zachycenou vodu s rozpuštěnými látkami. Pektinová síť je stabilizována vodíkovými vazbami mezi karboxylovými a hydroxylovými skupinami a hydrofobními interakcemi s methylestery. V případech, kdy jsou estery seskupeny a některé části molekul zůstanou jako volné kyseliny, mohou k procesu gelovatění přispívat také vápenaté můstky (Said et al., 2023). Z pohledu kyselosti podporuje tvorbu gelu nižší pH, neboť karboxylové skupiny na zbytcích kyseliny galakturonové jsou za kyselých podmínek méně disociovány, což vede ke snížení elektrostatického odpuzování mezi pektinovými řetězci (Fraeye et al., 2010; Said et al., 2023). Kromě toho by ke zvýšení tvrdosti mohly přispívat také interakce mezi pektinem a kaseinovými micelami. Přičemž při $pH < 5$ dochází k přitažlivým interakcím, jejichž výsledkem je adsorpce pektinu na povrchu kaseinových micel (Maroziene & de Kruif, 2000; Tuinier et al., 2002). Z výše uvedeného tak lze předpokládat, že zkoumané vzorky TP měly vhodné pH a dostupný obsah vody a rozpuštěných látek, což podporovalo

gelovatění použitého HM pektinu a jeho potenciální interakci s kaseiny. Na druhé straně je třeba zdůraznit zjištěný vliv simulovaných vibrací na texturu vzorků. Lu et al. (2020) v podobně koncipovaném experimentu hodnotili dopad vibrací na stirred-type jogurty, přičemž byl pozorován pokles tvrdosti přičítaný zvyšujícímu se počtu mikrospor v gelu a oslabením strukturální hustoty bílkovinné sítě. V podobné práci bylo zaznamenáno poškození set-type jogurtu vyvolané simulovanými vibracemi. Byly zmíněny viditelné praskliny a trhliny ve hmotě, které mohly taktéž vest k nižší tvrdosti (Richmond et al., 1985).

Stabilita emulze vzorků je znázorněna na obrázku č. 3. Ze získaných výsledků je patrné, že hodnoty pro nevibrované vzorky se zvyšovaly s narůstajícím obsahem pektinu (85,3–99,2 %). Nejvyšší stabilita (99,2 %) byla zaznamenána u nevibrovaného vzorku s nejvyšším obsahem pektinu 1,00 % w/w. Vzorky vystavené vibracím obecně vykazovaly pokles stability o 11–12 procentního bodu, nicméně stabilizační účinek pektinu se rovněž projevil ($p < 0,05$).

Obrázek č. 3, Vývoj kapacity zadržování vody nevibrovaných (■) a vibrovaných (■) vzorků TP



Různá písmena (a–f) označují významné rozdíly při $p < 0,05$; chybové úsečky vyjadřují SD.

Zvyšující se stabilitu vzorků lze vysvětlit skutečností, že pektin vystupoval jako typický hydrokoloid obsahující množství hydroxylových skupin výrazně zvyšující jeho afinitu k molekulám vody (Saha & Bhattacharya, 2010). Stabilní pektinový gel prostupující matricí TP tak významně napomáhal v prevenci uvolňování tekutého podílu (syrovátky). S ohledem na jiné hydrokoloidy tvořící gel Rubel et al. (2019) zaznamenali významně nižší synerezi roztíratelného sýru ricotta s přídavkem směsi želatiny, karagenanu a xanthanové a guarové

gumy během 14denního skladování ve srovnání se vzorky bez hydrokoloidů. Vincová et al. (2023) pozorovali rostoucí trend v kapacitě zadržování vody s rostoucí koncentrací (0,50–1,00 % w/w) hydrokoloidů mořských řas (κ-karagenan, ι-karagenan, furcellaran a alginát sodný) u vzorků CC. V kontextu vlivu vibrací bylo indikováno, že zvýšení intenzity vibrací poškozovalo strukturu stirred-type jogurtu, což vedlo ke zvýšenému uvolňování syrovátky, snížení viskozity a kapacity zadržování vody (Lu et al., 2020). Při pohledu na nemléčné výrobky, vibrace negativně ovlivnily stabilitu majonézy, u které nastal rozpad emulze a zvýšené uvolňování oleje na povrchu (Mackson & Singh, 1991).

Výsledky senzorické analýzy byly interpretovány jako medián. Atribut vzhled byl u všech vzorků hodnocen jako vynikající (1), tudíž vykazovaly smetanově bílou barvu, bez patrného úniku syrovátky a byly prosté kavern, bublin a netypických agregátů ($p > 0,05$). Všechny vzorky byly z hlediska homogenity hodnoceny pozitivně (vynikající, 1) a nebyly zjištěny žádné cizí pachy a příchutě ($p > 0,05$). To ukazuje, že použitý HM pektin byl správně hydratován a dispergován v matrici vzorku. Navíc, neutrální chuť pektinu neovlivňovala přijatelnost vzorků. Srovnatelný výsledek byl získán u tavených sýrů obsahujících pektin (Macků et al., 2008). Dalším atributem byla tvrdost, která byla u většiny vzorků (kontrolní; 0,50 a 0,75 % w/w) hodnocena jako vynikající (1) bez ohledu na koncentraci pektinu nebo vibrační zatížení. Rozdíl byl zjištěn pouze u vzorků s 1,00 % w/w pektinu hodnocených jako velmi dobré (2). Roztíratelnost byla u vzorků hodnocena jako vynikající (1), s výjimkou vibrovaného vzorku s 1,00 % w/w pektinu (velmi dobré, 2). Hodnotitelé většinou nebyli schopni detekovat rozdíly mezi kontrolními; 0,50 a 0,75 % w/w vzorky ani zohlednit vliv vibrací. Výsledky tvrdosti a roztíratelnosti v určité míře odpovídaly instrumentální metodě potvrzující vyšší tvrdost vzorku s 1,00 % w/w pektinu. Vzhledem k celkovému hodnocení nebyl patrný jasný trend a vzorky byly hodnoceny jako vynikající (1), resp. výborné (2) u nevibrovaného kontrolního vzorku. Toto zjištění naznačovalo velkou variabilitu v preferencích vybraných hodnotitelů a jejich širokou toleranci k texturním změnám v důsledku koncentrace pektinu a působení vibrací. Vincová et al. (2023) uvedli korelaci mezi texturní a senzorickou tvrdostí CC s různými hydrokoloidy. Kromě toho, Macků et al. (2008) zmiňují, že tavené sýry s přidaným pektinem byly výrazně tužší a hůře roztíratelné ve srovnání s kontrolními vzorky. Lu et al. (2020) provedli senzorickou analýzu set-type jogurtu vibrovaného po dobu 6 h při narůstající frekvenci (40–160 ot./min) a zmiňují, že barva a konzistence nebyly významně ovlivněny. Zatímco chuť a aroma pouze u nejvyšší frekvence. Celkové skóre postupně klesalo s vyšší frekvencí vibrací. Nicméně autoři této studie taktéž zmiňují poměrně velké rozdíly mezi preferencemi hodnotitelů.

ZÁVĚR

Tato studie prokázala význam HM pektinu při stabilizaci modelových TP vystavených simulovanému vibračnímu zatížení. Výsledky fyzikálně-chemické analýzy vykazovaly očekávané hodnoty obsahu sušiny, vodní aktivita a pH vzorků byly typické pro takový typ výrobku. Negativní vliv vibrací byl sledován v poklesu hodnot tvrdosti a kapacity zadržování vody vzorků. Zatímco přídavek HM pektinu (0,50–1,00 % w/w) vedl k vyšší tvrdosti a zlepšení emulzní stability bez zásadního dopadu na senzorickou přijatelnost. Pozorovaný efekt lze přičítat tvorbě pektinového gelu stabilizujícího matrici vzorků a do určité míry kompenzujícího vliv vibrací. Nejvyšší koncentrace (1,00 % w/w) způsobila zpevnění struktury, ale mírně negativně ovlivnila organoleptické atributy tvrdost a roztíratelnost. Z tohoto důvod lze jako účinný stabilizátor textury doporučit HM pektin v koncentracích 0,50–0,75 % w/w. Získané výsledky můžou sloužit k navrhování surovinových skladeb TP a podobných produktů a k zajištění jejich standardní kvality. V širším kontextu můžou být zjištění užitečná pro plánování přepravních strategií v rámci potravinového řetězce.

PODĚKOVÁNÍ

Tato studie byla podpořena Interní grantovou agenturou Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně (projekt č. IGA/FT/2025/007).

POUŽITÁ LITERATURA

1. BERARDINELLI, A. et al. Effects of Transport Vibrations on Quality Indices of Shell Eggs. In *Biosystems Engineering*. 2003, vol. 86, no. 4, p. 495-502. ISSN 15375110. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2003.08.017.
2. ČESKO. Vyhláška č. 397/2016 o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 2016, částka 162. Dostupné z: https://www.psp.cz/sqw/sbirka.sqw?cz=397&r=2016
3. DAS, K. et al. Effects of new technology on the current manufacturing process of yogurt-to increase the overall marketability of yogurt. In *LWT*. 2019, vol. 108, p. 69-80. ISSN 00236438. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.058.
4. ENDRESS, H.-U. & CHRISTENSEN, S.H. Pectins. In *Handbook of Hydrocolloids*. Elsevier. 2009, p. 274-297. ISBN 9781845694142. Dostupné z: https://doi.org/10.1533/9781845695873.274.
5. FAO. Standard for Cream Cheese CXS 275-1973. In *Codex Alimentarius*. 1973. Dostupné z: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/committees/committee/related-standards/en/?committee=CCMMP

6. FERNANDO, I. et al. Measurement and evaluation of the effect of vibration on fruits in transit—Review. In *Packaging Technology and Science*. 2018, vol. 31, no. 11, p. 723-738. ISSN 0894-3214. Dostupné z: https://doi.org/10.1002/pts.2409.
7. FRAEYE, I. et al. Fine-tuning the properties of pectin–calcium gels by control of pectin fine structure, gel composition and environmental conditions. In *Trends in Food Science & Technology*. 2010, vol. 21, no. 5, p. 219-228. ISSN 09242244. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.02.001.
8. GABRIELE, D. et al. A weak gel model for foods. In *Rheologica Acta*. 2001, vol. 40, no. 2, p. 120-127. ISSN 0035-4511. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/s003970000139.
9. GURBUZ, B. et al. Optimization of citrus fiber-enriched vegan cream cheese alternative and its influence on chemical, physical, and sensory properties. In *Food Science & Nutrition*. 2024, vol. 12, no. 8, p. 5872-5881. ISSN 2048-7177. Dostupné z: https://doi.org/10.1002/fsn3.4220.
10. KÖRZENDÖRFER, A. Vibrations and ultrasound in food processing – Sources of vibrations, adverse effects, and beneficial applications – An overview. In *Journal of Food Engineering*. 2022, vol. 324. ISSN 02608774. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110875.
11. KŮROVÁ, V. et al. The effect of homogenization and addition of polysaccharides on the viscoelastic properties of processed cheese sauce. In *Journal of Dairy Science*. 2022, vol. 105, no. 8, p. 6563-6577. ISSN 00220302. Dostupné z: https://doi.org/10.3168/jds.2021-21520.
12. LU, A. et al. Modeling the effect of vibration on the quality of stirred yogurt during transportation. In *Food Science and Biotechnology*. 2020, vol. 29, no. 7, p. 889-896. ISSN 1226-7708. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/s10068-020-00741-7.
13. MACKSON, J. P. & SINGH, S. P. The effect of temperature and vibration on emulsion stability of mayonnaise in two different package types. In *Packaging Technology and Science*. 1991, vol. 4, no. 2, p. 81-90. ISSN 0894-3214. Dostupné z: https://doi.org/10.1002/pts.2770040206.
14. MACKŮ, I. The effect of pectin concentration on viscoelastic and sensory properties of processed cheese. In *International Journal of Food Science & Technology*. 2008, vol. 43, no. 9, p. 1663-1670. ISSN 0950-5423. Dostupné z: https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01734.x.

15. MAROZIENE, A. & DE KRUIF, C. G. Interaction of pectin and casein micelles. In *Food Hydrocolloids*. 2000, vol. 14, no. 4, p. 391-394. ISSN 0268005X. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/S0268-005X(00)00019-9.
16. OBERMAIER, O. et al. *Sýry a tvarohy*. 2. přepracované vydání. Jak poznáme kvalitu? 2016, Praha: Sdružení českých spotřebitelů, z.ú. ISBN 978-80-87719-43-5.
17. RICHMOND, M.L. et al. Physical Damage of Yogurt. The Role of Secondary Packaging on Stability of Yogurt. In *Journal of Food Protection*. 1985, vol. 48, no. 6, p. 482-486. ISSN 0362028X. Dostupné z: https://doi.org/10.4315/0362-028X-48.6.482.
18. RUBEL, I. et al. Spreadable ricotta cheese with hydrocolloids: Effect on physicochemical and rheological properties. In *International Dairy Journal*. 2019, vol. 94, p. 7-15. ISSN 09586946. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.03.002.
19. SAHA, D. & BHATTACHARYA, S. Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. In *Journal of Food Science and Technology*. 2010, vol. 47, no. 6, p. 587-597. ISSN 0022-1155. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/s13197-010-0162-6.
20. SAID, N. S. et al. Pectin Hydrogels: Gel-Forming Behaviors, Mechanisms, and Food Applications. In *Gels*. 2023, vol. 9, no. 9. ISSN 2310-2861. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/gels9090732.
21. SCHULZ-COLLINS, D. & SENGE, B. Acid- and acid/rennet-curd cheeses part A: Quark, cream cheese and related varieties. In *Major Cheese Groups*. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Elsevier. 2004, p. 301-328. ISBN 9780122636530. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/S1874-558X(04)80049-6.
22. TEMME, P. et al. Vibrations as a cause of texture defects during yogurt manufacturing – Formation of vibrations and their propagation in dairy production lines. In *Journal of Food Engineering*. 2021, vol. 293. ISSN 02608774. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110369.
23. TRMČIĆ, A. et al. Consensus categorization of cheese based on water activity and pH—A rational approach to systemizing cheese diversity. In *Journal of Dairy Science*. 2017, vol. 100, no. 1, p. 841-847. ISSN 00220302. Dostupné z: https://doi.org/10.3168/jds.2016-11621.
24. TUINIER, R. et al. Electrosorption of Pectin onto Casein Micelles. In *Biomacromolecules*. 2002, vol. 3, no. 3, p. 632-638. ISSN 1525-7797. Dostupné z: https://doi.org/10.1021/bm025530x
25. VINCOVÁ, A. et al. The Impact of Divergent Algal Hydrocolloids Addition on the Physicochemical, Viscoelastic, Textural, and Organoleptic Properties of Cream Cheese

Products. In *Foods*. 2023, vol. 12, no. 8. ISSN 2304-8158. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/foods12081602.

26. WEISEROVÁ, E. et al. The effect of combinations of sodium phosphates in binary mixtures on selected texture parameters of processed cheese spreads. In *International Dairy Journal*. 2011, vol. 21, no. 12, p. 979-986. ISSN 09586946. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.06.006.
27. WILLIAMS, P.A. & PHILLIPS, G.O. Introduction to food hydrocolloids. In *Handbook of Hydrocolloids*. Elsevier. 2009, p. 1-22. ISBN 9781845694142. Dostupné z: https://doi.org/10.1533/9781845695873.1.
28. WOLFSCHOON POMBO, A. F. Cream cheese: Historical, manufacturing, and physico-chemical aspects. In *International Dairy Journal*. 2021, vol. 117. ISSN 09586946. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104948.

Kontaktní adresa: Ing. Tomáš Gryger, Ústav technologie potravin, Fakulta technologická, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Vavrečkova 5669, 760 01 Zlín, Česká republika; Email: t_gryger@utb.cz

VÝSKYT REZISTENTNÝCH IZOLÁTOV *YERSINIA RUCKERI* ZÍSKANÝCH ZO PSTRUHA DÚHOVÉHO

OCCURRENCE OF RESISTANT ISOLATES OF *YERSINIA RUCKERI* OBTAINED FROM RAINBOW TROUT

Hajdučková Vanda, Hudecová Patrícia, Király Ján, Teleky Jana, Pilipčinec Emil

Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

The most serious threat to fish farming is infectious disease caused by bacterial pathogens, including *Yersinia ruckeri*, due to high economic losses. To prevent and reduce the occurrence of outbreaks, there is excessive application of antibiotics and chemotherapeutic drugs, which results in the development of antibiotic resistance and endangering the health of animals and people. The aim of this work was to detect presence of *Yersinia ruckeri* in gastrointestinal tract of rainbow trout and determine the sensitivity of individual isolates to 15 antimicrobial agents. A total of 8 *Yersinia ruckeri* isolates were isolated and identified, while all isolates showed resistance to β-lactams, macrolide and nitroimidazole antibiotics.

Key words: aquaculture, *Yersinia ruckeri*, antibiotic resistance, rainbow trout

ÚVOD

Produkty rybárstva boli vždy dôležitou súčasťou našej stravy. V posledných rokoch sa rybie mäso považuje za alternatívu ku konzumáciu hovädzieho, bravčového a hydinového mäsa z dôvodu dopytu po zdravšom životnom štýle. Ryby a výrobky z rýb patria k najvýznamnejším potravinám živočíšneho pôvodu. Akvakultúra dosiahla v posledných rokoch celosvetovo významný ekonomický rozvoj a je považovaná za najrýchlejšie sa rozvíjajúci sektor v potravinárskom priemysle. Tiež vďaka akvakultúre môžeme zlepšovať a kontrolovať stavy mnohých morských a sladkovodných druhov, a pritom zdokonaľovať metódy na zabezpečenie ekologického správania, rentability a náležitej sociálnej štruktúry tohto odvetvia (Wrobel et al. 2019). Najzávažnejšiu hrozbu v chovoch rýb predstavujú ekonomické straty v dôsledku infekčných chorôb, ktoré sa ľahko šíria pri vysokej koncentrácii rýb a spôsobujú vysokú mortalitu. Uvádza sa, že až 55 % infekcií u rýb je bakteriálneho pôvodu (Matínez-Lara et al. 2021). Na kvalitu mäsa majú negatívny vplyv aj liečivá, ktoré sa používajú na ich terapiu či prevenciu. K významným patogénom rýb vyvolávajúcich závažné ochorenia patrí *Yersinia ruckeri*, *Aeromonas salmonicida*, *A. hydrophila*, *A. caviae*, alebo *Vibrio alginolyticus*, *V.*

ordalii (Pessoa et al. 2019, Pajdak-Czaus et al. 2019, Wibowo et al. 2021). V rámci prevencie a terapie bakteriálnych infekcií dochádza k zvýšenej aplikácii antibiotík a chemoterapeutík, čo má za následok zvýšený rozvoj antibiotickej rezistencie a ovplyvňovanie nielen zdravia zvierat, ale aj ľudí (Adenaya et al. 2023).

Yersinia ruckeri je Gram-negatívna tyčinka, fakultatívne anaeróbna, na krvnom agare netvorí hemolýzu. Je oxidáza negatívna, kataláza pozitívna, k hlavným faktorom virulencie patria extracelulárne produkty (Pilipčinec et al. 2018).

Yersinia ruckeri vyvoláva závažné septikémie – „Enteric redmouth disease‘‘ v intenzívnych chovoch lososovitých rýb. Choroba postihuje najmä pstruha dúhového, z ostatných rýb je k infekcii vnímavý pstruh hnedý, kapor obyčajný, losos atlantický, losos kráľovský a mnohé ďalšie druhy sladkovodných a morských rýb (Pilipčinec et al. 2018). K infekcii sú najvnímavejšie ryby do jedného roka. Inkubačná doba trvá tri až sedem dní a prepuknutie ochorenia ovplyvňuje teplota vody, stres, kvalita ekosystému, prítomnosť organických látok vo vode. Choroba môže prebiehať buď v akútnej (septikemickej forme) alebo chronickej forme. U postihnutých rýb je pozorovaný obojstranný exoftalmus, zhoršený výživný stav, apatia, anorexia, krvácaniny na sliznici podnebia a na žiabrach, stmavnutie kože a začervenanie v okolí plutiev (Kumar et al. 2015).

MATERIÁL A METODIKA

Črevný obsah získaný z 80 kusov pstruha dúhového bol inokulovaný na vopred pripravené živné médiá a vyšetrený kultivačne na krvný agar (KA) a Endo agar (EA) a inkubovaný pri teplote 37 °C po dobu 24 hod. Kultivácia prebiehala pri 37 °C po dobu 24 hod. Druhová identifikácia bola vykonaná použitím biochemickej súpravy ENTEROtest 24N (Erba Lachema, Česká Republika), podľa pokynov výrobcu a potvrdená na génovej úrovni pomocou PCR metódy sekvenovaním 16S rRNA (Tabuľka č. 1).

Tabuľka č. 1, Zoznam použitých primérov pre sekvenovanie

Gén	Primér	Sekvencia (5´– 3´)	Produkt (bp)
16S rRNA	Bac27F	AGAGTTTGGATCMTGGCTCAG	1465
	Univ1492R	CGGTTACCTTGTTACGACTT	

U identifikovaných a potvrdených izolátov *Yersinia ruckeri* bola stanovená citlivosť na antibiotiká pomocou kvalitatívnej diskovo-difúznej metódy podľa Kirby-Bauera. Z 24 hodinovej kultúry identifikovaných izolátov bola pripravená suspenzia upravená na zákal

zodpovedajúci hustote 0,5 McFarland (1,5 x 10^8 KTJ/ml). Na vykonanie diskovo-difúznej metódy bol použitý Mueller-Hinton agar (MHA), na ktorý sa naočkovalo 100 µl takto pripravenej suspenzie sa rovnomerne nanieslo na celý povrch živnej pôdy, s následným pridaním 15 rôznych antibiotických diskov, ktoré sa aplikovali na povrch naočkovaného média v príslušných rozostupoch: ampicilín (10 µg), amoxicilín (25 µg), amoxicilín s kyselinou klavulánovou (30 µg), oxytetracyklín (30 µg), penicilín (10 µg), enrofloxacin (5mj), ciprofloxacín (5 µg), chloramfenikol (30 µg), tylozin (15 µg), metronidazol (5 µg), erytromycín (15 µg), streptomycín (25 µg), cefoxitin (30 µg), cefalexin (30 µg), ko-trimoxazol (25 µg). Citlivosť na antibiotiká bola vyhodnotená po 24 hod. kultivácii pri teplote 37 °C meraním priemeru inhibičných zón.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Mikrobiologickému vyšetreniu bolo podrobených 80 črevných obsahov pstruha dúhového bez klinických príznakov. Identifikácia izolátov *Yersinia ruckeri* bola vykonaná kultivačne na KA a EA a pomocou biochemickej súpravy ENTEROtest 24N (Erba Lachema) bolo 7 izolátov identifikovaných ako *Yersinia ruckeri*, pričom na génovej úrovni bol potvrdený výskyt 8 izolátov.

U ôsmich získaných izolátov bola stanovená citlivosť na antibiotiká (Tabuľka č. 2), pričom veľkosť zóny bola meraná v milimetroch po 24 hodinách a baktéria hodnotená vo vzťahu k antibiotikám ako senzitívna (≥ 18 mm), intermediárna (13 – 17 mm) alebo rezistentná (< 13 mm) (Okonko et al. 2009, Odeyemi 2017). Všetky izoláty vykazovali rezistenciu na β-laktámové antibiotiká - ampicilín a penicilín, na makrolidové antibiotiká - erytromycín a tylozín a taktiež na nitroimidazolové antibiotiká - metronidazol. Navyše 2 izoláty preukázali rezistenciu na amoxicilín. Dané výsledky potvrdzujú prítomnosť ôsmich multirezistentných izolátov, ktoré vykazovali rezistenciu voči makrolidovým, β-laktámovým a nitroimidazolovým antibiotikám. Výsledky našej práce sú zhodné so štúdiou Yang et al. (2024), ktorá potvrdila antibiotickú rezistenciu *Yersinia. ruckeri* voči penicilínu, amoxicilínu a erytromycínu. Ďalšie práce potvrdzujú výskyt rezistencie *Yersinia ruckeri* voči ampicilínu, amoxicilínu a taktiež aj voči erytromycínu (Orozova et al. 2014, Feng et al. 2022).

Tabuľka č. 2, Citlivosť na antibiotiká stanovená diskovo-difúznou metódou

	Izolát 60 (mm)	Izolát 61 (mm)	Izolát 62 (mm)	Izolát 64 (mm)	Izolát 75 (mm)	Izolát 76 (mm)	Izolát 81 (mm)	Izolát 106 (mm)
Penicilín	-	-	-	-	-	-	-	-
Ampicilín	-	-	-	-	-	-	-	-
Amoxicilín	25	25	-	25	26	26	-	24
Amoxicilín klavulanát	25	25	27	23	26	25	26	25
Cefalexín	18	18	22	20	18	20	19	18
Cefoxitín	24	26	29	23	22	23	25	22
Metronidazol	-	-	-	-	-	-	-	-
Tylozín	8	8	10	10	8	-	8	10
Streptomycín	17	19	24	22	19	20	21	22
Ko-trimoxazol	32	32	36	29	30	31	31	29
Ciprofloxacín	37	29	38	26	24	25	28	26
Oxytetracyklín	25	26	29	25	29	28	30	25
Enrofloxacín	31	29	35	23	27	27	30	23
Chloramfenikol	29	29	28	30	29	30	27	30
Erytromycín	-	-	-	-	-	-	-	-

ZÁVER

Práca bola zameraná na výskyt baktérií *Yersinia ruckeri* u pstruha dúhového a na stanovenie rezistencie na antibiotiká u jednotlivých izolátov. Z 80 vzoriek črevného obsahu bolo izolovaných 8 zástupcov *Yersinia ruckeri*, pričom všetky izoláty vykazovali rezistenciu voči β-laktámovým, makrolidovým a nitroimidazolovým antibiotikám. Pre spomalenie šírenia antibiotickej rezistencie je potrebné v akvakultúre obmedziť aplikáciu antibiotík a chemoterapeutík a venovať pozornosť možným alternatívnym náhradam, ktoré majú opodstatnenie najmä z preventívneho hľadiska.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená projektom KEGA 018UVLF-4/2025.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ADENAYA, A. et al. Usage of antibiotics in aquaculture and the impact on coastal waters. In *Marine Pollution Bulletin*. ISSN 1879-3363, 2023, vol. 188, p. 114645.
2. FENG, Y. et al. Comparative analysis of sturgeon-and catfish-derived *Yersinia ruckeri* reveals the genetic variation and the risk of heavy antibiotic resistance. In *Aquaculture Reports*. ISSN 2352-5134, 2022, vol. 25, p. 101231.

3. KUMAR, G. et al. *Yersinia ruckeri*, the causative agent of enteric redmouth disease in fish. In *Veterinary research*. ISSN 1297-9716, 2015, vol. 46, p. 1-10.
4. MARTÍNEZ-LARA, P. et al. Granulomatosis in fish aquaculture: A mini review. In *Reviews in Aquaculture*. ISSN 1873-5622, 2021, vol. 13, n. 1, p. 259-268.
5. OKONKO, I. O. et al. Antibiotics sensitivity and resistance patterns of uropathogens to nitrofurantoin and nalidixic acid in pregnant women with urinary tract infections in Ibadan, Nigeria. In *Middle-East J. Sci. Res*. ISSN 1990-9233, 2009, vol. 4, n. 2, p. 105-109.
6. ODEYEMI, O. A, – Asmat, A. Antibiotic resistance profiling and phenotyping of *Aeromonas* species isolated from aquatic sources. In *Saudi journal of biological sciences.* ISSN 2213-7106, 2017, vol. 24, n. 1, p. 65-70.
7. OROZOVA, P. et al. Diagnostics and antibiotic resistance of Yersinia ruckeri strains isolated from trout fish farms in Bulgaria. In *International Journal of Development Research*. ISSN 2230-9926, 2014, vol. 4, n. 12, p. 272-2733.
8. PILIPČINEC, E. et al. Špeciálna bakteriológia. Gram-negatívne baktérie. ISBN 978-80-8077-571-1, 2018.
9. PAJDAK-CZAUS, J. et al. *Yersinia ruckeri*—A threat not only to rainbow trout. In *Aquaculture research.* ISSN 1365-2109, 2019, vol. 50, n. 11, p. 3083-3096.
10. PESSOA, R. B. G. et al. The genus *Aeromonas*: A general approach. In *Microbial pathogenesis*. ISSN 1096-1208, 2019, n. 130, p. 81-94.
11. YANG, Y. et al. *Yersinia ruckeri* Infection and Enteric Redmouth Disease among Endangered Chinese Sturgeons, China, 2022. In *Emerging Infectious Diseases.* ISSN 1080-6059, 2024, vol. 30, n. 6, p. 1125.
12. WIBOWO, R. H. et al. Identification of *Vibrio* spp. causing vibriosis in spiny lobsters (*Panulirus homarus* L.) in Bengkulu marine temporary shelter ponds. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. IOP Publishing, ISSN 1755-1315, 2021. p. 012019.
13. Wrobel et al. Overcoming Fish Defences: The virulence factors of *Yersinia ruckeri*. In *Genes*. ISSN 2073-4425, 2019, vol. 10, n. 9, p. 700.

Kontaktná adresa: Hajdučková Vanda, Department of Microbiology and Immunology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: vanda.hajduckova@student.uvlf.sk

VLIV RŮZNÝCH ČINIDEL POUŽITÝCH PŘI PŘÍPRAVĚ VZORKŮ NA VÝSLEDKY ELEKTROFORÉZY.

EFFECT OF DIFFERENT REAGENTS USED IN SAMPLE PREPARATION ON ELECTROPHORESIS RESULTS.

Havlová Lenka[1], Králová Michaela[2], Pospiech Matej[1], Javůrková Zdeňka[1], Bartlová Marie[1], Tremlová Bohuslava[1]

[1]Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu, [2]Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika

ABSTRACT

This study focused on optimizing sample preparation for separation by SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate – polyacrylamide gel electrophoresis). The objective of the optimization was to determine whether urea or Laemmli buffer is more suitable for sample preparation. The control sample for separation contained the wheat protein gliadin, while the other samples differed in rutin concentration (0.14–8.08 mg/g). It was assumed that rutin would bind to gliadin and alter its molecular weight. The most suitable reagent for sample preparation was determined by visually assessing the band intensities at individual molecular weights on the electropherograms. The results showed that Laemmli reducing buffer was the more suitable reagent, exhibiting statistically significantly ($p < 0.05$) better resolution at molecular weights of 50 kDa, 37 kDa, and 15 kDa compared to urea. These molecular weights are also important in terms of allergenic potential, which will be addressed in a follow-up study.

Key words: Laemmli buffer, urea, gliadin, rutin, SDS-PAGE

ÚVOD

Elektroforéza je často používaná separační metoda i přes to, že je poměrně pracná a časově náročná. Metoda SDS-PAGE (elektroforéza na polyakrylamidovém gelu v přítomnosti dodecylsulfátu sodného) se běžně používá k separaci proteinů i ve svých dalších modifikacích. Molekuly dodecylsulfátu sodného (SDS) způsobují rozpad kvarterní struktury proteinů podobně jako působení 2-merkaptoethanolu za současného krátkého záhřevu na teplotu 100°C (Bárta et al., 2010).

Další variantou je elektroforéza s opačnou polaritou A-PAGE (kyselá elektroforéza na polyakrylamidovém gelu), kdy proteiny v gelech jsou vysoce protonizovány prostředím s nízkým pH (Watry et al., 2020; Girard, 2022). Pro analýzu nebo separaci jednořetězcových

fragmentů DNA nebo RNA, stejně jako vzorků značených radionukleotidy nebo fluorescencí je vhodná denaturační močovinová polyakrylamidová gelová elektroforéza (Urea-PAGE) (Summer et al., 2009). Urea působí jako denaturační činidlo (Choi et al., 2005; Espinosa et al., 2025).

Elektroforéza umožňuje také rozdělení prolaminů pšeničné bílkoviny glutenu (lepku) na základě jejich velikosti a elektroforetické pohyblivosti (Xu and Messing, 2009; Daly et al., 2020). Gluten se skládá především z polymerních gluteninových a monomerních gliadinových frakcí, které tvoří 80-85 % celkového obsahu bílkovin (Girard, 2022; Sha et al., 2024). Gluteniny obsahují mezimolekulární disulfidové vazby a jsou větší (60-90 kDa) než monomerní proteiny gliadiny (30-80 kDa), které tvoří mezimolekulární disulfidové vazby jen zřídka. Gliadiny se dělí na základě elektroforetické pohyblivosti a velikosti jejich koncové části na α-gliadin, β-gliadin (28-35 kDa), γ-gliadin (35-40 kDa) a ω-gliadin (55-70 kDa) (Sha et al., 2024). Gliadinové frakce jsou z velké části zodpovědné za alergie a imunitní reakce u citlivých jedinců (Girard, 2022). Havlová et al. (2025) uvádí, že byla prokázána reaktivita gliadinu s polyfenoly, což by mohlo vést ke snížení alergenního potenciálu, nicméně je potřeba ještě dalších studií (Havlova et al., 2025).
Například Sha et al. (2024) popisují interakce gliadinu s bioaktivními látkami (Sha et al., 2024) a Girard (2022) se ve své studii zabýval interakcí gliadinu s proanthokyanidiny (Girard, 2022).

Cílem práce bylo zjistit, které činidlo je vhodnější pro metodu SDS-PAGE, a které bude vykazovat lepší rozlišení bandů za účelem detekce změn molekulové hmotnosti. Jako vzorky byly použity různé koncentrace antioxidantu rutinu, u kterého se předpokládá vazba na gliadin.

MATERIÁL A METODIKA

Příprava vzorků:

Gliadin (Sigma-Aldrich, USA) byl rozpuštěn v 55% ethanolu (c = 10 mg/g). Tento vzorek s obsahem 1% gliadinu v 55% ethanolu bez přídavku rutinu byl označen jako kontrola (K).
Z rutinu (Sigma-Aldrich, USA) byl nejdříve připraven nasycený zásobní roztok, který byl následně ředěn 55% ethanolem. V každé koncentraci bylo obsaženo 1 % gliadinu. Ve finálních vzorcích byl rutin zastoupen v následujících koncentracích: R1 – 0,14 mg/g, R2 – 0,27 mg/g, R3 – 0,54 mg/g, R4 – 0,81 mg/g, R5 – 1,62 mg/g, R6 – 3,23 mg/g, R7 – 4,85 mg/g, R8 – 6,46 mg/g, R9 – 8,08 mg/g.

Postup přípravy vzorků před elektroforézou s využitím různých činidel:

Vzorky byly dále připraveny 2 různými způsoby, které se lišily použitím různých činidel:

1) V prvním případě bylo ke 100 µl vzorku gliadinu (K, R1 – R9) přidáno 100 µl roztoku složeného z Laemmliho redukčního činidla a β-merkaptoethanolu (dle návodu výrobce).

2) Ve druhém případě bylo ke 100 µl vzorku gliadinu (K, R1 – R9) přidáno 100 µl roztoku s obsahem 2,75 M močoviny (urea), 5% kyseliny octové a barviva methylenová zeleň.

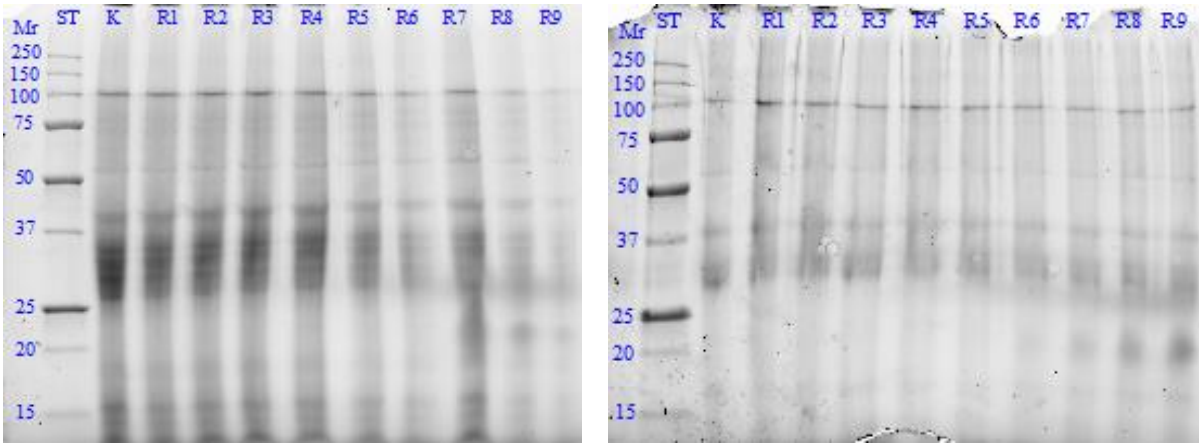
Takto připravené vzorky byly důkladně promíchány a následně 5 minut zahřívány v termobloku při 95 °C. Poté byly vzorky pomocí mikrostříkačky (Hamilton) naneseny na gel (12% Mini-PROTEAN® TGX Stain-Free™ Protein Gels, 12 well, 20 µl) v objemu 15 µl. K separaci jednotlivých frakcí gliadinu byla použita elektroforéza Mini-PROTEAN Tetra Cell Electrophoresis a PowerPac HC Power Supply (Bio-Rad Laboratories, CA). Elektroforéza probíhala při 200 V, 3 A po dobu 38 minut v TGS running bufferu (Bio-Rad Laboratories, CA) připraveného dle návodu. Gely byly zobrazeny pomocí UV záření na skeneru ChemiDoc MP (Bio-Rad Laboratories, Kalifornie). Použitá metodika vycházela z práce (Girard, 2022) s tím rozdílem, že v této práci byly všechny vzorky analyzovány pomocí SDS-PAGE.

Výsledky byly zpracovány pomocí Image Lab software verze 6.1. (Bio-Rad Laboratories, CA). Statistické zpracování dat bylo provedeno pomocí Mann-Whitney U testu XLSTAT (Addinsoft, USA) na hladině významnosti $p < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Vliv činidel (Laemliho roztok, urea) použitých na přípravu vzorků určených k elektroforéze je zobrazen na elektroforeogramu (obrázek 1). U kontrolního vzorku (bez obsahu rutinu) a vzorků gliadinu s různými koncentracemi rutinu byla vyhodnocena intenzita bandů, které byly následně porovnávány v závislosti na použitém činidle. Intenzita bandů byla vyhodnocena vizuálně, kdy bylo posuzováno, jestli je viditelnost bandu dostatečně intenzivní (10 bodů), intenzita bandu je slabá, ale band je rozlišitelný (5 bodů) a band není rozlišitelný (0 bodů).

Obrázek č. 1. Elektroforeogram vzorků gliadinu s rutinem



a) Laemmliho činidlo b) urea

Vysvětlivky: (ST – standard; K – kontrola, Mr – molekulová hmotnost, R1–R9 – koncentrace rutinu)
K – 0 mg/g (1% gliadin v 55% alkoholu bez přídavku rutinu); R1 – 0,14 mg/g, R2 – 0,27 mg/g, R3 – 0,54 mg/g, R4 – 0,81 mg/g, R5 – 1,62 mg/g, R6 – 3,23 mg/g, R7 – 4,85 mg/g, R8 – 6,46 mg/g, R9 – 8,08 mg/g.

U jednotlivých molekulových hmotností byly všechny body sečteny a porovnány v závislosti na použitých činidlech (tabulka 1). Z elektroforeogramu s použitím Laemmliho pufru jsou lépe viditelné bandy α-gliadinu, β-gliadinu (28-35 kDa), γ-gliadinu (35-45 kDa) a ω-gliadinu (55-70kDa), kdy z hlediska alergenního potenciálu je zásadní zejména γ-gliadin (Sha et al., 2024). Rozlišení a ostrost bandů mimo jiné závisí také na velikosti nástřiku a tloušťce gelu (Summer et al., 2009), které byly u všech vzorků stejné.

Tabulka č. 1 Vyhodnocení intenzity bandů jednotlivých vzorků u různých druhů činidel

Mr (kDa)	Laemmli (%)	Urea (%)
250	0	0
150	0	0
100	95	100
75	0	0
50	45	20
37	80	50
25	0	0
20	5	15
15	55	0

Vysvětlivky: Mr – molekulová hmotnost

Statistická analýza ukázala, že mezi použitými činidly existují statisticky významné rozdíly v efektivitě separace proteinů metodou SDS-PAGE. Mezi použitými činidly byly prokázány

statisticky významné rozdíly u molekulových hmotností 50 kDa, 37 kDa a 15 kDa na hladině významnosti ($p < 0,05$) ve prospěch Laemmliho pufru. Výsledky ukázaly, že volba činidla má vliv na kvalitu separace proteinů v uvedených molekulových hmotnostech. Tyto výsledky jsou v souladu se studií Girard (2022), v níž byla provedena elektroforéza SDS-PAGE s využitím Laemmliho pufru, zatímco u metody A-PAGE byla k přípravě vzorku použita urea. Podobně byla urea využita k přípravě vzorku určeného k separaci pšeničné bílkoviny gliadinu pomocí metody A-PAGE ve studii Watry et al. (2020). Pro zjištění vlivu obsahu rutinu na gliadin a potenciálního vzniku vazby mezi nimi, která by se projevila nárůstem molekulové hmotnosti, je tedy vhodnější použít Laemmliho pufr.

ZÁVĚR

K separaci pšeničné bílkoviny gliadinu pomocí metody SDS-PAGE je vhodnější použít Laemmliho redukční pufr. Toto činidlo prokázalo statisticky významně ($p < 0,05$) lepší výsledky separace proteinů s molekulovou hmotností 50 kDa, 37 kDa a 15 kDa. Z hlediska alergenního potenciálu jsou uvedené molekulové hmotnosti stěžejní. Pro zjištění vlivu obsahu rutinu na gliadin a změny molekulové hmotnosti je tedy vhodnější použít Laemmliho pufr.

PODĚKOVÁNÍ

Práce vznikla za podpory projektu ITA Veterinární univerzity Brno s názvem Vedlejší produkty rostlinného původu jako součást nových biodegradabilních/jedlých produktů pro ochranu životního prostředí a mechanismus ochrany zdraví před alergenními složkami potravin.

POUŽITÁ LITERATURA

1. BÁRTA, J., BÁRTOVÁ, V. AND ČURN, V. Protein analysis using automated experion chip electrophoresis and its comparison with SDS-PAGE. In *Chemicke Listy*. 2010. 104(1), pp. 33–40.
2. CHOI, N.S. et al. Comparative study of enzyme activity and stability of bovine and human plasmins in electrophoretic reagents, β-mercaptoethanol, DTT, SDS, triton X-100, and urea. In *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 2005. 38(2), pp. 177–181. Available at: https://doi.org/10.5483/bmbrep.2005.38.2.177.
3. DALY, M. et al. Mapping Coeliac Toxic Motifs in the Prolamin Seed Storage Proteins of Barley, Rye, and Oats Using a Curated Sequence Database. In *Frontiers in Nutrition*. 2020. 7(July). Available at: https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00087.
4. ESPINOSA, Y.R., CARLEVARO, C.M. AND FERRARA, C.G. Molecular Mechanisms Underlying the Effects of Urea and the Structural Dynamics of Bovine Serum Albumin.

In *arXiv preprint arXiv*. 2025. 2504, 16325. Available at: http://arxiv.org/abs/2504.16325.

5. GIRARD, A.L. Moderate heat enhances gliadin-proanthocyanidin interactions. In *Food Chemistry*. 2022. 393, p. 133331. Available at: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133331.
6. HAVLOVA, L. et al. The Inhibitory Effect of Bioactive Substances on Immunoreactivity of Gluten and Crustacean Protein by ELISA Method. In *Journal of Food Biochemistry*. 2025. 2025(1), 4461077. Available at: https://doi.org/10.1155/jfbc/4461077.
7. SHA, X. et al. The prolamins, from structure, property, to the function in encapsulation and delivery of bioactive compounds. In *Food Hydrocolloids*. 2024. 149, p. 109508. Available at: https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109508.
8. SUMMER, H., GRÄMER, R. AND DRÖGE, P. Denaturing urea polyacrylamide gel electrophoresis (Urea PAGE). In *Journal of Visualized Experiments.* 2009. 32, pp. 3–5. Available at: https://doi.org/10.3791/1485.
9. WATRY, H., ZERKLE, A. AND LAUDENCIA-CHINGCUANCO, D. Modified acid-PAGE method for rapid screening and phenotyping of wheat gliadin mutant lines. In *MethodsX*. 2020. 7, p. 100858. Available at: https://doi.org/10.1016/j.mex.2020.100858.
10. XU, J.H. AND MESSING, J. Amplification of prolamin storage protein genes in different subfamilies of the Poaceae. In *Theoretical and Applied Genetics*. 2009. 119(8), pp. 1397–1412. Available at: https://doi.org/10.1007/s00122-009-1143-x.

Kontaktní adresa: Havlová Lenka, Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika; E-mail: havloval@vfu.cz

POROVNANIE ÚČINKU DVOCH RÔZNYCH KONCENTRÁCII HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA JATOČNÉ UKAZOVATELE U BROJLEROVÝCH KURČIAT

COMPARISON OF THE EFFECT OF TWO DIFFERENT CONCENTRATIONS OF HUMIC SUBSTANCES ON CARCASS INDICATORS IN BROILER CHICKENS

Hreško Šamudovská Alena, Jančatová Tereza, Harčárová Michaela, Marcin Andrej, Hreško Stanislav, Bujňák Lukáš

Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

In this study, the influence of two different concentrations of the preparation of humic substances on carcass characteristics in broiler chickens was monitored. Ninety 1-day-old broiler chickens (hybrid Ross 308) were divided into three groups. Humic substances were added to the feed mixtures of the experimental groups in the amount of 6 g/kg (group H1) and 9 g/kg (group H2) during the entire experimental period. The experimental period lasted 6 weeks. In the H2 group, significantly higher carcass yield was found than in the control group and in the H1 group ($P < 0.05$). The live body weight of chickens on the 42nd day of the experiment, the weight of carcasses and the percentage of breasts, thighs, wings, hulls and abdominal fat were not significantly affected.

Key words: carcass characteristics, natural feed additives, poultry

ÚVOD

Kŕmne doplnkové látky sa stali neoddeliteľnou súčasťou krmív používaných v hydinárskom priemysle. Cieľom ich podávania je zvýšenie produkcie a udržanie zdravia zvierat. V posledných rokoch vzrástol záujem o doplnkové látky prírodného pôvodu, ako sú napríklad humínové látky. Humínové látky sú organické zlúčeniny vznikajúce degradáciou rastlinných a živočíšnych zvyškov a sú hlavnou zložkou pôdneho humusu. V prevažnej miere pozostávajú z frakcií humínových kyselín, fulvových kyselín a humínov. v menšej miere obsahujú ulmové kyseliny a v stopových množstvách minerálne látky, ako sú železo, mangán, meď a zinok (Stevenson 1994, Bezuglova a Klimenko 2022). Vyznačujú sa schopnosťou viazať ťažké kovy, organické a anorganické zlúčeniny, vrátane toxických polutantov, ako sú pesticídy a iné environmentálne znečisťujúce látky, za tvorby chelátov (Sahin a kol. 2016, Bezugluva a Klimenk 2022). Viazaním toxických látok priaznivo ovplyvňujú hygienu pôdy a zabraňujú ich prenosu na poľnohospodárske plodiny (Kucukersan a kol. 2005, Veselá a kol. 2005). Okrem oblasti poľnohospodárstva a priemyslu si humínové látky našli svoje uplatnenie aj v humánnej

a veterinárnej medicíne a vo farmakológii vďaka svojim analgetickým, antimikrobiálnym, protizápalovým, či antitoxickým účinkom (EMEA 1999). Pri rôznych intoxikáciách organizmu môžu na seba naviazať toxické látky, zabrániť ich pôsobeniu a umožniť ich vylúčenie z tela (Vašková a kol. 2023).

Experimentálne pridávanie humínových látok do krmiva alebo vody pozitívne ovplyvnilo produkčné parametre u hydiny (Ceylan a kol. 2003, Karaoglu a kol. 2004, Ur Rehman a kol. 2016), ale aj ošípaných (Ji a kol. 2006), či králikov (Lacková a kol. 2022). U hydiny účinkom humínových látok došlo k vyššej intenzite rastu, vyššej produkcii vajec, a pozitívne boli ovplyvnené aj jatočná výťažnosť, kvalita mäsa alebo biochemické parametre (Ceylan a kol. 2003, Karaoglu a kol. 2004, Šamudovská a Demeterová 2010, Ozturk a kol. 2012, Arpasova a kol. 2016, Ur Rehman a kol. 2016). Jatočná hmotnosť a kvalita mäsa bola ovplyvnená aj u farmových bažantov (Gálik a kol. 2023). Výsledky podrobnejších štúdií naznačujú, že humínové látky by mohli ovplyvňovať aj črevnú mikroflóru, imunitu, metabolické a biochemické parametre v krvi, ako aj parametre antioxidačného enzymatického systému (Taklimi a kol. 2012, Kovacik a kol. 2020, Mudroňová a kol. 2020, Haluzina a Harashchuk 2023).

Keďže humínové látky preukázateľne podporujú rast, sú vhodnou alternatívou za antibiotické stimulátory rastu, ktorých používanie vo výžive zvierat v Európskej únii je od roku 2006 zakázané z dôvodu vzniku bakteriálnej rezistencie k antibiotikám (Nariadenie (ES) č. 1831/2003). Výhodou humínových látok je ich ľahká aplikácia do krmiva alebo pitnej vody a absencia rezíduí v živočíšnych produktoch (Trčková a kol. 2005).

Cieľom tejto práce bolo v podmienkach malochovu sledovať vplyv rôznej koncentrácie humínových látok na vybrané jatočné ukazovatele u brojlerových kurčiat.

MATERIÁL A METODIKA

Do 6-týždňového pokusu bolo zaradených 90 kusov nesexovaných jednodňových brojlerových kurčiat úžitkového hybridu Ross 308, ktoré boli náhodne rozdelené do troch skupín (kontrolnej a dvoch pokusných; n = 30). Vo všetkých skupinách boli kurčatá individuálne odvážené a označené identifikačným krúžkom. Ustajnené boli na hlbokej podstielke pri dodržaní štandardných podmienok prostredia (s kontrolovanou teplotou a vlhkosťou).

Kurčatá boli v priebehu pokusu kŕmené komerčne vyrábanými kompletnými kŕmnymi zmesami (Tomáš spol. s r. o., Dolná Ždaňa, Slovenská republika) na báze pšenice, sójového extrahované šrotu, kukurice a repkového extrahovaného šrotu podľa rastových fáz: BR1 1. – 2. týždeň, BR2 3. – 5. týždeň, BR3 6. týždeň. V pokusných skupinách boli k uvedeným kŕmnym

zmesiam pridané humínové látky (HUMAC MycotoxiSorb; Humac s.r.o, Košice, Slovensko; veľkosť častíc do 200 µm, pH 5,8; vlhkosť max. 21 %, humínové kyseliny min. 65 % a fulvové kyseliny 5 % v sušine): v skupine H1 v množstve 6 g/kg a v skupine H2 v množstve 9 g/kg. Príjem krmiva a napájanie bolo počas celého pokusu zabezpečené *ad libitum*. Chemická analýza kŕmnych zmesí bola vykonaná analytickými metódami podľa Nariadenia komisie (ES) č. 152/2009. Analyzovaný obsah živín v kŕmnych zmesiach je uvedený v Tabuľke 1.

Počas celého sledovaného obdobia (42 dní) bola pravidelne zaznamenávaná hmotnosť kurčiat a spotreba krmiva (v týždňových intervaloch). Na konci pokusu, vo veku kurčiat 6 týždňov, bolo 8 kurčiat z každej skupiny po odvážení usmrtených a jatočne opracovaných (odstránenie peria, hlavy, krku, behákov, vnútorností).

Získané výsledky boli vyhodnotené štatisticky použitím jednocestnej ANOVY (Tukey`s multiple comparison test). Výsledky sú vyjadrené ako priemer ± štandardná chyba priemeru (SEM).

Tabuľka 1. Analyzovaný obsah živín v kŕmnych zmesiach

	Štartérová			Rastová			Finálna		
	K	H1	H2	K	H1	H2	K	H1	H2
Sušina (g/kg KZ)	885,2	884,9	887,7	886,3	886,5	888,4	885,8	883,6	882,9
NL (g/kg S)	229,6	229,0	226,1	217,8	217,5	214,2	197,3	190,1	182,8
HT (g/kg S)	20,3	19,3	19,0	21,6	23,7	22,4	25,4	24,8	23,6
HV (g/kg S)	44,7	42,0	40,1	56,5	46,7	51,6	50,7	49,1	51,5
Popol (g/kg S)	53,9	55,5	67,5	62,7	63,6	70,5	59,0	66,3	70,4
ME (MJ/kg S)	12,4	12,3	12,2	12,6	12,6	12,6	13,1	13,0	13,0

K – kontrolná skupina; KZ – kŕmna zmes; S – sušina; NL – dusíkaté látky; HT – hrubý tuk; HV – hrubá vláknina; ME - Metabolizovateľná energia

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky sledovaných jatočných parametrov sú uvedené v Tabuľke č. 2. Prídavok humínových látok do krmiva brojlerových kurčiat v 0,6 ako aj v 0,9 % koncentrácii nemal významný vplyv na živú hmotnosť kurčiat na 42. deň pokusu ako ani na hmotnosť jatočne opracovaných tiel. Štatisticky významné rozdiely však boli zaznamenané pri hodnotení výťažnosti jatočne opracovaných tiel. V pokusnej skupine, v ktorej boli humínové látky podávané vo vyššej koncentrácii (H2), bola zistená signifikantne vyššia výťažnosť jatočných tiel ($P < 0,05$) než v kontrolnej skupine a v pokusnej skupine s prídavkom humínových látok v nižšom množstve (H1).

Podobne, zvýšenie výťažnosti jatočných tiel u brojlerových kurčiat vo svojej štúdii zaznamenali aj El-Husseiny a kol. (2008), ktorí sa venovali štúdiu vplyvu prídavku humínových látok do krmiva v 0,125 a 0,25 % koncentrácii. Rovnako, pozitívny vplyv na výťažnosť jatočných tiel kurčiat bol zistený aj po prídavku humínových kyselín do krmiva v množstve 1 a 2 g/kg (ELnaggar a El-Kelawy 2018, El-Kelawy a kol. 2024). Vo všetkých týchto štúdiách bolo u kurčiat, ktoré prijímali humínové látky, zaznamenané aj signifikantné zníženie percentuálneho podielu abdominálneho tuku. Zníženie percentuálneho podielu abdominálneho tuku vplyvom podávania humínových látok do krmiva bolo spozorované aj v našej štúdii, ale rozdiely v porovnaní s kontrolnou skupinou neboli štatisticky preukazné.

Taktiež pri hodnotení percentuálneho podielu pŕs, stehien, krídel a trupu sme nezaznamenali štatisticky významné rozdiely medzi skupinami. Podobné výsledky vo svojej štúdii popisujú aj Hrnčár a kol. (2018) a Gálik a kol. (2023).

Rozdielne výsledky zaznamenali Jaďuttová a kol. (2019). U brojlerových kurčiat, ktoré prijímali diétu obohatenú o humínové látky v 1 % koncentrácii, zaznamenali signifikantne vyššiu výťažnosť prsnej a stehennej svaloviny ako u kontrolnej skupiny. Významný vplyv humínových látok na výťažnosť pŕs a stehien bol zaznamenaný aj u japonských prepelíc (Abdel-Mageed 2012).

Z výsledkov našej ale aj rôznych ďalších štúdii vyplýva, že humínové látky môžu pozitívne ovplyvniť jatočné parametre u hydiny, hoci v niektorých štúdiách takýto účinok zaznamenaný nebol. Rozdielnosť vo výsledkoch je možné vysvetliť použitím rôznych prípravkov humínových látok líšiacich sa v zložení, predovšetkým v zastúpení hlavných frakcií humínových látok, ako sú humínové kyseliny a fulvokyseliny, ako aj rôznym podávaným množstvom prostredníctvom krmiva.

Tabuľka č. 2, Vplyv prídavku humínových látok do kŕmnych zmesí na jatočné ukazovatele u brojlerových kurčiat

	Kontrola	H1	H2
Živá hmotnosť (kg)	1,95 ± 0,05	1,89 ± 0,06	1,92 ± 0,04
Hmotnosť jatočne opracovaných tiel (kg)	1,36 ± 0,04	1,32 ± 0,04	1,41 ± 0,03
Výťažnosť jatočných tiel (%)[1]	69,98 ± 0,69 [b]	69,99 ± 0,53 [b]	73,29 ± 0,63 [a]
Prsia (%)[2]	30,22 ± 0,44	29,52 ± 0,83	32,02 ± 0,97
Stehná (%)[2]	30,82 ± 0,27	31,19 ± 0,69	30,13 ± 0,45
Krídla (%)[2]	12,52 ± 0,21	12,47 ± 0,32	11,79 ± 0,56
Trup (%)[2]	22,45 ± 1,60	24,47 ± 0,39	23,65 ± 0,67
Abdominálny tuk (%)[2]	1,16 ± 0,20	0,99 ± 0,18	0,74 ± 0,17

[1] Percentuálny podiel hmotnosti jatočne opracovaných tiel zo živej hmotnosti kurčiat.
[2] Percentuálny podiel z hmotnosti jatočne opracovaných tiel.
[a,b] Priemerné hodnoty v rovnakom riadku označené rozdielnym horným indexom sú štatisticky rozdielne ($P < 0,05$).

ZÁVER

Z výsledkov našej štúdie vyplýva, že skrmovanie sledovaného prípravku obsahujúceho humínové látky v množstve 9 g/kg kŕmnych zmesí môže viesť k významnému zvýšeniu výťažnosti jatočne opracovaných tiel u brojlerových kurčiat. Podávanie tohto prípravku v nižšom množstve (6 g/kg) nemalo významný vplyv na sledované parametre.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená projektom Vedeckej grantovej agentúry MŠ SR VEGA č. 1/0698/24 „Sledovanie účinku kŕmnych doplnkových látok prírodného pôvodu a alternatívnych kŕmnych komponentov na produkciu a zdravie monogastrických zvierat“.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ABDEL-MAGEED, M.A.A. Effect of dietary humic substances supplementation on performance and immunity of Japanese quail. In *Egyptian Poultry Science*, 2012, vol. 32, no. 3, p. 645-660.
2. ARPASOVA, H. et al. Effect of probiotics and humic acid on egg production and quality parameters of laying hens eggs. In *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*. 2016, vol. 49, no. 2, p. 1–9.
3. BEZUGLOVA, O. and KLIMENKO, A. Application of humic substances in agricultural industry. In *Agronomy*. 2022, vol. 12, no. 3, p. 584.

4. CEYLAN, N. – CIFTCI, I. – ILHAN, Z. The effects of some alternative feed additives for antibiotic growth promoters on the performance and gut microflora of broiler chicks. In *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*. 2003, vol. 27, no. 3, p. 727–733.
5. EL-HUSSEINY, O.M. – ABDALLAH, A.G. – ABDEL-LATIF, K.O. The influence of biological feed additives on broiler performance. In *International Journal of Poultry Science*. 2008, vol. 7, no. 9, p. 862-871.
6. EL-KELAWY, M.I – ELNAGGAR, A.S. – ABD EL-KHALEK, E. The influence of supplementing broiler chickens with humic acid or biochar as natural growth promoters on their productive performance, nutrient digestibility, and physiological performance. In *Egyptian Poultry Science Journal.* 2024, vol. 44, no. 1, p. 123-142.
7. ELNAGGAR, A.S. and EL-KELAWY, M.I. Effect of humic acid supplementation on productive performance, blood constituents, immune response and carcass characteristics of Sasso chicken. In *Egyptian Journal of Animal Production.* 2018, vol. 55, no. 1, p. 75-84.
8. EMEA. Committee for veterinary medicinal products. In *Humic acids and their sodium salts.* Available from www.emea.eu.int/pdfs/vet/mrls/055499en.pdf (Last modified April 21, 2008. Accessed February 1999)
9. GÁLIK, B. et al. The effect of humic substances on the meat quality in the fattening of farm pheasants (*Phasianus colchicus*). In *Agriculture*. 2023, vol. 13, no. 2, p. 295.
10. HALUZINA, L.I. and HARASHCHUK, M.I. Morphological characteristics of the pheasant blood modulated with the exposure to natural adaptogen. In *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*. 2023, vol. 11, no. 2, p. 29–33.
11. HRNČÁR, C. – NIKOLOVA, N. – BUJKO, J. The effect of single and combined use of probiotic and humate on fattening performance, carcass characteristics and internal organs of broiler chickens. In *Macedonian Journal of Animal Science*. 2018, vol. 8, no. 2, p. 81-87.
12. JAĎUTTOVÁ, I. et al. The effect of dietary humic substances on the fattening performance, carcass yield, blood biochemistry parameters and bone mineral profile of broiler chickens. In *Acta Veterinaria Brno*. 2019, vol. 88, no. 3, p. 307-313.
13. JI, F. – MCGLONE, J.J. – KIM, S.W. Effects of dietary humic substances on pig growth performance, carcass characteristics, and ammonia emission. In *Journal of animal science*. 2006, vol. 84, no. 9, p. 2482–2490.
14. KARAOGLU, M., et al. Effect of supplemental humate at different levels on the growth performance, slaughter and carcass traits of broilers. In *International Journal of Poultry Science*. 2004, vol. 3, no. 6, p. 406–410.

15. KOVACIK, A., et al. Effects of humic acid diet on the serum biochemistry and oxidative status markers in pheasants. In *Veterinární medicína*. 2020, vol. 65, no. 9, p. 258–268.
16. KUCUKERSAN, S., et al. The effects of humic acid on egg production and egg traits of laying hen. In Veterinarni Medicina, 2005, vol. 50, no. 9, p. 406-410.
17. LACKOVÁ, Z., et al. The effect of humic substances as an organic supplement on the fattening performance, quality of meat, and selected biochemical parameters of rabbits. In *Life*, 2022, vol. 12, no. 7, p. 1016.
18. MUDROŇOVÁ, D. et al. The Effect of Humic Substances on Gut Microbiota and Immune Response of Broilers. In *Food and Agricultural Immunology*. 2020, vol. 31, no. 1, p. 137–49.
19. NARIADENIE (ES) č. 1831/2003 EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY z 22. septembra 2003 o doplnkových látkach určených na používanie vo výžive zvierat. Úradný vestník Európskej únie, 2003, 238-252. Dostupné na internete: <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2003/1831/oj>
20. NARIADENIE KOMISIE (ES) č. 152/2009 z 27. januára 2009, ktorým sa stanovujú metódy odberu vzoriek a analýzy na účely úradných kontrol krmív. Úradný vestník Európskej únie, 2009, 54, 1-130. Dostupné na internete: <http://data.europa.eu/eli/reg/2009/152/oj>
21. OZTURK, E. et al. Performance, carcass, gastrointestinal tract and meat quality traits, and selected blood parameters of broilers fed diets supplemented with humic substances. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2012, vol. 92, no. 1, p. 59–65.
22. SAHIN, A. et al. The effect of humic acid substances on the thyroid function and structure in lead poisoning. In *Brazilian Journal of Poultry Science*. 2016, vol. 18, no. 4, p. 649-654.
23. STEVENSON, F.J. *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. New York : Wiley-Inter-Science, 1994. 34–41 p.
24. ŠAMUDOVSKÁ, A., and DEMETEROVÁ, M. Effect of diet supplemented with natural humic compounds and sodium humate on performance and selected metabolic variables in broiler chickens. In *Acta Veterinaria Brno*. 2010, vol. 79, no. 3, p. 385–93.
25. TAKLIMI, S.M. – GHAHRI, H. – ISAKAN, M.A. Influence of different levels of humic acid and esterified glucomannan on growth performance and intestinal morphology of broiler chickens. In *Agricultural Sciences*. 2012, vol. 3, no. 5, p. 663–668.
26. TRCKOVA, M. et al. Peat as a feed supplement for animals: a review. In *Veterinární Medicína*. 2005, vol. 50, no. 8, p. 361-377.

27. UR REHMAN, Z. et al. Growth performance, intestinal histomorphology, blood hematology and serum metabolites of broilers chickens fed diet supplemented with graded levels of acetic acid. In *International Journal of Pharmacology*. 2016, vol. 12, no. 8, p. 874–883.
28. VAŠKOVÁ, J. et al. Therapeutic efficiency of humic acids in intoxications. In *Life*. 2023, vol. 13, no. 4, p. 971.
29. VESELÁ, L. et al. Struktura a vlastnosti přírodních huminových látek typu oxihumolitu. In *Chemické Listy*. 2005, vol. 99, no. 10, p. 711-717.

Kontaktná adresa: Alena Hreško Šamudovská, Department of Animal Nutrition and Husbandry, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: alena.hreskosamudovska@uvlf.sk

STANOVENIE MINIMÁLNEJ INHIBIČNEJ KONCENTRÁCIE HUMÍNOVÝCH LÁTOK VOČI *ESCHERICHIA COLI* A *SALMONELLA ENTERICA*

DETERMINATION OF THE MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION OF HUMIC SUBSTANCES AGAINST *ESCHERICHIA COLI* AND *SALMONELLA ENTERICA*

Hriciková Simona[1], Kožárová Ivona[2]

[1]Katedra biológie a fyziológie, [2]Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

Due to the increasing bacterial resistance, it is necessary to find effective alternatives to the use of antimicrobial substances in order to eliminate the use of antibiotics in practice. Humic substances, based on the content of functional groups in their molecule, provide antimicrobial properties of natural origin. In this study, the antimicrobial efficacy of humic substances in the form of humic acid and the commercial product Humac Natur AFM was tested against the bacterial strains *Escherichia coli* CCM 7372 and *Salmonella enterica* CCM 4420. Humic acid and Humac Natur AFM were prepared in concentrations of 3 - 0.0469 mg/ml. The microdilution method was used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and the resulting absorbance values were measured at a wavelength of 600 nm. The results demonstrated the antimicrobial activity of the tested humic substances against the tested bacterial strains. The MIC of humic acid against *Escherichia coli* CCM 7372 was determined to be 0.75 mg/ml and the MIC of Humac Natur AFM against *Escherichia coli* CCM 7372 was determined to be 1.5 mg/ml. The MIC of humic acid against *Salmonella enterica* CCM 4420 was determined to be 1.5 mg/ml and the MIC of Humac Natur AFM against *Salmonella enterica* CCM 4420 was determined to be 3 mg/ml.

Key words: humic substances, minimum inhibitory concentration, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*

ÚVOD

Baktérie, ktoré sú súčasťou črevného mikrobiómu, sú v prírode rozšírené a vyskytujú sa vo forme patogénnych aj nepatogénnych kmeňov. *Escherichia coli* je jedným z najbežnejších a najvýznamnejších druhov, ktorý sa typicky vyskytuje ako komenzálny mikroorganizmus v črevnom trakte ľudí a zvierat. Niektoré patotypy však môžu spôsobiť gastrointestinálne

ochorenia, infekcie močových ciest a bakterémiu. Okrem svojho patogénneho potenciálu sa *Escherichia coli* tiež široko používa ako indikátorový druh na monitorovanie rezistencie na antibiotiká. V posledných rokoch multirezistentné kmene *Escherichia coli* predstavujú čoraz vážnejší problém v humánnej aj veterinárnej medicíne (Smith et al., 2020; van den Bogaard and Stobberingh, 2000).

Salmonella enterica je patogénna baktéria, o ktorej je známe, že spôsobuje ochorenia prenášané potravinami. Nárast prípadov salmonelózy sa pripisuje biofilmom *Salmonella enterica* na rôznych potravinových výrobkoch a povrchoch prichádzajúcich do kontaktu s potravinami v zariadeniach na spracovanie potravín (Rahman et al., 2020; Roy et al., 2025).

Infekcie rezistentné na antibiotiká v súčasnosti spôsobujú viac ako 1,2 milióna úmrtí ročne a predpokladá sa, že do roku 2050 dosiahnu 10 miliónov obetí ročne. Táto kríza je spôsobená neustálym objavovaním sa a šírením génov rezistencie na antibiotiká medzi patogénmi a nedostatočným zavádzaním nových, široko pôsobiacich, klinicky užitočných antimikrobiálnych látok od 70. rokov 20. storočia (Iskandar et al., 2022; Murray et al., 2022; Svetová zdravotnícka organizácia, nedatované).

Bakteriálna rezistencia - odolnosť mikroorganizmov voči antimikrobiálnym látkam, najmä šírenie patogénov rezistentných voči viacerým liečivám, predstavuje rastúcu výzvu pre humánnu aj veterinárnu medicínu na celom svete (Poirel et al., 2018; Svetová zdravotnícka organizácia, nedatované).

Pre zamedzenie šírenia bakteriálnej rezistencie je nutné aplikovať v boji proti bakteriálnym infekciám nové molekuly liečiv alebo ich prírodné alternatívy. Humínové látky predstavujú v tomto smere alternatívu použitia antimikrobiálnych látok s prírodným pôvodom (Kowalska-Krochmal and Dudek-Wicher, 2021). Je známe, že humínové látky vykazujú antimikrobiálne účinky. Medzi mikroorganizmy, u ktorých bol dokázaný baktericídny/bakteriostatický účinok humínových látok patria *Candida albicans, Enterobacter cloacae, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium,* Staphylococcus aureus, *Staphylococcus epidermidis* a *Streptococcus pyogenes* (Peña-Méndez et al., 2005).

Historicky sa testovanie citlivosti antimikrobiálnych látok *in vitro* rutinne vykonávalo diskovou difúznou metódou (Kirby-Bauer). Veľkosť inhibičnej zóny určovala, či sa baktéria považovala za citlivú, rezistentnú alebo stredne citlivú na konkrétne antibiotikum. Avšak, disková difúzna metóda nedokázala stanoviť presnú koncentráciu látky, potrebnú na dosiahnutie terapeutického výsledku, čo znemožňovalo použitie tohto postupu v klinickej praxi (Phillips et al., 1998).

Naopak, metóda stanovenia minimálnej inhibičnej koncentrácie (MIC) umožňuje stanovenie presnej najnižšej koncentrácie látky (µg/ml) potrebnej na inhibíciu rastu daného

kmeňa baktérii (Phillips et al., 1998). V tejto štúdii bola MIC stanovená pre humínové látky voči bakteriálnym kmeňom *Escherichia coli* a *Salmonella enterica*.

MATERIÁL A METODIKA

Kultivačné média a chemikálie: chlorid sodný – NaCl (Merck, Nemecko), tryptón sójový bujón – TSB (Biolife, Taliansko).

Bakteriálne kmene: *Escherichia coli* CCM 7372 (Česká zbierka mikroorganizmov, Brno, Česká republika), *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis CCM 4420 (Česká zbierka mikroorganizmov). Bakteriálne suspenzie boli pripravené riedením bakteriálnych kultúr vo fyziologickom roztoku (9 % roztok NaCl) na výslednú turbiditu 1 McFarland.

Testované humínové látky: kyselina humínová (Sigma-Aldrich, Nemecko) a Humac Natur AFM (Humac, Slovensko). Roztoky humínových látok boli pripravené riedením humínových látok v sterilnej destilovanej vode na výslednú koncentráciu 3 mg/ml.

Stanovenie MIC: MIC humínových látok bola stanovená mikrodilučnou metódou za použitia 96-jamkových platní (Brand Plates, F, Cell grade; Nemecko) voči *Escherichia coli* CCM 7372 a *Salmonella enterica* CCM 4420. Do jamiek bolo aplikovaných 100 µl sterilného kultivačného média TSB, ktorý bol pripravený podľa pokynov výrobcu. K médiu bolo pridaných 100 µl roztoku testovaných humínových látok s koncentráciou 3 mg/ml. Následným dvojnásobným riedením boli pripravené koncentrácie testovaných humínových látok v rozsahu 3 – 0,0469 mg/ml prenášaním do nasledujúcich jamiek. Do každej jamky bolo pridaných 100 µl bakteriálnej suspenzie s turbiditou 1 McFarland, čím výsledná turbidita bakteriálnej suspenzie v jamke bola 0,5 McFarland. Ako kontrola bolo použité čisté médium TSB a médium TSB s prídavkom bakteriálnej suspenzie. Inkubácia platní prebiehala v termostate pri teplote 37 °C po dobu 24 hodín. Po inkubácii boli hodnoty absorbancií v jednotlivých jamkách odčítané pomocou prístroja Synergy 2 Plate Reader Multi-Mode (BioTek, USA) a výsledné MIC vyhodnotené v programe GraphPad Prism 6.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

MIC humínových látok vo forme kyseliny humínovej a komerčného produktu Humac Natur AFM voči bakteriálnym kmeňom *Escherichia coli* CCM 7372 a *Salmonella enterica* CCM 4420 boli stanovené mikrodilučnou metódou.

Hodnoty absorbancií boli merané pri vlnovej dĺžke 600 nm za použitia prístroja Synergy 2 Plate Reader Multi-Mode a následne pomocou štatistickej metódy ANOVA, Dunnettovej metódy v programe GraphPad Prism 6 boli vyhodnotené MIC humínových látok pre jednotlivé bakteriálne kmene.

Namerané hodnoty absorbancií s vyjadrením štandardnej odchýlky pri testovaní kyseliny humínovej a Humac Natur AFM voči *Escherichia coli* udáva Tabuľka č. 1. Hodnoty absorbancií v prípade testovania kyseliny humínovej sa pohybovali v rozmedzí 0,197 – 0,341, pričom exponenciálne stúpali so znižujúcou sa koncentráciou testovanej látky. MIC kyseliny humínovej voči *Escherichia coli* bola stanovená na 0,75 mg/ml.

Hodnoty absorbancií v prípade testovania Humac Natur AFM sa pohybovali v rozmedzí 0,268 – 0,364, pričom taktiež exponenciálne stúpali so znižujúcou sa koncentráciou testovanej látky. MIC Humac Natur AFM voči *Escherichia coli* bola stanovená na 1,5 mg/ml.

Tabuľka č. 1, Hodnoty absorbancií pre *Escherichia coli* CCM 7372

***Escherichia coli* CCM 7372**							
Kyselina humínová							
C [mg/ml]	**3**	**1,5**	**0,75**	**0,375**	**0,1875**	**0,0938**	**0,0469**
A_{600}	**0,197**	**0,199**	**0,209**	**0,259**	**0,297**	**0,332**	**0,341**
SD	**0,027**	**0,015**	**0,026**	**0,035**	**0,014**	**0,022**	**0,017**
Humac Natur AFM							
A_{600}	**0,268**	**0,274**	**0,315**	**0,327**	**0,348**	**0,356**	**0,364**
SD	**0,024**	**0,011**	**0,034**	**0,029**	**0,019**	**0,032**	**0,013**

Tabuľka č. 2 udáva namerané hodnoty absorbancií pri testovaní kyseliny humínovej a Humac Natur AFM voči *Salmonella enterica* CCM 4420. Hodnoty absorbancií v prípade testovania kyseliny humínovej sa pohybovali v rozmedzí 0,204 – 0,352, pričom hodnota absorbancie stúpala so znižujúcou sa koncentráciou testovanej látky. MIC kyseliny humínovej voči *Salmonella enterica* bola stanovená na 1,5 mg/ml.

Namerané hodnoty absorbancií pre Humac Natur AFM sa pohybovali v rozmedzí 0,289 – 0,308, pričom krivka závislosti na koncentrácii nemala stúpajúci charakter. MIC Humac Natur AFM voči *Salmonella enterica* bola stanovená na 3 mg/ml.

Tabuľka č. 2, Hodnoty absorbancií pre *Salmonella enterica* CCM 4420

***Salmonella enterica* CCM 4420**							
Kyselina humínová							
C [mg/ml]	**3**	**1,5**	**0,75**	**0,375**	**0,1875**	**0,0938**	**0,0469**
A_{600}	**0,204**	**0,208**	**0,264**	**0,287**	**0,299**	**0,345**	**0,352**
SD	**0,014**	**0,028**	**0,047**	**0,017**	**0,020**	**0,016**	**0,027**
Humac Natur AFM							
A_{600}	**0,289**	**0,304**	**0,308**	**0,300**	**0,297**	**0,307**	**0,300**
SD	**0,034**	**0,027**	**0,008**	**0,002**	**0,041**	**0,004**	**0,012**

Pre otestovanie inhibičných schopností voči reprezentatívnym kmeňom ľudských patogénnych mikroorganizmov boli v podobnej štúdii použité humínové kyseliny extrahované z rôznych pôd rôznymi metódami a taktiež modelové humusové látky získané synteticky oxidáciou hydrochinónu a pyrokatechínu. Pri experimente bolo použitá metóda mikrosériového riedenia. V rozsahu koncentrácii rovnakých alebo menších ako 2500 µg/ml 57 z 81 testovaných humínových kyselín vykazovalo antimikrobiálnu aktivitu. Tieto látky inhibovali *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, avšak neinhibovali *Enterococcus faecalis* a *Escherichia coli*. Citlivosť testovaných mikroorganizmov bola prevažne 2500 – 1250 µg/ml, čiastočne 625 – 312 µg/ml a dosiahla hodnoty až 39 µg/ml v prípade syntetickej hydrochinónovej humínovej kyseliny. Spektrum a stupeň aktivity sa mení podľa pôvodu a spôsobu extrakcie prírodných humínových kyselín. *In vitro* dôkaz o účinnosti humínových kyselín proti patogénnym druhom mikroorganizmom poskytuje racionálny základ terapeutického použitia týchto látok pri infekciách (Ansorg and Rochus, 1978).

V biologickom komplexe humínových látok boli nájdené takzvané chinóny, ktoré majú antibiotické vlastnosti. Za perspektívnu alternatívu antibiotík a probiotík pri stabilizácii črevnej mikroflóry môžu byť teda považované aj humínové látky, ktoré nemenej úspešne neutralizujú patogénnu mikroflóru a zároveň potláčajú zápaly a blokujú miesta priľnutia patogénnych mikroorganizmov v sliznici čreva. Humínové kyseliny viažu patogénne *Escherichia coli* v priemere na 94 % a endotoxíny na 82 %. Baktérie a toxíny viazané kyselinou humínovou sú následne eliminované prirodzene (Simakova et al., 2021).

V ďalšej štúdii bola testovaná antibakteriálna aktivita humínových látok proti bakteriálnym kmeňom: *Staphylococcus aureus, Pseudomonas Aeruginosa, Klebsiella*

Pneumonia a *Proteus Vulgaris*. Antimikrobiálna aktivita humínových kyselín sa stanovila na základe agarovej jamkovej difúznej metódy, ktorú popisovali už v 90. rokoch. Štúdia preukázala antimikrobiálnu aktivitu testovaných humínových látok voči *Staphylococcus aureus* (inhibičná zóna: 1,15 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (inhibičná zóna: 1,19 mm), *Klebsiella pneumoniae* (inhibičná zóna: 2,13mm) a *Proteus vulgaris* (inhibičná zóna: 2,13 mm) (Bauer et al., 1966; Chung et al., 1990).

ZÁVER

V tejto štúdii boli stanovované minimálne inhibičné koncentrácie kyseliny humínovej a komerčného výrobku s obsahom humínových látok Humac Natur AFM, ktorý sa používa v klinickej praxi u zvierat na vybrané bakteriálne kmene. Výsledky preukázali antimikrobiálnu aktivitu testovaných látok voči bakteriálnym kmeňom *Escherichia coli* CCM 7372 a *Salmonella enterica* CCM 4420 s citlivosťou od 3 – 0,075 mg/ml.

POĎAKOVANIE

Táto štúdia bola podporená Grantom VEGA 1/0662/24.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Ansorg, R., Rochus, W., 1978. [Studies on the antimicrobial effect of natural and synthetic humic acids (author's transl)]. Arzneimittelforschung 28, 2195–2198.
2. Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C., Turck, M., 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol 45, 493–496.
3. Chung, K.T., Thomasson, W.R., Wu-Yuan, C.D., 1990. Growth inhibition of selected food-borne bacteria, particularly Listeria monocytogenes, by plant extracts. J Appl Bacteriol 69, 498–503. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1990.tb01541.x
4. Iskandar, K., Murugaiyan, J., Hammoudi Halat, D., Hage, S.E., Chibabhai, V., Adukkadukkam, S., Roques, C., Molinier, L., Salameh, P., Van Dongen, M., 2022. Antibiotic Discovery and Resistance: The Chase and the Race. Antibiotics 11, 182. https://doi.org/10.3390/antibiotics11020182
5. Kowalska-Krochmal, B., Dudek-Wicher, R., 2021. The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. Pathogens 10, 165. https://doi.org/10.3390/pathogens10020165
6. Murray, C.J.L., Ikuta, K.S., Sharara, F., Swetschinski, L., Aguilar, G.R., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., 2022. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a

systematic analysis. The Lancet 399, 629–655. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0

7. Peña-Méndez, E.M., Havel, J., Patočka, J., 2005. Humic substances - compounds of still unknown structure: applications in agriculture, industry, environment, and biomedicine. Journal of Applied Biomedicine 3, 13–24. https://doi.org/10.32725/jab.2005.002
8. Phillips, I., Acar, J., Bergan, T., Degener, J., 1998. Methods for the determination of susceptibility of bacteria to antimicrobial agents. Terminology. Clinical Microbiology and Infection 4, 291–296. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.1998.tb00061.x
9. Poirel, L., Madec, J.-Y., Lupo, A., Schink, A.-K., Kieffer, N., Nordmann, P., Schwarz, S., 2018. Antimicrobial Resistance in Escherichia coli. Microbiol Spectr 6. https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-2017
10. Rahman, M.T., Sobur, M.A., Islam, M.S., Ievy, S., Hossain, M.J., El Zowalaty, M.E., Rahman, A.T., Ashour, H.M., 2020. Zoonotic Diseases: Etiology, Impact, and Control. Microorganisms 8, 1405. https://doi.org/10.3390/microorganisms8091405
11. Roy, A., Roy, P.K., Cho, S.R., Park, S.Y., 2025. Effects of Fucoidan on the Inhibition of Biofilm Formation of Salmonella enterica Subsp. enterica Serovar Typhimurium on Seafoods and Its Molecular Antibiofilm Mechanisms. Microorganisms 13, 914. https://doi.org/10.3390/microorganisms13040914
12. Simakova, I.V., Vasiliev, A.A., Korsakov, K.V., Sivokhina, L.A., Salautin, V.V., Gulyaeva, L.Y., Dmitriev, N.O., Simakova, I.V., Vasiliev, A.A., Korsakov, K.V., Sivokhina, L.A., Salautin, V.V., Gulyaeva, L.Y., Dmitriev, N.O., 2021. Role of Humic Substances in Formation of Safety and Quality of Poultry Meat, in: Humic Substances. IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.96595
13. Smith, O.M., Snyder, W.E., Owen, J.P., 2020. Are we overestimating risk of enteric pathogen spillover from wild birds to humans? Biological Reviews 95, 652–679. https://doi.org/10.1111/brv.12581
14. Svetová zdravotnícka organizácia, nedatované. Antimicrobial resistance [WWW Document]. URL https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance (accessed 5.6.25).
15. van den Bogaard, A.E., Stobberingh, E.E., 2000. Epidemiology of resistance to antibiotics. Links between animals and humans. Int J Antimicrob Agents 14, 327–335. https://doi.org/10.1016/s0924-8579(00)00145-x

Kontaktná adresa: Hricková Simona, Department of Biology and Physiology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: simona.hricikova@uvlf.sk

ANTIBAKTERIÁLNA AKTIVITA ÉTERICKÝCH OLEJOV VOČI IZOLÁTOM *YERSINIA RUCKERI* ZÍSKANÝCH ZO PSTRUHA DÚHOVÉHO

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS AGAINST *YERSINIA RUCKERI* ISOLATES OBTAINED FROM RAINBOW TROUT

Hudecová Patrícia, Hajdučková Vanda, Király Ján, Koščová Jana

Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

Yersinia ruckeri causes high economic losses in rainbow trout and atlantic salmon farming. To prevent and reduce the occurrence of outbreaks, there is excessive application of antibiotics and chemotherapeutics, which results in the development of antibiotic resistance and endangering the health of animals and people. The aim of this work was to determine the presence of *Yersinia ruckeri* in rainbow trout and to determine the antibacterial activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and oregano essential oil (*Origanum vulgare* L.) against the obtained isolates. Both EOs showed strong antibacterial activity against 8 isolates of *Yersinia ruckeri* that were isolated from 80 intestinal contents of rainbow trout. The study confirms the positive effect of EOs against important fish pathogen and points to their promising application in prevention of bacterial diseases.

Key words: *Yersinia ruckeri*, thyme EO, oregano EO, rainbow trout

ÚVOD

V posledných rokoch sa počet ohnísk infekcií spôsobených baktériou *Yersinia ruckeri* u rýb podstatne zvýšil a spôsobuje vysoké ekonomické straty v chovoch pstruha dúhového a lososa atlantického (Hjeltnes et al. 2017, Wrobel et al. 2019, Sommerset et al. 2024). *Yersinia ruckeri* je charakterizovaná ako Gram-negatívna, fakultatívne anaeróbna baktéria tyčinkovitého tvaru. Je pôvodcom enterickej červene (známej aj pod názvom redmouth disease) morských aj sladkovovdných druhov rýb, pričom postihnuté sú najmä lososovité ryby všetkých vekových kategórií. Medzi klinické príznaky infekcie patrí exoftalmia, stmavnutie kože, subkutánne krvácanie v ústnej dutine ako aj v jej okolí, ktoré dáva chorobe jej pomenovanie. Taktiež je možné sledovať petechiálne krvácanie na povrchu pečene, pankreasu, pylorického céka a plávacieho mechúra (Kumar et al. 2015). Na zníženie prevalencie bakteriálnych ochorení rýb sa hľadajú rôzne alternatívne spôsoby antimikrobík, najmä z dôvodu rastúcej antibiotickej rezistencie a práve éterické oleje (EO) predstavujú v tomto smere sľubnú náhradu.

EO sú charakterizované ako hydrofóbne sekundárne metabolity rastlín s významnou antibakteriálnou, antioxidačnou, protizápalovou alebo antivírusovou aktivitou (Dawood et al. 2022). Ich biologická aktivita je spôsobená najmä prítomnosťou prchavých zlúčenín ako sú estery, aldehydy, kyseliny, alkoholy, ketóny a iné (Hou et al. 2022). Taktiež ich využitie v akvakultúre narastá vďaka ich biologickej odbúrateľnosti, ktorá zabraňuje hromadeniu ich rezíduí v tkanivách (Dawood et al. 2021). Mechanizmus ich antibakteriálneho účinku pozostáva z narušenia prenosu elektrónov, inhibície ATP, ovplyvňovaním genetického materiálu v bunke, narušenia bunkovej steny, ako aj bunkovej membrány inhibíciou syntézy peptidoglykánov alebo denaturáciou proteínov (Maurya et al. 2021).

MATERIÁL A METODIKA

Získaný črevný obsah pstruha dúhového bol vyšetrený kultivačne, pomocou vopred pripravených živných médií. Použitý bol krvný agar (KA), kde bol hodnotený vzhľad kolónii, forma rastu a hemolýza a Endo agar (EA), kde bola hodnotená schopnosť fermentovať laktózu. Kultivácia prebiehala pri 37 °C po dobu 24 hod. Druhová identifikácia bola vykonaná použitím biochemickej súpravy ENTEROtest 24N (Erba Lachema, Česká Republika), podľa pokynov výrobcu a potvrdená na génovej úrovni pomocou PCR metódy sekvenovaním 16S rRNA (Tabuľka č. 1).

Tabuľka č. 3, Zoznam použitých primérov pre sekvenovanie

Gén	Primér	Sekvencia (5´– 3´)	Produkt (bp)
16S rRNA	Bac27F	AGAGTTTGGATCMTGGCTCAG	1465
	Univ1492R	CGGTTACCTTGTTACGACTT	

U identifikovaných a potvrdených izolátov *Yersinia ruckeri* bola stanovená antibakteriálna aktivita dvoch komerčných EO (Calendula a.s., Nová Ľubovňa, Slovensko), a to oreganového (*Origanum vulgare* L.) a tymiánového (*Thymus vulgaris* L.). Antibakteriálna aktivita EO bola stanovená kvalitatívnou diskovo-difúznou metódou a kvantitatívnou metódou zahrňujúcou stanovenie minimálnej inhibičnej koncentrácie (MIC) a minimálnej baktericídnej koncentrácie (MBC) EO. Inokulá boli pripravené z nočnej kultúry (18 hod.) z KA a upravené na zákal zodpovedajúci hustote 0,5 McFarland (1,5 x 10^8 KTJ/ml). Na vykonanie diskovo-difúznej metódy bol použitý Mueller-Hinton agar (MHA), na ktorý sa naočkovalo 100 µl inokula. Následne na naočkované MHA boli pridané sterilné papierové disky, na ktoré bolo aplikovaných 10 µl koncentrovaného EO. Antibakteriálna aktivita bola vyhodnotená po 24 hod. kultivácie pri teplote 37 °C meraním priemeru inhibičných zón. MIC bola vykonaná v 96-jamkových platničkách použitím bakteriálnej suspenzie upravenej na zákal zodpovedajúci hustote 1,0 McFarland (3,0 x 10^8 KTJ/ml) a jej pridaním k nariedenému EO v koncentračnom

rozpätí od 1 µl /ml do 0,0078 µl /ml v pomere 1:1. Po 24 hod. inkubácii pri teplote 37 °C bola MIC vyhodnotená ako najnižšie riedenie bez viditeľného rastu baktérií (bez prítomnosti zákalu) v jamke. Pre stanovenie MBC boli alikvóty získané z 96-jamkových platničiek z bujónovej kultúry MIC subkultivované na MHA. Po 24 hod. kultivácii pri teplote 37 °C bola MBC vyhodnotená ako najnižšie riedenie, ktoré nevykazovalo rast baktérií.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Mikrobiologickému vyšetreniu bolo podrobených 80 črevných obsahov pstruha dúhového bez klinických príznakov. Po kultivácii na KA bol hodnotený vzhľad kolónií, forma rastu a hemolýza a na EA schopnosť fermentovať laktózu, čo sa považuje za dôležitý diferenciačný znak na odlíšenie Gram-negatívnych baktérií. Pomocou biochemickej súpravy ENTEROtest 24N (Erba Lachema) bolo 7 izolátov identifikovaných ako *Yersinia ruckeri*, pričom na génovej úrovni bol potvrdený výskyt 8 izolátov.

Antibakteriálna aktivita oreganového a tymiánového EO bola stanovená u ôsmich získaných izolátov pomocou diskovo-difúznej metódy, MIC a MBC. Podľa Rota et al. (2008), antibakteriálnu aktivitu EO možno klasifikovať ako: žiadna inhibičná aktivita (zóna inhibície < 12 mm), stredne silná (zóna inhibície < 20–12 mm) alebo silná inhibičná aktivita (zóna inhibície je ≥ 20 mm). Na základe danej klasifikácie, tymiánový (40,6 mm priemerná zóna inhibície) a oreganový EO (36,23 mm priemerná zóna inhibície) preukázali silnú inhibičnú aktivitu. Jednotlivé hodnoty z diskovo difúznej metódy sú uvedené v Tabuľke č. 2.

Tabuľka č. 4, Hodnoty diskovo-difúznej metódy pre tymiánový a oreganový EO voči jednotlivým izolátom *Yersinia ruckeri*

Izolát č.	Tymiánový EO (mm)			Oreganový EO (mm)		
60	35	35	34	27	29	29
61	50	49	51	45	46	45
62	40	42	40	28	30	31
64	43	43	42	40	39	39
75	41	40	41	38	40	39
76	37	37	38	35	36	35
81	39	40	38	36	37	34
106	39	40	40	38	37	37

Hodnoty MIC pre tymiánový EO sa pohybovali od 0,25 µl /ml do 0,125 µl /ml a pre oreganový EO od 0,06 µl /ml do 0,125 µl /ml (Tabuľka č. 3). MBC pre tymiánový a oreganový EO sa pohybovali v rozmedzí od 0,06 µl /ml do 0,25 µl /ml, pričom koncentrácie pre jednotlivé izoláty *Yersinia ruckeri* sú spísané v Tabuľke č. 3. Výsledky našej práce sú zhodné s viacerými

štúdiami, ktoré potvrdzujú významnú antibakteriálnu aktivitu oreganového a tymiánového EO voči *Yersinia ruckeri* (Tural et al. 2019, Özil et al. 2023).

Tabuľka č. 5, MIC a MBC hodnoty tymiánového a oreganového EO voči jednotlivým izolátom *Yersinia ruckeri*

Izolát č.	Tymiánový EO		Oreganový EO	
	MIC (µl /ml)	MBC (µl /ml)	MIC (µl /ml)	MBC (µl /ml)
60	0,125	0,25	0,125	0,25
61	0,125	0,25	0,06	0,125
62	0,125	0,25	0,125	0,25
64	0,125	0,25	0,06	0,125
75	0,125	0,25	0,125	0,25
76	0,125	0,25	0,125	0,25
81	0,125	0,25	0,125	0,25
106	0,25	0,5	0,125	0,25

ZÁVER

Práca bola zameraná na výskyt baktérií *Yersinia ruckeri* u pstruha dúhového a na stanovenie antibakteriálnej aktivity tymiánového a oreganového EO. Z 80 vzoriek črevného obsahu bolo získaných 8 izolátov *Yersinia ruckeri*, voči ktorým tymiánový a oreganový EO vykazovali silnú antibakteriálnu aktivitu. Z dôvodu rýchlo sa rozvíjajúcej antibiotickej rezistencie je ich využitie v akvakultúre sľubné a predstavuje jednu z možností pre zníženie výskytu bakteriálnych ochorení u rýb.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená projektom VEGA 1/0731/21.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. DAWOOD, M. A. O. et al. Antiparasitic and antibacterial functionality of essential oils: An alternative approach for sustainable aquaculture. In *Pathogens*. ISSN 2076-0817, 2021, vol. 10, no. 2, p. 185.
2. DAWOOD, M. A. O. et al. Exploring the roles of dietary herbal essential oils in aquaculture: A review. In *Animals*. ISSN 2076-2615, 2022, vol. 12, no. 7, p. 823.
3. HJELTNES, B. et al. The health situation in Norwegian aquaculture 2016. In *Norwegian Veterinary Institute*. ISSN 1893-1480, 2017, p. 127.
4. HOU, T. et al. Essential oils and its antibacterial, antifungal and anti-oxidant activity applications: A review. In *Food Bioscience*. ISSN 2212-4292, 2022, vol. 47, p. 101716.

5. KUMAR, G. et al. *Yersinia ruckeri*, the causative agent of enteric redmouth disease in fish. In *Veterinary research*. ISSN 1297-9716, 2015, vol. 46, p. 1-10.
6. MAURYA, A. et al. Essential oil nanoemulsion as eco-friendly and safe preservative: Bioefficacy against microbial food deterioration and toxin secretion, mode of action, and future opportunities. In *Frontiers in Microbiology*. ISSN 1664-302X, 2021, vol. 12, p. 751062.
7. ÖZIL, Ö. et al.. Effect of Dietary Origanum onites on Growth, Non Specific Immunity and Resistance against *Yersinia ruckeri* of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). In *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. ISSN 1678-2690, 2023, vol. 95, no. 2, p. e20200952.
8. ROTA, M. C. et al. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. In *Food control*. ISSN 1873-7129, 2008, vol. 19, no. 7, p. 681-687.
9. TURAL, S. et al. Antibacterial activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.), Laurel (*Lauris nobilis* L.), rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and parsley (*Petroselinum crispum* L.) essential oils against some fish pathogenic bacteria. In *Acta Aquatica Turcica*. ISSN 2651-5474, 2019, vol. 15, no. 4, p. 440-447.
10. SOMMERSET, I. et al. Norway's fish health report 2023: what killed nearly 17% of farmed salmon. In *Norwegian Veterinary Institute*, 2024. Dostupné na internete: https://www.fishfarmingexpert.com/fish-health-report-2023-norwegian-veterinary-institute/norways-fish-health-report-2023-what-killed-nearly-17-of-farmed-salmon/1741168.
11. WROBEL, A. L. et al. Overcoming fish defences: the virulence factors of *Yersinia ruckeri*. In *Genes*. ISSN 2073-4425, 2019, vol. 10, no. 9, p. 700.

Kontaktná adresa: Hudecová Patrícia, Department of Microbiology and Immunology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: patricia.hudecova@student.uvlf.sk

PROTILÁTKOVÁ IMUNITNÁ ODPOVEĎ U PSTRUHA DÚHOVÉHO PO SUPLEMENTÁCII PROBIOTIKAMI A NÁSLEDNEJ INFEKCII *AEROMONAS SALMONICIDA*

ANTIBODY IMMUNE RESPONSE IN RAINBOW TROUT AFTER PROBIOTIC SUPPLEMENTATION AND SUBSEQUENT INFECTION WITH *AEROMONAS SALMONICIDA*

Chomová Natália[1], Ratvaj Marek[1], Mudroňová Dagmar[1], Popelka Peter[1], Mareš Jan[2], Palíková Miroslava[2,3], Faldyna Martin [4]

[1]Katedra hygieny a technológie potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81, Košice, Slovenská republika;

[2]Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, Brno, 613 00, Česká republika;

[3]Ústav ekologie a chorob zoozvířat, zvěře, ryb a včel, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42, Brno, Česká republika;

[4]Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 296/70, 621 00, Brno, Česká republika

ABSTRACT

This study evaluated the antibody immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following probiotic supplementation with a native strain of *Lactobacillus plantarum* R2 Biocenol™ CCM 8674 and subsequent infection with *Aeromonas salmonicida*. Experimental fish were divided into a control and a probiotic group, with the latter receiving feed enriched with the probiotic strain. After seven weeks, both groups were exposed to a pathogenic isolate of *A. salmonicida*. Gene expression analysis of immunoglobulins IgM and IgT was conducted on tissue samples from various organs 1 and 3 weeks post-infection. Results showed a significant upregulation of *igm* in the spleen and elevated levels of *igt* transcripts in skin-associated lymphoid tissue, suggesting mucosal immune activation. These findings indicate the immunomodulatory potential of the tested probiotic strain, supporting its future application in aquaculture as a sustainable alternative to antibiotics, particularly under stress conditions. However, validation under commercial farming conditions is recommended.

Key words: rainbow trout, probiotics, igm, igt, immunomodulation

ÚVOD

Akvakultúra je hospodárskym odvetvím s jedným z najprudších nárastov za posledné desaťročia, a to najmä z dôvodu zvýšenej ľudskej spotreby v rámci stravovania (Yu et al. 2018; Tong et al. 2019). Takýto rýchly rozmach je však spojený s niekoľkými rizikami, na čele so šírením chorôb a patogénov (Maldonado-Miranda et al. 2022). *A. salmonicida* patrí medzi najrozšírenejšie patogény v akvakultúre a spôsobuje výrazné ekonomické a hospodárske straty. Je pôvodcom furunkulózy, ako aj bakteriálnej septikémie u voľne žijúcich aj chovaných rýb rôznych druhov, pričom najnáchylnejšie sú lososovité ryby (Park et al. 2020). Štúdie vykonané Preenou et al. (2020) preukázali vodné systémy ako oblasti s vysokou prevalenciou génov antimikrobiálnej rezistencie. Aj napriek faktu, že antibiotiká ostávajú v rámci liečby bakteriálnych ochorení voľbou číslo jedna, ich vedľajšie účinky na ľudské zdravie spolu s potrebou vyššej kvality potravín si vyžadujú elimináciu ich používania. Zavádzanie inovatívnych a udržateľných postupov sa zdá byť kľúčom k efektívnemu riešeniu týchto výziev (Wang et al. 2017). Sľubným nástrojom sa zdajú byť probiotiká, obzvlášť autochtónneho pôvodu, ktoré majú schopnosť modulovať imunitnú odpoveď, prirodzene zvyšovať obranyschopnosť voči patogénom, ale aj zlepšovať kvalitu vody (Lu et al. 2021; Nimalan et al. 2023; Dawood et al. 2019).

MATERIÁL A METODIKA

Počiatok experimentu bol realizovaný na Katedre zoológie, rybárstva, hydrobiológie a včelárstva Mendelovej univerzity v Brne, kde ryby absolvovali dvojtýždňovú adaptačnú periódu a následne boli rozdelené na kontrolnú (C) a probiotickú skupinu (P). Pre probiotickú skupinu bolo zvolené kontinuálne podávanie probiotického krmiva na základe výsledkov z predchádzajúceho neinfekčného experimentu. Každý tank mal zabezpečený vlastný biofiltračný systém (Nexus 31O EvolutionAqua) a kontinuálnu cirkuláciu kyslíka. Svetelný režim bol rozdelený na 14 hodín svetla a 10 hodín tmy. Ryby boli kŕmené dvakrát denne s celkovým príjmom potravy 2% z ich hmotnosti. Probiotická skupina dostávala krmivo pripravené podľa Chomová et al. (2023) obsahujúce finálnu koncentráciu probiotík 10^9 KTJ/g súvisle po dobu 11 týždňov. Komerčné krmivo EFICO Enviro 921 3 mm (BioMar, Dánsko) bolo obalené Aerosilom® 200 (Evonik Industries AG, Nemecko) a 10 % disperziou rozpustného kukuričného škrobu (ochranná známka Starch 1500® (Colorcon Ltd., USA)) s prídavkom kmeňa *Lactobacillus plantarum* R2 Biocenol™ CCM 8674 (nová nom. *Lactiplantibacillus plantarum*). Kontrolná skupina prijímala totožné krmivo, avšak bez prídavku probiotika. Po siedmych týždňoch suplementácie boli ryby s priemernou hmotnosťou 292 ± 6,51 g premiestnené do akreditovaného zariadenia na Katedru ekológie a chorôb zvierat

zoologických záhrad, zveri, rýb a včiel Fakulty veterinárnej hygieny a ekológie Univerzity veterinárneho lekárstva v Brne. Následne boli ryby infikované klinickým izolátom patogénu *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* (č. 89409), získaným z chorého pstruha dúhového. Infekcia prebiehala prostredníctvom 30-minútového ponoru s koncentráciou patogéna 7,33 × 10^5 KTJ/ml. Po infekcii boli ryby rozdelené do tankov s objemom 1000 litrov po 50 pstruhov. Infekcia u rýb bola mikrobiologicky potvrdená na selektívnom Aeromonas agare (HiMedia, India). Vzorky pre analýzu génovej expresie zo žiabier, sleziny, distálneho čreva, kože a hlavovej obličky boli odoberané 8. (1. odber) a 10. (2. odber) týždeň experimentu. RNA zo vzoriek bola izolovaná pomocou komerčného kitu Omega E-Z Total RNA Kit (Omega Bio-tek, USA). Jej koncentrácia a kvalita bola overená spektrofotometricky prostredníctvom Nanodrop 8000 (Thermo Scientific, USA). Prepis vzoriek do cDNA prebehol použitím Quantitect Reverse Transcription Kit (Qiagen, Germany) a qPCR sa vykonala pomocou BioRad CFX96 Touch (BioRad, Hercules, CA, USA) v objeme 10 µl a zmes pozostávala z 5 µl iQ™ SYBR® Green Supermix (BioRad, Hercules, CA, USA), 0,5 µl priamych a 0,5 µl reverzných primerov (c = 10 µM/µl) pre každý gén a 4 µl cDNA s koncentráciou 10 ng/µl. Relatívna génová expresia bola vyhodnotená prostredníctvom $2^{-\Delta\Delta CT}$ metódy a výsledky boli vyjadrené ako priemer vzoriek ± štandardná odchýlka (SD). Štatistická analýza bola vykonaná nepárovým T-testom použitím programu GraphPad Prism.

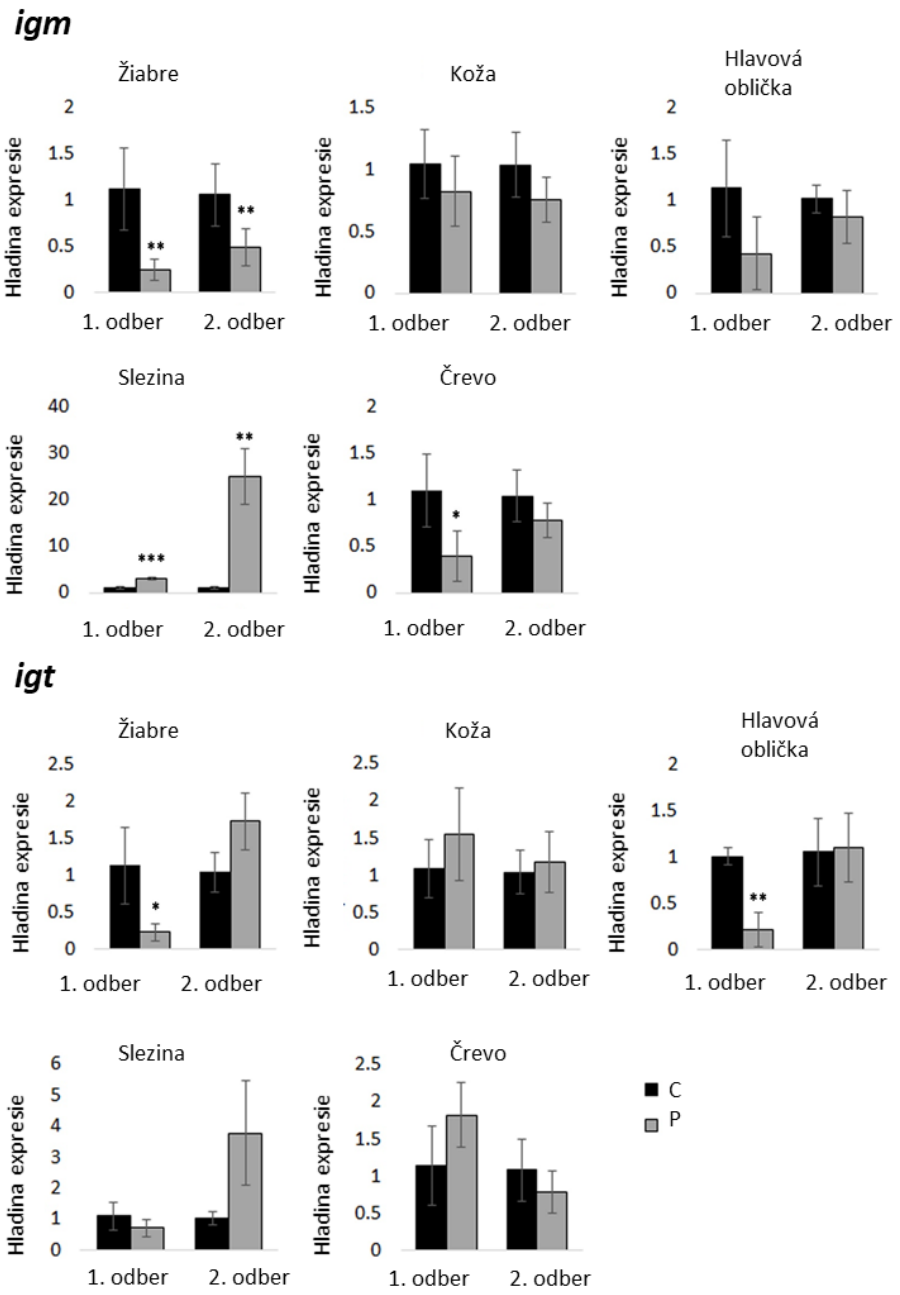
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Probiotiká v akvakultúre majú predpoklad na podporovanie rastu, prechádzanie ochoreniam, podporu imunitnej odpovede a zlepšovanie kvality vody (Chauhan a Singh 2019). V rámci Európskej únie je momentálne na využitie v akvakultúre schválené a komerčne dostupné len jedno probiotikum - Bactocell® Aquaculture (Lallemand Inc., Kanada), obsahujúce kmeň *Pediococcus acidilactici*, ktorý však nie je autochtónny pre viaceré druhy rýb (Fečkaninová et al. 2017). Práve z tohto dôvodu sme sa rozhodli v rámci nášeho experimentu pre využitie kmeňa *Lactobacillus plantarum* R2 Biocenol™ CCM 8674 pochádzajúceho priamo z čereva zdravých pstruhov dúhových.

Transkripčné hladiny *igm* génu sa medzi kontrolnou a probiotickou skupinou líšili minimálne, respektíve došlo k ich poklesu v distálnom čreve, podobne ako v štúdii u Picchietti et al. (2009) a Salah et al. (2017). Podobný výsledok bol pozorovaný v prípade žiabier u oboch odberov (Obrázok č. 1). Identický trend bol zaznemananý v tkanivách kože a hlavovej obličky, avšak bez štatistickej významnosti. Podobne Chakraborty et al. (2024) nezistili žiadne významné rozdiely v hladinách *igm* po infekcii patogénom či u kontrolnej alebo imunizovanej skupiny hranáčov sivých (*Cyclopterus lumpus*) pri testovaní pomocou ELISA. Pozorovaný

pokles hladiny expresie mRNA v tomto prípade naznačuje depléciu protilátky v krvi, kde dochádza k aglutinácii antigénu prostredníctvom IgM, jeho následnému vyčisteniu a eliminácii z organizmu. Výrazná upregulácia študovaného imunoglobulínu bola zaznamenaná v slezine.

Podtrieda IgT protilátok zohráva kľúčovú úlohu predovšetkým v črevnej imunite. V prípade *igt* bol v prvom odbere pozorvaný výrazný pokles transkripčných hladín v hlavovej obličke a žiabrách (Obrázok č. 1). Napriek tomu štúdia Zhanga et al. (2021) preukázala, že po infikovaní patogénom sa hladina tejto protilátky rýchlo zvýši, zatiaľ čo hladiny *igm* ostávajú nezmenené. V našom prípade došlo k zvýšenému počtu IgT+ B-lymfocytov v s kožou asociovaných lymfoidných tkanivách, odkiaľ sú vylučované do kožného hlienu.



Obrázok č. 1, Relatívna génová expresia *igm* a *igt* v rôznych orgánoch

Hladiny štatistickej významnosti sú označené hviezdičkami: * - p<0.05, ** - p<0.01, *** - p<0.001.

ZÁVER

Na základe vykonaného testovania novovyvinutého probiotického prípravku s obsahom autochtónneho kmeňa *Lactobacillus plantarum* R2 Biocenol™ CCM 8674 (nová nom. *Lactiplantibacillus plantarum*) bola zistená zmena hladín expresie pre *igm*, a to predovšetkým v slezine. V rámci transkripčných hladín pre *igt* bolo preukázané ich zvýšenie najmä v s kožou asociovaných lymfoidných tkanivách, čo naznačuje imunomodulačnú schopnosť probiotík. Vďaka týmto a ďalším výsledkom je tento prípravok predmetom patentovej prihlášky a sľubnou alternatívnou pre použitie v akvakultúre, najmä v obdobiach zvýšeného stresu. Pre vyhodnotenie zdravotného a ekonomického prínosu pre chovateľov je však nutné túto hypotézu overiť v reálnych podmienkach, kde je účinok probiotík ovplyvnený viacerými externými faktormi.

POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla v rámci riešenia projektu podporovaného Agentúrou pre podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-19-0234.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. CHAKRABORTY, S. et al. Inactivated *Aeromonas salmonicida* impairs adaptive immunity in lumpfish (*Cyclopterus lumpus*). In *J Fish Dis* [online]. 2024, vol. 47, no. 7. Dostupné na internete: https://doi.org/10.1111/jfd.13944
2. CHAUHAN, A., SINGH, R. () Probiotics in aquaculture: a promising emerging alternative approach. In *Symbiosis* [online]. 2019, vol. 77, p. 99–113. Dostupné na internete: https://doi.org/10.1007/S13199-018-0580-1
3. CHOMOVÁ, N. et al. Development and evaluation of a fish feed mixture containing the probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* prepared using an innovative pellet coating method. In *Front Vet Sci* [online]. 2023, vol. 10, no. 1196884. Dostupné na internete: https://doi.org/10.3389/FVETS.2023.1196884/BIBTEX
4. DAWOOD, M.A.O. et al. Probiotic application for sustainable aquaculture. In *Rev Aquac* [online]. 2019, vol. 11, p. 907–924. Dostupné na internete: https://doi.org/10.1111/RAQ.12272
5. FEČKANINOVÁ, A. et al. The use of probiotic bacteria against *Aeromonas* infections in salmonid aquaculture. In *Aquaculture* [online]. 2017, vol. 469, p. 1–8. Dostupné na internete: https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2016.11.042

6. LU, C.S. et al. The add-on effect of *Lactobacillus plantarum* PS128 in patients with Parkinson's disease: A pilot study. In *Front Nutr* [online]. 2021, vol. 8, no. 650053. Dostupné na internete: https://doi.org/10.3389/FNUT.2021.650053/BIBTEX
7. MALDONADO-MIRANDA, JJ. et al. Bacterial Fish Diseases: Chapter 19 - Summary of economic losses due to bacterial pathogens in aquaculture industry. 2022, Academic Press. ISBN 978-0-323-85624-9. 399-417. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85624-9.00023-3
8. NIMALAN, N. et al. Supplementation of lactic acid bacteria has positive effects on the mucosal health of Atlantic salmon (*Salmo salar)* fed soybean meal. In *Aquac Reports* [online]. 2023, vol. 28, no. 101461. Dostupné na internete: https://doi.org/10.1016/J.AQREP.2022.101461
9. PARK, S.Y. et al. Recent insights into *Aeromonas salmonicida* and its bacteriophages in aquaculture: A comprehensive review. In *J Microbiol Biotechnol* [online]. 2020, vol. 30, p. 1443–1457. Dostupné na internete: https://doi.org/10.4014/JMB.2005.05040
10. PICCHIETTI, S. et al. Early treatment with *Lactobacillus delbrueckii* strain induces an increase in intestinal T-cells and granulocytes and modulates immune-related genes of larval *Dicentrarchus labrax* (L.). In *Fish Shellfish Immunol* [online]. 2009, vol. 26, p. 368–376. Dostupné na internete: https://doi.org/10.1016/J.FSI.2008.10.008
11. PREENA, P.G. et al. Antimicrobial resistance in aquaculture: a crisis for concern. In *Biol* [online]. 2020, vol. 759, no. 75, p. 1497–1517. Dostupné na internete: https://doi.org/10.2478/S11756-020-00456-4
12. SALAH, A.S. – EL NAHAS, A.F. – MAHMOUD, S. Modulatory effect of different doses of β-1,3/1,6-glucan on the expression of antioxidant, inflammatory, stress and immune-related genes of *Oreochromis niloticus* challenged with *Streptococcus iniae*. In *Fish Shellfish Immunol* [online]. 2017, vol. 70, p. 204–213. Dostupné na internete: https://doi.org/10.1016/J.FSI.2017.09.008
13. TONG, J. et al. Microbial community evolution and fate of antibiotic resistance genes along six different full-scale municipal wastewater treatment processes. In *Bioresour Technol* [online]. 2019, vol. 272, p. 489–500. Dostupné na internete: https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2018.10.079
14. WANG, W. et al. Application of immunostimulants in aquaculture: current knowledge and future perspectives. In *Aquac Res* [online]. 2017, vol. 48, p. 1–23. Dostupné na internete: https://doi.org/10.1111/ARE.13161

15. YU, Z. et al. The distinctive microbial community improves composting efficiency in a full-scale hyperthermophilic composting plant. In *Bioresour Technol* [online]. 2018, vol. 265, p. 146–154. Dostupné na internete: https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2018.06.011
16. ZHANG, X.-T. et al. Prevailing role of mucosal Igs and B cells in teleost skin immune responses to bacterial infection. In *J Immunol* [online]. 2021, vol. 206, no. 1088. Dostupné na internete: https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.2001097

Kontaktná adresa: Chomová Natália, Department of Microbiology and Immunology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: natalia.chomova@uvlf.sk

ANALÝZA BIOGÉNNYCH AMÍNOV V MÄSE SUMČEKA AFRICKÉHO PO TEPELNOM OŠETRENÍ

ANALYSIS OF BIOGENIC AMINES IN AFRICAN CATFISH MEAT AFTER HEAT TREATMENT

Jakabová Silvia [1], Árvay Július [1], Ailer Lucia[2], Grófová Magdaléna[1], Jozef Golian[1]

[1]*Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko*

[2]*Výskumné centrum Agrobiotech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko*

ABSTRACT

This study focused on the evaluation of biogenic amine content in fresh and thermally processed African catfish (*Clarias gariepinus*) meat. The objective was to determine the influence of different thermal treatments-sous-vide, baking, and sterilisation on the occurrence and concentrations of biogenic amines. Only three amines (tyramine, spermidine, spermine) were found in fresh samples, while sous-vide processing resulted in the widest range of compounds, including histamine, putrescine, and 2-phenylethylamine. The highest total content of biogenic amines was detected in sterilised samples. Statistical analysis confirmed significant differences among the processing methods. The results indicate that thermal processing considerably affects the formation of biogenic amines, and their monitoring is crucial in terms of food safety.

Key words: African catfish, biogenic amines, heat treatment, HPLC-DAD

ÚVOD

Sumček africký (*Clarias gariepinus*) je považovaný za ideálny druh pre akvakultúry vďaka svojej veľkej odolnosti voči rôznym podmienkam prostredia a rýchlemu rastu. Čerstvé filety zo sumčeka afrického majú vyšší obsah bielkovín, tuku, popola, energetický obsah, jemnosť a schopnosť zadržiavať vodu, nižší obsah vlhkosti a straty varením v porovnaní s mrazeným filé (Baryczka et al., 2019; Shehab et al., 2022). Mäso sumčeka afrického má vysoký celkový obsah bielkovín (16,91 – 17,90 %) a relatívne nízkym obsahom tuku (3,95 – 7,57 %). Vďaka nízkemu percentu tuku vo filtoch sumčeka sa oneskoruje oxidačné žltnutie a životnosť je predĺžená v porovnaní s inými druhmi rýb (Baryczka et al., 2019; Marshall & Kim, 1996).

Biogénne amíny (BA) sú skupinou molekúl prirodzene prítomných v potravinách, ktoré obsahujú aminokyseliny, peptidy a bielkoviny, ako aj v biologických systémoch. V potravinách sa ich koncentrácie zvyšujú počas spracovania a skladovania v dôsledku vystavenia mikroorganizmom, ktoré katalyzujú ich tvorbu uvoľňovaním dekarboxyláz a následnou

dekarboxyláciou aminokyselín (Tsafacka & Tsopmo, 2022). Koncentrácie BA nad určitými hodnotami svedčia o nebezpečných potravinách v dôsledku súvisiacej neuronálnej toxicity, alergických reakcií a zvýšenia rizika kardiovaskulárnych ochorení. Existujú preto rôzne stratégie, ktoré sa zameriavajú na kontrolu BA v potravinách väčšinou prostredníctvom eliminácie, inaktivácie alebo inhibície rastu mikroorganizmov (Tsafacka & Tsopmo, 2022). V produktoch z rýb a morských plodov sú najbežnejšími BA histamín, tyramín, kadaverín a putrescín (Houicher et al., 2021). Ich koncentrácie sú ovplyvnené podmienkami, za ktorých sú skladované (teplota, doba trvania), pretože majú priamy vzťah s rastom mikroorganizmov.

Príspevok sa zameriava na analýzu výskytu a obsahu biogénnych amínov v mäse sumčeka afrického po tepelných úpravách.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky a predúprava vzoriek

V experimente boli použité vzorky sumčeka afrického (*Clarias gariepinus*), chovaného na Slovensku, poskytnutého spoločnosťou HBP, a. s., Agro rybia farma o.z., Handlová, Slovensko. Na analýzu sa použilo 10 ks filetov jednotlivo vákuovo balené s hmotnosťou cca 300g/balenie. Filety bez kože boli analyzované v čerstvom stave a v 3 rôznych variantoch tepelného spracovania. Experimentálne varianty boli nasledovné: čerstvé – čerstvé filety spracované v deň dodania (13.11.2024), vzorky následne lyofilizované (teplota -50°C, tlak max. 0,05 mBar); pečenie – tepelná úprava čerstvej svaloviny pečením pri 180°C 30 minút, sous-vide varenie – varenie pri teplote 50 °C počas 60 min, sterilizovanie – varenie počas 60 min pri 120 °C. Vzorky boli počas procesu pečenia uzatvorené vo vreckách na pečenie, pri varení sous-vide boli vzorky vákuovo zabalené a pri sterilizácii boli vzorky v hrubostenných sklenených nádobách, určených na sterilizáciu. Po ochladení boli vzorky lyofilizované, materiál bol následne skladovaný vo vákuovo uzavretých vreckách pri -18 °C do analýzy. Lyofilizovaný materiál bol použitý na prípravu 2 paralelných vzoriek z každého variantu na meranie biogénnych amínov.

Príprava vzoriek a analýza biogénnych amínov

Príprava vzoriek a analýza biogénnych amínov sa realizovala podľa postupov publikovaných v predchádzajúcej práci (Jakabová et al., 2023) s miernymi modifikáciami. V skratke: zo vzoriek bol pripravený supernatant, ktorý bol alkalizovaný a derivatizovaný pomocou danzylchloridu, nasledovala inkubácia, extrakcia kvapalina-kvapalina pomocou heptánu, odparenie a rekonštitúcia v mobilnej fáze – acetonitrile. Z každého variantu sa pripravili 2 paralelné vzorky na analýzu biogénnych amínov a meranie sa uskutočnilo v 3 opakovaniach. Analýza sa uskutočnila pomocou metódy HPLC-DAD na prístroji Agilent 1260

Infinity II (Agilent Technologies, Nemecko). Separácia sa uskutočnila na kolóne Zorbax Eclipse XDB C18 150 mm x 3,0 mm x 3,5 µm (Agilent Technologies, USA) s ochrannou kolónou Agilent EC-C18 30 mm x 4,6 mm x 2,7 µm (Agilent Technologies, USA) pri prietokovej rýchlosti – mobilná fáza 6 ml/min pri gradientovej elúcii s mobilnými fázami voda a acetonitril. Zber dát sa uskutočnil pri 254 nm.

Vyhodnotenie údajov

Sumarizácia údajov a príprava tabuľky sa uskutočnili v Exceli (Microsoft, Redmond, WA, USA) a na štatistickú analýzu sa použili neparametrické ANOVA testy – analýza rozptylu testom Kruskal-Wallis a nasledoval Dunnov *post hoc* test vo voľne dostupnom softvéri Past 4.03 (Hammer et al., 2001). Hladina štatistickej významnosti bola nastavená na $p < 0,05$ pre všetky analyzované biogénne amíny.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vo vzorkách čerstvého mäsa zo sumčeka afrického boli zistené a kvantifikované iba tyramín, spermidín a spermín. Vo vzorkách pripravených metódou sous-vide sme zistili najväčšie spektrum prítomných biogénnych amínov – prítomné boli 2-fenyletylamín (2-PEA), putrescín, histamín, tyramín, spermidín a spermín. Vo vzorkách upravených pečením a sterilizáciou sme zhodne zistili prítomnosť 2-fenyletylamínu, putrescínu, tyramínu, spermidínu a spermínu. Výsledky sumárnej štatistiky uvádzame v tabuľke 1.

Tabuľka 1 Výsledky sumárnej štatistiky pre analyzované biogénne amíny v sumčekovi africkom

Parameter	2-PEA	Putrescín	Histamín	Tyramín	Spermidín	Spermín	ΣBAs
	mg.kg^{-1}	mg.kg^{-1}	mg.kg^{-1}	mg.kg^{-1}	mg.kg^{-1}	mg.kg^{-1}	mg.kg^{-1}
Min	ND	ND	ND	ND	243	821	1067
Max	6,03	13,69	8,30	7,75	627	3057	3642
Priemer	3,14	8,39	2,01	2,96	476	2274	2767
Medián	3,27	9,54	ND	2,32	518	2621	3162
SD	2,24	5,33	3,64	1,95	164	929	1059

Pozn.: koncentrácie sú uvádzané v sušine materiálu, 2-PEA – 2-fenyletylamín, ΣBAs – suma biogénnych amínov

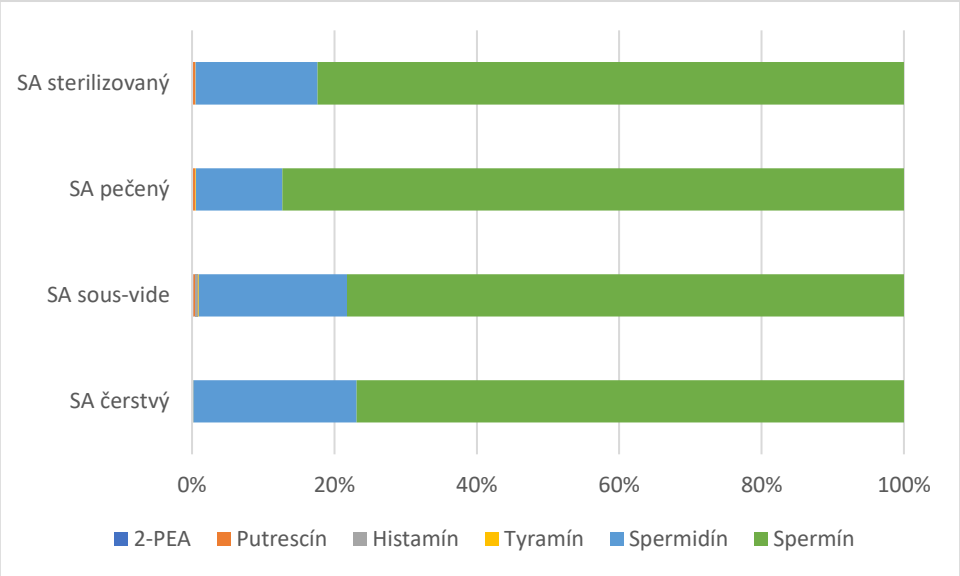
Vzorky z jednotlivých experimentálnych variantov vykazovali v uvedených biogénnych amínoch signifikantné rozdiely označené žltým zvýraznením ($p<0,05$) v tabuľke 2. Obsah 2-PEA bol štatisticky významný vo variantoch SA čerstvý vs. SA sous-vide a SA sterilizovaný,

tiež medzi SA sous-vide vs. SA pečený. U putrescínu sme zistili štatisticky významný rozdiel medzi variantom SA čerstvý vs. SA pečený a SA sterilizovaný. Histamín bol zistený len vo vzorke SA sous-vide, z tohto dôvodu bol jeho obsah štatisticky významne odlišný od ostatných variantov. Tyramín bol prítomný vo všetkých vzorkách, štatisticky významný rozdiel v obsahu tyramínu však bol zistený len medzi variantmi SA sous-vide a SA sterilizovaný. Spermidín aj spermín boli prítomné vo všetkých variantoch. Spermidín mal štatisticky významné rozdielnosti medzi variantom SA čerstvý a variantmi SA sous-vide a SA sterilizovaný, spermín bol zase rozdielny medzi variantmi SA čerstvý vs SA pečený, resp. SA sterilizovaný. Obsah biogénnych amínov sa zvyšoval v poradí SA čerstvý < SA sous-vide < SA pečený < SA sterilizovaný. Varianty SA pečený a SA sterilizovaný mali podobné obsahy biogénnych amínov, pričom rybie mäso vykazovalo významný nárast všetkých biogénnych amínov.

Tabuľka 2 Výsledky ANOVA testov rozdielov medzi jednotlivými experimentálnymi variantmi

	Variant	SA sous-vide	SA pečený	SA sterilizovaný
2-PEA	SA čerstvý	0,002	0,305	0,040
	SA sous-vide		0,040	0,305
	SA pečený			0,305
Putrescine	SA čerstvý	0,305	0,006	0,017
	SA sous-vide		0,087	0,171
	SA pečený			0,732
Histamine	SA čerstvý	0,007	1,000	1,000
	SA sous-vide		0,007	0,007
	SA pečený			1,000
Tyramine	SA čerstvý	0,054	0,821	0,571
	SA sous-vide		0,089	0,013
	SA pečený			0,428
Spermidine	SA čerstvý	0,017	0,308	0,007
	SA sous-vide		0,174	0,734
	SA pečený			0,089
Spermine	SA čerstvý	0,308	0,007	0,017
	SA sous-vide		0,089	0,174
	SA pečený			0,734

Pozn.: tabuľka uvádza p-hodnoty z Dunnovho *post hoc* testu, žltým zvýraznené hodnoty predstavuje štatisticky významný rozdiel ($p<0,05$) medzi variantami



Obrázok 1 Zastúpenie biogénnych amínov v čerstvej a tepelne upravených vzorkách mäsa sumčeka afrického

Tsafacka & Tsopmo (2022) popisujú, že najrozšírenejším biogénnym amínom v produktoch z morských plodov je histamín, po ktorom nasleduje fenyletylamín kvôli vyšším koncentráciám voľného histidínu a fenylamínu. Množstvo histamínu v čerstvo ulovených rybách je vo všeobecnosti nižšie ako 1 $mg.kg^{-1}$. V surových produktoch sa pohybujú celkové obsahy biogénnych amínov od nezistených do 49,3 $mg.kg^{-1}$, pričom spermín a spermidín sú vo všeobecnosti najhojnejšie. Histamín sa v surových morských rybách a plodoch vyskytuje v množstvách do 19,5 a tyramín do 46,9 $mg.kg^{-1}$ v spracovaných koncentráciách tryptamínov (107 $mg.kg^{-1}$) v minulosti boli zaznamenané až do 54 (Tsafacka & Tsopmo, 2022).

Sladkovodné ryby obsahujú vo všeobecnosti nižšie koncentrácie biogénnych amínov, s veľmi nízkym zastúpením histamínu. V predchádzajúcich prácach sme sledovali obsahy biogénnych amínov v mäse kapra rybničného, pričom so stúpajúcou teplotou úpravy vzorky koncentrácie biogénnych amínov stúpali, avšak aj u tepelnej úpravy pečením sme zistili zastúpenie putrescínu, tyramínu, spermidínu a spermínu a histamín vo vzorkách nebol detegovaný (Golian et al., 2025). V tomto príspevku sme tiež zistili prítomnosť vyššie uvedených štyroch biogénnych amínov ako aj prítomnosť putrescínu a 2-fenyletylamínu u tepelne upravených vzoriek (obrázok č. 1). Prítomnosť histamínu sme zistili len u úpravy sous-vide v množstve 8,30 $mg.kg^{-1}$ sušiny. Stanovenie obsahu biogénnych amínov v tepelne upravených vzorkách sumčeka afrického je v súlade s predchádzajúcimi výsledkami pre vybrané sladkovodné ryby.

ZÁVER

Na základe uskutočnenej analýzy bolo potvrdené, že tepelné spracovanie mäsa sumčeka afrického ovplyvňuje zastúpenie a množstvo biogénnych amínov. V čerstvých vzorkách sa nachádzal len obmedzený počet amínov (tyramín, spermidín a spermín), zatiaľ čo v *sous-vide*, pečených a sterilizovaných vzorkách bolo spektrum biogénnych amínov širšie. Najvyššia celková koncentrácia biogénnych amínov bola zaznamenaná vo vzorkách po sterilizácii. Významné štatistické rozdiely boli preukázané najmä medzi variantmi s rôznym spôsobom tepelnej úpravy. Výsledky poukazujú na nutnosť sledovania obsahu týchto látok pri rôznych typoch spracovania, keďže môžu predstavovať zdravotné riziko.

LITERATÚRA

1. Baryczka, M. J., Chwastowska-Siwiecka, I., Kondratowicz, J. 2019. Evaluation of the quality of chilled and frozen African catfish (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) fillets. In *Czech Journal of Food Sciences*, ISSN 1212-1800, 2019, vol. 37, no. 3, p. 185–193.
2. Golian, J., Jakabová, S., Ailer, L., Čapla, J., Zajác, P., Jakab, I., Árvay, J. 2025. Amino acid profile and effect of baking and frozen storage on the formation of biogenic amines in the meat of common carp (*Cyprinus carpio*). In *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, ISSN 1338-5178, 2025, vol. 14, no. 1, e11810.
3. Hammer, Ø., Harper, D. A. T., Ryan, P. D. PAST. 2001. Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. In. *Palaeontologia Electronica*, ISSN 1094-8074, 2001, vo. 4, p. 9.
4. Holden, M. 2015. FDA–EPA Public Health Guidance on Fish Consumption. In *Food and Drug Law Journal*, ISSN 0015-704X, 2015, vol. 70, no. 1, p. 101–142.
5. Houicher, A., Bensid, A., Regenstein, J. M., Özogul, F. 2021. Control of biogenic amine production and bacterial growth in fish and seafood products using phytochemicals as biopreservatives: A review. In *Food Bioscience*, ISSN 2212-4292, 2021, vol. 39, 100807.
6. Jakabová, S., Árvay, J., Benešová, L., Zajác, P., Čapla, J., Čurlej, J., Golian, J. 2023. Evaluation of biogenic amines in goat and sheep cheeses of Slovak origin. In. *Journal of Microbiology, Biotechnology, and Food Sciences*, ISSN 1338-5178, 2023, vol. 13, no. 2, e10000.
7. Leonard, B. (Ed.). 2011. Fish and fishery products: hazards and controls guidance. In *DIANE Publishing*, ISBN 978-1437931325.

8. Marshall, D. L., Kim, C. R. 1996. Microbiological and sensory analyses of refrigerated catfish fillets treated with acetic and lactic acids. In *Journal of Food Quality*, ISSN 0146-9428, 1996, vol. 19, no. 4, p. 317–329.
9. Shehab, M. M., Elbialy, Z. I., Tayel, A. A., Moussa, S. H., Al-Hawary, I. I. 2022. Quality boost and shelf-life prolongation of African catfish fillet using Lepidium sativum mucilage extract and selenium nanoparticles. In *Biointerface Research in Applied Chemistry*, ISSN 2069-5837, 2022, vol. 12, no. 5, p. 6510–6524.
10. Tsafack, P. B., Tsopmo, A. 2022. Effects of bioactive molecules on the concentration of biogenic amines in foods and biological systems. In *Heliyon*, ISSN 2405-8440, 2022, vol. 8, no. 9, e10799.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-22-0402, č. APVV-17-0508.

Kontaktná adresa: Jakabová Silvia, Ústav potravinárstva, FBP SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika; E-mail: silvia.jakabova@uniag.sk

POROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ IN-HOUSE A KOMERČNÍ ELISA METODY PRO STANOVENÍ MNOŽSTVÍ LEPKU

COMPARISON OF RESULTS BETWEEN IN-HOUSE AND COMMERCIAL ELISA METHODS FOR GLUTEN QUANTIFICATION

Javůrková Zdeňka, Pospiech Matej, Bartlová Marie, Havlová Lenka, Křištofová Kateřina, Čaloudová Jana, Tremlová Bohuslava

Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika

ABSTRACT

Gliadin can trigger adverse reactions in sensitive individuals. Information about the presence of gluten in food is therefore essential. Among the most common gluten detection methods is ELISA, whereby commercial and in-house tests differ in sensitivity and specificity. Samples containing 1.0% gliadin, as well as various concentrations of antioxidants and nanoparticles, were prepared. Immunoreactivity was tested using the commercial ELISA Kit and the indirect in-house ELISA method. The commercial method was more sensitive to changes caused by additives compared to the in-house method, which yielded more stable results.

Key words: gliadin, gallic acid, quercetin, rutin, silver, aluminium, iron

ÚVOD

Potravinové alergie a intolerance představují běžný zdravotní problém, avšak dostupná epidemiologická data jsou omezená. Odhady prevalence založené na pacienty hlášených symptomech se pohybují mezi 4,9 % až 33 % (Schäfer *et al.*, 2001), přičemž pšeničné a sójové bílkoviny patří mezi nejčastější rostlinné alergeny. Gliadin, součást lepku, může u citlivých jedinců vyvolat reakce od zažívacích a kožních problémů až po anafylaktický šok (Sicherer, 1999). Celiaci musí celoživotně dodržovat bezlepkovou dietu, protože lepek poškozuje sliznici tenkého střeva a narušuje vstřebávání živin (Laube *et al.*, 2011). Informace o přítomnosti lepku v potravinách je proto klíčová (Rasmussen *et al.*, 2022). Nepříznivé účinky lepku se objevují pouze u osob citlivých na pšeničné proteiny, zatímco u ostatních nezpůsobuje problémy. Výskyt reakcí na lepek se pohybuje mezi 5 % až 30 % populace (Waga, 2004).

ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) patří mezi nejrozšířenější metody detekce lepku, přičemž komerční a in-house testy se liší citlivostí a specifitou (Pollock *et al.*, 1999). Přesnost těchto metod je klíčová, neboť nesprávné výsledky mohou vést k mylnému označování potravin a ohrožení zdraví spotřebitelů (Sicherer, 1999). Vzhledem k tomu, že

přítomnost lepku v potravinách může ohrozit některé spotřebitele, je nutné zajistit standardizaci a validaci používaných metod (Koerner *et al.*, 2019).

Cílem naší práce bylo porovnání komerční ELISA metody a in-house metody ke stanovení množství lepku.

MATERIÁL A METODIKA

Pro přípravu experimentálních vzorků byly připraveny koncentrační řady antioxidantů, konkrétně kyseliny gallové (MP Biomedicals, CHN), rutinu, kvercetinu (Sigma-Aldrich, USA) a nanočástic železa (Thermofisher, GE), stříbra a hliníku (Sigma-Aldrich, USA). U nanočástic (Fe, Ag, Al) byly zvoleny koncentrace 150,0; 120,0; 60,0; 30,0; 15,0; 10,0; 5,0; 2,5 a 0,0 mg/g. Naválené množství nanočástic bylo smíseno s 55,0% etanolem. Následně byl do každé takto připravené koncentrace přidán roztok gliadinu (Sigma-Aldrich, USA), připravený také rozpuštěním v 55,0% etanolu. V případě antioxidantů (kyselina gallová, rutin, kvercetin) byly vzhledem k jejich rozdílné rozpustnosti v 55,0% etanolu nejprve vytvořeny nasycené zásobní roztoky, které byly následně ředěny na požadované koncentrace. Konečná koncentrace gliadinu ve všech připravených vzorcích činila 10,0 mg/g.

Imunoreaktivita byla testována pomocí komerčního ELISA Kitu GLUTEN 2D4 Allergen-Check™ ELISA (Bio-Check, UK) s protilátkami „2D4“, který detekuje gliadin se specificitou podobnou R5 a zaměřuje se na deaminované formy. Oxidace TMB chromogenu probíhá za katalýzy křenovou peroxidázou. Absorbance byla měřena při 450 nm a výsledky byly vyjádřeny v mg lepku na kg.

Druhou použitou metodou byla nepřímá in-house ELISA, ve které byly použity destičky potažené protilátkou proti gliadinu (Mouse, Sigma-Aldrich, USA). Použité ředění protilátky bylo 1:1000. Destičky potažené protilátkou byly inkubovány 24 hodin. Druhý den byly naneseny vzorky, které se po hodinové inkubaci vylily a byla nanesena značená protilátka 2D4 (Rabbit, v koncentraci 1:500; Bio-Check, UK). Po hodinové inkubaci byla nanesena sekundární biotinylovaná protilátka (Vector Laboratories, USA), následně roztok ABC (Vector Laboratories, USA). Jako poslední byl nanesen roztok TMB (Vector Laboratories, USA). Po 10 minutách bylo provedeno měření absorbance při vlnové délce 650 nm.

Absorbance byla u obou metod měřena pomocí spektrofotometru INFINITE 200 PRO (Tecan, Austria). Následně byly srovnány získané výsledky množství gliadinu ve vzorcích pro přídavku nanočástic a antioxidantů.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Výsledné koncentrace vypočtené z naměřených absorbancí připravených vzorků pro použité metody uvádí tabulka č. 1 a 2.

Tabulka č. 1, Výsledky zjištěné koncentrace lepku po přídavku antioxidačních látek [mg/g]

Koncentrace	Koncentrace lepku [mg/kg]	
	Komerční ELISA metoda	In-house ELISA metoda
Kyselina gallová (GAL)		
GAL 0,000	770,5354	0,7245
GAL 0,671	762,4003	0,7245
GAL 1,342	766,1459	0,7246
GAL 2,683	769,0867	0,7244
GAL 4,025	777,6459	0,7244
GAL 8,050	755,2412	0,7243
GAL 16,100	769,9452	0,7243
GAL 24,150	723,0839	0,7243
GAL 32,200	710,9911	0,7242
GAL 40,250	734,1803	0,7242
Kvercetin (KVE)		
KVE 0,000	770,5354	0,7206
KVE 0,178	764,7355	0,7206
KVE 0,357	769,2553	0,7205
KVE 0,713	767,1321	0,7205
KVE 1,070	756,9377	0,7205
KVE 2,140	752,8803	0,7204
KVE 4,280	747,6349	0,7205
KVE 6,420	750,6166	0,7205
KVE 8,560	736,3393	0,7205
KVE 10,700	750,1056	0,7206
Rutin (RUT)		
RUT 0,000	675,1649	0,5749
RUT 0,178	689,884	0,5751
RUT 0,356	679,2966	0,5751
RUT 0,712	683,2201	0,5747
RUT 1,068	673,9502	0,5747
RUT 2,135	691,9947	0,5748
RUT 4,270	672,0477	0,5749
RUT 6,405	681,9711	0,5747
RUT 8,540	687,3624	0,5748
RUT 10,675	687,6996	0,5751

Data uvedená v tabulce ukazují, že přídavek antioxidantů měl vliv na získané výsledky. V případě použití komerčního ELISA kitu docházelo ve vyšších koncentracích antioxidantů k mírnému poklesu detekovaného množství lepku. V případě použití in-house ELISA metody byla výsledná hodnota relativně stabilní. Dále také komerční ELISA metoda dává 1000 krát vyšší výsledky a byla citlivější na změny způsobené antioxidanty než in-house metoda.

Změny v imunoreaktivitě metod mohou být způsobeny interakcemi látek s gliadinovými proteiny. V některých případech může docházet ke změnám ve struktuře a funkci gliadinových proteinů. Dále může docházet k agregaci, změně konformace disulfidových můstků nebo ovlivnění aromatických aminokyselin jako je tyrosin a tryptofan

(Welc *et al.*, 2022). Někteří autoři sledovali využití polyfenolů ke snížení škodlivých účinků lepku. Dle jejich výsledků mohou polyfenoly vázat lepkové proteiny a tvořit nerozpustné komplexy a tím snižovat jejich alergenicitu, což poukazuje na možný potenciál těchto látek a jejich využití ke snížení rizika spojeného s konzumací lepku (Ribeiro *et al.*, 2020).

Tabulka č. 2, Výsledky zjištěné koncentrace lepku po přídavku nanočástic [mg/g]

Koncentrace	Koncentrace lepku [mg/kg]	
	Komerční ELISA metoda	In-house ELISA metoda
Stříbro (AG)		
AG 0,0	675,1649	0,5749
AG 2,5	683,0568	0,5746
AG 5,0	684,1108	0,5746
AG 10,0	698,7956	0,5744
AG 15,0	684,4059	0,5744
AG 30,0	673,7974	0,5744
AG 60,0	660,7199	0,5743
AG 90,0	643,9428	0,5746
AG 120,0	637,329	0,5747
AG 150,0	620,631	0,5747
Hliník (AL)		
AL 0,0	452,7196	1,2609
AL 2,5	464,548	1,2609
AL 5,0	459,8424	1,2609
AL 10,0	435,2597	1,2611
AL 15,0	428,9837	1,2608
AL 30,0	384,7729	1,2608
AL 60,0	381,7052	1,2608
AL 90,0	381,2657	1,2609
AL 120,0	382,9211	1,2609
AL 150,0	390,3428	1,2609
Železo (FE)		
FE 0,0	452,7196	1,2609
FE 2,5	453,1503	1,2604
FE 5,0	484,9789	1,2607
FE 10,0	498,1785	1,2608
FE 15,0	484,7679	1,2608
FE 30,0	479,2361	1,2608
FE 60,0	475,0081	1,2608
FE 90,0	461,5565	1,2608
FE 120,0	469,0573	1,2609
FE 150,0	419,4465	1,2609

Z výsledků tabulky č. 2 vyplývá, že přídavek nanočástic měl také vliv na výsledky. V případě použití komerčního ELISA kitu docházelo ve vyšších koncentracích nanočástic k poklesu detekovaného množství lepku. V případě použití in-house ELISA metody byla

výsledná hodnota relativně stabilní. Dále také komerční ELISA metoda dává 300 až 1000 krát vyšší výsledky a byla citlivější na změny způsobené antioxidanty než in-house metoda.

Výsledky ukazují na vliv nanočástic na imunoreaktivitu testu. Změna mohla být způsobena fyzikálně-chemickými interakcemi, jako je například tvorba komplexů lepku s nanočásticemi. Toho využil například Ciaurriz *et al.* (2017), který poukazuje na zvýšení citlivosti testů, ale také na snížení detekčního limitu v případě použití nanočástic stříbra, což v naši studii nebylo potvrzeno.

ZÁVĚR

Zjištěné změny imunoreaktivity byly způsobeny konformačními změnami lepku, vyvolanými interakcí bioaktivních látek a nanočástic. Dále výsledky získané komerčním ELISA kitem byly v případě antioxidantů až 1000 krát vyšší, v případě nanočástic 300 až 1000 krát vyšší než výsledky získané in-house ELISA metodou. Dle získaných výsledků a připravených koncentrací vzorků obsahujících 1,0 % gliadinu byl použitý komerční kit citlivější ke změnám způsobeným přídavkem antioxidantů a nanočástic.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce vznikla za podpory projektu ITA Veterinární univerzity Brno s názvem „Vedlejší produkty rostlinného původu jako součást nových biodegradabilních/jedlých produktů pro ochranu životního prostředí a mechanismus ochrany zdraví před alergenními složkami potravin“.

POUŽITÁ LITERATURA

1. CIAURRIZ, P., FERNÁNDEZ, F., TELLECHEA, E., MORAN, J. F., ASENSIO, A. C. Comparison of four functionalization methods of gold nanoparticles for enhancing the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Beilstein journal of nanotechnology*, 2017, vol. 8. no. 1, p. 244-253. Dostupné na: https://doi.org/10.3762/bjnano.8.27
2. KOERNER, T. B., ABBOTT, M., GODEFROY, S. B., POPPING, B., YEUNG, J. M., DIAZ-AMIGO, C., ROBERTS, J., TAYLOR, S. L., BAUMERT, J. L., ULBERTH, F., WEHLING, P., KOEHLER, P. Validation procedures for quantitative gluten ELISA methods: AOAC allergen community guidance and best practices. *Journal of AOAC International*. 2019, vol. 96, no. 5, p. 1033-1040. Dostupné na: https://doi.org/10.5740/jaoacint.13-043
3. LAUBE, T., KERGARAVAT, S. V., FABIANO, S. N., HERNÁNDEZ, S. R., ALEGRET, S., PIVIDORI, M. I. Magneto immunosensor for gliadin detection in gluten-free foodstuff: Towards food safety for celiac patients. *Biosensors and*

Bioelectronics. 2011, vol. 27, p. 46–52. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.bios.2011.06.006

4. POLLOCK, W., DUNSTER, K., ROLLAND, J. M., KOH, H., SAVIGE, J. A comparison of commercial and in-house ELISAs for antineutrophil cytoplasmic antibodies directed against proteinase 3 and myeloperoxidase. *Pathology*. 1999, vol. 31, no. 1, p. 38-43. Dostupné na: https://doi.org/10.1080/003130299105511
5. RASMUSSEN, S. N., VIGRE, H., MADSEN, C. B. Risk of consuming products with or without precautionary wheat or gluten labelling for persons with coeliac disease. *Food and Chemical Toxicology*. 2022, vol. 166, p. 113231. ISSN 0278-6915. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.113231
6. RIBEIRO, M., SOUSA, T. D., POETA, P., BAGULHO, A. S., IGREJAS, G. Review of structural features and binding capacity of polyphenols to gluten proteins and peptides in vitro: Relevance to celiac disease. *Antioxidants*, 2020, vol. 9, no. 6, p. 463. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/antiox9060463
7. SCHÄFER, T., BÖHLER, E., RUHDORFER, S., WEIGL, L., WESSNER, D., HEINRICH, J., FILIPIAK, B., WICHMANN, H. E., RING, J. Epidemiology of food allergy/food intolerance in adults: associations with other manifestations of atopy. *Allergy*. 2001, vol. 56, no. 12, p. 1172–1179. ISSN 1398-9995. Dostupné na: https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2001.00196.x
8. SICHERER, S.H., Food allergy: When and how to perform oral food challenges. *Pediatric Allergy and Immunology*. 1999, vol. 10, no. 4, p. 226–234. ISSN 1399-3038. Dostupné na: https://doi.org/10.1034/j.1399-3038.1999.00040.x
9. WAGA, J. Structure and allergenicity of wheat gluten proteins-a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 2004, vol. 54, no. 4, p. 327–338. ISSN 1230-0322. Dostupné na: http://journal.pan.olsztyn.pl/structure-and-allergenicity-of-wheat-gluten-proteins-a-review-,97806,0,2.html
10. WELC, R., KŁOSOK, K., SZYMAŃSKA-CHARGOT, M., NAWROCKA, A. Effect of chemical structure of selected phenolic acids on the structure of gluten proteins. *Food Chemistry*. 2022, vol. 389, 133109. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133109

Kontaktní adresa: Zdeňka Javůrková, Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika; E-mail: javurkovaz@vfu.cz

ASPERGILLUS OCHRACEUS AKO MOŽNÝ KONTAMINANT SLEPAČÍCH VAJEC – VPLYV TEPLOTY NA JEHO RAST A PRODUKCIU OCHRATOXÍNU A

ASPERGILLUS OCHRACEUS AS A POTENTIAL CONTAMINANT OF HEN EGGS – THE EFFECT OF TEMPERATURE ON ITS GROWTH AND OCHRATOXIN A PRODUCTION

Jevinová Pavlína, Pipová Monika, Regecová Ivana, Gerbačová Katarína[1], Olekšáková Martina[1]

Katedra hygieny a technológie potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika, [1] Babičkin dvor, a.s., J. Kráľa 2661, 990 01 Veľký Krtíš, Slovenská republika

ABSTRACT

Toxinogenic species of the genus *Aspergillus* are common contaminants of hen eggs and pose a potential risk associated with mycotoxin production. In the present study, we aimed to evaluate the effect of temperature on the growth of *Aspergillus ochraceus* and its ability to synthesize ochratoxin A (OTA). Mycelial growth was monitored by measuring the diameter of colonies during incubation at temperatures of 4, 14, 25 and 37 °C at time intervals on the 4th, 6th, 7th, 14th and 16th day of cultivation. After each measurement, three representative sections from each colony (approximately 5 × 5 mm in size), including both the mycelium and part of the culture medium, were taken from agar plates incubated at given temperatures. Subsequently, the presence of OTA in these samples was analyzed using the thin-layer chromatography (TLC) and the Reveal® Q+ semi-quantitative immunoassay for OTA. The results confirmed that the optimal conditions for the growth of *A. ochraceus* are at temperature of 25 °C, when the colonies reached a maximum diameter of 64.00 ± 0.00 mm on the 16th day of incubation. Growth was significantly inhibited at 14 and 37 °C. At the same time intervals at a temperature of 14 °C, the diameter reached 38.00 ± 0.00 mm and 42.33 ± 0.6 mm at 37 °C. At a low temperature of 4 ± 1 °C, no growth was observed during the entire incubation period. OTA analysis confirmed the significant effect of temperature on its production. TLC method revealed the presence of OTA in colonies incubated at 25 °C and 37 °C on the 16th day of cultivation. The highest concentration of OTA was quantified at 37 °C (52.6 ± 6.36 $\mu g \cdot kg^{-1}$). Using the Reveal® Q+ test, a low concentration of OTA was also detected at 14 °C (0.62 ± 0.99 $\mu g \cdot kg^{-1}$).

Key words: *Aspergillus ochraceus*, egg, ochratoxin, temperature

ÚVOD

Vajcia patria medzi jedny z najdôležitejších komodít na celom svete a sú dobrým zdrojom bielkovín, minerálnych látok a vitamínov s výnimkou vitamínu C. Európska únia je po Číne druhým najväčším producentom konzumných vajec a na úrovni celosvetovej produkcie vajec jej podiel predstavuje približne 10 %. Vzhľadom na vysokú spotrebu vajec je dôležité zabezpečiť vysoký štandard bezpečnosti počas celého výrobného procesu. Vedci vykonávajú mnoho výskumov s cieľom identifikovať potenciálne riziká pre zdravie spotrebiteľa. Najnovšie štúdie poukazujú na hrozbu spôsobenú kontamináciou vaječných škrupín mikroskopickými vláknitými hubami. Počas celého procesu získavania vajec existuje veľké riziko kontaminácie povrchu vaječných škrupín plesňami, ktorých hýfy okrem toho, že rastú na povrchu škrupiny vajec, tak dokážu preniknúť aj do vnútra vajec (Tolik et al. 2014, Mansour, Zayed, Basha 2015, Tomczyk et al. 2018).

Mikroskopické vláknité huby sú schopné rásť v podmienkach, ktoré sú pre baktérie nevhodné ako sú extrémne hodnoty pH, nízka aktivita vody a majú široký rozsah enzymatickej aktivity. Spóry plesní dokážu prežívať v nepriaznivých podmienkach a rýchlo sa šíria vzduchom, čím sa zvyšuje riziko krížovej kontaminácie surovín a potravín v potravinárskom priemysle. Výskyt plesní v potravinárskom priemysle je spojený hlavne s kazením a znehodnotením potravín, keďže huby degradujú substrát, na ktorom sa vyskytujú, ale určité nebezpečenstvo vyplýva aj z toho, že spóry plesní vo vzduchu môžu spôsobovať rôzne ochorenia a taktiež niektoré kmene plesní sa vyznačujú produkciou mykotoxínov, ktoré predstavujú najväčšie riziko pre spotrebiteľa (Snyder a Worobo 2018, Regecová et al. 2020).

Medzi významných producentov mykotoxínov patria hlavne toxinnogénne druhy rodu *Aspergillus*. Do rodu *Aspergillus* patrí druh *Aspergillus ochraceus*, ktorý je častým kontaminantom potravín, vrátane vajec, u ktorých môže kontaminovať ich povrch alebo môže preniknúť cez škrupinu a kontaminovať jeho vnútorné časti. *Aspergillus ochraceus* patrí medzi významných producentov ochratoxínu A. Rast toxinogénnych kmeňov a produkcia mykotoxínov je však podmienená špecifickými podmienkami prostredia vrátane teploty. Laciaková et al. 2011, Chen et al. 2022, Hareeri et al. 2022, Ding et al. 2023).

MATERIÁL A METODIKA

Časť spór z kolónií 7-dňovej kultúry *Aspergillus ochraceus* CCM F 269, kultivovaných na Sabouraudovom agare, sme preniesli do mikroskúmavky s polotuhým agarovým roztokom (0,2 % agar a 0,05 % Tween 80). Suspenziu sme premiešali na vortexe a následne v objeme 1 µl naočkovali v troch bodoch na povrch agaru s kvasničným extraktom a sacharózou (YES) v Petriho miskách s priemerom 90 mm. Inokulované platne sme inkubovali pri teplotách 5, 14,

25 a 37 ± 1 °C. Intenzitu rastu testovaného kmeňa sme hodnotili na základe veľkosti kolónií, ktoré sme merali na 4., 6., 7., 14., 16. a 30. deň inkubácie.

Po zmeraní priemeru kolónií sme z platní inkubovaných pri uvedených teplotách odobrali z kolónií spolu s kultivačným médiom 3 výseky, každý s plochou približne 5 x 5 mm, v ktorých sme detegovali prítomnosť ochratoxínu A (OTA) podľa autorov Jevinová a kol. (2023). Extrakciu OTA sme realizovali pridaním 500 µl extrakčného roztoku (chloroform : metanol = 2 : 1) k výsekom v mikroskúmavke, ktoré sa následne 5 minút miešali na vortexe. Extrakty sme nanášali na chromatografickú platňu so silikagélom (Merck, Nemecko) vo vzdialenosti 1,5 v objeme 20 µl. Chromatografické platne boli ponorené do mobilnej fázy pod úroveň nanesených extraktov v hermeticky uzavretej vyvíjacej komore. Ako mobilná fáza sa použila zmes toluénu, etylacetátu a kyseliny mravčej v pomere 5:4:1 (v/v/v). Vyvíjanie prebiehalo až do vzdialenosti 1 cm od horného okraja platne. Po ukončení sa platne vysušili pri laboratórnej teplote a OTA bol vizualizovaný pod UV svetlom s vlnovou dĺžkou 365 nm ako modrozelená fluorescenčná škvrna. Ako pozitívnu kontrolu sme použili analytický štandard 10 µg/ml ochratoxínu A (OTA) v metanole (Trilogy, USA). Presnosť extrakcie a správnosť výsledkov sme overili pridaním 50 µl uvedeného štandardu OTA k výsekom kolónií a k 500 µl zmesi CH:M.

Na stanovenie približného množstva ochratoxínu A produkovaného testovaným kmeňom *A. ochraceus* CCM F 269 sme použili semikvantitatívny test Reveal® Q+ pre ochratoxín. Je to jednokrokový laterálny prietokový imunochromatografický test založený na kompetetívnom formáte imunoanalýzy určený na kvantitatívne testovanie ochratoxínu. V pravidelných intervaloch sme z kolónií testovaného kmeňa kultivovaného pri uvedených teplotách odobrali 3 výseky, každý s plochou približne 5 x 5 mm spolu s kultivačným médiom do 1,5 ml mikroskúmavky. Ako kontrolu sme použili výseky z čistého agaru. K výsekom v mikroskúmavke sme pridali 500 µl 70 %-ného metanolu. Mykotoxíny sme extrahovali vortexovaním 5 minút. Následne sme mikroskúmavky s obsahom centrifugovali pri 10 000 x g počas 5 minút. Podľa pokynov výrobcu testu sme 100 µl supernatantu zriedili s 200 µl riediaceho roztoku (súčasť analytického setu). Obsah sme premiešali pipetovaním (nasatím a vypustením 5 krát). Následne sme do 100 µl zriedeného supernatantu, vložili testovací prúžok Reveal Q+ pre ochratoxín. Po 9 minútach sme prúžok vybrali, vložili do čierneho adaptéra kazety a vložili do čítačky AccuScan®PRO. Obsah ochratoxínu sa zobrazil na displeji v jednotkách $\mu g.kg^{-1}$ (ppb).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Rast kolónií sme zaznamenali iba pri teplotách 14, 25 a 37 ± 1 °C. Výsledky prezentované v tabuľke č. 1 potvrdili, že najrýchlejší rast testovaného kmeňa *A. ochraceus* bol pri teplote 25 ± 1 °C. Na 4. deň inkubácie pri tejto teplote dosiahli kolónie priemer 20,67 ± 0,6 mm, pričom rast kontinuálne pokračoval a na 16. deň dosiahli priemer 64,00 ± 0,0 mm. Výraznejšiu inhibíciu rastu sme zaznamenali pri teplotách 14 a 37 ± 1 °C. Po celú dobu inkubácie kolónie na platniach inkubovaných pri teplote 14 ± 1 °C dosahovali najmenšie rozmery, pričom ich priemer sa pohyboval v rozmedzí 4,67 ± 0,6 – 38,00 ± 0,0 mm.

Tabuľka č. 1, Priemerná veľkosť kolónií A. ochraceus CCM F 269

Veľkosť kolónií (mm)				
4. deň	**6. deň**	**7. deň**	**14. deň**	**16. deň**
Kultivácia pri 14 ± 1 °C				
4,67 ± 0,6	11,33 ± 0,6	14,00 ± 0,0	27 ± 1,0	38,00 ± 0,0
Kultivácia pri 25 ± 1 °C				
20,67 ± 0,6	42,00± 0,5	50,33 ± 0,6	59,67 ± 0,6	64,00 ± 0,0
Kultivácia pri 37 ± 1 °C				
7,67 ± 0,6	15,25 ± 1,5	19,67 ± 0,6	28,00 ± 1,0	42,33 ± 0,6

Zdroj: Vlastná tabuľka

Rast *Aspergillus ochraceus* a kontaminujúcej mykobioty vajec je silne ovplyvnený viacerými environmentálnymi faktormi, medzi ktoré patrí teplota, vlhkosť, pH prostredia, a zloženie substrátu. Výsledky tejto štúdie jasne ukázali, že teplota zohráva rozhodujúcu úlohu v dynamike rastu tejto mikromycéty. V našom pokuse sme zistili, že optimálna teplota pre rast *A. ochraceus* sa javí teplota 25 °C, pri ktorej dosahovali kolónie maximálny priemer. Tento výsledok je v súlade s výsledkami autorov Medina, Fraga, Sanchis (2005), ktorí uvádzajú, že väčšina druhov rodu *Aspergillus* preferuje teploty medzi 20 °C a 30 °C, pričom teploty nad 30 °C môžu inhibovať rast alebo znížiť jeho intenzitu. V našom prípade sme pri teplote 37 °C pozorovali výrazné spomalenie rastu, pričom kolónie dosiahli menšiu veľkosť v porovnaní s tými, ktoré rástli pri optimálnej teplote 25 °C. Naopak, pri teplote 14 °C bol rast *A. ochraceus* značne inhibovaný, čo svedčí o tom, že tento druh nie je schopný efektívne rásť pri nízkych teplotách, čo je podporené aj výsledkami autorov Samson, Hoekstra, Frisvad (2000).

Výsledky stanovenia ochratoxínu A v agarových výsekoch tenkovrstvovou chromatografiou (TLC) sú prezentované v tabuľkách č. 2 a 3.

Ako vyplýva z tabuľky č. 2, do 14. dňa nebola detegovaná prítomnosť ochratoxínu A v extraktoch získaných z agarových výsekov kolónií testovaného kmeňa *A. ochraceus* kultivovaných pri teplotách 14, 25 a 37 ± 1 °C. Prítomnosť OTA sme potvrdili len na dráhach so štandardom OTA a v extraktoch s pridaným štandardom.

Tabuľka č. 2, Výsledky detekcie OTA v agarových výsekov kolónií zo 7. a 14. dňa inkubácie TLC metódou

Vzorka	OTA
agarové výseky kolónií zo 7. dňa inkubácie pri 25 °C	Negatívny
agarové výseky kolónií zo 7. dňa inkubácie pri 37 °C	Negatívny
agarové výseky kolónií zo 7. dňa inkubácie pri 14 °C	Negatívny
agarové výseky kolónií zo 14. dňa inkubácie pri 25 °C	Negatívny
agarové výseky kolónií zo 14. dňa inkubácie pri 37 °C	Negatívny
agarové výseky kolónií zo 14. dňa inkubácie pri 14 °C	Negatívny
Štandard OTC v metanole	Pozitívny
500 µl zmesi CH:M + 50 µl štandardu OTC	Pozitívny
agarové výseky kolónií zo 14. dňa inkubácie pri 25 °C + 50 µl štandardu OTA	Pozitívny
agarové výseky kolónií zo 14. dňa inkubácie pri 37 °C + 50 µl štandardu OTA	Pozitívny
agarové výseky kolónií zo 14. dňa inkubácie pri 14 °C + 50 µl štandardu OTA	Pozitívny

Zdroj: Vlastná tabuľka

Tabuľka č. 3 prezentuje výsledky detekcie OTA metódou TLC v agarových výsekoch za sledované obdobie inkubácie (30 dní). Pozitívne výsledky detekcie OTA sme zaznamenali v agarových výsekoch z kolónií kultivovaných pri teplotách 25 °C a 37 °C na 16. deň inkubácie a na 30. deň inkubácie. Metódou TLC nebola detegovaná prítomnosť OTA v agarových výsekoch z platní inkubovaných pri teplote 14 °C, a to bez ohľadu na dobu inkubácie.

Tabuľka č. 3, Výsledky detekcie OTA v agarových výsekov kolónií z 14. dňa až 30. dňa inkubácie TLC metódou

Vzorka	OTA
agarové výseky kolónií z 14. dňa inkubácie pri 25 °C	Negatívny
agarové výseky kolónií z 14. dňa inkubácie pri 37 °C	Negatívny
agarové výseky kolónií z 14. dňa inkubácie pri 14 °C	Negatívny
agarové výseky kolónií z 16. dňa inkubácie pri 25 °C	Pozitívny
agarové výseky kolónií z 16. dňa inkubácie pri 37 °C	Pozitívny
agarové výseky kolónií z 16. dňa inkubácie pri 14 °C	Negatívny
agarové výseky kolónií z 30. dňa inkubácie pri 37 °C	Pozitívny
agarové výseky kolónií z 30. dňa inkubácie pri 37 °C	Pozitívny
agarové výseky kolónií z 30. dňa inkubácie pri 25 °C	Pozitívny
agarové výseky kolónií z 30. dňa inkubácie pri 25 °C	Pozitívny
agarové výseky kolónií z 30. dňa inkubácie pri 14 °C	Negatívny
agarové výseky kolónií z 30. dňa inkubácie pri 14 °C	Negatívny
štandard OTC	Pozitívny

Zdroj: Vlastná tabuľka

Na základe pozitívnych výsledkov detekcie OTA v agarových výsekoch z kolónií 16-dňovej inkubácie sme pomocou REVEAL Q+ testu pre ochratoxín stanovili jeho koncentráciu. Ako negatívnu kontrolu sme použili extrakt z čistého agaru a čistý 70 % etanol. Všetky získané hodnoty OTA sú uvedené v tabuľke č. 4. Najvyššie koncentrácie OTA sme detegovali v agarových výsekoch kolónií kultivovaných pri teplote 37 ± 1 °C (52,6 ± 6,36 $\mu g.kg^{-1}$), čo predstavovalo takmer 10-násobne vyššiu koncentráciu tohto mykotoxínu v porovnaní s hodnotami stanovenými v agarových výsekoch kolónií inkubovaných pri teplote 25 ± 1 °C (4,5 ± 0,42 $\mu g.kg^{-1}$). Najnižšie množstvo OTA (0,62 ± 0,99 $\mu g.kg^{-1}$) sme zaznamenali v agarových výsekoch kolónií inkubovaných pri 14 °C.

Teplota je aj jedným z kľúčových regulátorov produkcie OTA. Výsledky viacerých štúdií, vrátane tej našej, potvrdzujú, že produkcia OTA neprebieha vždy paralelne s maximálnym rastom huby. V našom prípade sa najvyššia produkcia OTA zaznamenala pri 37 °C, hoci optimálny rast kmeňa *A. ochraceus* bol pozorovaný pri 25 °C. Podobné výsledky uvádzajú aj Medina, Fraga, Sanchis (2005), podľa ktorých zvýšené teploty môžu stimulovať tvorbu sekundárnych metabolitov ako adaptívnu odpoveď na stres.

Tabuľka č. 4, Výsledky testu REVEAL Q+ pre ochratoxín

Vzorka	Množstvo OTA (µg.kg^{-1})
agarové výseky z kolónií 16-dňovej inkubácie pri 25 °C	4,5 ± 0,42
agarové výseky z kolónií 16-dňovej inkubácie pri 37 °C	52,6 ± 6,36
agarové výseky z kolónií 16-dňovej inkubácie pri 14 °C	0,62 ± 0,99
agarové výseky z čistého agaru	0
čistý 70 %-tný metanol	0

Zdroj: Vlastná tabuľka

Dôležitým parametrom je tiež doba inkubácie, keďže OTA je produkovaný až v neskorších fázach rastu – typicky počas stacionárnej fázy myceliálneho vývoja. V našej štúdii bola detekcia OTA potvrdená na 14. až 16. deň inkubácie, čo korešponduje s poznatkami autorov Abarca, Bragulat, Cabañes (2001) a Belli a Akar (2004).

Zloženie substrátu má priamy vplyv na produkciu mykotoxínov. Substráty bohaté na jednoduché sacharidy, ako napr. agar s kvasničným extraktom a sacharózou (YES), sú považované za vysoko vhodné pre produkciu OTA. Dostupnosť živín, najmä dusíkatých a uhlíkových zdrojov, ovplyvňuje aktiváciu génov zodpovedných za biosyntézu toxínu.

Ďalším významným faktorom je aktivita vody (a_w). Hoci v našej štúdii bola konštantná vzhľadom na použité pevné médium, vo všeobecnosti platí, že hodnota a_w vyššia ako 0,95 podporuje produkciu OTA, zatiaľ čo jej pokles inhibuje biosyntetické dráhy toxínu (Magan a Olsen 2003).

ZÁVER

Výsledky tejto štúdie poskytujú relevantné poznatky o raste testovaného kmeňa *Aspergillus ochraceus* a jeho produkcii ochratoxínu A (OTA) pri rôznych teplotných podmienkach simulujúcich skladovanie. Najintenzívnejší rast kolónií bol zaznamenaný pri teplote 25 °C, čo potvrdzuje, že táto teplota predstavuje optimálne podmienky pre rast tohto druhu. Inkubácia pri 14 °C a 37 °C viedla k výraznej inhibícii rastu, čo naznačuje, že ochladenie pod 14 °C, ako aj vystavenie vyšším teplotám (nad 30 °C), môže byť efektívnym opatrením na obmedzenie rozvoja tejto mikromycéty.

Produkcia OTA bola detegovaná až na 16. deň inkubácie, pričom najvyššie koncentrácie boli stanovené pomocou testu Reveal® Q+ pri 37 °C (52,6 ± 6,36 µg·kg^{-1}). Tieto výsledky indikujú, že nižšie teploty (<14 °C) sú účinné nielen pri inhibícii rastu *A. ochraceus*, ale aj pri

znižovaní rizika syntézy OTA, zatiaľ čo zvýšené teploty môžu naopak podporovať jeho produkciu.

Záverom možno konštatovať, že regulácia teploty počas skladovania vajec zohráva kľúčovú úlohu pri prevencii kontaminácie mikromycétami a mykotoxínmi. Chladenie predstavuje efektívne preventívne opatrenie na zachovanie kvality a bezpečnosti vajec s cieľom minimalizovať riziko kontaminácie ochratoxínom A produkovaným *A. ochraceus*.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ABARCA, M. L. – BRAGULAT, M. R. – CABAÑES, F. J. Ochratoxin A-producing strains of Aspergillus ochraceus and related species isolated from poultry feeds. In *International Journal of Food Microbiology*. ISSN 0168-1605, 2001, 71(3), 225-229.
2. BELLI, N. – AKAR, T. Production of ochratoxin A by Aspergillus ochraceus in relation to various environmental conditions. In *Food Control*. ISSN 0956-7135, 2004, 15(1-3), 123-128.
3. DING, L. et al. Ochratoxin A: Overview of Prevention, Removal, and Detoxification Methods. In *Toxins*. ISSN: 2072-6651, 2023, vol. 15, p. 1-11.
4. HAREERI, R. H. et al. Aspergillus ochraceus: Metabolites, Bioactivities, Biosynthesis, and Biotechnological Potential. In *Molecules*. ISSN 1420-3049, 2022, vol. 27, s. 1-46.
5. CHEN L. et al. The Secondary Metabolites and Biosynthetic Diversity From Aspergillus ochraceus. In *Frontiers Chemistry*. ISSN 2296-2646, 2022, vol. 10, p. 1-15.
6. JEVINOVÁ, P. a kol. *Návody na praktické cvičenia z mykológie a mykotoxikológie krmív a potravín.* Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach s podporou grantovej agentúry MŠ SR KEGA, 2023. ISBN 978-80-8077-794-4, p. 88-89.
7. LACIAKOVÁ, A. et al. *Mikroskopické vláknité huby a mykotoxíny v potravinách a krmivách*. Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, 2011. ISBN 978-80-8077-252-9, p. 73-82.
8. MAGAN, N. – OLSEN, M. Mycotoxins in food: Detection and prevention. CABI Publishing, 2003. 496 s. ISBN 0-8493-2557-9
9. MANSOUR, A. – ZAYED A.F. – BASHA, O. A. Contamination of the shell and internal content of table eggs with some pathogens during different storage periods. In *Agricultural and Food Sciences*. ISSN 1459-6067, 2015, vol. 61, p. 8-15.
10. MEDINA, A. – FRAGA, M. E. – SANCHIS, V. Fungal contamination and mycotoxin production in maize grown in Spain under different environmental conditions. In *Mycological Research*. ISSN 0953-7562, 2005, 109(11), 1185-1191.

11. REGECOVÁ, I. et al. Quality and mycobiota composition of stored eggs. In *Italian Journal of Food Science*. ISSN 1120-1770, 2020, vol. 32, s. 540-561.
12. SAMSON, R. A. – HOEKSTRA, E. S. – FRISVAD, J. C. Introduction to Food-borne Fungi (7th ed.). Centraalbureau voor Schimmelcultures. 2000. 389 s. ISBN 90-70351-50-2
13. SNYDER,A. B. – WOROBO, R. W. Fungal Spoilage in Food Processing. In *Journal of Food Protection*. ISSN 0362-028X, 2018, vol. 81, No. 6, p. 1035-1040.
14. TOLIK, D. et al. Characteristic of egg parts, chemical composition and nutritive value of japanese quail eggs. In *Folia biologica*. ISSN 1734-9168. 2014, vol. 62, no. 4, s. 287-292.
15. TOMCZYK, L. et al. Characterisation of the Mycobiota on the Shell Surface of Table Eggs Acquired form Different Egg-Laying Hen Breeding Systems. In *Toxins*. ISSN 2072-66512018, vol. 10, no. 7, p. 269-278.

Kontaktná adresa: Jevinová Pavlína, Department of Food Hygiene and Technology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: pavlina.jevinova@uvlf.sk

FYZIKÁLNĚ CHEMICKÉ PARAMETRY MLETÉHO MASA A MASNÝCH POLOTOVARŮ

PHYSICOCHEMICAL PARAMETERS OF MINCED MEAT AND MEAT PREPARATIONS

Ježek František, Kameník Josef, Dušková Marta, Veselá Helena, Ondruchová Simona, Svobodová Hana

Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Veterinární univerzita Brno, Palackého třída, 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika

ABSTRACT

The aim of this work was to analyze selected samples of minced meat and meat preparations from the perspective of their physicochemical parameters. The samples were purchased in the market network of the Czech Republic and included products made of poultry, pork, beef and beef with pork (mix). The color (L^* - lightness; a^* - redness; b^* - yellowness) was measured instrumentally, the pH was measured, and the fat, collagen and myoglobin content was analyzed. Significant (P <0.05) differences were found between beef minced meat and pork meat preparations and between beef meat preparations and pork meat preparations in the L^* value. The a^* value of poultry minced meat was significantly lower (P <0.05) than that of beef minced meat and beef meat preparations. The highest pH (6.57) was found in pork meat preparations. The fat content ranged from 3.93% for poultry meat preparations to 23.68% for mixed meat preparations. There were no significant differences in myoglobin content (P >0.05). Based on the results, there is no noticeable difference in the quality of the analyzed samples.

Key words: fresh meat, grinder, lipid oxidation, redness, metmyoglobin

ÚVOD

Mleté maso je podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 definováno jako vykostěné maso, které bylo rozmělněno a obsahuje méně než 1 % soli. Mezi masné polotovary pak patří čerstvé maso, včetně rozmělněného masa, ke kterému byly přidány potraviny, koření nebo přídavné látky anebo které bylo podrobeno ošetření, jež nestačí ke změně vnitřní struktury svalových vláken masa, a tím i k vymizení vlastností čerstvého masa. Na výrobu mletého masa a masných polotovarů musí být použito maso, které má teplotu nejvýše 4 °C u drůbeže a 7 °C u ostatního masa. Ihned po vyrobení musí být výrobky zabaleny a zchlazeny na vnitřní teplotu nepřekračující 2 °C u mletého masa a 4 °C u masných polotovarů. Tyto podmínky musí být zabezpečeny také při přepravě a skladování a tedy i při prodeji v tržní

síti. V nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 jsou pro mleté maso uvedeny maximální hodnoty obsahu tuku od 7 do 30 % v závislosti na druhu mletého masa. Nařízení rovněž uvádí pro jednotlivé druhy mletého masa poměr obsahu kolagenu a bílkovin.

Obsah tuku je velmi důležitým atributem pro spotřebitele, kteří dbají na zdravou a vyváženou stravu. Po celá desetiletí se nízkotučné diety spojovaly se zdravějším stravováním, ale v současné době se vědci a orgány veřejného zdraví domnívají, že vliv celkového příjmu tuků na zdraví samotný nedává smysl a že by se mělo zohlednit složení tuků (Cardona et al., 2020). Během skladování mohou biochemické reakce a mikrobiální růst, v důsledku biologických vlastností a chemického složení masa a masných výrobků (nasycené a nenasycené lipidy, bílkoviny, sacharidy, vitamíny a pigmenty), zhoršovat jejich kvalitu (Trabelsi et al., 2019). Mezi hlavní faktory ovlivňující oxidaci lipidů v syrovém mase patří složení mastných kyselin, endogenní prooxidační nebo antioxidační složky a nemasné přísady (antioxidační nebo prooxidační). Sůl (NaCl) je jednou z takových přísad a její prooxidační účinek, v koncentracích 0,5–2,5 %, které se běžně používají v masných výrobcích, je dobře známý (Gheisari et al., 2010).

Význam barvy masa pro přijetí spotřebitelem je rovněž dobře znám. Intenzita barvy svalu je dána celkovým obsahem myoglobinu. Různá barva masa do značné míry souvisí s relativními podíly oxymyoglobinu (jasně červená), myoglobinu (temně červená) a metmyoglobinu (šedohnědá). Stabilita barvy masa je určena udržováním myoglobinu v jeho železnaté okysličené formě. Oxidace myoglobinu na železitý (Fe^{3+}) metmyoglobin je nežádoucí a probíhá postupně během chladírenského skladování čerstvého masa. Mezi faktory, které zvyšují rychlost oxidace myoglobinu a změny barvy masa, patří parciální tlak kyslíku, rychlost spotřeby kyslíku tkáněmi, koncentrace vícemocných kovových iontů, teplota, světlo, pH a přítomná mikroflóra. Mletí masa vystavuje větší povrch masa vzduchu a mikrobiálním kontaminantům, snižuje obsah endogenních intracelulárních redukčních činidel v mase a vede k rychlejším změnám barvy. Různé průmyslové procesy, používané k přípravě masných výrobků s delší trvanlivostí než u čerstvého masa, způsobují nevratné změny ve struktuře a barvě myoglobinu. Například tepelné zpracování denaturuje globin a zvyšuje oxidaci železa na železitou formu, zatímco přidání dusitanů stabilizuje železnatou formu a červenou barvu reakcí s atomem železa v šesté poloze (Carlez et al., 1995).

Cílem této práce bylo analyzovat ve vzorcích mletého masa a masných polotovarů z tržní sítě instrumentálně měřené barevné charakteristiky a vybrané fyzikálně chemické parametry s ohledem na jakost těchto výrobků.

MATERIÁL A METODIKA

K fyzikálně chemickému vyšetření byly zakoupeny různé druhy mletého masa a masných polotovarů. Jednalo se o výrobky běžně dostupné v tržní síti České republiky. Vzorky byly uchovávány dle platné legislativy (Nařízení, 2004). Celkem bylo analyzováno 12 vzorků mletého masa a 12 vzorků masných polotovarů v posledním dni spotřeby. V každé skupině byl zastoupený stejný podíl různých druhů masa. Konkrétně šlo o maso drůbeží (n = 3), vepřové (n = 3), hovězí (n = 3) a mix vepřového a hovězího (n = 3).

Instrumentální hodnocení barvy bylo provedeno pomocí spektrofotometru KonicaMinolta CM-5 (KonicaMinolta, Japonsko). Přístroj byl nastaven na zdroj světla D65 a standardní úhel pozorovatele 10°, měřící štěrbina 8 mm. Kalibrace byla provedena na černou a bílou barvu. Každý vzorek byl měřen 10x na různých místech na řezu výrobku. Měřeny byly parametry L^* - světlost, a^* - červená a b^* - žlutá. Hodnota pH byla měřena v 10 % výluhu pH-metrem WTW pH 340i (WTW GmbH, Německo) s elektrodou Double Pore (Hamilton Bonaduz AG, Švýcarsko). Obsah tuku byl stanoven na přístroji Soxtec™ 2055 (FOSS, Sweden). Obsah kolagenu byl stanoven spektrofotometricky při vlnové délce 550 nm na spektrofotometru GENESYSTM 6 (Thermo Electron Corporation, USA) jako množství 4–hydroxyprolinu. Obsah myoglobinu byl stanoven po extrakci hemových barviv zředěným a okyseleným acetonem spektrofotometricky při 640 nm.

Pro vyhodnocení výsledků byl použit program Statistica 7.1 (StatSoft CZ, Česká republika). Data byla analyzována pomocí ANOVA a následně Tukey HSD testu. Hodnoty P pod 0,05 byly považovány za významné.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Výsledky měření barevných parametrů L^*, a^* a b^* u vzorků mletého masa a masných polotovarů jsou uvedeny v tabulce č. 1. Rozdíl v hodnotách L^* byl významný (P <0,05) pouze mezi hovězím mletým masem a vepřovým masným polotovarem a také mezi hovězím a vepřovým masným polotovarem, který vykazoval nevyšší hodnoty L^*. Mezi ostatními vzorky nebyl zjištěn významný rozdíl (P >0,05). Drůbeží mleté maso mělo nejnižší hodnoty a^*, které se významně lišily od hovězího masa a masného polotovaru a také od mletého masa mix a masného polotovaru mix (P <0,05). V rámci jednotlivých druhů masa nebyly zjištěny rozdíly mezi mletým masem a masným polotovarem v barevných parametrech L^* a a^* (P >0,05). V případě hodnot b^* nebyl u analyzovaných vzorků zjištěn statisticky významný rozdíl (P >0,05). Zatímco barva mletého masa je ovlivněna především druhem masa a použitou výsekovou částí, u masných polotovarů se mohou používat různá barviva, např. z červené ředkve nebo košenila, která do značné míry modifikují přirozenou barvu masa. Carlez et al. (1995) zjistili hodnoty L^* u 21 vzorků hovězího mletého masa v rozmezí od 34,1 do 41,8

(průměrná hodnota = 38,3). Hodnoty a^* a b^* se pohybovaly v rozmezí od 11,3 do 21,6 a od 6,0 do 13,4. Variabilita hodnot L^*, a^* a b^*, vyjádřená jako RSD (relative standard deviation), byla 8,3 %, 16,3 % a 15,8 %. Ačkoli barvu masa může ovlivnit řada faktorů, variabilita barvy byla obecně nižší než variabilita obsahu myoglobinu.

Tabuľka č. 1, Barevné parametry mletého masa a masných polotovarů měřené v systému CIELAB

Druh masa	Typ výrobku	Parametr systému CIELAB		
		L^*	a^*	b^*
Drůbeží	Mleté maso	56,74 ± 0,75^{ab}	6,01 ± 1,29^{a}	15,24 ± 0,40
	Masný polotovar	54,48 ± 3,64^{ab}	7,66 ± 2,04^{ac}	16,26 ± 1,16
Vepřové	Mleté maso	55,02 ± 3,78^{ab}	9,05 ± 0,99^{ac}	16,41 ± 1,42
	Masný polotovar	60,38 ± 5,65^{b}	8,13 ± 0,74^{ac}	15,78 ± 0,45
Hovězí	Mleté maso	47,32 ± 3,97^{a}	16,02 ± 2,47^{b}	17,51 ± 0,74
	Masný polotovar	44,27 ± 7,87^{a}	16,66 ± 1,43^{b}	16,45 ± 3,56
Mix: vepřové, hovězí	Mleté maso	52,53 ± 2,52^{ab}	13,73 ± 0,45^{bc}	18,28 ± 0,41
	Masný polotovar	53,33 ± 4,20^{ab}	12,42 ± 4,65^{bc}	16,30 ± 1,63

$^{a, b, c}$ indexy znamenají statisticky významný rozdíl mezi hodnotami ve sloupcích (P <0,05).

Výsledky měření pH, obsah tuku, kolagenu a myoglobinu u mletého masa a masných polotovarů jsou uvedeny v tabulce č. 2. Nejnižší hodnoty pH byly stanoveny u mletého hovězího masa a u mletého masa mix. Signifikatně vyšší hodnota byla zjištěna pouze u vepřového masného polotovaru (P <0,05). Obsah tuku byl nejnižší u drůbežího masného polotovaru, signifikantně vyšší obsah tuku byl zjištěn u masného polotovaru mix (P <0,05). Mezi ostatními vzorky nebyl statisticky významný rozdíl. Wang et al. (2021) zjistili u hovězích karbanátků mírnou pozitivní korelaci (r = 0,53; P <0,01) mezi obsahem tuku a změnou vizuálního zabarvení od 0. do 7. dne v období vystavení v maloobchodě. Z toho vyplývá, že hovězí karbanátky s vyšším obsahem tuku vykazovaly během vystavení v maloobchodě větší míru viditelných diskolorací. Podobně Shivas et al. (1984) uvedli, že vzorky mletého hovězího masa s 25 % tuku vykazovaly po 5 dnech vystavení v maloobchodě viditelnou změnu barvy rychleji než odpovídající vzorky s 20 % tuku. Podobně Callahan et al. (2019) pozorovali po 7 dnech simulovaného vystavení v maloobchodě rychlejší změnu barvy u vzorků mletého hovězího masa s 25 % tuku než u odpovídajících vzorků s 5 % tuku. Obsah kolagenu se v naší studii pohyboval od 0,87 % (drůbeží mleté maso) do 2,25 % (hovězí masný polotovar), přičemž

tento rozdíl byl jediný významný (P <0,05). Podobné hodnoty obsahu kolagenu u mletého masa na přípravu burgerů (od 1,50 do 2,16 g.100 g^{-1}) uvádí také Cardona et al. (2020). Zajímavé je, že ačkoliv byl obsah myoglobinu v naší práci nejvyšší u hovězích produktů, nebyl rozdíl ve srovnání s ostatními druhy masa a masných polotovarů statisticky významný (P >0,05). Vyšší hodnoty obsahu myoglobinu u hovězího masa odpovídají také vyšším hodnotám parametru a^*. Obsah myoglobinu se mění u mletého vepřového masa v průběhu skladování, kdy s postupující oxidací a denaturací dochází k jeho poklesu (Zareian et al., 2019).

Tabuľka č. 2, Vybrané fyzikálně chemické parametry mletého masa a masných polotovarů

Druh masa	Typ výrobku	pH	Tuk (%)	Kolagen (%)	Myoglobin (mg.g^{-1})
Drůbeží	Mleté maso	6,24 ± 0,21^{ab}	7,07 ± 0,99^{ab}	0,87 ± 0,17^{a}	1,33 ± 0,86
	Masný polotovar	6,06 ± 0,13^{ab}	3,93 ± 1,17^{a}	1,22 ± 0,63^{ab}	1,79 ± 0,85
Vepřové	Mleté maso	5,74 ± 0,14^{ab}	13,40 ± 6,07^{ab}	1,19 ± 0,48^{ab}	1,59 ± 0,41
	Masný polotovar	6,57 ± 0,43^{b}	14,31 ± 7,81^{ab}	1,40 ± 0,24^{ab}	1,76 ± 0,73
Hovězí	Mleté maso	5,66 ± 0,09^{a}	17,50 ± 7,87^{ab}	1,88 ± 0,11^{ab}	3,39 ± 1,08
	Masný polotovar	6,00 ± 0,29^{ab}	15,61 ± 11,56^{ab}	2,25 ± 0,65^{b}	2,88 ± 0,29
Mix: vepřové, hovězí	Mleté maso	5,66 ± 0,19^{a}	18,27 ± 3,74^{ab}	1,61 ± 0,18^{ab}	2,81 ± 0,19
	Masný polotovar	5,85 ± 0,56^{ab}	23,68 ± 3,73^{b}	1,48 ± 0,50^{ab}	1,73 ± 1,01

$^{a, b}$ indexy znamenají statisticky významný rozdíl mezi hodnotami ve sloupcích (P <0,05).

ZÁVĚR

Mleté maso a masné polotovary ve formě „mělněného masa“ patří mezi produkty rychle podléhající jak barevným, tak fyzikálně chemickým změnám. Námi zjištěné rozdíly ve sledovaných parametrech byly převážně nevýznamné (P >0,05) a nebyly zjištěny rozdíly mezi mletým masem a masnými polotovary v rámci jednotlivých druhů masa. Vzhledem k možnosti použití různých přísad, konzervantů a soli u masných polotovarů je jejich doba spotřeby většinou delší než u mletého masa a některé složky mohou maskovat senzorické změny, které klasicky probíhají u mletého masa. U obou výrobků se s výhodou používá také modifikovaná atmosféra plynů k balení, což stabilizuje jejich barvu a prodlužuje údržnost. Na základě zjištění uvedených v práci nelze jednoznačně určit, zda se analyzované mleté maso a masné polotovary liší ve své jakosti. K průkazným závěrům bude potřeba analyzovat širší soubor vzorků.

PODĚKOVÁNÍ

Tato studie byla podpořena grantem č. 216/2025/FVHE Interní grantové agentury Veterinární univerzity Brno.

POUŽITÁ LITERATURA

1. CALLAHAN, Z.D. et al. Evaluating ground beef formulated with different fat sources. In *Meat and Muscle Biology,* ISSN 2575-985X, 2019, vol. 3, no. 1, p. 171–180.
2. CARDONA, M. et al. Perception of fat and other quality parameters in minced and burger meat from Spanish consumer studies. In *Meat Science,* ISSN 0309-1740, 2020, vol. 166, 108138.
3. CARLEZ, A. et al. Changes in colour and myoglobin of minced beef meat due to high pressure processing. In *LWT - Food Science and Technology,* ISSN 0023-6438, 1995, vol. 28, no. 5, p. 528-538.
4. GHEISARI, H.R. et al. Sodium chloride or heme protein induced lipid oxidation in raw, minced chicken meat and beef. In *Czech Journal of Food Science,* ISSN 1805-9317, 2010, vol. 28, no. 5, p. 364-375.
5. NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 853/2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu. In Úřední věstník Evropské unie L 139, 2004, s. 55–205.
6. NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (EU) č. 1169/2011, o poskytování informací o potravinách spotřebitelům, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 a (ES) č. 1925/2006 a o zrušení směrnice Komise 87/250/EHS, směrnice Rady 90/496/EHS, směrnice Komise 1999/10/ES, směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/13/ES, směrnic Komise 2002/67/ES a 2008/5/ES a nařízení Komise (ES) č. 608/2004. In Úřední věstník Evropské unie L 304, 2011, s. 18-63.
7. SHIVAS, S.D. et al. Effects of ascorbic acid on display life of ground beef. In *Journal of Food Protection,* ISSN 0362-028X, 1984, vol. 47, no. 1, p. 11–15.
8. TRABELSI, I. et al. Incorporation of probiotic strain in raw minced beef meat: Study of textural modification, lipid and protein oxidation and color parameters during refrigerated storage. In *Meat Science,* ISSN 0309-1740, 2019, vol. 154, p. 29-36.
9. WANG, Y. et al. The relationship between lipid content in ground beef patties with rate of discoloration and lipid oxidation during simulated retail display. In *Foods,* ISSN 2304-8158, 2021, vol. 10, 1982.

10. ZAREIAN, M. et al. Interrelationship among myoglobin forms, lipid oxidation and protein carbonyls in minced pork packaged under modified atmosphere. In *Food Packaging and Shelf Life*, ISSN 2214-2894, vol. 20, 100311.

Kontaktní adresa: Ing. František Ježek, Ph.D., Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika; E-mail: fjezek@vfu.cz

RYCHLÉ DETEKČNÍ METODY A JEJICH VYUŽITÍ V MONITORINGU HYGIENY PROSTŘEDÍ ZVÍŘAT

RAPID DETECTION METHODS FOR MONITORING ENVIRONMENTAL HYGIENE IN ANIMAL HOUSING

Kaluža Michal, Macháček Miroslav

Ústav ochrany a welfare zvířat a veřejného veterinárního lékařství,
Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1,
612 42 Brno-Královo Pole, Česká republika

ABSTRACT

The aim of this pilot study was to evaluate the potential of luminometry and mobile flow cytometry for monitoring environmental hygiene in animal housing. The advantages and limitations of these methods were assessed under laboratory conditions (using a suspension of *Escherichia coli* CCM 3988 and a model surface contaminated with this suspension) and in field conditions (the floor of a service corridor in a pig facility) during various stages of cleaning and disinfection. Luminometry was tested using two devices: lum. 1: Clean-Trace™ LM1 and lum. 2: EnSure. The correlation (rP) between total ATP measurements and traditional plate cultivation was evaluated. The results confirmed that luminometry provides a rapid method for detecting organic contamination. No statistically significant correlation was found when evaluating the pure bacterial suspension ($p > 0.05$). In field conditions, both luminometers showed a moderate correlation with mesophilic bacterial counts on non-selective agar ($rP1 = 0.610$; $p = 0.02$; $rP2 = 0.601$; $p = 0.02$). Both devices demonstrated comparable detection sensitivity. Strong correlations were confirmed between the values obtained from both luminometers for the bacterial suspension ($rP = 0.853$; $p < 0.01$) and the model surface ($rP = 0.766$; $p < 0.05$). The potential of mobile flow cytometry was assessed using the CytoQuant device (Romer Labs Division Holding GmbH). The results confirmed that mobile flow cytometry enables rapid and accurate quantification of viable microbial cells. In the laboratory, high correlation was observed with mesophilic bacterial counts on non-selective agar for both the bacterial suspension ($rP = 0.931$; $p < 0.01$) and the model surface ($rP = 0.852$; $p < 0.01$). In field measurements, a lower correlation was confirmed ($rP = 0.764$; $p < 0.05$). All measurements with the mobile flow cytometer yielded consistently higher microbial counts (on average by 2.51 log CFU) compared to colony-forming units detected on non-selective media, suggesting the detection of typically non-culturable bacteria. This pilot study confirmed that both luminometry and mobile flow cytometry can be used effectively not only under laboratory

conditions but also in field settings. These findings support their potential to enhance environmental hygiene monitoring and to serve as valuable complements to traditional microbial cultivation.

Key words: luminometry, mobile flow cytometry, plate count method, correlation

ÚVOD

Sledování hygieny prostředí je standardem v potravinářství (Mildenhall and Rankin, 2020). Důležitou roli má monitoring hygieny i v chovech zvířat. Čistota chovného prostředí ovlivňuje u zvířat jejich zdraví, welfare i užitkovost (Heinemann et al., 2020). Vysoké nároky na biologickou bezpečnost lze pozorovat v chovech drůbeže a také prasat, a to zejména na porodnách nebo při výkrmu (Johnson et al., 2024; Laanen et al., 2014). Pro monitoring hygieny prostředí je proto žádoucí mít k dispozici praktickou, rychlou a také spolehlivou metodu (Chancy et al., 2023).

Zlatým standardem pro detekci mikroorganismů jsou plotnové kultivační metody (Yi et al., 2020). V prostředí mohou být vzorky získávány pomocí otisků nebo stěrů sledovaných povrchů (Luyckx et al., 2015). Pro rychlé ověření čistoty prostředí nebo účinnosti provedených dezinfekčních postupů jsou však z pohledu časové náročnosti a dlouho trvající inkubace kultivační metody nepraktické (Chancy et al., 2023). Slabou stránkou je také skutečnost, že z přítomného spektra mikroorganismů jsou klasickou kultivací stanoveny pouze snadno kultivovatelné, zejména aerobní bakterie a plísně (Turner et al., 2010).

V chovech zvířat mají v současnosti významný potenciál rychlé detekční metody pro monitoring čistoty prostředí (Chancy et al., 2023). Mezi tyto metody můžeme zařadit luminometrii a také průtokovou cytometrii.

Luminometrie umožňuje nespecifickou detekci mikrobiálního znečištění. Funguje na principu bioluminiscenčního měření ATP (adenosintrifosfát). Pro vlastní měření je nezbytný substrát luciferin a enzym luciferáza, který katalyzuje bioluminiscenční reakci luciferinu a ATP za přítomnosti kyslíku. Výsledkem je emitace světla. Intenzita vyzářeného světla se vyjadřuje v relativních světelných jednotkách (Relative Light Units - dále RLU) a je přímo úměrná množství uvolněné ATP z buněk (Mildenhall and Rankin, 2020). ATP je součástí všech buněk, a to jak živočišných, rostlinných, tak mikrobiálních. Luminometrie je tak primárně testem organického znečištění, které může být z větší či menší míry mikrobiálního původu, a to vždy v závislosti na charakteru vyšetřované matrice (Yi et al., 2020). Široké využití má luminometrie zejména v praxi potravinářských provozů a také ve zdravotnictví (Cannon et al., 2022). V zemědělství se s luminometrií můžeme setkat na drůbežích jatkách (Rodrigues et al., 2018). V samotných chovech zvířat je to monitoring čistících a dezinfekčních postupů u brojlerů nebo

prasat (Luyckx et al., 2015; Yi et al., 2020). Uplatnění však může nalézt i při sledování hygieny krmení, např. u telat (Buczinski et al., 2022).

Průtoková cytometrie umožňuje velmi přesné a rychlé stanovení mikrobiálních buněk (Poscente et al., 2024). Pro měření v terénu může být v budoucnosti využitelný mobilní průtokový cytometr, který místo optických a laserových systémů využívá impedance a střídavého proudu o různých frekvencích, což umožňuje detekovat a počítat neporušené buňky a neživé částice (Bertelsen et al., 2023). Na rozdíl od luminometrie vlastní měření cytometrem není ovlivněno působením některých složek z dezinfekčních prostředků (jež jsou směsí různých látek) ani teplotou, což může zvýšit potenciál této metody pro její uplatnění v monitoringu hygieny prostředí. K dispozici je mobilní průtokový cytometr CytoQuant společnosti Romer Labs Division Holding GmbH, který je primárně určen pro potravinářské a jatečné provozy. V rámci studií Romer Labs byly zveřejněny možnosti praktického využití tohoto přístroje v potravinářství a validace s tradičními plotnovými metodami detekce mikroorganismů (Romer Labs Division Holding GmbH, 2025, 2022a,b). Stále ale nebyly provedeny studie hodnotící využití tohoto přístroje v chovech zvířat.

Cílem této dílčí studie bylo posoudit možnosti využití luminometrie a mobilní průtokové cytometrie pro hodnocení hygieny prostředí v chovech zvířat.

MATERIÁL A METODIKA

Možnosti využití luminometrie a mobilní průtokové cytometrie byly ověřeny nejprve v laboratorních podmínkách a dále pak v terénu, a to v chovu prasat.

Laboratorní monitoring

Čistá sbírková kultura *Escherichia coli* (E. coli CCM 3988) o zákalu 0,5 MFU byla v mikrobiologické laboratoři Ústavu ochrany a welfare zvířat a veřejného veterinárního lékařství VETUNI Brno 8krát rozředěna desítkovým ředěním (1 ml suspenze + 9 ml sterilního fyziologického roztoku). Takto byla získána série ředění s predikcí koncentrace buněk od 10^8 do 10^0 KTJ/1 ml. Z definované série ředění sbírkové kultury byly z jednotlivých koncentrací odebrány vzorky na vyšetření luminometrem, mobilním průtokovým cytometrem a mikrobiologickou kultivaci.

V laboratoři byly dále simulovány podmínky kontaminace povrchu. Vysterilizovaný kus podlahové krytiny z PVC byl umístěn do laminárního boxu. Na plochu 10 x 10 cm byly aplikovány jednotlivé vzorky z připravené série ředění (objem vzorku 0,5 ml). Po 30 minutách (po zaschnutí inokula) byly inokulované plochy připraveny pro vyšetření luminometrem, průtokovým cytometrem a pro mikrobiologickou kultivaci.

Terénní monitoring

Terénní měření bylo realizováno v chovu prasat na porodně (podlaha v provozní chodbě). Vzorky byly odebírány v následujících krocích čistících a sanitačních úkonů:

1. po vyskladnění zvířat (den: 0),
2. před dezinfekcí (den: 3),
3. po dezinfekci – T: 1,5 hod (den: 3),
4. po dezinfekci – T: 3 hod (den: 3),
5. před fogací (den: 6),
6. po fogaci – T: 1,5 hod (den: 6),
7. po fogaci – T: 3 hod (den: 6).

Podmínky měření

Měření bylo prováděno jedním pracovníkem, který postupoval dle stanovených metodik výrobců (3M, 2013; Hygiena, 2024; (Romer Labs Division Holding GmbH, 2022a). Při hodnocení čisté sbírkové kultury *Escherichia coli* byly vzorky vyšetřovány z připravené série ředění. V ostatních případech (modelový povrch v laboratoři a terénní monitoring) byly prováděny stěry z definované plochy (10 x 10 cm).

Podmínky luminometrie

Pro měření byly zvoleny 2 různé typy přístrojů:

- Luminometr č. 1: luminometr Clean-Trace™ LM1 (3M Health Care, USA)
- Luminometr č. 2: luminometr EnSure (Hygiena LLC, USA).

Luminometry byly použity pro měření celkového ATP. Pro luminometr Clean-Trace™ LM1 byly využity vzorkovnice 3M Clean-Trace Water Plus-Total ATP a pro stěrovou metodu CleanTrace Surface ATP Test Swab UXL100. Pro luminometr EnSure (Hygiena LLC, USA) byly využity vzorkovnice AquaSnap Total a dále pro stěrovou metodu stěrové tampóny Ultrasnap. Po odběru byly vzorky v odběrovkách smíseny s činidlem (dle metodiky výrobce) a změřeny příslušnými luminometry. Získané výsledky byly vyjádřeny v RLU.

Podmínky průtokové cytometrie

Pro měření byl využit mobilní průtokový cytometr (CytoQuant, Romer Labs), který umožňuje stanovení živých buněk a neživých částic. Vzorky série ředění sbírkového kmene byly odebrány v objemu 1 ml do prázdné zkumavky (Empty Vial). Stěry z modelového povrchu a z prostředí byly odebrány z plochy 100 cm^2 tampónem a následně vloženy do zkumavky se speciálním vodivým roztokem (Swab Kit), který umožňuje suspendaci bakterií. Po promíchání byly zkumavky vloženy do přístroje, ve kterém dojde k nasátí vyšetřovaného vzorku skrze dno do systému průtokového cytometru, kde následně proběhne vlastní odečet buněk procházejících kolonou.

Metody a podmínky mikrobiologické kultivace

Tradiční kultivace byla provedena na neselektivním krevním agaru – dále jen KA (pro stanovení CPM při 36°C) a dále na selektivním agaru pro E-coli (HiCrome M1295I- dále jen HC).

Ze série ředění sbírkového kmene byly inokulovány vzorky o objemu 0,5 ml. Z modelového povrchu a v terénu byly prováděny stěry z plochy 100 cm^2. Při stěru z modelového povrchu byl stěrový tampón zvlhčen ve zkumavce s fyziologickým roztokem (objem: 4 ml) a po stěru byl do ní vložen zpět. Takto připravený vzorek byl následně protřepán a inokulován na petriho misky (0,5 ml). Při terénním monitoringu byly stěrové tampóny navlhčeny v transportním médiu a po setření byly vloženy do zkumavek s 4 ml tohoto transportního média (enzymatický kaseinový hydrolyzát, NaCl, glukóza a kvasniční autolyzát). Po odběru byly zkumavky uloženy v chladicím boxu (teplota: 4 °C) a následně transportovány do laboratoře. Před inokulací na petriho misky byl obsah tampónu vytřepán do transportního média a následně byl odebraný vzorek inokulován na petriho misky (0,5 ml). Připravené vzorky byly inkubovány v termostatech za stanovených podmínek: KA (37 °C: 24 h), HC agar (44 °C: 24 h). Po inkubaci vzorků byl proveden odečet kolonií na manuální počítačce kolonií a dále bylo provedeno stanovení KTJ/100 cm^2 u jednotlivých vzorků. Jako přerostlé byly označeny Petriho misky s nárůstem nad 1000 KTJ.

Statistická analýza

Získaná data byla analyzována za použití statistického programu Unistat for Excel 6.5. (Unistat Ltd., GB). U dat byla posouzena normalita s využitím Shapiro-Wilkova a Kolmogorovův – Smirnova testu (zjištěna nerovnoměrná distribuce). Sledována byla závislost naměřených hodnot pomocí luminometrů a mobilního průtokového cytometru s výsledky bakteriální kultivace. Pro stanovení závislosti byl využit Spearmanův korelační koeficient (rP)

z důvodu dat s nenormálním rozdělením. Pro stanovení síly významnosti byla využita následující škála hodnocení korelace dle Hinkle et al. (2003): zanedbatelná (0 – < 0,3), nízká (0,3 – < 0,5), střední (0,5 – < 0,7), vysoká (0,7 – < 0,9) a velmi vysoká korelace (0,9–1). Pro logaritmické vyjádření výsledků počtu kolonií byla provedena úprava dat s přičtením 1 KTJ pro vyloučení nulových hodnot. Pro porovnání výsledků průtokové cytometrie a tradiční mikrobiální kultivace z pohledu počtu stanovených mikroorganismů v KTJ byl využit Chí kvadrát test pro hodnocení statistické významnosti v kontingenční tabulce 2x2. Při četnostech > 5 se použila Yatesová korekce, při četnostech < 5 byl využit Fisherův přesný test.
V této studii byla použita hladina významnosti $p < 0,05$ (statisticky významný rozdíl) a $p < 0,01$ (statisticky vysoce významný rozdíl).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Rychlé detekční metody nacházejí své uplatnění v potravinářských provozech, ale i v chovech zvířat, a to pro kontrolu čistících a dezinfekčních postupů (Johnson et al., 2024). Tyto metody mohou být přínosem pro získání výsledků v reálném čase, což může přispět k provedení zásahů ke zlepšení úrovně čistoty prostředí. Pro jejich správné využití je však žádoucí znát i jejich možnosti měření, včetně jejich výhod a nevýhod, aby mohly být získané výsledky odpovídajícím způsobem interpretovány.

V této dílčí studii byly posouzeny možnosti využití vybraných rychlých detekčních metod v laboratorních a terénních podmínkách. Nejprve byla u těchto metod ověřena schopnost měřit čistou bakteriální kulturu v laboratorních podmínkách (tabulka č. 1). Následně byla provedena simulace terénních podmínek, a to kontaminací vysterilizovaného povrchu čistou bakteriální kulturou (tabulka č. 2). Po ověření možnosti měření v laboratorních podmínkách byly tyto metody ověřeny v terénu, a to v prostředí chovu prasat (tabulka č. 3).

Tabulka č. 1, Výsledky měření čisté bakteriální kultury v laboratoři

Metody měření	**Tradiční kultivace**		**Průtoková cytometrie**	**Luminometr č. 1**	**Luminometr č. 2**
Počet buněk v suspenzi	CPM při 36 °C (KA)	E-coli (HC)	Počet živých buněk	Celkové ATP	
	Log KTJ			RLU	
10^8	*přerostlé*	*přerostlé*	5,20	5 826,00	4 515,00
10^7	*přerostlé*	*přerostlé*	4,96	616,00	406,00
10^6	*přerostlé*	2,85	4,60	47,00	38,00
10^5	2,48	0	4,23	10,00	4,00
10^4	1,85	1,04	4,00	36,00	5,00
10^3	1,38	0	3,70	2,50	1,00
10^2	0,60	0	3,70	3,00	2,00
10^1	0	0	3,70	2,00	2,00
10^0	0,95	0	3,76	3,50	0

Tabulka č. 2, Výsledky měření kontaminace modelového povrchu v laboratoři

Metody měření	**Tradiční kultivace**		**Průtoková cytometrie**	**Luminometr č. 1**	**Luminometr č. 2**
Počet buněk v suspenzi	CPM při 36 °C (KA)	E-coli (HC)	Počet živých buněk	Celkové ATP	
	Log KTJ			RLU	
10^8	*přerostlé*	0,48	5,43	6 016,00	3 895,00
10^7	*přerostlé*	1,51	4,73	439,00	434,00
10^6	2,90	2,58	3,74	892,00	9,00
10^5	2,67	1,54	3,70	21,00	5,00
10^4	1,26	-	4,00	40,00	9,00
10^3	-	-	3,70	21,00	2,00
10^2	-	-	3,70	36,00	5,00
10^1	-	-	3,70	40,00	2,00
10^0	-	-	3,70	24,00	1,00

Tabulka č. 3, Výsledky měření kontaminace provozní chodby (podlaha) v terénu

Metody měření	**Tradiční kultivace**		**Průtoková cytometrie**	**Luminometr č. 1**	**Luminometr č. 2**
Fáze odběru vzorků	CPM při 36 °C (KA)	E-coli (HC)	Počet živých buněk	Celkové ATP	
	Log KTJ			RLU	
Po vyskladnění	5,08	2,62	6,68	8 445,00	7 849,00
Před dezinfekcí	4,39	3,67	6,63	112 560,00	4 329,00
Dezinfekce T 1,5	2,65	0,30	5,74	4 777,00	1 472,00
Dezinfekce T 3,0	0	0	5,42	3 267,00	1 408,00
Fogace T 0	0,68	0	-	51,00	1 832,00
Fogace T 1,5	0,68	0	4,32	3 825,00	927,00
Fogace T 3,0	0	0	3,70	642,00	656,00

Luminometrie a její využití pro monitoring hygieny prostředí

Hlavní význam luminometru spočívá ve stanovení organického znečištění, kdy výsledky RLU poukazují na množství ATP, které je přítomno v daném vyšetřovaném vzorku. Je nutné uvést, že pouze určitá část stanoveného ATP může být mikrobiálního původu (Lindell et al., 2018). Výsledky získané luminometrií se proto nemusí shodovat s výsledky dosaženými bakteriální kultivací, jak uvádějí Bakke a Suzuki (2018).

V této studii byla nejprve ověřena schopnost luminometru detekovat čistou bakteriální kulturu (E. coli: CCM 3988), která byla připravena v koncentracích od 10^8 do 10^0 KTJ/1 ml (tabulka č. 1). Měření bylo provedeno využitím dvou luminometrů od různých výrobců. Ze získaných výsledků byla posouzena závislost mezi naměřenými hodnotami jednotlivými luminometry a výsledky kultivace sbírkového kmene E-coli na neselektivním a selektivním agaru. Neselektivní kultivace byla provedena na KA, selektivní stanovení bylo provedeno na HC agaru. Výsledky ukázaly, že mezi hodnotami naměřenými luminometry (RLU) a počtem kolonií vyrostlých na neselektivním a selektivním agaru (KTJ) nebyla zjištěna statisticky významná závislost ($p > 0,05$). Síla korelace rP byla nízká až střední s výsledky na neselektivním agaru (0,314; 0,577) a střední s výsledky na selektivním agaru (0,655; 0,696). Výsledky této studie potvrzuji závěry Turner et al. (2010), kteří rovněž dospěli k závěru, že pro

detekci čisté bakteriální kultury má metoda měření ATP nízkou citlivost, jak pro grampozitivní tak pro gramnegativní bakterie.

V laboratoři byl dále prováděn monitoring celkového ATP na vysterilizovaném povrchu PVC (tabulka č. 2). Výsledky potvrdily statisticky významnou vysokou závislost mezi naměřenými hodnotami luminometru č. 2 (RLU) a počtem kolonií (KTJ) vyrostlých na neselektivním agaru ($rP = 0,783$; $p < 0,05$). Pozitivní korelaci mezi měřením ATP a mikrobiální kultivací zmiňují ve svých studiích i Buczinski et al. (2022). Důvodem silné korelace v naší studii může být skutečnost, že na daném modelovém povrchu byly přítomny pouze mikroorganismy bez dalších organických nečistot, které by zvyšovaly hladinu ATP (povrch byl před inokulací důkladně ošetřen a vysterilizován). Statisticky významná korelace s bakteriální kultivací (neselektivní agar) však nebyla potvrzena pro luminometr č. 1 ($rP = 0,428$; $p > 0,05$). Rovněž nebyla potvrzena korelace ($p > 0,05$) mezi výsledky luminometrů (RLU) a výsledky počtu kolonií (KTJ) vyrostlých na selektivním agaru ($rP_1 = 0,276$; $rP_2 = 0,543$).

V terénních podmínkách je nutné zohlednit přítomnost dalších organických nečistot (zbytky podestýlky, krmiva, trusu, moči, případně i krve), které mohou detekční schopnost luminometrie ovlivnit, jak uvádějí Turner et al. (2010). V terénu byly vzorky odebírány na porodně prasat, a to v provozní chodbě v průběhu čistících a dezinfekčních postupů (tabulka č. 3). Posouzena byla závislost výsledků celkového ATP v RLU měřeného luminometry s výsledky CPM narostlých na neselektivním agaru (KA). Výsledky potvrdily statisticky významnou střední závislost mezi naměřenými hodnotami luminometru č. 1 a 2 (RLU) a počtem kolonií (KTJ) CPM vyrostlých na KA ($rP_1 = 0,610$; $p = 0,02$; $rP_2 = 0,601$; $p = 0,02$). Ve srovnání s výsledky z laboratoře je zřejmé, že korelace je slabší. To potvrzují i Yi et al. (2020) a Johnson et al. (2024), kteří sledovali možnosti praktického použití luminometrie v porodních kotcích. Z výsledků této studie je tak zřejmé a potvrzuje se, že luminometr nedetekuje pouze mikrobiální ATP, ale veškerou ATP z prostředí. Na rozdíl od laboratorních podmínek je v terénu závislost mezi hodnotami celkového ATP a výsledky bakteriální kultivace snížena v důsledku přítomného organického znečištění. Tyto poznatky mohou přispět k lepšímu pochopení významu měření samotnými luminometry.

Detekční citlivost luminometrů a možné limitace dosažených výsledků

V závislosti na použitém luminometru, mohou být naměřené hodnoty RLU odlišné. Přístroje se mohou lišit detekční citlivostí (Johnson et al., 2024; Mildenhall and Rankin, 2020). Z tohoto důvodu je tak pro každý přístroj vždy nutné stanovit hodnotící škálu, podle které budeme naměřené hodnoty posuzovat (Hygiena, 2024; 3M, 2013). Rozdíly v naměřených hodnotách však ještě neznamenají, že mezi hodnotami není přítomna závislost. Výsledky této

studie ukázaly, že použité přístroje vykazovaly přímou závislost mezi dosaženými výsledky, a to při hodnocení suspenze bakteriálního kmene ($rP = 0,853$; $p < 0,01$) i modelového povrchu ($rP = 0,766$; $p < 0,05$). Při terénním měření nebyla závislost dosažených výsledků potvrzena. Oba přístroje tak měří s obdobnou citlivostí, ale v odlišné škále.

Důležitou limitací, kterou je nutné brát v úvahu při využívání luminometrie pro monitoring hygieny prostředí je skutečnost, že získané výsledky luminometry v RLU přímo nevypovídají o mikrobiální kontaminaci daného vzorku. V případě potvrzených korelací s výsledky tradiční kultivace mohou tyto výsledky v RLU poukazovat pouze na vyšší míru mikrobiální zátěže v dané matrici bez možnosti bližší kvantifikace. Další limitací je skutečnost, že výsledky měření luminometrem mohou být negativně ovlivněny působením některých složek čistících a dezinfekčních přípravků, jak je patrné z tabulky č. 3. Výsledkem může být útlum bioluminiscenční reakce (Turner et al. 2010). Výrazné snížení hodnot RLU bylo možné sledovat mezi fázemi před a po dezinfekci, a to u obou přístrojů. Výsledky měření luminometry v dalších fázích dezinfekce poukazují na stálou přítomnost ATP ve vzorcích, kdy se tak organické znečištění nepodařilo na provozní chodbě zcela eliminovat. Přítomná míra organického znečištění po dezinfekci však nemusí nijak vypovídat o přítomnosti mikrobiální kontaminace. Luminometrie je tak praktickým nástrojem doplňujícím běžnou mikrobiální kultivaci.

Mobilní průtoková cytometrie a její využití pro monitoring hygieny prostředí

Nevýhodou tradičních plotnových kultivačních metod je jejich časová náročnost (Chancy et al., 2023). V případě, že je nutné ověřovat účinnost provedené dezinfekce, je nepraktické čekat na výsledky bakteriální kultivace. Využití průtokové cytometrie umožňuje získat výsledky mnohem rychleji. Výhodou je, že na rozdíl od mikrobiální kultivace stanovuje všechny přítomné mikroorganismy v daném vzorku bez ohledu na jejich růstové schopnosti , jak je tomu v kultivačních médiích. Výsledkem jsou tak vždy vyšší hodnoty zjištěných buněk oproti tradičním metodám kultivace. U běžných přístrojů je však stále nutný přesun vzorků do laboratoře. Alternativou tak může být použití přenosného průtokového cytometru, který je v současnosti na trhu. Pro použitý přístroj CytoQuant byly provedeny srovnávací studie s tradiční kultivací fluorescenčním průtokovým cytometrem a fluorescenční mikroskopií na modelových organismech (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923l). Výsledky potvrdily, že CytoQuant umožňuje poskytnout srovnatelné výsledky při kvantifikaci bakterií ve srovnání s běžně využívanými metodami (Romer Labs Division Holding GmbH, 2022b).

Výsledky této studie ukázaly, že mobilní průtokový cytometr má potenciál pro využití jak při laboratorním tak terénním monitoringu. Při laboratorním monitoringu byla potvrzena statisticky vysoce významná korelace s výsledky CPM stanovenými na KA, a to při hodnocení suspenze bakteriálního kmene ($Rp = 0,931$; $p < 0,01$). Tato závislost byla velmi vysoká. O něco nižší závislost byla potvrzena při hodnocení modelového povrchu ($rP = 0,852$; $p < 0,01$). V případě srovnání dat průtokového cytometru s výsledky selektivního agaru byla korelace nižší, a to při hodnocení suspenze bakteriálního kmene ($Rp = 0,868$; $p < 0,01$). Při posouzení kontaminace modelového povrchu statisticky významná závislost potvrzena nebyla ($Rp = 0,400$; $p > 0,05$). V laboratorních podmínkách se tak potvrdilo, že oba způsoby vyšetření (alikvot s definovanou koncentrací buněk) i stěr z umělého kontaminovaného povrchu prokazují u mobilního průtokového cytometru vysokou závislost s výsledky tradiční kultivace.

Dále bylo posouzeno terénní měření. Z výsledků je patrné, že při monitoringu v terénu může být ve vzorku vyšší míra nekultivovatelných bakterií, což snižuje celkový záchyt mikroorganismů tradičními metodami kultivace. Mobilní průtokový cytometr však stále měří všechny přítomné buňky ve vzorku. To je důvod, proč byla zjištěna o něco nižší korelace mezi výsledky mobilního průtokového cytometru a počtu buněk stanovených na neselektivním KA ve sledované provozní chodbě ($rP = 0,764$; $p < 0,05$).

Určitou nevýhodou mobilního průtokového cytometru je skutečnost, že nedokáže rozlišit konkrétní skupiny mikroorganismů na rozdíl od tradičních průtokových cytometrů (Marcos-Fernández et al., 2023). Díky potvrzené korelaci s neselektivními médii tradiční kultivace však poskytuje mobilní průtokový cytometr významný nástroj pro hodnocení míry mikrobiální zátěže přímo v terénu, což lze aplikovat při čistících a dezinfekčních postupech.

Detekční citlivost mobilního průtokového cytometru ve srovnání s tradiční kultivací

Z výsledků bakteriální kultivace je zřejmé, že v případě posuzování vzorků odebíraných během čistících a dezinfekčních úkonů dochází k nulovému nebo velmi nízkému nárůstu KTJ. Příčinou může být účinně provedená sanace daných prostor.

Dále byly porovnány výsledky mobilní průtokové cytometrie s výsledky CPM stanovených běžnou kultivací na KA, a to v laboratoři i v terénu. Potvrzeny byly statisticky vysoce významné rozdíly v počtu živých buněk (průtokový cytometr) a KTJ (kultivace) ($p < 0,01$). Bylo posouzeno do jaké míry se výsledky získané průtokovým cytometrem liší od výsledků tradiční kultivace. Při porovnání výsledků měření suspenze bakteriálního kmene se ukázalo, že na neselektivním KA je stanoveno v průměru o 2,51 log KTJ (33,48 %) méně než živých buněk stanovených průtokovým cytometrem. Obdobná byla situace v případě modelového povrchu, kdy se tradiční kultivací na neselektivním médiu prokázalo o 2,77 log

KTJ (35,14 %) méně než při stanovení buněk průtokovým cytometrem. Dále byly posouzeny výsledky z terénu po mechanické očistě, a to před dezinfekcí, aby se vyloučila přítomnost silného organického znečištění (Luyckx et al. 2015). Vyšší CPM bylo detekováno rovněž průtokovým cytometrem, a to o 2,24 log KTJ (33,79 %) ve srovnání s CPM stanoveným na KA (4,39 log KTJ). Z výsledků je zřejmé, že reálné počty stanovených buněk průtokovým cytometrem a tradiční kultivací se liší navzdory potvrzeným korelacím. Příčinu lze hledat v kultivovatelnosti bakterií na plotnových metodách, kdy ne všechny bakterie porostou na vybraných médiích (Turner et al., 2010). Mobilní průtoková cytometrie zaznamenala při měření na bakteriální kultuře, modelovém povrchu a v terénu průměrně o 2,51 log KTJ vyšší hodnoty ve srovnání s CPM na neselektivním KA. Odlišné hodnoty vyžadují optimalizaci, kdy je nutné při posuzování výsledků stanovit hodnotící škálu, která bude uplatňována v daném provozu (Romer Labs Division Holding GmbH, 2022a).

ZÁVĚR

Tato dílčí studie byla zaměřena na posouzení potenciálu luminometrie a mobilní průtokové cytometrie pro monitoring hygieny prostředí zvířat. Obě rychlé detekční metody se ukázaly být uplatnitelné nejen v laboratorních podmínkách, ale i v terénu. Při analýze získaných výsledků je však nutné znát možnosti a výhody a nevýhody těchto metod. Tato studie potvrzuje, že luminometrie představuje metodu rychlého ověření míry organického znečištění, které může zahrnovat i mikrobiální znečištění. To však nelze skrze hodnoty RLU nijak kvantifikovat. Navzdory skutečnosti, že se luminometry používají v monitoringu čistících a sanitačních úkonů, je nutné brát v úvahu možnost zkreslených výsledků, a to v důsledku působení dezinfekčních prostředků na bioluminiscenční reakci. Při aplikaci luminometrie je nutné zvažovat i různou detekční citlivost přístrojů. Pro každý přístroj je tak potřeba stanovit kritické limity. Mobilní průtokový cytometr poskytuje rychlé získání přehledu o míře mikrobiální kontaminace. Tato studie potvrdila závislost naměřených hodnot použitým průtokovým cytometrem s hodnotami CPM stanovenými na neselektivním krevním agaru, a to v laboratorních i terénních podmínkách. Na rozdíl od luminometrie není měření ovlivněno působením dezinfekčních prostředků. Za všech sledovaných podmínek byly stanovené počty živých buněk cytometrem vyšší ve srovnání s CPM na neselektivních médiích, což poukazuje na skutečnost, že průtokový cytometr stanovuje všechny živé buňky bez ohledu na jejich kultivovatelnost. Nevýhodou tohoto přístroje je nemožnost identifikace konkrétních skupin mikroorganismů. Oproti stolním cytometrům, představuje mobilní verze praktický nástroj pro kvantifikaci mikroorganismů přímo v terénu. Obě sledované detekční metody přinášejí do monitoringu hygieny prostředí efektivnější a rychlejší postupy vyšetření čistoty prostředí.

Měření organického znečištění luminometrem nebo přímá detekce živých buněk a neživých částic cytometrem poskytuje komplexní obraz o hygieně prostředí, který může být v případě zjištěné kontaminace ověřen tradičními plotnovými metodami. Ty prozatím zůstávají zlatým standardem pro analýzu mikrobiální kontaminace prostředí.

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bychom rádi poděkovali:

Ing. Vojtěch Kabrhel (ADDICOO GROUP s.r.o., Sanitace potravinářských provozů a farem) za zajištění vstupu do chovu prasat, zapůjčení luminometru Clean-Trace™ LM1 a spolupráci při odebírání vzorků pomocí luminometrů.

Tato práce byla financovaná grantem ITA VETUNI 2025ITA25 (Projekt Interní tvůrčí agentury Veterinární univerzity Brno č. 2025ITA25).

POUŽITÁ LITERATURA

1. 3M, 2013: Product Instructions UXL100. [online]. [vid. 23. 4. 2025]. Dostupné z: https://www.scientificlabs.co.uk/handlers/libraryFiles.ashx?filename=Manuals_F_FSA1094_B.pdf
2. BAKKE, M. et al. Development of a Novel Hygiene Monitoring System Based on the Detection of Total Adenylate (ATP+ADP+AMP). In *Journal of Food Protection* 2018, vol. 81, p. 729–737.
3. BERTELSEN, C.V. et al. Using Impedance Flow Cytometry for Rapid Viability Classification of Heat-Treated Bacteria. In *ACS Omega* 2023, vol. 8, p. 7714–7721.
4. BUCZINSKI, S. et al. Use of ATP luminometry to assess the cleanliness of equipment used to collect and feed colostrum on dairy farms. In *Journal of Dairy Scienc*, 2022, vol. 105, p. 1638–1648.
5. CANNON, J.L. et al. Hygienic monitoring in long-term care facilities using ATP, crAssphage, and human noroviruses to direct environmental surface cleaning. In *American Journal of Infection Control* 2022, vol. 50, p. 289–294.
6. CHANCY, A. et al. Standardization and validation of ATP luminometry as a diagnostic tool to assess the cleanliness of feeding equipment in preweaning calves. In *Journal of Dairy Science* 2023, vol. 106, p. 6263–6274.
7. HEINEMANN, C. et al. Hygiene management in newborn individually housed dairy calves focusing on housing and feeding practices. In *Journal of Animal Science* 2020, vol. 99.

8. HINKLE, D.E. et al. Applied Statistics for the Behavioral Sciences, 2003 Boston, Mass., (etc.): Boston: Houghton Mifflin Co. 84-87 pp.
9. HYGIENA, 2024. ATP Monitoring. [online]. [vid. 23. 4. 2025]. Dostupné z: https://www.hygiena.com/hygiene-monitoring
10. JOHNSON, D.C. et al. Evaluation of ATP bioluminescence for rapid determination of farrowing room cleanliness after pressure washing at a commercial sow farm. In *Translational Animal Science* 2024, vol. 8.
11. LAANEN, M. et al. Pig, cattle and poultry farmers with a known interest in research have comparable perspectives on disease prevention and on-farm biosecurity. In *Preventive Veterinary Medicine* 2014, vol. 115, p. 1–9.
12. LINDELL, I.C. et al. Adenosine triphosphate bioluminescence for hygiene testing of rubber liners and tubes on dairy farms. In *Journal of Dairy Science* 2018, vol. 101, p. 2438–2447.
13. LUYCKX, K. et al. Comparison of sampling procedures and microbiological and non-microbiological parameters to evaluate cleaning and disinfection in broiler houses. In *Poultry Science* 2015, vol. 94, p. 740–749.
14. MARCOS-FERNÁNDEZ, R. et al. Convergence of flow cytometry and bacteriology. Current and future applications: a focus on food and clinical microbiology. In *Critical Reviews in Microbiology* 2023, vol. 49.
15. MILDENHALL, K.B. - RANKIN, S.A. Implications of Adenylate Metabolism in Hygiene Assessment: A Review. In *Journal of Food Protection* 2020, vol. 83, p. 1619–1631.
16. POSCENTE, V. et al. Flow cytometry: Unravelling the real antimicrobial and antibiofilm efficacy of natural bioactive compounds. In *Journal of Microbiological Methods* 2024, vol. 222.
17. RODRIGUES, L.B., et al. ATP-bioluminescence and conventional microbiology for hygiene evaluation of cutting room surfaces in poultry slaughterhouse. In *Acta Scientiae Veterinariae* 2018, vol. 46.
18. ROMER LABS DIVISION HOLDING GMBH, 2022a. Revolution or Mere Evolution? Flow Cytometry and Verification of Cleaning and Disinfection in Food Manufacturing Facilities [online]. [vid. 23. 4. 2025]. Dostupné z: https://www.romerlabs.com/en/library/knowledge/detail/revolution-or-mere-evolution
19. ROMER LABS DIVISION HOLDING GMBH, 2022b. Why you may not be using the best surface cleaning verification solution: Introducing CytoQuant® [online]. [vid. 23.

4. 2025]. Dostupné z: https://www.rapidmicrobiology.com/news/why-you-may-not-be-using-the-best-surface-cleaning-verification-solution-introducing-cytoquant

20. ROMER LABS DIVISION HOLDING GMBH, 2025. Real-Time Microbial Testing for the Food Industry: Advancing Impedance Flow Cytometry with CytoQuant® [online]. [vid. 23. 4. 2025]. Dostupné z: https://www.romerlabs.com/en/library/knowledge/detail/real-time-on-site-microbial-testing-with-impedance-flow-cytometry-five-key-benefits-and-industry-use-cases
21. TURNER, D.E. et al. Efficacy and Limitations of an ATP-Based Monitoring System. In *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 2010, vol. 49, p. 190–195.
22. Yi, S.-W. et al. Evaluation of adenosine triphosphate testing for on-farm cleanliness monitoring compared to microbiological testing in an empty pig farrowing unit. In *Journal of Animal Science and Technology* 2020, vol. 62, p. 682–691.

Kontaktní adresa: Kaluža Michal, Department of Animal Protection and Welfare and Veterinary Public Health, University of Veterinary Sciences Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno-Královo Pole, Czech Republic; E-mail: kaluzam@vfu.cz

ORTUŤ V RYBÁCH AKO RIZIKOVÝ FAKTOR ZDRAVIA

MERCURY IN FISH AS A HEALTH RISK FACTOR

Kimáková Tatiana[1], Megyesy Eftimová Zuzana [2]

[1]Ústav verejného zdravotníctva a hygieny, Univerzita P. J. Šafárika v Košiciach, Lekárska fakulta, Šrobárova 2, 041 08 Košice, Slovenská republika

[2]Katedra hygieny a technológie potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

Mercury is a major contaminant, which in the environment, and thus also in the food is a result of both the natural and the anthropogenic processes. Despite all the positives associated with fish consumption, studies in the literature still point to high levels of undesirable chemicals in fish bodies, particularly heavy metals, mercury. The study was focused on monitoring the presence of mercury in fish and fish products (n=350). The results were evaluated according to existing domestic norms. To calculate the concentration of mercury in some commodities we used the analytic method for stating mercury by method of fireless atomic absorption spectrometry AMA 254. Out od 350 samples 190 samples (54 %) were in the in limit, 160 (46 %) samples were above the limit 0.5 mg.kg -1 Hg. The numerical values of mercury detected ranged from 0.08942 mg.kg -1 Hg to 3.98692 mg.kg -1 Hg. In particular, higher concentrations of mercury, its most toxic organic form, methylmercury, are found in fish and fish products. For this reason, it is important to monitor the mercury content in the tissues of both marine and freshwater animals and their products.

Key words: mercury, fish, health, environment.

ÚVOD

Významnou zložkou potravy najmä v prímorských štátoch a na ostrovoch tvoria ryby a plody mora. Prvú hypotézu o vplyve vysokej konzumácie rýb a morských cicavcov na nízky výskyt srdcovo cievnych ochorení grónskych Eskimákov publikovali v roku 1969 dvaja dánski lekári H. O. Bang a J. Dyerberg. Odborná literatúra v súčasnosti registruje viac ako 7000 vedeckých článkov a 900 epidemiologických štúdií o význame rýb vo výžive človeka a v prevencii niektorých ochorení. Napriek všetkým pozitívam, spojeným s konzumáciou rýb, sa v odbornej literatúre stále častejšie stretávame s prácami, ktoré upozorňujú na vysoký obsah nežiadúcich chemických látok v telách rýb, najmä ťažkých kovov a polychlórovaných bifenylov (Wangboje a Okotie, 2021). Medzi najvýznamnejšie negatívne pôsobiace ťažké kovy

v potravinovom reťazci patrí aj ortuť a jej zlúčeniny. Najmä v rybách a výrobkoch z nich nachádzame vyššie koncentrácie ortuti, jej najtoxickejšiu organickú formu, metylortuť. Z tohto dôvodu má význam sledovať obsah ortuti v tkanivách morských ale aj sladkovodných živočíchov, tiež, výrobkov z nich.

MATERIÁL A METODIKA

Prieskum výskytu ortuti v širokom sortimente potravín a vôd bol uskutočnený odberom vzoriek z výrobní potravín, z obchodnej siete a zo zdrojov pitnej vody na území východného Slovenska. Celkovo bolo odobratých a analyzovaných 5 579 vzoriek. Výsledky sme hodnotili na základe Výnosu Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky (MP SR) a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky (MZ SR) z 15. marca 2004 č. 608/3/2004 - 100, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky, upravujúca kontaminanty v potravinách, podľa Výnosu MP SR a MZ SR z 15. marca 2004 č. 608/9/2004 - 100, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky, upravujúca prírodnú, minerálnu, pramenitú a balenú pitnú vodu a podľa Vyhlášky 151 MZ SR z 26. januára 2004 o požiadavkách na pitnú vodu a kontrolu kvality pitnej vody.

Stanovenie obsahu ortuti sa uskutočnilo v 350 vzorkách rýb. Najvyššie prípustné množstvo ortuti v rybách a výrobkoch z rýb podľa Výnosu Ministerstva pôdohospodárstva. SR a Ministerstva. zdravotníctva SR, 2004 č. 608/3/2004 – 100 je 0,5 $mg.kg^{-1}$. V súčasnosti, podľa smerníc EÚ je maximálne povolená hodnota 1 mg ortuti na kilogram.

Na analýzu ortuti v jednotlivých komoditách sme použili metódu bezplameňovej atómovej absorpčnej spektrometrie (AAS) pri vlnovej dĺžke 254 nm (UV oblasť). Ako prístrojové zariadenie sme používali jednoúčelový atómový absorpčný spektrofotometer AMA 254), ktorým je možné analyzovať stopové množstvá ortuti v kvapalných a v pevných vzorkách rôzneho druhu, vrátane komodít celého potravinového reťazca, bez akejkoľvek predbežnej chemickej úpravy. Chyby, ku ktorým dochádza pri stanovení ortuti v rôznych vzorkách, vznikajú najčastejšie pri odbere vzoriek, ich skladovaní, transporte a spracovaní (Manuál k AMA 254, 1998). Atómový absorpčný spektrometer českej proveniencie AMA 254 používajú pri analýze ortuti aj akreditované laboratóriá, keďže prístroj má výhodné hodnoty stanoviteľnosti, reprodukovateľnosti a umožňuje pracovať v širšom koncentračnom rozsahu.

Obrázok č. 1, Analyzátor ortuti AMA 254



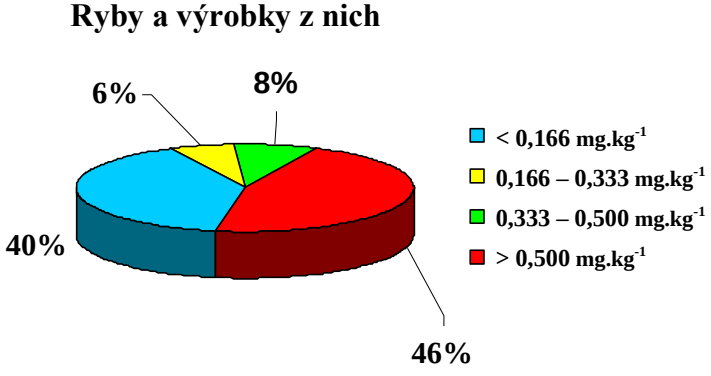
Zdroj: **http://www.spectro-lab.pl**

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Analyzované vzorky sme podľa obsahu ortuti zatriedili do štyroch skupín (Tabuľka č. 1). Do prvej skupiny boli zaradené vzorky s obsahom ortuti do 0,166 mg.kg^{-1} (140 vzoriek). Do druhej skupiny boli zaradené vzorky s obsahom od 0,166 do 0,333 mg.kg^{-1} ortuti (21 vzoriek), a do tretej skupiny 29 vzoriek s obsahom od 0,333 do 0,500 mg.kg^{-1} ortuti. V štvrtej skupine bolo až 160 vzoriek nadlimitných, t. j. nad hodnotou 0,500 mg.kg^{-1}. Zistené numerické hodnoty ortuti boli v rozpätí od 0,08942 mg.kg^{-1} do 3,98692 mg.kg^{-1}. Percentuálne zastúpenie vzoriek podľa obsahu ortuti je schematicky znázornené na obrázku 2.

Tabuľka č. 1, Stanovenie obsahu ortuti vo vzorkách rýb a výrobkov z nich

Ryby a výrobky z nich	Spolu	1. skupina <0,166 mg.kg^{-1}	2. skupina >0,166-0,333 mg.kg^{-1}	3. skupina >0,333-0,500 mg.kg^{-1}	4. skupina >0,5 mg.kg^{-1}
Počet vzoriek	350	140	21	29	160



Obrázok č. 2, Percentuálne zastúpenie vzoriek rýb a výrobkov z nich podľa obsahu ortuti zatriedených do štyroch skupín.

Problematike ortuti v životnom prostredí a jej dopadu na zdravie populácie sa neustále venuje značná pozornosť (Kimáková 2017). Hygienické riziko výskytu ortuti vo vodách riek, jazier a morí spočíva v biotransformácii anorganickej ortuti na metylzlúčeniny, ktoré sú veľmi toxické. Uvádza sa, že v takej forme je ortuť prítomná najmä v rybách, ktoré sa stávajú rizikovým faktorom pre človeka, úžitkové zvieratá a vtáky, živiace sa rybami (Bencko et al., 1995). V tráviacom trakte rýb sa môže anorganická ortuť metyláciou premeniť na organickú. Ortuť sa hromadí a fixuje skoro vo všetkých orgánoch a tkanivách rýb. Vyššia koncentrácia je vo svalovine. Prakticky sa ortuť z organizmu rýb neuvoľňuje. Hlavnou formou ortuti v rybách je jej najtoxickejšia forma, metylortuť (Cibulka, 1991). Toxicita ortuti sa spája s jej reakciou s tiolovými skupinami. Elementárna forma ortuti alebo jej anorganické a organické metabolity vykazujú toxické účinky vrátane neurotoxicity, nefrotoxicity, toxicity na gastrointestinálny trakt. V dôsledku reakcií zlúčenín ortuti s tiolmi sa rýchlo vyčerpávajú voľné skupiny –SH, čo vedie k oxidačnému stresu a následnému poškodeniu tkanív. Ortuť vyčerpáva glutatión z renálnych tubulov a zároveň inhibuje aktivitu superoxiddizmutázy, katalázy a glutatiónperoxidázy, enzýmov, zodpovedných za ochranu buniek pred oxidačným poškodením superoxidom a hyperoxidmi (Kimáková, 2017). Ryby sú často konečným článkom potravinového reťazca vo viacerých prímorských krajinách a tým, samozrejme, aj hlavným zdrojom ortuti.

V našich podmienkach sa stanovuje celková ortuť (kovová, anorganická, organická). Pri analýzach by v súčasnosti bolo vhodné stanovovať hlavne množstvo organickej ortuti, nakoľko je najtoxickejšia a v rybách je jej najviac. Výsledky stanovenia koncentrácie ortuti v potravinách sú základom pre určenie množstva požitej škodliviny. Dôležitý je však celkový príjem ortuti s potravinami v určitom časovom úseku (denný, týždenný alebo celkový príjem za sledované obdobie). Na záťaži obyvateľstva anorganickou ortuťou v nemalej miere participujú aj amalgámové výplne chrupu. Odhadované súčasné množstvo ortuti v zubných výplniach obyvateľov Európy je asi 2 000 ton (Černá, 2004). Kontaminácia rýb ťažkými kovmi má dva závažné aspekty. Hygienicko-sanitárny, viazaný na konzum rýb ako potravín a bioindikačný aspekt, vyplývajúci z postavenia a začlenenia rýb do ekologicko-energetického či trofického reťazca vo vodnom ekosystéme. V tele rýb sú ťažké kovy rozložené nerovnomerne a ich množstvo závisí od druhu a zloženia potravy, zloženia vody ako aj ročného obdobia. Ortuť sa nachádza najviac vo svalovine. Jednotlivé druhy rýb sa odlišujú rôznym množstvom ťažkých kovov, čo súvisí s rozdielnym spôsobom ich výživy. Dravé druhy rýb majú často vysoký obsah ortuti, niklu a kobaltu (Kováčik et al., 2000).

Paľušová a Ursinyová (1989) v analyzovaných rybách (sardinky, slede a makrely) zistili ortuť od 0,010 do 0,452 mg.kg^{-1}. Limit, platný v danom roku 0,2 mg.kg^{-1}, nebol prekročený. V

niektorých lokalitách riek Hornád a Hnilec, v okolí Spišských Vlachov, boli nájdené zvýšené hodnoty ortuti v svalovine Jalca hlavatého a Plotice obyčajnej v súvislosti s jej vysokým obsahom vo vode. Koncentrácia ortuti v roku 1975 – 1977 stúpala (Kirka et al.,1981).
Hygienické riziko výskytu ortuti vo vodách riek, jazier a morí spočíva v biotransformácii anorganickej ortuti na metylzlúčeniny, ktoré sú veľmi toxické. Uvádza sa, že v takej forme je ortuť prítomná najmä v rybách, ktoré sa stávajú rizikovým faktorom pre človeka, úžitkové zvieratá a vtáky, živiace sa rybami (Miller, 1972). Najmä anaeróbne mikroorganizmy, vyskytujúce sa v prírode v sedimentoch morského dna a dna jazier, majú schopnosť metylovať anorganické zlúčeniny ortuti. Proces metylácie anorganickej ortuti na dnách vodojemov je kľúčový článok kolobehu ortuti v potravinovom reťazci vodných organizmov.

Výskyt ortuti v rybách a tým aj vo výrobkoch z nich má závažný význam. Ryby sú konečným článkom potravinového reťazca vo vodnom prostredí. Ryby sú vo viacerých krajinách často hlavným zdrojom potravy a v dôsledku toho aj hlavným zdrojom ortuti vo výžive. V tráviacom trakte rýb sa môže anorganická ortuť metyláciou premeniť na organickú. Ortuť sa hromadí a fixuje skoro vo všetkých orgánoch a tkanivách rýb. Vyššia koncentrácia je spravidla vo svalovine. Prakticky sa ortuť z organizmu rýb neuvoľňuje. Hlavnou formou ortuti v rybách je jej najtoxickejšia forma, metylortuť (Cibulka, 1991). Stupeň kumulovania ortuti vo svalovine rýb závisí od koncentrácie tohto prvku v danom prostredí a to predovšetkým v sedimente a od fyzikálno – chemických vlastností vody, hlavne od jej teploty a koncentrácie kyslíka. Pri zvýšenej teplote, hlavne v stojatých vodách stupeň kumulovania ortuti stúpa. Z tohto dôvodu bolo v priebehu ostatných 20 – 30 rokov z hľadiska hygieny potravín venované mimoriadne úsilie práve problematike ortuti v rybách. Metylortuť je v ľudskom organizme rýchlo demetylovaná a zostáva v jednotlivých orgánoch a tkanivách určitú dobu vo forme anorganicky viazanej ortuti. Vylučovanie anorganicky viazanej ortuti je veľmi pomalé (Cibulka, 1991). Anorganicky viazaná ortuť sa väčšinou vylučuje obličkami. Metylortuť je krvou transportovaná do mlieka a vlasov.

Podľa údajov Szprengier-Juszkievicza (1996) v Poľsku na produkty živočíšneho pôvodu (mäso, mlieko, vajcia) pripadá 27,4 % dennej spotreby ortuti, ale ryby, hoci obsahujú najviac ortuti zo všetkých druhov potravín, poskytujú len 11,5 % ortuti z jej denného príjmu.
(EPA - Environmental Protection Agency, 1997) by nemala pôsobiť na obmedzovanie spotreby rýb, avšak gravidné ženy by sa mali vyvarovať konzumácii všetkých druhov rýb. EPA vyzýva zástupcov priemyslu a jednotlivé vlády, aby radikálne znížili imisie a takto dovolili bezpečne konzumovať túto dôležitú časť potravy. EPA poukazuje na gravidné ženy, deti a ženy v materskom veku ako na rizikovú skupinu obyvateľstva. Ortuť je toxická pre ľudský nervový

systém aj pri pôsobení veľmi nízkych dávok. Nedávne štúdie potvrdili, že nízke dávky počas fetálneho vývinu spôsobujú vedomostné a funkčné neurologické deficity (ATSDR, 1999).

V dôsledku nových vedeckých poznatkov o riziku ortuti (predovšetkým metylortuti), FAO/WHO sprísnili v júni 2003 prípustnú hodnotu týždenného príjmu Hg z 3,3 $ng.kg^{-1}$ ľudskej hmotnosti na 1,6 ng. Medzi všeobecné odporučenia patrí obmedzenie konzumácie predátorov rýb, meniť druhy rýb v jedálničku a obmedzenie konzumácie rýb a výrobkov z nich deťmi a gravidnými ženami (Černá, 2004).

Výsledky analýz vo vzorkách potravín nám poskytujú podklady pre stanovenie miery rizík a napomáhajú včasnej prevencii pred poškodením zdravia. Zabezpečenie ekologicky zdravej výživy s minimalizovaním cudzorodých látok je najvýznamnejšou súčasťou primárnej prevencie vo vývoji zdravotného stavu obyvateľstva.

ZÁVER

V budúcnosti pre optimalizáciu ochrany obyvateľstva je potrebné naďalej monitorova koncentráciu ortuti v rybách a v produktoch z rýb. Na základe dosiahnutých výsledkov a získaných poznatkov odporúčame obyvateľom, ktorí trvalo žijú v oblastiach, silne kontaminovaných ortuťou (napr. Stredný Spiš), vyvarovať sa konzumácie všetkých druhov rýb a výrobkov z nich, alebo aspoň obmedziť konzumáciu predátorov rýb (mečiar, žralok, tuniak a iné), meniť druhy rýb v jedálničku, obmedziť konzumáciu húb, používať potraviny, zaradené do 1. rozpätia. Nekonzumovať plody a semená (maliny, ríbezle, semená slnečnice, maku), nadzemné časti rastlín (šalátové listy, špenát, púpavové listy) a huby vypestované v oblastiach s vysokým obsahom ortuti v pôde. Je dôležité apelovať na zástupcov priemyslu a jednotlivé vlády, aby radikálne znížili imisie a takto umožnili bezpečne konzumovať ryby, ako dôležitú súčasť potravy bez rizika. Naďalej je potrebné zaoberať sa prehlbovaním vedomostí o výskyte, kolobehu, prenikaní, perzistencii, interakcii a degradácii ortuti v biologickom prostredí a o interakciách ortuti a jej rezíduí s nutrične významnými zložkami potravín. To umožní obmedzenie zdravotných rizík z kontaminácie cudzorodými látkami. Tieto nadobudnuté poznatky sú nesmierne dôležité hlavne v súčasnom období, kedy došlo oproti predchádzajúcemu obdobiu k uvoľneniu maximálnych limitov a podľa smerníc EÚ je maximálne povolená hodnota ortuti na 1 mg ortuti na kilogram. To môže pri nadmernej konzumácii produktov a nesledovaní obsahu ortutí viesť k trvalému poškodeniu zdravia človeka.

POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla s finančnou podporou grantu KEGA 014UPJŠ-4/2024, Sledovanie vybraných rizikových faktorov ovplyvňujúcich životný štýl vysokoškolských študentov.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ATSDR. 1999. *Toxicological Profile for Mercury*. Update. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry; 1999. In: Davidson, P. W., Myers, G. J., Weiss, B.: Mercury exposure and child development outcomes. Pediatrics. 113, 2004, 4, s. 1023 – 1029.
2. BENCKO, V. - CIKRT, M. - LENER, J. 1995. *Toxické kovy v životním a pracovním prostředí člověka.* 2. vyd. Grada Publishing, Praha, 288 s.
3. CIBULKA, J. et al. 1991. *Pohyb olova, kadmia a rtuti v biosféře.* Praha Academia. 427 s.
4. ČERNÁ, M. et al. 2004. Biomonitoring III. Výsledky analýzy vybraných toxických stopových prvků (Pb, Cd, Hg) v krvi české populace. In *Čs. Hyg.,* č.1, s. 4 – 7.
5. EPA. 1997. Mercury Report to Congress. Washington, DC: US Environmental Protection Agensy, Office of Air Quality Standards, 1997. In: Davidson, P. W., Myers, G. J., Weiss, B.: Mercury exposure and child development outcomes. *Pediatrics.* 113, 2004, 4, s. 1023 – 1029.
6. KIMÁKOVÁ, T. 2017. *Ortuť v životnom prostredí ako rizikový faktor zdravia.* Košice, UPJŠ v Košiciach, 150 s. ISBN 978-80-478-3.
7. KIRKA, A. et al. 1981. Obsah ťažkých kovov v tele jalca hlavatého (Leuciscus cephalus L.) a plotice obyčajnej (Rutilus rutilus L.) z Hornádu a Hnilca. In *Biológia*, Bratislava, 36, č. 3, s. 621–625.
8. KOVÁČIK, J. et al. 2000. *Rizikové faktory potravového reťazca človeka.* Štátna poľnohospodárska univerzita. Nitra, 2000, 143 s.
9. Manuál - AAS AMA 254. (1998) Praha.
10. MILLER, M. W. 1972. Chemical fall out. Thomas, Illinois, 1972.
11. PAĽUŠOVÁ, O. - URSINYOVÁ. M. 1989. Rezídua ortuti v zložkách životného prostredia a potravinách Západoslovenského kraja. In *Čs. Hyg.,* 34, č. 5 s. 274 – 279.
12. SZPRENGIER – JUSZKIEWICZ, T. 1996. Pobranie rteci vraz z zywnóscia zwierzecego pochodzenia w Polsce. In *Medycyna Wet.,* 52, č. 4, s. 234–237.
13. VÝNOS Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky (MZ SR) z 15. marca 2004 č. 608/3/2004 – 100,

ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky upravujúca kontaminanty v potravinách.

14. WANGBOJE, O.M. - OKOTIE, D.O. 2021. Polychlorinated Biphenyls in Imported Fish. In *European Journal of Agriculture and Food Sciences*. Vol. 3, no. 1, p. 90–96.

Kontaktná adresa: Kimáková Tatiana, Department of Public Health and Hygiene, Pavol Jozef Šafarik University in Košice, Faculty of Medicine, Šrobárova 2, 041 80 Košice, Slovak Republic; E-mail: tatiana.kimakova@upjs.sk

RIZIKÁ VÝSKYTU *CAMPYLOBACTER* SPP. SPOJENÉ SO SPRACOVANÍM HYDINOVÉHO MÄSA

RISKS OF *CAMPYLOBACTER* SPP. ASSOCIATED WITH POULTRY MEAT PROCESSING

Király Ján, Hajdučková Vanda, Hudecová Patrícia, Teleky Jana, Pilipčinec Emil

Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

Campylobacter species are widespread in nature, their reservoir is the digestive tract of domestic and wild animals. Representatives of the genus Campylobacter have been repeatedly isolated from various types of raw materials and foods, most often from poultry and raw poultry meat, less often from pork, raw milk, undercooked or secondarily contaminated meat products and untreated drinking water. Humans are most often infected by consuming primarily or secondarily contaminated foods. Campylobacteriosis is a foodborne infection that can manifest as gastroenteritis or post-infectious manifestations and, in rare cases, as systemic infections and sepsis. The most common manifestation of Campylobacter infection in humans is gastroenteritis. More than 90% of human Campylobacter gastroenteritis is caused by the species *Campylobacter jejuni*.

Key words: poultry, *Campylobacter jejuni*, zoonosis, chicken meat

ÚVOD

Potraviny musia spĺňať dve základné požiadavky – bezpečnosť a kvalitu. Všetky bezpečné potraviny sa nedajú považovať za kvalitné a dlhodobejšia konzumácia nekvalitných potravín môže byť riziková. Bezpečnosť potravín je podľa definície vedecká disciplína popisujúca výrobu a skladovanie potravín, tak ako i zaobchádzanie s nimi spôsobom, ktorý zabraňuje vzniku ochorení z potravy. Zahŕňa postupy, ktoré by mali byť dodržiavané s cieľom vyhnúť sa potencionálne nebezpečným ohrozeniam zdravia. Potraviny môžu byť kontaminované baktériami alebo ich toxínmi a po konzumácii môžu predstavovať zdravotné riziko (Cortés-Sánchez et al. 2011). K bakteriálnym zoonózam alimentárneho pôvodu dochádza najčastejšie ingesciou patogéna kontaminovanou potravou alebo pitnou vodou. Rody *Campylobacter*, *Salmonella* ako aj enterohemoragická *Escherichia coli* patria medzi najčastejšie alimentárne patogény, ktoré ročne postihujú milióny ľudí, niekedy s ťažkými až smrteľnými následkami.

Kampylobakterióza je bakteriálne ochorenie zvierat aj ľudí, ktoré je spájané najmä s príznakmi gastroenteritídy alebo s postihnutím pohlavného aparátu a následnými potratmi (hlavne u hovädzieho dobytka). Je to zoonóza, pričom ľudia sa najčastejšie nakazia tepelne neupraveným hydinovým mäsom (Cupáková et al. 2012). Podľa informácií, ktoré pochádzajú z jednotlivých členských štátov Európskej únie, je kampylobakterióza už od roku 2005 najčastejšie hláseným gastrointestinálnym ochorením u ľudí. Pozornosť je zameraná najmä na kontrolu brojlerov a čerstvého hydinového mäsa, prípadne na testovanie surového kravského mlieka. Už pomerne dlhú dobu je to najčastejšie hlásené gastrointestinálne ochorenie ľudí v Európskej únii.

Mikrobiálna kontaminácia povrchu tela hydiny má značný význam v priebehu celého technologického postupu. K prirodzenej mikrobiote pokožky hydiny sa pridružuje silnejšia kontaminácia z peria a behákov. Významným technologickým úsekom z hľadiska mikrobiálnej kontaminácie je vlastné pitvanie, oddeľovanie vnútorností od črevného traktu a oplachovanie hydiny i oddelených vnútorností. Asociácia a množstvo mikroorganizmov závisí od použitej technológie a od účinnosti oplachovania častí hydiny (Hakeem et Lu 2021).

Campylobacter spp.

Zástupcovia rodu *Campylobacter* sú Gram-negatívne tyčinky, zakrivené alebo špirálovité, aktívne sa pohybujú pomocou bičíka, ktorý je umiestnený buď na jednom alebo oboch póloch, čo im umožňuje charakteristický vývrtkový pohyb (Obrázok č. 1). Sú mikroaerofilné, oxidáza a kataláza pozitívne (Pilipčinec et al. 2018). Kultivácia kampylobakterov je pomerne obtiažna, preto sa používajú špeciálne živné médiá, a je potrebné zabezpečiť adekvátne atmosférické podmienky (Obrázok č. 2). Mnohé druhy si okrem nízkej koncentrácie kyslíka vyžadujú navyše aj určitý prídavok oxidu uhličitého (1 – 10 %). Za predpokladu vhodných podmienok pre svoj rast, produkujú tieto baktérie viditeľné kolónie už po 24 až 48 hodinách od inokulácie. (Topley a kol. 2005). Baktérie patriace do rodu *Campylobacter* sú v prírode kozmopolitne rozšírené. Často sa nachádzajú v tráviacom trakte domácich aj voľne žijúcich zvierat, niektoré druhy žiadne ochorenie vyvolať nemusia, iné sa prezentujú ako obligátne patogény. V prípade psov sú za najvýznamnejšie patogénne druhy považované *C. jejuni* subsp. *jejuni, C. coli, C. upsaliensis* a *C. lari,* ktoré majú zároveň zoonotický potenciál (Parsons a kol. 2011). Spomedzi iných druhov zvierat sú rizikovou skupinou najmä vtáky (voľne žijúce druhy aj domáca hydina). Práve u nich bol zaznamenaný najmarkantnejší výskyt kampylobakterov, keďže sú na vnútorné prostredie vtákov dobre adaptované. Je to v dôsledku telesnej teploty, ktorá predstavuje teplotné optimum pre rast týchto baktérií (Horrocks a kol., 2009). Hydina býva najčastejšie hostiteľom druhov *C. jejuni* subsp. *jejuni* a *C. coli* (Hakeem et Lu 2021).

U ľudí vzniká infekcia najčastejšie po konzumácii kontaminovaného hydinového mäsa (hrabavej aj vodnej hydiny) (Obrázok č. 3). Práve nedostatočne tepelne upravené hydinové mäso je príčinou v 50 – 70 % prípadov kampylobakteriózy u ľudí (Nachamkin a kol. 2008). Ide najmä o infekcie spôsobené druhom *C. jejuni* subsp. *jejuni*, ktorý sa vyskytuje v slepom a hrubom čreve hydiny (Epps a kol. 2013). Predpokladá sa, že vyššia telesná teplota vtákov je vhodným prostredím pre pomnoženie tohto termotolerantného druhu (Horrocks a kol. 2009).

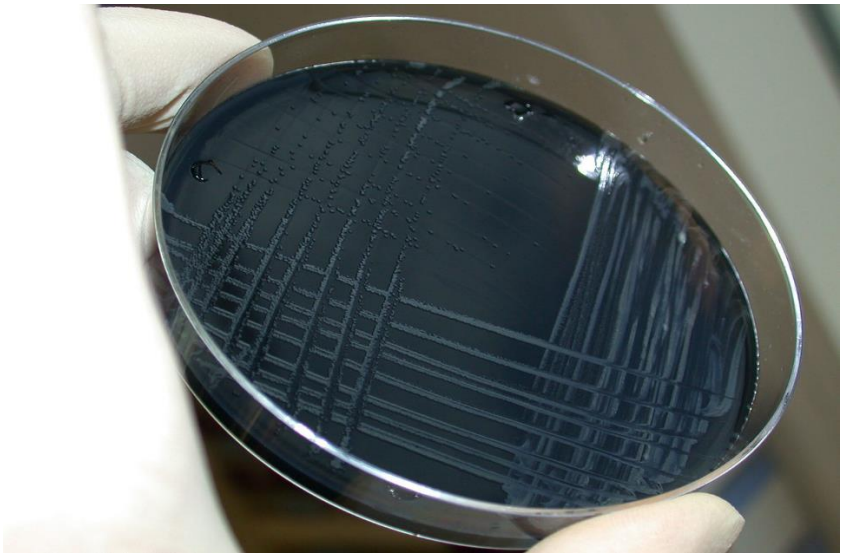
Zástupcovia rodu *Campylobacter* sú vybavení mnohými faktormi virulencie, ktoré sa významnou mierou podieľajú na kolonizácii intestinálneho traktu, rozvinutí kampylobakterovej infekcie a patologických zmenách orgánových systémov. Medzi najvýznamnejšie z nich patrí kapsula, S-vrstva, bičíky, adhezíny, motilita, tvorba biofilmu, invazivita, sekrečné systémy, toxíny vrátane hemolyzínov (Pilipčinec et al. 2018).

Obrázok č. 1, *Campylobacter jejuni*



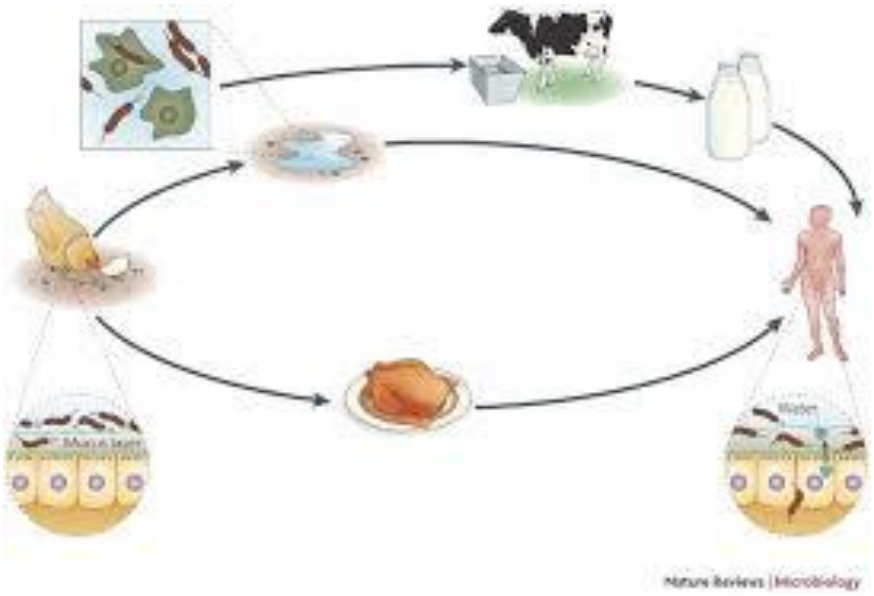
https://thenativeantigencompany.com/products/campylobacter-jejuni-antigen/

Obrázok č. 2, *Campylobacter jejuni* na Karmali agare



https://www.wikiskripta.eu/w/Campylobacter

Obrázok č. 3, Spôsoby šírenia *Campylobacter jejuni*



https://www.nature.com/articles/nrmicro1718

ZÁVER

Najčastejším patogénom pre človeka je *Campylobacter jejuni*, ktorý kolonizuje tráviaci trakt hydiny. Človek sa najčastejšie nakazí kontaktom alebo konzumáciou tepelne neopracovanej hydiny. Infekcia spôsobená rodom *Campylobacter* nemá zatiaľ vysoké percento mortality, avšak percento výskytu kampylobakteriózy každým rokom stúpa. Prevencia alimentárnej kampylobakteriózy spočíva predovšetkým v dodržiavaní všeobecných hygienických noriem pri spracovaní potravín a v konzumácii dostatočne tepelne opracovaných výrobkov.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená projektom KEGA 018UVLF-4/2025.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Cortés-Sánchez et al. *Plesiomonas*: A Review on Food Safety, Fish-Borne Diseases, and Tilapia The Scientific World Journal 2021, 10, doi 10.1155.
2. Cupáková, Š., L. Necidová a R. Karpíšková. VETERINÁRNÍ A FARMACEUTICKÁ UNIVERZITA BRNO.*Termotolerantní druhy Campylobacter spp.* [online]. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. Brno, 2012. Dostupné z: <http://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/>. [cit. 17. 6. 2012].

3. Epps S.V.R, Harvey R.B, Hume M.E, Phillips T.D, Anderson R.C, Nisbet D.J. Foodborne Campylobacter: Infections, Metabolism, Pathogenesis. In International Journal of Environmental Research and Public Health. 2013, 10.
4. Hakeem M. J., Lu X: Survival and control of *Campylobacter* in poultry production environment. Front cell infect Microbiol. 202, 10:615049. doi: 10.3389/fcimb.2020.615049.
5. Horrocks S.M, Andreson R.C, Nisbet D.J, Ricke S.C. Incidence and ecology of *Campylobacter jejuni* and *coli* in animals. In Anaerobe, 15, 2009, p:18–25.
6. Nachamkin I, Allos B.M, Ho T. Campylobacter species and Guillain–Barre syndrome. In Clinical Microbiological Reviews, 11, 1998, p:555–567.
7. Parsons B.N, Williams N.J, Pinchbeck G.L, Christley R.M, Hart C.A, Gaskell R.M, Dawson S. Prevalence and shedding patterns of Campylobacter spp. in longitudinal studies of kennelled dogs. In The Veterinary Journal, 190(2), 2011, p:249–254.
8. Pilipčinec et al. Špeciálna bakteriológia. Gram-negatívne baktérie. ISBN 978-80-8077-571-1, 2018.
9. Topley W.W.C, Wilson G.S, Borriello S.P, Murray P.R, Funke G. In Topley & Wilson´s microbiology & microbial infections. Volume 2, Bacteriology, 10. Londýn: Edward Arnold (Publishers) Ltd, 2005, p:1541–1553.

Kontaktná adresa: Király Ján, Department of Microbiology and Immunology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: jan.kiraly@uvlf.sk

VPLYV DÁVOK *SALMONELLA* ENTERITIDIS NA KULTÚRU ILEÁLNYCH EXPLANTOV KURČIAT: POZNATKY Z KONTROLOVANEJ *EX VIVO* ŠTÚDIE

THE EFFECT OF *SALMONELLA* ENTERITIDIS DOSES ON CHICKEN ILEAL EXPLANT CULTURE: INSIGHTS FROM A CONTROLLED *EX VIVO* STUDY

Kiššová Zuzana[1], Karaffová Viera[1], Herich Róbert [1], Vinclérová Veronika[1], Čechová Michaela[1], Mudroňová Dagmar[2]

[1]Katedra morfologických disciplín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

[2]Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

Salmonellosis, particularly infections caused by *Salmonella enterica* serovar Enteritidis (SE), remains one of the most common foodborne diseases worldwide, often linked to poultry products. Understanding the interactions between SE and the avian intestinal tract is essential for developing effective prevention and treatment strategies. This study aimed to investigate the impact of different SE infection doses on the chicken ileum using an *ex vivo* explant model, which more closely mimics *in vivo* tissue conditions compared to conventional cell lines. Ileal explants were exposed to varying concentrations of live SE and subsequently analyzed for histological integrity and gene expression levels of key immune markers, including pro-inflammatory cytokines (IL-2, IL-8, IL-15, IL-22) and avian β-defensins (AvBD13, AvBD14), which play an important role in innate immunity. The lowest tested dose of 10^7 CFU/mL triggered a significant upregulation of immune-related genes without compromising the histological structure of the tissue, making it the most suitable concentration for further experimental applications. Higher concentrations, while inducing stronger responses, led to notable tissue degradation, limiting their utility in prolonged analyses. Our findings support the use of ileal explant cultures as a reliable and physiologically relevant model for studying host-pathogen interactions and immune responses in poultry, particularly in the context of evaluating potential antimicrobial alternatives to traditional antibiotics.

Keywords: *Salmonella* Enteritidis; ileal explants; gut immunity; cytokines; antimicrobial peptides

ÚVOD

Spotreba hydinového mäsa vo svete neustále narastá. Odhady naznačujú, že do roku 2030 bude hydina predstavovať približne 41 % celkového príjmu živočíšnych bielkovín v ľudskej strave (OECD a FAO, 2021). Moderné postupy v chove hydiny kladú dôraz najmä na zvýšenie produkčnej výkonnosti, zlepšenie zdravotného stavu zvierat a zabezpečenie hygienicky bezpečného mäsa pre konečného spotrebiteľa (Long a kol., 2020). Hoci intenzívne chovateľské systémy prispievajú k nižším cenám a lepšej dostupnosti hydinového mäsa, zároveň so sebou prinášajú viaceré výzvy, ako sú vyššia miera stresu, oslabenie imunitného systému a vyšší výskyt infekčných ochorení. Medzi najčastejšie zaznamenané zoonotické potravinové infekcie v Európskej únii patria tie, ktoré sú spôsobené baktériami z rodov *Campylobacter* a *Salmonella*, pričom hlavným zdrojom týchto patogénov sú hydinové produkty, najmä mäso a vajcia (EFSA, 2023). Salmonely predstavujú fakultatívne intracelulárne patogény, ktoré sa prejavujú spektrom ochorení od gastroenteritídy až po závažné systémové horúčky. Medzi nimi sa sérotyp *S.* Enteritidis stal hlavnou príčinou ochorení prenášaných potravinami, ktoré boli zdokumentované v značnom počte prípadov. Salmonely vyvinuli zložité mechanizmy na manipuláciu s funkciami hostiteľských buniek, ktoré sú rozhodujúce pre ich virulenciu a prežitie. Preto je pri navrhovaní stratégií na prevenciu a liečbu ochorení súvisiacich so salmonelou kľúčové pochopiť vzájomné pôsobenie medzi hostiteľom a baktériou. Úspešná infekcia salmonelou znamená prekonanie hornej časti gastrointestinálneho traktu a prelomenie črevnej epitelovej bariéry, pričom sa vyhne útokom vrodenej aj adaptívnej imunitnej odpovede (Zhang a kol., 2014). Dôležitou súčasťou výskumu v tejto oblasti je hľadanie účinných stratégií, ktoré by umožnili udržať zdravie črevného traktu hydiny, čím by sa znížila náchylnosť na infekcie a zároveň zvýšila bezpečnosť živočíšnych produktov pre konzumenta (Ghiselli a kol., 2021). Aby sme mohli efektívne bojovať proti salmonelóze a iným črevným infekciám, je nevyhnutné pochopiť, ako tieto patogény ovplyvňujú črevný trakt hydiny na molekulárnej úrovni. Črevo je veľmi zložitý orgán, ktorý pozostáva z rôznych zložiek vykonávajúcich rozmanité fyziologické funkcie vysoko integrovaným a regulovaným spôsobom. Cieľom tejto štúdie bolo posúdiť kompatibilitu explantového modelu získaného z kuracieho ilea pri expozícii rôznym dávkam baktérií a preukázať enteropatogénny účinok sérovaru *Salmonella* Enteritidis. Tento účinok bol hodnotený prostredníctvom expresie génov pre vybrané imunitné markery a mikroskopickým skúmaním histologických rezov ileálnych explantov farbených hematoxylínom a eozínom.

MATERIÁL A METODIKA

Izolácia ileálnych explantových kultúr: Na účely tohto experimentu bola hydina plemena Ross 308 humánne usmrtená dekapitáciou po predchádzajúcej anestézii oxidom uhličitým (CO_2). Následne bola otvorená celómová dutina s cieľom odobratia ileálneho segmentu. Na získanie črevných explantov z ilea sa použili opakovane použiteľné bioptické ihly s piestami. Izolácia tkanivových vzoriek prebiehala presne podľa postupu opísaného v štúdii Kiššová a kol. (2025). Kultivácia baktérií: *Salmonella enterica* sérovar Enteritidis (*S.* Enteritidis; SE), fagový typ PT4 (Veterinárny výskumný ústav, Brno, Česká republika) bol kultivovaný v Luria–Bertani bujóne (LB; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) cez noc pri 37 °C za neustáleho miešania (160 rpm). Nočné kultúry boli následne naočkované do čerstvého LB bujónu a inkubované 4 hodiny pri 37 °C s neustálym miešaním. Pred samotnými experimentmi bola koncentrácia baktérií kvantifikovaná meraním optickej denzity pri absorbancií 600 nm podľa postupu opísaného v štúdii Kiššová a kol. (2025). Gélová elektroforéza: Na detekciu génov kódujúcich antigény *S.* Enteritidis PT4 bola použitá PCR analýza s druhovo špecifickými primermi. Bakteriálna DNA bola izolavaná presne poďla článku Trkov a kol., (2003). Na amplifikáciu sa použil 1 µL lyzátu. Podmienky PCR boli podľa Trkov a kol. (2003). Amplifikácia prebiehala v termocykléri Techne TC-312. PCR produkty boli separované elektroforézou v 1 % agarózovom géli farbenom GelGreen® (Merck) v 1× TAE pufri (100 V / 40 min). Molekulová hmotnosť bola určená pomocou 100 bp DNA markeru (Ecoli s.r.o., SR). Vizualizácia prebehla pomocou UV lampy a systému Kodak Gel Logic 100. Histologické farbenie hematoxilínom a eozínom (H&E): Po kultivácii boli explanty zo všetkých experimentálnych skupín priamo fixované na penových bioptických podložkách. Následne sa vykonalo rutinné farbenie H&E pomocou automatického farbiaceho prístroja. Experimentálna schéma: Návrh priebehu experimentu a rozdelenie jednotlivých experimentálnych skupín je znázornené v Tabuľke č. 1. Analýza relatívnej génovej expresie: Celková RNA z explantov bola izolovaná pomocou TRIreagentu (Sigma-Aldrich) a následne purifikovaná pomocou súpravy RNeasy Mini Kit (Qiagen, Manchester, UK) podľa pokynov výrobcu. Reverzná transkripcia RNA na cDNA bola realizovaná pomocou súpravy iScript cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad, Hercules, CA, USA), taktiež podľa pokynov výrobcu. Analýza génovej expresie prebiehala pomocou softvéru CFX Manager (verzia 2.0, BioRad, USA) na zariadení iCycler CFX 96 (BioRad, USA). Relatívna normalizovaná expresia bola vyhodnotená pomocou metódy $2^{-\Delta\Delta CT}$. Génová expresia bola analyzovaná v trojnásobných opakovaniach a výsledky sú vyjadrené ako priemer ± smerodajná odchýlka (SD).

Tabuľka č. 1, Experimentálna schéma

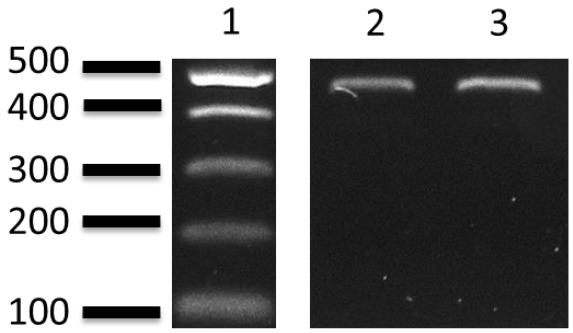
Experimentálna skupina	Typ ošetrenia ileálnych explantov	Prídavok Gentamicínu 100 ug/mL/2h	Skratka
Kontrola	Bez ošetrenia	✓	-
10^7 CFU/mL	Infekcia SE 10^7 CFU/mL po dobu 4 h	✓	B
10^8 CFU/mL	Infekcia SE 10^8 CFU/mL po dobu 4 h	✓	C
10^9 CFU/mL	Infekcia SE 10^9 CFU/mL po dobu 4 h	✓	D

Tabuľka vysvetluje typ ošetrenia v jednotlivých experimentálnych skupinách s baktériou Salmonella Enteritidis PT4.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Salmonely sú baktérie schopné prežívať vo vnútri hostiteľských buniek, pričom vyvolávajú rôzne klinické formy ochorení – od zápalov tráviaceho traktu až po vážne systémové infekcie. Sérovar *S.* Enteritidis je v tomto smere obzvlášť významný, keďže patrí medzi najčastejšie identifikovaných pôvodcov potravinami prenášaných nákaz (Zhang a kol., 2014). Vzhľadom na narastajúci počet prípadov salmonelózy v rozvinutých krajinách za posledné desaťročia sa zvýšil tlak na vývoj efektívnych a rýchlych metód detekcie salmonel. Klasické mikrobiologické postupy, ktoré zvyčajne trvajú 5 až 7 dní a zahŕňajú viaceré fázy subkultivácie spolu s následnými biochemickými a sérologickými analýzami, boli preto doplnené alebo nahradené modernejšími prístupmi zameranými predovšetkým na detekciu DNA (Trkov a kol., 2003).

Obrázok č. 1, Identifikácia molekulárnych markerov *Salmonella* Enteritidis PT4 pomocou PCR analýzy

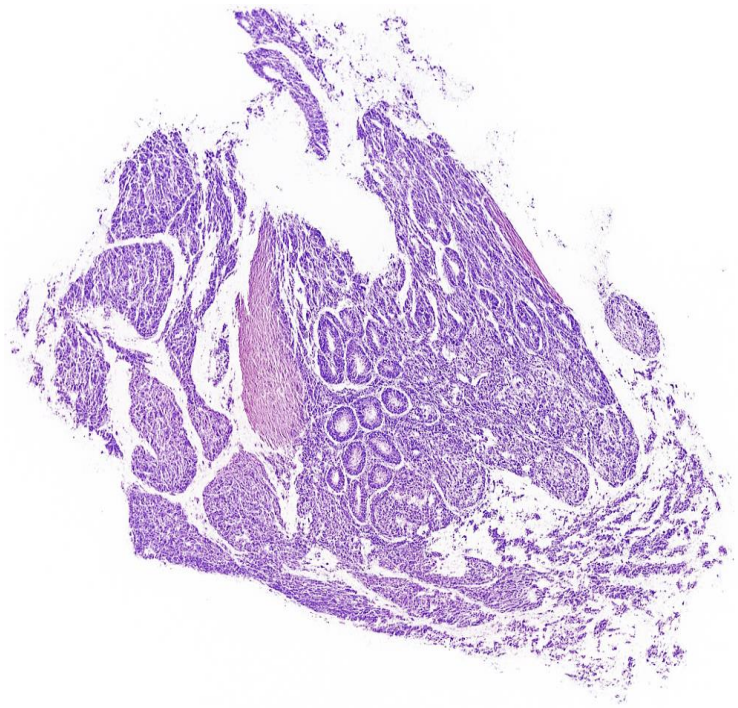


Obrázok je reprezentatívny pre experiment. 1 - 100 bp DNA marker molekulárnych hmotností; 2 - 3 cDNA získaná zo 4 h kultúry Salmonella Enteridtidis PT4.

V našej štúdii sme pomocou ryclej PCR metódy a gélovej elektroforézy potvrdili použitý rod (*genus*): *Salmonella* a druh (*species*): *Salmonella enterica* (Obr. 1). Obrázok č. 1 znázorňuje

výsledky PCR analýzy s použitím primerov špecifických pre rody *Salmonella*. Amplikóny vykazovali dostatočne vysokú koncentráciu nukleovej kyseliny, čo poukazuje na špecifickú amplifikáciu a prítomnosť detekovateľného množstva bakteriálnej DNA získanej z bakteriálnej populácie po 4-hodinovej kultivácii v bujóne.

Obrázok č. 2, Bioptický rez z kuracieho ilea ofarbený H&E



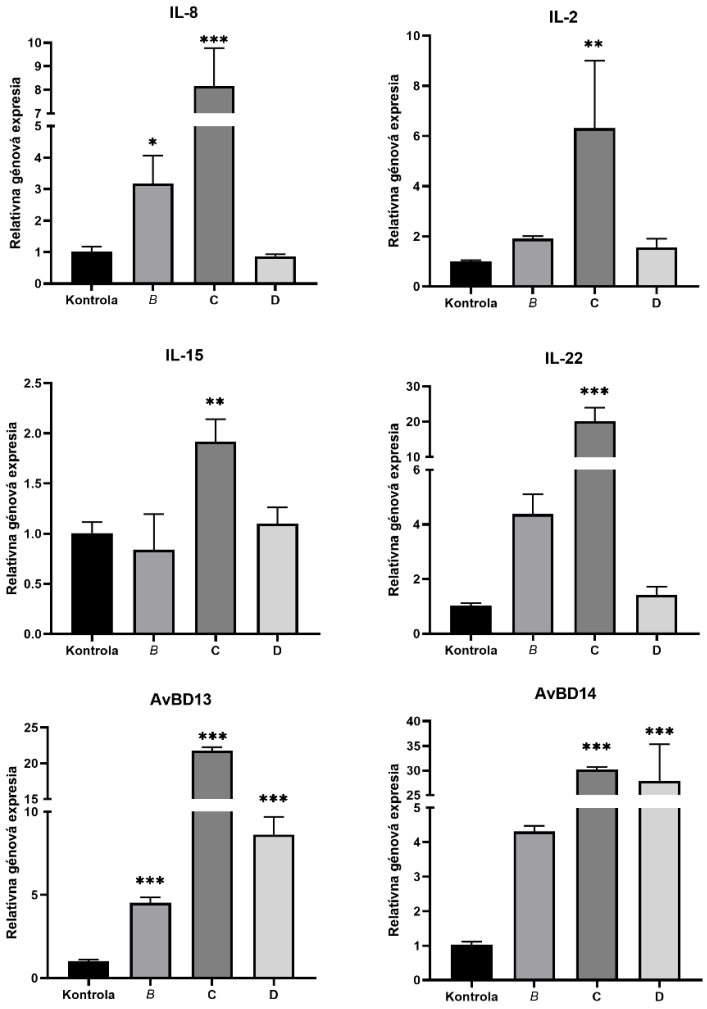
Rez explantu kuracieho ilea ofarbený H&E kultivovaný v 96-jamkovej platničke - kontrolná skupina. Normálna architektúra tkaniva je pozorovaná po celkovej inkubačnej dobe 6 h. Mikroskopické zväčšenie = 10 x.

Pre rôzne druhy hospodárskych zvierat existuje niekoľko *ex vivo* modelov a bunkových línií na štúdium zdravia črevnej bariéry, pričom rôzne techniky boli vyvinuté na napodobenie *in vivo* podmienok. Pre hydinu, vzhľadom na absenciu imortalizovaných bunkových línií, výskumníci izolovali primárne črevné epitelové bunky, avšak vytvorenie konzistentného *ex vivo* modelu z čerstvého črevného tkaniva je stále veľkou výzvou (Ghiselli a kol., 2021). Tkanivové explanty predstavujú neporušené tkanivá alebo fragmenty orgánov, ktoré sú fenotypom a funkciou bližšie k *in vivo* tkanivám, a preto sú vhodnejšie na replikáciu základných fyziologických vlastností a interakcií medzi hostiteľom a patogénom (Nash a Vervelde, 2022). Ileálne explanty kurčiat boli pozbierané okamžite po skončení inkubačných časov na konci experimentov. Na základe histologického hodnotenia odobratých vzoriek sme konštatovali, že tkanivové explanty nevykazovali výrazné histologické abnormality. Vzorky kontrolnej skupiny odobrané po 6-hodinovej inkubácii si zachovali normálnu tkanivovú architektúru s prítomnosťou pohárikovitých buniek, črevných krýpt a intaktnej epitelovej výstelky (Obr. 2).

Hoci zvýšená deskvamácia povrchovej epitelovej vrstvy bola zistená takmer vo všetkých vzorkách, pravdepodobne v dôsledku poškodeného spracovania vzoriek vzhľadom na ich miniatúrnu veľkosť. Z experimentálnych skupín sa histologickú analýzu podarilo úspešne vykonať iba pri najnižšej testovanej koncentrácii salmonel (10^7 CFU/mL) (výsledky nie sú uvedené), nakoľko vyššie koncentrácie pravdepodobne viedli k výraznému poškodeniu miniatúrnych tkanív. Vzhľadom na ich malú veľkosť a náročnú manipuláciu sa nepodarilo získať histologické rezy v publikovateľnej kvalite. V predchádzajúcej štúdii Mátisa a kol., (2024) bolo potvrdené, že biopsie s priemerom 1,5 mm sú vhodné na získavanie tkanivových vzoriek s podobnou morfológiou a identickou veľkosťou, a preto môžu byť kultivované ako črevné explanty. Použité explanty (s priemerom 1,5 mm) sú veľkostne porovnateľné so sférickými kultúrami a zachovaním svojich histomorfologických charakteristík sú vhodné na udržiavanie v kultúre počas 12 hodín (Mátis a kol., 2024).

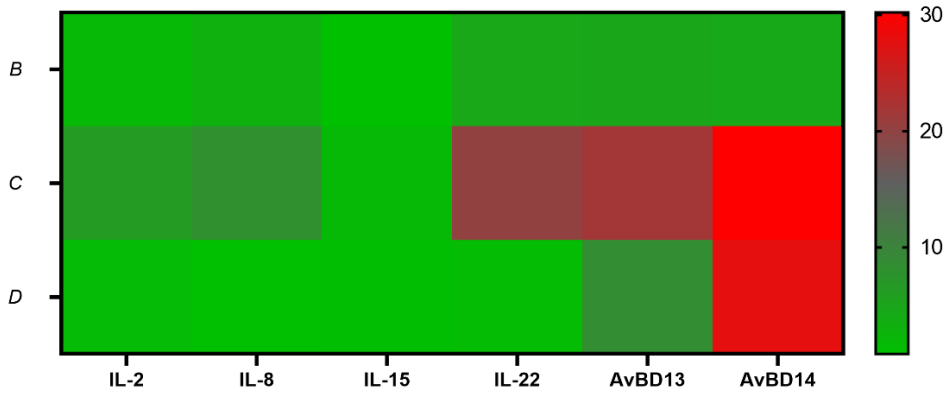
V predloženej štúdii sme hodnotili patologický účinok rôznych koncentrácií SE pomocou analýzy expresie génov pre vybrané gény kódujúce prozápalové cytokíny ako sú IL-2, IL-8, IL-15 a IL-22, a taktiež aviárne β-defenzíny (AvBD; konkrétne AvBD13 a AvBD14), ktoré predstavujú malé kationické antimikrobiálne peptidy, ktoré sú súčasťou vrodeného imunitného systému vtákov. Infekcia patogénmi v čreve vyvoláva zápalové procesy spojené s uvoľňovaním prozápalových cytokínov alebo chemokínov, apoptózou epitelových buniek alebo poklesom proteínov tzv. tesných spojený (Tight Junctions; TJs) (Peterson, 2014). Prozápalový účinok *Salmonella spp*. bol už predtým skúmaný našou výskumnou skupinou, kde živý *S*. Typhimurium CCM 7205 bol schopný stimulovať zápal v *in vitro* kultúre (Kiššová a kol., 2022). V predloženej štúdii stimulácia tkanivových explantov sa prejavila zvýšenou expresiou skúmaných génov prakticky v každej experimentálnej skupine (Obr. 3), hoci najvyššie hodnoty boli evidované v experimentálnej skupine kde sa na infekciu použila dávka 10^8 CFU/mL (Obr. 4). Naše výsledky sú v súlade s aktuálnou literatúrou popisujúcou prozápalový účinok *Salmonella spp.* na úrovni génovej expresie v hydinovom modeli (Swaggerty a kol., 2014; Chang a kol., 2020).

Obrázok č. 3, Génová expresia



Výsledky sú vyjadrené ako priemer ± SD (n=7). Štatistická významnosť rozdielov bola vyhodnotená pomocou Dunnettovho viacnásobného porovnávacieho testu. Výsledky sa významne líšili v porovnaní s kontrolnou skupinou zvierat v hladinách štatistickej významnosti (p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001).*

Obrázok č. 4, Heat mapa



Heat mapa znázorňujúca intenzitu génovej expresie pre vybrané markery v jednotlivých experimentálnych skupinách. B – SE 10^7 CFU/mL; C – SE 10^8 CFU/mL; D – SE 10^9 CFU/mL.

ZÁVER

Štúdium rôznych infekčných dávok v použitom experimentálnom modeli – ileálnej explantovej kultúre – je zásadné pre štandardizáciu optimálnych expozičných podmienok. Ide najmä o stanovenie takej koncentrácie patogénu, ktorá účinne stimuluje bunkovú odpoveď a vyvolá zmeny na molekulárnej úrovni, avšak bez narušenia integrity tkaniva. Na základe získaných výsledkov sa ako najvhodnejšia ukázala koncentrácia 10^7 CFU/mL s expozičným časom 4 hodiny. Táto dávka vyvolala zvýšenú génovú expresiu sledovaných prozápalových cytokínov a antimikrobiálnych molekúl, pričom tkanivo ostalo nepoškodené a bolo vhodné na následnú histologickú analýzu.

POĎAKOVANIE

Táto výskumná práca vznikla s podporou Agentúry na podporu výskumu a vývoja pod číslom APVV-21-0129 (50 %) a Vedeckej grantovej agentúry pod číslom VEGA 1/0098/22 (50 %).

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. EFSA Journal. The European Union One Health 2022 zoonoses report background foonoses from 12. december 2023 [online]. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8442.
2. GHISELLI, F., et al. Isolation, culture, and characterization of chicken intestinal epithelial cells. In *BMC Molecular and Cell Biology* [online]. 2021, 22:12. https://doi.org/10.1186/s12860-021-00349-7
3. CHANG, C., et al. Effects of multi-strain probiotic supplementation on intestinal microbiota, tight junctions, and inflammation in young broiler chickens challenged with *Salmonella enterica* subsp. *enterica*. In *Asian-Australas J. Anim. Sci.* 2020, 33(11):1797-1808. https://doi.org/10.5713/ajas.19.0427
4. KIŠŠOVÁ, Z., et al. Research note: utilizing a novel chicken ileal explant model to assess the efficacy of probiotic Limosilactobacillus reuteri CCM 9425 against *Salmonella* Enteritidis infection. In *Poultry Science.* 2025, 104:104909. https://doi.org/ /10.1016/j.psj.2025.104909
5. KIŠŠOVÁ, Z., et al. Immunomodulatory effect of *Lactobacillus reuteri* (*Limosilactobacillus reuteri*) and its exopolysaccharides investigated on epithelial cell line IPEC-J2 challenged with *Salmonella* Typhimurium. In *Life (Basel).* 2022, 12(12):1955. https://doi.org/10.3390/ life12121955
6. LONG, S., et al. Effects of dietary fatty acids from different sources on growth performance, meat quality, muscle fatty acid deposition, and antioxidant capacity in

broilers. In *Animals* [online]. 2020, 10:3. ISSN 20762615. https://doi.org/10.3390/ani10030508

7. MÁTIS, G., et al. Immunomodulatory properties of chicken cathelicidin-2 investigated on an ileal explant culture. In *Vet. Res. Commun.* 2024, 48(4):2527-2535. https://doi.org/10.1007/s11259-024-10428-7
8. NASH, T., and VERVELDE, L. Advances, challenges and future applications of avian intestinal *in vitro* models. In *Avian Pathol.* 2022, 51(4):317-329. https://doi.org/10.1080/03079457.2022.2084363
9. OECD and FAO. OECD-FAO Agricultural Outlook 2021-2030. Paris: OECD Publishing. 2021. https://doi.org/10.1787/19428846-en
10. PETERSON, L. W., and ARTIS, D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. In *Nature. Rev. Immunol.* 2014, 14(3):141–153. https://doi.org/10.1038/nri3608
11. SWAGGERTY, C. L., et al. Selection for pro-inflammatory mediators yields chickens with increased resistance against *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. In *Poult. Sci.* 2014, 93(3):535-544. https://doi.org/10.3382/ps.2013-03559
12. TRKOV, M. and AVGUSTIN, G. An improved 16S rRNA based PCR method for the specific detection of *Salmonella enterica.* In *Int. J. Food. Microbiol.* 2003, 80(1):67-75. https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00138-1
13. ZHANG, T., et al. *Salmonella enterica* serovar Enteritidis modulates intestinal epithelial miR-128 levels to decrease macrophage recruitment via macrophage colony-stimulating factor. In *J. Infect. Dis*. 2014, 209(12):11. https://doi.org/10.1093/infdis/jiu006

Kontaktná adresa: Kiššová Zuzana, Department of Morphological Disciplines, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: zuzana.kissova@uvlf.sk

STANOVENIE DOBY TRVANLIVOSTI POTRAVINÁRSKYCH VÝROBKOV

SHELF - LIFE DETERMINATION OF FOOD PRODUCTS

Klempaiová Monika, Cabanová Lenka

Veterinárny a potravinový ústav, Jánoškova 1611/58, 026 01 Dolný Kubín

ABSTRACT

Nowadays, consumers are increasingly demanding high food quality, and they have corresponding expectations that the quality of their food will be maintained at a high level during the period between purchase and consumption. Shelf life studies must be carried out only when foods are correctly processed, packed, and stored, ready for purchase and consumption. A properly set shelf life protects the manufacturer from complaints, protects the health of the consumer, but also prevents waste and premature disposal of food that is still suitable for consumption.

Key words: shelf-life, food products, analysis, microbial activity, storage.

ÚVOD

Vo všeobecnosti môžeme potravinárske výrobky klasifikovať do troch skupín:

1. *Rýchlokaziace sa potraviny* (čerstvé mlieko, čerstvé mäso, chladené hotové jedlá, minimálne opracované ovocie a zelenina). Tieto potraviny majú veľmi krátku trvanlivosť, podliehajú mikrobiologickému a/alebo enzymatickému znehodnoteniu. Mikrobiologické vyšetrenia za účelom stanovenia trvanlivosti sa vykonávajú každý deň, celková dĺžka testu býva napr. 1 týždeň.
2. *Polotrvanlivé potraviny* (pasterizované mlieko, mäsové výrobky, syry a niektoré pekárske výrobky). Ide o výrobky s krátkou až strednou dobou trvanlivosti, môžu obsahovať zložky s konzervačným účinkom alebo ich výroba zahrňuje metódy konzervácie. Testovanie trvá 2–4 týždne a vyšetrenia sa vykonávajú v dňoch 0, 7, 14, 21, 28 a 35.
3. *Trvanlivé potraviny* (sušené výrobky, konzervy a zmrazené potraviny). Ide o výrobky so stredne až dlhou trvanlivosťou, ktoré prešli tepelným procesom alebo sú udržované v špecifických podmienkach. Vyšetrenia sa vykonávajú napr. v mesiacoch 0, 1, 2, 3, 6, 12 a 18.

Trvanlivosť je všeobecne definovaná ako doba, počas ktorej je výrobok:

- bezpečný,

- má zachované požadované senzorické, chemické, fyzikálne a mikrobiologické vlastnosti,
- prijateľný pre spotrebiteľa.

Stanovenie doby trvanlivosti zahŕňa sledovanie rastu a aktivity mikroorganizmov, ako sú baktérie, kvasinky a plesne, aby sa zabezpečilo, že populácie mikroorganizmov zostávajú kontrolované a nedosahujú úroveň, ktoré by ohrozovala bezpečnosť alebo kvalitu potravinárskeho výrobku. Trvanlivosť výrobku začína dňom výroby príp. dátum balenia do finálneho obalu.

Celková trvanlivosť výrobku závisí od:

- kvality zložiek a surovín,
- výrobného procesu,
- receptúry výrobku,
- balenia,
- skladovacích podmienok.

Trvanlivosť je hodnotená pomocou mikrobiologických parametrov, chemických alebo fyzikálnych zmien potravín a senzorických testov. Hlavné príčiny znehodnotenia potravín možno pripísať fyzikálnym, chemickým a mikrobiologickým zmenám počas skladovania. Fyzikálne zmeny môžu nastať v dôsledku nesprávneho zaobchádzania s potravinami počas spracovania, zatiaľ čo k chemickým zmenám dochádza v dôsledku enzymatického pôsobenia, ktoré je vysoko závislé od teploty a prebieha rýchlo so zvyšovaním sa teploty. Kyslík, voda a pH sú tiež premenné, ktoré určujú enzymatické, ako aj mikrobiologické aktivity.

METODIKA

Je potrebné, aby potravina alebo výrobok, u ktorého sa stanovuje skúška trvanlivosti, bol do laboratória zaslaný za nasledovných podmienok :

1. Výrobok musí byť v náhradnom alebo originálnom obale zabalený tak, ako sa bude ponúkať konečnému spotrebiteľovi.

2. Na vyšetrenie je potrebné dodať dostatočné množstvo balení, hneď po ukončení výroby ale po zabalení do obalu. Podľa predpokladanej doby trvanlivosti je potrebné pripraviť jednotlivé balenia tak, aby bolo možné v každom nasledovnom dni vyšetrenia použiť samostatné neotvorené balenie. V každý deň vyšetrenia samostatného balenia je vykonávané senzorické hodnotenie a podľa povahy výrobku aj mikrobiologické analýzy. V prípade, že výrobok vykazuje senzorické zmeny oproti pôvodnému stavu, vyšetrenie sa ukončuje.

3. Výrobca musí poskytnúť všetky relevantné informácie : dátum výroby (príp. balenia), spôsob uchovávania potraviny, predpokladaný dátum spotreby. Výsledky zo všetkých vyšetrení sa sumarizujú po ukončení záverečných vyšetrení a do finálneho protokolu o skúške sa uvedú všetky podmienky, za ktorých vyšetrenia prebiehali.

4. Protokol o skúške na trvanlivosť je platný dovtedy, pokiaľ nedôjde k zmene technologického postupu alebo podmienok skladovania.

ZÁVER

S ohľadom na v dnešnej dobe všade skloňovanú udržateľnosť je určenie správnej doby trvanlivosti potravinárskych výrobkov dôležité k zamedzeniu plytvania potravinami za súčasného zachovania kvality a minimalizácie rizika ohrozenia zdravia spotrebiteľov. Pre nastavenie trvanlivosti a jej správneho označenia na etikete výrobku je potrebné zvoliť vhodnú metodiku a odpovedajúcu interpretáciu výsledkov testov s ohľadom na technológiu výroby, zloženia výrobku, jeho balenia a očakávané zmeny v priebehu skladovania.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. CORRADINI, M. G. Shelf Life of Food Products: From Open Labeling to Real-Time Measurements. *Annual Review of Food Science and Technology* 2018. 9:251–69, https://doi.org/10.1146/annurev-food-030117-012433
2. ČÍŽKOVÁ, H. – ŠÍSTKOVÁ, I. Metody stanovení a predikce trvanlivosti potravinářskych výrobků. *Chem. Listy* 118, 211–219 (2024). https://doi.org/10.54779/chl20240211
3. ESPINOZA-TELLEZ, T. - QUEVEDO-LEÓN, R. - DIAZ-CARRASCO, O. Review: Indicator values for food shelf life prediction. *Scientia Agropecuaria* 15(3): 429-448 (2024).
4. PHIMOLSIRIPOL, Y. - SUPPAKUL, P. Techniques in Shelf Life Evaluation of Food Products, *Reference Module in Food Science*, First Edition, 2016, 1–8. http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03293-5
5. TARLAK, F. Review: The Use of Predictive Microbiology for the Prediction of the Shelf Life of Food Products. *Foods* 2023, 12, 4461. https://doi.org/10.3390/foods12244461

Kontaktná adresa: Ing. Monika Klempaiová, PhD, odbor Hygieny Potravín, Veterinárny a potravinový ústav, Jánoškova 1611/58, 02601 Dolný Kubín, monika.klempaiová@svpu.sk

VPLYV VYBRANÝCH HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA ZMENY V RELATÍVNEJ GÉNOVEJ EXPRESII PRE VYBRANÉ ANTIMIKROBIÁLNE PEPTIDY U VČELY MEDONOSNEJ

EFFECT OF SELECTED HUMIC SUBSTANCES ON CHANGES IN RELATIVE GENE EXPRESSION FOR SELECTED ANTIMICROBIAL PEPTIDES IN HONEY BEES

Kollár Moskáľová Lenka, Ratvaj Marek, Chomová Natália, Mudroňová Dagmar

Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

Antimicrobial peptides (AMPs) represent one of the components of the innate immune response in *Apis melifera*. Since the honey bee does not possess acquired immunity, it has evolved this effective defence mechanism against pathogens. In general, AMPs exhibit a broad spectrum of antimicrobial or antifungal activities (Danihlik et al., 2018; Morfin et al., 2021). As there is a ban on the use of antibiotic products in bee farms in the European Union (Maruscakova et al., 2020), emphasis is placed on the use of suitable alternatives for both treatment and prevention. Humic substances (HS) are substances of natural origin and are widely used in veterinary medicine, but their impact on bee health and immunity has not been sufficiently investigated to date. In our experiments, we focused on testing two selected HS (HUMAC® Natur AFM Liquid and HUMAC® Natur AFM) in different concentrations on changes in relative gene expression for selected AMPs (abaecin, apidaecin and defensin-1). Based on the results, we found that HUMAC® Natur AFM Liquid significantly affected the relative gene expression for apidaecin and defensin-1 by reducing them, which could be due to the potential of HS to reduce and reshape the microbial abundance in the gut of bees. However, we did not observe this phenomenon when using the second tested HS.

Key words: *Apis mellifera,* Humic substances, Antimicrobial peptides

ÚVOD

Včela medonosná predstavuje jedného z najvýznamnejších opeľovačov v celosvetovom meradle (Garibaldi et al., 2013). Opeľovače poskytujú dôležitú ekosystémovú službu tým, že zohrávajú kľúčovú funkčnú úlohu pri udržiavaní spoločenstiev voľne rastúcich rastlín aj poľnohospodárskej produktivity (Potts et al., 2016). Včelstvo nezohráva úlohu len ako opeľovač, ale aj ako významný producent rôznych včelích produktov, ktoré sú hojne využívané

nielen v potravinárskom priemysle a medicíne, ale aj v kozmetickom priemysle (Ashagrie Tafere, 2021). Avšak v dnešnej dobe na včelu pôsobia rôzne negatívnej faktory abiotického a biotického pôvodu (Neov a kol., 2019).

Nakoľko hmyz vo všeobecnosti nedisponuje adaptívnou/získanou imunitou, jeho vrodený imunitný systém sa vyvinul veľmi efektívne (Larsen a kol., 2019). Jednu zo zložiek vrodenej imunitnej odpovede predstavujú aj AMPs (Danihlík a kol., 2015). AMPs patria do rôznorodej skupiny molekúl s rôznymi antimikrobiálnymi účinkami (Wimley a Hristova, 2011). Opísaných bolo približne 1000 rozličných AMPs, u rôznych živočíšnych druhov, pričom 200 z nich u hmyzu. Medzi AMPs zaraďujeme napr. apidaecíny, hymenoptaecín, abaecíny a defenzíny, ale aj jelleíny, apisimin, či mellitín. V hemolymfe nachádzame AMPs ako apidaecín, hymenoptaecin a defenzín (Danihlík a kol., 2015).

AMP sú vo svojej podstate proteíny s 12 až 50 aminokyselinami, ktoré sa po syntéze v tukovom telese, pokožke a epitelových tkanivách čreva uvoľňujú do hemolymfy počas bakteriálnych, plesňových alebo vírusových infekcií (Morfin et al., 2021).

Expresia génov AMPs môže byť spustená mikrobiálnou záťažou prostredníctvom signálnych dráh Toll, IMD-JNK alebo JAK/STAT. AMP vykazujú široké spektrum antimikrobiálnych alebo antifungálnych aktivít (Danihlík a kol., 2018).

Keďže v EÚ je nulová tolerancia rezíduí antibiotík vo včelích produktoch, najmä v mede, je ich používanie na liečbu alebo prevenciu infekčných chorôb zakázané, čo je spojené s vysokými hospodárskymi stratami (Maruščáková et al., 2020). V dôsledku tohto nariadenia sa pristupuje k výskumu a používaniu alternatívnych liečiv a látok prírodného pôvodu ako napríklad esenciálne oleje, probiotické prípravky a iné. HL sú vysokomolekulové organické zlúčeniny tmavej farby (čiernej až tmavohnedej), ktoré majú prevažne hydrofóbny charakter (Islam a kol., 2005). Vznikajú počas chemickej a mikrobiálnej oxidácie známej ako humifikácia, čo je proces, pri ktorom sa zvyšky živých organizmov premieňajú na stabilné organické látky (Hriciková a kol., 2023).

Humínové látky (HL) nachádzajú uplatnenie nielen vo veterinárnej medicíne a poľnohospodárstve, ale čoraz častejšie sa skúma ich potenciál aj v humánnej medicíne. Sú oceňované predovšetkým pre svoje detoxikačné schopnosti (napr. viazanie ťažkých kovov a toxínov v črevách), ako aj antibakteriálne, antivirotické a imunomodulačné účinky (Mudroňová et al., 2020). O účinkoch HL na včely je však veľmi málo vedomostí, a preto cieľom tejto práce bolo študovať vplyv podávania HUMAC® Natur AFM Liquid na imunitnú odpoveď včiel medonosných, ktorá bola hodnotená aj na základe relatívnej génovej expresie pre AMPs.

MATERIÁL A METODIKA

Včely boli počas oboch samostatných experimentov umiestnené v nerezových klietkach v laboratórnych podmienkach pri teplote 34 °C. Prvá experimentálna skupina bola kŕmená cukrovým sirupom s prídavkom 0,6% HL (HUMAC® Natur AFM Liquid, Humac s.r.o., Košice, SR). Experiment trval 7 dní, pričom včely boli rozdelené do 6 kontrolných a 6 HL skupín. Druhej experimentálnej skupine bola podávaná HL HUMAC® Natur AFM (Humac s.r.o., Košice, SR), taktiež spolu so sirupom v prídavku HL 0,6% počas 5 dní, pričom včely boli rozdelené do 3 kontrolných a 3 HL ošetrených skupín. Kontrolnej skupine bol podávaný cukrový roztok počas oboch experimentov.

Po odbere bola zo vzoriek čriev izolovaná RNA pomocou kitu Omega E-Z Total RNA Kit (Omega Bio-tek, Norcross, GA, USA). Po izoláci RNA nasledoval jej prepis do cDNA s využitím kitu Quantitect Reverse Transcription Kit (Qiagen, Hilden, Germany). Kvantitatívna PCR bola vykonaná s využitím master mix : Luna® Universal. qPCR Master Mix (New England Biolabs, Ipswich, USA) podľa výrobcom uvedeného protokolu na zariadení Biorad CFX96 (BioRad, USA). Súčasťou každej reakcie bola DNA štandarda a účinnosť reakcie bola 100% ± 10%. Primery použité pre reakcie sú uvedené v tabuľke č.1.

Relatívna génová expresia bola hodnotená ako ΔΔCt (± sd) pomocou CFX96 Manager softwéru (BioRad, USA), pričom ako referenčné gény boli použité *gapdh, rps18 a rpl13a* (tab. č. 1).

Tabuľka č. 2, Použité primery

Primer	***Forward***	***Revers***	***Zdroj:***
abaecín	CAGCATTCGCGTATGTACCA	GACCAGGAAACGTTGGAAAC	(Cizelj a kol., 2016)
apidaecín	TTTTGCCTTAGCAATTCTTGTTG	GAAGGTCGAGTAGGCGGATC T	(Shi a kol., 2018)
defenzín - 1	TGTCGGCCTTCTCTTCATGG	TGACCTCCAGCTTTACCCAAA	(Khongphinitbunjong a kol., 2015)
gapdh	GATGCACCCATGTTTGTTTG	TTTGCAGAAGGTGCATCAAC	(Scharlaken a kol., 2008)
rps18	GATTCCCGATTGGTTTTTGA	CCCAATAATGACGCAAACCT	(Scharlaken a kol., 2008)
rpl13a	TGGCCATTTACTTGGTCGTT	GAGCACGGAAATGAAATGGT	(Scharlaken a kol., 2008)

Štatistické vyhodnotenie

Štatistické vyhodnotenie bolo vykonané pomocou nepárového T-testu (štatistický softvér GraphPad Prism 8.0). Hodnoty líšiace sa na hladine významnosti $P < 0,05$ boli považované za štatisticky významné.

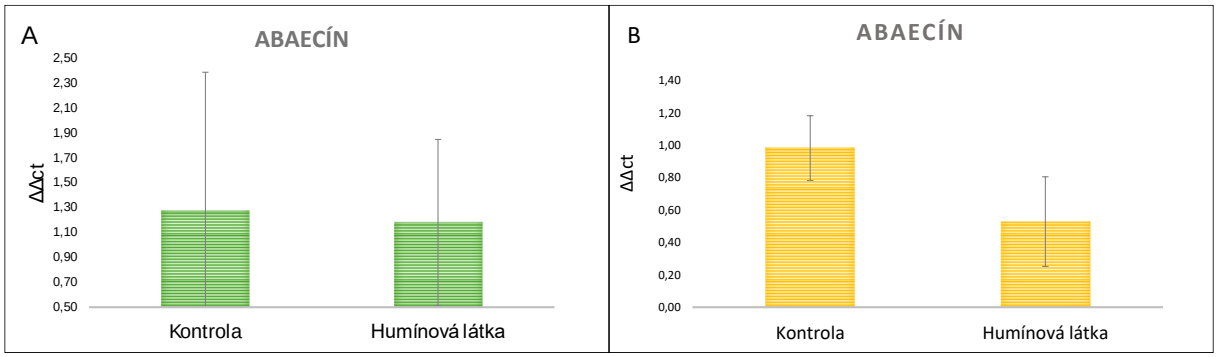
VÝSLEDKY A DISKUSIA

V našom experimente, sme sa zamerali na zmeny v génovej expresii pre vybrané AMPs (abaecín, apidaecín, defenzín-1) po aplikácii dvoch rozličných HL, a to HUMAC® Natur AFM Liquid, (Humac s.r.o., Košice, SR), ktorá bola kvapalného skupenstva a HUMAC® Natur AFM (Humac s.r.o., Košice, SR), ktorá bola tuhého skupenstva. Obe vybrané HL boli aplikované včelám spolu s cukrovým roztokom v prídavku 0,6%.

AMP predstavujú kľúčové zložky vrodenej imunity známe svojou rýchlou, silnou a širokospektrálnou mikrobicídnou aktivitou. Po ich syntéze v tukovom telese, pokožke alebo epitelových tkanivách čreva sa v prípade bakteriálnej, vírusovej či plesňovej infekcie uvoľňujú do hemolymfy, kde pôsobia ako efektívne obranné molekuly. Ich mechanizmus účinku spočíva najmä v priamej interakcii s mikrobiálnymi membránami – katiónová doména AMP cielene viaže záporný povrch mikroorganizmov, zatiaľ čo hydrofóbna doména zabezpečuje destabilizáciu membrány alebo penetráciu do bunky. Výsledkom je buď narušenie integrity membrány, alebo translokácia peptidu do intracelulárneho priestoru, kde môžu ovplyvniť vnútrobunkové ciele patogénu (Kwakman a kol., 2011; Morfin a kol., 2021).

Počas nášho testovania sme zistili, že obe testované HL nemali signifikantný vplyv na zmenu relatívnej génovej expresie pre abaecín (Obrázok č. 1).

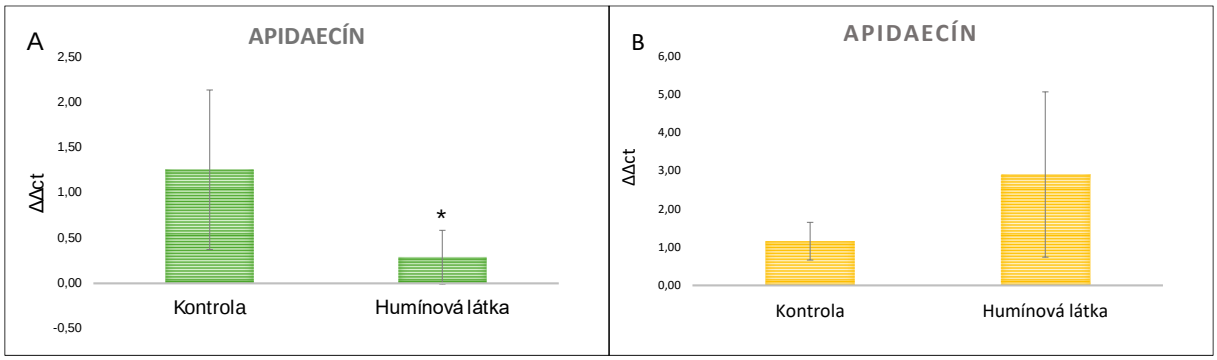
Obrázok č. 1, Vplyv HL na relatívnu génovú expresiu pre Abaecín po aplikácii: A) HUMAC® Natur AFM Liquid a B) HUMAC® Natur AFM



Avšak pre relatívnu génovú expresiu pre apidaecín, sme zaznamenali signifikantný pokles v géne kódujúcom apidaecín pri použití HL HUMAC® Natur AFM Liquid (Obrázok č.

2). Pre HUMAC® Natur AFM (tuhé skupenstvo) sme nezaznamenali, žiadne signifikantné pre testovaný gén.

Obrázok č. 2, Vplyv HL na relatívnu génovú expresiu pre Apidaecín po aplikácii: A) HUMAC® Natur AFM Liquid a B) HUMAC® Natur AFM



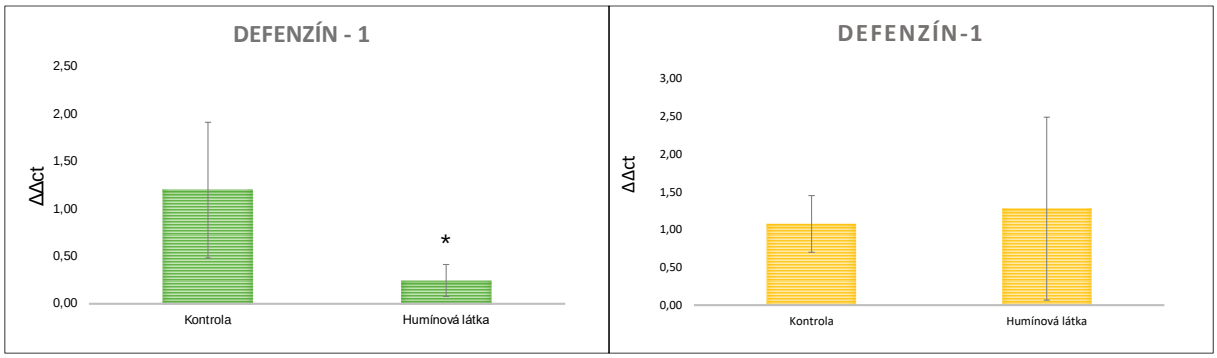
***** - signifikantný rozdiel oproti kontrole, kde $p < 0,05$

Pre gén kódujúci defenzín-1, sme zaznamenali signifikantný pokles v relatívnej génovej expresii pri použití HUMAC® Natur AFM Liquid (Obrázok č. 3). Avšak po aplikácii HUMAC® Natur AFM sme významné zmeny nezaznamenali, rovnako ako v prípade génov kódujúcich apiaecín a abaecín. Naše výsledky poukazujú na fakt, tekutý prípravok HUMAC® Natur AFM Liquid, signifikantne ovplyvňuje zmeny relatívnej génovej expresie pre gény kódujúce apiaecín a defenzín-1, čo by mohlo nastať najmä v dôsledku potenciálu HL znižovať bakteriálne patogény priamo v čreve včely. Tieto zmeny sme však nezaznamenali pri testovaní HUMAC® Natur AFM, čo mohlo byť spôsobené aj v dôsledku kratšieho času aplikácie HL, ako aj jej odlišným skupenstvom. Avšak môžeme konštatovať, že obe skúmané HL nezaťažovali organizmus včiel nadmernou stimuláciou imunitného systému. V experimentálnej štúdii Tunça a kol., (2021), zameranej na vplyv HL na zdravie a produktivitu včelstiev, sa zistilo, že aplikácia humátu sodného v koncentrácii 10 ml/l viedla k signifikantnému zvýšeniu produkcie včelieho plodu a medných výnosov v porovnaní s neošetrenými kontrolnými skupinami. Naproti tomu, aplikácia vysokej koncentrácie (50 ml/l) mala negatívny dopad na oba sledované parametre, čo naznačuje existenciu optimálneho dávkovacieho rozsahu.

Štúdia Rumyantseva a kol., (2023) preukázala, že suplementácia 0,1 ml kyseliny fulvovej na 200 ml 60 % roztoku sacharózy významne predĺžila životnosť včiel v porovnaní s kontrolnou skupinou bez prídavku kyseliny fulvovej. Aplikácia vyššej dávky (0,2 ml/200 ml) však neviedla k štatisticky významnému zlepšeniu prežívania, čo poukazuje na možný nelineárny alebo dávkovo limitovaný účinok látky. Prehľadová práca Yilmaza a Dizmana, (2023) identifikuje potenciál HL v terapeutickom manažmente parazitóz, najmä infekcie

spôsobenej roztočom *Varroa destructor*, ako aj ďalších patogénov ovplyvňujúcich zdravie včelstiev.

Obrázok č. 3, Vplyv HL na relatívnu génovú expresiu pre Defenzín-1 po aplikácii: A) HUMAC® Natur AFM Liquid a B) HUMAC® Natur AFM



***** - signifikantný rozdiel oproti kontrole, kde $p < 0,05$

ZÁVER

Humínové látky, ako látky prírodného pôvodu predstavujú prijateľnú alternatívu prevencie a terapie u rôznych druhov zvierat. Avšak ich vzťah k imunite a zdraviu včiel medonosných nie je dodnes dostatočne preskúmaný. Na základe našich výsledkov, môžeme konštatovať, že nami testované HL nadmerne nezaťažovali imunitný systém stimulovaním génov pre nami testované AMPs. Taktiež môžeme konštatovať, že HUMAC® Natur AFM Liquid, signifikantne ovplyvňuje zmeny relatívnej génovej expresie pre gény kódujúce apiaecín a defenzín-1, čo by mohlo nastať najmä v dôsledku potenciálu HL znižovať bakteriálne patogény priamo v čreve včely, čo sme však nepotvrdili v prípade HUMAC® Natur AFM. Tento rozdiel vo výsledkoch mohol nastať aj v dôsledku rozličnej dĺžky testovania vybraných HL, ako aj v rozdielnosti ich skupenstva. Avšak celkový vplyv týchto látok naturálneho pôvodu si vyžaduje ďalšie testovania.

POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla v rámci riešenia projektu VEGA 1/0454/22.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ASHAGRIE TAFERE, D. Chemical composition and uses of Honey: A Review. In *Journal of Food Science and Nutrition Research* [online]. 2021, roč. 04, č. 03, s. 194–201. Dostupné na: doi:10.26502/jfsnr.2642-11000072
2. CIZELJ, I. a kol. Prochloraz and coumaphos induce different gene expression patterns

in three developmental stages of the Carniolan honey bee (Apis mellifera carnica Pollmann). In *Pesticide Biochemistry and Physiology* [online]. 2016, roč. 128, s. 68–75. ISSN 10959939. Dostupné na: doi:10.1016/j.pestbp.2015.09.015

3. DANIHLÍK, J. a kol. Antimicrobial peptides: A key component of honey bee innate immunity. In *Journal of Apicultural Research* [online]. 2015, roč. 54, č. 2, s. 123–136. ISSN 20786913. Dostupné na: doi:10.1080/00218839.2015.1109919
4. DANIHLÍK, J. a kol. Does the pollen diet influence the production and expression of antimicrobial peptides in individual honey bees? In *Insects* [online]. 2018, roč. 9, č. 3, s. 1–12. ISSN 20754450. Dostupné na: doi:10.3390/insects9030079
5. GARIBALDI, L.A. a kol. Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. In *Science* [online]. 2013, roč. 340, č. 6127, s. 1608–1611. ISSN 10959203. Dostupné na: doi:10.1126/SCIENCE.1230200/SUPPL_FILE/GARIBALDI.SM.PDF
6. HRICIKOVÁ, S. a kol. Humic Substances as a Versatile Intermediary. In *Life* [online]. 2023, roč. 13, č. 4, s. 1–25. ISSN 20751729. Dostupné na: doi:10.3390/life13040858
7. ISLAM, K.M.S. a kol. Humic Acid Substances in Animal Agriculture. In *Pakistan Journal of Nutrition* [online]. 2005, roč. 4, č. 3, s. 126–134. ISSN 16805194. Dostupné na: doi:10.3923/pjn.2005.126.134
8. KHONGPHINITBUNJONG, K. a kol. Differential viral levels and immune gene expression in three stocks of Apis mellifera induced by different numbers of Varroa destructor. In *Journal of Insect Physiology* [online]. 2015, roč. 72, s. 28–34. ISSN 00221910. Dostupné na: doi:10.1016/j.jinsphys.2014.11.005
9. KWAKMAN, P.H.S. a kol. Medical-grade honey enriched with antimicrobial peptides has enhanced activity against antibiotic-resistant pathogens. In *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* [online]. 2011, roč. 30, č. 2, s. 251–257. ISSN 09349723. Dostupné na: doi:10.1007/s10096-010-1077-x
10. LARSEN, A. a kol. Fundaments of the honey bee (Apis mellifera) immune system. Review. In *Revista mexicana de ciencias pecuarias* [online]. 2019, roč. 10, č. 3, s. 705–728 [cit. 7. august 2023]. ISSN 2007-1124. Dostupné na: doi:10.22319/RMCP.V10I3.4785
11. MARUŠČÁKOVÁ, I.C. a kol. Effect of Application of Probiotic Pollen Suspension on Immune Response and Gut Microbiota of Honey Bees (Apis mellifera). In *Probiotics and Antimicrobial Proteins* [online]. 2020, roč. 12, č. 3, s. 929–936. ISSN 18671314. Dostupné na: doi:10.1007/s12602-019-09626-6
12. MORFIN, N. a kol. Honey Bee (Apis mellifera) Immunity. In *Veterinary Clinics of*

North America - Food Animal Practice [online]. 2021, roč. 37, č. 3, s. 521–533. ISSN 07490720. Dostupné na: doi:10.1016/j.cvfa.2021.06.007

13. NEOV, B. a kol. Biotic and abiotic factors associated with colonies mortalities of managed honey bee (Apis mellifera). In *Diversity* [online]. 2019, roč. 11, č. 12, s. 1–16. ISSN 14242818. Dostupné na: doi:10.3390/d11120237
14. POTTS, S.G. a kol. Safeguarding pollinators and their values to human well-being. In *Nature* [online]. 2016, roč. 540, č. 7632, s. 220–229. ISSN 14764687. Dostupné na: doi:10.1038/nature20588
15. RUMYANTSEV, V.A. a kol. Influence of Fulvic Acid on the Increase in Lifespan and the Physiological State of Bees. In *Doklady Earth Sciences* [online]. 2023, roč. 512, č. 1, s. 902–906. ISSN 15318354. Dostupné na: doi:10.1134/S1028334X23601165
16. SCHARLAKEN, B. a kol. Reference gene selection for insect expression studies using quantitative real-time PCR: The head of the honeybee, Apis mellifera, after a bacterial challenge. In *Journal of Insect Science* [online]. 2008, roč. 8, č. 33, s. 1–10. ISSN 15362442. Dostupné na: doi:10.1673/031.008.3301
17. SHI, T. a kol. Effects of field-realistic concentrations of carbendazim on survival and physiology in forager honey bees (Hymenoptera: Apidae). In *Journal of Insect Science* [online]. 2018, roč. 18, č. 4, s. 1–5. ISSN 15362442. Dostupné na: doi:10.1093/jisesa/iey069
18. TUNÇ, M.A. a kol. The effects of supplemental feeding with sodium humate on the performance of honey bee colonies (Apis Mellifera L.). In *Uludag Aricilik Dergisi* [online]. 2021, roč. 20, č. 2, s. 181–188. ISSN 13030248. Dostupné na: doi:10.31467/uluaricilik.793952
19. WIMLEY, W.C. a kol. Antimicrobial peptides: Successes, challenges and unanswered questions. In *Journal of Membrane Biology* [online]. 2011, roč. 239, č. 1–2, s. 27–34. ISSN 14321424. Dostupné na: doi:10.1007/s00232-011-9343-0
20. YILMAZ, R.F. a kol. The use of humic acids in the fight against Varroa destructor (Mesostigmata: Varroidae). In *Acarological Studies* [online]. 2023, roč. 5, č. 1, s. 1–10. Dostupné na: doi:10.47121/acarolstud.1146616

Kontaktná adresa: Kollár Moskáľová Lenka, Department of Microbiology and Imunology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: lenka.moskalova@student.uvlf.sk

POROVNANIE FYZIKÁLNYCH A CHEMICKÝCH VLASTNOSTÍ JEDNODRUHOVÝCH A VIACDRUHOVÝCH KVETOVÝCH MEDOV

COMPARISON OF PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF SINGLE-SPECIES AND MULTI-SPECIES FLOWER HONEYS

Korénekova Beáta, Kožárová Ivona, Jevinová Pavlína

Katedra hygieny technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

The aim of the study was to compare 10 single-species flower honeys and 10 multi-species honeys for selected physical and chemical parameters. The samples were analysed according to Harmonised methods of the International Honey Commission for these parameters - water content, dry matter content, active acidity, titratable acidity, and honey conductivity. The results show a higher water content and higher values of active acidity in single-species flower honeys. On the other hand, a higher dry matter content, titratable acidity and conductivity in multi-species flower honeys. All analysed honeys fulfilled the legislative criteria.

Key words: honey, physical, chemical, properties

ÚVOD

Med je hustá, vysoko energetická prírodná látka vyrobená z nektáru kvetov, ktorý včely zbierajú a enzymaticky ho transformujú hydrolýzou sacharózy a odparovaním vody, čo vedie k charakteristickému zloženiu medu a jeho fyzikálno-chemickým vlastnostiam (Abu-Jdayil et al. 2002). Med získaný z nektáru kvetov sa môže vyskytovať ako jednodruhový alebo viacdruhový. Jednodruhové kvetové medy pochádzajú z nektáru len jednej rastliny a zaraďujeme sem med lipový, agátový, repkový, malinový a iné. Tieto jednodruhové medy majú jedinečnú vôňu a chuť a sú považované za vysoko kvalitné prírodné produkty a hodnotnejšie ako viacdruhové medy. Jednodruhové medy môžu mať rôzne funkčné vlastnosti v dôsledku prítomnosti rozmanitých zložiek (Karabagias et al. 2014). Na druhej strane viacdruhové kvetové medy nemajú prítomný žiaden typ dominantného peľu na základe ktorého sa určuje typ medu a rýchlejšie kryštalizujú. Metóda, ktorá sa používa na identifikáciu peľových zŕn v mede sa nazýva melissopalynologická analýza (Oroian a Ropciuc 2017). Na trhu sa viacdruhové medy vyskytujú častejšie ako jednodruhové medy a patria k najrozšírenejším a cenovo najprístupnejším medom. Medzi viacdruhové kvetové medy patrí kvetový med, lúčny med a med ovocný. Medy sa odlišujú svojim chemickým zložením, fyzikálnymi vlastnosťami,

senzorickými vlastnosťami ako aj terapeutickými účinkami. Med sa skladá najmä z fruktózy a glukózy, vody, proteínov, enzýmov, aminokyselín, lipidov, vitamínov, prchavých zlúčenín, fenolových kyselín, flavonoidov a minerálov (Hossain et al. 2023). Na hodnotenie kvality medu sa používajú fyzikálne a chemické faktory, ako je napr. obsah vody, sušiny, cukrov, titračná kyslosť, hodnota pH, elektrická vodivosť a iné (Tirfie, 2024). Cieľom práce bolo porovnať vybrané fyzikálne a chemické vlastnosti slovenských jednodruhových a viacdruhových kvetových medov a zistiť, či spĺňajú legislatívne požiadavky na kvalitu a vhodnosť pre uvedenie na trh.

MATERIÁL A METODIKA

Na fyzikálnu a chemickú analýzu vzoriek sme použili celkovo 20 vzoriek kvetových medov. Vyšetrených bolo 10 vzoriek jednodruhových kvetových medov, ktoré pochádzali od prvovýrobcov zo Slovenska (3 agátové medy, 4 repkové medy, 1 med malinový, 1 pohánkový a 1 lipový) a 10 vzoriek viacdruhových kvetových medov zo spotrebiteľskej siete. V týchto medoch sme stanovili chemické parametre ako sú obsah vody, sušiny a fyzikálne parametre ako hodnotu pH, titračnú kyslosť a elektrickú vodivosť medu. Na prípravu vzoriek a ich analýzu sme použili Harmonizované metódy Medzinárodnej komisie pre med, (2022). Na stanovenie hodnôt pH v 10 % roztokoch medu sme použili digitálny pH meter Mettler Toledo s elektródou. Titráciu vzorky medu v tomto roztoku medu sme urobili s použitím NaOH a indikátora fenolftaleínu až do bodu ekvivalencie. Získanú titračnú kyslosť medu sme prepočítali na hodnoty meq/kg medu. Obsah vody sme zistili refraktometricky. Na hranol refraktometra sme naniesli tenkú vrstvu medu. Oproti svetlu sme priamo zo stupnice odčítali množstvo vody v percentách. Množstvo sušiny v mede v percentách sme zistili po odčítaní obsahu vody od 100. Elektrickú vodivosť sme stanovovali v 20 % roztokoch vzoriek medov za použitia konduktometra WTW Vario Cond, TetraCon® 325.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Glukóza a fruktóza sú hlavné cukry v mede a predstavujú viac ako 70 % zloženia medu (Islam et al. 2020). Podľa Vyhlášky MPRV SR č. 41/2012 o mede by obsah sacharózy v mede nemal presiahnuť 5 g/100 g. Množstvo sušiny v mede nie je vymedzené legislatívou. Veľká časť sušiny je zložená zo sacharidov. V tabuľke č. 1 je uvádzame obsah sušiny v analyzovaných jednodruhových kvetových medoch, ktorý bol 80,98 ± 0,67 %, kým vo viacdruhových kvetových medoch bol signifikantne vyšší ($p \leq 0,01$) obsah sušiny a to 85,35 ± 0,62.

Druhým najdôležitejším a najviac zastúpeným komponentom medu je voda. Jej obsah sa môže pohybovať od 15 – 23 % v závislosti od klimatických podmienok, vlhkosti a teplote v úli, rastlinného pôvodu, stupňa zrelosti medu v úli, technického spracovania a podmienok skladovania medu (Yucel a Sultanoglu, 2013). Medy, ktorých vlhkosť je vyššia ako 18 % sú náchylné na kvasenie. Obsah vody v mede môže ovplyvniť farbu, kryštalizáciu, viskozitu, chuť a hustotu medu, nakoľko med je veľmi hygroskopický, a teda dokáže pohlcovať vlhkosť. Preto je dôležité zabrániť absorpcii vlhkosti z prostredia počas spracovania a balenia medu (Machado De-Melo et al. 2017).

V tabuľke č. 1 je uvádzame aj priemerný obsah vody u jednotlivých analyzovaných vzoriek, ktorý v jednodruhových medoch bol signifikantne vyšší ($p \leq 0,01$) a to 19,02 ± 0,70 % než u viacdruhových medoch 17,65 ± 0,62. Legislatívnej požiadavke do 20 % obsahu vody v mede podľa Vyhlášky MPRV SR č. 41/2012 o mede, vyhovovali medy z oboch sledovaných skupín.

Tabuľka 1 Obsah vody a sušiny v % v jednodruhových a viacdruhových kvetových medoch

Štatistický parameter	Jednodruhové kvetové medy		Viacdruhové kvetové medy	
	Obsah vody	Sušina	Obsah vody	Sušina
X	19,02**	80,98	17,65	82,35**
SD	0,70	0,67	0,62	0,62
MIN	17,56	79,90	16,00	81,70
MAX	20,10	82,43	8,30	84,00

*** Signifikantné zmeny na hladine p≤0.01*

Kyslosť medu patrí medzi významné fyzikálne veličiny pri analýze medu. Nazývame ju tiež ako aktívna kyslosť, pod ktorou rozumieme priame meranie hodnoty pH medu. Na hodnotu pH medu má vplyv geografický a botanický pôvod, minerálne zloženie ako aj koncentrácia kyselín.

Vo všeobecnosti medovicové medy sú menej kyslé než medy kvetové a majú vyššie pH vďaka vysokému obsahu minerálnych látok, ktoré tlmia samotnú kyslosť medu (Burešová a kol. 2012). Kyslosť možno merať titráciou oproti ekvivalentom hydroxidu sodného. Vtedy hovoríme o titračnej, celkovej kyslosti (Yadata, 2014). Kyslosť medu zvyčajne spôsobujú organické kyseliny vyskytujúce sa vo všetkých medoch (kyselina glukónová, vínna, citrónová, šťaveľová, octová a iné), buď z nektáru alebo zo sekrétov včiel (Ball, 2007). Charakteristická

a jedinečná chuť medu pochádza najmä z organických kyselín, ktoré mu zároveň dodávajú kyslosť (Aurongzeb a Azim, 2011). Hodnota kyslosti súvisiaca s rovnováhou organických kyselín prirodzene prítomných v mede sa líši v závislosti od zdroja kvetov a druhu včiel (Sousa et al. 2016).

V tab. č. 2 uvádzame aktívnu kyslosť medu v jednodruhových kvetových medoch, ktorá bola signifikantne vyššia ($p \leq 0,05$) a to 4,28 ± 0,28 než vo viacdruhových kvetových medoch 3,91 ± 0,25. Pre kvetový med je príznačná hodnota pH medu od 3,5 do 4,5 (Bogdanov at al., 2016).

Tabuľka 2 Aktívna a titračná kyslosť v jednodruhových a viacdruhových kvetových medoch

Štatistický parameter	Jednodruhové kvetové medy		Viacdruhové kvetové medy	
	Aktívna kyslosť	Titračná kyslosť	Aktívna kyslosť	Titračná kyslosť
X	4,28*	15,15	3,94	18,46*
SD	0,28	3,02	0,25	3,15
MIN	3,99	10,33	3,47	15,00
MAX	4,81	20,00	4,33	23,00

** Signifikantné zmeny na hladine p≤0.05*

Titračná kyslosť bola vo viacdruhových kvetových medoch signifikantne vyššia ($p \leq 0,05$) 18,46 ± 3,15 než v jednodruhových kvetových medoch 15,15 ± 3,02. Podľa Vyhlášky MPRV SR č. 41/2012 o mede, by mal mať kyslosť všeobecne do 50 miliekvivalentov kyseliny na 1 kg medu.

Elektrická vodivosť je fyzikálna veličina, ktorá označuje schopnosť medu viesť elektrický prúd a závisí od obsahu minerálnych látok v mede. Je dôležitým fyzikálno - chemickým parametrom na overenie pravosti jednokvetých medov. Zároveň sa používa na rozlíšenie kvetových od medovicových medov. V tabuľke č. 3 uvádzame elektrickú vodivosť skúmaných medov. Elektrická vodivosť je u kvetových medov v priemere 0,37 mS/cm (Kivrak a kol. 2017).

Tabuľka 3 Elektrická vodivosť v jednodruhových a viacdruhových kvetových medoch

Štatistický parameter	Elektrická vodivosť (mS/cm)	
	Jednodruhové kvetové medy	Viacdruhové kvetové medy
X	0,26	0,35
SD	0,14	0,11

MIN	0,15	0,23
MAX	0,63	0,49

Elektrická vodivosť v jednodruhových kvetových medoch bola 0,26 ± 0,14 mS, kým vo viacdruhových kvetových medoch bola mierne vyššia 0,35 ± 0,11. Získané výsledky v oboch nami sledovaných skupinách medov boli nižšie ako udáva limit podľa Vyhlášky MPRV SR č. 41/2012 o mede, kde by elektrická vodivosť medu nemala presiahnuť 0,8 mS/cm, pre kvetový med.

ZÁVER

Zo získaných výsledkov vyplýva, že ani v jednom z meraných jednodruhových, alebo viacdruhových kvetových medoch získaných z obchodnej siete, či priamo od prvovýrobcov nebolo zaznamenané zvýšenie hodnôt fyzikálno - chemických parametrov na požadované legislatívne limity. Tento fakt svedčí o vysokej kvalite slovenských medov.

LITERATÚRA

1. ABU-JDAYIL, et al. Heat effect on rheology of light- and dark-colored honey, *Journal of Food Engineering*, vol. 51, 2002, p. 33-38.
2. AURONGZEB, M. – AZIM, M. K. Antimicrobial properties of natural honey: a review of literature. *Pakistan Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2011, vol. 44, no. 3, p. 118-124.
3. BALL, W.D. The Chemical Composition of Honey. *Journal of Chemical Education*, 2007, vol. 84, no. 10, p. 1643-1646.
4. BOGDANOV, S. *Physical Properties of Honey, Book of honey.* 2016, Chapter 4, p. 1-9.
5. BUREŠOVÁ, A.. *Fyzikálně-chemické vlastnosti medu* [online], 2012, p. 32-38, Dostupné na internete: <http://www.chempoint.cz/fyzikalne-chemickevlastnosti-medu >
6. HOSSAIN M.M. et al. *Carbohydrates in honey Honey: Composition and Health Benefits,* 2023, Chapter 3, p. 32-45.
7. INTERNATIONAL HONEY COMMISION, *Harmonised methods of the International Honey Commission,* Liebefeld: Swiss Bee Research Centre, 2002 (a-f).
8. ISLAM, M. K. et al. A validated method for the quantitative determination of sugars in honey using high-performance thin-layer chromatography. *Journal of Planat Chromatography - Modern TLC.* 2020, vol. 11, no. 33, p. 489-499.

9. KARABAGIAS, K. et al. Floral authentication of Greek unifloral honeys based on the combination of phenolic compounds, physicochemical parameters and chemometrics. *Food Research International.* 2014, vol. 62, p. 753-760.
10. KIVRAK, S. at al.: Characterization of Turkish honeys regarding of physicochemical properties, and their adulteration analysis. *Ciência Tecnol. Alim.* 2017, vol. 37, no. 1, p. 80-89.
11. MACHADO DE-MELO, A. A. et al. Composition and properties of Apis mellifera honey: A review. *Journal of Apicultural Research*, 2017, vol. 57, p. 1-33.
12. OROIAN, M. – ROPCIUC, S. Honey authentication based on physicochemical parameters and phenolic compounds. *Computers and Electronic Agriculture*, 2017, vol. 138, p. 148-156.
13. SOUSA, J. M. B., et al.: Sugar profile, physicochemical and sensory aspects of monofloral honeys produced by different stingless bee species in Brazilian semi-arid region. *Food Science and Technology*, 2016, vol. 65, 645-651.
14. TIRFIE A.M.: Honey physiochemical properties and factors associated with honey quality in Ethiopia: A review, *Animal and Veterinary Sciences*, vol. 12, no. 1, 2024, p. 11-18.
15. YADATA, D.: Detection of the electrical conductivity and acidity of honey from different areas of Tepi, *Food Science and Technology*. 2014, vol. 2, p. 59-63.
16. YUCEL, Y. – SULTANOGLU, P.: Characterization of honeys from Hatay Region by their physicochemical properties combined with chemometrics. *Food Bioscience*, 2013, vol. 1, p. 6–25.
17. VYHLÁŠKA č. 41/2012 Z. z. Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky z 26. Januára 2012 o mede

Kontaktná adresa: Koréneková Beáta, Department of Food Hygiene, Technology and Food Safety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: beata.korenekova@uvlf.sk

POUŽÍVANIE PROBIOTÍK V KONTEXTE PRODUKČNÉHO ZDRAVIA HYDINY

THE USE OF PROBIOTICS IN THE CONTEXT OF POULTRY PRODUCTION HEALTH

Koréneková Beáta, Kožárová Ivona

Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

The work deals with the use of probiotics as a supplement in poultry nutrition. It presents their impact on improving the microbial balance in the intestine and thus on poultry health and reducing poultry morbidity. It also points out the positive impact of probiotics on poultry growth, improving poultry performance and on the quality of poultry meat. It also points out the possibilities of using probiotics as alternatives to antibiotics and coccidiostats in poultry farming.

Key words: probiotic, health, quality, meat

ÚVOD

Probiotiká sú živé mikroorganizmy, ktoré sa používajú v strave ako kŕmne prísady alebo doplnky. Môžu zlepšiť zdravie a výkonnosť hostiteľa zlepšením zdravia čriev a využitia živín. Prebiotiká sú definované ako „nestráviteľný prvok krmiva, ktorý prospieva hostiteľovi zvýšením množstva zdraviu prospešných baktérií v črevnom trakte (Abdullah, 2024). Sú to v podstate nestráviteľné aditíva, ktoré prednostne podporujú vývoj a aktivitu užitočných baktérií v čreve, čím poskytujú priaznivý účinok na hostiteľa. Medzi primárne prebiotiká patrí manóza, galaktóza, fruktóza a glukóza (Hume, 2011). Probiotikám sa darí v prostredí vytvorenom prebiotikami (Sekhon a Jairath, 2010). Synbiotiká zahŕňajú zmes probiotík a prebiotík. Pozostávajú zo substrátov a prospešných mikróbov a môžu mať doplnkové účinky na tráviaci systém zvierat. Synbiotiká majú pozitívny vplyv na hostiteľa pomocou zlepšenia životaschopnosti a intestinálnej implantácie potravinových doplnkov obsahujúcich živé mikroorganizmy (Yang et al., 2009).

Probiotiká ako doplnok vo výžive hydiny

Probiotiká sú používané ako doplnok v krmive určenej pre hydinu, ktoré ju môžu priaznivo ovplyvniť zlepšením mikrobiálnej rovnováhy v čreve. Preukázali sa pozitívne výsledky probiotík pri zlepšení úžitkovosti a rastu brojlerov (Hussein et al. 2024), na zdravie reguláciou rovnováhy črevnej mikroflóry (Rahmani-Alizadeh et al., 2023), pri absorpcii živín

(Abdullah, 2024) a pri redukcii patogénnych mikroorganizmov. Probiotiká a prebiotiká znižujú záťaž patogénmi tým, že posilňujú slizničnú imunitu hostiteľa a vytvárajú odolnosť voči bakteriálnej kolonizácii (Azad et al. 2020). Najbežnejšie mikroorganizmy používané ako probiotiká v chove zvierat sú baktérie mliečneho kvasenia a kvasinky. V chove hydiny sa najčastejšie používajú zástupcovia rodov *Lactobacillus, Streptococcus, Pediococcus, Enterococcus* a *Weissella* (Begdildayeva et al. 2022). Medzi najčastejšie používané probiotiká patria konkrétne *Lactobacillus acidophilus, Enterococcus faecium* a *Bacillus* spp. (Omolere a Alagbe, 2020). Probiotiká môžu zlepšiť rast, kvalitu mäsa a špecifický profil aminokyselín brojlerových kurčiat (Begdildayeva et al. 2024). Tiež zlepšujú vlastnosti vajec a mäsa hydiny (Halder et al. 2024). Na maximalizáciu produktivity a efektívnosti chovu brojlerov je jedným zo spôsobov pridávanie probiotík ako doplnku krmiva. Užívanie baktérií mliečneho kvasenia ako probiotík má veľký praktický význam pre hydinársky priemysel. Ekonomicky užívanie probiotík môže znížiť náklady na lieky a zlepšiť efektívnosť výroby. Zlepšením zdravia hydiny môžu probiotiká znížiť úmrtnosť a chorobnosť, čím sa znížia finančné straty spôsobené zlým zdravotným stavom (Anggriawan et al. 2024)

Probiotiká ako alternatíva k antibiotikám

Používanie antibiotík pre udržanie zdravia zvierat môže podporovať rozvoj antimikrobiálnej rezistencie a stať sa hrozbou pre bezpečnosť konzumentov. Minimalizácia používania antibiotík v živočíšnej výrobe má preto zásadný význam pre prevenciu vzniku antimikrobiálnej rezistencie. Európska únia (EÚ) zakázala ich používanie v diéte hydiny (EU Regulation 1831/2003), čo malo za následok zvýšenú prevalenciu alimentárnych baktérií spôsobujúcich choroby, ako sú *Salmonella* spp. alebo *Campylobacter* spp. (Chantziaras et al. 2014). Výskum alternatív k antibiotikám je potrebný na udržanie produktivity, udržateľnosti a zdravia zvierat. Možnou alternatívou k antibiotikám je užívanie liečivých rastlín a probiotík, ktoré obsahujú jednu alebo viac užitočných baktérií alebo kvasiniek, ktoré podporujú zdravie čriev a zabraňujú dysbióze, ktorá môže nastať počas stresu, predĺženia nedostatku vody, hladovania a infekcií spôsobených vírusmi, baktériami a inými faktormi, čo spôsobuje nerovnováhu flóry s premnožením nežiaducich mikroorganizmov (Filipe, 2014). Probiotické baktérie sa ukázali ako potenciálne alternatívy pre stimulátory rastu antibiotík, pre ich kmeňovo špecifické potenciálne spôsoby pôsobenia, ako je kontrola populácií črevnej mikroflóry a kolonizácia patogénmi a zlepšenie výkonnosti a zdravia čreva (Tous et al. 2022). Prebiotické substráty, probiotické baktérie alebo symbiotické prebioticko-probiotické kombinácie môžu byť použité ako náhrada subterapeutických antibiotík.

Probiotiká ako alternatíva ku kokcidiostatikám

Vtáčia kokcidióza je jednou z najrozšírenejších infekcií postihujúcich kurčatá na celom svete. Kokcidióza nepriaznivo spôsobuje vysokú úmrtnosť, negatívne ovplyvňuje rast a využitie krmiva a zvyšuje náchylnosť vtákov na následné choroby (Ritzi et al. 2016, Rodgers et al., 2015). Podávanie kokcidiostatík je už dlhú dobu úspešnou kontrolnou technikou. Napriek tomu, ako sa zvyšuje rezistencia voči liekom, existuje potreba ponúkať produkty bez liekov a znižovať ich používanie v živočíšnej výrobe (Peek et al. 2009). Jednou z možností je podávanie vakcín proti kokcídiám (Gao et al. 2024). Ďalšou z možností je použitie probiotík na zabezpečenie zdravého tráviaceho traktu kurčiat prospešnou mikroflórou, ktorá by mohlo zabrániť akýmkoľvek potenciálnym vedľajším účinkom pri jej podávaní mladým jedincom. Pôsobí tiež ako životne dôležitá bariéra brániaca vstupu potenciálne škodlivých patogénov (Stringefelow et al. 2011). Okrem toho probiotiká a prebiotiká zlepšujú produktivitu a zdravie hydiny a môžu sa použiť ako antikokcidiálne náhrady. Brojlery očkované proti kokcídiám, ktorým bola podávané probiotiká alebo prebiotiká, vykazovali úrovne ochrany porovnateľné s tými, ktoré dostali len vakcínu a počas prvých osemnástich dní ich života sa znížilo množstvo poškodenia čriev a zmenila sa mikroflóra slepého čreva (Ell Shall et al. 2024). Štúdie ukázali, že probiotiká môžu znížiť vylučovanie oocýst (Mohsin et al. 2021) znížia závažnosť lézií kokcídií, zlepšia bunkami sprostredkovanú (Chen et al. 2016) a humorálnu imunitu (Lee et al. 2007).

ZÁVER

Záverom môžeme zhrnúť, že na základe výsledkov rôznych štúdií je zrejmý pozitívny vplyv probiotík na zdravie a produkciu hydiny. Probiotiká svojimi účinkami zlepšujú imunitu hydiny a chránia črevnú mikroflóru hydiny pred patogénmi. Zlepšujú rast hydiny, stráviteľnosť krmív a produkčnú výkonnosť hydiny. Vplývajú tiež na kvalitatívne vlastnosti vajec a mäsa hydiny. Probiotiká si získali tiež na základe ich účinkov veľkú pozornosť ako bezpečné a účinné alternatívy komerčných antibiotík v chove hydiny. Zároveň sa ukázala možnosť ich použitia ako náhrad používania kokcidiostatík.

LITERATÚRA

1. ANGGRIAWAN R, et al. Performance of broiler chickens in open house cages with additional probiotic nutrition. *Advances in Animal Veterinary Sciences,* 2024, vol.12, no. 9, p. 1630-1639.
2. ABDULLAH S.H.: *Dietary probiotic and prebiotic supplementation: their effects on broiler chicken performance.* In: Farooqi SH, et al. (eds), Complementary and

Alternative Medicine: Prebiotics and Probiotics. Unique Scientific Publishers, Faisalabad, Pakistan, 2024, p: 39-49. https://doi.org/10.47278/book.CAM/2024.179

3. AZAD, M. et al. Opportunities of prebiotics for the intestinal health of monogastric animals. *Animal Nutrition*, 2020, vol. 6, p. 379–88.
4. BEGDILDAYEVA N.Z., Kudaibergenova A.K., Nurgazina A.S., Akhmetsadykova S.N., Akhmetsadykov N.N. : Fermented camel milk as a probiotics source for poultry farming. *Food Science and Technology*, 2022, vol. 42, e53122.
5. BEGDILDAYEVA N.Z., Karahan A.G., Kondybayev A., Kudaibergenova A., Nurgazina A., Akhmetsadykov N., Ospanova A., Akhmetsadykova, S.: Probiotics effects on the growth performance and meat quality of broiler chickens. *Animal Production Science*, 2024, vol. 64, AN23424.
6. FILIPE R. Adjusting intestinal microflora with synbiotics. Science and Solutions. *A magazine of Biomin Pages*, 2014, vol. 14,no. 4, p. 6-8.
7. HUSSAIN M. et al. Positive impact of early-probiotic administration on performance parameters, intestinal health and microbiota populations in broiler chickens, *Poultry Science*, 2024, vol. 103, p. 104401.
8. HALDER N., et al. Probiotics in poultry, Comprehensive review, *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 2024, vol. 85, no. 23, p. 7046.
9. HUME, M. E.: Historic perspective: Prebiotics, probiotics, and other alternatives to antibiotics. *Poultry Science*, 2011, vol. 90, p. 2663-2669.
10. CHANTZIARAS I. et al. Correlation between veterinary antimicrobial use and antimicrobial resistance in food producing animals: are porton seven countries. *Journal of Antimicrobal Chemotherapy*, 2014, vol. 69, p. 827-834.
11. CHEN C. et al. Use of a probiotic to ameliorate the growth rate and the inflammation of broiler chickens caused by Eimeria tenella infection, *Journal Animal Research Nutrition*, no. 1, 2016, p. 10.
12. OMOLERE A.B.M., – ALAGBE J.O.: Probiotics and Medicinal Plants in Poultry Nutrition: A Review, *International Journal of Family Medicine and Primary Care*, 2020, vol. 1, no. 4, p. 1020.
13. EL-SHALL N.A. et al. The anticoccidial effect of probiotics and prebiotics on the live coccidia vaccine and the subsequent influence on poultry performance post-challenge with mixed *Eimeria* species. *Poultry Science*, vol. 103, no. 12, 2024, p. 104283.
14. LEE S. et al. Effects of Pediococcus- and Saccharomyces-based probiotic (MitoMax) on coccidiosis in broiler chickens, *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases*, vol. 30, 2007, p. 261-268.

15. MOHSIN M., et al. Immunogenicity and protective efficacy of probiotics with EtIMP1C against *Eimeria* tenella challenge, *Pakistan Veterinary Journal*, vol. 4, no. 1, 2021, p. 274-278.
16. PEEK H.W., et al. Dietary protease can alleviate negative effects of a coccidiosis infection on production performance in broiler chickens, *Anim. Feed Science Technology*, vol. 150, 2009, p. 151-159.
17. RAHMANI-ALIZADEH M. et al. Effect of dietary supplementation of Iranian multi-strain probiotic or *P. acidilactici* of camel milk isolate on broilers performance, blood parameters, intestinal histology, and microbiota. *Italian Journal of Animal Science*, 2023, vol. 22, no. 1, p. 660-665.
18. RITZI, M.M., et al. Combination of probiotics and coccidiosis vaccine enhances protection against an *Eimeria* challenge, *Veterinary Research*, vol. 47, 2016, p. 111.
19. RODGERS, N.J. et al. A multifactorial analysis of the extent to which *Eimeria* and fishmeal predispose broiler chickens to necrotic enteritis, *Avian Diseases*, vol. 59, 2015, p. 38-45.
20. SEKHON, B.S. – JAIRATH, S.: Prebiotics, probiotics and synbiotics: An overview. *Journal Pharmacy Education Research*, 2010, vol. 1, p. 13-36.
21. STRINGFELLOW, K. et al. Evaluation of probiotic administration on the immune response of coccidiosis-vaccinated broilers, *Poultry Science*, vol. 90, 2011, p. 1652-1658.
22. TOUS N. et al. Novel strategiesto improve chicken performance and welfare by unveiling host - microbiota interactions through holog enomics. *Frontiers in Physiology*, 2022, vol. 13, p. 884925.
23. YANG, Y. – IJI, P., – CHOCT, M. Dietary modulation of gut microflora in broiler chickens: A review of the role of six kinds of alternatives to in-feed antibiotics. World's Poultry Science Journal, 2009, vol. 65, p. 97-114.

POĎAKOVANIE

Predkladaná práca bola podporená projektom VEGA 1/0662/24

Kontaktná adresa: Koréneková Beáta, Department of Food Hygiene, Technology and FoodSafety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: beata.korenekova@uvlf.sk

HYGIENICKÉ RIZIKÁ SPOJENÉ S TECHNOLOGICKOU ÚPRAVOU MRAZENÝCH POTRAVÍN

HYGIENIC RISKS ASSOCIATED WITH THE TECHNOLOGICAL PROCESSING OF FROZEN FOODS

Kováčová Mariana, Zahumenská Jana, Megyesy Eftimová Zuzana, Dudriková Eva

Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

Microbiological control plays a crucial role in the food industry as a preventive measure against foodborne illnesses. In light of this, the current study aimed to evaluate the microbiological quality of deep-frozen strawberries. A total of four frozen strawberry samples were analyzed. The microbiological assessment focused on key indicators of safety and hygiene. All samples received a very positive evaluation, except for one sample (MJ3) of deep-frozen strawberries. While this sample still complied with legal standards, it showed the weakest results among those tested. The influence of technological processing during the thawing stage of strawberries was identified as a potentially significant factor ($p < 0.05$) affecting the total microbial count. This effect was particularly evident in samples MJ3 and MJ4, where variations in microbial counts suggest that the thawing method may play a critical role in preserving or compromising microbiological quality.

Key words: deep frozen foods, strawberry, sensory analysis, storage

ÚVOD

V súvislosti s pozitívnymi zdravotnými výsledkami, mnohé organizácie vrátane Svetovej zdravotníckej organizácie (WHO) a Európskeho úradu pre bezpečnosť potravín (EFSA) odporúčajú dennú konzumáciu ovocia a zeleniny. Napriek výhodám vyplývajúcim z konzumácie surového a minimálne spracovaného ovocia a zeleniny je však ich bezpečnosť stále aktuálnym problémom. Obava o mikrobiologickú bezpečnosť čerstvého, minimálne spracovaného alebo mrazeného ovocia sa v posledných rokoch zvýšila v dôsledku objavenia sa niekoľkých ohnísk potravinových patogénov (Lafarga et al., 2019).

Platné špecifické legislatívne a právne predpisy slúžia predovšetkým ako usmernenia pre dodržiavanie správnej výrobnej praxe (SVP) pri spracovaní a manipulácii s potravinami. Pokiaľ ide o hygienu, environmentálne aspekty, pracovné podmienky, označovanie výrobkov, systém HACCP, ako aj balenie, skladovanie a distribúciu, právna úprava Európskej únie pre mrazené

potraviny sa riadi rovnakými zásadami ako všeobecná potravinová legislatíva. Rámec pre túto oblasť stanovila Smernica Rady 89/108/EHS, ktorá zjednotila právne predpisy členských štátov týkajúce sa hlbokozmrazených potravín určených na ľudskú spotrebu. Podľa smernice 89/108/EHS musia byť suroviny použité na výrobu hlbokozmrazených potravín zdravotne nezávadné, vyhovujúcej kvality a v primeranom stupni čerstvosti.

Čerstvé a minimálne spracované ovocie je prirodzene kontaminované mikroorganizmami pochádzajúcimi z rôznych zdrojov, vrátane prostredia pestovania, pozberovej manipulácie a spracovania. Tieto mikrobiálne kontaminanty sú zodpovedné za mikrobiálne kazenie jahôd (Ostriz-Sola et al., 2020). Straty spôsobené znehodnotením jahôd môžu tvoriť až 40 %. Prítomnosť nežiaducej mikrobioty závisí od mnohých parametrov vrátane agronomických postupov, poveternostných podmienok, zberu, prepravy, ďalšej manipulácie a technológie spracovania. Niektoré druhy baktérií a mikroskopických vláknitých húb sú často izolované a identifikované z jahôd, na základe čoho ich možno považovať za hlavné mikroorganizmy zodpovedné za ich kazenie. Z výsledkov štúdií zaoberajúcich sa bezpečnosťou mrazených jahôd vyplýva, že najčastejšie izolované baktérie reprezentovali *Pseudomonas, Enterobacter, Rahnella , Bacillus a Arthrobacter.* Z kvasiniek boli dominantné rody *Candida, Cryptococcus a Rhodotorula* (Krimm et al., 2005). Medzi ďalšie známe druhy mikroskopických vláknitých húb patria *Mucor fragilis, Mucor circinelloides, Mucor racemosus, Rhizomucor variabilis* a *Penicillium* spp. spôsobujúce kazenie na povrchu jahôd (Wei et al., 2017).

Na predĺženie trvanlivosti a zvýšenie bezpečnosti potravín sa používajú tradičné techniky ako chladenie, mrazenie, znižovanie obsahu vody, obmedzovanie živín, okyslenie, pasterizácia, sterilizácia, fermentácia a použitie chemických či biologických antimikrobiálnych látok (Bozkurt et al., 2020).

Moderná gastronómia sa snaží o zachovanie nutričných a senzorických vlastností potravín. Vo všeobecnosti má mrazenie len malý vplyv na úroveň kontaminácie a životaschopnosť väčšiny bakteriálnych patogénov a vírusov. Mrazenie potravín môže viesť k zníženiu mikrobiálnej koncentrácie v produkte, no toto zníženie môže byť obmedzené a nekonzistentné, pretože inaktivácia mikroorganizmov závisí od ich citlivosti na mrazenie, typu potraviny, parametrov mrazenia a skladovania v mrazenom stave (napr. teplota a čas). Väčšina bakteriálnych patogénov, ktoré môžu kontaminovať čerstvé produkty zmrazenie prežije, a preto môžu byť prítomné aj v mrazených a hlbokozmrazených produktoch. To môže predstavovať značné riziko v prípadoch priamej konzumácie mrazených produktov bez vykonania akýchkoľvek inaktivačných krokov (Palumbo et al., 2014). Rozmrazovanie a následná tepelná úprava ovocia môže ovplyvniť nie len ich nutričnú kvalitu, ale predovšetkým mikrobiologickú

bezpečnosť. Dlhodobé rozmrazenie a mierne zvýšenie teplôt pôsobí pozitívne pre rast a rozmnožovanie mnohých baktérií a mikroskopických vláknitých húb (Ansar et al., 2020).

Cieľom práce bolo identifikovať, do akej miery ovplyvňuje technologický proces bezpečnosť a hygienické riziko mrazených jahôd.

MATERIÁL A METODIKA

V práci boli na mikrobiologickú analýzu použité vzorky mrazených jahôd zakúpených v rôznych obchodných sieťach na východe Slovenska. Vzorky mrazených jahôd (n = 4) pochádzali z odlišných krajín pôvodu podľa deklarovaných údajov. Všetky testované vzorky mrazených jahôd sú uvádzané anonymne bez názvu výrobcu (MJ1, MJ2, MJ3 a MJ4). Až do vykonania mikrobiologickej analýzy na Katedre hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín na UVLF v Košiciach boli vzorky uchovávane pri teplote -18°C.

Príprava a rozmrazovanie vzoriek bolo vykonané tromi technologickými spôsobmi:

A, rozmrazovaním prostredníctvom vodného kúpeľa (teplota vody 40 °C, 20 min.),

B, rozmrazovaním mikrovlnným ohrevom (400 W defrost, 10 min.),

C, rozmrazovaním pri izbovej teplote (24 °C, 2 hod.).

Zabalene vzorky jahôd sme premiešali a celkom 50 g mrazenej vzorky sa asepticky prenieslo do sterilnej vzorkovnice, kde sme následne pridali 450 ml sterilnej 0,1 % peptónovej vody. Homogenizáciu vzoriek sme uskutočnili na prístroji Stomacher 400 (Seward Medical, London, UK). Z odobratých vzoriek mrazených jahôd boli následne pripravené desaťnásobné riedenia podľa STN EN ISO 6887-5. V ďalších krokoch bola vykonaná analýza celkového počtu mikroorganizmov (STN EN ISO 4833), prítomnosť kvasiniek a mikroskopických vláknitých húb (STN ISO 7954), koliformné baktérie (STN ISO 4832), koaguláza-pozitívne stafylokoky (STN EN ISO 6888-1). Stanovenie počtu eneterokokov sa vykonalo použitím metódy rozteru agarového media Slanetz-Bartley (HiMedia, Germany). Vzorky boli analyzované aj na prítomnosť baktérií rodu *Salmonella* (STN EN ISO 6579-1). Z pripravených vzoriek sa zhotovili riedenia, z ktorých boli následne vybrané vhodné riedenia a očkované na povrch vopred predsušeného média špecifického pre danú baktériu. Po ukončení inkubácie pri teplote a čase špecifického pre danú baktériu boli platne vyhodnotené na stanovenie ich prítomnosti a množstva.

Na vyhodnotenie týchto rozdielov v kvalite sme použili metódu Studentovho T-testu (MS Excel) (Microsoft, Redmond, Washington, USA) na určenie rozdielov medzi vzorkami na hladine významnosti $p < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Jahody určené na spracovanie sa zvyčajne mrazia, aby vydržali skladovanie a distribúciu (Simkova et al., 2024).V Slovenskej republike sú mikrobiologické limity pre mrazené jahody stanovené legislatívnymi predpismi, najmä Nariadením vlády č. 312/2003 Z. z. o zdravotných požiadavkách na výrobu a uvádzanie na trh surových a tepelne upravených potravín živočíšneho pôvodu a Vyhláškou Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR č. 82/2018 Z. z. o mrazených potravinách a mrazených výrobkoch.

Celkový počet mikroorganizmov (CPM) sa výrazne líšil medzi jednotlivými výrobcami. Pri hodnotení vplyvu technickej úpravy mrazených jahôd sme však zaznamenali mierne zvýšenie CPM v prípadoch, kde bol použitý vodný kúpeľ a mierny pokles pri použití rozmrazenia pomocou mikrovlnného žiarenia (Tabuľka č.2). Vplyv technologického postupu na celkový počet mikroorganizmov sa preukázal ($p < 0,05$) v dvoch vzorkách, a to MJ3 a MJ4.

Tabuľka č. 1, Výsledky celkového počtu mikroorganizmov vyjadrených v $\log_{10}$ KTJ.g^{-1}

Vzorka	A	B	C	p – hodnota
MJ1	1,65	1,65	1,66	> 0,05
MJ2	2,03	2,00	2,08	> 0,05
MJ3	2,21	2,19	2,25	< 0,05
MJ4	1,87	1,85	1,88	< 0,05

A - rozmrazovanie prostredníctvom vodného kúpeľa; **B** - rozmrazovanie mikrovlnným ohrevom; **C** - rozmrazovanie pri izbovej teplote.

Výsledky počtu kvasiniek a mikroskopických vláknitých húb vykazujú významné rozdiely ($p < 0,05$) v prítomnosti a množstve medzi jednotlivými baleniami, avšak technologický postup neovplyvnil ich počty testovaných vzorkách. Vo vzorke MJ1 sme nepotvrdili ich prítomnosť ani v jednom z testovaných technologických postupov. Vzorka MJ2 obsahovala prítomnosť kvasiniek a mikroskopických vláknitých húb v množstve 0,35 $\log_{10}$ KTJ.g^{-1} pri rozmrazovaní vo vodnom kúpeli, v ostatných spôsoboch rozmrazovania bola ich prítomnosť nepreukázaná. Najhoršie bola hodnotená vzorka MJ3, ktorá obsahovala 2,13 log10 KTJ.g^{-1} rozmrazená spôsobom pri izbovej teplote; 2,08 log10 KTJ.g^{-1} pri rozmrazovaní vo vodnom kúpeli a 1,45 log10 KTJ.g^{-1} pri použití mikrovlnného ohrevu. V poslednej z testovaných vzoriek (MJ4) bola prítomnosť kvasiniek a mikroskopických vláknitých húb zaznamenaná v počte 0,31 log10 KTJ.g^{-1} pri izbovej teplote; 0,34 pri rozmrazovaní vo vodnom kúpeli a 0,25 log10 KTJ.g^{-1} pri použití mikrovlnného ohrevu.

Ortiz-Solà et al. (2020) realizovali štúdiu zameranú na mikrobiologické hodnotenie vzoriek čerstvých (n = 152) a mrazených (n = 31) jahôd. Analýza zahŕňala stanovenie celkového počtu mikroorganizmov, prítomnosti mikroskopických vláknitých húb a kvasiniek, koliformných baktérií, ako aj detekciu vybraných patogénov vrátane *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* a norovírusov genotypov GI a GII. Výsledky pre mrazené vzorky ukázali nasledovné rozpätie mikrobiologických hodnôt: celkový počet mikroorganizmov: <1,70 – 3,66 $\log_{10}$ KTJ.g^{-1} ; mikroskopické vláknité huby a kvasinky: <1,70 – 2,76 $\log_{10}$ KTJ.g^{-1}; koliformné baktérie: <0,70 – 1,74 $\log_{10}$ KTJ.g^{-1} . Vo všetkých testovaných vzorkách mrazených jahôd nebola preukázaná prítomnosť *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *E. coli* ani norovírusového genómu GI a GII. Výsledky našich analýz hygienickej kvality a bezpečnosti mrazených jahôd vykazovali nižšie hodnoty neželanej mikrobioty v porovnaní s prácami iných autorov.

Všetky analyzované vzorky mrazených jahôd (MJ1, MJ2, MJ3 a MJ4) boli negatívne testované na stanovenie prítomnosti koliformných baktérii a enterokokov. Koaguláza-pozitívne stafylokoky boli prítomné len vo vzorke MJ3. Prítomnosť *Salmonella* spp. nebola detegovaná v žiadnej testovanej vzorke mrazených jahôd.

Kowalska a Szczech (2024), ktorý sa vo svojej práci venovali kvantifikácii mikroorganizmov vrátane baktérii z rodu Enterococcus stanovili dve pozitívne vzorky (n = 25) z čerstvých jahôd, ktoré boli kontaminované baktériami z rodu Enteroccocus s priemerným počtom 1,20 $\log_{10}$ KTJ.g-1. Ich výskyt vo vzorkách nastáva v dôsledku fekálnej kontaminácie

ZÁVER

Jedným z hlavných faktorov ovplyvňujúcich dostupnosť ovocia a zeleniny v obchodných reťazcoch je ich sezónna dostupnosť. Práve kvôli sezónnosti, ale najmä s cieľom zabezpečiť mikrobiologickú kvalitu a predĺžiť trvanlivosť sa v potravinárskom priemysle uplatňujú technológie, ktoré zachovávajú výživové hodnoty produktov a zároveň pomáhajú udržiavať mikrobiologickú bezpečnosť potravín. Vplyv technologického postupu rozmrazovania mrazených jahôd sa ukázal ako potenciálne dôležitý faktor ovplyvňujúci mikrobiotu ovocia. Kontrola prítomnosti potenciálnych ľudských patogénov v jahodách je kľúčová pre zabezpečenie ochrany verejného zdravia a pre správnu voľbu technologických postupov nevyhnutných ma výrobu zdravotne bezpečných potravín.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená projektom KEGA 007UVLF-4/2024.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BOZKURT, H. et al. Outbreaks, occurrence, and control of norovirus and hepatitis a virus contamination in berries: a review. In *Critical reviews in food science and nutrition*. ISSN 1549-7852, vol. 61, no. 1, 2020, p. 1-22.
2. KOWALSKA, B. – SZCZECH, M. Assessment of the microbial quality of ready-to-eat vegetable salads and berry fruit available on Polish market. In *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus.* ISSN: 2545-1405, 2024, vol. 23, no. 3.
3. KRIMM, U. et al. Epiphytic microorganisms on strawberry plants (Fragaria ananassa cv. Elsanta): Identification of bacterial isolates and analysis of their interaction with leaf surfaces. In *FEMS Microbiology Ecology*. ISSN 1574-6941, 2005, vol. 53, p. 483-492.
4. LAFARGA, T. et al. Strategies to reduce microbial risk and improve quality of fresh and processed strawberries: A review. In *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. ISSN 1466-8564, 2019, vol. 52, p. 197-212.
5. NARIADENÍM VLÁDY Č. 312/2003 Z. z. o zdravotných požiadavkách na výrobu a uvádzanie na trh surových a tepelne upravených potravín živočíšneho pôvodu
6. NAZARUDDIN, A. et al. New frozen product development from strawberries (Fragaria Ananassa Duch.). In *Heliyon.* ISSN 2405-8440, 2020, vol. 6, no. 9, p. 05118.
7. ORTIZ-SOLÀ, J. et al. Occurrence of selected viral and bacterial pathogens and microbiological quality of fresh and frozen strawberries sold in Spain. In *International Journal of Food Microbiology*. ISSN: 0168-1605, 2020, vol. 314, p. 108392.
8. ORTIZ-SOLÀ, J. Evaluation of a sanitizing washing step with different chemical disinfectants for the strawberry processing industry. In *International Journal of Food Microbiology.* ISSN 0168-1605, 2020, vol., 334, p. 108810.
9. PALUMBO, M. et al. Survival of Foodborne Pathogens on Berries. In *EDIS*. ISSN 2576-0009, 2014, vol. 7.
10. SIMKOVA, K. et al. The Effect of Freezing, Frozen Storage and Thawing on the Strawberry Fruit Composition. In *International Journal of Fruit Science*. ISSN 1553-8621, 2024, vol 24, no.1, p. 186–199.
11. SMERNICA RADY 89/108/EHS. Smernica Rady z 21. decembra 1988 o aproximácii právnych predpisov členských štátov týkajúcich sa rýchlozmrazených potravín určených na ľudskú spotrebu.
12. STN EN ISO 4833. Slovenská technická norma - Mikrobiológia potravinárskeho reťazca. Horizontálna metóda na stanovenie počtu mikroorganizmov

13. STN EN ISO 6579-1. Slovenská technická norma - Mikrobiológia potravinárskeho reťazca. Horizontálna metóda na dôkaz, stanovenie počtu a sérotypizáciu baktérií rodu *Salmonella*.
14. STN EN ISO 6887-5. Slovenská technická norma - Mikrobiológia potravinárskeho reťazca. Úprava analytických vzoriek, príprava základnej suspenzie a desaťnásobných riedení na mikrobiologické skúšanie
15. STN EN ISO 6888-1. Mikrobiológia potravinárskeho reťazca. Horizontálna metóda stanovenia počtu koagulázopozitívnych stafylokokov. Časť 1: Metóda s použitím Bairdovho- Parkerovho agarového média. 202
16. STN ISO 4832. Slovenská technická norma - Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu koliformných baktérií. Metóda počítania kolónií.
17. STN ISO 7954. Slovenská technická norma - Mikrobiológia. Všeobecné pokyny na stanovenie počtu kvasiniek a plesní.
18. VYHLÁŠKA MINISTERSTVA PÔDOHOSPODÁRSTVA A ROZVOJA VIDIEKA SR č. 82/2018 Z. z. o mrazených potravinách a mrazených výrobkoch.
19. WEI, C. et al. Identification and toxin-producing capability of causing-spoilage fungi in strawberry. In *Journal of Food Safety and Quality*. ISSN 0003-925X, 2017, vol. 8, p. 1721-1726.

Kontaktná adresa: Kováčová Mariana, Department of Food Hygiene, Technology and Safety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: mariana.kovacova@uvlf.sk

MONITORING REZÍDUÍ KOKCIDIOSTATÍK V PRODUKTOCH HYDINY V KONTEXTE NOVÉHO DIZAJNU PLÁNOV KONTROLY REZÍDUÍ

MONITORING OF COCCIDIOSTAT RESIDUES IN POULTRY PRODUCTS IN THE CONTEXT OF THE NEW DESIGN OF RESIDUE CONTROL PLANS

Kožárová Ivona[1], Hriciková Simona[2], Koréneková Beáta[1]

[1]Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, [2]Katedra biológie a fyziológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

This work presents data from the monitoring of the presence of coccidiostat residues in poultry and poultry products in the Member States of the European Union collected under three different official national control plans established by Commission Implementing Regulation (EU) 2022/1646: the national risk-based production control plan in the Member States, the national randomised surveillance plan for production in the Member States and the national risk-based import control plan from third countries. All data were taken from the EFSA supporting publication 2025.

Key words: coccidiostats, residues, monitoring, poultry

ÚVOD

Prítomnosť povolených a nepovolených farmakologicky účinných látok a ich rezíduí v potravinách môže predstavovať rizikový faktor pre verejné zdravie. Vykonávacie nariadenie Komisie (EÚ) č. 2022/1646 stanovuje praktické opatrenia na vykonávanie úradných kontrol používania farmakologicky účinných látok povolených v Európskej únii (EÚ) ako veterinárne lieky alebo ako kŕmne doplnkové látky u živých zvierat a ich rezíduí v produktov živočíšneho pôvodu prostredníctvom troch novozavedených špecifických plánov úradnej kontroly: 1) národného plánu kontroly na základe rizika pre výrobu v členských štátoch, 2) národného plánu náhodného dohľadu nad výrobou v členských štátoch, a 3) národného plánu kontroly na základe rizika pre dovoz z tretích krajín.

Pravidlá pre rozsah vzoriek a stupeň výroby, spracovania a distribúcie, v ktorých sa majú dané vzorky odoberať sú stanovené delegovaným nariadením Komisie (EÚ) č. 2022/1644. Zber a sumarizáciu monitorovacích údajov zhromaždených členskými štátmi EÚ v súlade s vykonávacím nariadením Komisie (EÚ) č. 2022/1646 za každý príslušný kalendárny rok vykonáva a zverejňuje ako publikačný výstup Európsky úrad pre bezpečnosť potravín (EFSA)

(https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/sp.efsa.2025.EN-9297). Výročné správy sú verejne dostupné na webovej stránke EÚ Bezpečnosť potravín - Rezíduá veterinárnych liekov (https://food.ec.europa.eu/food-safety/chemical-safety/residues-veterinary-medicinal-products_en). Ostatná podporná publikácia EFSA z roku 2025 prezentuje údaje za rok 2023.

KOKCIDIOSTATIKÁ

Kokcidiostatiká, tzv. látky s dvojakým použitím na ničenie alebo brzdenie rastu parazitických prvkov (kokcídií) sú v EÚ povolené buď ako veterinárne lieky a/alebo ako kŕmne doplnkové látky. Podľa delegovaného nariadenia Komisie (EÚ) č. 2022/1644, ktorým sa stanovujú nové kombinácie skupín látok a skupín komodít, z ktorých majú členské štáty odoberať vzorky, ako aj pre stratégiu odberu vzoriek vrátane kritérií na vymedzenie obsahu národných plánov založených na riziku a plánov náhodného dohľadu a pre vykonávanie súvisiacich úradných kontrol, sú kokcidiostatiká zaradené v skupine A – Zakázané alebo nepovolené farmakologicky účinné látky u zvierat určených na výrobu potravín do podskupiny A3d – Farmakologicky účinné látky, ktoré nie sú uvedené v tabuľke 1 prílohy k nariadeniu (EÚ) č. 37/2010 alebo látky, ktoré nie sú povolené na použitie v krmivách pre zvieratá určené na výrobu potravín podľa nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 1831/2003 a v skupine B do skupiny B2 – Farmakologicky účinné látky povolené na použitie u zvierat určených na výrobu potravín ako veterinárne lieky alebo kŕmne doplnkové látky, pre ktoré sú maximálne hladiny a maximálne limity rezíduí v produktoch živočíšneho pôvodu stanovené v právnych predpisoch EÚ.

Výsledky podľa národného plánu kontroly na základe rizika pre výrobu v členských štátoch (Plán 1)

V rámci Plánu 1 bolo analyzovaných 102 740 vzoriek na látky skupiny A3 a pre podskupinu A3d (15 354 vzoriek) neboli hlásené žiadne nevyhovujúce výsledky. Na látky skupiny B2 bolo analyzovaných 15 298 vzoriek a 14 vzoriek (0,09 %) bolo nevyhovujúcich. Tieto nevyhovujúce výsledky boli detegované okrem vzoriek mäsa hydiny a vajec aj v mäse necieľových druhov potravinových zvierat, konkrétne oviec/kôz, koní, hovädzieho dobytka a ošípaných, pričom identifikovanými látkami boli kokcidiostatiká dekochinát, diklazuril, halofuginón, monenzín sodný, narazín, nikarbazín, salinomycín, salinomycín sodný a toltrazurilsulfón (Tabuľka č. 1).

Tabuľka č. 1, Prehľad nevyhovujúcich výsledkov týkajúcich sa kokcidiostatík povolených na použitie u zvierat určených na výrobu potravín (B2)

Kokcidiostatikum	Členský štát hlásenia	Druh zvierat/Produkt	Nevyhovujúce výsledky
Dekochinát	Nemecko	hydina	1
Diklazuril	Cyprus	hydina, ovce/kozy	2
Halofuginón	Chorvátsko	hydina	1
Monenzín sodný	Česká republika	hydina	1
Narazín	Česká republika, Malta	hydina, vajcia	3 (1, 2)
Nikarbazín	Česká republika	hydina	1
Salinomycín	Slovinsko, Rakúsko	kone, hovädzí dobytok	2
Salinomycín sodný	Česká republika	hydina	1
Toltrazurilsulfón	Španielsko, Poľsko	ošípané, vajcia	2

Výsledky podľa národného plánu náhodného dohľadu nad výrobou v členských štátoch (Plán 2)

V rámci Plánu 2 bolo analyzovaných 13 709 vzoriek na látky skupiny A a B. Pre podskupinu A3d (1 109 vzoriek) neboli hlásené žiadne nevyhovujúce výsledky a z 1819 vzoriek testovaných na látky skupiny B2 len 2 vzorky (0,11 %) boli nevyhovujúce. 1 vzorka mäsa hydiny bola pozitívna na dekochinát (Nemecko) a 1 vzorka vajec na narazín (Česká republika).

Výsledky podľa národného plánu kontroly na základe rizika pre dovoz z tretích krajín (Plán 3)

V rámci Plánu 3 bolo analyzovaných 5162 vzoriek odobratých z dovozu v súlade so špecifikáciami látok skupín A a B. Pre podskupinu A3d (642 vzoriek) neboli hlásené žiadne nevyhovujúce výsledky a z 185 vzoriek testovaných na látky skupiny B2 len 2 vzorky (1,08 %) boli nevyhovujúce. Nevyhovujúce vzorky boli vzorky vajec pozitívne na diklazuril (krajina pôvodu Ukrajina, krajina hlásenia Slovenská republika).

Výsledky vzoriek odobratých v prípade podozrenia alebo iných kontrolných činností

Predmetom hlásenia členskými štátmi sú aj výsledky vzoriek odobratých ako následné vzorky po nezhodných výsledkoch alebo ako následné opatrenie po akomkoľvek podozrení na nedodržiavanie pravidiel EÚ alebo akomkoľvek zistenom nedodržiavaní pravidiel EÚ stanovených delegovaným nariadením Komisie (EÚ) č. 2019/2090 vrátane vzoriek odobratých v rámci iných kontrolných činností (programy monitorovania vykonávané v súlade

s príslušnými národnými právnymi predpismi). Vzorky odobraté v prípade podozrenia alebo iných kontrolných činností nie sú reprezentatívne a nezapočítavajú sa do minimálnej frekvencie odberu vzoriek stanovenej v nariadení Komisie (EÚ) č. 2022/1644, avšak v prípade potreby s prihliadnutím na nebezpečenstvá a riziká súvisiace s príslušnou látkou sa môžu zahrnúť do plánu kontroly založeného na riziku v prípade produkcie v členských štátoch. Vo vzorkách vajec odobratých v prípade podozrenia boli potvrdené rezíduá monenzínu, narazínu, robenidínu a salinomycínu s krajinou pôvodu Poľsko a Portugalsko. V prípade iných kontrolných činnosti neboli rezíduí kocidiostatík detegované v žiadnej vyšetrovanej vzorke.

ZÁVER

Členské štáty kontrolujú používanie farmakologicky účinných látok povolených ako veterinárne lieky alebo ako kŕmne doplnkové látky a ich rezíduí prenositeľných do živočíšnych produktov, ktoré by mohli byť škodlivé pre ľudské zdravie. Delegovaným nariadením Komisie (EÚ) č. 2022/1644 a vykonávacím nariadením Komisie (EÚ) č. 2022/1646 sa od roku 2023 zaviedli pre členské štáty EÚ dôležité zmeny, pokiaľ ide o úradné kontroly farmakologicky účinných látok povolených ako veterinárne lieky alebo ako kŕmne doplnkové látky a ich rezíduí vrátane špecifických obsahov viacročných národných plánov kontroly a špecifických opatrení na ich prípravu. Kokcidiostatiká, ako jediné farmakologicky účinné látky povolené v EÚ na účely prevencie kokcidiózy u hydiny, i napriek hľadaniu alternatívnych náhrad ku kokcidiostatikám s perspektívou výroby hydinového mäsa a vajec bez rizika z prítomnosti rezíduí a ohrozenia zdravia ľudí, zostávajú naďalej neoddeliteľnou súčasťou novozavedených špecifických plánov úradnej kontroly rezíduí a stratégie odberu vzoriek založených na riziku.

POĎAKOVANIE

Spracovanie príspevku bolo podporené projektom VEGA č. 1/0662/24.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Delegované nariadenie Komisie (EÚ) č. 2019/2090 z 19. júna 2019, ktorým sa dopĺňa nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 2017/625, pokiaľ ide o prípady podozrenia na nedodržiavanie alebo zisteného nedodržiavania pravidiel Únie, ktoré sa vzťahujú na používanie alebo rezíduá farmakologicky účinných látok povolených vo veterinárnych liekoch alebo ako kŕmne doplnkové látky, alebo pravidiel Únie, ktoré sa vzťahujú na používanie alebo rezíduá zakázaných alebo nepovolených farmakologicky účinných látok. Úradný vestník Európskej únie L 137, 2019, s. 28-37.

2. Delegované nariadenie Komisie (EÚ) č. 2022/1644 zo 7. júla 2022, ktorým sa dopĺňa nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 2017/625 o špecifické požiadavky na vykonávanie úradných kontrol používania farmakologicky účinných látok povolených ako veterinárne lieky alebo ako kŕmne doplnkové látky a zakázaných alebo nepovolených farmakologicky účinných látok a úradných kontrol ich rezíduí. Úradný vestník Európskej únie L 248, 26. 9. 2022, s. 3–17.
3. https://food.ec.europa.eu/food-safety/chemical-safety/residues-veterinary-medicinal-products_en
4. *Report for 2023 on the results from the monitoring of residues of veterinary medicinal products in live animals and animal products*. EFSA supporting publication [online]. 2025, 87 p. [cit. 2025-02-19]. Dostupné na internete: https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/sp.efsa.2025.EN-9297
5. Vykonávacie nariadenie Komisie (EÚ) č. 2022/1646 z 23. septembra 2022 o jednotných praktických opatreniach na vykonávanie úradných kontrol, pokiaľ ide o používanie farmakologicky účinných látok povolených ako veterinárne lieky alebo ako kŕmne doplnkové látky a zakázaných alebo nepovolených farmakologicky účinných látok a o ich rezíduá, o špecifickom obsahu viacročných národných plánov kontroly a špecifických opatreniach na ich prípravu. Úradný vestník Európskej únie L 248, 26. 9. 2022, s. 32–45.

Kontaktná adresa: Kožárová Ivona, Department of Food Hygiene, Technology and Safety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: ivona.kozarova@uvlf.sk

VLIV MRAŽENÍ NA FYZIKÁLNÍ, TECHNOLOGICKÉ A ORGANOLEPTICKÉ VLASTNOSTI MASA FARMOVĚ CHOVANÝCH DAŇKŮ (*DAMA DAMA*)

EFFECT OF FREEZING ON THE PHYSICAL, TECHNOLOGICAL, AND ORGANOLEPTIC PROPERTIES OF MEAT FROM FARMED FALLOW DEER (*DAMA DAMA*)

Kudrnáčová Eva[1], Kokošková Tersia[2], Lebedová Nicole[3], Bureš Daniel[1,3]

[1]*Katedra kvality a bezpečnosti potravin, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 165 00 Praha – Suchdol, Česká republika*

[2]*Katedra chovu zvířat a potravinářství v tropech, Fakulta tropického zemědělství, Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 165 00 Praha – Suchdol, Česká republika*

[3]*Oddělení chovu skotu, Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i., Přátelství 815, 104 00 Praha – Uhříněves, Česká republika*

ABSTRACT

Although venison could play an important role in human nutrition, this meat remains undervalued and still contributes very little to the formal meat industry. Moreover, information on processing methods of fallow deer meat and overall quality is still very limited. The objective of this study was to determine how physical, technological, and organoleptic properties differ between 14-day-aged vacuum-packaged fallow deer meat stored either chilled or frozen at different temperatures (-10°C, -18°C, -40°C and -80°C) for six months. Physical, technological, and organoleptic analyses were conducted on *semimembranosus* muscles (SM) obtained from farmed fallow deer bucks (*n*= 10). Freezing significantly increased meat redness, yellowness, chroma values, cooking loss and tenderness compared to fresh meat but did not affect pH values, lightness, thawing, or grilling loss. Mean pH readings were 5.5–5.6, being highest in the samples measured one day after slaughter. Freezing at -80 ◦C had the most pronounced effect on some sensory attributes, namely, the highest game meat aroma intensity, sour odour, sour flavour and the lowest chewiness. The findings indicate that a freezing temperature of -18°C and subsequent slow thawing might be preferential in terms of maintaining fallow deer meat quality.

Key words: colour, pH, purge, sensory analysis, shear force, venison

ÚVOD

Pod pojmem zvěřina nebo maso lovné zvěře se obecně rozumí maso legálně získané z různých druhů nedomestikovaných zvířat, která jsou lovena nebo chována na farmách ve svém přirozeném prostředí (Kudrnáčová et al., 2018). Lov představuje důležitý zdroj obživy, přispívá k ochraně přírody a v mnoha zemích zůstává také tradiční sportovní nebo rekreační aktivitou. V rozvojových zemích pak hraje důležitou roli v zajištění potravinové bezpečnosti (Taylor et al., 2020, 2021). Farmově chovaná zvěř na druhé straně poskytuje maso a další produkty pro mezinárodní trh. Během posledních tří dekád se mezinárodní chov zvěře na farmách rozšířil a nyní generuje odhadovanou tržní hodnotu více než 1,5 miliardy amerických dolarů (Green et al., 2023; Needham et al., 2023). Lov i komerční chov zvěře je jedním z nejrychleji rostoucích odvětví s produkcí téměř 2,5 milionu tun masa (FAOSTAT, 2024). Ze všech kategorií je daněk evropský (*Dama dama*) jedním z nejrozšířenějších volně žijících, okrasných i farmově chovaných druhů zvěře. Jedná se také o nejběžnější druh jelenovitých v Evropě, jehož populace se v současnosti odhaduje na 1 milion kusů. Počet jedinců ve farmovém chovu již celosvětově přesáhl počet 5 milionů a také počet volně žijících daňků stále narůstá (Bijl a Csányi, 2022; Gryz et al., 2024).

Trh se zvěřinou je limitován několika faktory, jako je například sezónnost produktů, zhoršená stabilita barvy masa a krátká doba skladovatelnosti (Neethling et al., 2016). Značné množství zvěřiny a masných výrobků je tedy zmrazeno za účelem pokrytí zvýšené celosvětové poptávky a mezinárodního obchodu s masem a aby byla umožněna celoroční dostupnost těchto produktů (Wiklund et al., 1997; Vieira et al., 2009; Teuteberk et al., 2021).

V dnešní době je mražení masa jednou z nejdůležitějších konzervačních metod používaných k zachování kvality a prodloužení údržnosti (zejména v kombinaci s vakuovým balením či balením do modifikované atmosféry) v sektoru velkoobchodu i maloobchodu (Bogdanowicz et al., 2018). Pro komerční účely se nejčastěji využívá mražení při -18 až -40 °C a maso je při těchto teplotách skladováno po dobu několika dnů až měsíců (Coombs et al., 2017; Yun et al., 2021). Nízké teploty inhibují mikrobiální růst i aktivitu endogenních enzymů a zpomalují různé biochemické reakce v mase (Teuteberk et al., 2021; Tian et al., 2022). Na druhou stranu vlivem nesprávného zmrazování, rozmrazování nebo dlouhodobého skladování v mrazničce dochází k nežádoucím změnám v kvalitě masa (Bodganowicz et al., 2018). Výsledná kvalita mražených výrobků tak závisí na rychlosti/teplotě zmrazování, délce a podmínkách skladování, ale do značné míry je ovlivněna také předúpravou produktů před samotným mražením, jako je například způsob balení či zrání masa (Yun et al., 2021). S rychlým rozvojem nových technologií je tak stále aktuálnější otázka, jaké postupy jsou nejvhodnější k zajištění vysoké kvality mražených produktů ze zvěřiny či masa lovné zvěře.

Cílem této práce bylo analyzovat vliv různých teplot zmrazování na fyzikální, technologické a organoleptické parametry masa daňků z farmového chovu.

MATERIÁL A METODIKA

Do studie bylo zařazeno celkem 10 daňků (špičáků), kteří byli poraženi ve věku 17 měsíců při průměrné živé hmotnosti 38,9 ± 3,9 kg. Jatečná těla byla následně rozdělena podél páteře na dvě poloviny a skladována při teplotě +2 °C a relativní vlhkosti 85 % až do dalšího zpracování. Po 24 hodinách chlazení byly z obou polovin jatečně upravených těl odebrány celé svaly *semimembranosus* (SM), které byly následně zváženy a rozděleny na tři části. Střední část svalu byla použita pro stanovení fyzikálních vlastností (pH, barva, síla ve střihu) a technologických parametrů (ztráty vařením) čerstvého masa. Dva konce každého vzorku byly vakuově zabaleny a ponechány zrát při teplotě +4 °C. Po 14 dnech mokrého zrání byly vzorky náhodně rozděleny do čtyř experimentálních skupin (n=10) a zmrazeny na -10 °C, -18 °C, -40 °C a -80 °C. Po 190 dnech byly všechny vzorky vyjmuty z mrazniček a pomalu rozmrazeny. Následovalo měření fyzikálních vlastností (pH, barva, síla ve střihu) a technologických parametrů (ztráty mražením, vařením a grilováním) a senzorická analýza jednotlivých vzorků (Needham et al., 2019; Lebedová et al., 2022). Senzorické hodnocení bylo provedeno pomocí kvantitativní deskriptivní analýzy s úplným a vyváženým designem. Panelisté posuzovali u každého vzorku celkem 14 deskriptorů. Statistické vyhodnocení dat bylo provedeno pomocí programu SAS 9.4 (SAS, 2006).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Tabulka č. 1 uvádí hodnoty fyzikálních a technologických vlastností svalů SM 24 hodin po porážce a po 190 zmrazení při různých teplotách.

Spotřebitelé a jejich rozhodování o koupi masa je silně ovlivněno jeho barvou. Maso s jasnou, třešňově červenou barvou je vnímáno jako čerstvé a plnohodnotné, zatímco maso se změněnou barvou je považováno za méně kvalitní. Z výsledků je viditelné, že u vyzrálého, zmrazeného a následně rozmraženého masa je barva méně stabilní v porovnání s masem čerstvým (Neethling et al., 2016, 2017). Oxidační procesy probíhají již během zrání masa a pokračují i po jeho zmrazení a následném rozmrazení, protože svalové barvivo myoglobin je citlivé na změnu okolní teploty. Při delším skladování ve zmrazeném stavu se tedy povrchová barva masa rychle zhorší v důsledku ztráty schopnosti redukovat vznikající metmyoglobin, který se hromadí právě v povrchové vrstvě masa. Jak popisuje ve své studii Aidani et al. (2014) a Yun et al. (2021), existuje přímá úměra mezi barvou zmrazeného a rozmraženého masa a rychlosti zmrazování – čím vyšší rychlost, tím menší vznikají ledové krystalky a tím vyšší je obsah vody v mase.

Rychle zmrazené maso je tedy světlejší a má intenzivnější červenou barvu. Výsledky této studie ukazují, že zrání masa před jeho zmrazením významně přispívá ke zvýšení všech parametrů barvy v porovnání s hodnotami měřenými den po porážce. K podobným výsledkům dospěli ve své studii také Wiklund et al. (2006) u masa jelena evropského.

Křehkost masa je velmi rozdílná v závislosti na různých vnějších a vnitřních faktorech. Hodnoty síly ve střihu jsou však ovlivněny především aktivitou proteolytických enzymů během zrání masa, obsahem kolagenu a intramuskulárního tuku, charakteristikou svalových vláken a anatomickou polohou každého svalu (Belew et al., 2003; Cawthorn et al., 2018). Ačkoli rozdíly v křehkosti zmrazeného a rozmraženého masa nebyly v této studii signifikantní, nižší teploty zmrazování vedly k mírnému poklesu hodnot síly ve střihu. Tyto výsledky jsou v souladu s obecným tvrzením, že křehkost masa se zvyšuje s klesající teplotou zmrazování. Další autoři (Smith et al., 1969; Farouk et al., 2003; Yun et al., 2021) uvádějí, že zrání masa před jeho zmrazením a nižší teploty zmrazování zlepšují křehkost masa, která je způsobena kombinací rozpadu svalových vláken vlivem proteolytických enzymů během zrání a ztráty strukturální integrity způsobené tvorbou ledových krystalů během procesu zmrazování (Leygonie et al., 2012).

Ztráta vody z masa ve formě exsudátu je považována za nežádoucí z ekonomického i spotřebitelského hlediska. V důsledku posmrtných změn se voda uvolňuje a redistribuuje do sarkoplazmatického a extracelulárního prostoru (Leygonie et al., 2012; Cawthorn et al., 2018). Delší doba zrání tak může vést ke změnám (denaturaci) ve strukturálních proteinech a v důsledku toho i k vyšším hmotnostním ztrátám během zpracování a kulinární úpravy masa. V tomto experimentu byly ztráty vařením u čerstvého masa významně nižší než u vyzrálých, zmražených a rozmražených vzorků. Toto zjištění potvrzují i výsledky studií Smith et al. (1969), Farouk et al. (2007), Vieira et al. (2009) nebo Daszkiewicz et al. (2018). Různé způsoby zmražení neměly v tomto experimentu významný vliv na ztráty vařením, přičemž nejvyšší hodnota byla zjištěna u masa zmrazeného při -10 °C. Jak uvádí Yun et al. (2021), tento rozdíl lze vysvětlit vztahem mezi rychlostí zmrazování a strukturou myofibrilárních proteinů, protože denaturace myosinu se nejvýrazněji projevuje u pomalu zmrazeného masa.

Přijatelnost masa z hlediska organoleptických vlastností je jednou z nejvíce studovaných oblastí., přičemž křehkost, šťavnatost a chuť jsou často uváděny jako nejdůležitější faktory (Belew et al., 2003). V této práci ovlivnily různé teploty zmrazování některé senzorické parametry daňčího masa, jak je uvedeno v Tabulce č. 2. Zdá se, že kombinace oxidace lipidů a denaturace proteinů během zrání a následná Maillardova reakce během tepelné úpravy vzorků mohla ovlivnit intenzitu vůně zvěřiny a kyselou vůni, kdy se snižující se teplotou zmrazení se intenzita těchto vůní zvyšovala. Konečná teplota, na kterou je

maso zmrazeno a při které je následně i skladováno, také úzce souvisí se senzoricky hodnocenými parametry textury. Avšak v literatuře lze nalézt kontrastní výsledky vlivu zmrazování mezi texturou masa měřenou aparativně a parametry hodnocenými senzorickým panelem, které ukazují, že vztah mezi fyzikálními a organoleptickými vlastnostmi je nekonzistentní. V této studii byla žvýkatelnost jediným parametrem textury, který byl ovlivněn různými teplotami skladování, přičemž hodnocení vzorků se zhoršovalo se snižující se teplotou zmrazování. Tyto výsledky lze přičítat ztrátě exsudátu během rozmrazování a následné tepelné úpravě vzorků (Bogdanowicz et al., 2018). Nicméně, jak uvádí Dawson a Richardson (2023), přijatelnost zmrazeného a rozmraženého masa spotřebiteli je ovlivněna spíše délkou zmražení než různými teplotami skladování. Obecně však platí, že pokud je maso zmrazeno při teplotě -15 °C a méně, rozmraženo a ihned zkonzumováno, bude považováno za přijatelné bez ohledu na dobu skladování.

Tabulka č. 1, Fyzikální a technologické vlastnosti svalů SM zmrazených při různých teplotách po dobu 190 dnů.

Parametr	24 hod. *post-mortem*	Teplota zmrazení				SEM	*P*-hodnota
		-10 °C	-18 °C	-40 °C	-80 °C		
pH	5,61	5,58	5,51	5,57	5,57	0,070	0,690
Světlost [*L**]	34,52	34,75	35,02	35,08	35,29	0,485	0,654
Červenost [*a**]	13,15^{B}	14,34^{A}	14,15^{AB}	13,88^{AB}	14,26^{A}	0,343	0,014
Žlutost [*b**]	10,87^{B}	12,24^{A}	11,94^{A}	12,00^{A}	12,07^{A}	0,375	0,005
Sytost [*C**]	17,06^{B}	18,86^{A}	18,51^{A}	18,36^{AB}	18,69^{A}	0,485	0,005
Odstín [°]	39,58	40,41	40,14	40,79	40,19	0,471	0,298
Síla ve střihu [N]	82,55^{A}	39,65^{B}	38,11^{B}	37,92^{B}	34,56^{B}	2,506	<0,001
Ztráty mražením [%]	–	10,41	5,82	7,12	7,63	1,878	0,154
Ztráty vařením [%]	26,70^{B}	33,51^{A}	31,43^{A}	30,00^{AB}	31,53^{A}	1,145	<0,001
Ztráty grilováním [%]	–	29,33	28,93	28,32	28,28	1,833	0,955

^{A,B,C} Hodnoty s různými horními indexy v jednom řádku se významně liší (P <0,05).

Tabulka č. 2, Organoleptické vlastnosti svalů SM zmrazených při různých teplotách po dobu 190 dnů.

Parametr	Teplota zmrazení				SEM	*P*-hodnota
	-10 °C	-18 °C	-40 °C	-80 °C		
Intenzita vůně hovězího masa	31,47	33,50	30,97	31,04	4,471	0,806
Intenzita vůně zvěřiny	$40,93^{B}$	$43,61^{AB}$	$49,27^{AB}$	$51,00^{A}$	3,949	0,015
Intenzita abnormální vůně	16,99	19,21	17,40	21,41	5,357	0,386
Játrová vůně	36,43	36,31	36,56	42,66	6,668	0,149
Kyselá vůně	$20,10^{AB}$	$19,01^{B}$	$23,42^{AB}$	$27,07^{A}$	5,541	0,020
Křehkost	49,07	50,16	46,54	44,37	2,887	0,462
Šťavnatost	46,37	42,60	41,73	44,49	3,632	0,648
Žvýkatelnost	$59,34^{A}$	$52,71^{A}$	$50,03^{AB}$	$42,39^{B}$	3,171	<0,001
Intenzita chuti hovězího masa	41,65	38,49	40,06	41,90	5,443	0,611
Intenzita chuti zvěřiny	43,89	44,86	47,19	46,84	3,950	0,066
Intenzita abnormální chuti	20,53	17,94	23,71	22,84	6,623	0,173
Játrová chuť	36,94	34,43	36,66	42,80	5,688	0,073
Kyselá chuť	$30,17^{AB}$	$25,60^{B}$	$28,97^{AB}$	$34,44^{A}$	7,498	0,023
Celková přijatelnost	48,39	46,83	43,96	41,69	3,684	0,299

^{A,B,C} Hodnoty s různými horními indexy v jednom řádku se významně liší (P <0,05).

ZÁVĚR

Proces zmrazování je často považován za hlavní příčinu zhoršení kvality masa z hlediska jeho organoleptických, fyzikálních a technologických parametrů. Tyto kvalitativní vady lze minimalizovat zráním masa před jeho zmrazením, přičemž zrání zvěřiny a masa lovné zvěře po dobu 5 až 14 dnů by mohlo být v komerčním průmyslu považováno za standard, v závislosti na druhu, věku zvířete, pohlaví a typu svalu. Výsledky studie dále naznačují, že kvalitu mraženého masa lze výrazně zlepšit, pokud je před zmrazením vakuově zabaleno. Vhodný obal a správná technika balení může více než zdvojnásobit údržnost produktu a pomáhá

předcházet mrazovému spálení. Na druhé straně se zdá, že různé teploty zmrazování mají na kvalitu daňčího masa méně výrazný vliv. Z výsledků experimentu lze konstatovat, že z hlediska zachování optimální kvality je nejvhodnějším způsobem pomalé zmrazení při -18 °C a následné pomalé rozmrazení masa. Je však potřeba kvantifikovat i možné ekonomické výhody mražení při využití velmi nízkých teplot. Identifikace optimální rychlosti/teploty zmrazování a následného způsobu rozmražení by mohla přinést řadu výhod v oblasti prodeje a propagace těchto produktů.

PODĚKOVÁNÍ

Práce byla finančně podpořena MZe ČR, institucionální podporou MZE-RO0723 a projektem výzkumné infrastruktury METROFOOD-CZ [MŠMT grant č. LM2023064]. Studie byla realizována také s podporou Interní grantové agentury FTZ ČZU v Praze [grant č. IGA-20243112].

POUŽITÁ LITERATURA

1. AIDANI, E., AGHAMOHAMMADI, B., AKBARIAN, M., MORSHEDI, A., HADIDI, M., GHASEMKHANI, N., AKBARIAN, A. Effect of chilling, freezing and thawing on meat quality: a review. *International Journal of Biosciences*, 2014, vol. 5, no. 4, p. 159–169.
2. BELEW, J. B., BROOKS, J. C., MCKENNA, D. R., SAVELL, J. W. Warner–Bratzler shear evaluations of 40 bovine muscles. *Meat Science*, 2003, vol. 64, no. 4, p. 507–512.
3. BIJL, H., CSÁNYI, S. Fallow deer (*Dama dama*) population and harvest changes in Europe since the early 1980s. *Sustainability*, 2022, vol. 14, no. 19, 12198
4. BOGDANOWICZ, J., CIERACH, M., ŻMIJEWSKI, T. Effects of aging treatment and freezing/thawing methods on the quality attributes of beef from Limousin × Holstein-Friesian and Hereford × Holstein-Friesian crossbreeds. *Meat Science*, 2018, vol. 137, p. 71–76.
5. CAWTHORN, D.-M., FITZHENRY, L. B., MUCHENJE, V., BUREŠ, D., KOTRBA, R., HOFFMAN, L. C.. Physical quality attributes of male and female wild fallow deer (*Dama dama*) muscles. *Meat Science*, 2018, vol. 137, p. 168–175.
6. COOMBS, C. E. O., HOLMAN, B. W. B., FRIEND, M. A., HOPKINS, D. L. Long-term red meat preservation using chilled and frozen storage combinations: A review. *Meat Science*, 2017, vol. 125, p. 84–94.
7. DASZKIEWICZ, T., PURWIN, C., KUBIAK, D., FIJAŁKOVSKA, M., KOZŁOWSKA, E., ANTOSZKIEWICZ, Z. Changes in the quality of meat

(*Longissimus thoracis et lumborum*) from Kamieniec lambs during long-term freezer storage. *Animal Science Journal*, 2018, vol. 89, no. 9, p. 1323–1330.

8. DAWSON, P., RICHARDSON, J. Storage temperature effects on the quality of chicken breast and beef sirloin. *European Journal of Agriculture and Food Sciences*, 2023, vol. 5, no. 2, p. 85–91.
9. FAOSTAT. Statistical database of Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome [online], 2024. Citováno 2024-06-27, dostupné z: <https://www.fao.org/faostat/en/#home>.
10. FAROUK, M. M., WIELICZKO, K. J., MERTS, I. Ultra-fast freezing and low storage temperatures are not necessary to maintain the functional properties of manufacturing beef. *Meat Science*, 2003, vol. 66. no. 1, p. 171–179.
11. FAROUK, M. M., BEGGAN, M., HURST, S., STUART, A., DOBBIE, P. M., BEKHIT, A. E. D. Meat quality attributes of chilled venison and beef. *Journal of Food Quality*, 2007, vol. 30, no. 6, p. 1023–1039.
12. GREEN, J., SCHMIDT-BURBACH, J., ELWIN, A. Taking stock of wildlife farming: a global perspective. *Global Ecology and Conservation*, 2023, vol. 43, no. 12, e02452.
13. GRYZ, J., KRAUZE-GRYZ, D., JASIŃSKA, D. Alien vs. native — influence of fallow deer (*Dama dama*) introduction on the native roe deer (*Capreolus capreolus*) population. *Forests*, 2024, vol. 15, no. 6, 1014.
14. KUDRNÁČOVÁ, E., BARTOŇ, L., BUREŠ, D., HOFFMAN, L. C. Carcass and meat characteristics from farm-raised and wild fallow deer (*Dama dama*) and red deer (*Cervus elaphus*): A review. *Meat Science*, 2018, vol. 141, p. 9–27.
15. LEBEDOVÁ, N., BUREŠ, D., NEEDHAM, T., FOŘTOVÁ, J., ŘEHÁK, D., BARTOŇ, L. Histological composition, physiochemical parameters, and organoleptic properties of three muscles from Fleckvieh bulls and heifers. *Meat Science*, 2022, vol. 188, 108807.
16. LEYGONIE, C., BRITZ, T. J., HOFFMAN, L. C. Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. *Meat Science*, 2012, vol. 91, no. 2, p. 93–98.
17. NEEDHAM, T., LAUBSER, J. G., KOTRBA, R., BUREŠ, D., HOFFMAN, L. C. Sex influence on muscle yield and physiochemical characteristics of common eland (*Taurotragus oryx*) meat. *Meat Science*, 2019, vol. 152, p. 41–48.
18. NEEDHAM, T., BUREŠ, D., ČERNÝ, J., HOFFMAN, L. C. Overview of game meat utilisation challenges and opportunities: A European perspective. *Meat Science*, 2023, vol. 204, 109284.

19. NEETHLING, J., HOFFMAN, L. C., MULLER, M. Factors influencing the flavour of game meat: a review. *Meat Science*, 2016, vol. 113, no. 1, p. 139–153.
20. NEETHLING, N. E., SUMAN, S. P., SIGGE, G. O., HOFFMAN, L. C., HUNT, M. C. Exogenous and Endogenous Factors Influencing Color of Fresh Meat from Ungulates. *Meat and Muscle Biology*, 2017, vol. 1, no. 1, p. 253–275.
21. SAS. Release 9.1 (TS1M3) of theSAS® System for Microsoft® Windows®, 2006. SAS Institute Inc, Cary, NC, USA.
22. SMITH, G. C., CARPENTER, Z. L., KING, G. T. Considerations for beef tenderness evaluations. *Journal of Food Science*, 1969, vol. 34, p. 612–618.
23. TAYLOR, W. A., LINDSEY P. A., NICHOLSON, S. K., RELTON, C., DAVIES-MOSTERT, H. T. Jobs, game meat and profits: The benefits of wildlife ranching on marginal lands in South Africa. *Biological Conservation*, 2020, vol. 245, no. 3, 108561.
24. TAYLOR, W. A., CHILD, M. F., LINDSEY, P. A., NICHOLSON, S. K., RELTON, C., DAVIES-MOSTERT, H. T. South Africa´s private wildlife ranches protect globally significant populations of wild ungulates. *Biodiversity and Conservation.* 2021, vol. 30, no. 30, p. 4111–4135.
25. TEUTEBERK, V., KLUTH, I. K., PLOETZ, M., KRISCHEK, C. Effects of duration and temperature of frozen storage on the quality and food safety characteristics of pork after thawing and after storage under modified atmosphere. *Meat Science*, 2021, vol. 174, 108419.
26. TIAN, T., KANG, Y., LIU, L., WANG, X. The effect of super-chilled preservation on shelf life and quality of beef during storage. *Food Science and Technology (Campinas)*, 2022, vol. 42, no. 4, e73222.
27. VIEIRA, C., DIAZ, M. T., MARTÍNEZ, B., GARCÍA-CACHÁN, M. D. Effect of frozen storage conditions (temperature and length of storage) on microbiological and sensory quality of rustic crossbred beef at different stages of ageing. *Meat Science.* 2009, vol. 83, no. 3, p. 398–404.
28. WIKLUND, E., BARNIER, V. M. H., SMULDERS, F. J. M., LUNDSTRÖM, K., MALMFORS, G. Proteolysis and tenderisation in reindeer (*Rangifer tarandus tarandus* L.) bull *longissimus thoracis* muscle of varying ultimate pH. *Meat Science*, 1997, vol. 46, no. 1, p, 33–43.
29. WIKLUND, E., SAMPELS, S., MANLEY, T. R., PICKOVÁ, J., LITTLEJOHN, R. P. Effects of feeding regimen and chilled storage on water-holding capacity, colour stability, pigment content and oxidation in red deer (*Cervus elaphus*) meat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2006, vol. 86, no. 1, p. 98–106.

30. YUN, Y.-C., KIM, H., RAMACHANDRAIAH, K., HONG, G.-P. Evaluation of the Relationship between Freezing Rate and Quality Characteristics to Establish a New Standard for the Rapid Freezing of Pork. *Food Science of Animal Resources*, 2021, vol. 41, no. 6, p, 1012–1021.

Kontaktní adresa: Kudrnáčová Eva, Katedra kvality a bezpečnosti potravin, Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 165 00 Praha – Suchdol, Česká republika; E-mail: kudrnacovae@af.czu.cz

VÝSKYT A ETIOLÓGIA MASTITÍD V PRODUKČNÝCH CHOVOCH DOJNÍC

INCIDENCE AND ETIOLOGY OF MASTITIS IN DAIRY COWS FARMS

Lacková Zuzana[1], Zigo František[1], Farkašová Zuzana[1], Ondrašovičová Silvia[2], Vargová Mária[3], Pecka-Kielb Ewa[4]

[1]Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

[2]Katedra biológie a fyziológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

[3] Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 04181 Košice, Slovenská Republika

[4] Department of Animal Physiology and Biostructure, Wroclaw University of Environmental and Life Sciences, Norwida 31, 50-375 Wroclaw, Poland

ABSTRACT

The work aimed to compare the occurrence of udder pathogens and individual forms of mastitis in dairy herds. A representative number of dairy cows at the peak of lactation from two farms in Slovakia and two farms from the Czech Republic was compared. The occurrence of individual isolated pathogens was recorded mainly in the subclinical form of mastitis. The highest percentage of subclinical mastitis on farms 1, 2 and 4 was *Staphylococcus* spp. (9.0%, 22.4% and 20.0%), on farm 3 the highest percentage was *Enterococcus faecalis* (20.1%) and *Streptococcus uberis* (10.0%). CMT (California Mastitis Test) is a suitable diagnostic test for the detection of mainly the subclinical form of mastitis. The highest incidence of latent mastitis was recorded on farm 2, where we also recorded the highest proportion of isolated pathogens within the subclinical form of mastitis. The incidence of latent and subclinical mastitis on other farms was similar. The highest number of cows with clinical mastitis was recorded on farm 1. Isolation of individual mastitis pathogens, e.g. *Staphylococcus* spp. in the subclinical form of mastitis indicates a higher risk to public health due to the consumption of raw milk and its products.

Key words: dairy cows, milk, mastitis, California Mastitis Test

ÚVOD

Ekonomická hodnota dojníc je určená predovšetkým dojivosťou, ako aj počtom laktácií počas ich produkčného obdobia. Produkčné ochorenia, predovšetkým mastitídy, patria medzi

dôležité faktory ovplyvňujúce množstvo a kvalitu vyprodukovaného mlieka (Vršková a kol. 2015). Na základe závažnosti klinických príznakov delíme mastitídu na subklinickú a klinickú (Sztachańska et al., 2016). Pri klinickej forme sú príznaky ochorenia rôznej intenzity, od miernych po ťažké. Subklinická mastitída prebieha bez zjavných klinických príznakov. Dojnice so subklinickou formou mastitídy predstavujú zdroj mikroorganizmov pre ostatné zdravé dojnice, pretože často unikajú pozornosti ošetrovateľov. V produkčných chovoch je najčastejším zdrojom infekčných patogénov infikované vemeno chorej dojnice. Prenos infekcie v stáde je možný pri nedostatočnej hygiene v dojárni, viaceré dojnice môžu prísť do kontaktu s infikovaným zariadením dojárne, rukami pracovníkov a kontaminovanými uterákmi mliekom od infikovanej dojnice (Tančin a Tančinová, 2008).

Na vzniku infekčných mastitíd sa podieľajú viaceré druhy mikroorganizmov. Až v 90% väčšinou ide o bakteriálne infekcie, v menšom počte prípadov o infekcie inými organizmami, ako sú vírusy, huby, kvasinky, parazity a iné. Počet druhov bakteriálnych pôvodcov mastitíd dojníc, uvádzaný v literatúre je veľký a zrejme doteraz neuzatvorený. Baktérie spôsobujúce najbežnejšie formy mastitídy môžu hodnotiť v dvoch skupinách. Infekčné patogény (napr. *Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae* alebo *Streptococcus dysgalactiale*) (Webster, 2020), ktoré môžu prežiť a rásť vo vnútri vemena, takže prenos infekcie z infikovanej na neinfikovanú štvrť je najpravdepodobnejší počas dojenia. Z environmentálnych je najdôležitejším *Escherichia coli* je najdôležitejšia s viacerými kmeňmi odlišnou patogenitou pre zvieratá a ľudí. Medzi ďalšie patria *Streptococcus uberis*, koaguláza-negatívne stafylokoky (KNS), *Corynebacterium* spp., *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp., *Proteus* spp., *Pasteurella* spp., *Listeria* spp., *Leptospira* spp., *Yersinia* spp., *Enterobacter* spp., *Brucella* spp. a *Mycobacterium* spp. (Fox a Gay, 1993; Pyörälä a Taponen, 2009; Sharma a Jeong, 2013).

Cieľom práce bolo porovnať výskyt bakteriálnych pôvodcov a jednotlivých foriem mastitíd v produkčných stádach dojníc lokalizovaných na Slovensku a Českej republike.

MATERIÁL A METODIKA

Praktická časť štúdie bola realizovaná na štyroch farmách dojníc situovaných na Slovensku (farma 1 a 2) a v Českej republike (farma 3 a 4). Na farme 1 je ustajnených 170 dojníc plemena slovenský strakatý dobytok. Dojí sa 2x denne v tandemovej dojárni Miltec. Na farme 2 je chovaných 360 dojníc plemena holsteinský dobytok. Dojí sa 2x denne v dojárni BOUMATIC ProVantage I.M.S. Na farme 3 je chovaných 500 dojníc plemena holsteinský dobytok a českého strakatého dobytka. Dojí sa 2x denne v rybinovej dojárni AFIMILK. Na farme 4 je chovaných 500 dojníc plemena holsteinský dobytok, ktoré sa doja 2x denne v dojárni BOUMATIC. Na všetkých štyroch farmách je dobytok chovaný systémom voľného ustajnenia

na hlbokej podstielke s voľným prístupom k vode a kŕmené TMR v súlade s nutričnými požiadavkami pre dojnice o hmotnosti 650 kg (NRC 2001). Mlieko z každej štvrte vemena bolo podrobené senzorickému vyšetreniu. NK-test (nepriamy diagnostický test, Krause, Dánsko) sa vykonával na všetkých štvrtiach dojených kráv a výsledky sa vyhodnocovali podľa Jackson a Cockcroft (2002).Následne bol vykonaný aseptický odber 12 ml mlieka zo všetkých štvrtí na laboratórne analýzy bakteriálnych patogénov. Vzorky boli ochladené na 4 °C a ihneď transportované do laboratória a analyzované nasledujúci deň. Bakteriologické vyšetrenie bolo prevedené podľa metodiky Malinowski a Klossowska (2002) s identifikáciou *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. *a Enterobacteriaceae* spp. pomocou STAPHY-testu, STREPTO-testu resp. ENTERO-testu a identifikované pomocou softwaru TNW Pro 7.0 (Erba-Lachema, CZ) (Zigo a kol., 2018).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vyhodnotením NK-testu sme zaznamenali najviac zdravých štvrtí s negatívnym skóre na farme 4, čo koreluje aj s nižším výskytom ako subklinickej, tak aj klinickej formy mastitídy. Nk-test je vhodným diagnostickým testom na detekciu predovšetkým subklinickej formy mastitídy. Najvyšší výskyt latentnej formy mastitídy sme zaznamenali na farme 2, na ktorej sme taktiež zaznamenali najvyšší podiel izolovaných patogénov v rámci subklinickej formy mastitídy. Výskyt latentnej a subklinickej formy mastitídy na ostatných farmách bol podobný. Pozitívnych štvrtí s klinickým prejavom mastitídy bolo najviac zaznamenaných na farme 1 (Tabuľka 1).

V tabuľke č. 2 je uvedené percentuálne zastúpenie patogénov izolovaných zo vzoriek mlieka na všetkých štyroch farmách. Medzi hlavné izolované patogény vemena patrili S*taphylococcus* spp., ktoré boli zaznamenané predovšetkým pri subklinickej forme mastitídy. Dieser a kol. (2014) uvádza vo svojej štúdii vyšší výskyt subklinickej formy mastitídy oproti klinickej. Subklinická forma mastitídy môže byť možným zdrojom nových infekcií a môže spôsobiť rýchlejšie šírenie ochorenia v chove dojníc. Najvyššie zastúpenie mali pri subklinickej mastitíde na farme 1, 2 a 4 *Staphylococcus* spp. (9,0%, 22,4% a 20,0%), na farme 3 mali najvyššie zastúpenie *Enterococcus faecalis* (20,1%) a *Streptococcus uberis* (10,0%). *Streptococcus uberis* je rozšírený environmentálny patogén spôsobujúci závažnejšie príznaky. Environmentálne patogény je ťažšie odstrániť z dôvodu ich bežného výskytu (Sharif a kol. 2009).

Tabuľka 1, California Mastitis Test (CMT)

Výsledok NK testu	PSB x 10^3	Interpretácia	Farma 1 (n/%) n = 385	Farma 2 (n/%) n = 283	Farma 3 (n/%) n = 314	Farma 4 (n/%) n = 318
Negatívny nález	0 – 200	Zdravá štvrťka	77,40	64,66	77,08	79,87
Pozitívny nález	200 – 400	Latentná mastitída*	12/3,12	70/24,73	24/7,64	22/6,92
1	400 – 650	Subklinická mastitída*	15/3,90	18/6,36	18/5,73	20/6,29
2	850 – 1 200	Subklinická mastitída	20/5,19	8/2,83	18/5,73	12/3,77
3	1 500 – 5 000	Klinická mastitída* (CM1)	23/5,97	3/1,06	8/2,55	6/1,89
4	Nad 5 500	Klinická mastitída (CM2)	17/4,42	1/0,36	4/1,27	4/1,26

Legenda: PSB – počet somatických buniek, n – počet štvrtiek, *Latentná mastitída – charakteristická prítomnosťou patogénnych mikroorganizmov vo vzorkách mlieka bez zmeny konzistencie a PSB, *Subklinická mastitída – charakteristickým znakom je pozitivny Nk-test, bakteriologická kultivacia, zvýšené množstvo PSB a pokles pôdoja, bez klinických príznakov, *Klinická mastitída – charakteristickým znakom je pozitivny Nk-test, bakteriologická kultivacia, vysoký počet PSB, zmena konzistencie mlieka, sníženým pôdojom, alebo i strátou mlieka a pozitivnymi klinickými príznakmi, CM1 - mierna forma mastitídy, CM2 - stredná forma mastitídy.

Doteraz bolo charakterizovaných viac ako 50 druhov a poddruhov stafylokokov rozdelených na koaguláza-pozitívne stafylokoky a koaguláza-negatívne stafylokoky (KNS) na základe ich schopnosti koagulovať plazmu. Zo vzoriek mastitídneho mlieka hovädzieho dobytka bolo izolovaných viac ako desať rôznych druhov KNS a najčastejšie uvádzané druhy sú *Staphylococcus chromogenes* a *Staphylococcus simulans, Staphylococcus hyicus* a *Staphylococcus epidermidis* (Thorberg a kol., 2006).

Výskyt ostatných izolovaných patogénov bol na všetkých štyroch farmách pri subklinickej mastitíde v nižšom zastúpení. Na farme 1 pri akútnej forme mastitídy bol okrem *Staphylococcus* spp. (8,0%), zaznamenaný výskyt *Staphylococcus intermedius* (3,0%) a *Aerococcus viridans* (5,0%). Na ostatných farmách (farma 2, 3 a 4) bol zaznamenaný *Staphylococcus aureus* v nižšom zastúpení. Podľa Sharif a kol., (2009) sú najčastejšími patogénmi mastitídy *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus agalactiae.* Pri rutinnej diagnostike mastitídy sa KNS normálne neidentifikujú na úrovni druhu, ale počíta sa s nimi ako s jednotnou skupinou. KNS sa tradične považujú za menej závažné patogény mastitídy, najmä v porovnaní s hlavnými patogénmi, ako sú *Staphylococcus aureus*, streptokoky a koliformné

baktérie. Mastitída spôsobená KNS býva mierna a zvyčajne sa prejavuje na subklinickej úrovni preto v mnohých krajinách sa KNS stali najčastejšími pôvodcami zápalov mliečnej žľazy (Pitkälä a kol., 2004, Tenhagen a kol., 2006).

Tabuľka č. 2, Výskyt izolovaných patogénov pri subklinickej a klinickej forme mastitídy

Izolované patogény	Subklinická forma mastitídy (n/%)				Klinická forma mastitídy (n/%)			
	Farma 1 n=100	Farma 2 n=76	Farma 3 n=80	Farma 4 n=80	Farma 1 n=100	Farma 2 n=76	Farma 3 n=80	Farma 4 n=80
Staph. aureus	-	1/1,3	-	-	8/8,0	2/2,6	4/5,0	2/2,5
Staphylococcus* spp.	9/9,0	17/22,4	10/12,6	16/20,0	-	-	-	-
Proteus mirabilis	-	1/1,3	-	-	-	-	-	-
Corynebact. amycolatum	-	-	6/7,5	1/1,3	-	-	-	-
Strept. uberis	-	-	8/10,0	3/3,8	-	-	-	-
Strept. bovis	-	2/2,6	-	-	-	-	-	-
Strept. equinus	-	-	-	2/2,6	-	-	-	-
Staph. intermedius	2/2,0	-	-	-	3/3,0	-	-	-
Enterococcus faecalis	1/1,0	-	16/20,1	6/7,5	-	-	-	-
Aerococcus viridans	3/3,0	12/15,8	-	-	5/5,0	-	-	-
Serratia marcescens	-	-	1/1,25	3/3,8	-	-	-	-

Legenda: n = počet vyšetrovaných vzoriek mlieka na každej farme, n/% počet pozitívnych vzoriek/% vyjadrenie, *Staphylococcus* spp.* = *zahŕňa druhy Staphylococcus cohni, Staph. xylosus, Staph. warneri, Staph. haemolyticus, Staph. equorum, Staph. hyicus, Staph. schleiferi a Staph. piscifermentas.*

ZÁVER

Mastitída, najmä subklinického typu, je široko rozšíreným ochorením dojníc na produkčných farmách. Výskyt subklinickej mastitídy v stádach sa s najväčšou pravdepodobnosťou pripisuje nižšej pozornosti, ktorú tomu poľnohospodári venujú, pretože infikovaná dojnica nevykazuje žiadne zjavné klinické príznaky a mlieko je bez patologických zmien. Nedostatočná implementácia programu pravidelného monitorovania mastitíd, ako je napr. Nk-test a laboratórne vyšetrenie mlieka môže tiež prispieť k vyššej prevalencii

subklinickej mastitídy. Etiológia pôvodcov mastitíd naznačuje, že čoraz väčším problémom sa stávajú KNS, ktoré predstavujú vyššie riziko pre kontamináciu dojníc.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APPV SK-PL-23-0066 a projektom VEGA 1-0162-23.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. DIESER, S.A. et al. Prevalence of Pathogens Causing Subclinical Mastitis in Argentinean Dairy Herds. *Pakistan Veterinary Journal.* 2014, vol. 34, p. 124-126
2. FOX, L.K. – GAY, J.M. Contagious mastitis. The Veterinary clinics of North America. *Food Animal.* 1993, vol. 9, p. 475–87.
3. JACKSON, P. – COCKCROFT, P. Clinical Examination of Farm Animals. Oxford, UK, Blackwell Science Ltd, Wiley-Blackwell, 2002, p. 154−166.
4. MALINOWSKI, A. – KŁOSSOWSKA, A. Diagnostics of intramammary infections. *National Veterinary Research Institute*, Puławy, Poland, 2002.
5. NRC. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th ed. WASHINGTON, USA: The National Academies Press, National Research Council. 381 p.
6. PYÖRÄLÄ, S. – TAPONEN, S. Coagulase-negative staphylococci - Emerging mastitis pathogens. *Veterinary Microbiology*, 2009, vol. 134, no. 2, p. 3-8.
7. PITKÄLA, A. et al. Bovine mastitis in Finland – Prevalence, distribution of Bacteria and Antimicrobial Resistence. Journal of Dairy Science. 2001, vol. 87, p. 2433-2441.
8. SHARIF, A. – UMER, M. – MUHAMMAD, G. Mastitis control in dairy production. *Journal of Agriculture & Social Sciences*, 2009, vol. 5, p. 102-105.
9. SHARMA, N. – JEONG, D.K. Stem cell research: a novel boulevard towards improved bovine mastitis management. International Journal of Biological Science. 2013, vol. 9, p. 818–29.
10. SZTACHAŃSKA, M. et al. Prevalence and etiological agents of subclinical mastitis at the end of lactation in nine dairy herds in North-East Poland. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 2016, vol. 19, p. 119–124.
11. TANČIN, V. – TANČINOVÁ, D. 2008. Strojové dojenie kráv a kvalita mlieka. Publikácia SCPV Nitra. 2008, p. 19, ISBN 978-80-88872-80-1.
12. TAPONEN, S. et al. Clinical characteristics and persistence of bovine mastitis caused by different species of coagulase-negative staphylococci identified with API or AFLP, *Veterinary Microbiology*, 2006, vol.115, No. 1–3, p. 199-207, ISSN 0378-1135.

13. TENHAGEN, G. et al. Prevalence of Mastitis Pathogens and Their Resistance Against Antimicrobial Agents in Dairy Cows in Brandenburg, Germany. Journal of Dairy Science. 2006, vol. 89, p. 2542–2551.
14. THORBERG, B.M. et al. Pheno- and genotyping of *Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine milk and human skin, 2006, *Veterinary Microbiology*, vol. 115, no. 1–3, p. 163-172, ISSN 0378-1135.
15. VRŠKOVÁ, M. et. al. Evaluation of daily milk production in tsigai ewes by somatic cell count. *Potravinárstvo*, 2015, vol. 9, p. 206-210.
16. WEBSTER J. Understanding the Dairy Cows. 3rd ed. Oxford, UK: Wiley Blackwell 2020, p. 258
17. ZIGO, F. et al. Mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in herds of dairy cows situated in marginal parts of Slovakia. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 2018, vol. 12, no. 1, p. 285–291.

Kontaktná adresa: Lacková Zuzana, Department of Food Hygiene and Technology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: zuzana.lackova@uvlf.sk

AKTUÁLNA SITUÁCIA A PERSPEKTÍVA V CHOVE PSTRUHA DÚHOVÉHO NA SLOVENSKU

CURRENT SITUATION AND PESPECTIVE IN RAINBOW TROUT BREEDING IN SLOVAKIA

Madžunkov Michal, Cintula Bohuš

Združenie chovateľov rýb na Slovensku, SNP 30, 900 28 Ivanka pri Dunaji

ABSTRACT

About 45 entities are dedicated to the rainbow trout, with annual trout production reaching more than 1200 tonnes (2024). The production of freshwater fish in Slovakia reaches more than 3200 tonnes, with approximately one third of which is a rainbow trout, a carp pond and an African catfish. The remaining share is for other fish (pike, catfish, gray, etc.). Fish farming is carried out by approximately 100 entities, with almost half a member of the Association of Fish Breeders in Slovakia. The production of members of the Association exceeds the current threshold of 95 % of the total production of the aquaculture sector in Slovakia.

Key words: freshwater fish, rainbow trout, fish breeder

ÚVOD

Začiatky zvýšeného chovu pstruha dúhového sa datujú na roky 1947-1948 kedy sa z Dánska doviezli násady, ktoré sa stali základom generačných stád väčšiny fariem v Československu. Produkcia pstruha do roku 1989 neprekračovala 200 ton. Jednalo sa najmä o produkciu Štátneho rybárstva a Slovenského rybárskeho zväzu. Až po roku 1989 sa zvýšila produkcia pstruha. Prispel k tomu najmä spustenie prevádzky na Bielom Potoku a dostupnosťou KKZ a ch využívaním v chove. V roku 2004 produkcia dosiahla 650 ton. V ďalších rokoch nárast produkcie súvisel s nárastom počtu chovateľov rýb a zavádzaním intenzifikácií v chovoch.

Aktuálna situácia na Slovensku:

Chovu pstruha dúhového (tržného) sa venuje približne 45 subjektov, pričom ročná produkcia pstruha dosahuje viac ako 1200 ton (údaj za rok 2024). Významne limitujúcim faktorom produkcie je v súčasnosti hlavne dostatok kvalitnej vody, ktorá je v chove rýb využívaná. Významný podiel produkcie tvorí chov pstruha v klietkach (cca 20%) a chov s čiastočnou recirkuláciou vody (15 %) s použitím intenzifikačných technológií. Vyslovene

RAS systémy v chove pstruha na Slovensku aktuálne neprevádzkujeme. Zvyšná časť produkcie (65%) pochádza z prietočných systémov, kde významnú úlohu zohráva práve vodný zdroj. Produkcia násad je zabezpečená v uzavretých chovoch bez nutnosti importov ikier a mladých rýb. Vo výžive sa v chove používajú výhradne štandardné kompletné kŕmne zmesi, pričom na Slovensku sú etablované 4 významné svetové značky.

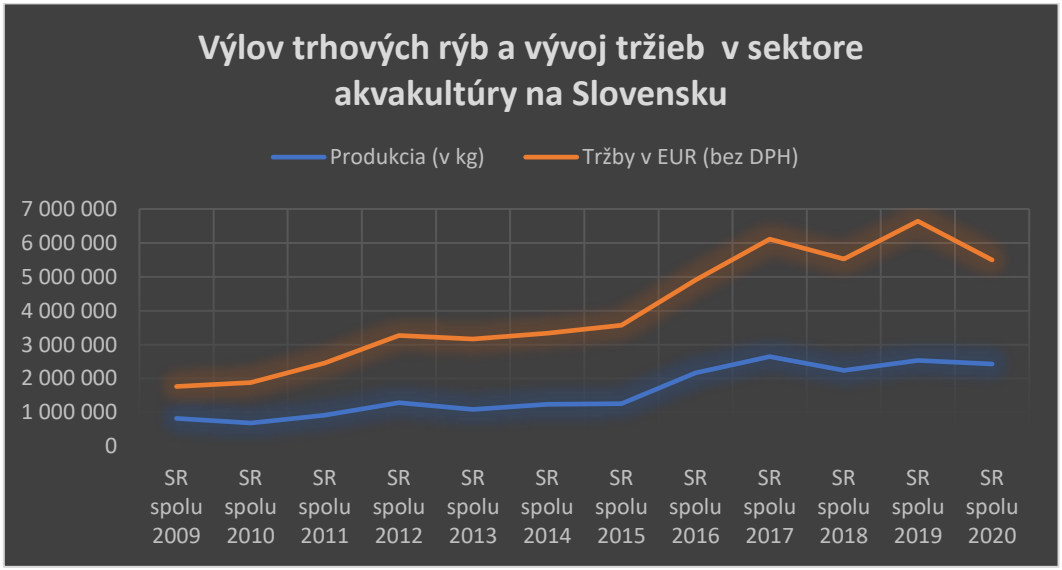
Finálnym produktom je tržná ryba prevažne v hmotnosti 300g - 500g, avšak aktuálne je trendom produkovať skôr ryby s vyššou priemernou hmotnosťou na úrovni 600 g a viac. Takmer 35 % z celoročnej produkcie pstruha končí mimo Slovenka. Významná časť produkcie končí v spracovniach (20%), pričom finálnym produktom je tak pstruh chladený-pitvaný, ktorého si môžu zákazníci kúpiť najmä v obchodných reťazcoch. Časť produkcie (cca 10 %) končí vo forme násad v rybárskych revíroch Slovenského rybárskeho zväzu.

Zvyšných 35 % percent produkcie pstruha končí vo forme malopredaja realizovaného jednotlivými chovateľmi alebo inou formou umiestnenia rýb na trhu (napr. predaj v živom). Cena pstruha sa pohybuje aktuálne na úrovni od 4,00-5,00 EUR. V malopredaji je cena u konečného zákazníka na úrovni 6-7,50 EUR vrátane 5 % DPH.

Okrem vody ovplyvňujú výšku produkcie významne tiež zooveterinárne podmienky a výskyt najmä vírusových ochorení. Od roku 2020 nebol na Slovensku zaznamenaný výskyt ochorení VHS a IHN a preto je možné slovenských chovateľov dnes považovať za spoľahlivých dodávateľov rýb.

V neposlednom rade negatívny dopad na celkovú produkciu pstruha na Slovensku má aj vplyv rybožravých predátorov najmä volavky, vydry (kormorána). Aktuálne chovatelia rýb na Slovensku majú možnosť žiadať kompenzáciu vzniknutých škôd a tieto náhrady vzniknutých škôd sú preplácané.

Obrázok č.1, Výlov trhových rýb a vývoj tržieb v sektore akvakultúry na Slovensku



Obrázok č.2, Podiel odbytu tržného pstruha na Slovensku



ZÁVER

Nové prevádzky s chovom pstruha sa na Slovensku aktuálne nebudujú. Šancu na zmenu k lepšiemu snáď prinesie nové programové obdobie *Program rybného hospodárstva na roky 2021-2027*, kedy sú avizované niektoré nové lokality na výstavbu rybochovných zariadení a prípadne vznik RAS zameraných aj na chov pstruha. Perspektívou pre zvýšenie spotreby rýb na Slovensku je finalizácia produkcie pomocou spracovania a uvádzania výrobkov na miestny a regionálny trh priamo spotrebiteľovi.

Kontaktná adresa: Madžunkov Michal, Association of fish breeders in Slovakia, SNP 30, 900 28 Ivanka pri Dunaji, Slovak Republic; madzunkovmiso@gmail.com

MONITORING DEZINFEKCE STÁJÍ V CHOVECH BROJLERŮ – PRVNÍ KROK K ZAJIŠTĚNÍ KVALITY DRŮBEŽÍHO MASA

DISINFECTION EFFECT MONITORING IN BROILER HALLS – FIRST STEP TO POULTRY MEAT QUALITY

Macháček Miroslav[1], Kabrhel Vojtěch[2]

1. Veterinární univerzita Brno, Ústav ochrany a welfare zvířat a veřejného veterinárního lékařství Palackého třída 1, 612 42 Brno

2. ADDICOO GROUP s.r.o. Bohdíkovská 2438/7, 787 01 Šumperk

ABSTRACT

Poultry meat is important in human nutrition. The quality of poultry meat is influenced by many factors. To these factors belong using of suitable hybrid, healthy feed, keeping in good conditions and satisfy animal welfare. The right conditions and welfare affect animal health. Animal health is affected by presence of microbes. The contact with the pathogens can caused disease. For the prevention is necessary to make periodical disinfection at the end of cycle. Before the disinfection could be different surfaces different contaminated and the disinfection could be different difficult in different places. For successful disinfection is necessary to identify this places and aimed on them. In the experiment was monitored the mechanical cleaning and disinfection on drinkers, feeders, floors and ventilators in broiler farms. From the results was showed, that the best disinfection effect was on drinkers and feeders. The worst disinfection effect was on the floor (however, the disinfection effect was sufficient). From the result is shown, that for the successful disinfection effect is necessary to aimed on this surfaces.

Key words: Stable hygiene, meat quality, mechanical cleaning, disinfection

ÚVOD

Chov drůbeže je významné zemědělské odvětví, které má stále rostoucí význam. Z dat Českého statistického úřadu vyplývá, že se produkce drůbežího masa v České republice od roku 2011 do roku 2020 zvýšila o 14 % a spotřeba dokonce o 28,8 % (tab. 1). Produkce a spotřeba drůbežího masa bývá ale částečně ovlivněna epidemiemi (např. ptačí chřipka, salmonela), kdy dochází k utrácení nemocných nebo vnímavých zvířat, nebo snížení důvěry zákazníků v drůbeží maso. Přesto je zájem zemědělců o zakládání a zlepšování chovů drůbeže z důvodu vysoké produkce (snáška, růst svaloviny) současných hybridů stále vysoký. U spotřebitelů je vysoký zájem o drůbeží produkty z důvodu konzumace kvalitní potraviny živočišného původu (vejce, maso) za relativně nízkou cenu. Přesto že se zdá, že šlechtitelské limity naráží na

fyziologické hranice (intenzita růstu, produkce vajec, konverze krmiva), tak téměř každým rokem dochází k zintenzivnění těchto parametrů. Velkým rizikem tohoto odvětví je stájová hygiena a možnost šíření patogenů. Některá onemocnění, jako již zmíněná salmonelóza nebo nákaza ptačí chřipkou, mají výrazný vliv na zdraví celého chovu a také na ekonomiku celého odvětví. Pouze ze zdravých zvířat může být produkována zdravotně nezávadná, kvalitní potravina. Ovlivňování zdravotní nezávadnosti začíná již ve stájích, kdy může být ovlivněna krmivem, ustájením, nemocemi a případnými rezidui léčiv. (Český statistický úřad, Ministerstvo zemědělství ČR, 2002, Evropský úřad pro bezpečnost potravin)

Zdraví zvířat je důležité nejenom z ekonomického hlediska, ale má také výrazný vliv na jejich pohodu, welfare a kvalitu živočišných produktů. Z tohoto důvodu je důležité provádět veškeré kroky, minimalizující riziko vniku patogenů do chovů a také snižující mikrobiální únavu stájí. V rámci zajištění zdraví zvířat v prostředí vysoké koncentrace mikroorganismů se provádí turnusových chov zvířat spojený s pravidelnou dezinfekcí stájí. Z důvodu kontroly úspěšnosti dezinfekce je potřeba zjistit množství přeživších mikroorganismů v prostředí po takto provedené dezinfekci. Tyto kontroly by měly být co nejrychlejší, aby se případné nedostatky v provedené dezinfekci mohly okamžitě napravit. Jelikož jsou mikroorganismy tak malé, že je nelze pozorovat pouhým zrakem je nezbytné použít takové metody, které buď přímo, nebo nepřímo stanoví jejich počet. (Škaloud 2005)

Mezi metody mikrobiologického stanovení počtu mikroorganismů lze použít kultivační metody, luminiscenční metody, cytometrické metody a PCR metody. Každá z těchto metod má své výhody a také svá omezení, a proto je nutné, aby byly v případě jejich použití tyto vlastnosti zhodnoceny a případně aby rozšířeny o další metody, vedoucí k přesnějšímu stanovení. (Melicherčíková, 2005, Votava, 2005)

V rámci zajištění maximálního zdraví a užitkovosti brojlerových kuřat je důležité provádět pravidelnou dezinfekci mezi jednotlivými turnusy. V případě, že by tato dezinfekce nebyla prováděna, tak může docházet ke zvýšeným úhynům případně ke zhoršení zdravotního stavu zvířat, která se následně musí léčit (nejčastěji pomocí antibiotik). Právě riziko antibiotické rezistence různých mikroorganismů a kontaminace životního prostředí reziduí antibiotik je stále více aktuální téma. I z tohoto důvodu je snahou Evropské unie snižovat spotřebu antibiotik ve veterinární medicíně. Cílem Evropské unie je snížit spotřebu antibiotik na 59,2 mg/PCU (Population Correction Unit). Česká republika toho limitu dosáhla již v roce 2021. Zlepšení zdraví zvířat a snížení spotřeby antibiotik v České republice také napomohlo zlepšení stájové hygieny a vakcinace zvířat. (Schmerold et al., 2024, svscr.cz, Jung and Rautenschlein, 2014).

Při provádění dezinfekce na konci turnusu je potřeba dodržet tento postup

1. Depopulace
2. Mechanická očista
3. Dezinfekce
4. Odpočinutí stájí

Vyskladnění hal

Před začátkem procesu mechanické očisty je nutné odeslat všechna zvířata na jatka. Toto vyskladnění může být v rámci jednoho, případně více po sobě jdoucích dnů. Právě depopulace má výrazný vliv na dezinfekci stájí, jelikož se následně mohou použít dezinfekční látky, přípravky nebo koncentrace, které by jinak byly pro zvířata toxické.

Mechanická očista

Mechanickou očistu lze rozdělit na dvě části. V první části se provede odstranění veškerých hrubých nečistot, které ve stájích zůstaly. Mezi materiál, který se v této fázi odstraňuje, patří podestýlka a zbytky krmiv. V této fázi je také dobré odmontovat krmítka, napáječky, nebo případné prvky enrichmentu použité pro zlepšení welfare zvířat.

Následně se provede mechanická očista oplachem vodou (nejlépe s přídavkem detergentu) s cílem odstranění přischlých nečistot.

Právě důkladná mechanická očista zaručí, že se dezinfekční látka dostane do kontaktu s ošetřovaným materiálem. Provedením důkladné mechanické očisty odstraníme více než 99 % mikroorganismů z prostředí. V případě že by mechanická očista nebyla provedená důkladně, tak by také došlo k reakci dezinfekční látky s organickými nečistotami, což může mít negativní vliv na samotnou dezinfekci.

Dezinfekce

V rámci provedení samotné dezinfekce je nutné:

- Zvolit vhodný dezinfekční přípravek
- Připravit správnou koncentraci
- Použít správnou aplikační formu
- Dodržet expoziční dobu
- V případě nutnosti omýt zbytky dezinfekčního přípravku (Škaloud 2005, MS Schippers, Faivre, 2023, Kaoud, 2016)

Významný vliv na výslednou dezinfekci mohou mít různé povrchy, konstrukce stájí, vybavení, technologie a s tím spojená možnost mechanické očisty nebo samotné dezinfekce. Vzhledem k zajištění dostatečné dezinfekce je nutné takováto místa identifikovat a následně se na ně během mechanické očisty a dezinfekce stájí zaměřit. V případě že by na těchto místech

neproběhla dezinfekce dostatečně, tak je zde při naskladnění nového turnusu riziko nákazy kuřat a s tím spojené zhoršení konverze krmiv, zvýšení množství úhynů, spotřeby léčiv a snížení kvality masa. (Jung and Rautenschlein, 2014)

Vzhledem k zajištění čistoty stájí je potřeba provádět kontrolu dezinfekčního procesu. Mezi nejpřesnější metody v současnosti patří metoda kultivační a PCR. Bohužel tyto metody jsou časově (kultivační metoda) nebo ekonomicky (PCR metoda) náročné. Z tohoto důvodu jsou na trh uváděné přístroje, které mohou měřit čistotu prostředí nepřímo (luminometry). Mezi výhody luminometrických metod patří rychlé zjištění čistoty prostředí (řádově v desítkách sekund). Bohužel mezi nevýhody těchto metod patří stanovení ATP nejen z živých mikroorganismů, ale také z organických nečistot. Luminometrické metody jsou proto spíše ukazatelé čistoty prostředí než mikrobiální kontaminace. Přestože dezinfekci předchází mechanická očista, která má na následnou dezinfekci výrazný vliv, tak z hlediska zajištění zdraví a welfare zvířat a s tím spojené kvality živočišných produktů je důležitá mikrobiální kontaminace. V praxe se tyto nedostatky luminometrických metod snižují tím, že se v případě naměření vysokých hodnot ATP (které jsou zjištěny téměř okamžitě), následně provádí stanovení mikrobiální kontaminace kultivačními metodami.

Jako další alternativa sledování dezinfekčního efektu a následné mikrobiální kontaminace ihned po provedení dezinfekce se jeví použití mobilního průtokového cytometru (například přístroj CytoQuant® firmy Romer Labs). Tímto přístrojem lze ihned zjistit nejen mikrobiální kontaminaci, ale také přítomnost hrubých nečistot. Jako možná nevýhoda tohoto měření může být, že mobilní průtokový cytometr CytoQuant® ve srovnání s kultivačními plotnovými metodami počítá všechny živé mikroorganismy, a proto je potřeba vytvořit hodnotící škálu čistoty prostředí. Tvorba hodnotící škály je v současnosti řešena v rámci úzké spolupráce výrobců přístroje CytoQuant® (Romer Labs, O.K. SERVIS BioPro, s.r.o), zástupců Veterinární univerzity Brno a firmy ADDICOO GROUP s.r.o.

MATRIÁL A METODIKA

Pokus probíhal v termínech od 26.1. 2024 do 30.1. 2025 na čtyřech farmách, celkem ve 14 halách. Všechny chovy byly zaměřeny na výkrm brojlerových kuřat. V rámci pokusu bylo prováděno sledování predispozičních míst a jejich výsledné čistoty po provedené dezinfekci pomocí luminometrické a kultivační metody.

Dezinfekce proběhla v následujících krocích:

1. Odstranění hrubých nečistot (podestýlka, zbytky krmiv, …)

2. Mytí (odmočení přischlých nečistot studenou vodou a následný oplach vodou o teplotě 60 °C s přídavkem 1% čistícího přípravku na bázi alkoholů a benzalkonium chloridu P3 Steril)
3. Dezinfekce (přípravek na bázi aldehydů Fogit ve formě aerosolu)

Po 24 hodinách od provedené dezinfekce, během nichž byla hala nepřístupná, byl proveden odběr vzorků. Jako predispoziční místa byla vybrán pítka, krmítka, podlahy a ventilátory. Z každého z těchto míst byl po provedené dezinfekci proveden stěr z plochy 10 x 10 cm (100cm^2) pomocí stěrového tampónu 3M™ Clean-Trace™ ATP tester UXC100. Tento stěrový tampón byl dle návodu výrobce ihned po stěru aktivován v luminiscenčním roztoku a změřen pomocí přístroje 3M™ Clean-Trace™ Luminometer, LX25, 1 Each/Case. Výsledná hodnota RLU (Relative Light Unit) byla ihned zaznamenána. Ve stejnou dobu a ze stejného predispozičního místa byl dle návodu výrobce proveden otisk (Hygicult TPC firmy Orion s otiskovou plochou 9,4 cm^2). Otiskový preparát byl následně kultivován v termostatu při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin. Po 24 hodinách byl test Hygicult TPC vyjmut a ihned byl proveden odečet narostlých kolonií (CFU – Colony Forming Units). Výrobce také umožňuje provést počty narostlých kolonií odhadem. Pro tuto možnost vytvořil hodnotící škálu, kde podle hustoty (orientačně) nárůstu kolonií lze hodnotit kontaminaci povrchu jako 1 CFU/cm^2, 5 CFU/cm^2, 45 CFU/cm^2, 80 CFU/cm^2 a >100 CFU/cm^2.

Statistická analýza

Data byla analyzována za použití statistického programu Unistat for Excel 6.5. (Unistat Ltd., GB). Byla posouzena normalita s využitím Shapiro-Wilkova a Kolmogorovův – Smirnova testu (zjištěna nerovnoměrná distribuce). Pro data byly stanoveny základní charakteristiky, zahrnující průměr, medián, minimální a maximální hodnotu (MIN a MAX). Vliv odběrového místa (pítko, krmítko, podlaha, ventilátor) na míru organického znečištění (měření luminometrem) a míru mikrobiálního znečištění (Hygicult) byl posouzen s využitím neparametrického Kruskal-Wallisova testu. V případě, potvrzení statistických rozdílů ($p < 0,05$), byly dále sledovány rozdíly mezi jednotlivými místy odběru, a to s využitím post hoc testu (Dunnův test).

Pro zhodnocení byla použita hladina významnosti $p < 0,05$ (statisticky významný rozdíl) a $p < 0,01$ (statisticky vysoce významný rozdíl).

VÝSLEDKY

V rámci pokusu bylo provedeno 58 stěrů z pítek, 58 stěrů z krmítek a 58 stěrů z podlahy na mikrobiologické a luminometrické vyšetření a 58 stěrů z ventilátoru na mikrobiologické vyšetření a 47 stěrů z ventilátorů na luminometrické vyšetření. V rámci pokusu byly srovnány míry kontaminace jak hodnot získaných pomocí luminometru (RLU – organické znečištění) tak hodnot získaných kultivací (CFU – mikrobiální znečistění).

Naměřené hodnoty se mezi jednotlivými stěry velice lišili. Pomocí luminometru byly u pítka naměřeny hodnoty mezi 0 RLU až 9 466 RLU, u krmítka mezi 0 až 8 036 RLU, u podlah mezi 0 až 8 661 RLU a u ventilátorů mezi 0 až 2 290 RLU. U kultivace otisků získaných pomocí hygicultu byly získané počty mikroorganismů u pítek mezi 0 až 45 CFU, u krmítek mezi 0 až 545 CFU a u podlah a ventilátorů mezi 0 až 80 CFU.

Vzhledem k vysoké rozdílnosti získaných dat byly použity hodnoty mediánu, aby došlo k vyloučení extrémních hodnot. Tyto extrémní hodnoty jsou způsobeny možnou chybou provádění stěrů, kdy v rámci hodnocení i dvě vedle sebe odebraná místa mohou mít odlišné hodnoty RLU, nebo CFU. Tyto rozdíly mohou být způsobeny setřením přischlých organických nečistot, které obsahují velké množství přeživších mikroorganismů. Právě velká skupina vzorků eliminuje chyby v celkovém hodnocení.

Hodnocení luminometrického měření (RLU)

Výsledky mediánu naměřené pomocí luminometru jsou zobrazeny v grafu č. 1. Z výsledků je zřejmé, že nejnižší hodnoty (nejlépe provedená mechanická očista a dezinfekce) byly v pítkách (9 RLU), dále v krmítkách (23 RLU), poté na ventilátorech (33 RLU) a nejvyšší naměřené hodnoty (nejhůře provedená mechanická očista a dezinfekce) byly získané z podlah (135 RLU). V případě vzájemného zhodnocení těchto hodnot pomocí Dunnova testu byly zjištěny statisticky vysoce významné rozdíly mezi krmítky a podlahou ($p=0,0014$) a mezi krmítky a ventilátory ($p=0,0011$). Statisticky významné rozdíly byly mezi pítky a podlahou ($p=0,0332$), pítky a ventilátory ($p=0,0265$) a mezi podlahou a ventilátory ($p=0,0411$). Statisticky nevýznamné rozdíly byly zjištěny mezi pítky a krmítky ($p > 0,05$) (tabulka č. 2).

Hodnocení kultivačního měření (CFU)

Výsledky mediánu naměřené pomocí kultivace otisku z hygicultu jsou zobrazeny v grafu č. 2. Z výsledků je zřejmé, že nejnižší hodnoty (mikrobiálně nejméně kontaminované povrchy) byly v krmítkách (1 CFU), následně v pítkách a ventilátorech (5 CFU) a nejvyšší hodnoty (mikrobiálně nejvíce kontaminované povrchy) byly na podlaze (45 CFU). V případě hodnocení těchto hodnot pomocí Dunnova testu byly statisticky vysoce významné rozdíly mezi

pítky a podlahou ($p<0,01$), mezi krmítky a podlahou ($p< 0,01$) a mezi podlahou a ventilátory ($p=0,0079$). Statisticky nevýznamné rozdíly byly zjištěny mezi pítky a krmítky ($p > 0,05$) , mezi pítky a ventilátory ($p=0,085$) a mezi krmítky a ventilátory ($p=0,360$) (tabulka č. 2).

TABULKY

Tab. 1 Produkce a spotřeba drůbežího masa v České republice v letech 2011 – 2020 (Český statistický úřad)

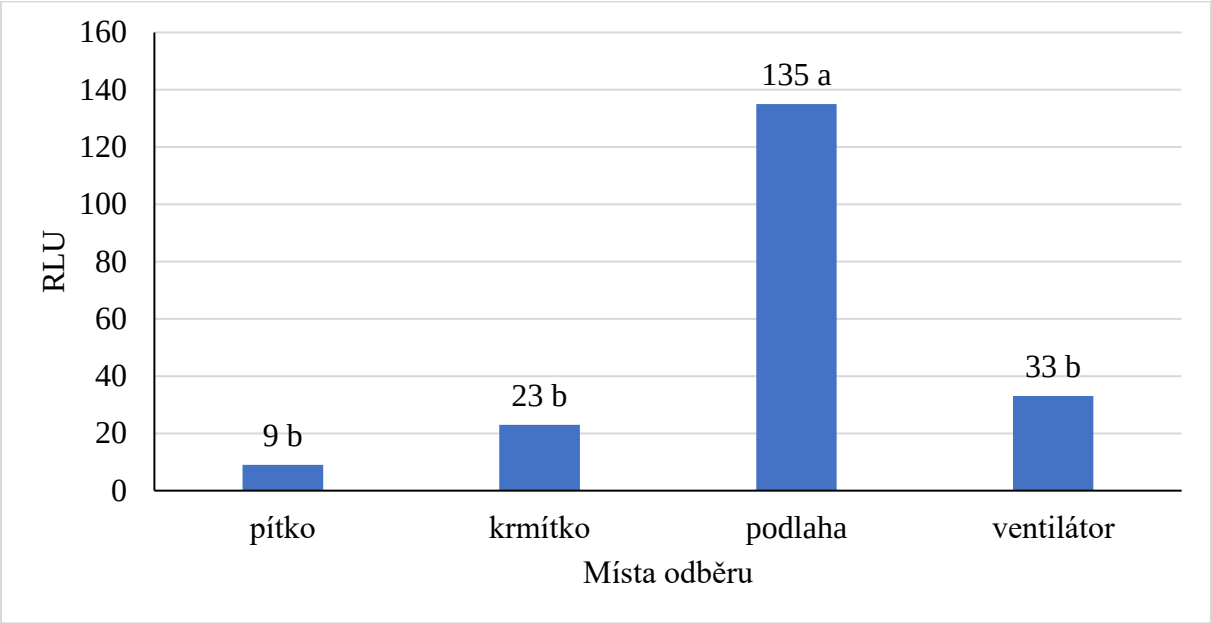
Rok	Ukazatel		
	Produkce	Domácí spotřeba	Soběstačnost
	[1000 t/ž.h.]	[1000 t/ž.h.]	[%]
2011	237	323	73
2012	242	348	69
2013	235	331,9	71
2014	236,8	341	69,4
2015	239	370,5	64
2016	247,4	375	66
2017	252	382,2	66
2018	260,1	399	65,2
2019	265,7	407,2	65,2
2020	270	416,4	64,8

Tab. 2 Srovnání míry kontaminace pítek, krmítek, podlah a ventilátorů (výsledky Dunnova testu)

Sledovaný povrch	Výsledná kontaminace					
	Pítko		Krmítko		Podlaha	
	ATP	Hygicult	ATP	Hygicult	ATP	Hygicult
	[RLU]	[CFU]	[RLU]	[CFU]	[RLU]	[CFU]
Krmítko	1,0000	1,0000				
Podlaha	0,0332	<0,0001	0,0014	<0,0001		
Ventilátor	0,0265	0,0850	0,0011	0,3600	0,0411	0,0079

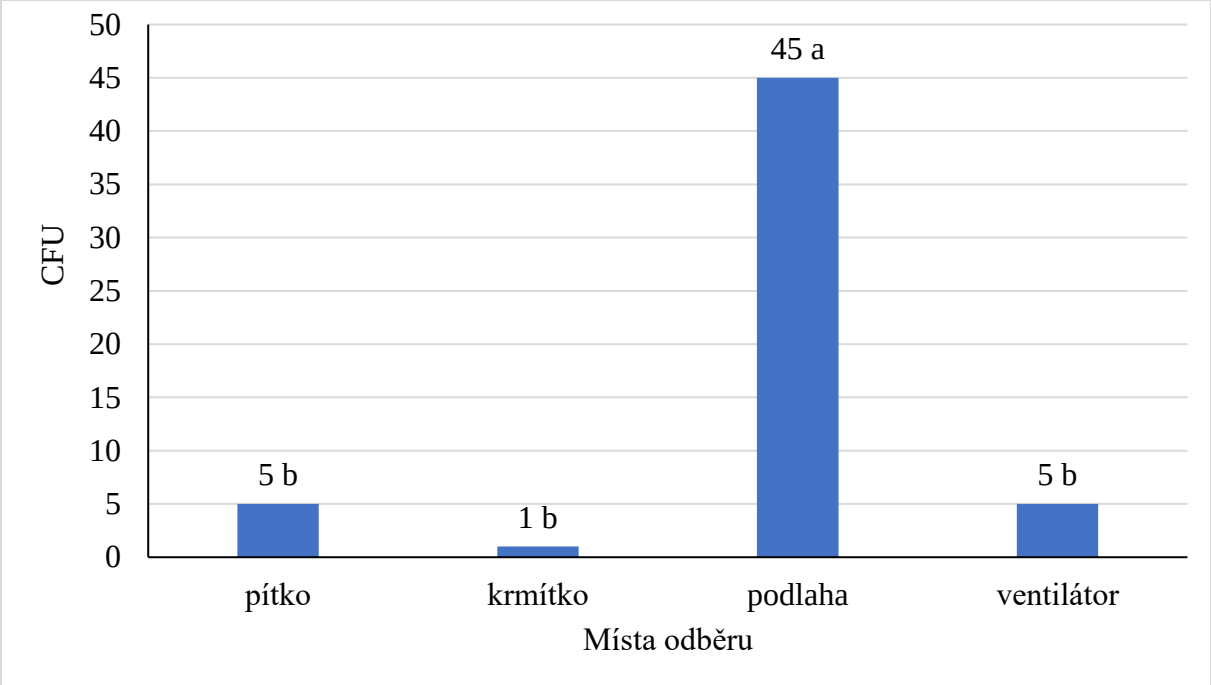
GRAFY

Graf. 1 Míra organického znečištění na sledovaných površích (výsledky mediánu)



[a-b] hodnoty s odlišnými indexy pro jednotlivá místa odběru se statisticky významně liší ($p < 0,05$)

Graf. 2 Míra mikrobiálního znečištění na sledovaných površích (výsledky mediánu)



[a-b] hodnoty s odlišnými indexy pro jednotlivá místa odběru se statisticky významně liší ($p < 0,05$)

DISKUSE

Z výsledků porovnání je zřejmé, že při hodnocení mechanické očisty a mikrobiální kontaminace jsou nejčistší pítka a krmítka. Právě nízké množství organických nečistot a mikrobiální kontaminace poukazují na důkladnou očistu těchto povrchů. Tato vysoká čistota může být způsobena několika faktory. Mezi tyto faktory patří nízká poréznost materiálu, ze kterého jsou krmítka a napáječky vyráběny (plasty) a také malá možnost uchycení se organických nečistot, které mohou být zdrojem mikroorganismů, případně které mohou napomoci jejich přežívání. Přesto je nadále potřeba hygienu těchto povrchu nezanedbávat, jelikož voda a krmivo, které se v nich nachází, mohou podléhat kažení a jejich příjmem může docházet k infekci trávicího traktu.

Ze získaných výsledků je zřejmé, že podlahy a ventilátory byly po provedené dezinfekci více znečištěné než krmítka a pítka. V případě srovnání ventilátorů a podlah ze získaných výsledků vyplývá, že ventilátory byly čistší než podlahy. Toto je zřejmé při srovnání výsledků z pítka a ventilátoru naměřených luminometrem a kultivačně. Z výsledků vyplývá, že přestože hodnocení mechanické očisty (zbytků hrubých nečistot) vyšlo jako statisticky významné ($p=0,0265$), tak při hodnocení kultivace z pítka a ventilátoru byl jejich rozdíl statisticky nevýznamný ($p=0,085$). Z výsledku tedy vyplývá, že přestože na ventilátorech ve srovnání s pítky zůstaly organické nečistoty, tak po provedené dezinfekci došlo k dostatečnému snížení jejich mikrobiální kontaminace.

V případě srovnání pítek s podlahou, tak při hodnocení mechanické očisty (zbytků organických nečistot) byl rozdíl statisticky významný ($p=0,332$), ale při hodnocení kultivace byl rozdíl statisticky vysoce významný ($p<0,01$). Tyto výsledky ukazují na vysokou mikrobiální kontaminaci podlah i po provedené dezinfekci.

Vyšší kontaminace ventilátorů může být způsobena postupným ulpíváním a přisycháním prachových částeček na jejich povrchu. U podlahy může být vyšší kontaminace způsobena trvalým kontaktem podestýlky s podlahou během celého turnusu. Nejvyšší kontaminace podlah může být způsobena jejich nejvyšší pórovitostí spojené s nejvyšším množstvím organických nečistot v těchto pórech, které také napomáhají přežití mikroorganismů. Nejvyšší kontaminace podlah také může být způsobena nejdelší dobou kontaktu s mikroorganismy, během které dochází k jejich porůstání do všech nerovností. Z výsledků je tedy zřejmé, že podlahy patří mezi nejhůře dezinfikovatelné povrchy, a proto je potřeba se zaměřit na jejich důkladnou mechanickou očistu a dezinfekci (Jung and Rautenschlein, 2014).

Při srovnání luminometrických a kultivačních metod je zřejmé, že luminometrické metody z hlediska hodnocení mikrobiální kontaminace nejsou dostatečné. Lze je ale použít

v rámci rychlého hodnocení provedení mechanické očisty, která je důležitým krokem k provedení důkladné dezinfekce. V případě že toto hodnocení poukazuje na nedostatečnou mechanickou očistu a s tím spojenou vysokou mikrobiální kontaminaci, tak je vhodné proces dezinfekce (případně některé jeho kroky) zopakovat, nebo provést mikrobiologické kultivační vyšetření (Škaloud 2005, Melicherčíková, 2005).

V rámci snížení mikrobiální kontaminace je vhodné používat na podlahy takové materiály, které zajistí, že budou hladké a bez pórů a zároveň takové, které zajistí jejich dlouhodobou životnost. Dále je možné zvýšit dezinfekční účinek použitím postřiků, kdy použitý dezinfekční přípravek může protéct do různých spár a vzhledem k dostatečné expoziční době může způsobit dostatečný dezinfekční efekt. Případným nahrazením fogování za postřik ale může dojít k vytvoření jiných predispozičních míst, kde může být výsledný dezinfekční efekt nedostatečný (Jung and Rautenschlein, 2014).

ZÁVĚR

Zemědělské odvětví zaměřené na chov brojlerů má vzhledem k jejich vysoké intenzitě růstu do budoucna velký potenciál. Z důvodu zajištění zdravotně nezávadné a kvalitní potraviny je nezbytné, aby bylo zajištěno zdraví zvířat již ve stájích. Pouze zdravá zvířata mohou produkovat kvalitní živočišné produkty a mohou mít také významný vliv na snížení spotřeby léčiv. Pro zajištění dobrého zdraví zvířat je potřeba zajistit vhodné hybridy do dané technologie, kvalitní krmivo (obsahující veškeré živiny, bez přítomnosti nežádoucích a toxických látek), optimální podmínky prostředí a také dobrou pohodou a welfare.

Mezi podmínky prostředí patří mikrobiální kontaminace, kdy přítomnost mikroorganismů může přímo vyvolat onemocnění zvířat, nebo může mít negativní vliv na jejich přírůstky. Z tohoto důvodu se mezi jednotlivými turnusy provádí dezinfekce. Dezinfekce stájí na konci každého turnusu napomáhá snížit riziko mikrobiální únavy stáje, aby se nově naskladněná zvířata nemusela vyrovnávat s mikroorganismy po turnusech předchozích.

Vzhledem k členitosti hal je potřeba zjistit, zda jsou všechna místa dostatečně dezinfikována. V rámci pokusu byly po provedené dezinfekci na konci turnusu prováděny stěry z různých ploch v halách brojlerů (pítka, krmítka, podlahy a ventilátory). V rámci pokusu byly z těchto povrchů provedeny stěry na hodnocení mechanické očisty (luminometricky) a výsledné dezinfekce (kultivačně).

Ze získaných výsledků vyplynulo, že nejlepšího dezinfekčního efektu bylo dosaženo na pítkách a krmítkách. Vzhledem k tomu, že v pítkách a krmítkách se zvířatům podává voda a krmivo, tak je tento výsledek z hlediska zajištění jejich zdraví pozitivní.

Ze získaných výsledků vyplynulo, že nejhoršího dezinfekčního výsledku bylo dosaženo na podlahách. Vysoké množství přeživších mikroorganismů je pravděpodobně způsobeno vysokou pórovitostí podlah a dlouhodobým kontaktem mikroorganismů s tímto povrchem. Ze získaných výsledků naštěstí vyplynulo, že množství přeživších mikroorganismů bylo nízké a tak zde nejsou nutné obavy z případného onemocnění zvířat, přesto je potřeba zvýšit pozornost při dezinfekci těchto povrchů, jelikož případné nedostatky mohou mít negativní vliv na zdraví zvířat.

Ze získaných výsledků také vyplynulo, že mechanická očista má velký vliv na výsledný dezinfekční efekt a právě její rychlé hodnocení (desítky sekund od vyšetření), například pomocí luminometru, mohou výrazně zrychlit zjištění případných nedostatků.

PODĚKOVÁNÍ

ITA VETUNI 2025ITA25 (Projekt Interní tvůrčí agentury Veterinární univerzity Brno č. 2025ITA25)

LITERATURA

1. Český statistický úřad (www.csu.gov.cz)
2. Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA)
3. FAIVRE, Q, (2023) Cleaning and disinfection of poultry house: a key step in poultry farm biosecurity, novocenter.novogen-layers.com
4. JUNG, A., RAUTENSCHLEIN, S. (2014). Comprehensive report of an Enterococcus cecoruminfection in a broiler flock in Northern Germany. *BMC Veterinary Research, 10*(1).
5. KAOUD, H. (2016). Disinfection in Poultry farms. 10.13140/RG.2.1.4483.9289.
6. MELICHERČÍKOVÁ, V. (2005) *Sterilizace a dezinfekce*. Druhé, doplněné a přepracované vydání. Praha: Galén, 2015. ISBN 978-80-7492-139-1.
7. Ministerstvo zemědělství ČR (2002) *Drůbež a vejce: situační a výhledová zpráva*. Praha: Ministerstvo zemědělství ČR, 2002. ISBN 80-7084-209-1.
8. MS Schippers, How to clean your poultry stable in-between cycles? www.msschippers.com
9. SCHMEROLD, I., VAN GEIJLSWIJK, I., GEHRING, R. (2024). *European regulations on the use of antibiotics in veterinary medicine. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 189*, 106473.

10. ŠKALOUD, J. (2005) *Příručka veterinární dezinfekce: dezinfekce v chovech zvířat, výrobnách krmiv, potravinářských a zpracovatelských závodech*. Praha: Společenstvo drobného podnikání - Sdružení DDD, 2005. ISBN 80-02-01783-8.
11. VOTAVA, M. (2005) *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2., přeprac. vyd. Brno: Neptun, 2005. ISBN 80-86850-00-5.
12. www.svscr.cz

Kontaktní adresa: Macháček Miroslav Veterinární univerzita Brno, Ústav ochrany a welfare zvířat a veřejného veterinárního lékařství Palackého třída 1, 612 42 Brno, Česká republika; E-mail: machacekm@vfu.cz

FERMENTOVANÉ PRODUKTY A HUMÍNOVÉ LÁTKY VO VÝŽIVE HYDINY, NOVÝ PRÍSTUP K PRODUKCII BEZPEČNÝCH A FUNKČNÝCH POTRAVÍN

FERMENTED PRODUCTS AND HUMIC SUBSTANCES IN POULTRY NUTRITION A NEW APPROACH TO THE PRODUCTION OF SAFE AND FUNCTIONAL FOODS

Marcinčák Slavomír[1], Reitznerová Anna[1], Semjon Boris[1], Nosková Erika[1], Bartkovský Martin[1], Marcinčáková Dana[2], Čertík Milan[3], Klempová Tatiana[3], Nagy Jozef[1]

[1]Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, [2]Katedra farmakológie a toxikológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

[3]Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenska republika

ABSTRACT

By-products from the processing of food raw materials represent a significant part of the waste management. They are a rich source of nutritive and bioactive substances, but their anti-nutrients content requires treatment. Fermentation with suitable microscopic filamentous fungi can produce a product enriched in polyunsaturated fatty acids (GLA, EPA, DHA) as well as important hydrolytic enzymes, microbial sterols, chitosan, coenzyme Q, beta-glucans and pigments. Due to its rich contribution, fermentation can utilize waste into a high value feed that, as a feed ingredient in poultry diets, can improve production parameters and health status. The use of biotechnological processes can bring new practices in the recovery of waste in the food industry for feed purposes. Humic substances represent natural source of substances that significantly improve animal health and are usefull in production of food without contaminants. The addition of fermented bioproducts and humic substances to poultry feed significantly improve production parameters and animal health status.

Key words: fatty acids, fermentation, chicken, meat quality

ÚVOD

Funkčné potraviny boli v roku 1994 definované ako potraviny, ktoré môžu poskytovať zdravotný úžitok. Mnohopočetné vedecké štúdie potvrdili správnosť konceptu takýchto potravín (Yeung et al., 2018). Ukazujú, že nevyváženosť stravy v spojení so životným štýlom napomáha vzniku rôznych neinfekčných civilizačných ochorení, ako je obezita, rakovina, kardiovaskulárne alebo neurodegeneratívne ochorenia. Funkčné potraviny dokážu slúžiť ako

prevencia takýchto ochorení, preto sa v poslednom období dostávajú do popredia. Medzi najzaujímavejšie chemické zlúčeniny, u ktorých sa potvrdili pozitívne účinky na ľudský organizmus a ktoré sa prirodzene nachádzajú v potravinách patria napr. polynenasýtené mastné kyseliny (PNMK), karotenoidné pigmenty, fenolové kyseliny, tokoferoly, koenzým Q, vláknina, prebiotiká atď. Väčšina týchto látok je obsiahnutá prevažne v rastlinných zložkách potravy, ktoré výrazne chýbajú v strave západnej civilizácie. Zároveň sa vo vyspelých štátoch zvyšuje príjem tukov v potrave, hlavne nasýtených tukov. To všetko negatívne ovplyvňuje fyziológiu organizmu a často vedie ku vzniku širokej škály neinfekčných ochorení.

FERMENTOVANÉ PRODUKTY A KVALITA MÄSA

Mäso spolu s rastlinnými olejmi je hlavným zdrojov tukov v ľudskej výžive. Zloženie bežne dostupných olejov ako je masť, repkový olej, slnečnicový olej alebo hovädzie, bravčové alebo kuracie mäso však neobsahuje dostatočné množstvá „funkčných zlúčenín“. V posledných rokoch bol preto zaznamenaný záujem o možnosť modifikácie najmä tukov pochádzajúcich z mias zvierat pomocou výživy. Ide najmä o zvyšovanie množstva PNMK v krmive prostredníctvom pridávania napr. morských rias, rybieho oleja alebo rastlinných olejov do krmiva týchto zvierat. Ukázalo sa, že takýmto nepriamym spôsobom je možné modifikovať zloženie tukov, ktoré sa nachádza v mäse zvierat, v prospech zvýšeného obsahu PNMK, čím sa stávajú dostupnými aj vo výžive ľudí. U monogastrických zvierat (ošípané alebo hydina) sú mastné kyseliny krmiva vstrebávané z gastrointestinálneho traktu do krvi a prenášané do tukových tkanív. Ich koncentrácia a zloženie v krmive tak priamo ovplyvňuje zloženie tukov v mäse (Konieczka et al. 2016). Podobný efekt krmív bol popísaný aj na zloženie vajec nosníc, ktorým bolo podávané krmivo so zvýšenom obsahom najmä n-3 PNMK a karotenoidných pigmentov. Pomocou modifikácie výživy monogastrických zvierat, tak dokážeme produkovať živočíšne produkty (mäso a vajcia), ktoré prinášajú obrovský potenciál nielen z nutričného pohľadu finálneho spotrebiteľa, ale zároveň prinášajú atraktívny marketingový potenciál pre nové technológie využívajúce prirodzené obohacovanie výživy, bez akéhokoľvek zásahu do genómu či už rastlín, alebo živočíchov.

Za najbežnejší zdroj PNMK sú považované rybie oleje získavané z morských rýb. Súčasne snahy o rozvoj udržateľnej miery rybolovu bez závažných ekologických dôsledkov však redukujú množstvo dostupného rybieho oleja. Zvýšený záujem o získavanie funkčných lipidov tak otvára dvere alternatívnym zdrojom týchto látok. Boli objavené a popísané rôzne mikroorganizmy, ktoré majú obrovský produkčný potenciál. Do praxe boli uvedené technológie, ktoré využívajú na získavanie olejov s vysokou pridanou hodnotou a sú založené

na mikrobiálnych fermentáciách (Ochsenreither et al., 2016). Cena takejto produkcie je však pomerne vysoká najmä vzhľadom na cenu bežne dostupných olejov. Aj preto sa súčasný výskum produkcie funkčných lipidov orientuje na znižovanie nákladov najmä prostredníctvom znižovania ceny vstupných substrátov. Medzi komerčne najúspešnejších producentov PNMK patria mikroskopické vláknité huby z triedy *Zygomycetes* a to najmä kmene *Mortierella* sp., *Umbelopsis* sp., *Thamnidium* sp. a *Cunninghamella* sp. (Klempova et. al., 2013). Mikroskopické vláknité huby sú z fermentačného hľadiska pomerne unikátne mikroorganizmy. Čo ich robí unikátnymi je ich obrovská schopnosť využívať rôzne druhy substrátov a to nie len rozpustných vo vodnom prostredí, ale i na tuhých substrátoch s dostatočnou vlhkosťou. Tento typ fermentácií sa nazýva polosuché fermentácie (SSF; z angl. solid-state fermentation) a sprevádza ľudskú spoločnosť od nepamäti. Aj v súčasnosti je to bežný spôsob prípravy fermentovaných potravín najmä v krajinách juhovýchodnej a východnej Ázie. Atraktívnosť týchto kultivácií spočíva najmä vo využívaní ľahko dostupných a lacných substrátov, ktoré predstavujú zvyšky poľnohospodárskej výroby ako sú napr. cereálne otruby, mláto, repkové a slnečnicové výlisky. Fermentácia odpadov a obohatenie ich o významné aktívne látky je aj pre tieto firmy zaujímavý spôsob zhodnocovania odpadov. Po SSF uskutočnených na odpadových produktoch získavame produkt obohatený o významné PNMK (kyselina gama-linolénová, GLA, dihomo-gamalinolénová DGLA, arachidónová ARA alebo eikozapentaénová, EPA), ktorý môže byť priamo použitý ako prídavok do krmiva hospodárskych zvierat. Niektoré kmene vláknitých húb okrem produkcie PNMK, dokážu produkovať aj karotenoidné pigmenty. Pigmenty, ako beta-karotén, sú z hľadiska funkčných potravín veľmi zaujímavé pre ich antioxidačné a radikál-zhášajúce vlastnosti. Pomocou SSF tak získavame krmivo obohatené nielen o jednu ale dve skupiny látok, u ktorých bol preukázaný jednoznačný pozitívny účinok na zdravie organizmov (Mudroňová et al. 2018b). Bunková stena vláknitých húb je tvorená polysacharidickými zlúčeninami, ako je chitín a chitozan. Tieto patria medzi látky tvoriace významnú súčasť potravinovej vlákniny. Vlákninu takisto radíme do skupiny látok s pozitívnym účinkom na organizmy. Vláknité huby sú však aj výborný producenti extracelulárnych hydrolytických enzýmov. Medzi takýchto nepatria len už spomenuté zygomycétne huby, ale i vyššie vláknité huby, ako je *Aspergillus* sp. Význam takýchto enzýmov vo výžive zvierat je dvojaký. Ako už bolo spomínané medzi zaujímavé „funkčné“ zlúčeniny patria aj fenolické kyseliny. Tie sa veľmi často vyskytujú práve v rastlinných odpadových materiáloch akým sú napr. pšeničné otruby. V takom materiáli sú však viazané na nerozpustné polysacharidové reťazce, čo ich z hľadiska výživy robí nevyužiteľnými. Extracelulárne hydrolytické enzýmy produkované vláknitými hubami počas SSF však dokážu tieto kyseliny uvoľniť z rastlinnej matrice a tak ich spraviť využiteľnými pre organizmus. SSF

tak prináša ďalšiu pridanú hodnotu z pohľadu funkčných potravín a krmív. Produkcia extracelulárnych enzýmov pomocou vláknitých húb v SSF procesoch však môže priniesť okrem nutričného aj ekonomický bonus. Vláknité huby sú schopné produkcie enzýmov, ktoré sú schopné štiepiť rôzne typy polysacharidových reťazcov ale i tukov, ktoré sa nachádzajú v tuhých substrátoch. Medzi najzaujímavejšie radíme enzýmy z triedy amyláz, xylanáz a lipáz. Konzumáciou takýchto enzýmov hospodárskymi zvieratami zvyšujeme schopnosť organizmov stráviť energiu dodávanú vo forme rastlinného krmiva. Enzýmy obsiahnuté vo fermentovanom produkte napomáhajú štiepeniu polymérov prítomných v krmive, čo zabezpečí dostatočné množstvo uhlíka pre metabolizmus zvierat. Účinnejšie využívanie podávaného krmiva tak znižuje nevyhnutné dávky, ktoré je nutné zvieratám podávať, čím sa jednoznačne vylepšuje ekonomika celého procesu.

HUMÍNOVÉ LÁTKY A KVALITA MÄSA

Humínové látky (HL) predstavujú heterogénnu skupinu prírodných organických molekúl, ktoré sú súčasťou pôdnej a vodnej organickej hmoty. Ide o látky s celou škálou pozitívnych účinkov na zdravie. HS môžu zvyšovať tvorbu mucínu na epiteli gastrointestinálneho traktu, čím zvyšujú odolnosť voči infekciám a toxínom a tým sa aj zabezpečí zlepšenie využívania krmív pri zvieratách (Mudroňová a kol., 2018). Imunostiumulačný účinok HS je sprostredkovaný jednak aktiváciou buniek vrodenej imunity, a to fagocytov a NK buniek. Ako ale naznačujú posledné štúdie, ktorých je zatiaľ veľmi málo, HL majú vplyv aj na bunky získanej imunity, kde bola imunostimulácia zaznamenaná predovšetkým v podobe zvýšenia zastúpenia všetkých lymfocytov v krvi (Cetin et al. 2011), ako aj T pomocných CD4+ lymfocytov (Mudroňová a kol., 2018) Podpora imunitných funkcií prostredníctvom HL samozrejme umožňuje aj podporu zdravia a produkčných parametrov hospodárskych zvierat. HL podávané brojlerovým kurčatám ovplyvňovali základné chemické zloženie mäsa. Vo vykonaných experimentoch bol zaznamenaný pokles obsahu tuku a zvýšenie obsahu bielkovín v prsnej, ale nárast obsahu tuku a mierny pokles obsahu bielkovín v stehennej svalovine kurčiat (Ozturk a kol., 2012). Vplyv HS na profil mastných kyselín nebol doposiaľ sledovaný. Preto sme náš výskum zamerali aj na vplyv pridávania humínových látok do kŕmnych zmesí brojlerových kurčiat na zloženie mastných kyselín tukov mäsa a telovej dutiny. Významný je tiež nárast podielu kyseliny olejovej a pokles podielu kyseliny arachidónovej v porovnaní so stehnovou svalovinou kontroly (tabuľka 1).

Pridávanie fermentovaného produktu (10 %, obohateného o GLA, ALA a EPA) a humínových látok (0,7 %) do kŕmnych zmesí brojlerových kurčiat malo výrazne pozitívny vplyv na zloženie mastných kyselín v tuku mäsa a telových dutín. Pri analýze mastných kyselín

tuku mäsa stehnovej svaloviny kurčiat sa jednoznačne preukázal pozitívny vplyv prídavku fermentovaného produktu do kŕmnej zmesi (tabuľka 1). Vo vzorkách skupín F a FH je evidentný nárast kyseliny ALA, GLA, EPA a DHA v celkových mastných kyselinách. Výrazne pozitívny účinok prídavku fermentovaného produktu však vidíme najmä na vzájomnom pomere obsahu n-6 a n-3 mastných kyselín. Prídavok fermentovaného produktu znížil tento pomer z hodnoty 12,1 na 8,6 resp. 8,7, čo jednoznačne svedčí o náraste množstva n-3 polynenasýtených mastných v tuku experimentálnych zvierat.

Tabuľka č. 1, Obsah a percentuálne zastúpenie vybraných mastných kyselín (MK) tepelne opracovanej (70 °C, 10 min) stehnovej svaloviny kurčiat po skrmovaní humínových látok a fermentovaného produktu.

MK	K	H	F	FH
C16:0	25,648 ± 0,103^{a}	24,152 ± 0,118^{ab}	25,331 ± 0,180^{ab}	23,917 ± 0,456^{b}
C16:1, PO	7,838 ± 0,553	7,347 ± 1,109	8,043 ± 0,118	7,470 ± 0,208
C18:0	5,447 ± 0,540	6,257 ± 1,323	6,023 ± 0,107	6,532 ± 0,210
C18:1, OA	38,904 ± 0,698	38,831 ± 2,333	37,357 ± 0,342	34,838 ± 0,609
C18:1	1,808 ± 0,162	2,483 ± 0,452	2,331 ± 0,125	2,896 ± 0,004
C18:2, LA	15,697 ± 0,035^{b}	15,317 ± 0,464^{b}	15,679 ± 0,042^{b}	17,414 ± 0,106^{a}
C18:3, GLA	0,259 ± 0,016^{a}	0,175 ± 0,001^{b}	0,190 ± 0,001^{b}	0,158 ± 0,002^{b}
C18:3, ALA	0,958 ± 0,024^{b}	0,886 ± 0,050^{b}	1,394 ± 0,005^{a}	1,310 ± 0,027^{a}
C20:3, DGLA	0,197 ± 0,027^{b}	0,272 ± 0,113^{a}	0,207 ±0,004^{b}	0,353 ± 0,028^{a}
C20:4, ARA	0,871 ± 0,391^{b}	1,498 ± 0,731^{ab}	0,942 ± 0,063^{b}	1,930 ± 0,129^{a}
C20:5, EPA	0,052 ± 0,019^{c}	0,069 ± 0,030^{b}	0,080 ± 0,003^{b}	0,130 ± 0,012^{a}
C22:5, DPA	0,192 ± 0,069^{b}	0,351 ± 0,176^{ab}	0,205 ± 0,015^{b}	0,474 ± 0,037^{a}
C22:6, DHA	0,052 ± 0,024^{b}	0,095 ± 0,051^{ab}	0,072 ± 0,004^{b}	0,123 ± 0,021^{a}
Σ NMK	32,127 ± 0,471	31,418 ± 1,269	32,489 ± 0,298	31,631 ± 0,716
Σ MNMK	49,365 ± 1,062	49,575 ± 2,915	48,492 ± 0,339	46,098 ± 0,824
Σ PNMK	18,508 ± 0,592^{b}	19,006 ± 1,646^{ab}	18,989 ± 0,0401^{b}	22,271 ± 0,108^{a}
Σ PNMK N-3	1,253 ± 0,088^{c}	1,401 ± 0,207^{c}	1,752 ± 0,010^{b}	2,037 ± 0,042^{a}
Σ PNMK N-6	17,255 ± 0,503^{b}	17,606 ± 1,439^{ab}	17,237 ± 0,030^{b}	20,233 ± 0,660^{a}
Σ N-6/N-3	13,789 ± 0,569^{a}	12,631 ± 0,835^{a}	9,838 ± 0,041^{b}	9,934 ± 0,173^{b}

K – kontrola, H – kurčatá kŕmené s prídavkom 0,7 % humínových látok, F- kurčatá kŕmené s prídavkom 10 % fermentovaného produktu, FH – kurčatá kŕmené s prídavkom 0,7 % humínových látok a 10 % fermentovaného produktu; SFA – nasýtené mastné kyseliny, MUFA – mononenasýtené mastné kyseliny, PNMK – polynenasýtené mastné kyseliny, GLA – k. gamalinolénová, ALA – k. alfalinolénová, ARA – k. arachidónová, EPA – k. eikozapentaénová, DHA – k. dokazapentaénová

ZÁVER

Fermentované produkty, s priaznivým obsahom PNMK dokážu priaznivo ovplyvňovať obsah a zastúpenie mastných kyselín v mäse brojlerových kurčiat. Vzájomnou kombináciou vhodne pripravených fermentovaných produktov a humínových látok, ako zložiek krmív pre výkrm kurčiat, dokážeme pripraviť produkt, mäso kurčiat, ktorý môže priaznivo ovplyvniť zdravie ľudí.

POĎAKOVANIE:

Štúdia vznikla vďaka podpore Agentúry na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-18-0039.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Cetin E., Berrin K.G., Nazmi C.:Effect of dietary humate and organic acid supplementation on social stress induced by high stocking density in laying hens. J. Anim. Vet. Adv. 2011, 10: 2402-2407.
2. Klempová, T., Basil, E., Kubatová, A., Čertík, M.: Biosynthesis of gamma-linolenic acid and beta-carotene by Zygomycetes fungi. Biotechnology Journal, 2013, 8, 794–800.
3. Konieczka, P., Barszcz, M., Chmielewska, N., Ciešlak, M., Szlis, M., Smulikowska S.: Interactive effects of dietary lipids and vitamin E level on performance, blood eicosanoids, and response to mitogen stimulation in broiler chickens of different ages. *Poultry Science*, 2017, 96, 2, 359–369.
4. Marcinčák, S., Klempová, T., Bartkovský, M., Marcinčáková, D., Zdolec, N., Popelka, P., Mačanga, J., Čertík, M. Effect of fungal solid-state fermented product in broiler chicken nutrition on quality and safety of produced breast meat (2018) BioMed Research International, 2018a, art. no. 2609548.
5. Mudroňová, D., Pešulová, T., Karaffová, V., Koščová, J., Marcinčáková, D., Marcinčák, S.: Vplyv humínových kyselín na črevnú mikrobiotu a imunitnú odpoveď brojlerov. Lazarove dni výživy a veterinárnej dietetiky XIII, 6. – 7. 9. 2018, Košice. ISBN: 978-80-8077-581-0, s. 186-189.
6. Mudroňová, D., Karraffová, V., Koščová, J., Bartkovský, M., Marcinčáková, D., Popelka, P., Čertík, M., Klempová, T., Mačanga, J., Marcinčák, S.: Effect of fungal gamma-linolenic acid and beta-carotene containing prefermented feed on immunity and gut of broiler chickens. Poultry Science, 2018b, http://dx.doi.org/10.3382/ps/pey306

7. Ochsenreither, K., Glück, C., Stressler, T., Fischer, L., Syldatk, CH.: Production strategies and applications of microbial single cell oils. Frontiers in Microbiology, 2016, 7, 1539
8. Ozturk, E.; Ocak, N.; Turan, A.; Erener, G.; Altop, A.; Cankaya, S. Performance, carcass, gastrointestinal tract and meat quality traits, and selected blood parameters of broilers fed diets supplemented with humic substances. Journal of Science and Food Agriculture, 2012, 92, 59 – 65.
9. Yeung, A.W.K., Mocan, A., Atanasov A.G.: Let food be thy medicine and medicine be thy food: A bibliometric analysis of the most cited papers focusing on nutraceuticals and functional foods. Food Chemistry. 2018, 269, 455 – 565.

Kontaktná adresa: Slavomír Marcinčák, prof., MVDr., PhD., Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika. Email: slavomir.marcincak@uvlf.sk

ÚČINOK KANABIDIOLU NA BUNKOVÚ PROLIFERÁCIU A MIGRÁCIU

EFFECT OF CANNABIDIOL ON THE CELL PROLIFERATION AND MIGRATION

Marcinčáková Dana[1], Hudáková Nikola [2], Amrit Serena Faith Kishore [1], Busuttil Nicol[1], Legáth Jaroslav [1]

[1]Katedra farmakológie a toxikológie, [2]Katedra morfologických disciplín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, SR

ABSTRAKT

Kanabidiol je jedným z najznámejších z viac ako stovky kanabinoidov obsiahnutých v rastline konope (*Cannabis sativa* L.). Liečivé účinky konope boli známe už od staroveku, používala sa za účelom tlmenia bolesti, na liečbu nespavosti, či problémov s trávením, boli preukázané jej protizápalové, antiepileptické a má analgetické účinky. Cieľom našej práce bolo preskúmať potenciál kanabidiolu (CBD) pôsobiť na nádorové bunky pri minimálnom vplyve na zdravé bunky. Použili sme dve modelové bunkové línie: zdravé ľudské embryonálne obličkové bunky (HEK293T) a líniu neuroblastómu (SH-SY5Y). Testovali sa štyri rôzne koncentrácie CBD (6,25; 12,5; 25 a 50 µg/ml). Použité metódy zahŕňali xCELLigence analýzu v reálnom čase na monitorovanie adhézie a proliferácie buniek a Scratch test na hodnotenie zmeny v migrácii buniek. Všetky koncentrácie mali významný negatívny vplyv na proliferáciu oboch bunkových línií, okrem 6,25 µg/ml na bunkách SH-SY5Y. Polovičná maximálna efektívna koncentrácia CBD po 72 hodinách liečby ukázala, že bunky SH-SY5Y sú citlivejšie na cytotoxický účinok CBD. Merania MA ukázali, že najnižšia koncentrácia vykazovala selektívnu cytotoxicitu voči rakovinovým bunkám, zatiaľ čo ostatné koncentrácie viac znižovali MA zdravých buniek. Scratch test ukázal, že po 48 hodinách inkubácie 6,25 µg/ml znížilo migráciu buniek HEK293T, zatiaľ čo bunky SH-SY5Y sledovali vzor kontroly. Tieto výsledky ukazujú, že CBD má potenciál byť využitý vo vývoji cielenej alternatívnej protinádorovej terapie a podporuje použitie nižších dávok liečby.

Kľúčové slová: CBD, XTT, xCELLigence, Scratch test

ÚVOD

Rastliny konope – hlavné druhy sú *Cannabis sativa* L. a *Cannabis indica* L. – sú rýchlo rastúce a odolné rastliny obsahujúce širokú škálu chemických látok vrátane fytokanabinoidov, čo je skupina terpénových fenolických zlúčenín produkovaných rastlinami konope (Braile et al. 2021). Predpokladá sa, že fytokanabinoidy majú pre rastlinu ochrannú funkciu a predstavujú

jednu z najviac skúmaných skupín zlúčenín (Seltzer et al. 2020). CBD je jedným z najdôležitejších fytokanabinoidov.

Doteraz bolo preukázané, že CBD má nasledujúce farmakologické vlastnosti: protizápalové, antidepresívne, analgetické, antikonvulzívne, anxiolytické, antibakteriálne, antipsychotické, neuroprotektívne, stimuluje chuť do jedla, imunomodulačné a protinádorové účinky (Vrechi et al. 2021). Používa sa tiež na liečbu stavov ako epilepsia a nevoľnosť, vracanie a bolesť spojené s chemoterapiou (Sánchez-Sánchez et al. 2023).

Keďže rakovina je druhou najčastejšou príčinou úmrtí na choroby na svete a súčasné schválené a používané liečby majú často obmedzenú účinnosť, rastie potreba alternatívnych liekov a liečebných metód (Sánchez-Sánchez et al. 2023). Štúdie zistili, že CBD vykazuje protirakovinové účinky prostredníctvom mnohých rôznych mechanizmov, ako je indukcia zastavenia bunkového cyklu, apoptózy a autofágie, zvyšovanie reaktívnych foriem kyslíka a stresu endoplazmatického retikula, inhibícia migrácie buniek, invázie a angiogenézy, ako aj ďalších zatiaľ neidentifikovaných mechanizmov (Seltzer et al. 2020, Pagano et al. 2021).

Cieľom našej práce bolo vyhodnotiť protinádorový účinok vybraných koncentrácií CBD (6,25 – 50 µg/ml) na líniu karcinómu (SH-SY5Y) a bezpečnosť použitia CBD ako protinádorového lieku testovaním rovnakých koncentrácií na zdravých ľudských embryonálnych obličkových bunkách (HEK293T). Po pridaní vybraných koncentrácií sme merali proliferatívnu aktivitu buniek prostredníctvom zmien v adhézii buniek na mikroelektródy (xCELLigence analýza v reálnom čase – RTCA), metabolickú aktivitu kvantifikáciou množstva vzniknutého formazanu (XTT test) a migráciu buniek kvantifikáciou percentuálneho rozdielu v poškriabanej ploche v konkrétnych časových bodoch (Scratch test).

MATERIÁL A METÓDY

Príprava testovanej látky a bunkových línií

Na experiment bola použitá roztok kanabidiolu – 1 mg/ml v metanole, certifikovaný referenčný materiál, 1 ml ampulka, Cerilliant®; CAS číslo: 13956-29-1 (Sigma-Aldrich, Nemecko) v koncentráciách 6,25 µg/ml, 12,5 µg/ml, 25 µg/ml a 50 µg/ml. Metanol zriedený rastovým médiom na konečnú koncentráciu 5 % bol použitý na testovanie vplyvu rozpúšťadla na bunky.

Vplyv CBD bol testovaný na dvoch modelových bunkových líniách – normálnych ľudských embryonálnych obličkových bunkách (HEK293T ATCC® CRL-3216™) a línii neuroblastómu izolovanej z kostnej drene dieťaťa (SH-SY5Y ATCC® CRL-2266™). Obe línie boli kultivované v 15 ml Dulbecco's Modified Eagle Medium (Sigma-Aldrich, Darmstadt,

Nemecko) obsahujúce 10 % fetálneho hovädzieho séra, 1 % antibioticko-antimykotického roztoku a 1 % L-glutamínu. Inkubácia prebiehala 3 dni pri 37 °C a 5 % CO2.

Monitorovanie buniek v reálnom čase a stanovenie EC50 pomocou systému xCELLigence

Použitý bol prístroj RTCA DP (real-time cell analyzer dual plate instrument). Systém xCELLigence (ACEA Bioscience Inc., San Diego, CA, USA) umožňuje kontinuálne monitorovanie adhéznych vlastností buniek in vitro neinvazívnym spôsobom bez označenia (Kho et al. 2015). V experimente boli použité dve 16-jamkové E-platničky (Acea Bioscience ACEA Bioscience Inc., San Diego, CA, USA) – jedna pre každú bunkovú líniu. Najprv sa do jamiek pridalo 100 µl rastového média na meranie pozadia. Potom sa pridala suspenzia obsahujúca 5 000 buniek (v 80 µl média). Platne sa vložili späť do inkubátora a inkubovali sa 24 hodín, aby proliferujúce bunky vytvorili 90 % monovrstvu. Po 24 h sa bunkám pridali vybrané koncentrácie CBD v pomere 1:10 s médiom. Akékoľvek zmeny v adhézii generujú hodnotu známe ako elektrická impedancia, ktorá sa meria počas celého experimentu (72 h). Tieto hodnoty sú softvérom konvertované na bezrozmerné hodnoty známe ako Cell Index (CI) a zaznamenávané softvérom xCELLigence ako graf a zobrazené ako „Normalised Cell Index“ (CI = 1) v závislosti od času. Hodnoty CI boli použité na výpočet proliferatívnej aktivity (PA), vyjadrenej v percentách podľa vzorca: *Proliferatívna aktivita % = CI vzorky x 100 / CI kontroly*

Hodnotenie zmien metabolickej aktivity pomocou XTT testu

Súprava XTT cell proliferation Kit II (Roche Diagnostics, Mannheim, Nemecko) kvantifikuje metabolickú aktivitu (MA) buniek in vitro na základe ich životaschopnosti v cytotoxickom teste. Princíp tohto testu je, že mitochondriálne enzýmy zdravých buniek premieňajú tetrazóliovú soľ XTT (žltú) na formazan (oranžový). Zmena a intenzita farby sa potom meria spektrofotometricky. V tejto štúdii boli obe bunkové línie nasadené do troch 96-jamkových platní (8 000 buniek na jamku v 90 µl rastového média). Bunky boli ošetrené testovanou látkou v príslušných koncentráciách v pomere 1:10 s médiom. XTT test bol vykonaný po 24, 48 a 72 hodinách inkubácie podľa pokynov výrobcu. Platne sa potom inkubovali ďalšie 4 hodiny. Množstvo vytvoreného formazanu bolo vyhodnotené spektrofotometricky čítačkou LB 913 Apollo 11 ELISA (Berthold Technologies, Bad Wildbad, Nemecko) pri vlnovej dĺžke 450 nm. Získaná absorbancia bola porovnaná s kontrolou (100 %) a vyjadrená v percentách podľa vzorca: *% metabolickej aktivity = (Absorbancia vzorky) x 100 / (Absorbancia kontroly)*

Scratch test – test bunkovej migrácie

Scratch test alebo „wound healing assay“ je in vitro test, ktorý umožňuje skúmať vplyv rôznych látok na migráciu buniek. Zahŕňa pestovanie monovrstvy buniek do konfluencie v

multi-jamkovej platni, po čom nasleduje vytvorenie škrabanca alebo „rany“, teda oblasti bez buniek, do ktorej môžu bunky migrovať.

V našom experimente bol proces rozmrazovania, pasážovania buniek a všetko pipetovanie rovnaké ako pri príprave a kultivácii pre RTCA a XTT test. Dve 24-jamkové platne (jedna pre každú bunkovú líniu) boli nasadené HEK 293T a SH-SY5Y bunkami s hustotou 20 000 buniek na jamku. Po 3 dňoch inkubácie boli všetky jamky skontrolované inverzným mikroskopom (Zeiss Axiovert 200) na vyhodnotenie konfluencie (približne 90 %). Sterilná 200 µl pipetová špička bola použitá na vytvorenie rovného škrabanca v strede každej jamky. Testovala sa len najnižšia koncentrácia (6,25 µg/ml), pretože všetky ostatné koncentrácie vykazovali negatívny vplyv na bunkové línie. Do každej jamky bolo pridaných 50 µl vzorky, čo dalo celkový objem 500 µl v každej jamke. Ďalšie 2 jamky v každej platničke boli naplnené 50 µl média a slúžili ako kontrola a 2 ďalšie jamky boli naplnené 50 µl zriedeného metanolu na konečnú koncentráciu 5 %. Platničky boli inkubované celkovo 72 hodín. Bunky v platniach boli pozorované inverzným mikroskopom s digitálnym záznamovým systémom a boli vyhotovené fotografie škrabanca na dokumentáciu 0, 24, 48 a 72 hodín.

Štatistická analýza výsledkov

Štatistická analýza bola vykonaná pomocou softvéru GraphPad Prism 8.1.0 (Graphpad, USA, apríl 2019), ktorý určil štatistickú významnosť priemerov skupín pomocou jednocestnej analýzy rozptylu (ANOVA) pre RTCA a XTT test a dvojcestnej ANOVA pre Scratch test. Hodnota $P < 0,05$ bola považovaná za štatisticky významnú. Získané údaje boli vyjadrené ako priemer ± sd ($n = 3$).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

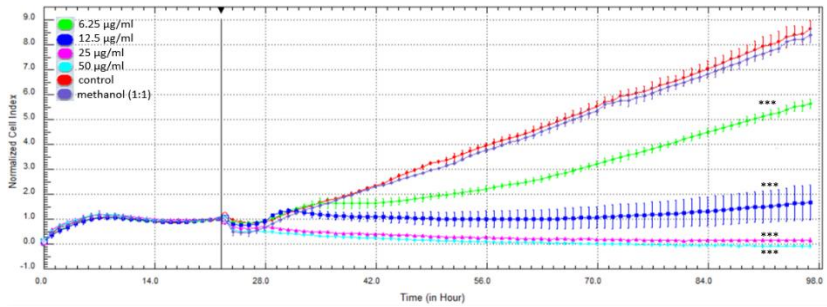
Cieľom nášho experimentu bolo preskúmať potenciál CBD cielene pôsobiť a vyvolať cytotoxické účinky na rakovinové bunky pri minimálnom vplyve na zdravé bunky. Výsledky RTCA sú zhrnuté na Obr. 1a a 1b. Pri HEK293T bunkách všetky 4 koncentrácie CBD vrátane najnižšej preukázali významný cytotoxický vplyv na PA. Podobné zistenia boli pozorované v štúdii Pagano et al. (2020), ktorá zistila, že CBD významne inhibuje proliferáciu rôznych zdravých bunkových línií. Autori ďalej uviedli, že pri nízkych koncentráciách a dlhšom podávaní CBD mení normálnu bunkovú aktivitu morfologicky a obranným spôsobom, čo vedie k zníženej proliferatívnej aktivite, ale nie k bunkovej smrti, zatiaľ čo vysoké koncentrácie môžu spôsobiť poškodenie a smrť buniek. Preto by sa pri liečbe rakoviny mali používať nižšie dávky.

Pozorovali sme, že najnižšia koncentrácia (6,25 µg/ml) spočiatku znížila CI buniek SH-SY5Y, pravdepodobne v dôsledku počiatočného stresu po pridaní CBD. Následne však CI (proliferácia) rástla až do konca monitorovania. Naopak, ostatné koncentrácie (12,5 – 50 µg/ml)

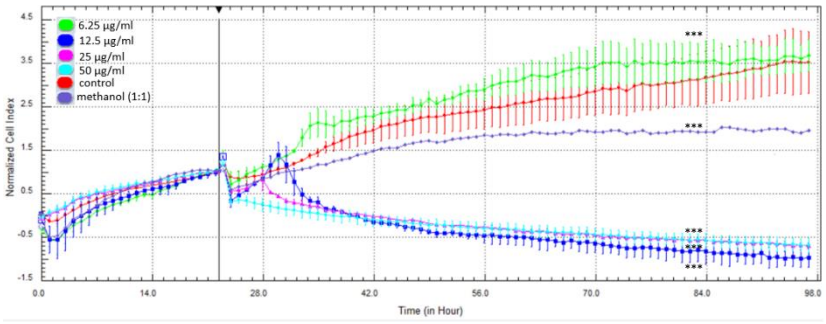
všetky znížili CI buniek SH-SY5Y na nulu po 48 hodinách inkubácie, čo dokazuje veľmi silný negatívny vplyv na proliferáciu buniek. Tieto pozorovania podporuje štúdia Parsa et al. (2020), ktorá dospela k záveru, že konope inhibuje rast SH-SY5Y buniek, a podobná štúdia Vrechi et al. (2021), ktorá zistila, že CBD významne zvyšuje bunkovú smrť (sub-G0/G1 frakcia) v závislosti od koncentrácie a času. Výsledky XTT testu sú zhrnuté na Obr. 2a, 2b a 2c. Pri zdravých HEK293T bunkách najnižšia koncentrácia (6,25 µg/ml) významne zvýšila MA, zatiaľ čo vyššie koncentrácie 25 µg/ml a 50 µg/ml spôsobili významné zníženie MA. Podobné zistenia boli pozorované v štúdii Pagano et al. (2020), ktorá využila MTT test a zistila, že CBD inhibuje MA buniek v závislosti od dávky. Pri SH-SY5Y bunkách bol silný cytotoxický účinok pozorovaný už po 24 hodinách s najnižšou koncentráciou, zatiaľ čo ostatné koncentrácie (12,5 – 50 µg/ml) znížili MA viac ako 6,25 µg/ml, avšak ich účinky boli podobné a neklesali lineárne s rastúcou koncentráciou. Podobné zistenia diskutovala štúdia Raja et al. (2020), ktorá pozorovala, že 1 – 10 µg/ml znižuje životaschopnosť buniek v závislosti od dávky, ale 10 – 100 µg/ml všetky znižovali životaschopnosť buniek na podobné hodnoty. Pri porovnaní výsledkov oboch bunkových línií sme pozorovali, že najnižšia koncentrácia vykazovala selektívnu cytotoxicitu voči rakovinovým bunkám. Bohužiaľ, s každou rastúcou koncentráciou bola MA zdravých buniek znížená viac ako u rakovinových buniek, čo podporuje použitie nižších dávok na liečbu.

Obrázok 1a a 1b, xCELLigence real-time cell analyser (RTCA) krivky proliferácie buniek HEK293T a SH-SY5Y po pridaní CBD

1a) HEK293T



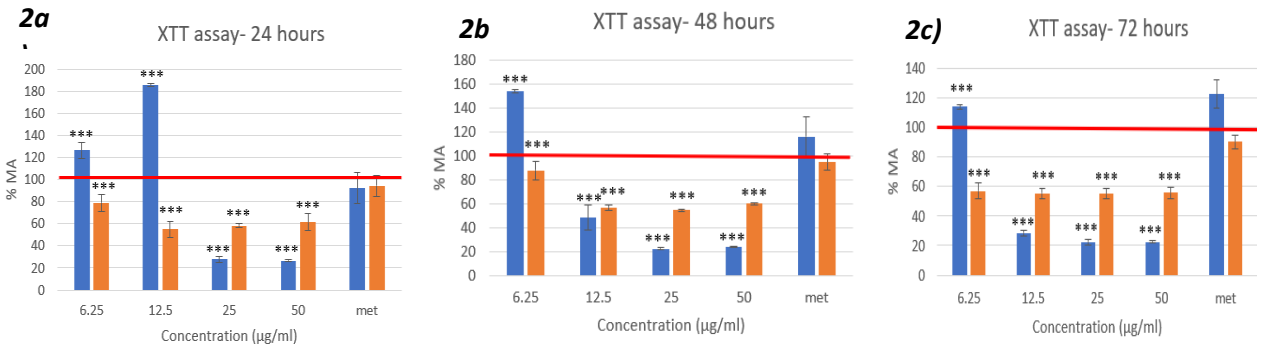
1b) SH-SY5Y



****** P < 0.001 štatisticky rozdielne oproti kontrole***

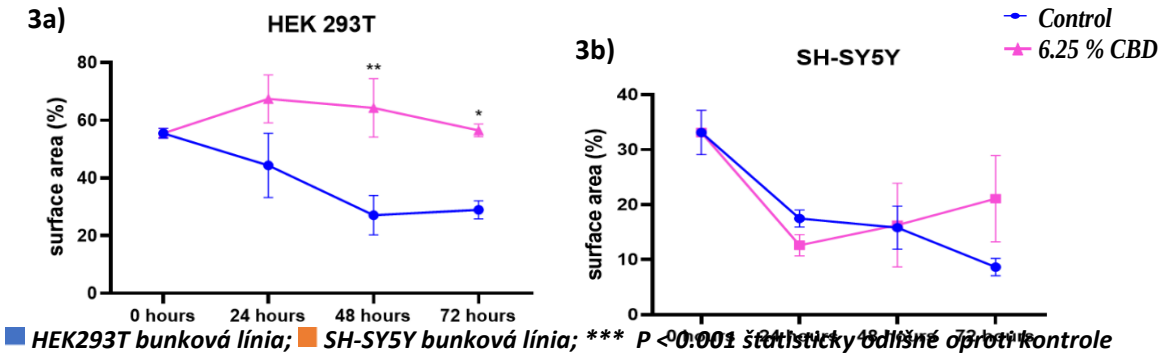
Zdroj: xCELLigence systém

Obrázky 2a, 2b, 2c, Účinok CBD na metabolickú aktivitu buniek po 24, 48 a 72 h inkubácie



Pomocou Scratch testu sme skúmali vplyv 6,25 µg/ml CBD na migráciu buniek, čo bolo kvantifikované hodnotením percentuálneho rozdielu v poškriabanej ploche (SA) v konkrétnych časových bodoch po pridaní CBD. Výsledky sú zhrnuté na Obr. 3a a 3b. Reprezentatívne fotografie jamiek po vykonaní Scratch testu sú na Obr. 4a a 4b. Naše výsledky ukazujú, že po 48 a 72 hodinách inkubácie sa SA % buniek HEK 293T zvýšilo, čo prevýšilo hodnoty kontroly, čo dokazuje inhibíciu migrácie buniek. Predpokladáme, že je to spôsobené tým, že zdravé bunky sú citlivejšie na zmeny kultivačných podmienok a pravdepodobne aj použitím vysokej koncentrácie CBD. Pagano et al. (2020) zistil, že nízke dávky CBD nestimulovali apoptózu zdravých buniek, avšak vysoké dávky (>10 µM) významne stimulovali apoptózu. Na druhej strane, SH-SY5Y bunky sledovali vzor kontroly, čo je žiaduce, pretože migrácia rakovinových buniek nebola inhibovaná, ale ani stimulovaná, čo ďalej podporuje použitie nižších dávok liečby.

Obrázky 3a and 3b, Účinok 6.25 % CBD na migráciu buniek



HEK293T bunková línia; SH-SY5Y bunková línia; *** P < 0.001 štatisticky odlišné oproti kontrole

**** P < 0.05 and ** P < 0.01 – štatisticky odlišné od kontrolných buniek***

ZÁVER

CBD preukázal významné anti-proliferačné a pro-apoptotické účinky na široké spektrum nádorov, a to ako na kultivovaných nádorových bunkových líniách, tak aj v myších modeloch nádorov v mnohých štúdiách.

Na základ našich výsledkov môžeme konštatovať, že CBD vykazuje špecificitu voči nádorovým bunkám, čo má veľký potenciál pre vývoj cielenej alternatívnej protinádorovej terapie. Je však potrebný ďalší výskum na určenie konkrétnej dávky a dĺžky liečby pre jednotlivé typy nádorov a živočíšne druhy, keďže tieto a mnohé ďalšie faktory ovplyvňujú účinnosť použitia CBD ako stratégie liečby rakoviny.

POĎAKOVANIE

Štúdia vznikla vďaka podpore Národného referenčného laboratória pre pesticídy Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BRAILE, M. et al. The interplay between the immune and the endocannabinoid systems in cancer. In *Cells*. ISSN 2073-4409, 2021, vol. 10, no. 6, p. 1282.
2. KHO, D. et al. Application of xCELLigence RTCA Biosensor Technology for Revealing the Profile and Window of Drug Responsiveness in Real Time. In *Biosensors*. ISSN 2079-6374, 2015, vol. 5, no. 2, p. 199-222.
3. PAGANO, C. et al. Molecular mechanism of cannabinoids in cancer progression. In *International Journal of Molecular Sciences.* [online]. 2021, vol. 22, no. 7 [cit. 03-07-2024]. Available at <doi: 10.3390/ijms22073680>. ISSN 1422-0067.
4. PAGANO, S. et al. Biological effects of Cannabidiol on normal human healthy cell populations: Systematic review of the literature. In Biomedicine & Pharmacotherapy. [online]. 2020, vol. 132 [cit. 08-07-2024]. Available at <doi: 10.1016/j.biopha.2020.110728>. ISSN 1950-6007.
5. PARSA, F. et al. The Effect of Cannabis Extract on SH-SY5Y Nerve Cell. In Journal of Ardabil University of Medical Sciences. ISSN 2228-7299, 2020, vol. 20, no. 2, p. 232-241.
6. RAJA, A. et al. Attenuation of Oxidative Stress by Cannabinoids and Cannabis Extracts in Differentited Neuronal Cells. In *Pharmaceuticals*. [online]. 2020, vol. 13, no. 11 [cit. 05-03-2024]. Available at <doi: 10.3390/ph13110328>. ISSN 1424-8247.
7. SÁNCHEZ-SÁNCHEZ, L. et al. Characterization of the Antitumor Potential of Extracts of *Cannabis sativa* Strains with High CBD Content in Human Neuroblastoma. In

International Journal of Molecular Sciences. [online]. 2023, vol. 24, no. 4 [cit. 15-08-2024]. Available at <doi:10.3390/ijms24043837>. ISSN 1422-0067.

8. SELTZER, E.S. et al. Cannabidiol (CBD) as a promising anti-cancer drug. In *Cancers*. [online]. 2020, vol. 12, no. 11 [cit. 05-03-2024]. Available at <doi: 10.3390/cancers12113203>. ISSN 2072-6694.
9. VRECHI, T. A. M. et al. Cannabidiol induces autophagy via ERK1/2 activation in neural cells. In *scientific reports.* [online]. 2021, vol. 11, no. 5434 [cit. 12-08-2024]. Available at <doi: 10.1038/s41598-021-84879-2>. ISSN 2045-2322.

Kontaktná adresa: Marcinčáková Dana, Department of Pharmacology and Toxicology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: dana.marcincakova@uvlf.sk

MIKROBIÓM LARIEV *HERMETIA ILLUCENS*: VPLYV RÔZNEHO KRMIVA NA ICH BEZPEČNOSŤ A POTENCIÁLNE POTRAVINÁRSKE VYUŽITIE

MICROBIOME OF *HERMETIA ILLUCENS* LARVAE: THE IMPACT OF DIFFERENT FEEDS ON THEIR SAFETY AND POTENTIAL USE IN FOOD INDUSTRY

Mašková Zuzana[1], Medo Juraj[1], Hleba Lukáš[1], Kolesár Eduard[3], Urminská Dana[1], Ivanišová Eva[2], Tančinová Dana[1], Urminská Jana[2], Barboráková Zuzana[1]

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, [1]Ústav biotechnológie, [2]Ústav potravinárstva, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika; [3]ecol Trade, s.r.o., J. Haška 1, 949 01 Nitra, Slovenská republika

ABSTRACT

Hermetia illucens, known as the black soldier fly (BSF), plays a significant role in the conversion of organic waste into valuable biomass, presenting a sustainable solution to the global challenge of food waste management. This study investigated the impact of different feeding substrates on the microbial composition of BSF larvae (BSFL). Larvae were fed three distinct diets (food wastes): egg pasta cooked in whole milk, boiled rice with frozen peas, and a mixture of hydrated couscous with boiled chicken egg, fresh spinach, and carrot peels. Quantitative microbiological analyses revealed a significant increase in the total microbial load and specific microbial groups, particularly Enterobacteriaceae and yeasts, in BSFL after experimental feeding across all the variants. Conversely, spore-forming bacteria and filamentous fungi were less prevalent in all dietary adjustments. Metabarcoding analysis highlighted distinct bacterial communities associated with each diet, with notable variations in the relative abundance of taxa such as Proteobacteria, Firmicutes, and Bacteroidetes. The genera with the highest abundance included *Dysgonomonas*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, and *Orbus*. Lactic acid bacteria, environmental or insect-associated bacteria, as well as potentially pathogenic microorganisms such as *Campylobacter*, *Escherichia/Shigella*, *Staphylococcus* and others were detected in lower abundance. The results of the research highlight the importance of feed composition in shaping the BSFL microbiota, which is critical for ensuring food safety in the future use of BSFL larvae in animal feed and potential human consumption. The findings suggest that precautions such as feed substrate treatment and post bioconversion processing of the larvae are necessary for their risk-free use.

Key words: black soldier fly larvae, bioconversion, microorganisms, food safety

ÚVOD

Hermetia illucens, známa aj ako mucha čierna (Black soldier fly, BSF) je pôvodom z Ameriky, no dnes sa vyskytuje v mnohých krajinách s celoročne teplým, tropickým alebo subtropickým podnebím (Dortmans et al., 2017). Patrí medzi hmyzie druhy, ktoré zohrávajú dôležitú úlohu pri premene organického odpadu na hodnotnú biomasu. Jej larvy (BSFL) sú mimoriadne efektívne pri spracovaní rôznych typov organických materiálov – od potravinových zvyškov cez poľnohospodárske odpady až po iné biologicky rozložiteľné suroviny. Vďaka tejto schopnosti predstavujú potenciálne riešenie pre globálne výzvy spojené so zneškodňovaním potravinového odpadu. Keďže každý rok vznikne viac než 1,3 miliardy ton takéhoto odpadu, využitie BSFL ponúka ekologicky udržateľný spôsob jeho spracovania a recyklácie živín, pričom prispieva aj k znižovaniu environmentálnych, ekonomických a spoločenských dopadov (Silvaraju et al., 2024; Eke et al., 2023). Biokonverzný proces sprostredkovaný BSFL spočíva jednak v spotrebe a rozklade organických materiálov a tiež v akumulácii výživovo hodnotných zložiek – predovšetkým bielkovín a tukov – vo forme larválnej biomasy. Táto biomasa môže nájsť uplatnenie ako krmivo pre hospodárske zvieratá a v budúcnosti potenciálne aj ako zdroj živín pre ľudskú výživu. Takýto spôsob spracovania organického odpadu nielenže znižuje jeho množstvo končiace na skládkach, ale zároveň prispieva k rozvoju obehového hospodárstva tým, že premieňa odpad na využiteľné suroviny podporujúce trvalo udržateľné poľnohospodárstvo (Brulé et al., 2024; Peguero et al., 2022). Hlavnou výhodou BSF v porovnaní napríklad s muchami domácimi je ich správanie. BSF sa vyhýbajú priblíženiu k ľuďom alebo zvieratám a radšej odpočívajú na rastlinách (Sheppard et al., 1994). Dospelé muchy nehryzú ani neštípu ľudí, konzumujú len vodu a neprenášajú žiadne špecifické choroby (Čičková et al., 2015).

Hoci využitie *H. illucens* pri spracovaní odpadu prináša množstvo benefitov, zároveň otvára viaceré dôležité otázky a bezpečnostné výzvy, ktorým je nevyhnutné sa venovať. Jednou z hlavných obáv je možná bioakumulácia kontaminantov, ako sú ťažké kovy či patogénne mikroorganizmy, v tele lariev alebo v ich vedľajších produktoch. Na zabezpečenie zdravotnej nezávadnosti krmív, a potenciálne aj potravín, je preto potrebné zaviesť spoľahlivé monitorovacie mechanizmy a efektívne kontrolné opatrenia (Kuan et al., 2022). Analýza mikrobiómu BSFL zohráva kľúčovú úlohu pri overovaní ich mikrobiologickej bezpečnosti, keďže umožňuje identifikovať prítomnosť potenciálne nebezpečných patogénov, ktoré by mohli predstavovať riziko pre potravinový reťazec (Eke et al., 2023). Doterajší výskum naznačuje, že zloženie mikrobiómu lariev je výrazne závislé od typu substrátu, ktorým sú kŕmené. Rôzne druhy krmiva môžu zásadne meniť mikrobiálne spoločenstvá v larvách, čo sa následne odráža na ich raste aj na výživových vlastnostiach ich biomasy (Silvaraju et al., 2024;

Padmanabha et al., 2020). Spracovanie kuchynského odpadu larvami môže prirodzene viesť k nárastu relatívneho zastúpenia rôznych mikroorganizmov, vrátane tých s patogénnym alebo mykotoxigénnym potenciálom, v ich tele (Sheng et al., 2024). Preto hlavným cieľom tejto štúdie bolo analyzovať, ako kŕmenie lariev *Hermetia illucens* ovplyvňuje kvantitatívne a kvalitatívne zastúpenie vybraných skupín mikroorganizmov.

MATERIÁL A METODIKA

Podmienky chovu a kŕmenia lariev

BSFL boli získané z experimentálnych kolónií založených a chovaných v štandardných komerčných podmienkach v spoločnosti ecol Trade s.r.o. (Nitra, Slovensko), ktorá sa zaoberá zberom, prepravou a likvidáciou biologického odpadu. Na začiatku experimentu mali larvy približne 10 dní a boli chované na štandardnom krmive pre kurčatá (zmes obilnín, bielkovín a tukov, ktorá poskytuje dostatočný zdroj energie a živín). Získané larvy boli chované v miestnostiach bez prístupu priameho svetla, pri teplote približne 27 ± 1 °C a relatívnej vlhkosti v rozmedzí 50 - 70 %. Chov prebiehal v plastových uzatvárateľných nádobách so zabudovanou kovovou sieťkou proti hmyzu vo veku na odvetrávanie. Prúdenie vzduchu v miestnosti zabezpečovali štandardné stojanové ventilátory. Po 8 dňoch experimentu boli BSFL oddelené od frasu (zvyškov) preosiatím a usmrtené zmrazením pri -80 °C.

Počas experimentu boli larvy kŕmené tromi rôznymi variantmi krmiva:

I - vaječné cestoviny varené v plnotučnom mlieku (cestoviny:mlieko = 1:2);

II - varená ryža s mrazeným hráškom (ryža:hrášok = 7:1);

III - zmes hydratovaného kuskusu s vareným slepačím vajcom, čerstvým špenátom a mrkvovými šupkami (kuskus:vajce:špenát:mrkva = 30:5:1:2).

Každý kŕmny variant bol realizovaný v štyroch opakovaniach. Do každej nádoby bolo na začiatku pokusu vložených 100 g lariev BSFL, čo predstavovalo celkovú hmotnosť 400 g lariev pre jeden variant, spolu s 1140 g krmiva. Pokus prebiehal 8 dní, pričom v záverečných 1-2 dňoch larvy hladovali, aby došlo k vyprázdneniu tráviaceho traktu.

Kvantitatívne mikrobiologické analýzy

Vzorky lariev odobraté pred a po experimente boli podrobené mikrobiologickej analýze zameranej na kvantitatívne stanovenie nasledovných mikrobiálnych skupín: celkový počet mikroorganizmov (CPM), baktérie z čeľade Enterobacteriaceae (ENT), sporulujúce baktérie (SB), kvasinky (KV) a mikroskopické vláknité huby (MVH). Analýzy boli realizované platňovou zrieďovacou metódou, vždy v dvoch opakovaniach. Základné riedenie (10^{-1}) bolo pripravené z 5 g rozomletých a dôkladne homogenizovaných lariev zmiešaných so 45 ml

sterilného fyziologického roztoku. Po 30-minútovom pretrepaní na trepačke sa zmes použila na prípravu ďalších riedení. Pri stanovení sporulujúcich baktérií boli riedenia pred očkovaním zahriate 10 minút pri teplote 80 °C a následne schladené, aby sa inaktivovali vegetatívne formy mikroorganizmov. Konkrétne podmienky kultivácie jednotlivých skupín sú uvedené v tabuľke č. 1. Výsledky boli vyjadrené ako logaritmická hodnota počtu kolóniotvorných jednotiek na gram (log KTJ·g^{-1}).

Tabuľka č. 1, Charakteristika podmienok kultivácie vzoriek

Analyzovaný ukazovateľ	Živné médium	Spôsob očkovania	Objem inokula [ml]	Použité riedenia	Kultivácia	
					Teplota [± 1 °C]	Čas [deň]
CPM	GTK	zaliatím	1,0	10^{-4} - 10^{-6}	30	1
ENT	VRBG	povrchovo	0,1	10^{-4} - 10^{-6}	37	1
SB	MPA	zaliatím	1,0	10^{-3} - 10^{-5}	30	1
MVH	DRBC	povrchovo	0,1	10^{-2} - 10^{-4}	25	7
KV	DRBC	povrchovo	0,1	10^{-2} - 10^{-4}	25	7

CPM – celkový počet mikroorganizmov; ENT – Enterobacteriaceae; SB – sporulujúce baktérie; MVH – mikroskopické vláknité huby; KV – kvasinky; GTK – agarová živná pôda s glukózou, tryptónom a kvasničným extraktom; VRBG – agarová živná pôda s kryštálovou violeťou, žlčovými soľami a glukózou; MPA – mäsopeptónový agar; DRBC – agar s dichlóranom, bengálskou červeňou a chloramfenikolom

Kvalitatívne DNA analýzy

Z každého variantu experimentu bolo 12 náhodne vybraných lariev (3 kusy z každej nádoby) podrobených metabarcodingovej analýze, ktorá hodnotila ich mikrobióm. DNA z celých lariev bola extrahovaná pomocou súpravy „Gene Jet plant DNA“ (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA). Jedna celá larva bola umiestnená do mikroskúmavky a rozdrvená pomocou 4 oceľových guličiek v homogenizátore Beadbug (Benchmark Scienfitic, New Jersey, USA). Na amplifikáciu úseku V4 bakteriálneho génu 16S rRNA boli použité všeobecné bakteriálne primery 515F a 806R (Caporaso et al., 2011) rozšírené o 8bp identifikačnú sekvenciu (barcode). Na PCR amplifikáciu bola použitá polymeráza New England Biolab Q5 (New England Biolabs, Massachuseetts, USA) podľa odporúčaní výrobcu. Produkty PCR boli prečistené pomocou ampure XP (Beckman Coulter, California, USA), kvantifikované pomocou qubit (Invitrogen/Thermo Fisher Scientific, California, USA) a

zmiešané v ekvimolárnom pomere. Adaptéry Illumina boli ligované pomocou súpravy TruSeq LT PCR free kit (Illumina, Kalifornia, USA). Knižnica bola kvantifikovaná pomocou qPCR s použitím súpravy KAPA DNA library quantification pre Illumina (Roche, Švajčiarsko). Na sekvenovanie bola použitá súprava MiSeq Reagent Kit v3 (600-cyklus, Illumina, Kalifornia, USA).

Získané sekvenačné údaje boli spracované v prostredí SEED (Větrovský et al., 2018). Predné a spätné čítania boli spojené s minimálnym prekrytím 50 báz. Sekvencie s kvalitou <Q30 boli z ďalšej analýzy odstránené. Vzorky boli demultiplexované a primery boli odstránené. Chiméry boli detekované de-novo pomocou Vsearch (Rognes et al., 2016). Sekvencie bez chimér boli zoskupené do operačných taxonomických jednotiek (OTU) pomocou Vsearch na úrovni podobnosti 97 %. Najpočetnejšia sekvencia z každého zhluku (OTU) bola nájdená a identifikovaná pomocou RDP classifier ver. 2.13 (Wang et al., 2007).

Získané údaje boli analyzované pomocou príslušných štatistických metód. Na analýzu mikrobiálnych spoločenstiev boli použité štatistické nástroje dostupné na stránke microbiomeanalyst.ca (Lu et al., 2023). Alfa diverzita bola hodnotená na základe množstva zaznamenaných OTU, Chao1 a Shannonovho indexu diverzity znížení počtu sekvencií na najnižšiu úroveň v datasete a porovnané pomocou Hutchinsonovho t-testu. Beta diverzita bola vizualizovaná pomocou PCoA analýzy s využitím Bray-Curtisových vzdialeností. Rozdielnosť komunít bola porovnávaná pomocou PERMANOVA testu. Pomocou LefSE boli vyznačené biomarkerové rody pre jednotlivé substráty.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Kvantitatívna analýza mikrobioty lariev

Mikrobiologické analýzy lariev pred a po experimentálnom kŕmení poukázali na vplyv krmiva na ich mikrobiologické parametre. U väčšiny sledovaných mikrobiálnych skupín sme zaznamenali nárast v porovnaní s larvami kŕmenými štandardným krmivom pre kurčatá. Výsledky detegovaných počtov mikroorganizmov uvádza tabuľka č. 2.

CPM zahŕňa rôzne druhy mikroorganizmov, ktoré osídľujú tráviaci trakt lariev aj ich povrch, nakoľko pred analýzami neboli BSFL podrobené žiadnemu špeciálnemu spracovaniu. Tento ukazovateľ nám preto poskytuje informácie o úrovni mikrobiálnej kolonizácie a môže poukázať na hygienickú kvalitu získaných lariev. Z našich výsledkov je možné konštatovať, že všetky varianty vykázali nárast počtu mikroorganizmov, pričom II. variant mal najvýraznejší nárast (o 0,80 log KTJ·g^{-1}), zatiaľ čo III. variant mal nárast najnižší (o 0,06 log KTJ·g^{-1}). Nárast poukazuje na to, že počas experimentu došlo k väčšiemu osídleniu mikroorganizmov, čo môže súvisieť s charakteristikami použitých substrátov, ktoré ovplyvnili mikrobiálny profil lariev.

Tabuľka č. 2, Výsledky kvantitatívnych mikrobiologických analýz lariev muchy čiernej (priemer log KTJ.g^{-1} ± smerodajná odchýlka)

Variant	Pre-Exp.	I.	II.	III.
CPM	6.77 ± 0,500	7,39 ± 0,198	7,57 ± 0,020	6,83 ± 0,207
ENT	5,85 ± 0,153	7,02 ± 0,105	7,84 ± 0,050	6,94 ± 0,380
SB	5,66 ± 1,234	5,04 ± 0,617	3,60 ± 0,047	4,93 ± 0,104
KV	3,97 ± 0,063	5,79 ± 0.345	6,11 ± 0,070	5,78 ± 0,232
MVH	3,62 ± 0,071	2,15 ± 0,301	2,07 ± 0,039	2,09 ± 0,231

CPM – celkový počet mikroorganizmov; ENT – Enterobacteriaceae; SB – sporulujúce baktérie; Pre-Exp. – larvy pred experimentom; I. – variant s vaječnými cestovinami varenými v plnotučnom mlieku; II. – variant s varenou ryžou a hráškom; III. – variant s hydratovaným kuskusom, vareným slepačím vajcom, špenátom a mrkvou

Je potrebné brať do úvahy i fakt, že vysoké hodnoty CPM môžu naznačovať i vyššiu pravdepodobnosť metabolickej aktivity mikroorganizmov, ktorá môže ovplyvniť proces degradácie substrátu a celkovú účinnosť biokonverzie. Podľa Schlütera et al. (2017) každý druh hmyzu disponuje špecifickou mikrobiotou, ktorá zahŕňa rôzne druhy baktérií, ako napríklad zástupcov rodu *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Campylobacter*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Acinetobacter*, *Proteus* a *Escherichia*. Niektoré z týchto baktérií môžu mať priaznivý vplyv na procesy biokonverzie, zatiaľ čo iné môžu predstavovať riziko vzhľadom na ich patogénne vlastnosti.

Baktérie z čeľade Enterobacteriaceae slúžia ako ukazovateľ fekálnej kontaminácie alebo celkovej hygienickej úrovne použitého kŕmneho substrátu. Ich zvýšený výskyt môže signalizovať potenciálne hygienické riziká spojené s ďalším využitím lariev. Zmeny v ich počtoch odhalili taktiež nárast vo všetkých variantoch, najvýraznejší v II. variante (o 1,99 log KTJ·g^{-1}) a najnižší v III. variante pokusu (o 1,09 log KTJ·g^{-1}). Výsledky teda naznačujú, že typ krmiva mal významný vplyv na populáciu tejto skupiny mikroorganizmov v larvách. Viaceré výskumy zamerané na larvy *Hermetia illucens* odhalili pestrú mikrobiálnu skladbu, pričom Enterobacteriaceae predstavuje významnú zložku ich mikrobiómu. Medzi často identifikované rody patria *Providencia*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Enterococcus* a *Morganella* (Raimondi et al., 2020). Z hľadiska potenciálneho využitia lariev na ľudskú konzumáciu sú za rizikové považované najmä druhy *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* a *Morganella morganii* pre ich patogénny charakter a súvislosť s výskytom potravinovo

prenosných ochorení (Fernández-Delgado et al., 2007). Hazeleger et al. (2008) však poukazujú na to, že aj keď sa v tráviacom trakte hmyzu môžu nachádzať patogény, vo väčšine prípadov nedochádza k ich aktívnemu rozmnožovaniu. Problém však môže nastať pri zvýšenom výskyte baktérií z čeľade Enterobacteriaceae v degradovaných substrátoch, kde môže dochádzať k produkcii toxínov s negatívnym vplyvom na zdravie lariev aj živočíchov, ktoré ich konzumujú (Osimani et al., 2018).

Ďalšou skupinou mikroorganizmov s narastajúcim počtom vo všetkých variantoch boli kvasinky. Pri tejto skupine bol zaznamenaný najvýraznejší nárast, najvyšší v II. variante (o 2,14 log KTJ.g^{-1}), najnižší v III. variante (o 1,81 log KTJ.g^{-1}). Väčšina kvasiniek je však považovaných za neškodné, alebo dokonca prospešné. Mnohé sú bežnou súčasťou črevnej mikrobioty lariev a môžu sa spolupodieľať na rozklade substrátu (Kannan et al., 2023). Naopak pri mikroskopických vláknitých hubách sme pozorovali pokles počtov vo všetkých variantoch kŕmenia, čo si vysvetľujeme pravdepodobne mikrobiálnou kompetíciou s kvasinkami. Autori štúdie Wynants et al. (2019) tiež venovali pozornosť výskytu húb v BSFL a dospeli k záveru, že ich počty sa v priebehu všetkých cyklov, podobne ako v našej štúdii, výrazne znížili.

Mikroskopické vláknité huby za významné z hľadiska bezpečnosti považujeme najmä v súvislosti s rizikom produkcie mykotoxínov, čo sú mimoriadne odolné zlúčeniny, ktoré sa po svojom vzniku veľmi ťažko eliminujú z kontaminovaných potravín a krmív. Vyznačujú sa vysokou chemickou stabilitou a schopnosťou odolávať rôznym spracovateľským postupom, vrátane vysokých teplôt, mrazenia či chemického ošetrenia. Bežne používané dekontaminačné techniky, ako je oplachovanie, mletie alebo tepelné spracovanie, zvyčajne nedokážu mykotoxíny úplne odstrániť, pričom niektoré metódy môžu dokonca viesť k vzniku ďalších toxických vedľajších látok (Awuchi et al., 2021). Na druhej strane však Camenzuli et al. (2018) naznačujú, že druhy hmyzu ako *Alphitobius diaperinus* a *Hermetia illucens* môžu vďaka detoxikačným dráham odolávať mykotoxínom, no vplyv ich degradačných produktov si vyžaduje ďalší výskum. Bisconsin-Junior et al. (2023) uvádzajú, že v ich štúdii sa mykotoxíny v tkanivách hmyzu neakumulovali a negatívne účinky sa vyskytli len pri vysokej kontaminácii v substráte. Pri nízkej úrovni kontaminácie odporúčajú pred usmrtením lariev dodržať karanténny čas na degradáciu toxínov. Podľa Purschke et al. (2017) je nevyhnutné monitorovať nielen prítomnosť mikroskopických vláknitých húb v chovných substrátoch, ale aj potenciálnu produkciu mykotoxínov, najmä v substrátoch s vysokým obsahom rastlinných zložiek, ktoré považujú za najviac náchylné na mykologickú kolonizáciu.

Poslednou monitorovanou skupinou mikroorganizmov v našej štúdii boli sporulujúce baktérie. Tieto baktérie predstavujú veľmi významnú skupinu mikroorganizmov z hľadiska otázky bezpečnosti potravín, keďže v ich spórovej forme sú vysoko odolné voči fyzikálnym a

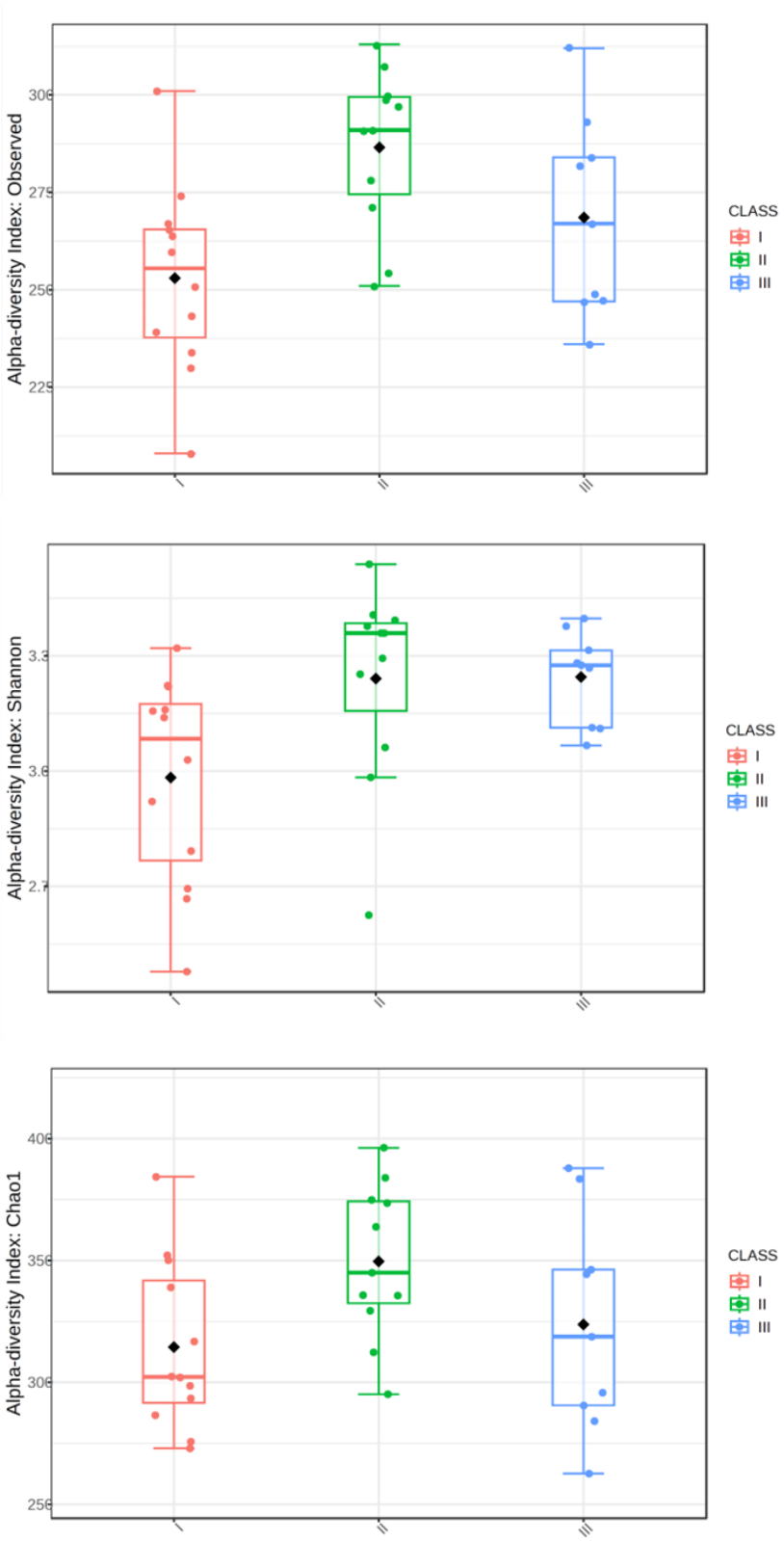
chemickým úpravám aplikovaným v potravinárskom priemysle a môžu pretrvávať počas celého potravinárskeho reťazca (Gauvry et al., 2021). Fasolato et al. (2018) poukazujú na to, že medzi najčastejšie sa vyskytujúce rody sporulantov patrí *Bacillus*, zatiaľ čo rod *Clostridium* zaznamenali len výnimočne. Vo svojej štúdii so spracovaným hmyzom identifikovali druhy ako *Bacillus cereus, B. thuringiensis* a *B. cytotoxicus*, čím zdôrazňujú potrebu dôsledného monitorovania týchto potenciálne toxín produkujúcich mikroorganizmov v potravinách obsahujúcich hmyz. Podľa Yu et al. (2011), znepokojenie môže vyvolávať predovšetkým prítomnosť baktérie *B. cereus*, nakoľko je to známy potenciálny producent tepelne odolného toxínu cereulidu. V našej štúdii počty sporulujúcich baktérií po experimentálnom kŕmení vo všetkých variantoch poklesli o 0,62 log KTJ.g^{-1} (I. variant) až o 2,06 log KTJ.g^{-1} (II. variant). Najvyšší zaznamenaný priemerný celkový počet sporulantov bol 5,04 log KTJ.g^{-1}, pričom v kontexte potravinovej bezpečnosti sa za rizikové považujú koncentrácie enterotoxigénnych kmeňov *B. cereus* nad 5 log KTJ·g^{-1} (EFSA, 2016).

Kvalitatívna analýza bakteriálneho mikrobiómu lariev

V rámci kvalitatívnej analýzy bakteriálneho mikrobiómu lariev po experimentálnom kŕmení bola vyhodnotená alfa- a beta-diverzita detegovaných mikroorganizmov, pričom alfa-diverzita opisuje rozmanitosť mikrobiómu v rámci jednotlivých variantov a beta-diverzita porovnáva rozdiely v bakteriálnom zastúpení medzi jednotlivými variantmi pokusu.

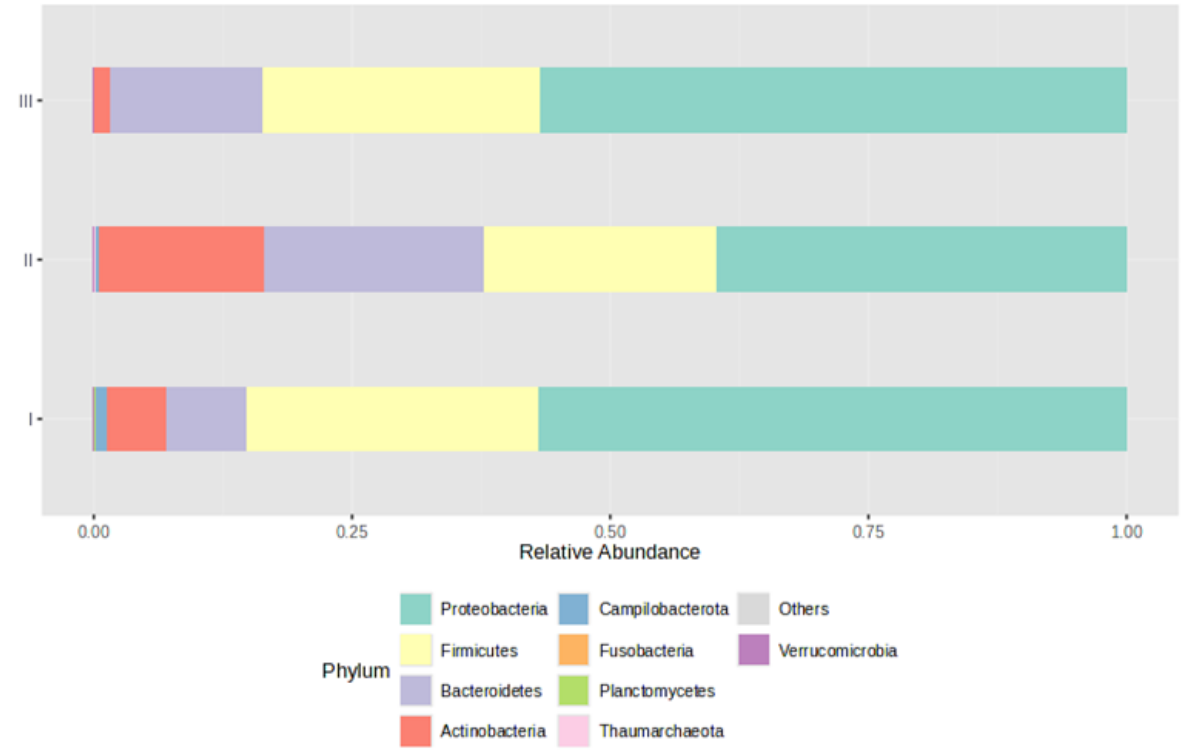
Hodnotená alfa-diverzita poukázala na nasledovné zistenia. Celkový pozorovaný počet OTU v jednotlivých substrátoch (variantoch) bol preukazné odlišný len medzi variantom I. a II. ($p < 0.001$). Pri analýze ostatných párov neboli zistené preukazné rozdiely. Shannonov index diverzity bol preukazne odlišný medzi variantom I. a II. ($p = 0,043$) ako aj medzi I. a III. ($p = 0,025$). Chao I index nebol ovplyvnený použitým substrátom. Uvedené grafy zahŕňa obrázok č. 1.

Obrázok č. 1, Grafy indexov alfa-diverzity bakteriálneho spoločenstva v BSFL chovaných na rôznych variantoch krmiva: I. – variant s vaječnými cestovinami varenými v plnotučnom mlieku; II. – variant s varenou ryžou a hráškom; III. – variant s hydratovaným kuskusom, vareným slepačím vajcom, špenátom a mrkvou



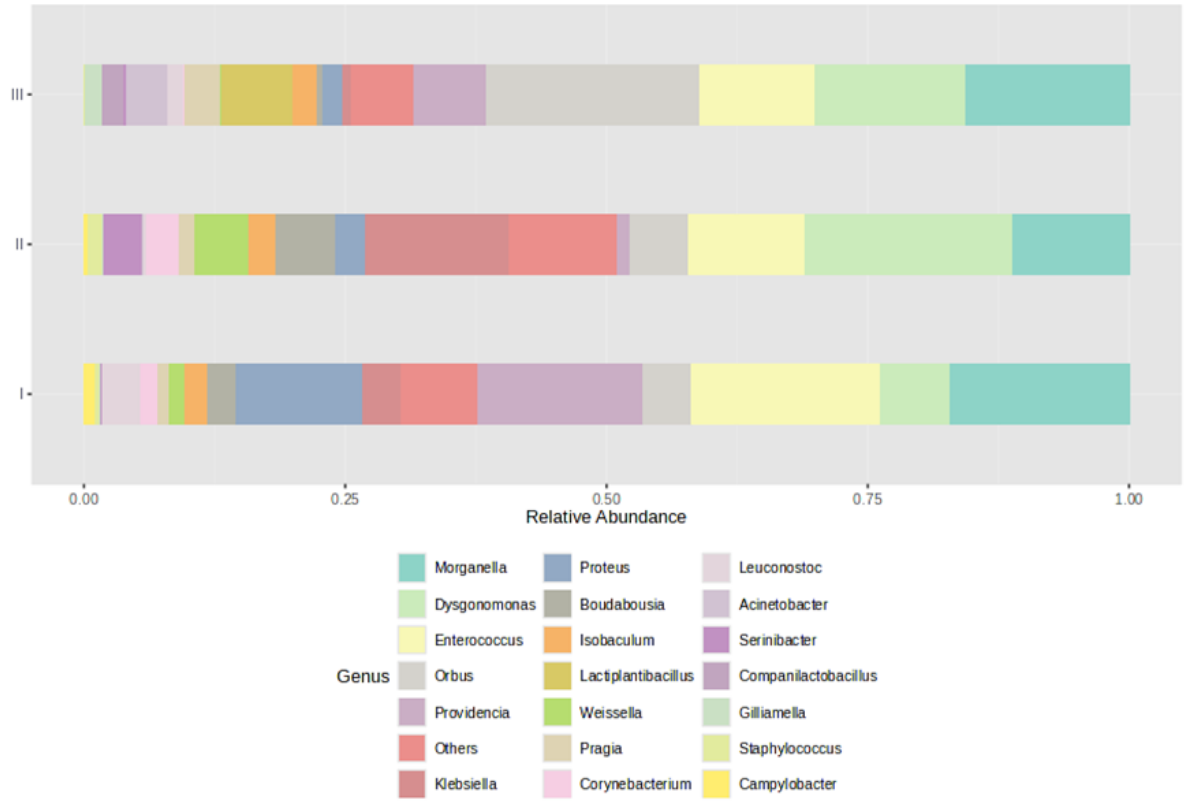
Analýza beta-diverzity odhalila tri samostatné klastre vzoriek, pre každý substrát samostatný. Toto bolo potvrdené aj Permanova testom, ktorý bol vysoko preukazný pre všetky porovnávané dvojice ($p < 0,001$) s vysokými hodnotami R2 (I. vs. II. = 0,44; pre I. vs. III. = 0,46 a pre II. vs. III. = 0,66). Tieto výsledky naznačujú rozvoj výrazne odlišnej komunity mikroorganizmov v larvách *Hermetia illucens* na základe konzumovaného substrátu. Vo všetkých analyzovaných vzorkách výrazne dominovalo oddelenie (Phylum) Proteobacteria (I. 56,87 %, II. 39,70 %, III. 56,74 %), nasledované oddelením Firmicutes (I. 28,31 %, II. 22,50 %, III. 26,85 %) a tretie najčastejšie bolo oddelenie Bacteroidetes (I. 7,76 %, II. 21,19 %, III. 14,80 %). Oddelenie Actionbacteria bolo výrazne odlišné v závislosti od substrátu. Vo variante I. sa rozvíjalo aj oddelenie Campilobacterota, ktoré vo variante III. úplne absentovalo. Grafické znázornenie výsledkov na úrovni oddelení ponúka obrázok č. 2.

Obrázok č. 2, Priemerné zloženie bakteriálneho spoločenstva na úrovni oddelení v BSFL chovaných na rôznych variantoch krmiva: I. – variant s vaječnými cestovinami varenými v plnotučnom mlieku; II. – variant s varenou ryžou a hráškom; III. – variant s hydratovaným kuskusom, vareným slepačím vajcom, špenátom a mrkvou



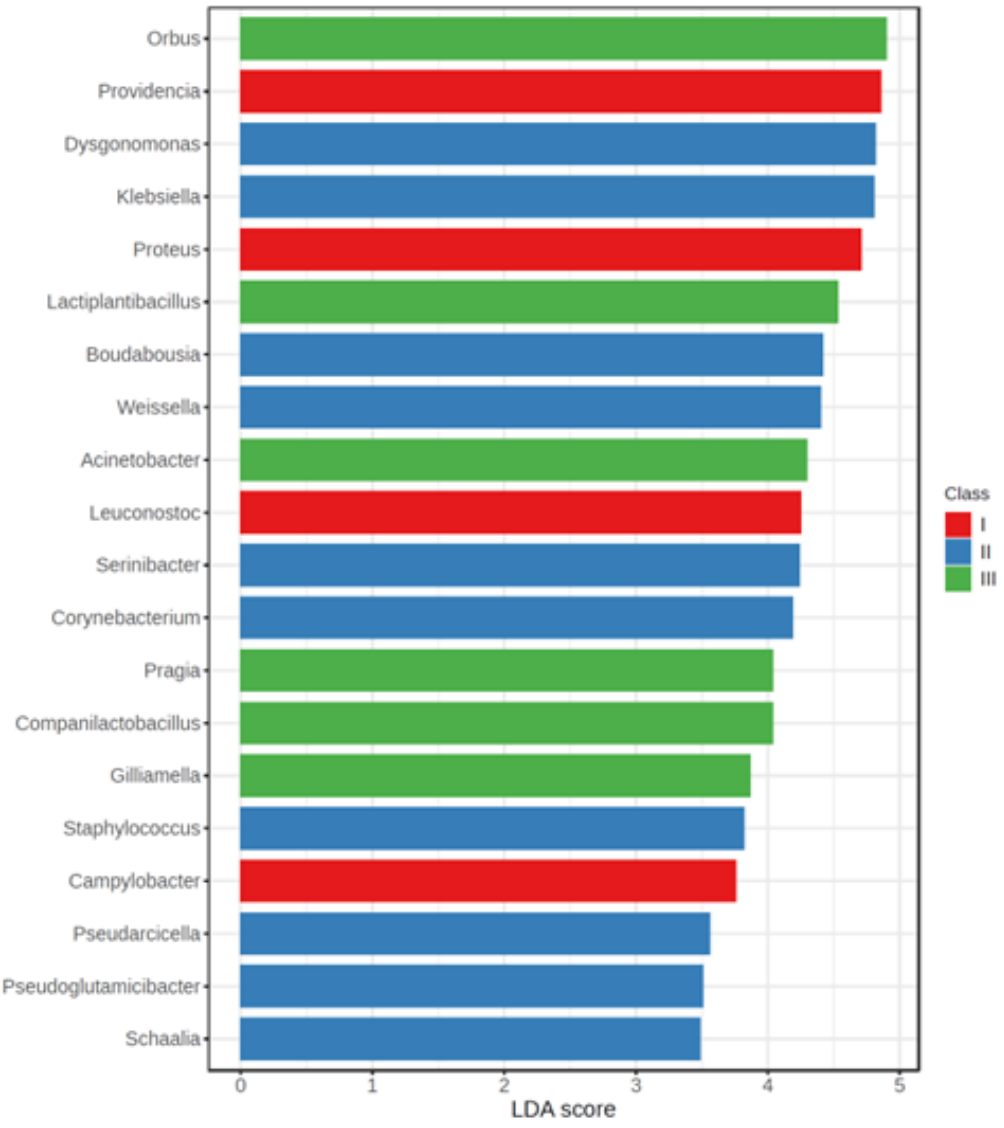
Medzi rodmi so zastúpením väčším ako 10 % v larvách kŕmených substrátom I. boli *Enterococcus* (18,2 %), *Morganella* (17,0 %), *Providencia* (15,7 %) a *Proteus* (12,0 %). Pre variant II. to boli *Dysgonomonas* (19,9 %), *Klebsiella* (13,8 %), *Morganella* (11,2 %) a *Enterococcus* (11,1 %) a pre variant III. to boli *Orbus* (20,4 %), *Morganella* (15,6 %), *Dysgonomonas* (14,6 %) a *Enterococcus* (11,0 %). Medzi ďalšie rody detegované v larvách s nižším zastúpením (bez ohľadu na varianty) patrili baktérie mliečneho kvasenia (*Companilactobacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Levilactobacillus*, *Leuconostoc*, *Weissella*), baktérie asociované s prostredím alebo hmyzom (*Gilliamella*, *Pseudarcicella*, *Pseudoglutamicibacter*, *Pragia*), potenciálne patogénne mikroorganizmy (*Campylobacter*, *Escherichia/Shigella*, *Staphylococcus*, *Schaalia*, *Boudabousia*, *Helcobacillus*, *Serinibacter*) a iné, pričom všetky boli zistené vždy v minimálne 2 variantoch. Grafické znázornenie výsledkov na úrovni rodov ponúka obrázok č. 3.

Obrázok č. 3, Priemerné zloženie bakteriálneho spoločenstva na úrovni rodov v BSFL chovaných na rôznych variantoch krmiva: I. – variant s vaječnými cestovinami varenými v plnotučnom mlieku; II. – variant s varenou ryžou a hráškom; III. – variant s hydratovaným kuskusom, vareným slepačím vajcom, špenátom a mrkvou



Z hľadiska rozdielnosti výskytu sme pomocou LefSE analýzy určili biomarkerové rody pre konkrétne varianty. Dvadsať z nich s najväčšou LDA hodnotou, ktoré predstavujú najvýraznejšie taxonomické odlišnosti medzi variantmi, je zobrazených na obrázku 4. Vyššie LDA skóre indikuje vyššiu schopnosť daného rodu diskriminovať medzi skupinami, čo odráža jeho potenciálny význam pri charakterizácii špecifického mikrobiálneho profilu jednotlivých variantov. Medzi rody s najvyšším LDA skóre patrili napríklad *Orbus* pre variant III., *Providencia* pre variant I. a *Dysgonomonas* pre variant II., čo naznačuje ich kľúčovú úlohu v špecifickej adaptácii mikrobioty na dané podmienky.

Obrázok č. 4, Biomarkerové rody baktérií s najväčšou LDA hodnotou detegované v BSFL chovaných na rôznych variantoch krmiva: I. – variant s vaječnými cestovinami varenými v plnotučnom mlieku; II. – variant s varenou ryžou a hráškom; III. – variant s hydratovaným kuskusom, vareným slepačím vajcom, špenátom a mrkvou



Hmyz na svojom povrchu a v tráviacom trakte obsahuje rôzne mikroorganizmy, ktoré zohrávajú kľúčovú úlohu v rôznych aspektoch jeho fyziológie (Jang et Kikuchi, 2020). Tieto mikroorganizmy pochádzajú buď z prijatého krmiva, alebo tvoria prirodzenú mikrocenózu tráviaceho traktu. Mnohé z nich sú schopné prežiť podmienky v črevách a tiež sa v nich rozmnožovať (Engel et Moran, 2013). Následne môžu byť vo veľkých množstvách vylučované do zvyškov (Wynants et al., 2019). Jeon et al. (2011), podobne ako v našej štúdii, analyzovali larvy kŕmené varenou ryžou a v ich črevách detegovali zástupcov oddelení Proteobacteria (54,01 %), Firmicutes (42,27 %) a ďalšie neklasifikované baktérie (3,52 %). Najvyššie zastúpenie mala baktéria *Proteus mirabilis* (36,91 %). Autori tiež zistili, že gastrointestinálny trakt lariev kŕmených potravinovým odpadom mal vyššiu bakteriálnu diverzitu v porovnaní s larvami kŕmenými varenou ryžou. Autori Gorrens et al. (2021) sa venovali analýzam mikrocenózy BSFL, kŕmených krmivom pre kurčatá alebo substrátmi bohatými na vlákninu. Identifikácia získaných izolátov odhalila, že všetky baktérie patrili do oddelení Proteobacteria (66,3 %), Firmicutes (30,2 %), Bacteroidetes (2,9 %) alebo Actinobacteria (0,6 %). Ako najčastejších zástupcov baktérií označili rody *Enterococcus* (29,1 %), *Escherichia* (22,1 %), *Klebsiella* (19,8 %), *Providencia* (11,6 %), *Enterobacter* (7,6 %) a *Morganella* (4,1 %). Gorrens et al. (2021) zároveň sumarizovali výsledky štúdií iných autorov a dospeli k záveru, že v črevách lariev sa pravidelne vyskytuje súbor rodov, ako sú *Enterococcus, Providencia, Morganella* a *Dysgonomonas*, hoci početnosť sa medzi štúdiami a v rámci nich relatívne líši. Informácií o funkciách týchto perzistentných mikroorganizmov je však stále málo. Autori Wynants et al. (2019) v niektorých vzorkách lariev a/alebo zvyškov zistili prítomnosť potenciálnych potravinových patogénov, ako sú *Salmonella* spp. a *Bacillus cereus*. Park et al. (2015) však uvádzajú, že larvy majú schopnosť produkovať antimikrobiálne peptidy potláčajúce počet patogénnych a iných baktérií v ich prostredí. Táto možnosť je stále predmetom štúdia, ale mohla by pôsobiť ako bariéra pre vonkajšiu mikrobiálnu kolonizáciu lariev a podporovať udržanie vrodenej mikrobiálnej črevnej komunity.

ZÁVER

Výsledky štúdie potvrdzujú, že zloženie krmiva, ktorým sú larvy *Hermetia illucens* kŕmené, má vplyv na ich mikrobiálny profil. Kvantitatívne analýzy ukázali, že experimentálne kŕmenie viedlo k nárastu celkového počtu mikroorganizmov a baktérií z čeľade Enterobacteriaceae v larvách, čo môže potenciálne zvýšiť hygienické riziko spojené s ich využitím a zároveň zdôrazňuje potrebu dôsledného monitorovania a zavádzania kontrolných opatrení na zabezpečenie bezpečnosti a kvality lariev pred ich použitím v krmivách pre zvieratá, ako aj v možných budúcich aplikáciách pre ľudskú konzumáciu. Na druhej strane, zistený

pokles počtu mikroskopických vláknitých húb a sporulujúcich baktérií je pozitívnym signálom, ktorý naznačuje, že larvy môžu mať schopnosť obmedziť niektoré potenciálne rizikové mikroorganizmy. Pre budúce aplikácie BSFL v krmivách pre zvieratá a možnú ľudskú konzumáciu je však potrebné vykonávať ďalšie štúdie zamerané na zloženie a funkciu ich mikrobioty. Týmto spôsobom môžeme zabezpečiť nielen kvalitu a bezpečnosť, ale aj efektívnosť využívania BSFL ako obnoviteľného zdroja živín.

POĎAKOVANIE

Táto štúdia vznikla s podporou projektu KEGA 018SPU-4/2024 – Inovácia vzdelávacieho procesu v študijnom odbore biotechnológie.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AWUCHI, C.G., ONDARI, E.N., OGBONNA, C.U., UPADHYAY, A.K., BARAN, K., OKPALA, C.O.R., KORZENIOWSKA, M. AND GUINÉ, R.P. Mycotoxins affecting animals, foods, humans, and plants: Types, occurrence, toxicities, action mechanisms, prevention, and detoxification strategies—A revisit. In *Foods.* 2021, vol. 10, no. 6, p. 1279.
2. BRULÉ, L., MISERY, B., BAUDOUIN, G., YAN, X., GUIDOU, C., TRESPEUCH, C., FOLTYN, C., ANTHOINE, V., MORICEAU, N., FEDERIGHI, M. AND BOUÉ, G. Evaluation of the Microbial Quality of *Hermetia illucens* Larvae for Animal Feed and Human Consumption: Study of Different Type of Rearing Substrates. In *Foods*. 2024, vol. 13, no. 10, p. 1587.
3. BISCONSIN-JUNIOR, A., FEITOSA, B.F., SILVA, F.L. AND MARIUTTI, L.R.B., Mycotoxins on edible insects: should we be worried? In *Food and chemical toxicology*. 2023, vol. 177, p. 113845.
4. CAMENZULI, L., VAN DAM, R., DE RIJK, T., ANDRIESSEN, R., VAN SCHELT, J. AND VAN DER FELS-KLERX, H.J. Tolerance and excretion of the mycotoxins aflatoxin B1, zearalenone, deoxynivalenol, and ochratoxin A by *Alphitobius diaperinus* and *Hermetia illucens* from contaminated substrates. In *Toxins*. 2018, vol. 10, no. 2, p. 91.
5. CAPORASO, J.G., LAUBER, C.L., WALTERS, W.A., BERG-LYONS, D., LOZUPONE, C.A., TURNBAUGH, P.J., FIERER, N. AND KNIGHT, R. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. In *Proceedings of the national academy of sciences*. 2011, vol. 108, supplement_1, pp. 4516-4522.
6. ČIČKOVÁ, H., NEWTON, G.L., LACY, R.C. AND KOZÁNEK, M. The use of fly larvae for organic waste treatment. In *Waste management*. 2015, vol. 35, pp. 68-80.

7. DORTMANS, B., DIENER, S., BART, V. AND ZURBRÜGG, C. *Black soldier fly biowaste processing: a step-by-step guide*. Eawag : 2017.
8. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. In *EFSA Journal*. 2016, vol. 14, no. 7, p.e 04524.
9. EKE, M., TOUGERON, K., HAMIDOVIC, A., TINKEU, L.S.N., HANCE, T. AND RENOZ, F. Deciphering the functional diversity of the gut microbiota of the black soldier fly (*Hermetia illucens*): recent advances and future challenges. In *Animal microbiome*. 2023, vol. 5, no. 1, p. 40.
10. ENGEL, P., MORAN, N.A. The gut microbiota of insects–diversity in structure and function. In *FEMS microbiology reviews*. 2013, vol. 37, no. 5, pp. 699-735.
11. FASOLATO, L., CARDAZZO, B., CARRARO, L., FONTANA, F., NOVELLI, E. AND BALZAN, S. Edible processed insects from e-commerce: Food safety with a focus on the *Bacillus cereus* group. In *Food microbiology*. 2018, vol. 76, pp. 296-303.
12. FERNÁNDEZ-DELGADO, M., CONTRERAS, M., GARCÍA-AMADO, M.A., GUENEAU, P. AND SUÁREZ, P. Occurrence of *Proteus mirabilis* associated with two species of Venezuelan oysters. In *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 2007, vol. 49, pp. 355-359.
13. GAUVRY, E., MATHOT, A.G., COUVERT, O., LEGUÉRINEL, I. AND COROLLER, L. Effects of temperature, pH and water activity on the growth and the sporulation abilities of *Bacillus subtilis* BSB1. In *International Journal of Food Microbiology*. 2021, vol. 337, p. 108915.
14. GORRENS, E., VAN MOLL, L., FROONINCKX, L., DE SMET, J. AND VAN CAMPENHOUT, L. Isolation and identification of dominant bacteria from black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) envisaging practical applications. In *Frontiers in Microbiology*. 2021, vol. 12, p. 665546.
15. HAZELEGER, W.C., BOLDER, N.M., BEUMER, R.R. AND JACOBS-REITSMA, W.F. Darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) and their larvae as potential vectors for the transfer of *Campylobacter jejuni* and *Salmonella enterica* serovar paratyphi B variant Java between successive broiler flocks. In *Applied and Environmental Microbiology*. 2008, vol. 74, no. 22, pp. 6887-6891.
16. JANG, S. AND KIKUCHI, Y. Impact of the insect gut microbiota on ecology, evolution, and industry. In *Current Opinion in Insect Science*. 2020, vol. 41, pp. 33-39.
17. JEON, H., PARK, S., CHOI, J., JEONG, G., LEE, S.B., CHOI, Y. AND LEE, S.J. The intestinal bacterial community in the food waste-reducing larvae of *Hermetia illucens*. In *Current microbiology*. 2011, vol. 62, pp. 1390-1399.
18. KANNAN, M., VITENBERG, T., BEN-MORDECHAI, L., KHATIB, S. AND OPATOVSKY, I. Effect of yeast supplementation on growth parameters and metabolomics of black soldier fly larvae, *Hermetia illucens* (L.)(Diptera:

Stratiomyidae). In *Journal of Insects as Food and Feed*. 2023, vol. 9, no. 10, pp. 1353-1364.

19. KUAN, Z.J., CHAN, B.K.N. AND GAN, S.K.E. Worming the circular economy for biowaste and plastics: *Hermetia illucens*, *Tenebrio molitor*, and *Zophobas morio*. In *Sustainability*. 2022, vol. 14, no. 3, p. 1594.
20. LU, Y., ZHOU, G., EWALD, J., PANG, Z., SHIRI, T. AND XIA, J. MicrobiomeAnalyst 2.0: comprehensive statistical, functional and integrative analysis of microbiome data. In *Nucleic Acids Research*. 2023, vol. 51, no. W1, pp. W310-W318.
21. OSIMANI, A., MILANOVIĆ, V., GAROFALO, C., CARDINALI, F., RONCOLINI, A., SABBATINI, R., DE FILIPPIS, F., ERCOLINI, D., GABUCCI, C., PETRUZZELLI, A. AND TONUCCI, F. Revealing the microbiota of marketed edible insects through PCR-DGGE, metagenomic sequencing and real-time PCR. In *International Journal of Food Microbiology*. 2018, vol. 276, pp. 54-62.
22. PADMANABHA, M., KOBELSKI, A., HEMPEL, A.J. AND STREIF, S. A comprehensive dynamic growth and development model of *Hermetia illucens* larvae. In *Plos one*. 2020, vol. 15, no. 9, p. e0239084.
23. PARK, K.H., KWAK, K.W., NAM, S.H., CHOI, J.Y., LEE, S.H., KIM, H.G., KIM, S.H. Antibacterial activity of larval extract from the black soldier fly *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) against plant pathogens. In *J. Entomol. Zool. Stud*. 2015, vol. 3, pp. 176-179.
24. PEGUERO, D.A., GOLD, M., VANDEWEYER, D., ZURBRÜGG, C. AND MATHYS, A. A review of pretreatment methods to improve agri-food waste bioconversion by black soldier fly larvae. In *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2022, vol. 5, p. 745894.
25. PURSCHKE, B., SCHEIBELBERGER, R., AXMANN, S., ADLER, A. AND JÄGER, H. Impact of substrate contamination with mycotoxins, heavy metals and pesticides on the growth performance and composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) for use in the feed and food value chain. In *Food Additives & Contaminants: Part A*. 2017, vol. 34, no. 8, pp. 1410-1420.
26. RAIMONDI, S., SPAMPINATO, G., MACAVEI, L.I., LUGLI, L., CANDELIERE, F., ROSSI, M., MAISTRELLO, L., AMARETTI, A. Effect of rearing temperature on growth and microbiota composition of *Hermetia illucens*. In *Microorganisms*. 2020, vol. 8, no. 6, p. 902.
27. ROGNES, T., FLOURI, T., NICHOLS, B., QUINCE, C., MAHÉ, F. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. In *PeerJ 4.* 2016, *e2584* [online].
28. SCHLÜTER, O., RUMPOLD, B., HOLZHAUSER, T., ROTH, A., VOGEL, R.F., QUASIGROCH, W., VOGEL, S., HEINZ, V., JÄGER, H., BANDICK, N. AND KULLING, S. Safety aspects of the production of foods and food ingredients from insects. In *Molecular nutrition & food research*. 2017, vol. 61, no. 6, p. 1600520.

29. SHENG, K., MIAO, H., NI, J., YANG, K., GU, P., REN, X., XIONG, J. AND ZHANG, Z. Deeper insight into the storage time of food waste on black soldier fly larvae growth and nutritive value: Interactions of substrate and gut microorganisms. In *Science of The Total Environment*. 2024, vol. 951, p. 175759.
30. SHEPPARD, D.C., NEWTON, G.L., THOMPSON, S.A. AND SAVAGE, S. A value added manure management system using the black soldier fly. In *Bioresource technology*. 1994, vol. 50, no. 3, pp. 275-279.
31. SILVARAJU, S., ZHANG, Q.H., KITTELMANN, S. AND PUNIAMOORTHY, N. Genetics, age, and diet influence gut bacterial communities and performance of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*). In *Animal Microbiome*. 2024, vol. 6, no. 1, p. 56.
32. VĚTROVSKÝ, T., BALDRIAN, P. AND MORAIS, D. SEED 2: a user-friendly platform for amplicon high-throughput sequencing data analyses. In *Bioinformatics*. 2018, vol. 34, no. 13, pp. 2292-2294.
33. WANG, Q., GARRITY, G.M., TIEDJE, J.M. AND COLE, J.R. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. In *Applied and environmental microbiology*. 2007, vol. 73, no. 16, pp. 5261-5267.
34. WYNANTS, E., FROONINCKX, L., CRAUWELS, S., VERRETH, C., DE SMET, J., SANDROCK, C., WOHLFAHRT, J., VAN SCHELT, J., DEPRAETERE, S., LIEVENS, B. AND VAN MIERT, S. Assessing the microbiota of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) reared on organic waste streams on four different locations at laboratory and large scale. In *Microbial ecology*. 2019, vol. 77, pp. 913-930.
35. YU, G., CHENG, P., CHEN, Y., LI, Y., YANG, Z., CHEN, Y. AND TOMBERLIN, J.K. Inoculating poultry manure with companion bacteria influences growth and development of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae. In *Environmental entomology*. 2011, vol. 40, no. 1, pp. 30-35.

Kontaktná adresa: Ing. Mašková Zuzana, PhD., Institute of Biotechnology, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak Agricultural University in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic; E-mail: zuzana.maskova@uniag.sk

VPLYV TECHNOLOGICKEJ ÚPRAVY NA SEKUNDÁRNE METABOLITY V MRAZENÝCH POTRAVINÁCH

INFLUENCE OF TECHNOLOGICAL TREATMENT ON SECONDARY METABOLITES IN FROZEN FOODS

Megyesy Eftimová Zuzana, Zahumenská Jana, Dudriková Eva, Kováčová Mariana

Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

The garden strawberry (*Fragaria x ananassa* L.) is a hybrid species of strawberry grown for consumption. It contains a number of biologically active compounds that are directly responsible for its polyphenol profile and high anti-radical potential. However, freezing and thawing can cause degradation of the bioactive compounds. The aim of the work was to determine the total content of polyphenols, flavonoids and anti-radical activity in extracts from frozen *Fragaria* spp. from different trade networks and with different countries of origin. Thus to determine the optimal conditions for thawing in order to minimize any loss of nutrients before processing. Samples (A1 - A4) were prepared for analysis by three technological methods of thawing. The highest content of polyphenols when thawing in a water bath was recorded in sample A2 (1,844.44 mg GAE.L^{-1}). Sample A2 also showed the highest content of total flavonoids (322.67 mg QE.L^{-1}) but when thawing at room temperature. With this method of thawing at room temperature, sample A1 showed the highest anti-radical activity (87.34%). We confirmed that even frozen strawberries are a rich source of phenolic compounds and anti-radical activity that can support human health. Our results showed that it is not possible to clearly state and recommend an appropriate method of technological treatment for thawing strawberries. We did not observe significant differences between the thawing behaviour of the individual frozen strawberry samples purchased from the four supermarket chains and the country of origin. We found that a different thawing method suited each sample. We therefore recommend that the experiment should be continued.

Key words: antiradical activity, polyphenols, flavonoids, color, strawberries

ÚVOD

Jahody sú jedným z najdôležitejších bobuľových plodov používaných na priemyselné spracovanie potravín a používajú sa na výrobu smoothies, nápojov a dezertov (Holzwarth et al., 2012; Sinir et al., 2018). Vzhľadom na sezónnosť ponuky jahôd a krátku dobu trvanlivosti

čerstvých jahôd sú jahody na spracovanie distribuované ako mrazené a je potrebná veľkovýroba mrazených jahôd (Pukszta, 2016). Zmrazenie a následné rozmrazovanie jahôd môže ovplyvniť ich textúru, chuť, vzhľad, farbu, živiny, čo ovplyvňuje ich nutričnú a senzorickú kvalitu (Skrede, 2016). Mikronutričné a nenutričné zložky ovocia a zeleniny zohrávajú preventívnu úlohu pri rozvoji chronických ochorení, akými sú rakovina a kardiovaskulárne ochorenia (Willis et al., 2009). Štúdie potvrdili, že červené bobuľovité ovocie, ako sú jahody má vyššiu antioxidačnú aktivitu ako iné ovocie, ako sú jablká, broskyne, hrušky, hrozno, paradajky, pomaranč alebo kiwi (Kevers et al., 2007). Plody jahôd obsahujú veľa vody, sacharidov, vitamínu C, A, B, E, organické kyseliny, kyselinu listovú, minerálne látky ako draslík, zinok, horčík, síru, vápnik, bór, fluór, kobalt a molybdén (Eftimová et al., 2023). Ukázalo sa, že úroveň zavlažovania, spôsob kultivácie pod plastovými tunelmi v porovnaní s plantážou jahôd, typ pôdy a typ mulčovania ovplyvňujú obsah fenolových zlúčenín a antioxidačnú kapacitu extraktov z jahôd (Wang a Millner 2009; Bordonaba a Terry 2010). Celková antioxidačná kapacita (TAC) závisí od prítomnosti niekoľkých tried zlúčenín, ako je kyselina askorbová a polyfenoly, ktoré majú rôzny vplyv na ľudské zdravie (Battino et al., 2009). Rôzne kultivary môžu tiež vykazovať rozdiely v koncentrácii špecifických fenolových zlúčenín, ako je kyselina ellagová alebo ellagitaníny (Buendia et al., 2010). Ukázalo sa tiež, že TAC je závislé od genotypu (Chepinski et al., 2010). Vyššia antioxidačná aktivita môže v niektorých prípadoch korelovať so zvýšeným celkovým obsahom fenolov (Wang et al., 2010). Tepelná úprava ovocia, akou je aj rozmrazovanie je bežnou súčasťou prípravy jedla, ktorá môže ovplyvniť množstvo obsiahnutých živín. Zatiaľ čo niektoré vitamíny a minerály sa pri úprave môžu strácať, iné sa vďaka teplu stávajú pre telo ľahšie využiteľnými (Dostálová, 2008). Podľa Tureka a kol., (2015) výživová hodnota stravy pozostáva z energetickej a biologickej zložky a práve hodnota biologická môže byť nešetrným spôsobom prípravy stravy vážne narušená. Tepelnou úpravou môžeme nutrične cennú potravinu do značnej miery znehodnotiť. Sú to hlavne potraviny rastlinného pôvodu, pri ktorých dochádza k strate vitamínov a minerálnych látok vylúhovaním. Počas skladovania mrazeného ovocia bol zaznamenaný nárast aj pokles obsahu antokyánov a iných fenolových zlúčenín (Bulut et al., 2018; Kamiloglu, 2019). Holzwarth et al., 2012 uvádzajú, že počas rozmrazovania boli zaznamenané významné straty antokyanínov. Okrem zmien v zložení je dôležitá aj aktivita enzýmov, ako je peroxidáza a polyfenoloxidáza, najmä v jahodách určených na spracovanie, pretože tieto enzýmy sa podieľajú na degradácii fenolových zlúčenín vrátane antokyánov (Chisari et al., 2007), a tak môžu ovplyvniť farebnú stálosť konečného produktu. Obsah fenolových zlúčenín ovplyvňujú nutričnú kvalitu a farebnú stálosť spracovaného produktu. Je dôležité poznamenať, že každý spôsob tepelného rozmrazovania môže mať iný vplyv na farbu, senzorické vlastnosti, polyfenolový profil a antiradikálovú

aktivitu jahôd. Cieľom tejto práce bolo identifikovať polyfenolový profil a antiradikálovú aktivitu, ktoré môžu predpovedať spotrebiteľskú prijateľnosť kvality konzumácie jahôd.

MATERIÁL A METODIKA

V práci boli analyzované vzorky mrazených jahôd zakúpených v štyroch obchodných sieťach s rôznou krajinou pôvodu. Všetky vzorky sú uvádzané anonymne bez názvu výrobcu. Analýzy vzoriek (n = 4 ; A1 – A4 – mrazené jahody) boli vykonané na Katedre hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín na UVLF v Košiciach. Vzorky boli pred analýzami pripravené tromi technologickými spôsobmi rozmrazovania. Rozmrazovanie prostredníctvom vodného kúpeľa (teplota vody 40 °C, 20 min.), mikrovlnný ohrev (400 W defrost, 10 min.) a izbová teplota (24 °C, 2 hod.). Po rozmrazení boli jahody homogenizované mixérom (mixér ETA 0010) a následne extrahované v pomere 1:2 (25 g jahôd; 50 ml rozpúšťadla), ktoré boli 24 hodín trepané na trepačke (LT3 Nedfrom s.r.o. / ČR), následné boli vzorky prefiltrované. Vo vzorkách sa stanovil celkových obsah polyfenolov pomocou Folin-Ciocalteuovho činidla v súlade so Singleton a Rossi (1999), obsah celkových flavonoidov podľa metódy Lamaison a Carnat (Willett, 2002) a antiradikálová aktivita bola stanovená pomocou DPPH metódy podľa Brand - Williamsom et al. (1995) pomocou spektrofotometra (T65 UV - Visible Spectrophotometer/UK). Dosiahnuté výsledky analýz sme vyhodnotili použitím štatistického softvéru R - statistics software, verzia 4.5.0 (R Core Team, 2025). V experimentálnych vzorkách sme ako hlavné faktory štatistickej analýzy zvolili vplyv rozdielnosti vzoriek a vplyv spôsobu rozmrazovania vzoriek. Pre vyhodnotenie sme zvolili metódu dvojcestnej analýzy rozptylu (tzv. Two-Way ANOVA) s Tukeyho testom pre viacnásobné porovnanie priemerov. Za štatisticky významný rozdiel sme zvolili interval spoľahlivosti nastavený na hladine významnosti 95 %.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Zmrazovanie a rozmrazovanie sú postupy bežne používané na konzervovanie a manipuláciu s jahodami určenými na ďalšie spracovanie v priemysle. Zmrazovanie a rozmrazovanie však môže ovplyvniť zloženie ovocia a následne ovplyvniť jeho kvalitu (Pukszta, 2016). Preto sme sa v našej štúdií zamerali na sledovanie vplyvu technologickej úpravy na sekundárne metabolity a kvalitu mrazených jahôd.

Tabuľka č. 1, Celkový obsah polyfenolov vo vzorkách mrazených jahôd (priemer ± SD)

Celkový obsah polyfenolov (mg GAE.L $^{-1}$)			
Vzorky	**Vodný kúpeľ**	**Mikrovlnný ohrev**	**Izbová teplota**
A1	1 111,11 ± 64,12^{f}	1 406,67 ± 213,54^{de}	1 584,44 ± 124,01^{bcd}
A2	1 844,44 ± 34,32^{a}	1 391,11 ± 218,43^{e}	1 691,11 ± 78,81^{abc}
A3	1 586,67 ± 102,96^{bcd}	1 797,78 ± 144,38^{a}	1 524,44 ± 46,67^{cde}
A4	1 555,56 ± 93,69^{bcde}	1 497,78 ± 68,15^{de}	1 724,44 ± 54,57^{ab}
Two-Way ANOVA	**Rozdielnosť vzoriek**	**Spôsob rozmrazenia**	**Kombinácia vplyvov**
p - hodnota	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$

A1 – hlboko zmrazené jahody (DE); A2 – hlboko zmrazené jahody (ČR); A3 – hlboko zmrazené jahody (ČR); A4 – hlboko zmrazené jahody (PL); Priemery zdieľajúce zhodný horný index (a-e) nie sú vzájomne štatisticky významné (Tukeyho test, $p < 0,05$).

Z tabuľky 1 vyplýva, že pri hodnotení vzorky A1 sme najvyšší obsah celkových polyfenolov (1584,44 mg GAE.L^{-1}) stanovili za použitia technologickej úpravy rozmrazovania pri izbovej teplote a v klesajúcom poradí nasledovali hodnoty vzorky A1 pri mikrovlnnom ohreve (1 406,67 mg GAE.L^{-1}) a vodnom kúpeli (1 111,11 mg GAE.L^{-1}). Pri vzorke A2 sme zaznamenali najvyšší obsah polyfenolov pri rozmrazovaní vo vodnom kúpeli a v klesajúcom poradí nasledovali hodnoty pri spôsobe rozmrazovania pri izbovej teplote a v mikrovlnnej rúre (A2; 1 844,44 mg GAE.L^{-1} > 1 691,11 mg GAE.L^{-1} > 1 391,11mg GAE.L^{-1}). Pri vzorke A3 sme stanovili najvyšší obsah polyfenolov pri rozmrazovaní v mikrovlnnej rúre a klesajúcom poradí nasledovali hodnoty pri rozmrazovaní vo vodnom kúpeli a pri izbovej teplote (A3; 1 797,78 mg GAE.L^{-1} > 1 586,67 mg GAE.L^{-1} > 1 524,44 mg GAE.L^{-1}). Pri vzorke A4 sme najvyšší obsah polyfenolov stanovili pri použití úpravy rozmrazovania pri za izbovej teploty a klesajúcom poradí nasledovali hodnoty pri rozmrazovaní vodnom kúpeli a v mikrovlnnej rúre (A4; 1 724,44 mg GAE.L^{-1} > 1 555,56 mg GAE.L^{-1} > 1 497,78 mg GAE.L^{-1}). Z dosiahnutých výsledkov stanovenia celkového obsahu polyfenolových látok sme zistili štatisticky významný vplyv druhu vzoriek mrazených jahôd ($p < 0,001$) a taktiež aj vplyv spôsobu rozmrazovania ($p < 0,001$).

Počas mrazenia sa mení štruktúra plodov a tvorba kryštálov spôsobuje rozrušenie bunečných stien buniek (De Ancos et al., 2007). Rozrušenie môže zvýšiť extrakciu zlúčenín z ovocia a spôsobiť nárast metabolitov. Tento trend bol už predtým zaznamenaný pre fenolové zlúčeniny v jahodách (Bulut et al., 2018). Liu et al., (2023) zistili, že v dôsledku rozrušenia stien buniek vo vákuu dochádza k uvoľňovaniu fenolových látok, ale aj primárnych metabolitov (vitamín C), ktoré sa po zmrazení zvýšili. Obsah fenolových zlúčenín je dôležitým faktorom pri určovaní kvality jahôd. Okrem toho fenolové zlúčeniny zvyšujú nutričnú hodnotu tým, že

prispievajú k znižovaniu rizík chronických ochorení, ako je rakovina alebo kardiovaskulárne ochorenia (Afrin et al., 2016).

Tabuľka č. 2, Celkový obsah flavonoidov vo vzorkách mrazených jahôd (priemer ± SD)

Celkový obsah flavonoidov (mg QE.L $^{-1}$)			
Vzorky	**Vodný kúpeľ**	**Mikrovlnný ohrev**	**Izbová teplota**
A1	$208,44 \pm 6,62^{e}$	$277,33 \pm 26,06^{bc}$	$259,33 \pm 12,21^{cd}$
A2	$285,33 \pm 6,93^{b}$	$270,67 \pm 5,66^{bcd}$	$322,67 \pm 7,48^{a}$
A3	$280,67 \pm 9,17^{b}$	$251,78 \pm 8,27^{d}$	$274,89 \pm 4,70^{bc}$
A4	$316,44 \pm 23,57^{a}$	$214,22 \pm 8,51^{e}$	$218,89 \pm 11,71^{e}$
Two-Way ANOVA	**Rozdielnosť vzoriek**	**Spôsob rozmrazenia**	**Kombinácia vplyvov**
p - hodnota	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$

A1 – hlboko zmrazené jahody (DE); A2 – hlboko zmrazené jahody (ČR); A3 – hlboko zmrazené jahody (ČR); A4 – hlboko zmrazené jahody (PL); Priemery zdieľajúce zhodný horný index (a-e) nie sú vzájomne štatisticky významné (Tukeyho test, $p < 0,05$).

Vplyv mrazenia a použitie technológie rozmrazovania ovplyvňuje aj celkový obsah flavonoidov, ktorý uvádzame v tabuľke 2. Pri hodnotení vzorky A1 sme najvyšší obsah celkových flavonoidov stanovili za použitia technologickej úpravy rozmrazovania mikrovlnným ohrevom a v klesajúcom poradí nasledovali hodnoty pri rozmrazovaní izbovou teplotou a vodným kúpeľom (A1; 277,33 mg QE.L^{-1} > 259,33 mg QE.L^{-1} > 208,44 mg QE.L^{-1}). Pri vzorke A2 sme zaznamenali najvyšší obsah celkových flavonoidov pri rozmrazovaní pri izbovej teplote a v klesajúcom poradí nasledovali hodnoty pri rozmrazovaní vo vodnom kúpeli a v mikrovlnnej rúre (A2; 322,67 mg QE.L^{-1} > 285,33 mg QE.L^{-1} > 270,67 mg QE.L^{-1}). Pri vzorke A3 sme zaznamenali najvyšší obsah celkových flavonoidov pri rozmrazovaní vo vodnom kúpeli a klesajúcom poradí nasledovali hodnoty pri rozmrazovaní pri izbovej teplote a v mikrovlnnej rúre (A3; 280,67 mg QE.L^{-1} > 274,89 mg QE.L^{-1} > 251,78 mg QE.L^{-1}). Pri vzorke A4 sme najvyšší obsah celkových flavonoidov stanovili pri použití úpravy rozmrazovania vo vodnom kúpeli a v klesajúcom poradí nasledovali hodnoty pri rozmrazovaní pri izbovej teplote a v mikrovlnnej rúre (A4; 316,44 mg QE.L^{-1} > 218,89 mg QE.L^{-1} > 214,22 mg QE.L^{-1}). Tabuľka 2 opisujúca výsledky stanovenia obsahu celkových flavonoidov vo vzorkách mrazených jahôd poukazuje na štatisticky významný vplyv druhu vzoriek ($p < 0,001$) a taktiež aj spôsobu ich rozmrazenia ($p < 0,001$).

Zvýšenie aj zníženie obsahu fenolových zlúčenín v jahodách počas skladovania v mrazničke bolo zistené v niekoľkých štúdiách (Bulut et al., 2018; Oszmiański et al., 2009; Salazar-Orbea et al., 2023). Aj keď zmrazenie nepreukázalo silný negatívny vplyv na obsah

fenolov, niektoré postupy rozmrazovania vykazovali významnú stratu obsahu fenolov. Holzwarth et al. (2012) uvádza, že počas rozmrazovania nezaznamenali žiadny významný vplyv na obsah neantokyanínových fenolov. Simkova et al. (2024) vo svojej štúdii zisťovala celkový obsah fenolov vo vzorkách jahôd, ktoré rozmrazovala viacerými spôsobmi. Plody sa rozmrazovali v chladničke pri 4 °C po dobu 24 hodín, po 6 hodinách pri izbovej teplote (24 °C), po dobu 2 hodinách v elektrickej rúre pri 37 °C a v mikrovlnnej rúre (600 W) po dobu 5 min. Autori zaznamenali významný pokles celkového obsahu fenolov po rozmrazení vo všetkých prípadoch, okrem mikrovlnného rozmrazovania, čo naznačuje, že by mohli existovať rozdiely v enzymatickej aktivite medzi kultivarmi. Zistili, že zo všetkých rozmrazovacích spôsobov ovocie rozmrazené pri 24 °C vykazovalo výrazný pokles obsahu všetkých skupín fenolových zlúčenín, čo možno vysvetliť vysokou aktivitou peroxidázy (POD) a polyfenoloxidázy (PPO) pri tejto teplote. Fenolové zlúčeniny a kyselina askorbová sú známe ako dôležité antioxidačné zlúčeniny v jahodách (Meyers et al., 2003). Scalzo et al. (2005) a Buendia et al. (2010) zistili dôležité rozdiely v obsahu fenolových zlúčenín medzi rôznymi kultivarmi jahôd. Priemer obsahu celkových fenolov a antioxidačnej kapacity (metódou FRAP) bol vyšší pri júnových kultivaroch ako pri kultivaroch dozrievajúcich v iných mesiacoch (348 a 268 mg/100 FW pre celkové fenolové zlúčeniny a 4011 a 2771 µmol TE/100 g FW pre antioxidačnú kapacitu). K podobným výsledkom dospel Khanizadeh et al. (2006) pri kanadských kultivaroch jahôd.

Tabuľka č. 3, Antiradikálová aktivita vo vzorkách mrazených jahôd (priemer ± SD)

% inhibície DPPH			
Vzorky	**Vodný kúpeľ**	**Mikrovlnný ohrev**	**Izbová teplota**
A1	$81,75 \pm 0,00^{bcd}$	$84,48 \pm 0,02^{ab}$	$87,34 \pm 0,00^{a}$
A2	$86,56 \pm 0,01^{a}$	$86,76 \pm 0,00^{a}$	$79,91 \pm 0,06^{cd}$
A3	$80,97 \pm 0,04^{bcd}$	$86,88 \pm 0,01^{a}$	$77,78 \pm 0,04^{d}$
A4	$85,40 \pm 0,01^{ab}$	$83,36 \pm 0,04^{abc}$	$87,09 \pm 0,01^{a}$
Two-Way ANOVA	**Rozdielnosť vzoriek**	**Spôsob rozmrazenia**	**Kombinácia vplyvov**
p - hodnota	$p < 0,001$	$p < 0,01$	$p < 0,001$

A1 – hlboko zmrazené jahody (DE); A2 – hlboko zmrazené jahody (ČR); A3 – hlboko zmrazené jahody (ČR); A4 – hlboko zmrazené jahody (PL); Priemery zdieľajúce zhodný horný index (a-d) nie sú vzájomne štatisticky významné (Tukeyho test, $p < 0,05$).

Z tabuľky 3 vyplýva, že najvyššiu antiradikálovú aktivitu, t.j. schopnosť zhášať DPPH radikál mali vzorky A1 (87,34 %) a A4 (87,09 %) pri použití technologickej úpravy rozmrazovania pri izbovej teplote. Vo vzorkách A2 (86,76 %) a A3 (86,88 %) bola nameraná najvyššia antiradikálová aktivita pri použití technologickej úpravy rozmrazovania

v mikrovlnnej rúre. Medzi jednotlivými analyzovanými vzorkami mrazených jahôd sme zistili štatisticky významný rozdiel v antiradikálovej aktivite ($p < 0,001$). Spôsob rozmrazovania vzoriek jahôd ovplyvnil ich antiradikálovú aktivitu na hladine štatistickej významnosti $p < 0,01$.

Voca et al. (2009) študovali antioxidačnú kapacitu (metódou DPPH) rôznych kultivarov jahôd pestovaných v Chorvátsku a zistili, že antioxidačná kapacita pri odrode Elsanta bola vyššia ako pri Clery. Rôzne fenolové zlúčeniny môžu vykazovať veľmi odlišnú reakciu s peroxylovým radikálom produkovaným tepelným rozkladom AAPH (Tabart et al., 2009).

Pincemail et al. (2012) zistili, že veľká časť variácií hodnôt antioxidačnej kapacity a obsahu fenolov môže byť spôsobená odrodovými rozdielmi. Vo svojej štúdii zistili, že odroda Isaura mala najvyššiu antioxidačnú kapacitu a najvyšší obsah fenolov, ale najnižší obsah kyseliny askorbovej. Podobné pozorovanie zaznamenal Shin et al. (2008) pri jahodách v rovnakom štádiu zrelosti. V Argentíne, kde sa jahody pestovali v skleníkoch a zbierali sa 2-krát ročne (v zime a v lete), Ferreyra et al. (2007) namerali vyššiu koncentráciu antioxidantov a fenolov v jahodách zbieraných v lete, pričom poukázali na to, že antioxidačná kapacita zostala počas dozrievania väčšinou konštantná. Wold a Opstad (2007) uvádzajú, že kyselina askorbová a antioxidačná aktivita (stanovená testom FRAP) jahôd (Korona) nebola ovplyvnená sezónou. Okrem sezónneho účinku môžu rozdiely v antioxidačnej kapacite súvisieť aj s rozdielmi v kultivačných podmienkach.

ZÁVER

Významným faktorom pôsobiacim na prítomnosť ovocia v obchodných sieťach je ich sezónnosť. Dá sa predpokladať, že požiadavky na túto komoditu sa budú v budúcnosti neustále zvyšovať a preto môžu byť výsledky našej porovnávacej analýzy plodov jahôd dôležité pre ďalšie využitie v potravinárstve. Táto štúdia poukazuje na to, že veľká časť variácií v hodnotách antioxidačnej kapacity a celkovom obsahu fenolov môže byť spôsobená odrodovými rozdielmi a spôsobom zmrazovania a rozmrazovania. Z našich výsledkov vyplynulo, že nie je možné jednoznačne konštatovať a odporúčať vhodný spôsob technologickej úpravy rozmrazovania jahôd. Výrazné rozdiely pri rozmrazovaní jednotlivých vzoriek mrazených jahôd zakúpených v štyroch obchodných sieťach a medzi krajinou pôvodu sme nezaznamenali. Zistili sme, že každej vzorke vyhovoval iný spôsob rozmrazovania. Z tohto dôvodu odporúčame aby sa na experimente aj naďalej pokračovalo. V obchodnej sieti nemajú dnes konzumenti široký výber v sortimente jahôd, preto by sa mal klásť väčší dôraz na zachovanie ich kvality.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená projektom KEGA 007UVLF-4/2024.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AFRIN, S.; GASPARRINI, M.; FORBES-HERNANDEZ, T.Y.; REBOREDO-RODRIGUEZ, P.; MEZZETTI, B. ; VARELA-LÓPEZ, A.; GIAMPIERI, F.; BATTINO, M. Promising health benefits of the strawberry: A focus on clinical studies. In *J. Agric. Food. Chem.,* 2016, vol. 64, no. 22, pp. 4435–4449.
2. BORDONABA, JG.; TERRY LA. Manipulating the taste-related composition of strawberry fruits (*Fragaria x ananassa*) from different cultivars using deficit irrigation. In *Food Chem.*, 2010, vol. 122, pp.1020–6.
3. BUENDIA, B.; GIL, MI.; TUDELA, JA.; GADY, AL.; MEDINA. JJ.; SORIA, C.; LOPEZ, JM.; TOMAS-BARBERAN, FA. HPLC-MS analysis of proanthocyanidin oligomers and other phenolics in 15 strawberry cultivars. In *J Agric Food Chem.,* 2010, vol. 58, pp. 3916–26.
4. BULUT, M.; BAYER, Ö.; KIRTIL, E.; BAYINDIRLI, A. Effect of freezing rate and storage on the texture and quality parameters of strawberry and green bean frozen in home type freezer. In *Int. J. Refrigerat.,* 2018, vol. 88, pp. 360–369.
5. DE ANCOS, B.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; DE PASCUAL-TERESA, S.; CANO, M.P. Fruit freezing principles. In *Handbook. Fruits. Fruit Process.,* 2007, pp. 59–79.
6. DOSTÁLOVÁ, J. *Co se děje s potravinami při přípravě pokrmů.* Praha: Forsapi, 2008. 56 s. ISBN 978-80-903820-8-4.
7. EFTIMOVÁ, J.; MEGYESY EFTIMOVÁ, Z.; BALÁŽOVÁ, Ľ.; FAIXOVÁ, D. *Farmaceutická botanika.* Rec. Karel Šmejkal, Miroslav Habán. 1. vyd. Košice : UVLF, 2023. 258 s. ISBN 978-80-8077-816-3.
8. FERREYRA, RM.; VINA, SZ.; MUGRIDGE, A.; CHAVES, AR. Growth and ripening season effects on antioxidant capacity of strawberry cultivar Selva. In *Sci Hort,* 2007, vol. 112, pp. 27–32.
9. HOLZWARTH, M.; S. KORHUMMEL, R. C.; KAMMERER, D.R. Evaluation of the effects of different freezing and thawing methods on color, polyphenol and ascorbic acid retention in strawberries (*Fragaria × ananassa Duch*.). In *Food Res. Int.,* 2012, vol. 48, no. 1, pp. 241–248.
10. CHISARI, M.; BARBAGALLO, R.N.; SPAGNA, G. Characterization of polyphenol oxidase and peroxidase and influence on browning of cold stored strawberry fruit. In *J. Agric. Food. Chem., 2007*, vol. 55, no. 9, pp. 3469–3476.
11. CHELPINSKI, P.; SKUPIEN, K.; OCHMIAN, I. 2010. Effect of fertilization on yield and quality of cultivar kent strawberry fruit. In *J Elem.,* 2010, 15, 251–7.

12. LIU Z.; MAO, M.; LI, C.; CAI, Y.; WANG, J.H.; LIU, LI, C. Vacuole a repository to control fruit flavor quality. In *Fruit Res.,* 2023, vol. 3,no. 12.
13. KAMILOGLU, S. Effect of different freezing methods on the bioaccessibility of strawberry polyphenols. In Int. *J. Food Sci. Technol.,* 2019, vol. 54, no. 8, pp. 2652–2660.
14. KEVERS, C.; FALKOWSKI, M.; TABART, J.; DEFRAIGNE, JO.; DOMMES, J.; PINCEMAIL, J. Evolution of antioxidant capacity during storage of selected fruits and vegetables. In *J Agric Food Chem.,* 2007, vol. 55, pp. 8596–603.
15. KHANIZADEH, S.; EHSANI-MOGHADDAM, B.; LEVASSEUR, A. Antioxidant capacity in June-bearing and day-neutral strawberry. In *Can J Plant Sc.,* 2006, vol. 86, pp. 1387–90.
16. KHANIZADEH, S.; TAO, S.; ZHANG, S.; TSAO, R.; REKIKA, D.; YANG, R.; CHARLES, MT.; GAUTHIER, L.; GOSSELIN, A. Profile of antioxidant activities of selected strawberry genotypes. In *Acta Hort*, 2009, vol 814, pp. 551–6.
17. MEYERS, KJ.; WATKINS, CB.; PRITTS, MP.; LIU, RH. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. In *J Agric Food Chem.,* 2003, vol. 51, pp. 6887–92.
18. OSZMIAŃSKI, J.; WOJDYŁO, A.; KOLNIAK, J. Effect of l-ascorbic acid, sugar, pectin and freeze–thaw treatment on polyphenol content of frozen strawberries. In *Food Sci. Technol.,* 2009, vol. 4, no. 2, pp. 581–586.
19. PINCEMAIL, J.; KEVERS, C.; TABART, J.; DEFRAIGNE, JO.; DOMMES, J. Cultivars, Culture Conditions, and Harvest Time Influence Phenolic and Ascorbic Acid Contents and Antioxidant Capacity of Strawberry (Fragaria x ananassa). In *Journal of Food Science,* 2012, vol. 77, no. 2, pp. 205-210.
20. PUKSZTA, T. Commodity analysis of quality changes in frozen strawberry caused by temperature fluctuation. In *Abbrev: Pol. J. Natur. Sc.,* 2016, vol. 31, no. 3, pp. 421–431.
21. R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2025. Dostupné na internete: <https://www.R-project.org/>
22. SALAZAR-ORBEA, G.L.; GARCÍA-VILLALBA, R.; BERNAL, M.J.; HERNÁNDEZ-JIMÉNEZ, A.; EGEA, J.A.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; SÁNCHEZ-SILES, L.M. Effect of storage conditions on the stability of polyphenols of apple and strawberry purees produced at industrial scale by different processing techniques. In *J. Agric. Food. Chem.,* 2023, vol. 71, no. 5, pp. 2541–2553.

23. SCALZO, J.; POLITI, A.; PELLEGRINI, N.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. In *Nutrition*, 2005, vol. 21, pp. 207–13.
24. SINIR, G.; TAMER, C.; ÇOPUR, Ö. Effect of several food processing methods on volatile composition of strawberry. In *Diglib.Tugraz.At.,* 2018.
25. SIMKOVA, K.; GROHAR, M.C.; PELACCI, M.; VEBERIC, R.; JAKOPIC. J.; HUDINA, M. Variability in 'Capri' everbearing strawberry quality during a harvest season. In *Foods*, 2024, vol. 12, no. 6, pp. 1349.
26. SHIN, Y.; RYU, JA.; LIU, RH.; NOCK, JF.; POLAR-CABRERA, K.; WATKINS, CB. Fruit quality, antioxidant contents and activity, and anti proliferative activity of strawberry fruit stored in elevated CO2 atmospheres. In *J Food Sci.,* 2008, 73, 339–44.
27. SKREDE, G. Freezing effects on food quality. CRC Press. 2019. 432 s. ISBN 9780203755495.
28. TABART, J.; KEVERS, C.; PINCEMAIL, J.; DEFRAIGNE, JO.; DOMMES, J. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. In *Food Chem.,* 2009, vol. 113, pp. 1226–33.
29. TUREK, B.; ŠÍMA, P.; MICHALOVÁ, I. Jak poznáme kvalitu? Vliv kulinární úpravy potravin na jejich nutriční hodnotu. Praha: Sdružení českých spotřebitelů, z.ú., 2017. 20 s. ISBN 978-80-87719-58-9.
30. VOCA, S.; JAKOBEK, L.; DRUZIC, J.; SINDRAK, Z.; DOBRICEVIC, N.; SERUGA, M.; KOVAC, A. Quality of strawberries produced applying two different growing systems Calidad de fresas producidas aplicando dos diferentes sistemas de cultivo. In *Cyta J Food.,* 2009, vol. 7, pp. 201–7.
31. WANG, SY.; MILLNER, P. 2009. Effect of different cultural systems on antioxidant capacity, phenolic content, and fruit quality of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). In *J Agric Food Chem.,* 2009, vol. 57, pp. 9651–7.
32. WANG, QL.; TURY, E.; REKIKA, D.; CHARLES, MT.; TSAO, R.; HAO, YJ.; DUBE, C.; KHANIZADEH, S. Agronomic characteristics and chemical composition of newly developed day-neutral strawberry lines by agriculture and agri-food canada. In *Int J Food Proper*, 2010, vol. 13, pp. 1234–43.
33. WILLIS, LM.; SHUKITT-HALE, B.; JOSEPH, JA. Modulation of cognition and behavior in aged animals: role for antioxidant- and essential fatty acid-rich plant foods. In *Am J Clin Nutr.,* 2009, vol. 89, pp. 1602–6.

34. WOLD, AB.; OPSTAD, N. Fruit quality in strawberry (Fragaria x ananassa Duch. cv. Korona) at three times during the season and with two fertilizer strategies. In *J Appl Bot Food Qual Angewandte Botanik,* 2007, vol. 81, pp. 36–40.

Kontaktná adresa: Megyesy Eftimová Zuzana, Ing. Mgr. PhD., Department of Food Hygiene, Technology and Safety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: zuzana.megyesy.eftim@uvlf.sk

NAJČASTEJŠIE NEBEZPEČENSTVÁ VZNIKAJÚCE POČAS OMRAČOVANIA BROJLEROVÝCH KURČIAT NA BITÚNKU

THE MOST COMMON HAZARDS ARISING DURING STUNNING OF BROILER CHICKENS IN THE SLAUGHTERHOUSE

Mesarčová Lýdia[1], Reitznerová Anna[1], Skurková Lenka[2], Marcinčák Slavomír[1]

[1] Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín

[2] Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

Stunning is one of the prerequisites for the rapid and least painful death of animals intended for the production of food of animal origin and is a mandatory step in the slaughter of animals. Stunning is intended to induce a lost of consciousness and sensitivity in farm animals and is based on the understanding that the animal is a sentient being and that slaughtering in a slaughterhouse is associated with pain and suffering that can be avoided. Therefore, legislation, various regulations and guidelines on the welfare of animals at slaughter contain a list of known stunning methods applicable to different species of animals and certain minimum standards for each method necessary to induce immediate unconsciousness, which must necessarily last until death by bleeding. The welfare of production animals, including poultry, during slaughter in a slaughterhouse is anchored in Regulation (EC) 1099/2009 on the protection of animals at the time of killing. This article discusses the stunning step in broiler chickens in commercial slaughterhouses and what hazards and consequences food buisness operators, slaughterhouse personnel and official veterinarians encounter during different types of stunning of broilers.

Key words: slaughterhouse, welfare, broiler chicken, stunning

ÚVOD

Hydinové mäso je pomerne lacným, na prípravu jednoduchým zdrojom živočíšnych bielkovín, a navyše je spotrebiteľmi vnímané ako zdravšia alternatíva (s nižším obsahom tuku) oproti ostatným druhom mias a má svoje univerzálne miesto v jedálničku ľudí vo väčšine krajín sveta (Magdelaine et al. 2008, Kyarisiima et al. 2011, Chatterjee a Rajkumar 2015).

Do roku 2050 by mala produkcia hydiny dosiahnuť 180 miliónov ton (Henriksen 2022). To by znamenalo nárast o 1 200 % od roku 1960, čo je trojnásobok tempa rastu bravčového mäsa a desaťnásobok tempa rastu hovädzieho mäsa. V správe od Henriksena (2022) sa uvádza,

že kuracie mäso do roku 2030 bude predstavovať viac ako 40 % všetkého mäsa, ktoré sa skonzumuje na celom svete.

Napriek tomu, aký značný hospodársky význam na trhu má hydinové mäso a aké sú perspektívy jeho rastu do budúcnosti, stále sa objavujú obavy týkajúce sa welfare hydiny počas chovu, pri preprave a hlavne v čase jatočného opracovávania na bitúnku (Fuseini et al. 2023).

Právne predpisy o dobrých životných podmienkach (DŽP), ktoré sú v platnosti, prechádzajú procesom revízie a viaceré mimovládne organizácie tvrdia, že by mala Európa zvážiť a zaujať silnejšie stanovisko voči krutosti zaobchádzania s brojlerovými kurčatami (Mcdougal 2022).

V rámci Európskej únie a v rámci našich národných platných právnych úprav sú ustanovené legislatívne požiadavky na zaobchádzanie a manipuláciu s kurčatami pred zabíjaním a počas neho (1099/2009, 432/2012) a práve v tomto článku sa chceme venovať kroku, ktorý je na bitúnku jedným z kľúčových na zaistenie rýchlej straty vedomia a čo možno najmenej bolestivej a okamžitej smrti brojlerových kurčiat, a tým je omračovanie.

OMRAČOVANIE

Podľa nariadenia Rady (ES) č. 1099/2009 je „omráčenie“ je akýkoľvek zámerne vyvolaný proces, ktorý spôsobuje stratu vedomia a citlivosti bez bolesti, vrátane akéhokoľvek procesu, ktorý vedie k okamžitej smrti.

Medzi hlavné metódy omračovania používané počas jatočného opracovávania hydiny patria:

(1) elektrické omračovanie

(2) omračovanie v riadenej atmosfére

(3) mechanické omračovanie (tento typ omráčenia sa na komerčných bitúnkoch bežne nepoužíva a pristupuje sa k nemu len ako k náhradnej metóde omráčenia.)

Každá z vyššie uvedených metód omráčenia z hľadiska pohody brojlerov, má určité výhody a nevýhody (Berg a Raj 2015). Tiež počas omračovania, v závislosti od spôsobu, akým sa vykonáva, vzniká určité **nebezpečenstvo pre welfare** (welfare hazards) a príslušné **dôsledky,** ktoré vyplývajú z prítomného nebezpečenstva (welfare consequences) (EFSA 2020). Nebezpečenstve je zadefinované ako potenciálny zdroj poškodenia alebo nepriaznivého vplyvu (https://www.efsa.europa.eu/en/campaigns/hazard-vs-risk) s možným dôsledkom pre welfare.

V závislosti od toho, ako sa brojlerové kurčatá omračujú na bitúnku, môžu vzniknúť dva druhy nebezpečenstiev:

(1) tie, ktoré vedú k negatívnym dôsledkom pre DŽP počas navodenia bezvedomia (bezprostredne predtým, ako zvieratá stratia vedomie)

(2) tie, ktoré vyplývajú z oneskorenia alebo nedosiahnutia straty vedomia.

Ak omráčenie nie je účinné a brojler je pri vedomí, je schopný prijímať, spracovávať a reagovať na informácie z vnútorného a vonkajšieho prostredia, zatiaľ čo účinné omračovanie vedie k stavu mozgu, ktorý je nezlučiteľný s touto schopnosťou a pretrvávaním vedomia (EFSA 2004). Počas akéhokoľvek omračovania závisí dosiahnutie účinného omráčenia od určitých kľúčových parametrov (EFSA AHAW Panel 2013) a neúčinné omráčenie vedie k tomu, že kurčatá sú počas vykrvenia a po ňom vo vedomom, bdelom stave. Obe tieto situácie sú pre zvieratá veľmi bolestivé a agóniu navodzujúce, a je potrebné sa im vyhnúť (EFSA 2019).

NAJČASTEJŠIE NEBEZPEČENSTVÁ POČAS ELEKTRICKÉHO OMRÁČENIA

Hydina sa najčastejšie omračuje vo vodnom kúpeli. Princípom tohto omráčenia je, že elektrický prúd s dostatočnou minimálnou intenzitou prúdu prechádza z elektrifikovaného vodného kúpeľa cez hlavu a telo vtákov do kovových okov, na ktorých sú vtáky zavesené za beháky. Tento prúd spôsobuje generalizovanú epileptiformnú aktivitu v mozgu vtákov, čím ich reverzibilne strácajú vedomie (Berg a Raj 2015).

Z hľadiska DŽP je omráčenie vtákov vo vodnom kúpeli jednou z najproblematickejších metód omračovania z hľadiska welfare. Jeho účinnosť závisí od viacerých faktorov vrátane veľkosti brojlera, výšky elektrického prúdu, výšky napätia a frekvencie. V tabuľke č. 1 sú uvedené minimálne hodnoty elektrického prúdu používané na omráčenie rôznych druhov hydiny vo vodnom kúpeli. Okrem hodnoty prúdu a napätia je ešte kľúčový čas expozície, ktorý by mal trvať aspoň 4 sekundy, avšak na komerčných bitúnkoch sú expozičné časy podstatne dlhšie, čiastočne aj preto, aby sa zabezpečilo, že žiadnemu vtákovi sa nepodarí udržať hlavu hore počas celého prechodu nádržou s vodným kúpeľom a vyhnúť sa tak omráčeniu (EFSA 2019).

Tabuľka č. 1, *Minimálne hodnoty elektrického prúdu na omračovanie vo vodnom kúpeli*

Frekvencia (Hz)	Kurčatá	Morky	Kačice a husi	Prepelice
< 200 Hz	100 mA	250 mA	130 mA	45 mA
Od 200 do 400 Hz	150 mA	400 mA	Nepovolené	Nepovolené
Od 400 do 1 500 Hz	200 mA	400 mA	Nepovolené	Nepovolené

Zdroj: NARIADENIE RADY (ES) č. 1099/2009 z 24. septembra 2009 o ochrane zvierat počas usmrcovania (kapitola 2)

Okrem problémov s welfare spojených s prevrátením a navešiavaním pred omráčením môžu byť vtáky omráčené aj hodnotami prúdu, ktorý nie je dostatočný pre navodenie bezvedomia. Medzi indikátory nesprávneho omráčenia u brojlerov omráčených pomocou elektrického vodného kúpeľa patrí absencia tonických záchvatov, prítomnosť dýchania a

spontánne žmurkanie. Taktiež býva prítomná aj vokalizácia a očné reflexy, ale tiež mávanie krídel je spoľahlivým indikátorom toho, že omráčenie nebolo dostatočné a účinné (EFSA AHAW Panel 2013). V tabuľke č. 2 sú uvedené najčastejšie nebezpečenstvá vznikajúce počas omračovania brojlerov vo vodnom kúpeli.

Tabuľka č. 2 *Najčastejšie nebezpečenstvá počas omračovania elektrickým vodným kúpeľom, s príslušnými dôsledkami pre DŽP, opatreniami preventívneho opatrenia, pôvodom nebezpečenstva a preventívnymi a nápravnými opatreniami (upravené podľa EFSA 2019)*

Tabuľka č. 2 Najčastejšie nebezpečenstvá počas omračovania elektrickým vodným kúpeľom, s príslušnými dôsledkami pre DŽP, opatreniami preventívneho opatrenia, pôvodom nebezpečenstva a preventívnymi a nápravnými opatreniami (upravené podľa EFSA 2019)

welfare nebezpečenstvá	welfare dôsledky	pôvod nebezpečenstva	špecifikácia nebezpečenstva	preventívne opatrenia	nápravné opatrenia
šoky pred omráčením	bolesť, strach	personál, vybavenie	hrubé zaobchádzanie s vtákmi počas navešiavania, navešiavanie vtákov so zlomenými alebo vykĺbenými krídlami, atď.	školenie personálu, pozitívny handling a zaobchádzanie s vtákmi, prispôsobenie vodného kúpeľa veľkosti a duhu hydiny	žiadne
slabý elektrický kontakt	vedomie, bolesť, strach	personál, vybavenie	nevhodné postupy počas navešiavania, slabý kontakt behákov s okovami, špinavé okovy	školenie personálu, udržiavanie čistých okov, pred zavesením navlhčiť okovy	žiadne
príliš krátky čas expozície	vedomie, bolesť, strach	personál	nedostatok kvalifikovaného personálu	školenie personálu	žiadne
nevhodné elektrické parametre	vedomie, bolesť, strach	personál, vybavenie	nesprávny výber elektrických parametrov; zlá alebo chýbajúca kalibrácia; použité napätie/prúd je príliš nízke; použitá frekvencia je príliš vysoká nedostatok kvalifikovaného personálu	používanie parametrov vhodných pre aktuálnu frekvenciu, zabezpečenie dostatočného minimálneho prúdu každému vtákovi vo vodnom kúpeli, pravidelná kalibrácia a údržba zariadení, školenie personálu, pravidelný monitoring kvality používaných zariadení	žiadne
neschopnosť zabezpečiť minimálny elektrický prúd každému zvieraťu	vedomie, bolesť, strach	vybavenie	používaná metóda neschopná kopírovať biologické rozdiely medzi rôznymi druhmi hydiny	omračovanie jedného druhu hydiny v aktuálnom čase, nastavenie elektrických parametrov adekvátne druhu	žiadne

Zdroj: EFSA 2019

Hlavnými faktormi zodpovednými za neúčinné omráčenie počas omráčenia hydiny vo vodnom kúpeli teda býva slabý elektrický kontakt, krátky expozičný čas (vystavenie elektrickému prúdu príliš krátke na to, aby spôsobilo epileptiformnú aktivitu v mozgu) a nevhodné elektrické parametre (frekvencia, elektrický prúd, napätie) (EFSA 2019).

NAJČASTEJŠIE NEBEZPEČENSTVÁ POČAS PLYNOVÉHO OMRÁČENIA

Omračovanie hydiny v kontrolovanej atmosfére sa čoraz častejšie v Európe využíva na omráčenie hydiny. Z hľadiska welfare je najväčšia výhoda tohto typu omráčenia absencia bolestivého navešiavania brojlerov a vo všeobecnosti sa plynové omračovanie považuje za metódu, ktorá vedie k lepšej kvalite produktu v porovnaní s omračovaním vo vodnom kúpeli. Tento typ omráčenia nevedie k okamžitému bezvedomiu, skôr ho ale vyvoláva postupne (Berg a Raj 2015).

Medzi najčastejšie spôsoby plynového omračovania hydiny patria použitie oxidu uhličitého vo vysokej koncentrácii (oxid uhličitý v dvoch fázach), použitie zmesi oxidu uhličitého s inertnými plynmi, použitie zmesi inertných plynov a omračovanie pri nízkom atmosférickom tlaku (EFSA 2019).

Kvôli predpokladu, že vtáky vystavené oxidu uhličitému vo vysokých koncentráciách (nad 40 % objemu) prežívajú úzkosť a trpia bolesťou čo sa prejaví vokalizáciou, silným trasením hlavy, ťažkým dýchaním, pokusmi o útek alebo silným mávaním krídel (Gerritzen et al. 2006), využíva sa dvojfázový systém expozície plynov na minimalizáciu týchto averzívnych stavov (Raj et al. 2006). Počas pôsobenia zmesi plynov jednotlivé kusy hydiny postupne strácajú vedomie, avšak hydina musí byť vystavená zmesi plynov dostatočne dlho na to, aby pred navešiavaním na technologickú linku bola zbavená vedomia. Vo väčšine prípadov plynové omráčenie spôsobí smrť hydiny. Medzi znaky správneho omráčenia pri tomto type omračovania teda patrí trvalá absencia dýchania, absencia korneálneho reflexu, zrenice sú rozšírené a jatočné telo je relaxované/uvoľnené (EFSA AHAW Panel 2013).

Tabuľka č. 3 *Najčastejšie nebezpečenstvá počas plynového omračovania, s príslušnými dôsledkami pre DŽP, opatreniami preventívneho opatrenia, pôvodom nebezpečenstva a preventívnymi a nápravnými opatreniami (upravené podľa EFSA 2019)*

welfare nebezpečenstvá	welfare dôsledky	pôvod nebezpečenstva	špecifikácia nebezpečenstva	preventívne opatrenia	nápravné opatrenia
príliš vysoká koncentrácia CO_2	bolesť, strach, respiračný distres	personál, vybavenie	nedostatok kvalifikovaného personálu, chýbajúca/slabá kalibrácia zariadení, nesprávne dávkovanie plynu počas vstrekovania	školenie personálu, správne monitorovanie koncentrácie plynu, údržba a kalibrácia zariadení	úprava koncentrácie plynov
príliš krátky čas expozície	vedomie, respiračný distres	personál, vybavenie	nedostatok kvalifikovaného personálu, nedostatočný monitoring, príliš vysoká rýchlosť linky vzhľadom na kapacitu bitúnku	školenie personálu, dodržiavanie primeraného času expozície	zvýšenie času expozície až do navodenia bezvedomia
príliš nízka koncentrácia plynov	vedomie, respiračný distres	personál	nedostatok kvalifikovaného personálu, nedostatočné monitorovanie plynu, vlastnosti plynu, koncentrácia plynu, nerovnomerné rozloženie plynu, spôsob vstrekovania	školenie personálu, monitorovanie plynu a udržiavanie požadovanej koncentrácie, udržiavanie primeraného času expozície pre danú koncentráciu plynu, údržba a kalibrácia zariadenia	úprava koncentrácie plynu až do vyvolania bezvedomia

Zdroj: EFSA 2019

Expozícia zmesiam plynov a ich koncentrácia sú preto dva kľúčové parametre, ktoré počas tejto metódy omráčenia je potrebné regulovať (EFSA 2019). S plynovým omračovaním sú spájané tieto nebezpečenstvá: vystavenie príliš vysokej koncentrácii CO_2, príliš krátky čas expozície alebo ak koncentrácia plynu je príliš nízka. V tabuľke č. 3 sú uvedené najčastejšie nebezpečenstvá spájané s plynovým omračovaním hydiny, ktoré majú výrazný vplyv na DŽP hydiny. Počas týchto nebezpečenstiev môžu byť u brojlerov pozorovaná absencia straty vedomia, problémy s dýchaním, bolestivé prejavy a strachové reakcie , počas ktorých brojlery

môžu trepotať krídlami, vokalizovať, vyskytuje sa u nich silné trepotanie hlavou, pokusy o útek alebo lapanie po dychu s natiahnutým alebo oblúkovitým krkom (EFSA 2019).

ZÁVER

Správne omráčenie (vrátane znehybnenia a vykrvenia) je kľúčovým bodom pre bezbolestnú a humánnu smrť brojlerov určených na jatočné opracovávanie na komerčných bitúnkoch a tiež preto, aby sa predišlo zbytočnému utrpeniu. Je viacero povolených metód, ako navodiť stav bezvedomia a necitlivosti, ktorý má trvať až do momentu smrti zvieraťa. Medzi najčastejšie problémy týkajúcimi sa DŽP patria vplyvy nesprávnej a necitlivej manipulácie v čase navešiavania, používanie nevhodných parametrov elektrického omračovania a používanie averzívnych plynových zmesí počas omračovania v kontrolovanej atmosfére, welfare hydiny môže byť tiež ohrozený aj počas omračovania vo vodnom kúpeli v dôsledku hrubého zaobchádzania a šokov pred omračovaním. Taktiež sa zvažuje používanie vysokých koncentrácií plynného oxidu uhličitého, o ktorom sa preukázalo, že značne ohrozuje welfare brojlerov.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BERG C., RAJ, M. A Review of Different Stunning Methods for Poultry-Animal Welfare Aspects (Stunning Methods for Poultry). In *Animals* (Basel), 2015, vol. 5, pp. 1207–1219.
2. EFSA AHAW Panel (EFSA Panel on Animal Health and Welfare). Scientific Opinion on monitoring proceduresat slaughterhouses for poultry. In *EFSA Journal*, 2013, vol. 11(12), no. 3521, p. 65. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3521
3. EFSA AHAW Panel (EFSA Panel on Animal Health and Welfare). Scientific Opinion on the low atmospheric pressuresystem for stunning broiler chickens. In *EFSA Journal*, 2017, vol. 15(12), no. 5056, p. 86.
4. EFSA. Slaughter of animals: Poultry. In *EFSA Journal*, 2019, vol. 17, p. 5849.
5. FUSEINI A. et al. Poultry Welfare at Slaughter. In *Poultry*, 2023, vol. 2, no. 1, pp. 98-110. https://doi.org/10.3390/poultry2010010
6. GERRITZEN, M.A. et al. Slaughter of poultry during the epidemic of avian influenza in the Netherlands in 2003. In *Veterinary Record*, 2006, vol. 159, pp. 39-42.
7. HENRIKSEN, J. The Future of Chicken beyond 2050. In *Poultry World*. Available online: https://www.poultryworld.net/the-industrymarkets/market-trends-analysis-the-industrymarkets-2/the-future-of-chicken-poultry-beyond-2050/ (accessed on 29 april 2025).

8. https://www.efsa.europa.eu/en/campaigns/hazard-vs-risk
9. CHATTERJEE, R.N., RAJKUMAR, U. An overview of poultry production in India. In *Indian Journal of Animal Health*, 2015, vol 54, pp. 89-108.
10. KYARISIIMA, C.C. et al. Perceived tasteness and preferences of chicken meat in Uganda. In *Livestock Research of Rural Development*, 2011, vol. 23, pp. 2-7.
11. MAGDELAINE, P. et al. Poultry meat consumption trends in Europe. In *World's Poultry Science Journal*, 2008, vol. 64, pp. 53-64.
12. MCDOUGAL, T. Calls for Stronger Poultry Welfare Rules across Europe. In *Poultry World*. 2022. Available online: https://www.poultryworld.net/poultry/broilers/calls-for-stronger-animal-welfare-rules-across-europe/2022 (accessed on 29 April 2025).
13. NARIADENIE RADY (ES) č. 1099/2009 z 24. septembra 2009 o ochrane zvierat počas usmrcovania.
14. NARIADENIE VLÁDY SR č. 432/2012 Z. z., ktorým sa ustanovujú požiadavky na ochranu zvierat počas usmrcovania.
15. RAJ, A.B.M. et al. The effects of pulse width of a pulsed direct currentused in water bath stunning and neck cutting methods on spontaneous electroencephalograms inbroilers. In Animal Welfare, 2006, 15, 25-30.

Kontaktná adresa: Mesarčová Lýdia, Department of Food Hygiene and Technology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: lydia.mesarcova@uvlf.sk

JAZVEC EURÓPSKY (*MELES MELES*) AKO ALTERNATÍVNY ZDROJ MÄSA PRE POTRAVINOVÝ PRIEMYSEL

THE EUROPEAN BADGER (*MELES MELES*) AS AN ALTERNATIVE MEAT SOURCE FOR THE FOOD INDUSTRY)

Mesárošová Andrea, Bobko Marek, Bobková Alica, Čech Matej, Demianová Alžbeta, Švecová Terézia, Jurčaga Lukáš

Ústav potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76, Slovenská republika

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of gradually replacing beef with European badger meat on the sensory properties of a heat-treated meat product – meatloaf. The experiment included a control sample (a combination of beef and pork) and four variants in which 100 g (Exp_1), 200 g (Exp_2), 300 g (Exp_3), and 400 g (Exp_4) of beef were replaced with badger meat. Sensory evaluation was carried out by scaling the intensity of individual attributes (color, aroma, taste, texture, and juiciness). As the proportion of badger meat increased, sensory quality changed, particularly in aroma and taste, which were often perceived as either "too weak" or, conversely, "too intense." The most pronounced negative effect was observed with the replacement of 300 g of beef (Exp_3). The sample with full replacement (400 g, Exp_4) showed a slight improvement in color, taste, and tenderness.

Key words: European badger**,** *Meles meles*, meatloaf, sensory analysis

ÚVOD

Jazvec európsky (*Meles meles*) je široko rozšírený cicavec, pôvodom z Európy a častí Ázie, ktorý vykazuje vysokú ekologickú prispôsobivosť. Hoci uprednostňuje lesné biotopy, dokáže sa úspešne prispôsobiť aj mestskému prostrediu (Macdonald et al., 2018). Jazvec európsky je v Európe relatívne hojný, pričom menej početný alebo v nižších hustotách sa vyskytuje v Holandsku, Belgicku, Estónsku, na Slovensku a v Poľsku (Kranz & Herrero, 2015). Napriek tomu existujú obavy o túto populáciu, keďže v mnohých krajinách zaznamenala výrazné výkyvy v početnosti počas posledného storočia. Jazvec je považovaný za sociálneho mäsožravca, avšak potravu si obstaráva prevažne samostatne. Jeho stravovacie preferencie sa menia v závislosti od geografickej oblasti a sezónnej dostupnosti potravy (Robertson et al., 2014).

Spotrebitelia majú čoraz väčší záujem o mäso zo zvierat chovaných v podmienkach čo najbližších prirodzenému prostrediu. Divina jednoznačne spĺňa túto požiadavku, keďže sa vyznačuje vysokou nutričnou hodnotou a špecifickými senzorickými vlastnosťami, ktoré spotrebitelia vyhľadávajú (Strazdina et al., 2013). Tento trend podnietil vedcov z oblasti potravinárstva k prehodnoteniu a testovaniu vhodnosti určitých pôvodných druhov na produkciu potravín, ako sú soby na Aljaške a v severnej Európe, rôzne kopytníky v Afrike alebo kengury v Austrálii (Hoffman a Cawthorn, 2012). Jednou z podmienok úspešného využitia druhu na produkciu mäsa je jeho prijateľnosť pre spotrebiteľov. Tá je ovplyvnená rôznymi faktormi, vrátane náboženských, kultúrnych, etnických, rodových a vekových aspektov. V súvislosti so spotrebiteľskou akceptáciou druhu sú mimoriadne dôležité aj výťažnosť a nutričná hodnota mäsa, ako aj jeho dostupnosť na trhu (Hoffman a Cawthorn, 2013).

V našej štúdií sme použili mäso divo žijúcich jedincov druhu jazvec európsky (Meles meles) ako prídavok v mäsovom produkte – sekaná. Mäso jazveca európskeho je zložením aminokyselín a mastných kyselín podobné iným drobným cicavcom, ktoré sa bežne používajú na ľudskú spotrebu – napr. bobor vodný či nutria riečna (Haščík et al., 2024). Rovnako, mäso jazveca negatívne neovplyvňuje nutričnú kvalitu takéhoto výrobku, ako sme preukázali v našej predchádzajúcej štúdií Haščík et al. (2025). Najdôležitejším ukazovateľom pre prijateľnosť nových potravín a produktov je senzorická analýza a ich prijateľnosť. Vyhodnotenie týchto parametrov je primárnym cieľom nášho experimentu.

MATERIÁL A METODIKA

Výroba experimentálneho mäsového výrobku

Hovädzie a bravčové mäso bolo zakúpené v miestnom mäsiarstve. Mäso z jazveca európskeho pochádzalo z voľne žijúcich zvierat ulovených na poľovných revíroch v okrese Nové Zámky, Slovenská republika. Vypitvané jatočné telá boli prepravené z poľovných revírov na Ústav potravinárstva Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre, kde prebiehala príprava a analýza mäsových výrobkov - sekanej. Na prípravu sekanej bolo použité kombinované mäso z jazvečích prsných, stehenných a chrbtových svalov. V rámci experimentu bolo pripravených päť variantov sekanej. Kontrolná vzorka obsahovala iba hovädzie a bravčové mäso, zatiaľ čo v štyroch experimentálnych skupinách (Exp_1, Exp_2, Exp_3 a Exp_4) bolo postupne nahradených 100, 200, 300 a 400 g hovädzieho mäsa mäsom z jazveca európskeho.

Tabuľka č. 3, Podrobný recept na prípravu mäsového výrobku

Ingrediencie	Kontrola	Exp_1	Exp_2	Exp_3	Exp_4
Hovädzie mäso	400	300	200	100	0
Bravčové mäso	400	400	400	400	400
Chrbtová slanina	100	100	100	100	100
Bravčová koža	100	100	100	100	100
Mäso jazveca	0	100	200	300	400
Voda	120	120	120	120	120
Soľ	20	20	20	20	20
Mix korenín	14	14	14	14	14
Múka	30	30	30	30	30
Strúhanka	70	70	70	70	70

Senzorická analýza

Na vykonanie senzorickej analýzy bol vytvorený panel 12 školených hodnotiteľov. Na hodnotenie finálnych produktov bola použitá 9-bodová škála „just about right“ (JAR) – v preklade „tak akurát“. Sledované parametre zahŕňali farbu, „divinová“ aróma, „divinová“ chuť, krehkosť a šťavnatosť.

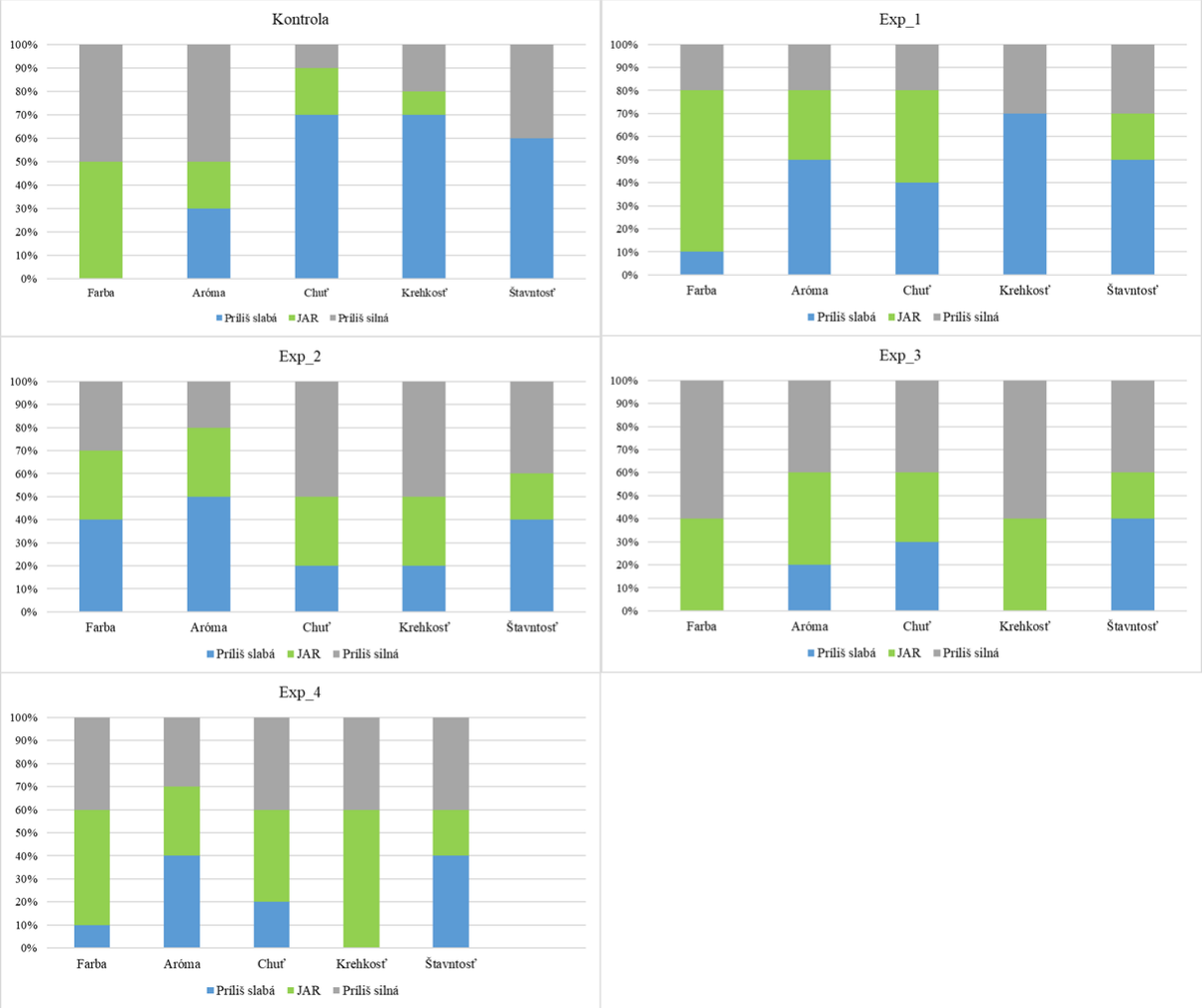
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na vyhodnotenie senzorickej analýzy bola 9-bodová JAR škála rozdelená na tri úrovne: „príliš slabá“ (1 až 4 body), „JAR“ (5 bodov) a „príliš silná“ (6 až 9 bodov). Následne bol vypočítaný percentuálny podiel týchto troch kategórií pre každú vzorku mäsového výrobku - sekanej. Grafické znázornenie jednotlivých vzoriek je uvedené na Obrázku č. 1. Najvyššie percento hodnotenia „just about right“ (JAR) v parametri chuti bolo zaznamenané vo vzorkách sekanej s najnižším (Exp_1) a najvyšším (Exp_4) podielom jazvečieho mäsa (obidve 40%). Vzorky Exp_1 zároveň dosiahli najlepšie hodnotenie „JAR“ v parametri farby (70%).

V čase prípravy tohto článku sme nenašli žiadne štúdie, ktoré by sa zaoberali senzorickou kvalitou mäsa jazveca európskeho alebo výrobkov z neho. Táto skutočnosť obmedzila našu schopnosť porovnať naše výsledky s poznatkami iných autorov. Avšak viacero autorov sa venovalo použitím iným minoritných druhov mäsa vo výrobe mäsových výrobkov. Żochowska-Kujawska et al. (2016) použili mäso bobra vodného (*Castor fiber*) pri výrobe párkov. Senzorická analýza ukázala, že tieto výrobky sa stali jemnejšími, mastnejšími a menej šťavnatými ako sa zvýšoval prídavok bobrieho mäsa. Vyšší podiel bobrieho mäsa vo výrobku spôsobil zníženie skóre v parametri chuti, a to v dôsledku objavenia sa nežiaducej chuti. Takého

negatívny vplyv nebol pozorovaný v našej štúdii, nakoľko prídavok mäsa jazveca európskeho zlepšil hodnotenie v parametroch šťavnatosť ako aj chuť. Slováček et al. (2024) použili mäso bobra vodného (*Castor fiber*) ako aj nutrie riečnej (*Myocastor coypus*) na výrobu klobás, ktoré boli porovnané s kontrolou - bravčovou klobásou. Počas senzorickej analýzy týchto autorov nebol pozorovaný signifikantný rozdiel medzi kontrolou a experimentálnymi výrobkami v chuti, dochuti, textúre alebo celkovej prijateľnosti. Jediný rozdiel bol pozorovaný vo farbe, kde nižšie skóre dosiahol výrobok z mäsa bobra vodného. Tieto výrobky boli výrazne tmavšie oproti ostatným dvom výrobkom, čo bolo spôsobené prirodzene tmavou farbou bobrieho mäsa **(Florek et al., 2016)**.

Obrázok č. 4 Grafické zobrazenie výsledkov senzorickej analýzy



Mnohé netradičné živočíšne druhy zvierat ako žaby (De Oliveira Sancio et al., 2022), kone (Stanisławczyk et al., 2021) alebo jaštery (Mazaratti et al., 2024) dosiahli pozitívne senzorické hodnotenie v jednotlivých štúdiách. Na základe výsledkov našej štúdie ako aj

poznatkov vyššie uvedených autorov môžeme tvrdiť, že mäso jazveca európskeho má potenciál byť minoritnou súčasťou ľudského jedálnička.

Okrem senzorickej prijateľnosti, bezpečnosť je rovnako dôležitým kritériom pri zaradení takéhoto mäsa do jedálnička, najmä z pohľadu výskytu parazitov rodu *Trichinella*. Autori uvádzajú prevalenciu *T. britovi* od 14 % v Poľsku (Moskwa et al., 2012) až po 100 % v Lotyšsku a Bulharsku (Deksne et al., 2016) a *T. nativa* od 5 % vo Fínsku (Oksanen et al., 2018) až po 50 % v Estónsku (Järvis et al., 2001). Potenciálnym riešením tohto problému by mohol byť v budúcnosti farmový, resp. polo-farmový chov jazvecov určených na ľudskú spotrebu. Rovnako je potrebné podotknúť, že v súčasnosti neexistuje žiadna legislatíva, ktorá by upravovala kontrolu jazvečieho mäsa a jeho uvedenie na trh. Z tohto dôvodu by proces jeho zavedenia na trh bol zdĺhavý a náročný.

ZÁVER

Experiment ukázal, že mäso z jazveca európskeho je možné technologicky spracovať do tepelne opracovaných mäsových výrobkov, ako je sekaná. Jeho použitie však významne ovplyvňuje senzorické vlastnosti výsledného produktu. S narastajúcim podielom mäsa z jazveca v receptúre došlo k výrazným zmenám najmä v aróme a chuti výrobku, ktoré boli hodnotené buď ako príliš intenzívne, alebo naopak nedostatočné. Tieto zmeny sa najvýraznejšie prejavili pri náhrade 300 g hovädzieho mäsa, čo viedlo k najnižšiemu percentuálnemu senzorickému skóre zo všetkých vzoriek. Vzorka s úplnou náhradou hovädziny (400 g) síce vykazovala mierne zlepšenie, no stále nebola porovnateľná s kontrolnou vzorkou.

Z pohľadu spotrebiteľskej prijateľnosti sa ukazuje, že mäso z jazveca môže byť do určitej miery použité ako súčasť mäsových výrobkov, avšak len v obmedzenom množstve. Optimálna miera náhrady by mala byť starostlivo zvažovaná, aby nedošlo k narušeniu senzorickej kvality produktov. Ďalší výskum by mohol byť zameraný na technologické úpravy alebo kombináciu s koreninami a prídavnými látkami, ktoré by napomohli zmierniť špecifické senzorické prejavy jazvečieho mäsa a zvýšiť jeho akceptáciu u spotrebiteľa.

POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla s podporou grantovej agentúry MŠVVaŠ SR v rámci projektov KEGA 001SPU-4/2023 a KEGA 042SPU-4/2025.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. DE OLIVEIRA SANCIO, Ana Paula et al. Frog meat products: Acceptance or aversion sensory?. *Future Foods* [on-line]. February 2022, Vol. 5, p. 100118. DOI 10.1016/j.fufo.2022.100118.
2. DEKSNE, Gunita et al. High prevalence of Trichinella spp. in sylvatic carnivore mammals of Latvia. *Veterinary Parasitology* [on-line]. April 2016, Vol. 231, p. 118–123. DOI 10.1016/j.vetpar.2016.04.012.
3. FLOREK, Mariusz et al. Proximate composition and physicochemical properties of European beaver (Castor fiber L.) meat. *Meat Science* [on-line]. August 2016, Vol. 123, p. 8–12. DOI 10.1016/j.meatsci.2016.08.008.
4. HAŠČÍK, Peter et al. European badger (Meles meles) – potential novelty enhancement for meat products. *Future Foods* [on-line]. February 2025, p. 100573. DOI 10.1016/j.fufo.2025.100573.
5. HAŠČÍK, Peter et al. THE AMINO ACID AND FATTY ACID PROFILE OF EUROPEAN BADGER (MELES MELES) MEAT. *Journal of Microbiology Biotechnology and Food Sciences* [on-line]. April 2024, p. e11000. DOI 10.55251/jmbfs.11000.
6. HOFFMAN, L.C. and CAWTHORN, D.-m. What is the role and contribution of meat from wildlife in providing high quality protein for consumption?. *Animal Frontiers* [on-line]. October 2012, Vol. 2, nr. 4, p. 40–53. DOI 10.2527/af.2012-0061.
7. HOFFMAN, Louwrens C. and CAWTHORN, Donna. Exotic protein sources to meet all needs. *Meat Science* [on-line]. April 2013, Vol. 95, nr. 4, p. 764–771. DOI 10.1016/j.meatsci.2013.04.027.
8. JÄRVIS, T., MILLER, I. and POZIO, E. Epidemiological studies on animal and human trichinellosis in Estonia. *Parasite* [on-line]. June 2001, Vol. 8, p. S86–S87. DOI 10.1051/parasite/200108s2086.
9. KRANZ, Andreas and HERRERO, Juan. IUCN Red List of Threatened Species: Meles meles. În: *IUCN Red List of Threatened Species* [on-line]. March 3, 2015. Disponibil la: http://www.iucnredlist.org/details/29673/0.
10. MAZARATTI, Micaela R. et al. Physicochemical and sensory characterisation of Salvator merianae meat as a sustainable alternative. *International Journal of Food Science & Technology* [on-line]. May 2024, Vol. 59, nr. 7, p. 4500–4509. DOI 10.1111/ijfs.17167.

11. MOSKWA, Bożena et al. Molecular identification of Trichinella britovi in martens (Martes martes) and badgers (Meles meles); new host records in Poland. *Acta Parasitologica* [on-line]. January 2012, Vol. 57, nr. 4. DOI 10.2478/s11686-012-0054-1.
12. OKSANEN, Antti et al. Trichinella spiralis prevalence among wildlife of a boreal region rapidly reduced in the absence of spillover from the domestic cycle. *Veterinary Parasitology* [on-line]. September 2018, Vol. 262, p. 1–5. DOI 10.1016/j.vetpar.2018.09.002.
13. ROBERTSON, Andrew et al. Individual foraging specialisation in a social mammal: the European badger (Meles meles). *Oecologia* [on-line]. July 2014, Vol. 176, nr. 2, p. 409–421. DOI 10.1007/s00442-014-3019-2.
14. SLOVÁČEK, Jan et al. Comparative study on quality parameters of dry-cured beaver (Castor fiber) and nutria (Myocastor coypus) sausages. *Czech Journal of Food Sciences* [on-line]. October 2024, Vol. 42, nr. 5, p. 382–389. DOI 10.17221/112/2024-cjfs.
15. STANISŁAWCZYK, Renata et al. Influence of horse age, marinating substances, and frozen storage on horse meat quality. *Animals* [on-line]. September 2021, Vol. 11, nr. 9, p. 2666. DOI 10.3390/ani11092666.
16. STRAZDIŅA, Vita, JEMEĻJANOVS, Aleksandrs and ŠTERNA, Vita. Nutrition value of wild animal meat. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences Section B Natural Exact and Applied Sciences* [on-line]. November 2013, Vol. 67, nr. 4–5, p. 373–377. DOI 10.2478/prolas-2013-0074.
17. ŻOCHOWSKA-KUJAWSKA, Joanna et al. Compositional characteristics and nutritional quality of European beaver (Castor fiber L.) meat and its utility for sausage production. *Czech Journal of Food Sciences* [on-line]. February 2016, Vol. 34, nr. 1, p. 87–92. DOI 10.17221/350/2015-cjfs.

Kontaktná adresa: Mesárošová Andrea, Institute of Food sciences, Slovak university of agriculture in Nitre, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic; E-mail: xmesarosova@uniag.sk

VADY A ODCHÝLKY KVALITY JATOČNÝCH TIEL HYDINY NA POĽSKÝCH BITÙNKOCH

DEFECTS AND QUALITY DEVIATIONS OF POULTRY CARCASSES IN POLISH SLAUGHTERHOUSES

Migdał Władysław[1], Oleszczuk Lidia[1], Kubat Joanna[1], Migdał Łukasz[2]

[1]Department of Animal Product Technology, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow, Balicka 122 St., 31-149 Kraków, Poland, e-mail: wladyslaw.migdal@urk.edu.pl

[2]Department of Animal Genetics, Breeding and Ethology, Faculty of Animal Science, University of Agriculture in Kraków, Mickiewicza 24/28 St., 30-059 Kraków, Poland

ABSTRACT

As a result of intensive selection, broiler chickens have become the most efficient meat-producing animals, achieving extremely fast growth rates. In recent years, there has been an increase in the incidence of disorders of the pectoral muscles, such as myopathy of the pectoral muscles of the smaller (deep) pectoral muscles and meat with a PSE defect (pale, soft, watery), and more recently, so-called white stripping, hardening of the pectoral muscle (wooden breast) and intramuscular connective tissue defects (spaghetti meat). These disorders increase the incidence of reduced quality of fresh meat for the retail market and reduce the nutritional, sensory and technological properties of the raw meat used for further processing.

Key words: broiler, carcasses, defects, quality deviations

The value of Poland's agri-food exports in 2024 reached EUR 53.5 billion (a 2.7% increase compared to 2023). (Wyniki polskiego handlu towarami rolno-spożywczymi w 2024 r. Biuro Analiz i Strategii Krajowego Ośrodka Wsparcia Rolnictwa). The share of agri-food exports in the value of all Polish exports increased from 12.5% (EUR 17.9 billion) in 2012 to 14.7% (EUR 51.8 billion) in 2023 (Biuro Analiz i Strategii, Krajowy Ośrodek Wsparcia Rolnictwa, Wyniki eksportu produktów rolno-spożywczych z Polski w 2023 r.).

The commodity structure of Polish exports of agri-food products was dominated by meat, meat preparations and livestock (EUR 10.8 billion i.e. 20% share in value. 20% share in value), cereal grains and preparations (EUR 6.5 billion, 12%), tobacco and tobacco products (EUR 5.6 billion, 10%), sugar and confectionery (EUR 4.5 billion, 8%), dairy products (EUR 3.5 billion, 7%), fish and preparations (EUR 3.1 billion, 6%) and vegetables and preparations (EUR 2.7 billion, 5%). The main exports to EU countries in 2024 were: tobacco and tobacco

products, poultry meat, fish and processed foods, dairy products, while the main exports to non-EU countries were: meat and processed foods, dairy products, chocolate and chocolate products. The largest recipients of Polish agri-food products in the European Union were Germany, France, the Netherlands, Italy and the Czech Republic, and outside the European Union: Great Britain, Ukraine, the United States, Turkey, Switzerland, Israel and Norway (Biuro Analiz i Strategii, Krajowy Ośrodek Wsparcia Rolnictwa, Wyniki polskiego handlu towarami rolno-spożywczymi w 2024 r., https://www.gov.pl/web/kowr/handel-zagraniczny-produktami-rolno-spozywczymi). Poultry meat accounts for a significant share of Polish exports. The global poultry meat market is dominated by the United States, Brazil and European Union countries, with Poland being the most important producer. As of 2014. Poland is the largest producer of poultry meat in the EU with strong production growth dynamics. In the production structure, chicken meat accounted for 81.6%, turkey meat for 15.3%, and aquatic poultry, i.e. ducks and geese, for 3.2%. The global poultry market is experiencing an excess of supply over demand, leading to the globalization of the market, forcing aggressive promotion of exports while protecting our own market (Krajowa Rada Drobiarstwa – Izba Gospodarcza. Globalizacja rynku. https://krd-ig.com.pl/globalizacja-rynku/#).

Global poultry consumption in 2022 was just over 15 kg per capita, with the largest consumers in Israel (about 64 kg per person), Peru (52 kg) and the US (51 kg). On average, EU countries consume about 24 kg of poultry meat, in Poland about 27 kg. The popularity of poultry is due to its low price and ease of processing, as well as its high nutritional value - a rich source of protein, low fat content. Therefore, poultry meat is one of the main elements of the daily diet and a valuable product in gastronomy.

Polish farms keep 380.4 million poultry, 92.7% of which are chickens. The number of turkeys (16.9 million head), ducks (5.9 million head) and geese (4.8 million head) is considerably less. According to data from the Agency for Restructuring and Modernization of Agriculture as of July 1, 2024, there were 9779 poultry farms in the country. The absolute leader was Mazovia (1995 farms - 105.4 million heads) and Greater Poland (1667 farms - 96.7 million heads). In 2024, chicken broiler breeders as many as three times beat the highest monthly production value of all time - about 150 million chickens per month. However, the Polish poultry industry is not immune to market turbulence. The biggest threats are the occurrence of diseases (Newcastle disease, bird flu), further increases in energy prices, inflation combined with falling purchase prices, as well as a competitive influx of products from across the eastern border Feed costs are a key cost element for meat producers (50-60%), and feed prices in Poland are increasingly linked to price changes on world markets. Modern hybrid lines of poultry for

meat show high growth rates and very good feed utilization. Producing a kg of livestock now consumes an average of 1.5-1.6 kg of feed.

Companies accounting for about 70% of Polish poultry production (Cedrob, KPS Partners, ResDrob and Wipasz) oppose, among other things, halting exports of halal and kosher meat, limiting the use of imported soy in feed, ineffective promotion of Polish poultry and misrepresentations about Polish food production. The introduction of regulations restricting religious slaughter will entail thousands of layoffs and further losses for the poultry industry. Poultry production also faces other threats. One of them is the risk of contamination of poultry products with Salmonella bacteria. Cases of contamination of Polish poultry meat with Salmonella bacteria are ruthlessly exploited by potential competitors of Polish poultry meat exports in foreign markets. Due to the real threat to the consumer, procedures have been put in place to combat salmonellosis in poultry. The first link to be monitored are poultry farms. In accordance with Council Directive 92/117/EEC, testing for Salmonella is carried out on day-old chicks, four-week-old chicks and hens, two weeks before the start of laying. Only flocks in which *Salmonella Enteritidis* and *Salmonella Typhimurium* have not been detected may be delivered to slaughterhouses.

The above-mentioned procedure does not completely remove the problem of Salmonella, as testing on farms is carried out randomly and the bacterium can become infected during the transportation of livestock. Therefore, control for the pathogen is continued at further stages of production . According to Commission Regulation (EC) No. 2073/2005, slaughterhouses and processing plants are required to test for Salmonella once a week. The day of sampling should be changed weekly to ensure sampling on every day of the week. If Salmonella is detected in poultry carcasses, stereotypes should be determined. If *S. Enteritidis* and *S. Typhimurim* are present, the product should be withdrawn from production, while if they are not present, corrective measures should be taken in accordance with the regulation. Fresh poultry meat is handled similarly. An important move to eliminate Salmonella contamination in meat is also the introduction of the HACCP system in plants. The above measures in processing have not completely removed the Salmonella problem, but nevertheless there has been a significant decrease in infections, estimated at 38% (Hoszowski et al., 2014). Despite the general improvement of the Salmonellosis problem worldwide, including in Poland, quite worrying is the fact that the pathogen is becoming increasingly resistant to antibiotics and chemotherapeutics. For this reason, monitoring all stages of production as well as raising standards in processing hygiene is necessary for consumer safety (Radkowski and Zdrodowska, 2016). Multi-resistant microorganisms (MDR - Multiple Drug Resistance), including *Escherichia coli*, *Shigella spp.* or *Salmonella spp.* pose a particular threat. These zoonotic

bacteria can be quite common on poultry farms, and diseases caused by MDR strains tend to be more difficult to treat than those caused by bacteria resistant to only one antibiotic. There is a relatively small range of antibiotics on the market for use in livestock and poultry and human medicine that are currently approved by the Food and Drug Administration (FDA). In Poland, the content of antimicrobial substances in raw materials and products of animal origin is tested by the Veterinary Inspection, among others, on the basis of the Regulation of the Minister of Agriculture and Rural Development of June 21, 2017 on the monitoring of unauthorized substances, chemical residues, biological residues, medicinal products and radioactive contamination in animals and products of animal origin (Dz. U. 2017 item 1246) based on the National program of control tests for the presence of unauthorized substances and chemical, biological and medicinal product residues in animals and in food of animal origin. Since 2006, the ban on adding antibiotics prophylactically, i.e. putting them in feed to accelerate growth, has been in effect throughout the EU, so the scale of noncompliance is completely marginal. In 2014, according to the General Veterinary Inspectorate, non-compliance was detected in only 0.31 percent of samples tested, meaning 93 samples out of more than 30,000 had exceeded standards. Monitoring studies in 2023 showed a definite improvement. In 2023, as part of the National Plan for the Control of Residues of Prohibited or Unauthorized Pharmacologically Active Substances and Veterinary Medicinal Products in Animals and Food of Animal Origin - based on a risk analysis for national production, 1169 tests were performed on samples taken at chicken farms and 9945 samples taken at chicken broiler slaughterhouses - only 5 samples taken at slaughterhouses had non-compliant results (all in the Antibiotics and Chemotherapeutics group. For turkeys, 187 samples were taken at farms and 854 samples at slaughterhouses and only 1 noncompliant result was found for Nitroimidazoles and their metabolites. The most common residues detected were doxycycline and amoxicillin, and Tulatromycin (turkeys). In 2023, 603 poultry samples were tested under the National Plan for the Control of Chemical Contaminants in Food of Animal Origin, including 591 for toxic elements (Pb, Cd, Hg, As) and 12 for mycotoxins (ochratoxin A). Only 2 samples showed discordant results (lead in chicken livers). Systematic control studies of radioactive contamination of food of animal origin allow reliable assessment of the radiological situation in the country. A commonly used indicator of the status of these contaminations is the determination of cesium radioisotopes (137Cs, 134Cs). As in previous years, the 2023 tests were conducted on the basis of the Ordinance of the Minister of Agriculture and Rural Development of June 21, 2017 on the monitoring of unauthorized substances, chemical and biological residues, medicinal products and radioactive contamination (Journal of Laws of 2017, item 1246). A total of 1,344 samples from 16 provinces were tested: including 196

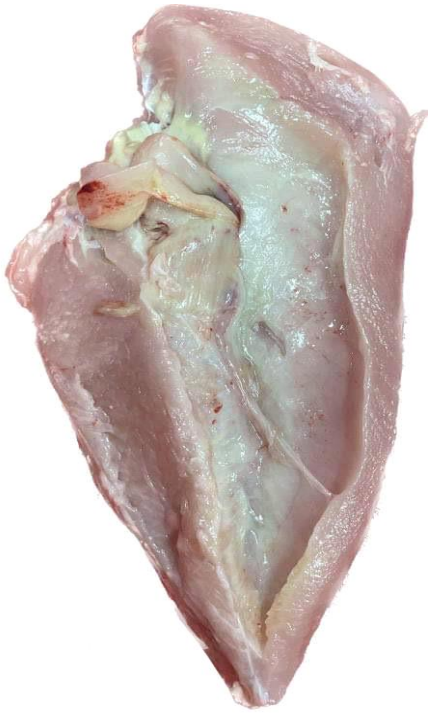
poultry muscle samples, and 196 chicken egg samples. The results indicate that the radioisotope concentrations of cesium radioisotopes are low, well below the permissible limits established by EU and national regulations (Commission Implementing Regulation (EU) 2020/1158). The results are at levels similar to those observed in previous years - from 0.40 to 3.43 Bq/kg in poultry muscles and from 0.40 to 3.05 Bq/kg in hen eggs. Należy podkreślić, że w większości przypadków notowano wyniki poniżej wartości MDA. Only 1 poultry meat sample had radioactive concentrations of 137Cs above the MDA value. The national control testing program for dioxins and PCBs has been implemented in Poland since 2006. The tests are carried out at the Department of Radiobiology of the State Veterinary Institute - National Research Institute in Puławy. Monitoring studies of dioxins and furans (PCDDs, PCDFs) and PCBs (dl-PCBs and ndl-PCBs) in food of animal origin is an obligatory task of each EU member state, and results from the need to comply with the principles and requirements of food law (Regulation (EC) No 178/2002). Concentrations of dioxins and PCBs determined in chicken and turkey muscles in 2023, as in previous years, were at low levels and accounted for about 21% and 25% of the permissible content of ∑PCDD/PCDF/dl-PCB, respectively. In contrast, ndl-PCBs accounted for about 4% and 6% of the limit, respectively. Goose and duck muscles analyzed also had low levels of dioxins and PCBs, about 14% and 21% of the limit for ∑PCDD/PCDF/dl-PCBs, and about 1% and 4% of the limit for ∑ndl-PCBs, for geese and ducks, respectively. None of the tested compounds were detected in 96% of the poultry meat samples (chickens, ducks, geese, turkeys). The highest detected concentration (∑ PFAS) was only 1% of the permissible level. In 2023, perfluorinated substances in food were tested for the first time. In general, the levels were low, and in most samples none of the determined compounds were detected. Polish consumers, who are eating more broiler meat every year (30.5 kg/person), are beginning to pay increasingly close attention to the new defects appearing in it, finding their causes, too, in the large-scale, intensive rearing of chickens. Since the appearance of an article (Gilewski and Wężyk, 2015) on a similar topic, 10 years have passed, and since then the number of buyers who prefer carcasses without defects - often regardless of price - has increased significantly. As a result of intensive selection, broiler chickens have become the most efficient meat-producing animals, achieving extremely fast growth rates. However, some studies indicate that fast-growing varieties of birds exhibit a variety of muscle tissue defects, or myopathies, that adversely affect the poultry industry. In particular, the incidence of disorders of the pectoral muscles, such as myopathy of the pectoral muscles of the smaller (deep) pectoral muscles and meat with a PSE defect (pale, soft, watery), and more recently, so-called white stripping, sclerosis of the pectoral muscle (wooden breast) and intramuscular connective tissue defects (so-called spaghetti meat), has been increasing in recent decades. These disorders

increase the incidence of reduced quality of fresh meat for the retail market and reduce the nutritional, sensory and technological properties of the raw meat used for further processing.

This publication presents a description and photographic documentation of the most important defects and quality deviations of poultry carcasses occurring in Polish slaughterhouses (Oleszczuk, 2020; Kubat, 2023).

In recent decades, there has been an increase in the incidence of defects such as DPM deep pectoralis minor muscle myopathy (DPM deep muscle disease) known as green muscle disease and meat with PSE defects. Green muscle disease (GMD) was first observed more than 40 years ago (Siller, 1985) in fast-growing chickens. The incidence of meat defects associated with GMD varies between 0.02% and 1.9% especially in fast-growing broiler chickens, and is more common in roosters than in hens. In the initial stage, GMD causes hemorrhagic petechiae with a reddish-brown swelling that turns green over time. When carcasses are sold in the elements, the disease can cause considerable commercial trouble and expose poultry processors to economic losses. It is a disease that first occupies the pectoralis minor muscle (tenderloin). Subsequently, the disease can also affect the greater pectoral muscle (fillet) (Nowak and Poltowicz, 2014). The symptoms of the disease are very easy to spot. The meat takes on an unusual green, pink and/or gray color - Photo 1. The color depends on the stage of the disease (Kijowski and Kupinska, 2013). The likely cause of the formation of green muscle color is muscle ischemia. In this process, green derivatives of myoglobin - choleoglobin and sulfomyoglobin - are formed (Kijowski and Kupinska, 2013). These changes significantly affect the attractiveness of meat, and they are unacceptable to the consumer. This defect is unnoticeable throughout the carcass (Nowak and Poltowicz, 2014). To diagnose it, the carcass must be dissected, as the disease develops at the ribs, on the inside of the fillet, connected to the tenderloin. This defect can cause whole batches of carcasses to be returned (Nowak and Poltowicz, 2014). The incidence of this defect depends on the farm, poultry house and breed (Kijowski et al., 2009).

Photo 1. DPM (green muscle disease) defect (photo by J. Kubat).



The scale of the problem at the plants where observations were made was small. The defect did not disrupt production or generate significant financial losses. However, if it occurred in significant quantities it would be a major problem for the plant, as meat affected by this myopathy is only suitable for rendering (Kijowski and Kupinska, 2013). If the disease occupies the entire pectoralis major muscle then the most valuable part of the carcass must be disposed of. However, the regulations do not specify exactly what to do with green muscle meat. It is clear that it is not acceptable and cannot go to consumers. The disease occurs in various stages - Photo 2. It can be found only and including after the slaughter of the broiler in question and the cutting of the carcass (Kijowski and Kupinska, 2013). It is not possible to study the stages of the exact course of the disease and the occupation of different parts of the muscles during the growth of the broiler. DPM is estimated to occur only in birds that have been selected for high pectoral muscle performance and its incidence is higher in modern intensive housing systems.

Photo 2. Fillets burdened with green muscle defect at different stages of disease development (photo by J. Kubat).



White stripping (WS) defect is the appearance of white stripes on the fillet, along the muscle fibers. This defect can vary in severity. Photo 3 shows white stripes appearing throughout the fillet. This defect reduces the attractiveness of the meat. It can also deter consumers because a fillet with this defect has the appearance of fatty meat (Maiorano, 2017). Poultry meat, in general, is considered lean, dietary meat, so such associations can reflect negatively on sales results and increase the number of complaints reaching the plant. There are several factors that affect the formation of white stripes. These include genetic predisposition, nutrition, body weight, and growth rate (Petracci et al., 2015). The exact cause of formation is not known (Maiorano, 2017). The overall incidence of WS defect in broiler breast meat is about 12%, of which 3.1% have severe white striations (Kuttappan et al., 2012).

Photo 3. WS white stripping defect seen throughout the pectoralis major muscle (photo by J. Kubat).



The defect that most interferes with the production process is the wooden breast defect, i.e. hardening of the pectoral muscle (woody fillet) (Santos et al., 2021) This defect can vary in severity. It can occupy the entire fillet, as well as its lower or upper part - photo 4. It is examined by touch. The meat when this abnormality is present is stiff, tough.

Photo 4. Filet with wooden breast WB defect (photo by J. Kubat).



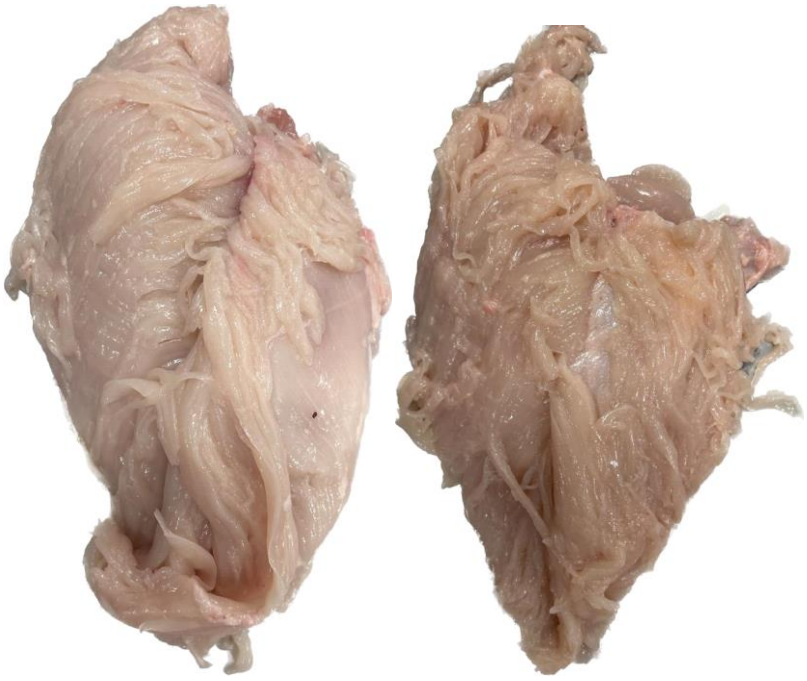
Occasionally, fillets affected by this condition have viscous, colorless fluid and red petechiae on the surface (Maiorano, 2017). Local lower oxygen concentration, oxidative stress, increased calcium concentration, and lower glycogen content are cited among the determinants of this defect (Maiorano, 2017). The WB defect negatively affects the poultry industry, which generates financial losses due to consumer complaints. Both defects also have a negative impact on protein functionality, reducing water binding in poultry products, for example.

Another defect associated with low meat cohesiveness, resulting from immaturity of the intramuscular connective tissue, is the "spaghetti meat" defect (Photo 5). Meat affected by this defect is so loose that it is possible to pull out bundles of muscle fibers with the fingers. The intramuscular and omuscular thickness of pectoral muscles with the "spaghetti meat" type defect was lower in fast-growing broilers, compared to slow-growing ones, resulting in poor thermal stability. The "spaghetti meat" connective tissue defect interferes with the processing to the greatest extent. This is due to the immaturity of the intramuscular connective tissue (Maiorano, 2017). A filet with a connective tissue defect is characterized by:

- lack of cohesiveness of the structure, the meat is loose, falling apart
- distorted shape
- visible "strands", muscle fibers that can be easily separated from each other

All these characteristics characterize a fillet that does not meet the requirements of Class A.

Photo 5. Single fillet in connective tissue defect (photos by J. Kubat)



Another defect, very negatively perceived by consumers, the so-called “worm” in chicken meat, was recently detected in poultry meat. Spanish customers increasingly began to report the presence of a feature in poultry meat that was repulsive to them. They described it as the presence of a tubular structure on the surface of the chicken breast, resembling a long and thin “worm.” The visibility of this structure in packaged meat sold in stores often caused people to refrain from buying it. The new structure is a large blood vessel, penetrating the pectoral muscle (musculus pectoralis major) and covered by a layer of fatty tissue. It is not a typical anatomical feature of broilers and has never before been observed in birds. All muscle samples in which the atypical venous vessel was found also had some degree of degradation (breakdown) of muscle tissue.

The PSE defect relates to meat color (paler than normal), texture (softer than normal) and water holding capacity (less than normal) - Photo 6. Reasons for this condition in chickens may be related to pre-mortem stress, environmental factors (i.e., heat stress) and genetic selection (Maiorano, 2017). This is usually attributed to a sharp drop in pH during the post-mortem period while meat temperatures remain high (Petracci et al., 2015). Hybrid chickens are more susceptible to heat stress and stress-induced myopathy, which can have a major impact on meat quality. It is estimated that the PSE defect affects between 5 and 40% of meat in the poultry industry, leading to significant financial losses (Owens et al., 2009).

Photo 6. Filet burdened with a PSE defect (photo by J. Kubat).



Defect DFD - (dark - dark, firm - firm, dry - dry). Meat with a DFD defect is characterized by less thermal leakage and free water, a dark color and a pH above 6.4, measured 15 minutes after slaughter. The defect is the result of prolonged stress, which contributes to depletion of glycogen stores in birds, resulting in glycolysis occurring at a slower rate, causing a relatively high pH. Stress factors can include transportation, improper behavior during bird capture, removal from cages and hanging, as well as failure to observe pre-slaughter rest (Doktor, 2007).

In Poland, two defects causing the greatest production and commercial problems have been singled out. These are a connective tissue defect, known as delamination, also known as "spaghetti" meat, and a wooden breast defect, or hard fillet defect. According to the quality standard (Journal of Laws 2003.177.1734), commercial quality class "A" poultry carcasses include carcasses and poultry carcass parts that:

- have full musculature
- have a breast that is well developed, wide, long and muscular
- are characterized by the absence of damage, bruises, discoloration
- slight discoloration is acceptable if it is not on the breast or legs

Class "B" meat is any meat that does not meet the above-mentioned requirements (Journal of Laws 2003.177.1734). Class B includes fillets that are not characterized by a muscular, firm texture, are overdeveloped, tough and overcooked (Maiorano, 2017). The occurrence of Class B fillets translates into a lower yield per carcass fillet. Class B fillet will not be sold as a finished, separate product. It is mainly targeted for processing. All of this, is reflected in the overall slaughter result and profit of the company as well as the relationship with the farmers from whom the poultry is purchased.

Other defects in poultry carcasses

Black bone syndrome - (BBS - Black bone syndrome). This defect is characterized by the dark color of the muscle in direct contact with the bone, manifested after heat treatment of the poultry element. The degree of coloring can go from reddish-brown through gray to black (Baldo et al., 2013). This phenomenon is caused by the leakage of blood from the bone marrow into the meat, resulting in discoloration. The cause of the defect is the immature skeleton of fast-growing birds and the porosity of the bone (Gilewski and Wężyk, 2015). This defect is most common in frozen elements. According to Baldo et al. (2013), crystals of frozen water damage the structure of muscle fibers, which greatly facilitates the penetration of blood dye into tissues during thawing, while the degree of the defect depends on the size of the water crystals. The BBS defect does not affect the taste of the product, although it is unacceptable to the consumer

for visual reasons. It has been shown that by supplementation with 25-hydroxyvitamin D, the incidence of BBS can be significantly reduced.

Skeletal defects

A quality problem in broilers is skeletal defects. In addition to the aforementioned black bone syndrome, weakness, bruises, fractures, infections, deformities and osteoporosis can also be encountered. The problem mainly concerns high-yielding, fast-growing birds, and the stimulus for causing such diseases is, among others, poor feed selection. Incorrectly balanced food can cause damage to internal organs such as the liver and kidneys, thus leading to a disruption of vitamin D synthesis in the body.

Defects occurring before and during slaughter.

Individual pre- and post-slaughter activities are of great importance for the quality of poultry meat. The first is fasting, understood as depriving birds of water and feed for a specified period of time. Too short a fasting period results in the lack of removal of food residues from the poultry's digestive system, thus contributing to contamination of the raw material, cross-infection and contamination of the technological lines during slaughter. On the other hand, too long a fast leads to weight loss of the poultry and rupture of the birds' gallbladder, leading to contamination of the carcasses with its contents. During the next stages, i.e. during the catching of birds, loading and transport, injuries to birds occur. During the catching of poultry, one of the quite common injuries is a dislocation or tearing of the hip joint, caused by catching birds by one of the limbs. It is estimated that this problem may affect up to 25% of transported poultry. Muscle and skin contusions also occur, and even dislocations and fractures of various parts of the body. On poultry carcasses, hyperemia and petechial hemorrhages may also be observed located in the area of muscle damage. In connection with the above, in order to reduce the number of bird injuries, attempts are being made to mechanize the process of catching poultry. However, during loading and transport, it is important to provide the birds with adequate space depending on the weight of the poultry, as described in Council Regulation (EC) No. 1/2005. Subsequent defects in poultry carcasses that occur after slaughter are directly related to the individual cooling methods. In the case of air cooling carried out at a lower temperature in order to cool the raw material faster, the poultry carcasses are burned. This results in skin discoloration. On the other hand, when using the immersion or air-spray method, the meat is exposed to cross-contamination, which may cause not only a shortening of the meat's shelf life but also the transfer of pathogenic bacteria to the consumer [Bełkot and Chudzik, 2010].

In order to reduce the occurrence of individual defects in poultry carcasses and meat and to limit financial losses caused by the disposal of raw material excluded from sale, it is necessary to:

- abandon fast breeding and high-yielding chicken strains that tend to have carcass and meat defects,
- select an appropriately balanced feed,
- use probiotics during antibiotic therapy,
- introduce 25-hydroxyvitamin D supplementation during breeding to reduce the occurrence of black bone syndrome,
- select chickens reared as breeding material,
- maintain poultry at an optimal temperature both during breeding and transport,
- limit stress factors at the stage of breeding, transport and slaughter of live broilers,
- ensure appropriate conditions during bird transport to reduce the occurrence of bruises and fractures,
- observe the appropriate fasting time and pre-slaughter rest,
- purchase livestock from breeders subject to the control of the Veterinary Inspection,
- slaughterhouses should conduct external audits of poultry breeders, conducted by qualified personnel,
- introduce stunning using a controlled atmosphere using CAS gas,
- maintain a high hygienic standard of machines, devices and production rooms,
- train staff in the scope of hygiene principles and issues of the HACCP, GMP and GHP systems,
- monitor temperature at all stages of production, both in meat and in the environment,
- conduct tests of meat tissue and swabs of the surface of devices in accordance with applicable standards,
- take remedial action without fail in the event of unsatisfactory results,
- conduct quality control at every stage of production.

The future of the poultry industry may be influenced by the establishment of the European Chicken Commitment (ECC) in 2017. After many years of stagnation in improving the living conditions of chickens raised for meat, more than 40 non-governmental organisations from across Europe joined forces to define minimum requirements for broiler farming, taking into account the general economic conditions. The result is the development of a series of requirements that are intended to address the most serious problems related to the living conditions of these animals. The European Chicken Commitment (ECC) brings together

breeders, slaughterhouses, poultry traders, institutions for which the welfare of the birds is a priority. By 2026, members have guaranteed a reduction in the stocking density of animals, an end to the breeding of fast-growing breeds, an improvement of environmental conditions through the preparation of a suitable pecking surface and the installation of perches to increase the birds' mobility and their welfare. Table 1 presents the standards for broilers developed by the European Chicken Initiative.

Table 1. Standards for broilers developed by the European Chicken Initiative (https://www.inicjatywa-dla-kurczakow.pl)

	Standards in force in Poland	Standards proposed by the European Chicken Initiative
Animal population per 1 m²	for up to 21 animals per m² (33-42 kg/m²)	up to 15 animals per m² (30 kg/m²)
Weight gain	strong weight gain	limited growth
Daylight	partly	yes
Perches	None	2 m per 1000 animals
Stones for the peck at	None	2 pieces per 1000 animals

The initiative recommends abandoning fast-growing breeds, as chickens' organisms seem to be at the end of their tether. Therefore, improving living conditions will not eliminate problems with the quality of meat obtained from fast-growing broilers. The Polish poultry market is becoming increasingly saturated, and competition on the EU market is also increasing, which means that alternative sources of competitive advantage must be sought. One of them is organic poultry farming. Some producers and distributors go further - they focus on organic production of slow-growing chicken. The carcasses of such chickens are smaller, the breast muscles are leaner and more elongated, and the thighs are more slender. Slow-growing chickens do not have to be recognized as organic, but they can, as long as their breeding is carried out in accordance with the law. A slow-growing chicken will be considered organic despite not having reached the minimum slaughter age for organic production (81 days) if it represents one of the specified breeds (Plymouth Rock (PR), Polbar (Pb), Rhode Island Red (K-22, K-44, K-66, R-11, R-55, V-44), Rhode Island White (A-22, A-33, A-88, M-55), White Rock (WR), Greenleg Partridge (Z-11, Zk, ZS-11), Yellowleg Partridge (Ż-33), Sussex (S-11, S-55, S-66) and their crossbreeds with Astra D, Astra N, Astra P, Messa 443, Messa 445 and Rosa 1, Rosa 2, Rosa

3, Rosa 4, Rosa 5) and its maximum daily weight gain does not exceed 45 g (Journal of Laws No. 56, item 348).

Kurczak wolnorosnący zostanie uznany za ekologiczny mimo nie osiągnięcia minimalnego wieku ubojowego produkcji ekologicznej (81 dni), jeśli reprezentuje jedną z określonych ras (Plymouth Rock (PR), Polbar (Pb), Rhode Island Red (K-22, K-44, K-66, R-11, R-55, V-44), Rhode Island White (A-22, A-33, A-88, M-55), White Rock (WR), Zielononóżka kuropatwiana (Z-11, Zk, ZS-11), Żółtonóżka kuropatwiana (Ż-33), Sussex (S-11, S-55, S-66) oraz ich krzyżówki z Astrą D, Astrą N, Astrą P, Messą 443, Messą 445 i Rosą 1, Rosą 2, Rosą 3, Rosą 4, Rosą 5,) a maksymalny dzienny przyrost jego masy nie przekracza 45 g (Dz. U. nr 56, poz. 348).

LITERATURE

1. Badania kontrolne zawartości promieniotwórczych izotopów cezu w żywności pochodzenia zwierzęcego 2023. Państwowy Instytut Weterynaryjny--Państwowy Instytut Badawczy. Zakład Radiobiologii. Puławy, marzec 2024.
2. BALDO, G.A.A., ALMEIDA PAZ, I.C.L., ALVES, M.C.F., NÄÄS, I.A., GARCIA, R.G., CALDARA, F.R., GAVILAN. Black Bone Syndrome in Chiken meat. In *Revista Brasileira de Ciência Avícola.* 2013, 15. DOI: 317-321. 10.1590/S1516-635X2013000400005.
3. BEŁKOT, Z., CHUDZIK, A. Zyski i straty ekonomiczne jako wynik chłodzenia drobiu. In *Medycyna Wet*erynaryjna, 2010, 66, 276-280.
4. Biuro Analiz i Strategii, Krajowy Ośrodek Wsparcia Rolnictwa, Wyniki eksportu produktów rolno-spożywczych z Polski w 2023 r. file:///C:/Users/wawmigal/Downloads/Wyniki_eksportu_produkt%C3%B3w_rolno-spo%C5%BCywczych_z_Polski_w_2023_r.pdf
5. Biuro Analiz i Strategii, Krajowy Ośrodek Wsparcia Rolnictwa, Wyniki polskiego handlu towarami rolno-spożywczymi w 2024 r., https://www.gov.pl/web/kowr/handel-zagraniczny-produktami-rolno-spozywczymi
6. DOKTOR, J. Wpływ postępowania przedubojowego na jakość tuszki i mięsa kurcząt rzeźnych. In *Wiadomości Zootechniczne*, 2007, R. CLV (3), 25-30..
7. Dyrektywa Rady 92/117/EWG z dnia 17 grudnia 1992 r. dotycząca środków ochrony przed określonymi chorobami odzwierzęcymi i odzwierzęcymi czynnikami chorobotwórczymi u zwierząt i w produktach pochodzenia zwierzęcego, w celu

zapobieżenia zakażeniom i zatruciom przenoszonym przez żywność. *Dz.U. L 62 z 15.3.1993, p. 38–48*

8. European Chicken Commitment: Enrcichment Guide for Broiler Chickens, Compassion in world farming, Food Business, www.compassioninfoodbusiness.com/resources/broiler-chickens/ecc-enrichment-guide-for-broiler-chickens-2022/, data dostępu: 02.09.2023
9. Europejska Inicjatywa Dla Kurczaków. Krok we właściwym kierunku - dla większej ochrony zwierząt. https://www.inicjatywa-dla-kurczakow.pl
10. HOSZOWSKI, A., SAMCIK, I., LALAK, A., SKARŻIŃSKA, M., WNUK, D., ZAJĄC, M., WASYL, D. Charakterystyka jednofazowych izolatów Salmonella enterica serowar Typhimurium (1,4,[5],12:i:-). In *Medycyna Weterynaryjna,* 2014, 70, (2).
11. GILEWSKI, R., WĘŻYK, S. Wady mięsa kurcząt bojlerów. In *Ogólnopolski Informator Drobiarski*, 2015, 4(283), 8-18.
12. KIJOWSKI, J., KUPIŃSKA, E. Dylematy ograniczania miopatii mięśni piersiowych typu DPM u kurcząt brojlerów. In *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, 6, (91), 32 – 44.
13. KIJOWSKI, J., KUPIŃSKA, E., KACZMAREK, A., STANGIERSKI, J., POPIÓŁ, A. Występowanie i charakterystyka mięśni piersiowych kurcząt z objawami DPM. In *Medycyna Weterynaryjna*, 2009, 65, 466-471.
14. KRAJOWA RADA DROBIARSTWA – Izba Gospodarcza. Globalizacja rynku. https://krd-ig.com.pl/globalizacja-rynku/#
15. KUBAT, J. Wady jakościowe tuszek brojlerów kurzych. Praca magisterska. 2023. Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie.
16. KUTTAPPAN, V.A., LEE, Y.S., ERF, G.F., MEULLENET, J.F.C., MC KEE, S.R., OWENS, C.M. Consomer acceptance of cisual apperance of broiler breast meat with varting degrees of WS. In *Poultry Science*, 2012, 91, 1240-1247.
17. MAIORANO, G. Wady mięsa i miopatie pojawiające się u kurcząt brojlerów; implikacje dla współczesnego przemysłu drobiarskiego. In *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego*, 2017, 13, 3, 43–51.
18. NOWAK, J., POŁTOWICZ, K. Miopatia mięśni piersiowych typu DPM u kurcząt brojlerów. In *Wiadomości Zootechniczne*, 2014, R. LII, 4, 168–172.
19. OLESZCZUK, L. Wady i odchylenia jakościowe tuszek drobiowych. Praca inżynierska. 2020. Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie.

20. OWENS, C. M., ALVARADO, C. Z., SAMS, A. R. Research developments in pale, soft, and exudative turkey meat in North America. In *Poultry Science*, 2009, 88, 7, 1513-1517.
21. PETRACCI, M., MUDALAL, S., BABINI, E., CAVANI, C. Effect of WS on chemical composition and nutritional value of chicken breast meat. In *Italian Journal of Animal Science*, 2014, 13, 179-183.
22. PETRACCI, M., MUDALAL, S., SOGLIA, F., CAVANI, C. Meat quality in fast-growing broiler chickens. In *World's Poultry Science Journal*. 2015, 71, 363-374.
23. RADKOWSKI, M., ZDRODOWSKA, B. Występowanie pałeczek Salmonella w mięsie kurcząt brojlerów. In *Medycyna Weterynaryjna*. 2016, 72, 516-519.
24. RAPORT z badań kontrolnych dioksyn, furanów, dioksynopodobnych polichlorowanych bifenyli (dl-PCB), niedioksynopodobnych PCB (ndl-PCB) oraz związków perfluorowanych (PFAS) u zwierząt i w produktach pochodzenia zwierzęcego przeprowadzonych w 2023 roku. Państwowy Instytut Weterynaryjny--Państwowy Instytut Badawczy. Zakład Radiobiologii. Puławy, kwiecień 2024.
25. ROZPORZĄDZENIE KOMISJI (WE) nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych. Dz.U. L 338 z 22.12.2005, p. 1–26.
26. ROZPORZĄDZENIE RADY (WE) nr 1/2005 z dnia 22 grudnia 2004 r. w sprawie ochrony zwierząt podczas transportu i związanych z tym działań oraz zmieniające dyrektywy 64/432/EWG i 93/119/WE oraz rozporządzenie (WE) nr 1255/97. Dz.U. L 3 z 5.1.2005, p. 1–44.
27. ROZPORZĄDZENIE Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 26 września 2003 r. w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej mięsa drobiowego. Dz.U.2003.177.1734
28. ROZPORZĄDZENIE Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 21 czerwca 2017 roku w sprawie monitorowania substancji niedozwolonych, pozostałości chemicznych, biologicznych, produktów leczniczych i skażeń promieniotwórczych u zwierząt i w produktach pochodzenia zwierzęcego (Dz.U. 2017 poz. 1246)
29. ROZPORZĄDZENIE WYKONAWCZE KOMISJI (UE) 2020/1158 z dnia 5 sierpnia 2020 r. w sprawie warunków regulujących przywóz żywności i pasz pochodzących z państw trzecich w następstwie wypadku w elektrowni jądrowej w Czarnobylu
30. ROZPORZĄDZENIE (WE) NR 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego,

powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności (Dz.U. L 31 z 1.2.2002).

31. SANTOS, M. F. M., LIMA, S. D. A., DA SILVA, B. A. I., MADRUGA, M. S., DA SILVA, A. P. F. Effect of wooden breast myopathy on texture and acceptability of emulsified chicken patties. In *Journal of Food Science and Technology*, 2021, 58, 4062-4067.
32. SILLER, W.G. Deep pectoral myopathy: a penalty of successful selection for muscle growth. In *Poultry Science.* 1985, 64(8), 1591−1595
33. WYNIKI BADAŃ wykonanych w Polsce w 2023 roku w ramach Krajowego Planu Kontroli Zanieczyszczeń Chemicznych w Żywności Pochodzenia Zwierzęcego. Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy. Puławy, Marzec 2024
34. WYNIKI BADAŃ WYKONANYCH W POLSCE W 2023 ROKU W RAMACH KRAJOWEGO PLANU KONTROLI POZOSTAŁOŚCI ZAKAZANYCH LUB NIEDOPUSZCZONYCH SUBSTANCJI FARMAKOLOGICZNIE CZYNNYCH ORAZ WETERYNARYJNYCH PRODUKTÓW LECZNICZYCH U ZWIERZĄT I W ŻYWNOŚCI
35. POCHODZENIA ZWIERZĘCEGO - OPARTEGO NA ANALIZIE RYZYKA. Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy. Puławy, Marzec 2024
36. WYNIKI BADAŃ WYKONANYCH W POLSCE W 2023 ROKU W RAMACH KRAJOWEGO PLANU KONTROLI POZOSTAŁOŚCI ZAKAZANYCH LUB NIEDOPUSZCZONYCH SUBSTANCJI FARMAKOLOGICZNIE CZYNNYCH ORAZ WETERYNARYJNYCH PRODUKTÓW LECZNICZYCH U ZWIERZĄT I W ŻYWNOŚCI POCHODZENIA ZWIERZĘCEGO – OPARTEGO NA RANDOMIZOWANYM NADZORZE. Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy. Puławy, Marzec 2024
37. https://www.inicjatywa-dla-kurczakow.pl

Contact address: prof. Ing. Władysław Migdał, Ph.D, DSc., Department of Animal Product Technology, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow, Balicka 122 St., 31-149 Kraków, Poland, E-mail: wladyslaw.migdal@urk.edu.pl

VPLYV PROBIOTICKÉHO KRMIVA NA PRODUKČNÉ PARAMETRE PSTRUHOV DÚHOVÝCH A KVALITU VODNÉHO PROSTREDIA V AKVAKULTÚRE

THE EFFECT OF PROBIOTIC FEED ON RAINBOW TROUT PRODUCTION PARAMETERS AND AQUATIC ENVIRONMENT QUALITY IN AQUACULTURE

Mudroňová Dagmar[1], Popelka Peter[1], Ratvaj Marek[1], Chomová Natália[1], Kollár Moskáľová Lenka[1], Žitňan Rudolf[2], Sasáková Naďa[1]

[1]*Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika*

[2]Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, *Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky , Slovenská republika*

ABSTRACT

Aquaculture plays an increasingly vital role in ensuring food security and nutrition, yet its intensification brings significant environmental challenges, including pathogen spread and the growing threat of antimicrobial resistance due to excessive antibiotic use. This study focuses on evaluating the effectiveness of a newly developed probiotic feed for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as a potential alternative to antibiotics for disease prevention and treatment. The feed was enriched with probiotic strains *Lactobacillus plantarum* and *L. fermentum*, applied to pellets containing humic substances. The experiment was conducted under real farm conditions, monitoring fish growth parameters, gut microbiota composition, and water quality during and after the application of probiotic feed. Results showed a positive effect of the probiotic feed on fish growth during the application period, increased levels of lactic acid bacteria in the intestines, and a significant reduction in coliform and fecal bacteria counts in the water, especially during heat stress conditions. The probiotic feed had no adverse impact on the sensory or nutritional properties of fish meat. These findings support the use of probiotics as an environmentally friendly alternative to antibiotics in intensive aquaculture systems.

Key words: broiler, meat, sensory analyze, storage

ÚVOD

Akvakultúra, ako najrýchlejšie rastúci sektor živočíšnej výroby, zohráva kľúčovú úlohu v zabezpečení potravinovej bezpečnosti a výživy pre miliardy ľudí na celom svete. V roku 2022 sa v akvakultúre vyprodukovalo viac ako 90 miliónov ton rýb, čo predstavuje viac ako polovicu

všetkých rýb určených na ľudskú spotrebu (FAO, 2022). Ryby poskytujú dôležitý zdroj živočíšnych bielkovín, omega-3 mastných kyselín, vitamínov a minerálnych látok, pričom ich konzumácia sa spája s prevenciou kardiovaskulárnych ochorení a podporou zdravého vývoja mozgu (Tacon & Metian, 2015). Na Slovensku má rybné hospodárstvo menší objem, no významný regionálny a kultúrny dosah, najmä prostredníctvom tradičného chovu kapra a pstruha dúhového (*Oncorhynchus mykiss*), ktoré patria medzi najčastejšie konzumované sladkovodné druhy. Napriek nesporným benefitom však intenzifikácia akvakultúry prináša aj ekologické výzvy. Medzi najvýznamnejšie negatívne vplyvy patrí eutrofizácia vôd v dôsledku nadmerného hnojenia a výživy, úniky chovaných rýb do voľnej prírody, šírenie patogénov a využívanie antibiotík, ktoré môže prispievať k vzniku antimikrobiálnej rezistencie (Cabello et al., 2013). V chovoch pstruhov, ktoré sú citlivé na stres a infekcie, sú antibiotiká často používané ako prevencia aj liečba bakteriálnych ochorení. Avšak nadmerné používanie týchto látok predstavuje záťaž nielen pre zdravie spotrebiteľov, ale aj pre vodné ekosystémy. V poslednom desaťročí sa preto venuje čoraz väčšia pozornosť vývoju alternatív k antibiotikám, medzi ktorými sa javia ako sľubné najmä probiotiká. Tieto mikroorganizmy môžu zlepšovať zdravie čriev, podporovať imunitnú odpoveď rýb a znižovať výskyt patogénov v chovných systémoch (Ringø et al., 2018). U pstruha dúhového boli viaceré kmene baktérií rodu *Lactobacillus*, *Bacillus* a *Enterococcus* testované s pozitívnymi výsledkami na rast, prežitie a obranyschopnosť (Merrifield et al., 2010). Využitie probiotík tak predstavuje perspektívny krok k udržateľnejšiemu a ekologickejšiemu chovu sladkovodných rýb. Cieľom tohto experimentu bolo otestovať vplyv aplikácie probiotického krmiva na báze autochtónnych pstružích probiotických kmeňov baktérií mliečneho kvasenia pstruhom dúhovým v akvakultúre na produkčné parametre a kvalitu vodného prostredia.

MATERIÁL A METODIKA

Experiment bol zameraný na overenie účinnosti novovyvinutého probiotického krmiva v rybochovnom zariadení - Rybárstvo Požehy Dubové s.r.o. Na základe výsledkov predchádzajúcich experimentov bolo pripravené probiotické krmivo, kde ako primárny sorbent boli použité humínové látky z aktivovaného leonarditu s vysokým obsahom humínových kyselín (65 %) a minimálnym zastúpením fulvových kyselin (menej ako 5 %) (Humac s.r.o Košice). Humínové látky boli nanesené na krmne pelety (Biomar, Dánsko) v koncentrácii 0,6% v miešačke. Na túto vrstvu bol v miešačke nanesený polysacharidový hydrogél obsahujúci zmes probiotických kultúr *L. plantarum* R2 Biocenol™ (CCM 8674) a *L. fermentum* R3 Biocenol™ (CCM v množstve 12 hmotnostných percent tak, že výsledné počty živých probiotických

baktérií boli minimálne 10^8 KTJ/g peliet. Obalené pelety boli sušené pri teplote 37 °C po dobu 6 hodín v teplovzdušnej sušiarni s výsledným obsahom vody do 11 hmotn. %.

Zloženie krmiva bolo analyzované. Samotný pokus bol realizovaný na farme Diviaky, v dvoch chovných žľaboch (objem: 36 m^3), kde bolo do kontrolného žľabu nasadených 53350 ks pstruhov a do žľabu, kde boli následne aplikované probiotiká 55900 kusov. Na pokus boli použité polročné pstruhy ($Pd_{1/2}$) s priemernou počiatočnou hmotnosťou na začiatku experimentu približne 5 g.

V jednom žľabe bolo rybám podávané probiotické krmivo a v druhom kontrolné krmivo (neošetrené). Krmivo bolo podávané počas 2 týždňov. Vzorky boli odoberané pred začiatkom kŕmenia (0.odber) a potom 3, 7 a 14 dní od začiatku podávania krmiva (1. – 3.odber) a posledný odber bol realizovaný 10 dní po ukončení aplikácie probiotického krmiva (4. odber). Pri každom odbere boli odobraté vzorky rýb, 50 ks z každého žľabu, pričom ryby boli odvážené a odmerané, črevný obsah bol odobraný na klasické kultivačné mikrobiologické vyšetrenie. Ryby zo 4. odberu boli použité na analýzu kvality mäsa. Zo žľabov boli odobraté aj vzorky vody na analýzu. Vo vode boli stanovované: pH, teplota, vodivosť (mS/m), nasýtenie kyslíkom (%), rozpustný kyslík (mg/l), NH_4N (mg/l), obsah dusitanov a dusičnanov, chloridov, PO_4^- (mg/l), Ca^{2+}+Mg^{2+} (mmol/l), obsah organických látok $CHSK_{Mn}$ (mg/l), počty kultivovateľných mikroorganizmov mezofilných (37 °C) a psychrofilných (22 °C) (KTJ/1 ml), počty koliformných baktérií, fekálnych koliformných baktérií vrátane *E. coli* a fekálnych streptokokov (KTJ/10 ml). Výsledky boli štatisticky vyhodnotené v programe GraphPad Prism Version 3.00.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V rámci analýzy krmiva boli v probiotickom krmive zaznamenané o niečo nižšie obsahy dusíkatých látok, tuku, popolovín, vápnika, fosforu, zinku, medi, a kyseliny glutámovej v porovnaní s kontrolným. Naopak, v probiotickom krmive bol vyšší obsah bezdusíkatých výťažkových látok, železa, treonínu a serínu (Tab. 1).

Klinický stav rýb bol sledovaný počas celého priebehu experimentu, pričom ryby v oboch skupinách boli počas celého trvania experimentu klinicky zdravé a medzi probiotickou a kontrolnou skupinou nebol rozdiel.

Tabuľka č. 1, Obsah živín v kontrolnom a probiotickom krmive s obsahom humínových látok

Obsah živín (v sušine)	unit	Kontrola	Probio	Obsah živín (v sušine)	unit	Kontrola	Probio
N-látky	g/kg	558,8	496,1	Treonín	g/kg	22,3	28,5
Vláknina	g/kg	12,2	12,4	Serín	g/kg	23,8	30,0
Tuk	g/kg	228,6	202,2	K. glutámová.	g/kg	95,8	79,1
Popoloviny	g/kg	100,2	81,4	Prolín	g/kg	28,5	22,1
Bez-N látky	g/kg	100,2	207,9	Glycín	g/kg	28,1	29,0
Org. hmota	g/kg	899,8	918,6	Alanín	g/kg	27,6	30,7
Vápnik	g/kg	17,9	12,0	Valín	g/kg	21,8	23,8
Fosfor	g/kg	15,5	11,4	Izoleucín	g/kg	18,9	19,9
Horčík	g/kg	4,41	4,56	Leucín	g/kg	38,3	40,5
Sodík	g/kg	6,30	6,65	Tyrozín	g/kg	15,1	15,6
Draslík	g/kg	7,99	7,92	Fenylalanín	g/kg	20,6	21,1
Železo	mg/k	153,1	183,3	Histidín	g/kg	13,4	14,7
Mangán	mg/k	24,4	16,0	Lyzín	g/kg	32,2	36,5
Zinok	mg/k	319,9	165,2	Arginín	g/kg	26,7	32,0
Meď	mg/k	7,55	6,84	Metionín	g/kg	6,14	5,8
K.asparágová	g/kg	43,4	47,6	Cystín	g/kg	5,81	5,3

Tabuľka č. 2, Vplyv aplikácie probiotického krmiva na: a) váhu (g) a b) dĺžku (cm) pstruhov dúhových (n=50) ** označuje signifikantný rozdiel oproti kontrole ($p<0,01$)

a)

váha (g)	0.odber	1.odber	2.odber	3.odber	4.odber
kontrola	4,96±1,16	5,62±1,27	5,95±1,27	5,75±1,21	8,03±1,91
probio	4,67±1,09	5,44±0,93	5,83±1,22	5,97±1,22	7,03±1,07**

b)

dĺžka (cm)	0.odber	1.odber	2.odber	3.odber	4.odber
kontrola	7,92±0,65	8,17±0,58	8,51±0,64	8,44±0,57	9,02±0,71
probio	7,69±0,64	8,03±0,40	8,29±0,54	8,48±0,58	8,70±0,46**

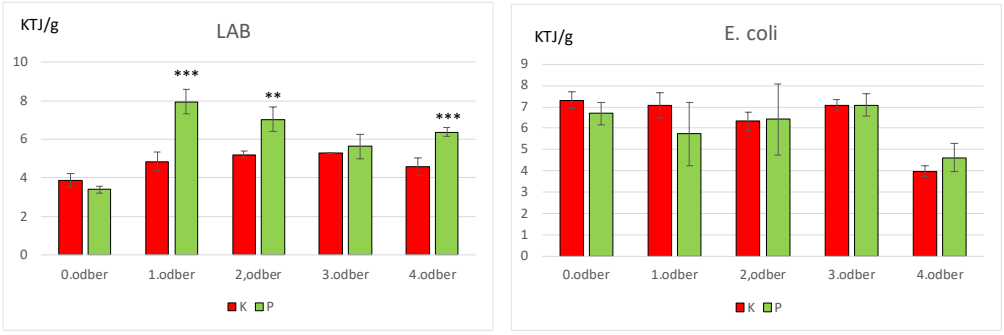
Na začiatku experimentu (0. odber) boli ryby v probiotickej skupine nesignifikantne menšie ako v kontrolnej, čo sa týka váhy aj dĺžky. Po 2 týždňoch aplikácie probiotického krmiva sa ich hmotnosť aj dĺžka vyrovnala kontrolným rybám, dokonca bola vyššia ako v kontrole (3. odber). Desať dní po vysadení probiotického krmiva však váha aj hmotnosť pstruhov v probiotickej skupine bola signifikantne nižšia ako v probiotickej (Tab.2). Ďalšie váženia sa robili priamo na farme, kde sa váži celková hmotnosť rýb v žľabe a po ďalšom mesiaci od ukončenia experimentu (t. j. približne 40 dní od ukončenia aplikácie probiotického krmiva) sa hmotnosť rýb v oboch žľaboch nelíšila (cca 9,5 g). Prechodné zníženie hmotnosti si

vysvetľujeme stresom zo zmeny krmiva z probiotického na kontrolné s následnou adaptáciou na kontrolné krmivo.

Zaujímavé výsledky boli získané pri analýzach vody zo žľabov. Pred začiatkom experimentu sa sledované parametre medzi žľabmi významne nelíšili. Od 2. odberu sme zaznamenali v „probiotickom“ žľabe výrazne nižšie počty všetkých sledovaných mikroorganizmov. Najvýraznejšie rozdiely boli v zastúpení koliformných a fekálnych mikroorganizmov, kde pri teplom počasí (teplota vody okolo 25 °C) boli v kontrolnom žľabe počty koliformných baktérií 3-krát vyššie a počty *E. coli* dokonca 5-krát vyššie v porovnaní s „probiotickým“ žľabom. V 2. a 4. odbere bola v tomto žľabe výrazne nižšia aj koncentrácia organických látok vo vode ($CHSK_{Mn}$). V „probiotickom“ žľabe sme zaznamenávali nižšie pH vody (v rozmedzí o 0,2 až 0,4). Napriek stálemu prietoku vody cez žľaby, kde nasýtenie kyslíkom nekleslo pod 96 %, na naše prekvapenie aplikácia probiotického krmiva pozitívne ovplyvnila kvalitu vody, a to najmä z mikrobiologického hľadiska a navyše v kritickom období tepelného stresu.

Obrázok č. 1, Vplyv aplikácie probiotického krmiva na počty baktérií mliečneho kvasenia (LAB) a *E. coli* v črevnom obsahu pstruhov dúhových (n=10) **/*** signifikantný rozdiel oproti kontrole; **p<0,01; ***p<0,001.

a) b)



Zvýšené zastúpenie baktérií mliečneho kvasenia (LAB) potvrdilo aj kultivačné mikrobiologické vyšetrenie, kde boli od druhého odberu zaznamenané vyššie počty LAB v črevnom obsahu pstruhov, ktoré pretrvávalo aj 10 dní po ukončení aplikácie probiotického krmiva (4. odber) (Obr. 3a). Zaujímavé bolo, že počty celkových aeróbnych baktérií ani *E. coli* neboli signifikantne ovplyvnené (Obr. 3b).

Pri rozbore rybieho mäsa bolo zistené, že aplikácia probiotického krmiva neovplyvňuje jeho zloženie, ani senzorické vlastnosti (Tab. 3).

Tabuľka č. 3, Vplyv skrmovania probiotického krmiva na zloženie mäsa pstruhov (n=10)

Vzorka	Voda (%)	Uhľovodíky (%)	Bielkoviny (%)	Tuk (%)
Kontrola	76,90 ± 0,81	1,45 ± 0,41	18,35 ± 0,66	3,00 ± 1,11
Probiotiká	76,84 ± 0,58	1,65 ± 0,28	18,77 ± 0,46	2,74 ± 0,62

Výsledky tejto štúdie poskytujú cenné informácie o vplyve probiotického krmiva na rast a zdravie pstruhov dúhových (*Oncorhynchus mykiss*), ako aj o jeho účinku na kvalitu vody a mikrobiologické parametre. Aplikácia probiotického krmiva priniesla významné zlepšenia v rastových parametroch rýb v porovnaní s kontrolnou skupinou, hoci s prechodným poklesom hmotnosti po zmene krmiva. Tento efekt je pravdepodobne spôsobený stresom spôsobeným náhlou zmenou stravy, na ktorý ryby reagovali pred adaptáciou na nové krmivo. Tieto zistenia sú v súlade s výsledkami niekoľkých predchádzajúcich štúdií, ktoré uvádzajú pozitívne účinky probiotík na rast a vývoj rýb (Merrifield et al., 2010; Ringø et al., 2018). Počas dlhšieho obdobia, keď ryby prešli adaptáciou na kontrolné krmivo, sa ich hmotnosť a dĺžka opäť vyrovnali a nepozorovali sa žiadne signifikantné rozdiely v medzi skupinami, čo naznačuje, že probiotiká neovplyvnili dlhodobý rast pstruhov. Analýza zloženia krmiva ukázala, že probiotické krmivo malo nižší obsah dusíkatých látok, tuku, medi a zinku, ale naopak vyšší obsah bezdusíkatých výťažkových látok, železa, treonínu a serínu. To naznačuje, že probiotiká mohli ovplyvniť nutričnú hodnotu krmiva, čo sa môže odraziť na absorpcii živín rybami. Podobné výsledky, týkajúce sa nutričného profilu krmiva v akvakultúre, boli zaznamenané aj v iných štúdiách (Merrifield et al., 2010). Tento faktor môže byť kľúčový pri optimalizácii krmív pre udržateľnú produkciu rýb, pretože zlepšenie využitia živín môže prispieť k efektívnejšiemu rastu rýb.

Zaujímavým aspektom tejto štúdie je aj vplyv probiotického krmiva na kvalitu vody v chovných nádržiach. Výrazné zníženie počtu mikroorganizmov, najmä koliformných a fekálnych baktérií, v probiotickom žľabe naznačuje pozitívny účinok probiotík na mikrobiologickú rovnováhu vody. Tento výsledok je podporený zisteniami predchádzajúcich výskumov, ktoré preukázali, že probiotiká môžu znižovať kontamináciu vody patogénnymi mikroorganizmami, čím prispievajú k zlepšeniu podmienok pre ryby (Ringø et al., 2018). V tejto štúdii sa ukázalo, že probiotiká v období tepelného stresu znižovali výskyt E. coli až päťnásobne, čo je významný prínos pre kontrolu mikrobiálnej kvality vody, predovšetkým v teplých mesiacoch, kedy je teplota vody kritická. Kvalita vody je jedným z najdôležitejších faktorov, ktoré ovplyvňujú zdravie rýb a ich produktivitu, a preto je dôležité, aby akvakultúra využívala technológie, ktoré minimalizujú negatívne vplyvy na životné prostredie. Zistenia

tejto štúdie podporujú použitie probiotík ako nástroja na zlepšenie mikrobiologickej kvality vody, čo môže znížiť potrebu chemických a antibiotických zásahov, ktoré majú dlhodobé environmentálne a zdravotné následky (Cabello et al., 2013). Ďalším pozitívnym výsledkom tejto štúdie je skutočnosť, že aplikácia probiotického krmiva nemala významný vplyv na senzorické vlastnosti mäsa pstruhov ani na jeho zloženie, čo je v súlade s nálezmi v predchádzajúcich štúdiách (Merrifield et al., 2010). Zistilo sa, že hodnoty vody, uhľovodíkov, bielkovín a tuku v rybom mäse sa v oboch skupinách veľmi nelíšili, čo naznačuje, že použitie probiotického krmiva neovplyvňuje kvalitu mäsa, čím sa potvrdzuje jeho bezpečnosť a vhodnosť na komerčné využitie. Aj napriek pozitívnym výsledkom je však dôležité uvedomiť si, že aplikácia probiotík môže mať rôzne výsledky v závislosti od konkrétneho typu probiotík, podmienok chovu a rasy rýb. Preto je potrebné pokračovať v ďalšom výskume na zlepšenie optimalizácie probiotických prísad v akvakultúre.

ZÁVER

Výsledky tejto štúdie naznačujú, že aplikácia probiotického krmiva môže prispieť k zlepšeniu rastu pstruhov, zníženiu mikrobiologického znečistenia vody a zlepšeniu kvality životného prostredia v akvakultúrnych systémoch. Tieto nálezy sú dôležité pre zlepšenie udržateľnosti akvakultúrnych prevádzok, najmä v súvislosti s ochranou vodných ekosystémov a zdravím rýb. Probiotiká sa ukazujú ako efektívna alternatíva k antibiotikám, čím prispievajú k ekologickejšiemu a zdravšiemu chovu rýb.

POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla vďaka podpore grantu APVV-19-0234.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. CABELLO, F. C. et al. Antimicrobial use in aquaculture re-examined: Its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. In *Environmental Microbiology*, 2013, vol. 15, no. 7, p. 1917-1942.
2. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2022*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. https://www.fao.org
3. MERRIFIELD, D. L. et al. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. In *Aquaculture*, 2010, vol. 302, no. 1-2, p. 1-18.
4. RINGØ, E. et al. Lactic acid bacteria in finfish—An update. In *Frontiers in Microbiology*, 2018, vol. 9, p. 1818.

5. TACON, A. G. J. – METIAN, M. (2015). Feed matters: Satisfying the feed demand of aquaculture. In *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 2015, vol. 23, no. 1, p. 1–10.

Kontaktná adresa: Mudroňová Dagmar, Department of Microbiology and Immunology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: dagmar.mudronova@uvlf.sk

POŽIADAVKY NA ZDRAVOTNÚ BEZPEČNOSŤ PRODUKTOV RYBOLOVU V SÚLADE S PRÁVNYMI PREDPISMI

FOOD SAFETY REQUIREMENTS FOR FISHERY PRODUCTS IN ACCORDANCE WITH LEGISLATION

Nagyová Alena[1], Takáčová Daniela[1], Korim, Peter[1], Nagy Jozef[2]

[1]Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice

[2]Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice

ABSTRACT

Fish farming and processing is one of the fastest growing food production sectors in the world. EU aquaculture production is very diverse in terms of species and production systems. Fish is the third most important source of meat, accounting for 17% of the animal protein intake of the world's population.

The registration and approval of certain types of aquaculture facilities enable the competent authorities to carry out adequate surveillance, prevention, control and eradication of communicable animal diseases. To ensure the safety of fishery products from the point of primary production to marketing or export, vessels and establishments on land handling fishery products must comply with general and specific hygiene rules to ensure a high level of consumer health protection.

The paper summarises the legislative requirements for aquatic animal health prevention and control rules, general safety requirements for fishery products, specific requirements for fishery products, requirements for vessels, requirementsat and after landing, requirementsfor establishments and vessels handling fishery products, packaging, storage and transport of fishery products, safety requirements for fishery products, officialcontrols on the production, manufacture and placing on the market of fishery products, approval of processing, freezing or refrigerating vessels, carrying out official controls on fishery products and decisions following controls.

Key words: legislation, food safety, fishery products

ÚVOD

Chov rýb a ich spracovanie patrí k rýchlo rastúcim odvetviam potravinárskej výroby vo svete. Akvakultúrna produkcia EÚ je veľmi rozmanitá pokiaľ ide o druhy a systémy produkcie. Ryby sú tretím najvýznamnejším zdrojom mäsa, predstavujú 17 % príjmu živočíšnych bielkovín svetovej populácie. V EÚ sa každoročne skonzumuje približne 24 kg rýb alebo morských plodov na osobu. Napriek nízkemu podielu v národnom hospodárstve má akvakultúra význam z hľadiska zabezpečenia zdravej výživy obyvateľstva a zachovávania pôvodného genofondu rýb. Rybné hospodárstvo SR tvorí akvakultúra zameraná na chov sladkovodných rýb, spracovanie rýb je zamerané predovšetkým na dovážané morské ryby. Spotreba rýb na Slovensku je 5,9 kg na obyvateľa (r. 2020, Štatistický úrad SR), pričom na sladkovodné ryby pripadá približne 1 kg. Odvetvie rybolovu zahŕňa všetky činnosti produkcie, spracovania a uvádzania produktov rybolovu na trh. Vodné živočíchy a produkty živočíšneho pôvodu z vodných živočíchov môžu predstavovať špecifické nebezpečenstvá pre zdravie ľudí pretože môžu obsahovať mikrobiologické a chemické nebezpečenstvá. Registrácia a schvaľovanie určitých typov zariadení pre akvakultúru umožňujú príslušným orgánom vykonávať primeraný dohľad, prevenciu, kontrolu a eradikáciu prenosných chorôb zvierat. Na zabezpečenie bezpečnosti produktov rybolovu od miesta prvovýroby až po uvedenie na trh alebo vývoz plavidlá a prevádzkarne na pevnine, ktoré manipulujú s produktmi rybolovu musia spĺňať všeobecné a osobitné hygienické predpisy, aby bola zabezpečená vysokú úroveň ochrany zdravia spotrebiteľa.

Pravidlá prevencie a kontroly zdravia vodných živočíchov

Ochrana pred prenosnými chorobami rýb je dôležitou súčasťou stratégie riadenia rybolovu. Úroveň rizika, ktorú môže predstavovať zariadenie pre akvakultúru závisí od činnosti daného zariadenia a miesta určenia a plánovaného použitia živočíchov akvakultúry alebo produktov akvakultúry živočíšneho pôvodu produkovaných v danom zariadení. Na prevenciu, kontrolu a eradikáciu prenosných chorôb zvierat príslušným orgánom nariadenie (EÚ) 2016/429 ustanovuje povinnosť prevádzkovateľov registrovať zariadenia pre akvakultúru a v prípade určitých typov zariadení požiadať o schválenie príslušný orgán. Tieto všeobecné pravidlá pokiaľ ide o registrované a schválené zariadenia pre akvakultúru, v ktorých sa držia živočíchy akvakultúry a prepravcov vodných živočíchov dopĺňa delegované nariadenie Komisie (EÚ) 2020/691. Článok 179 nariadenia (EÚ) 2016/429 ustanovuje schvaľovanie zariadení pre potraviny z vodných živočíchov schválených na kontrolu chorôb príslušným orgánom (v súlade s čl. 4 nariadenia (ES) č. 853/2004), aby bolo uľahčené hygienické zabíjanie a hygienické spracovávanie vodných živočíchov, ktoré môžu byť infikované chorobou zo

zoznamu alebo objavujúcou sa chorobou. Podobne ako v prípade suchozemských zvierat právne predpisy ustanovujú harmonizované pravidlá týkajúce sa premiestňovania vodných živočíchov vrátane pravidiel certifikácie zdravia zvierat a nahlasovania premiestňovania. Povinnosťou prevádzkovateľov je prijať vhodné opatrenia na prevenciu s cieľom zabezpečiť, aby premiestňovanie vodných živočíchov neohrozovalo zdravotný štatút v mieste určenia, ani počas prepravy. Všeobecné požiadavky na premiestňovanie vodných živočíchov, opatrenia na prevenciu chorôb v súvislosti s prepravou a povinnosť prevádzkovateľov zabezpečiť sprevádzanie živočíchov akvakultúry certifikátom zdravia zvierat ustanovuje právna úprava v oblasti zdravia zvierat (nariadenie (EÚ) 2016/249). Pokiaľ ide o požiadavky na zdravie zvierat a certifikáciu v prípade premiestňovania vodných živočíchov a produktov živočíšneho pôvodu z vodných živočíchov a produktov živočíšneho pôvodu zo živočíchov akvakultúry v rámci Únie delegované nariadenie Komisie (EÚ) 2020/990 dopĺňa požiadavky na zdravie zvierat stanovené v nariadení (EÚ) 2016/429. Ustanovené pravidlá a opatrenia majú za cieľ zabezpečiť, aby uvedené komodity nepredstavovali významné riziko šírenia chorôb vodných živočíchov. Vodné živočíchy môžu vstupovať do Únie na rôzne účely. Je dôležité, aby živočíchy akvakultúry, ktoré vstupujú do Únie zo zariadení pre akvakultúru v tretej krajine, na území, v ich pásme alebo kompartmente, pochádzali zo zariadení, ktoré spĺňajú požiadavky na registráciu alebo schvaľovanie, a ktoré sú prinajmenšom také prísne ako požiadavky stanovené pre takéto zariadenia v Únii. Pravidlá premiestňovania zásielok živočíchov akvakultúry z tretích krajín alebo území alebo ich pásiem alebo kompartmentov a zaobchádzania s nimi po ich vstupe do Únie ustanovuje delegované nariadenie Komisie (EÚ) 2020/692. Vo vykonávacích nariadeniach Komisie (EÚ) 2020/2235 a 2020/2236 sa stanovujú pravidlá uplatňovania nariadenia (EÚ) 2016/429 a nariadenia (EÚ) 2017/625, pokiaľ ide o vzory certifikátov zdravia zvierat a certifikátov zdravia zvierat/úradných certifikátov na vstup určitých vodných živočíchov do Únie. Obsahom certifikátov zdravia zvierat sú podrobné údaje o zásielke a špecifické informácie o zdraví zvierat a príslušné záruky, že zásielky vodných živočíchov a určitých produktov živočíšneho pôvodu z vodných živočíchov, ktoré vstupujú do Únie a premiestňujú sa rámci Únie, nepredstavujú významné riziko pre zdravie zvierat ani verejné zdravie potvrdené úradným veterinárnym lekárom. V záujme zabezpečenia súladu s pravidlami týkajúcimi sa certifikácie zdravia zvierat (čl. 216 ods. 3 nariadenia (EÚ) 2016/429) musí úradný veterinárny lekár pred tým, ako podpíše certifikát zdravia zvierat, vykonať v zariadení pôvodu pre akvakultúru dokladové kontroly a klinickú prehliadku a v relevantnom prípade klinické vyšetrenia, aby sa ubezpečil, že neexistujú žiadne dôkazy, ktoré by naznačovali, že v zariadení sa vyskytuje choroba zo zoznamu alebo objavujúca sa choroba.

Všeobecné požiadavky na zdravotnú bezpečnosť produktov rybolovu

Pre zaistenie zdravotnej bezpečnosti potravín sa vyžaduje nepretržité posudzovanie všetkých aspektov výroby, počnúc a vrátane prvovýroby (prvovýroba zahŕňa tiež rybolov). Prevádzkovateľ potravinárskeho podniku zodpovedá za to, aby nebola ohrozená bezpečnosť potravín od miesta prvovýroby až po uvedenie na trh alebo vývoz (nariadenie (ES) č. 178/2002). Prvovýroba je výraz, ktorým sa opisujú činnosti prevádzkovateľa potravinárskeho podniku a zahŕňa okrem iného farmový chov, rybolov, výlov a zber živých produktov rybolovu (či už z morskej vody alebo sladkej vody) s cieľom uviesť ich na trh a spojené operácie (zabíjanie, vykrvenie, oddelenie hláv, pitvanie, odstraňovanie plutiev, chladenie a balenie do priameho obalu), ak sa uskutočňujú na palube plavidiel, môžu zahŕňať prepravu a skladovanie produktov rybolovu, ktorých povaha sa podstatne nezmenila, vrátane prepravy a skladovania živých produktov rybolovu v rámci fariem na pevnine a prepravu produktov rybolovu, ktorých povaha sa podstatne nezmenila, vrátane živých produktov rybolovu z miesta produkcie do prvej prevádzkarne určenia.

Všeobecné predpisy o hygiene potravín v prípade prevádzkarní vrátane plavidiel, ktoré sa zaoberajú rybolovom a s ním spojenými operáciami ustanovuje nariadenie (ES) č. 852/2004 o hygiene potravín. Prevádzkovateľ na úrovni prvovýroby musí zabezpečiť, aby boli prvotné produkty rybolovu chránené pred kontamináciou so zreteľom na akékoľvek spracovanie, ktoré prvotné produkty podstúpia a vhodným spôsobom viesť a na vhodný čas uchovávať záznamy, ktoré sa týkajú opatrení zavedených na kontrolu nebezpečenstiev a zodpovedajú druhu a veľkosti potravinárskeho podniku (príloha I, časť A, B nariadenia (ES) č. 852/2004). Na zabezpečenie ochrany verejného zdravia nariadenie o hygiene potravín ustanovuje spoločné zásady v súvislosti s povinnosťami výrobcov a príslušných orgánov, stavebno-technické, prevádzkové a hygienické požiadavky na prevádzkarne, postupy pre schvaľovanie prevádzkarní, požiadavky na skladovanie a prepravu a na zdravotné značky, tieto zásady tvoria spoločný základ pre hygienickú výrobu všetkých potravín, vrátane produktov rybolovu (príloha II nariadenia (ES) č. 852/2004).

Špecifické požiadavky na produkty rybolovu

Nariadenie (ES) č. 853/2004, ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu definuje „produkty rybolovu“ ako všetky morské alebo sladkovodné živočíchy (okrem živých lastúrnikov, živých ostnatokožcov, živých plášťovcov a živých morských ulitníkov a všetkých cicavcov, plazov a žiab) voľne žijúce alebo chované na farmách vrátane všetkých jedlých foriem, častí a produktov týchto živočíchov. Produkty rybolovu patria medzi potraviny, ktoré môžu predstavovať špecifické nebezpečenstvá

(mikrobiologické, chemické) pre zdravie ľudí, preto si vyžadujú dodržiavanie špecifických hygienických predpisov, ktoré ustanovuje Príloha III oddiel VIII nariadenia (ES) č. 853/2004.

Požiadavky na plavidlá

Na výlov produktov rybolovu z ich prirodzeného prostredia alebo na manipuláciu s nimi alebo ich spracovanie po výlove sa môžu používať plavidlá, ktoré spĺňajú technické požiadavky a požiadavky na vybavenie. Plavidlá musia byť navrhnuté a skonštruované tak, aby nespôsobovali kontamináciu produktov odpadovou vodou, ktorá sa hromadí na ich dne, splaškami, dymom, palivom, olejom, mazadlami alebo inými škodlivými látkami. Povrchy, s ktorými prichádzajú produkty rybolovu do styku musia byť z vhodného nehrdzavejúceho materiálu, ktorý je hladký a ľahko čistiteľný, povrchová úprava musí byť odolná a netoxická. Zariadenia a materiály používané na prácu s produktmi rybolovu musia byť zhotovené z nehrdzavejúceho materiálu, ktorý sa ľahko čistí a dezinfikuje. Ak majú plavidlá zariadenie na prívod vody používanej pre produkty rybolovu, musí byť umiestnené tak, aby sa zabránilo kontaminácii privádzanej vody. Nákladné priestory, nádrže alebo kontajnery na skladovanie, chladenie alebo mrazenie nechránených produktov rybolovu sa nesmú používať na iné účely ako na ich skladovanie, chladenie alebo mrazenie, rovnako ani ľad alebo slaný nálev používané na takéto účely.

Ak sú plavidlá skonštruované a vybavené na uchovávanie produktov rybolovu dlhšie ako 24 hodín, musia byť naviac vybavené nákladnými priestormi, nádržami alebo kontajnermi na skladovanie produktov rybolovu pri teplotách ustanovených v prílohe III, oddiel VIII, kapitola VII nariadenia (ES) č. 853/2004. Nákladné priestory musia byť od priestorov strojovní a od častí určených pre posádku oddelené priehradkami, ktoré sú dostatočné na to, aby sa zabránilo každej kontaminácii skladovaných produktov rybolovu. Tieto priestory a kontajnery používané na skladovanie produktov rybolovu musia zabezpečovať ich uchovávanie za uspokojivých hygienických podmienok a pokiaľ je to nevyhnutné, zaistiť, aby voda z roztopeného ľadu nezostávala v styku s produktmi. Plavidlá, ktoré sú vybavené na chladenie produktov rybolovu v chladenej čistej morskej vode musia mať zabudované zariadenie na dosiahnutie jednotnej teploty v celej nádrži a tieto zariadenia musia dosahovať taký chladiaci výkon, ktorým sa zaistí, že zmes čistej morskej vody s rybami dosiahne za šesť hodín od nalodenia teplotu najviac 3 °C a za 16 hodín od nalodenia najviac 0 °C a umožňuje monitorovanie a pokiaľ je to potrebné, registrovanie teplôt.

Mraziarenské plavidlá musia mať zmrazovacie zariadenia s dostatočnou kapacitou na čo najrýchlejšie kontinuálne zmrazovanie s najkratším možným medzičasom konštantnej teploty tak, aby teplota v jadre dosiahla najviac -18 °C a s dostatočnou kapacitou na

uchovávanie produktov rybolovu v skladovacích nákladných priestoroch pri teplote najviac -18 °C. Skladovacie nákladné priestory musia byť vybavené zariadením na zaznamenávanie teploty v mieste, kde sa dá ľahko odčítať. Senzor zariadenia na zaznamenávanie teploty musí byť umiestnený v takom mieste nákladného priestoru, kde je teplota najvyššia.

Továrenské plavidlá musia mať minimálne príjmový priestor vyhradený na príjem produktov rybolovu na palubu, skonštruovaný tak, aby sa umožňovalo oddelenie každého nasledujúceho úlovku. Tento priestor sa musí dať ľahko čistiť a musí byť skonštruovaný tak, aby boli produkty chránené pred slnkom alebo počasím a pred všetkými zdrojmi kontaminácie a hygienický systém na prepravu produktov rybolovu z príjmového priestoru do pracovných priestorov. Pracovné priestory musia byť dostatočne veľké na hygienickú prípravu a spracovanie produktov rybolovu, ktoré sa ľahko čistia a dezinfikujú a sú usporiadané takým spôsobom, aby sa zabránilo každej kontaminácii produktov. Musia byť vytvorené dostatočne veľké a ľahko čistiteľné skladovacie priestory na konečné produkty. Ak sa na palube prevádzkuje jednotka na spracovanie odpadu, musí tu byť na skladovanie tohto odpadu oddelený nákladný priestor. Miesto na skladovanie obalového materiálu má byť oddelené od priestorov prípravy a spracovania produktov. Na vypúšťanie odpadu alebo produktov rybolovu, ktoré nevyhovujú pre ľudskú spotrebu priamo do mora továrenské plavidlá musia mať osobitné zariadenie alebo, kde si to okolnosti vyžadujú vodotesnú nádrž vyhradenú na tento účel. Pokiaľ sa odpad spracúva a skladuje na palube z dôvodov jeho asanácie, musia byť na tento účel vyhradené oddelené priestory. Zariadenie na odber vody musí byť umiestnené na takom mieste, aby sa zabránilo kontaminácii zásob vody a zariadenia na umývanie rúk pre zamestnancov, ktorí sa podieľajú na zaobchádzaní s nechránenými nebalenými produktmi rybolovu s kohútikmi zostrojenými tak, aby sa zabránilo rozširovaniu kontaminácie.

Ak sa časti plavidiel alebo prídavné kontajnery používajú na skladovanie produktov rybolovu, musia sa udržiavať v čistote, v dobrom technickom stave. Nesmú byť kontaminované palivom alebo znečistenou vodou, ktorá sa hromadí na dne plavidla. Produkty rybolovu musia byť čo najskôr po vylovení na palubu chránené pred kontamináciou a účinkami slnečného žiarenia alebo inými zdrojmi tepla a pri manipulácií a skladovaní sa musí zabrániť vzniku pomliaždenín. Manipulujúci môžu používať na premiestnenie veľkých rýb alebo rýb, ktoré by ich mohli zraniť, zahrotené nástroje s podmienkou, že sa nepoškodí svalovina produktov. Produkty rybolovu okrem tých, ktoré sa držia v živom stave, sa musia čo najskôr po nalodení na palubu schladiť, ak chladenie nie je možné, musia sa produkty rybolovu vylodiť čo najskôr na pevninu. Ak sa ryby zbavujú hláv a/alebo pitvú na palube, tieto operácie sa musia vykonávať hygienicky a čo najskôr po výlove a produkty rybolovu sa musia ihneď umyť. Vnútornosti a časti, ktoré môžu predstavovať nebezpečenstvo pre zdravie ľudí sa musia čo najskôr odstrániť

a uchovávať oddelene od produktov rybolovu určených na ľudskú spotrebu. Pečene, ikry a mliečie určené na ľudskú spotrebu sa musia zmraziť a uchovávať zaľadované pri teplote, ktorá sa približuje teplote roztápajúceho sa ľadu, alebo zmrazené. Celé ryby určené pre konzervačný priemysel zmrazované v soľnom roztoku, musí sa dosiahnuť teplota produktu rybolovu najviac -9°C. Aj keď sa následne zmrazia na teplotu -18 °C, musia byť celé ryby pôvodne zmrazené v slanom náleve pri teplote najviac -9 °C určené pre konzervačný priemysel. Soľný roztok nesmie byť zdrojom kontaminácie rýb.

Požiadavky pri a po vylodení

Vykladacie a vyloďovacie zariadenia, ktoré prichádzajú do styku s produktmi rybolovu musia byť skonštruované z materiálu, ktorý sa ľahko čistí a dezinfikuje a udržuje sa v dobrom stave a v čistote. Počas vykladania a vylodenia sa musí zabraňovať kontaminácii produktov rybolovu najmä rýchlym vykonávaním operácií vykladania a vyloďovania a bezodkladným umiestnením produktov rybolovu do chráneného prostredia s požadovanou teplotou. Nesmú sa používať zariadenia a praktiky, ktoré spôsobujú nepotrebné poškodzovanie jedlých častí produktov rybolovu. Ak nebolo možné chladenie na palube lode, musia byť čerstvé produkty rybolovu, okrem tých, ktoré sa držia v živom stave, čo najskôr po vylodení vychladené a uskladnené pri teplote, ktorá sa blíži teplote topenia sa ľadu.

Požiadavky na prevádzkarne a plavidlá, ktoré manipulujú s produktmi rybolovu

Celé a pitvané produkty rybolovu sa môžu prepravovať a skladovať na palube plavidiel v chladenej vode, aj po pristátí a rovnako aj pri preprave z prevádzkarní akvakultúr dovtedy, kým nevstúpia do prevádzkarne na pevnine, ktorá vykonáva iné činnosti než prepravu alebo triedenie. Ak sa použijú trojvrstvové polyetylénové kontajnery naplnené vodou a ľadom, celé a pitvané čerstvé produkty rybolovu sa môžu prepravovať po vstupe do prevádzkarne na pevnine, ktorá vykonáva iné činnosti než prepravu, za predpokladu, že sú splnené požiadavky kapitoly VIII bodu 1 písm. a). Ak sa chladené nebalené produkty nedistribuujú, neodosielajú, neupravujú alebo nespracúvajú, musia sa ihneď po preprave do prevádzkarne na pevnine uskladniť zaľadované vo vhodných zariadeniach alebo v prípade celých alebo pitvaných čerstvých produktov rybolovu v trojvrstvových polyetylénových kontajneroch vyrobených z izolačného materiálu a naplnených ľadom a vodou. Preľadovanie sa musí vykonávať tak často, ako je to potrebné. Ak sa použijú trojvrstvové polyetylénové kontajnery naplnené vodou a ľadom, musia byť čisté a nepoškodené, voda musí mať teplotu, ktorá je čo najbližšie 0 °C, a musí zakrývať všetky ryby a ľad musí pokrývať celý povrch vody v kontajneroch, aby sa zabezpečilo, že všetky ryby budú pod vrstvou ľadu. Balené čerstvé produkty rybolovu musia

byť vychladené na teplotu, ktorá sa blíži teplote topenia ľadu. Operácie, ako je odstraňovanie hláv a pitvanie, sa musia vykonať hygienicky. Ak je z technického a obchodného hľadiska pitvanie možné, musí sa vykonať čo najskôr po výlove alebo po vylodení produktov. Bezprostredne po tom musia byť produkty dôkladne umyté. Filetovanie a krájanie, sa musia vykonávať tak, aby sa zabránilo kontaminácii alebo znehodnoteniu filiet a rezov, nesmú zostať na pracovných stoloch dlhšie, ako je to potrebné na ich úpravu a musia sa zabaliť do priameho obalu a ak je to potrebné, do druhého obalu a čo najskôr po úprave sa schladiť. Ak sa na odosielanie alebo skladovanie nebalených upravených produktov rybolovu, ktoré sa skladujú zaľadované používajú kontajnery musia byť prispôsobené tak, aby sa voda z roztopeného ľadu odvádzala a nezostávala v styku so žiadnym z produktov rybolovu.

Balenie, skladovanie a preprava produktov rybolovu

Prepravky, v ktorých sa uchovávajú zaľadované produkty rybolovu musia byť odolné voči vode a musia zabezpečovať, aby voda z roztopeného ľadu nezostávala v styku s produktmi. Zamrazené bloky pripravené na palube plavidiel musia byť pred vylodením náležite zabalené do priameho obalu. Ak sa produkty rybolovu balia do priameho obalu na palube rybárskych plavidiel obalový materiál nesmie byť zdrojom kontaminácie, musí sa skladovať tak aby nebol vystavený riziku kontaminácie a v prípade ak je určený na opakované používanie bol ľahko čistiteľný a ak je to potrebné, dezinfikovateľný.

Prevádzkovatelia potravinárskych podnikov, ktorí skladujú produkty rybolovu musia zabezpečiť, aby čerstvé produkty rybolovu, rozmrazené nespracované produkty rybolovu sa uchovávali pri teplote, ktorá sa približuje teplote topenia ľadu. Mrazené produkty rybolovu sa musia uchovávať pri teplote najviac -18 °C vo všetkých častiach produktu; v prípade celých rýb pôvodne zmrazených v soľnom roztoku určených na výrobu konzervovaných potravín sa však môžu uchovávať pri teplote najviac -9 °C, a ktoré sa držia v živom stave, sa musia uchovávať pri takej teplote a takým spôsobom, ktorý nepriaznivo neovplyvňuje bezpečnosť potravín alebo ich životaschopnosť. Ak je potrebné, aby mali čerstvé produkty rybolovu, rozmrazené nespracované produkty rybolovu alebo spracované produkty rybolovu nižšiu teplotu, ako je teplota topenia ľadu, aby bolo možné použiť stroje na krájanie alebo rezanie produktov rybolovu, môžu sa udržiavať pri takejto technologicky požadovanej teplote počas čo najkratšieho obdobia, ktoré v žiadnom prípade nesmie prekročiť 96 hodín. Skladovanie a preprava pri tejto teplote nie sú povolené. Ak je potrebné, aby mali mrazené produkty rybolovu vyššiu teplotu ako -18 °C, aby bolo možné použiť stroje na krájanie alebo rezanie produktov rybolovu, môžu sa udržiavať pri takejto technologicky požadovanej teplote počas čo

najkratšieho obdobia, ktoré v žiadnom prípade nesmie prekročiť 96 hodín. Skladovanie a preprava pri tejto teplote nie sú povolené.

Počas prepravy sa musia produkty rybolovu uchovávať pri požadovanej teplote, a to čerstvé produkty rybolovu, rozmrazené nespracované produkty rybolovu sa musia uchovávať pri teplote, ktorá sa približuje teplote topenia ľadu. Ak sa na prepravu celých a pitvaných čerstvých produktov rybolovu použijú trojvrstvové polyetylénové kontajnery naplnené vodou a ľadom, ľad musí byť prítomný počas celého skladovania/prepravy, ktoré/ktorá sa musí vykonávať pri kontrolovanej teplote. Preprava a skladovanie celých a pitvaných čerstvých produktov rybolovu v trojvrstvových polyetylénových kontajneroch naplnených vodou a ľadom nesmie trvať viac ako tri dni. Zmrazené produkty rybolovu sa okrem celých rýb pôvodne zmrazených v soľnom roztoku určených na výrobu konzervovaných potravín musia počas prepravy uchovávať pri stálej teplote najviac -18 °C vo všetkých častiach produktu s možnými krátkodobými výkyvmi nahor najviac o 3 °C. Ak sa na prepravu čerstvých produktov rybolovu využíva proces čiastočného mrazenia, preprava v debnách bez ľadu je povolená pod podmienkou, že na týchto debnách bude jasne uvedené, že obsahujú čiastočne mrazené produkty rybolovu. Počas prepravy musia čiastočne mrazené produkty rybolovu spĺňať požiadavky na teplotu, ktorá je v jadre produktu v rozsahu od -0,5 do -2 °C. Preprava a skladovanie čiastočne mrazených produktov rybolovu nesmie trvať viac ako 5 dní. Ak sa zmrazené produkty rybolovu prepravujú z mraziarenského skladu na rozmrazenie v schválenej prevádzkarni pri príchode na účely úpravy a/alebo spracovania, pokiaľ je cesta krátka a ak to príslušný orgán povolí, nemusia prevádzkovatelia potravinárskych podnikov dodržiavať požiadavky počas prepravy pri stálej teplote najviac -18 °C vo všetkých častiach produktu s možnými krátkodobými výkyvmi nahor najviac o 3 °C. Ak sa produkty rybolovu držia zaľadované, nesmie voda z roztopeného ľadu zostávať v styku s produktmi. Ak sa produkty rybolovu uvádzajú na trh v živom stave musia sa prepravovať takým spôsobom, aby sa nepriaznivo neovplyvňovala bezpečnosť potravín alebo ich životaschopnosť.

Schválenie spracovateľských, mraziarenských alebo chladiarenských plavidiel

Pri inšpekcii spracovateľského, mraziarenského alebo chladiarenského plavidla, ktoré pláva pod vlajkou členského štátu, na účely udelenia schválenia plavidla príslušné orgány členského štátu, pod ktorého vlajkou plavidlo pláva, vykonajú úradné kontroly v súlade s článkom 148 nariadenia (EÚ) 2017/625, najmä s časovými lehotami uvedenými v článku 148 ods. 4 V prípade potreby môžu prehliadnuť plavidlo, kým je na mori alebo v prístave v inom členskom štáte alebo tretej krajine. Ak príslušné orgány členského štátu, pod ktorého vlajkou plavidlo pláva, udelili plavidlu podmienečné schválenie v súlade s článkom 148 nariadenia

(EÚ) 2017/625, môžu povoliť príslušným orgánom iného členského štátu alebo tretej krajiny, aby vykonali nadväzujúce kontroly s účelom udeliť úplné schválenie, predĺžiť dočasné schválenie alebo preskúmať schválenie, ak sa v prípade tretej krajiny takáto krajina nachádza v zozname tretích krajín, z ktorých je podľa článku 127 nariadenia (EÚ) 2017/625 povolený dovoz produktov rybolovu. V prípade potreby môžu tieto príslušné orgány prehliadnuť plavidlo, kým je na mori alebo v prístave v inom členskom štáte alebo tretej krajine. Ak príslušné orgány členského štátu povolia príslušným orgánom iného štátu alebo tretej krajiny vykonávať kontroly v ich mene, tieto dva príslušné orgány sa dohodnú na podmienkach, ktorými sa takéto kontroly riadia. Týmito podmienkami sa zabezpečí najmä to, že príslušné orgány členského štátu, pod ktorého vlajkou plavidlo pláva, dostanú správy o výsledkoch kontrol a o akomkoľvek podozrení z nedodržania podmienok bezodkladne, aby sa im umožnilo vykonať vyžadované opatrenia.

Úradné kontroly produkcie, výroby a umiestňovania na trh produktov rybolovu

V nariadení (EÚ) 2017/625 sa stanovujú pravidlá úradných kontrol vykonávaných príslušnými orgánmi členských štátov s cieľom overiť dodržiavanie právnych predpisov Únie v oblasti bezpečnosti potravín na všetkých stupňoch výroby, spracovania a distribúcie. Osobitné požiadavky na úradné kontroly v súvislosti s produktmi rybolovu ustanovuje vykonávacie nariadenie (EÚ) 2019/627.

Úradné kontroly výroby produktov rybolovu a ich umiestnenia na trh zahŕňajú overenie dodržiavania požiadaviek uvedených v oddiele VIII prílohy III k nariadeniu (ES) č. 853/2004, najmä:

- pravidelnú kontrolu hygienických podmienok pri vylodení a prvom predaji
- pravidelné prehliadky plavidiel a prevádzkarní na pevnine, pričom sa kontroluje či sa naďalej plnia podmienky schválenia, či sa s produktmi rybolovu manipuluje správne, dodržiavanie požiadaviek na hygienu a teplotu, čistota prevádzkarní vrátane plavidiel a ich zariadení a vybavenia a hygiena zamestnancov
- kontroly skladovania a prepravných podmienok.

Príslušné orgány vykonávajú úradné kontroly na plavidlách, keď sa plavidlá zastavia v prístave v členskom štáte. Tieto kontroly sa týkajú všetkých plavidiel, ktoré vykladajú produkty rybolovu v prístavoch EÚ, bez ohľadu na vlajku. Príslušné orgány štátu, pod ktorého vlajkou plavidlá plávajú, môžu vykonať úradné kontroly, kým je plavidlo na mori alebo v prístave v inom členskom štáte alebo tretej krajine.

Úradné kontroly produktov rybolovu zahŕňajú praktické opatrenia stanovené v prílohe VI nariadenia (EÚ) 2019/627, pokiaľ ide o:

- organoleptické skúšky; na všetkých stupňoch výroby, spracovania a distribúcie sa vykonávajú náhodné organoleptické kontroly. Jedným z cieľov kontrol je overiť dodržanie súladu s kritériami čerstvosti - overenie toho, či na všetkých stupňoch výroby, spracovania a distribúcie spĺňajú produkty rybolovu prinajmenšom základné kritériá čerstvosti stanovené v súlade s nariadením Rady (ES) č. 2406/96.
- ukazovatele čerstvosti; pokiaľ na základe organoleptickej analýzy vzniknú akékoľvek pochybnosti o čerstvosti produktov rybolovu, môžu sa odobrať vzorky, ktoré sa podrobia laboratórnym testom na určenie hodnôt celkového prchavého bázického dusíka (TVB-N) a trimetylamín dusíka (TMA-N), príslušné orgány používajú kritériá stanovené v tomto nariadení, pokiaľ na základe organoleptickej analýzy vznikne podozrenie na prítomnosť iných stavov, ktoré by mohli ovplyvniť zdravie ľudí, na účely overenia sa odoberú vhodné vzorky.
- histamín; vykonáva sa náhodné testovanie na histamín s cieľom overiť dodržiavanie povolených hodnôt stanovených v nariadení (ES) č. 2073/2005.
- rezíduá a kontaminanty; stanovia sa opatrenia na monitorovanie s cieľom kontrolovať dodržiavanie súladu s právnymi predpismi EÚ, pokiaľ ide o maximálne limity rezíduí pri účinných látkach v súlade s nariadením (EÚ) č. 37/2010, zakázané a nepovolené látky v súlade s nariadením (EÚ) č. 37/2010, kontaminanty v súlade s nariadením Komisie (EÚ) 2023/915 a rezíduá pesticídov v súlade s nariadením (ES) č. 396/2005.
- mikrobiologické kontroly; pokiaľ je to potrebné, vykonajú sa mikrobiologické kontroly v súlade s príslušnými predpismi a kritériami stanovenými v nariadení (ES) č. 2073/2005.
- parazity; vykonajú sa testy založené na riziku s cieľom overiť dodržiavanie súladu s oddielom VIII kapitolou III časťou D prílohy III k nariadeniu (ES) č. 853/2004 a oddielom I prílohy II k nariadeniu (ES) č. 2074/2005.
- jedovaté produkty rybolovu; vykonávajú sa kontroly s cieľom zabezpečiť, aby sa na trh neumiestňovali produkty rybolovu získané z jedovatých rýb (čeľadí: *Tetraodontidae, Molidae, Diodontidae* a *Canthigasteridae*); aby sa čerstvé, pripravené, zmrazené a spracované produkty rybolovu z rýb patriacich do čeľade *Gempylidae* (druhy *Ruvettus pretiosus* a *Lepidocybium flavobrunneum*), mohli umiestňovať na trh iba v balenej forme v priamom obale/v druhom obale a aby sa vhodne označovali tak, aby bol spotrebiteľ informovaný o metódach prípravy/varenia a o riziku spojenom s prítomnosťou látok s nepriaznivými gastrointestinálnymi účinkami a na označení sa uvádzajú vedecké názvy a všeobecné názvy produktov rybolovu; aby sa na trh neumiestňovali produkty rybolovu, ktoré obsahujú biotoxíny ako ciguatera alebo iné toxíny nebezpečné pre ľudské zdravie.

Rozhodnutia v nadväznosti na kontroly

Príslušné orgány posúdia produkty rybolovu ako nevhodné na ľudskú spotrebu, ak:

- sa úradnými kontrolami vykonanými v súlade s článkom 70 zistí, že nie sú v súlade s organoleptickými, chemickými, fyzikálnymi alebo mikrobiologickými požiadavkami alebo požiadavkami týkajúcimi sa parazitov podľa oddielu VIII prílohy III k nariadeniu (ES) č. 853/2004 alebo podľa nariadenia (ES) č. 2073/2005
- vo svojich jedlých častiach obsahujú chemické rezíduá alebo kontaminanty presahujúce úrovne stanovené v nariadeniach (EÚ) č. 37/2010, (ES) č. 396/2005, (ES) č. 1881/2006 alebo rezíduá látok, ktoré sú zakázané alebo nepovolené v súlade s nariadením (EÚ) č. 37/2010 alebo so smernicou 96/22/ES, alebo nie sú v súlade s akýmikoľvek inými príslušnými právnymi predpismi Únie týkajúcimi sa farmakologicky účinných látok
- pochádzajú z jedovatých rýb, produktov rybolovu, ktoré nespĺňajú požiadavky týkajúce sa morských biotoxínov
- sa príslušné orgány domnievajú, že môžu predstavovať riziko pre zdravie ľudí alebo zvierat alebo z akéhokoľvek iného dôvodu nie sú vhodné na ľudskú spotrebu.

ZÁVER

Ryby sú veľkou skupinou stavovcov žijúcich v morskom a sladkovodnom prostredí. Patria medzi potraviny, ktoré konzumujú miliardy ľudí na celom svete a slúžia ako primárne zdroje vysokokvalitných bielkovín a životne dôležitých omega-3 mastných kyselín. Dôležitou súčasťou rybárskej politiky EÚ je stanovenie obchodných noriem EÚ pre produkty rybolovu a požiadavky na informácie pre spotrebiteľov (označovanie). Na etikete musí byť napríklad uvedené obchodné označenie, spôsob výroby, oblasť výlovu a rybársky výstroj. Spôsoby získavania rýb na konzumáciu vo všeobecnosti patria do dvoch kategórií: rybolov vo voľnej prírode a akvakultúra (chov rýb). Cesta „z vody na tanier“ zahŕňa zložité procesy od výlovu cez manipuláciu a spracovanie s cieľom zachovať zdravotnú bezpečnosť a kvalitu. Potravinové právo EÚ ustanovuje zásadu bezpečnosti potravín v celom potravinovom reťazci, od rybárskeho plavidla alebo akvakultúrnej farmy až po stôl spotrebiteľa. Právne predpisy ustanovujú osobitné hygienické požiadavky týkajúce sa plavidiel, miest vykládky, spracovateľských prevádzok, prevádzkových procesov, skladovania s cieľom zabezpečiť, aby sa potraviny vyrábali bezpečne a aby sa zabránilo kontaminácii výrobkov počas spracovania. Opodstatnenie z hľadiska zdravotnej bezpečnosti má odbyt vyprodukovaných rýb v lokalitách ich výroby alebo predaj priamo na farme, čím sa zachováva akvakultúrna produkciu čerstvých a zdraviu prospešných potravín.

POĎAKOVANIE

Príspevok bol podporený projektom KEGA 020UVLF-4/2024.

LITERATÚRA

1. NARIADENIE EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (EÚ) 2016/429 z 9. marca 2016 o prenosných chorobách zvierat a zmene a zrušení určitých aktov v oblasti zdravia zvierat („právna úprava v oblasti zdravia zvierat“). Ú. v. ES L 084 31.3.2016.
2. DELEGOVANÉ NARIADENIE KOMISIE (EÚ) 2020/691 z 30. januára 2020, ktorým sa dopĺňa nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2016/429, pokiaľ ide o pravidlá týkajúce sa zariadení pre akvakultúru a prepravcov vodných živočíchov. Ú. v. EÚ L 174, 3.6.2020.
3. DELEGOVANÉ NARIADENIE KOMISIE (EÚ) 2020/990 z 28. apríla 2020, ktorým sa dopĺňa nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2016/429, pokiaľ ide o požiadavky na zdravie zvierat a certifikáciu v prípade premiestňovania vodných živočíchov a produktov živočíšneho pôvodu z vodných živočíchov v rámci Únie. Ú. v. EÚ L 221, 10.7.2020.
4. DELEGOVANÉ NARIADENIE KOMISIE (EÚ) 2020/692 z 30. januára 2020, ktorým sa dopĺňa nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2016/429, pokiaľ ide o pravidlá týkajúce sa vstupu zásielok určitých zvierat, zárodočných produktov a produktov živočíšneho pôvodu do Únie a ich premiestňovania a zaobchádzania s nimi po ich vstupe do Únie. Ú. v. ES L 174 3.6.2020.
5. VYKONÁVACIE NARIADENIE KOMISIE (EÚ) 2020/2235 zo 16. decembra 2020, ktorým sa stanovujú pravidlá uplatňovania nariadení Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2016/429 a (EÚ) 2017/625, pokiaľ ide o vzory certifikátov zdravia zvierat, vzory úradných certifikátov a vzory certifikátov zdravia zvierat/úradných certifikátov na vstup zásielok určitých kategórií zvierat a tovaru do Únie a ich premiestňovanie v rámci Únie, úradnú certifikáciu týkajúcu sa takýchto certifikátov, a ktorým sa zrušuje nariadenie (ES) č. 599/2004, vykonávacie nariadenia (EÚ) č. 636/2014 a (EÚ) 2019/628, smernica 98/68/ES a rozhodnutia 2000/572/ES, 2003/779/ES a 2007/240/ES. Ú. v. ES L 442 30.12.2020.
6. VYKONÁVACIE NARIADENIE KOMISIE (EÚ) 2020/2236 zo 16. decembra 2020, ktorým sa stanovujú pravidlá uplatňovania nariadení Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2016/429 a (EÚ) 2017/625, pokiaľ ide o vzory certifikátov zdravia zvierat na vstup zásielok vodných živočíchov a určitých produktov živočíšneho pôvodu z vodných živočíchov do Únie a na ich premiestňovanie v rámci Únie a o úradnú certifikáciu

týkajúcu sa takýchto certifikátov, a ktorým sa zrušuje nariadenie (ES) č. 1251/2008vykonávacích nariadeniach Komisie (EÚ) 2020/2236. Ú. v. ES L 442 30.12.2020.

7. NARIADENIE EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (EÚ) 2017/625 z 15. marca 2017o úradných kontrolách a iných úradných činnostiach vykonávaných na zabezpečenie uplatňovania potravinového a krmivového práva a pravidiel pre zdravie zvierat a dobré životné podmienky zvierat, pre zdravie rastlín a pre prípravky na ochranu rastlín, o zmene nariadení Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 999/2001, (ES) č. 396/2005, (ES) č. 1069/2009, (ES) č. 1107/2009, (EÚ) č. 1151/2012, (EÚ) č. 652/2014, (EÚ) 2016/429 a (EÚ) 2016/2031, nariadení Rady (ES) č. 1/2005 a (ES) č. 1099/2009 a smerníc Rady 98/58/ES, 1999/74/ES, 2007/43/ES, 2008/119/ES a 2008/120/ES a o zrušení nariadení Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 854/2004 a (ES) č. 882/2004, smerníc Rady 89/608/EHS, 89/662/EHS, 90/425/EHS, 91/496/EHS, 96/23/ES, 96/93/ES a 97/78/ES a rozhodnutia Rady 92/438/EHS (nariadenie o úradných kontrolách). Ú. v. ES L 095 7.4.2017.
8. NARIADENIE (ES) č. 178/2002 EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY z 28. januára 2002, ktorým sa ustanovujú všeobecné zásady a požiadavky potravinového práva, zriaďuje Európsky úrad pre bezpečnosť potravín a stanovujú postupy v záležitostiach bezpečnosti potravín. Ú. v. ES L 031 1.2.2002.
9. NARIADENIE EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 852/2004 z 29. apríla 2004 o hygiene potravín. Ú. v. ES L 139 30.4.2004.
10. NARIADENIE EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 853/2004 z 29. apríla 2004, ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu. Ú. v. ES L 139 30.4.2004.
11. VYKONÁVACIE NARIADENIE KOMISIE (EÚ) 2019/627 z 15. marca 2019, ktorým sa stanovujú jednotné praktické opatrenia na vykonávanie úradných kontrol produktov živočíšneho pôvodu určených na ľudskú spotrebu v súlade s nariadením Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/625 a ktorým sa mení nariadenie Komisie (ES) č. 2074/2005, pokiaľ ide o úradné kontroly. Ú. v. ES L 131 17.5.2019.
12. NARIADENIE KOMISIE (ES) č. 2073/2005 z 15. novembra 2005, o mikrobiologických kritériách pre potraviny. Ú. v. ES L 338 22.12.2005.
13. NARIADENIE KOMISIE (EÚ) č. 37/2010 z 22. decembra 2009 o farmakologicky účinných látkach a ich klasifikácii, pokiaľ ide o maximálne limity rezíduí v potravinách živočíšneho pôvodu. Ú. v. ES L 015 20.1.2010.

14. NARIADENIE KOMISIE (EÚ) 2023/915 z 25. apríla 2023 o maximálnych limitoch pre niektoré kontaminanty v potravinách, ktorým sa zrušuje nariadenie (ES) č. 1881/2006. Ú. v. EÚ L 119, 5.5.2023.
15. NARIADENIE EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (ES) č 396/2005 z 23. februára 2005 o maximálnych hladinách rezíduí pesticídov v alebo na potravinách a krmivách rastlinného a živočíšneho pôvodu a o zmene a doplnení smernice Rady 91/414/EHS. Ú. v. EÚ L 70, 16.3.2005.

Kontaktná adresa: Alena Nagyová, MVDr., PhD. Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice; E-mail: alena.nagyova@uvlf.sk

SLEDOVÁNÍ CELKOVÉHO POČTU MIKROORGANISMŮ U VZORKŮ CHLAZENÝCH DRŮBEŽÍCH PRSOU S OHLEDEM NA PORUŠENÍ TEPLOTY PŘI TRANSPORTU

THE AEROBIC PLATE COUNT MONITORING IN CHILLED CHICKEN BREAST SAMPLES WITH RESPECT TO TEMPERATURE CHANGES DURING TRANSPORT

Necidová Lenka[1], Bursová Šárka[1], Haruštiaková Danka[2], Zouharová Alena [1], Bartáková Klára[1]

[1]Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno, [2]Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita Brno

ABSTRACT

The aim of the study was to assess the effect of inadequate transport on the result of microbiological analyzes of chilled chicken breast. During transport chilled poultry meat products must be kept at a temperature below 4 °C (Regulation (EC) No 853/2004). Chilled poultry meat (chicken legs) was packaged in normal atmosphere (hereinafter referred to as simple packaging) and modified atmosphere (MAP) for the purposes of the experiment. The model experiments simulated an increase of temperature during the transport to 8, 11, 14, 17, 20 and 25 °C. The exposure time was 1, 2, 3, and 4 h. The aerobic plate count (APC), pH and water activity (aw) in the samples were determined immediately after exposure to higher temperature (0 h), 3 h and 24 h after returning to the adequate temperature (4 °C). The APC values were influenced by temperature changes and time of analysis after exposure to higher temperature. CPM limits were exceeded in significantly fewer cases (6) for meat in MAP packaging than for samples in plain packaging (27).

Key words: *chilled poultry meat, packaging, microbiological quality*

ÚVOD

Maso drůbeže musí být po jatečném opracování, po prohlídce, porcování a popřípadě zabalení (pokud se maso porcuje za tepla) co nejdříve zchlazeno na teplotu 4 °C a nižší. Legislativní požadavek na teplotu skladování včetně transportu chlazeného drůbežího masa uvádí nařízení (ES) č. 853/2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu ve znění pozdějších předpisů (Oddíl II, Kapitola IV). Syrové maso včetně drůbežího je velmi rychle se kazící komoditou a podporuje mikrobiální růst i v případě, že je

skladováno chlazené (Säde et al., 2013). V případě transportu vzorků chlazených potravin do laboratoře je velmi důležité dodržet odpovídající teplotní řetězec. Při zvýšení teploty potravin může dojít k nárůstu kontaminující mikroflóry. Modelové studie jsou zaměřeny na chlazenou drůbež (kuřecí prsa) v prostém balení a v balení s modifikovanou atmosférou (MAP) a simulují porušení chladírenského řetězce při odběru a transportu vzorků.

Cílem studie bylo posoudit vliv neadekvátního transportu na výsledek mikrobiologických analýz chlazeného drůbežího masa. Výsledky studie slouží k nastavení maximální délky přerušení teplotního řetězce, která nebude mít negativní dopad na výsledný mikrobiologický profil chlazené drůbeže. Tyto výsledky umožňují definovat přijatelný postup při odběru a transportu vzorků chlazené drůbeže, především s ohledem na minimalizaci případného znehodnocení vzorku či zpochybnění výsledků analýz. Statistické hodnocení výsledků dále posuzuje, jakým způsobem se na počtu mikroorganismů projeví doba zahájení vyšetření vzorku, která uplyne od skončení působení teploty porušení.

MATERIÁL A METODIKA

Jako materiál byla v tržní síti zakoupena chlazená drůbeží prsa v prostém balení a v MAP. Vzorky byly dopraveny do laboratoře při teplotě maximálně 4 °C a při této teplotě byly skladovány až do zahájení pokusu. Prosté balení představovalo zabalení kuřecích prsou v polypropylenových (PP) miskách přetažených polyetylenovou (PE) průtažnou folií, balení v MAP pak kuřecí prsa v PP miskách zatavených PE folií naplněných směsí plynů používaných v tržní síti pro tvorbu ochranné atmosféry.

Modelové pokusy simulovaly zvýšení teploty při transportu vzorků na 8, 11, 14, 17, 20 a 25 °C. Doba expozice teplot byla 1, 2, 3 a 4 h. Analýzy byly provedeny ihned po expozici zvýšené teplotě (0 h), za 3 h a za 24 h po návratu do adekvátní teploty. V rámci jedné šarže byly prováděny 3 paralelní stanovení. Jako kontrolní vzorky byly použity vzorky chlazených kuřecích stehen skladovaných při teplotě 4 °C (teplota požadovaná legislativou).

U analytických vzorků byly sledovány celkové počty mikroorganismů (CPM) plotnovou metodou dle ČSN EN ISO 4833-1 Mikrobiologie potravinového řetězce – Horizontální metoda pro stanovení počtu mikroorganismů – Část 1: Technika přelivem a počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C (2013) s využitím agaru s glukózou, tryptonem a kvasničním extraktem (HiMedia, India).

Původní hodnoty počtu KTJ/g byly logaritmicky transformovány s použitím dekadického logaritmu a vyjádřeny pomocí průměru a střední chyby průměru. Celkový počet mikroorganismů zaznamenaný ve vzorcích, které nebyly vystaveny zvýšené teplotě, byl použit pro výpočet mezních hodnot dle normy ČSN EN ISO 7218 (2008). Tyto mezní hodnoty (horní

mez) určují hranici počtu mikroorganismů, která by neměla být překročena. Jelikož byl experiment rozdělen do několika časových období a porušení chlazení různými teplotami nebylo provedeno na vzorcích stejné šarže, byl CPM u vzorků po porušení chlazení vyjádřen jako násobek výchozí hodnoty (hodnota počtu mikroorganismů u vzorků bez porušení chlazení stejné šarže). Takto upravené hodnoty vzorků po porušení chlazení, které neodrážejí různý výchozí počet mikroorganismů různých šarží drůbežích stehen, byly statisticky analyzovány. K vyhodnocení vlivu teploty, délky porušení chlazení a doby vyšetření vzorku na upravené (poměrové) hodnoty CPM byl použit obecný lineární model (GLM) – ANCOVA. Doba vyšetření vzorku byla použita jako kategoriální proměnná, teplota a délka porušení chlazení jako spojité proměnné. Analýza byla provedena samostatně pro vzorky drůbežích stehen v prostém balení a pro vzorky v balení MAP. Všechny testy byly vyhodnoceny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Ke zpracování dat byl využit software Statistica, verze 14.0.

VÝSLEDKY A DISKUZE

CPM u drůbežích prsou v prostém balení překročil mezní hodnoty ve 27 případech (hodnoty zvýrazněny tučně a kurzívou v Tab. 1). U vzorků vyšetřovaných bezprostředně po porušení chlazení nebo za 3 h po porušení teploty byla horní mez CPM překročena v nižších počtech případů (7 a 5) oproti vyšetření vzorků až za 24 h po porušení teploty (15) (Tab. 1).

Mezní hodnoty CPM byly u masa v balení MAP překročeny ve výrazně menším počtu případů (6), a to především v případech, kdy byly vzorky vyšetřeny až za 24 h (Tab. 2).

Použití MAP je jednou z možností, jak prodloužit trvanlivost potravin (Zouharová et al., 2023a; Demirhan a Candogan, 2017; Jongberg et. al., 2014). Jak ukazují výsledky Zouharová et al. (2023b), hlavními komponenty směsi plynů v ochranné atmosféře baleného kuřecího masa jsou O_2 (71,70 ± 7,20 %) a CO_2 (17,90 ± 4,95 %).

Hauge et al. (2023) uvádí hodnoty CPM u jatečně upravených těl brojlerů po chlazení na dvou sledovaných porážkách 4,93 ± 0,31 a 4,70 ± 0,76 log KTJ/g, což koresponduje s hodnotami stanovenými na počátku modelových pokusů této studie. Vliv zvýšené teploty na CPM potvrdili Yimenu et al. (2019), kteří stanovili výchozí CPM ve vzorcích chlazeného drůbežího masa 4,45 log KTJ/g, hodnoty vzrostly na 7,3, 8,0, 8,1 a 8,7 log KTJ/g, což překročilo horní hranice mikrobiologické přijatelnosti (Tuncer a Sireli, 2008) po přibližně 9, 6, 3 a 2 dnech při 0, 5, 10 a 15 °C během skladování.

ZÁVĚR

Celkový počet mikroorganismů vzorků drůbežího masa se v důsledku porušení chlazení zvyšuje s vyšší teplotou a delší dobou expozice této vyšší teplotě. Významný vliv má i doba vyšetření vzorku po předchozím porušení chlazení. Porušení chladicího řetězce např. při transportu vzorku do laboratoře, může ovlivnit výsledky mikrobiologického hodnocení. Zejména v případech, kdy dochází k vystavení vzorku vyšší teplotě delší dobu, je nevyhnutelné vzorky analyzovat bezprostředně po příjmu do laboratoře.

Výsledky této dílčí studie umožnily vznik softwaru, který kvantifikuje riziko mikrobiální kontaminace potravin živočišného původu v důsledku narušení chladírenského řetězce, a to včetně vizualizace rizika. Uživatel zvolí typ potraviny a typ jejího balení, teplotu v transportním boxu (možnost nastavení od 5 do 25 °C, po 0,5 °C), které byl vzorek vystaven, délku expozice této zvýšené teplotě (od 0,5 hodiny do 4 hodin, možnost nastavení po 0,5 hod) a dobu setrvání vzorku ve vyhovující teplotě v ledničce/svozové lince do mikrobiologického vyšetření (od 0 do 24 hodin, možnost nastavení po 1 hod). Simuluje tak porušení chlazení při transportu vzorku. Software je volně přístupný na webové stránce https://webstudio.shinyapps.io/transportvzorku/. Jako výsledek je zobrazen předpokládaný počet mikroorganismů (uveden v násobcích výchozí hodnoty) a riziko narušení vzorku při transportu ve formě doporučení nebo nedoporučení vzorku k mikrobiologické analýze.

Tabulka 1. Změny v celkovém počtu mikroorganismů (CPM; log KTJ/g) u **chlazených drůbežích prsou v prostém balení** ve vztahu k teplotě, délce expozice zvýšené teplotě a době vyšetření vzorku (V0 – vyšetření bezprostředně po vystavení zvýšené teplotě, V3 – vyšetření vzorku 3 hodiny po ukončení expozice zvýšené teplotě, V24 – vyšetření vzorku 24 hodin po ukončení expozice zvýšené teplotě). Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr ± střední chyba průměru (N = 3; u výchozích hodnot N = 6 nebo 9). Hodnoty zvýrazněny tučně a kurzívou překročily horní mez pro danou teplotu.

Čas vyšetření	Teplota	Celkový počet mikroorganismů (log KTJ.g^{-1})					
		Před expozicí	Horní mez	Doba vystavení vzorků zvýšené skladovací teplotě 1 hodina	2 hodiny	3 hodiny	4 hodiny
V0	4 °C	4,97 ± 0,15	5,36			5,34 ± 0,12	
	8 °C	6,09 ± 0,15	6,48	5,04 ± 0,04	6,19 ± 0,08	6,13 ± 0,10	5,62 ± 0,20
	11 °C	6,09 ± 0,15	6,48	6,12 ± 0,13	5,50 ± 0,13	5,49 ± 0,00	5,60 ± 0,14
	14 °C	4,97 ± 0,15	5,36	4,58 ± 0,20	***5,59 ± 0,13***	***6,20 ± 0,89***	***5,55 ± 0,03***
	17 °C	4,97 ± 0,15	5,36	4,75 ± 0,23	5,27 ± 0,26	***5,53 ± 0,19***	***6,14 ± 0,05***
	20 °C	6,60 ± 0,16	7,01	6,69 ± 0,15	6,68 ± 0,23	6,35 ± 0,03	***7,09 ± 0,06***
	25 °C	6,60 ± 0,16	7,01	6,44 ± 0,11	6,79 ± 0,07	6,57 ± 0,18	***7,23 ± 0,01***
V3	4 °C		5,36			***5,76 ± 0,41***	5,28 ± 0,05
	8 °C		6,48	6,25 ± 0,26	6,17 ± 0,09	6,38 ± 0,07	5,87 ± 0,18
	11 °C		6,48	4,74 ± 0,28	5,71 ± 0,14	6,03 ± 0,17	5,41 ± 0,40
	14 °C		5,36	5,31 ± 0,43	5,29 ± 0,16	***6,31 ± 0,74***	5,18 ± 0,15
	17 °C		5,36	5,24 ± 0,10	4,81 ± 0,21	4,92 ± 0,21	4,82 ± 0,25
	20 °C		7,01	6,77 ± 0,07	6,39 ± 0,12	6,48 ± 0,21	***7,45 ± 0,18***
	25 °C		7,01	6,51 ± 0,25	6,87 ± 0,49	***7,18 ± 0,27***	***7,04 ± 0,23***
V24	4 °C		5,36	***5,37 ± 0,11***	4,95 ± 0,19		5,22 ± 0,16
	8 °C		6,48	6,11 ± 0,15	4,92 ± 0,09	6,45 ± 0,06	6,07 ± 0,17
	11 °C		6,48	***6,73 ± 0,17***	***6,58 ± 0,17***	6,20 ± 0,49	5,53 ± 0,39
	14 °C		5,36	5,03 ± 0,06	***5,74 ± 0,04***	***5,39 ± 0,11***	***6,67 ± 0,73***
	17 °C		5,36	4,87 ± 0,07	***6,48 ± 0,69***	***5,66 ± 0,02***	5,33 ± 0,05
	20 °C		7,01	***7,14 ± 0,05***	***7,34 ± 0,26***	***7,46 ± 0,09***	***7,44 ± 0,15***
	25 °C		7,01	6,87 ± 0,14	***7,40 ± 0,02***	***7,01 ± 0,03***	***7,73 ± 0,07***

Tabulka 2. Změny v celkovém počtu mikroorganismů (CPM; log KTJ/g) **u chlazených drůbežích prsou balených v ochranné atmosféře (MAP)** ve vztahu k teplotě, délce expozice zvýšené teplotě a době vyšetření vzorku (V0 – vyšetření bezprostředně po vystavení zvýšené teplotě, V3 – vyšetření vzorku 3 hodiny po ukončení expozice zvýšené teplotě, V24 – vyšetření vzorku 24 hodin po ukončení expozice zvýšené teplotě). Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr ± střední chyba průměru (N = 3; u výchozích hodnot N = 6 nebo 9). Hodnoty zvýrazněny tučně a kurzívou překročily horní mez pro danou teplotu.

Čas vyšetření	Teplota	Celkový počet mikroorganismů (log KTJ.g^{-1})					
		Před expozicí	Horní mez	Doba vystavení vzorků zvýšené skladovací teplotě 1 hodina	2 hodiny	3 hodiny	4 hodiny
V0	4 °C	4,26 ± 0,24	4,63			4,26 ± 0,06	
	8 °C	4,91 ± 0,21	5,44	5,13 ± 0,12	4,89 ± 0,22	4,75 ± 0,03	5,23 ± 0,09
	11 °C	4,91 ± 0,21	5,44	5,01 ± 0,06	4,73 ± 0,03	4,95 ± 0,13	5,12 ± 0,03
	14 °C	4,32 ± 0,13	4,68	4,01 ± 0,05	4,28 ± 0,15	3,97 ± 0,18	***4,77 ± 0,00***
	17 °C	4,32 ± 0,13	4,68	4,24 ± 0,12	4,35 ± 0,09	4,23 ± 0,14	4,37 ± 0,04
	20 °C	4,40 ± 0,19	4,87	4,22 ± 0,55	3,94 ± 0,24	3,94 ± 0,13	3,86 ± 0,24
	25 °C	4,40 ± 0,19	4,87	4,16 ± 0,33	4,11 ± 0,17	4,01 ± 0,10	4,05 ± 0,20
V3	4 °C		4,63			4,52 ± 0,34	4,48 ± 0,22
	8 °C		5,44	5,04 ± 0,08	4,88 ± 0,15	4,84 ± 0,10	4,72 ± 0,12
	11 °C		5,44	5,15 ± 0,13	4,97 ± 0,14	4,90 ± 0,03	***5,48 ± 0,07***
	14 °C		4,68	4,01 ± 0,05	4,38 ± 0,29	4,44 ± 0,21	3,99 ± 0,22
	17 °C		4,68	4,67 ± 0,15	4,40 ± 0,11	3,93 ± 0,04	4,53 ± 0,23
	20 °C		4,87	3,74 ± 0,15	3,61 ± 0,15	4,09 ± 0,09	3,93 ± 0,12
	25 °C		4,87	3,96 ± 0,20	3,89 ± 0,08	4,16 ± 0,45	4,05 ± 0,10
V24	4 °C		4,63	3,50 ± 0,10	4,46 ± 0,06		4,37 ± 0,34
	8 °C		5,44	4,42 ± 0,06	4,69 ± 0,55	4,58 ± 0,37	4,40 ± 0,10
	11 °C		5,44	5,01 ± 0,27	4,55 ± 0,29	5,18 ± 0,06	4,97 ± 0,04
	14 °C		4,68	4,17 ± 0,19	3,80 ± 0,07	***4,86 ± 0,11***	4,14 ± 0,03
	17 °C		4,68	4,18 ± 0,02	***5,10 ± 0,26***	***4,71 ± 0,13***	***4,68 ± 0,13***
	20 °C		4,87	4,13 ± 0,14	4,06 ± 0,20	4,00 ± 0,23	4,16 ± 0,12
	25 °C		4,87	4,12 ± 0,17	4,50 ± 0,19	4,12 ± 0,13	4,53 ± 0,13

LITERATURA

1. ČSN EN ISO 4833-1 (2014). Mikrobiologie potravinového řetězce – Horizontální metoda pro stanovení počtu mikroorganismů – Část 1: Technika přelivem a počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C.
2. ČSN EN ISO 7218 (2008). Mikrobiologie potravin a krmiv – Všeobecné požadavky a doporučení pro mikrobiologické zkoušení.
3. Demirhan, B., Candogan, K. 2017. Active packing of chicken meats with modified atmosphere including oxygen scavengers. *Poultry Science*, vol. 96, pp. 1394-1401.
4. Hauge, S. J., Johannessen, G. S., Haverkamp, T. H. A., Bjørkøy, S., Llarena, A. K., Spilsberg, B., Leithaug, M., Økland, M., Holthe, J., Røtterud, O-J., Alvseike, O., Nagel.Alne, G. E. 2023. Assesment of poultry process hygiene and bacterial dynamics along two broiler slaughter lines in Norway. *Food Control*, vol. 146, p. 109526.
5. Jongberg, S., Wen, J., Torngren, M. A., Lund, M. N. 2014. Effect of high-oxygen atmosphere packaging on oxidative stability and sensory quality of two chicken muscles during chill storage. *Food Packaging and Shelf Life*, vol. 1, pp. 38-48.
6. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienické předpisy pro potraviny živočišného původu. *Úřední věstník Evropské unie,* 2004, L. 139, 30. 4. 2004, p. 14–74. (ve znění pozdějších předpisů)
7. Säde, E., Muros, A., Björkroth, J. 2013. Predominant enterobacteria on modified-atmosphere packaged meat and poultry. *Food Microbiology*, vol. 34, pp. 252-258.
8. Tuncer, B., Sireli, U. T. 2008. Microbial growth on Broiler Carcasses Stored at Different Temperatures After Air- or Water- Chilling. *Poultry Science*, vol. 87, pp.793-799.
9. Yimenu, S. M., Koo, J., Kim, B. S., Kim, J. H., Kim, J. Y. 2019. Freshness-based real-time shelf-life estimation of packaged chicken meat under dynamic storage conditions. *Poultry Science*, vol. 98, pp. 6921-6930.
10. Zouharová, A., Bartáková, K., Bursová, Š., Necidová, L., Haruštiaková, D., Klimešová, M., Vorlová, L. 2023a. Packaging of meat and fish and its impact on the shelf life – a review. *Acta Veterinaria Brno*, vol. 92, pp. 63-76.
11. Zouharová, A., Bartáková, K., Necidová, L., Bursová, Š., Haruštiaková, D., Klimešová, M. 2023b. Zastoupení plynů v ochranné atmosféře baleného čerstvého masa a ryb z tržní sítě. *Maso*, vol. 34, no. 5, pp.28-32.

PODĚKOVÁNÍ

Práce byla finančně podpořena projektem NAZV QK21020245.

Kontaktní adresa: doc. MVDr. Necidová Lenka, Ph.D., Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, ČR; E-mail: necidoval@vfu.cz

SENZORICKÁ KVALITA FERMENTOVANÝCH SALÁM PO APLIKÁCIÍ EXTRAKTOV RASTLÍN

SENSORY QUALITY OF FERMENTED SAUSAGES AFTER APPLICATION OF PLANT EXTRACTS

Nosková Erika [1, 2], Reitznerová Anna [1], Mesarčová Lýdia [1], Várady Matúš [1], Semjon Boris [1], Marcinčák Slavomír [1]

[1]Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81, Košice

[2]Mecom group s.r.o., Poľná 4, 066 01 Humenné

ABSTRACT

In the experiment, Tokay salami was produced according to a traditional recipe in five variants (N, K, A, A+R, R) , which differed in the added antioxidant (without antioxidant, with added sodium erythorbate, acerola, rosemary, combination of acerola and rosemary extracts). After fermented process salami were sliced, packed in a protective modified atmosphere, stored at up to 4 °C in a refrigerator and subjected to individual analyses on days 0, 21 and 35 of storage. The addition of antioxidants increased the oxidative stability ($p < 0.05$) and also affected the colour stability of the products during storage ($p < 0.05$). Sensory evaluation showed no significant differences in the evaluated descriptors depending on the added antioxidants, and was influenced only on the storage time ($p < 0.05$).

Keywords:*:* rosemary, acerola, meat products, sensory analysis

ÚVOD

Fermentované mäsové výrobky (saláma, šunka a klobása) patria medzi obľúbené potraviny na celom svete s dlhoročnou tradíciou výroby (Gul, Singh, Wani, 2016). Pri ich výrobe sa obyčajne používajú štartovacie mikrobiálne kultúry zložené z baktérií mliečneho kvasenia rodu *Lactobacillus* produkujúce kyselinu mliečnu, pediokokov vyznačujúcich sa slabšou produkciou kyseliny mliečnej a netoxinogénnych kataláza-pozitívnych zástupcov rodov *Staphylococcus* a *Micrococcus*, ktoré majú schopnosť redukovať dusičnany a rozkladať vznikajúci peroxid vodíka. Na zlepšenie akosti a arómy tepelne neopracovaných mäsových výrobkov sa využívajú aj kvasinky a mikromycéty. Biologická fermentácia znižuje hodnoty pH a spolu so znížením aktivity vody (a_w) zaisťuje zdravotnú bezpečnosť a trvanlivosť mäsových výrobkov (Turek a kol., 2016). Fermentované mäsové výrobky obsahujú bielkoviny s vysokou biologickou hodnotou, vitamíny skupiny B (B_6 a B_{12}) a minerály, ale majú aj vysoký podiel

tuku, nasýtených mastných kyselín, sodíka a aditív, ktorých konzumácia je spojená s vyšším rizikom niektorých chronických ochorení (Selani et al., 2022). Vo všeobecnosti sú mäsové výrobky citlivejšie na oxidačné procesy kvôli vyššiemu obsahu tuku, prítomnosti prooxidantov (hemové pigmenty) a spôsobom spracovania (mletie, miešanie, solenie, zahrievanie, údenie), ktoré podporujú kontakt lipidov s kyslíkom a následne tvorbu voľných radikálov, ktoré iniciujú ďalšiu oxidáciu tukov (Estervéy, 2021). Tento nežiaduci proces možno obmedziť alebo spomaliť prídavkom antioxidantov.

Antioxidanty v mäsových výrobkoch zvyšujú oxidačnú stabilitu, zlepšujú farebnú stálosť a predlžujú trvanlivosť mäsových výrobkov (Selani et al., 2022). Na zníženie až elimináciu oxidácie tukov v mäsových výrobkoch používali syntetické antioxidanty ako butylhydroxyanizol a butylhydroxytoluén. Avšak mnohé krajiny zakázali ich používanie ako potravinárskych prídavných látok vzhľadom na ich potenciálnu toxicitu (Shahidi and Ambigaipalan, 2015). Táto skutočnosť spolu so súčasným spotrebiteľským trendom minimalizovať množstvo prídavných látok vo výrobkoch, podporila hľadanie náhrad vo forme zeleninových alebo rastlinných extraktov (získaných z ovocia, zeleniny, korenín, bylín, vrátane zvyškov vzniknutých pri spracovaní potravín) bohatých na bioaktívne zlúčeniny s antioxidačnou aktivitou, ktoré umožňujú nahradiť syntetické antioxidanty (Domínguez et al., 2019; Estévez et al., 2021; Pateiro et al., 2021). Medzi tieto rastlinné extrakty možno zaradiť acerolu a rozmarín.

Acerola (*Malphighia emarginata*) je bobuľa, ktorá rastie v tropických oblastiach Južnej Ameriky a Karibiku. Produkcia tohto ovocia sa v posledných rokoch zvýšila vďaka jeho fyzikálno-chemickým, organoleptickým a výživovým vlastnostiam a uplatneniu v potravinárskom, farmaceutickom a chemickom priemysle (Miskins, Do Nascimento, Colussi, 2023). Acerola je významným zdrojom vitamínu C (> 10g/kg ovocia) a dobrým zdrojom vitamínu A, v menšom množstve obsahuje vitamíny B_1, B_2, B_3, B_5 a E. Okrem vitamínov má acerola vysokú antioxidačnú kapacitu (antokyány, fenoly, flavonoidy a karotenoidy) (Fernandes et al., 2023). Zo zdravotného hľadiska majú zložky aceroly preukázateľný potenciál pri znižovaní zápalov, zmierňovaní oxidačného stresu a prevencii ochorení, ako sú cukrovka, dyslipidémia, obezita a rakovina (Laurindo et al., 2024; Olędzki and Harasym, 2024).

Rozmarín (*Rosmarinus officinalis* , L.) je aromatická rastlina z čeľade *Lamiaceae* a pochádza z oblasti Stredozemného mora. Extrakt alebo olej z rozmarínu je jedným z najštudovanejších prírodných konzervačných látok, ktorý spomaľuje priebeh oxidačných reakcií a rast mikroorganizmov v mäsových výrobkoch, čím predlžujú ich trvanlivosť. Biologické a funkčné vlastnosti rozmarínu sú spôsobené prítomnosťou bioaktívnych zlúčenín (fenolové diterpény, flavonoidy a triterpény), ktoré sú dobre známe pre svoje antioxidačné,

antimikrobiálne, protizápalové, protirakovinové a neuroprotektívne vlastnosti (Kaur et al., 2021).

Pridávanie rastlinných extraktov do fermentovaných mäsových výrobkov sa stáva v súčasnosti častejším trendom. Cieľom experimentu bolo vyrobiť mäsový výrobok s použitím aceroly a rozmarínu, pre vysoký obsah bioaktívnych látok s antioxidačnými vlastnosťami. V práci je porovnávaný vplyv prírodných antioxidantov – kyseliny askorbovej, aceroly a rozmarínu na chemické zloženie, oxidáciu tukov, farebnú stabilitu a organoleptické vlastnosti Tokajskej salámy skladovanej v ochrannej atmosfére pri teplote 4 °C.

MATERIÁL A METODIKA

Pre experimentálne účely bola vyrobená Tokajská saláma (tepelne neopracovaný mäsový výrobok – fermentovaný) podľa príslušnej receptúry spolupracujúceho podniku (Mecom s.r.o. Humenné) s prídavkom rôznych prírodných rastlinných extraktov – zdroj antioxidantov. Jednotlivé experimentálne skupiny salám boli označené podľa použitého antioxidantu: N – Tokajská saláma Natur, bez pridaných antioxidantov; K - Tokajská saláma Klasik, s prídavkom E 316, erytorban sodný, v množstve do 500 mg/kg výrobku ako súčasť koreniacej zmesi; A - Tokajská saláma Natur s prídavkom extraktu aceroly v množstve 0,19 % ako súčasť komerčného prípravku; A+R - Tokajská saláma Natur s prídavkom extrakov aceroly a rozmarínu v množstve 0,14 %, ako súčasť komerčného prípravku; R - Tokajská saláma s prídavkom extraktu rozmarínu v množstve 0,1 % ako súčasť komerčného prípravku. Vzorky salám po fermentačnom procese a dosiahnutí požadovaného pH a a_w boli nakrájané, balené v ochrannej atmosfére plynu (30 % CO_2 a 30 % N_2) a skladované 35 dní pri teplote do 4 °C v chladničke. Vzorky experimentálnych salám boli podrobené jednotlivým analýzam na 0., 21. a 35. deň skladovania.

Farba experimentálnych vzoriek salám bola meraná kolorimetricky prístrojom Chroma meter CR-410 (Konica Minolta, Japonsko; meracia plocha Ø 50 mm, osvetlenie D65, štandardný pozorovací uhol 2°). Kolorimetrické parametre analyzovaných vzoriek boli vyjadrené vo farebnom priestore CIE L*a*b*. Hodnota L* predstavuje svetlosť (v rozsahu od 0 – čierna po 100 – biela), a* červenosť (farbu medzi červenou a zelenou) a b* žltosť (farbu medzi modrou a žltou). Výsledky kolorimetrických parametrov boli spracované v programe Color Data Software CM-S100w SpectraMagic™ NX (Konica Minolta, Japonsko).

Senzorická analýza bola vykonaná v Špecializovanom senzorickom laboratóriu. Senzorický panel bol zložený z 5 poučených hodnotiteľov (mužov aj žien) vo veku od 28 do 60 rokov, ktorí boli pred začiatkom analýzy krátko preškolení. Pri zostavovaní protokolu pre posudzovanie experimentálnych vzoriek salám sa postupovalo podľa autorov Lawless

a Heymann (2010). Protokol pozostával z 9 bodovej hedonickej stupnice na hodnotenie vzhľadu na reze, konzistencie, vône, chuti a celkovej prijateľnosti predložených vzoriek nasledovne: 1 - veľmi zlý/á, 2 - zlý/á, 3 - menej chutný/á, 4 - neuspokojivý/á, 5 - priemerný/á, 6 - uspokojivý/á, 7 - chutný/á, 8 - dobrý/á, 9 - veľmi dobrý/á.

Výsledky meraní senzorických dát sme vyhodnotili použitím štatistického softvéru R - statistics software verzia 4.3.3 (R Core Team, 2025). V experimentálne vyrobených vzorkách salám sme ako hlavné faktory na analýzu zvolili vplyv pridaných antioxidantov (adit) a vplyv dĺžky skladovania vzoriek v chladničke (Fáza). Pre štatistické vyhodnotenie sme zvolili dvojcestnú metódu analýzy rozptylu (Two-way Analysis of Variance - ANOVA) a Tukeyho test pre viacnásobné porovnávanie priemerov s intervalom spoľahlivosti nastaveným na 95 %.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Fermentované mäsové výrobky sa okrem svojich senzorických vlastností a obsahu živín vyznačujú aj svojou stabilitou a možnosťou skladovania pri izbovej teplote (Flores et al., 2021). Avšak vysoký podiel tuku a mnoho vonkajších oxidačných faktorov si vyžaduje použitie antioxidantov na ochranu tukov.

V tabuľke 1 sú uvedené kolorimetrické parametre L*a*b* v experimentálnych vzorkách Tokajských salám. Svetlosť výrobku bola nameraná v rozmedzí L*= 45,98 až 49,75, pričom závisela od pridaného antioxidantu ($p < 0,001$) a na fáze skladovania ($p < 0,001$). Parametre pre červenú a* a žltú b* farbu mali rovnako štatisticky významné rozdiely v závislosti od pridaného antioxidantu ($p < 0,001$) a fáze skladovania ($p < 0,001$). Výraznejšiu farbu mala vzorka K – Tokajská saláma Klasik s prídavkom E 361. Karwowska et al. (2022) vo svojej publikácií, uvádzajú účinok bioaktívnych zložiek rastlinného pôvodu použitých pri výrobe fermentovaných mäsových výrobkov. Okrem spomaľovania oxidácie lipidov, bielkovín a myoglobínu, zmenou pH a aktivity vody sa vyznačujú aj vplyvom na kolorimetrické parametre. Van Buren et al., (2024) vo svojej práci pozorovali vplyv kombinácie aceroly a rozmarínu na trvanlivosť zmrazených hovädzích steakov, pričom zistili nielen zníženie oxidácie tukov, ale aj vplyv na farebnosť, predovšetkým zlepšenie kolorimetrického parametra a*, červenosť mäsa, tým že kyselina askorbová dokázala regenerovať tokoferoly a oddialiť oxidáciu myoglobínu a zmenu farby.

Tabuľka č. 1, Kolorimetrické parametre vzoriek Tokajskej salámy (priemer ± SD)

Vzorka	Fáza	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)
N	0	$46,72 \pm 0,34^{efg}$	$24,69 \pm 0,05^{e}$	$24,23 \pm 0,40^{f}$
K	0	$48,00 \pm 0,32^{cd}$	$24,88 \pm 0,13^{cde}$	$26,65 \pm 0,43^{cd}$
A	0	$46,73 \pm 0,52^{efg}$	$24,74 \pm 0,33^{e}$	$25,28 \pm 1,07^{ef}$
A+R	0	$46,30 \pm 0,93^{g}$	$24,66 \pm 0,17^{e}$	$24,27 \pm 1,18^{f}$
R	0	$47,47 \pm 0,36^{de}$	$24,04 \pm 0,29^{f}$	$24,91 \pm 0,85^{ef}$
N	21	$47,22 \pm 0,31^{def}$	$25,36 \pm 0,19^{b}$	$25,44 \pm 0,11^{def}$
K	21	$48,77 \pm 0,12^{bc}$	$25,18 \pm 0,08^{bc}$	$28,47 \pm 0,05^{a}$
A	21	$45,98 \pm 0,54^{g}$	$25,81 \pm 0,16^{a}$	$25,56 \pm 0,51^{de}$
A+R	21	$46,34 \pm 0,21^{fg}$	$25,73 \pm 0,15^{a}$	$25,64 \pm 0,41^{de}$
R	21	$46,27 \pm 1,04^{g}$	$24,81 \pm 0,10^{de}$	$25,27 \pm 1,23^{ef}$
N	35	$47,78 \pm 0,08^{d}$	$24,75 \pm 0,07^{e}$	$25,26 \pm 0,12^{ef}$
K	35	$49,50 \pm 0,03^{ab}$	$24,89 \pm 0,09^{cde}$	$28,56 \pm 0,03^{a}$
A	35	$48,00 \pm 0,05^{cd}$	$25,22 \pm 0,10^{b}$	$27,51 \pm 0,08^{abc}$
A+R	35	$47,97 \pm 0,04^{cd}$	$25,13 \pm 0,09^{bcd}$	$27,16 \pm 0,06^{bc}$
R	35	$49,75 \pm 0,10^{a}$	$24,25 \pm 0,08^{f}$	$27,91 \pm 0,07^{ab}$
p-Adit		$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$
p-Fáza		$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$

N – Tokajská saláma Natur, bez pridaných antioxidantov; K – Tokajská saláma Klasik s E 316; A – Tokajská saláma Natur s prídavkom Aceroly; A+R – Tokajská saláma Natur s prídavkom aceroly a rozmarínu; R – Tokajská salám s prídavkom rozmarínu; *p*-Adit: p hodnota pre hlavný faktor štatistickej analýzy vplyv prídavku antioxidantov; *p*-Fáza: p hodnota pre hlavný faktor štatistickej analýzy vplyv fázy výroby. Priemery zdieľajúci zhodný horný index v stĺpci, nie sú vzájomne štatisticky významné (Tukeyho test, $p < 0,05$).

Počas fermentácie mäsových výrobkov sa v dôsledku zložitých fyzikálnych, chemických a biochemických zmien tukov, bielkovín a iných látok v surovom mäse vzniká veľké množstvo aromatických a chuťových látok, ktoré v konečnom dôsledku dodávajú mäsovým výrobkom jedinečnú chuť (Munekata et al., 2022). Senzorické hodnotenie jednotlivých experimentálnych vzoriek Tokajskej salámy (Tabuľka 2) nepreukázalo významné štatistické rozdiely vo väčšine posudzovaných deskriptorov ($p > 0,05$) na základe pridaného antioxidantu, avšak hodnotenie v závislosti od fázy (doby skladovania) preukázalo vysokú štatistickú významnosť pri konzistencii, chuti a celkovej prijateľnosti ($p < 0,001$). Výsledky hodnotenia poukazujú na splnenie organoleptických požiadaviek Tokajských salám, uvedených v prílohe č. 3 k vyhláške č. 83/2016 Z. z., a to červenohnedá farba po paprike s nepravidelnou mozaikou chudých a tučných zŕn, na reze lesklá s typickou vôňou pre trvanlivý mäsový výrobok, so slanou a výrazne paprikovou chuťou. Porovnateľné bodové hodnotenie medzi experimentálnymi vzorkami salám potvrdzuje, že pridávanie prírodných extraktov z rastlín, ako zdrojov antioxidantov, neovplyvňuje chuť a vôňu, čo umožňuje ich použitie v tepelne neopracovaných výrobkoch bez obavy negatívneho ovplyvnenia senzorických vlastností.

Tabuľka č. 2, Senzorické hodnotenie vzoriek Tokajskej salámy (priemer ± SD)

Vzorka	Fáza	Vzhľad na reze	Konzistencia	Vôňa	Chuť	Celková prijateľnosť
N	0	$7,58 \pm 0,86^{ab}$	$6,83 \pm 0,52^{abcd}$	$6,33 \pm 1,21^{ab}$	$7,00 \pm 0,84^{ab}$	$7,00 \pm 0,84^{ab}$
K	0	$7,75 \pm 0,76^{ab}$	$6,92 \pm 0,38^{abcd}$	$6,75 \pm 1,04^{ab}$	$7,17 \pm 0,26^{ab}$	$6,83 \pm 0,75^{ab}$
A	0	$7,75 \pm 0,69^{ab}$	$7,08 \pm 0,38^{abc}$	$6,67 \pm 1,21^{ab}$	$7,58 \pm 0,86^{a}$	$6,75 \pm 1,13^{ab}$
A+R	0	$8,33 \pm 0,41^{a}$	$6,92 \pm 0,38^{abcd}$	$6,42 \pm 1,91^{ab}$	$6,25 \pm 1,60^{abc}$	$6,42 \pm 1,43^{ab}$
R	0	$7,58 \pm 1,50^{ab}$	$7,08 \pm 0,80^{abc}$	$7,83 \pm 0,93^{a}$	$6,67 \pm 0,98^{abc}$	$7,42 \pm 0,58^{a}$
N	21	$7,58 \pm 0,74^{ab}$	$5,58 \pm 1,02^{de}$	$5,75 \pm 1,29^{ab}$	$5,33 \pm 0,98^{bc}$	$6,08 \pm 0,97^{ab}$
K	21	$6,50 \pm 1,10^{b}$	$5,33 \pm 0,75^{e}$	$5,33 \pm 1,66^{b}$	$6,42 \pm 1,24^{abc}$	$6,33 \pm 1,25^{ab}$
A	21	$7,17 \pm 1,29^{ab}$	$6,25 \pm 1,08^{bcde}$	$6,42 \pm 1,02^{ab}$	$5,75 \pm 1,13^{abc}$	$7,00 \pm 0,55^{ab}$
A+R	21	$7,17 \pm 1,17^{ab}$	$6,08 \pm 1,16^{cde}$	$6,08 \pm 1,07^{ab}$	$4,67 \pm 2,44^{c}$	$4,83 \pm 2,73^{b}$
R	21	$7,17 \pm 0,88^{ab}$	$6,17 \pm 0,75^{cde}$	$5,83 \pm 1,37^{ab}$	$7,08 \pm 0,92^{ab}$	$5,75 \pm 1,64^{ab}$
N	35	$7,17 \pm 0,26^{ab}$	$7,42 \pm 0,74^{abc}$	$6,25 \pm 1,21^{ab}$	$5,67 \pm 0,75^{abc}$	$6,83 \pm 0,82^{ab}$
K	35	$6,67 \pm 0,93^{ab}$	$7,17 \pm 0,82^{abc}$	$6,83 \pm 0,61^{ab}$	$6,50 \pm 0,63^{abc}$	$6,83 \pm 0,41^{ab}$
A	35	$7,08 \pm 0,66^{ab}$	$7,83 \pm 0,41^{a}$	$6,92 \pm 0,74^{ab}$	$7,33 \pm 0,75^{ab}$	$7,33 \pm 0,26^{a}$
A+R	35	$7,17 \pm 0,61^{ab}$	$7,67 \pm 0,26^{ab}$	$6,67 \pm 0,68^{ab}$	$7,00 \pm 0,89^{ab}$	$7,17 \pm 0,41^{a}$
R	35	$6,92 \pm 0,86^{ab}$	$7,67 \pm 0,52^{ab}$	$7,00 \pm 0,71^{ab}$	$7,17 \pm 0,68^{ab}$	$7,17 \pm 0,41^{a}$
p-Adit		$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$
p-Fáza		$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$

N – Tokajská saláma Natur, bez pridaných antioxidantov; K – Tokajská saláma Klasik s E 316; A – Tokajská saláma Natur s prídavkom Aceroly; A+R – Tokajská saláma Natur s prídavkom aceroly a rozmarínu; R – Tokajská salám s prídavkom rozmarínu; Fáza 1: saláma krájaná, 0 deň ochrannej atmosféry plynu; Fáza 2: saláma krájaná, 21. deň ochrannej atmosféry plynu; fáza 3: saláma krájaná, 35. deň ochrannej atmosféry plynu; *p*-Adit: p hodnota pre hlavný faktor štatistickej analýzy vplyv prídavku antioxidantov; *p*-Fáza: p hodnota pre hlavný faktor štatistickej analýzy vplyv fázy výroby. Priemery zdieľajúci zhodný horný index v stĺpci, nie sú vzájomne štatisticky významné (Tukeyho test, $p < 0,05$).

ZÁVER

Z výsledkov analýz experimentálnych vzoriek Tokajskej salámy s prídavkom antioxidantov balených v ochrannej atmosfére a hodnotených v troch fázach skladovania vyplýva, že rastlinné extrakty z aceroly a rozmarínu, ktoré sa vyznačujú svojimi antioxidačnými vlastnosťami zabezpečili zvýšenie oxidačnej stability výrobkov v priebehu skladovania, čo sa prejavilo stabilnou farbou výrobkov počas skladovania. Senzorickým hodnotením nebol zistený výrazný vplyv na organoleptické vlastnosti, čo umožňuje použitie rastlinných extraktov pri výrobe fermentovaných mäsových výrobkov tohto typu.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Domínguez, R.; Pateiro, M.; Gagaoua, M.; Barba, F.J.; Zhang, W.; Lorenzo, J.M. (2019). A Comprehensive Review on Lipid Oxidation in Meat and Meat Products. *Antioxidants* , *8*, 429.
2. Estévez M. (2021). Critical Overview of the Use of Plant Antioxidants in the Meat Industry: Opportunities, Innovative Applications and Future Perspectives. Meat Sci.181:108610.
3. Fernandes, F.A.N.; Santos, V.O.; Gomes, W.F.; Rodrigues, S. (2023). Application of High-Intensity Ultrasound on Acerola (*Malpighia emarginata*) Juice Supplemented with Fructooligosaccharides and its effects on Vitamins, Phenolics, Carotenoids, and Antioxidant Capacity. *Processes 11*, 2243.
4. Karwowska, M.; Munekata, P.E.S.; Lorenzo, J.M.; Tomasevic, I. (2022). Functional and Clean Label Dry Fermented Meat Products: Phytochemicals, Bioactive Peptides, and Conjugated Linoleic Acid. Appl. Sci. 12, 5559.
5. Kaur, R., Gupta, T. B., Bronlund, J., & Kaur, L. (2021). The potential of rosemary as a functional ingredient for meat products- A review. *Food Reviews International*, *39*(4), 2212–2232.
6. Laurindo, L.F., Takeda, L.N., Machado, N.M., Otoboni, A.M.M.B., Goulart, R.A., Catharin, V.C.S., Silva, L.R., Barbalho, S.M., Direito, R. (2024). Health Benefits of Acerola (Malpighia spp) and its By-Products: A Comprehensive Review of Nutrient-Rich Composition, Pharmacological Potential, and Industrial Applications. Food Bioscience, Volume 62, 105422, ISSN 2212-4292.
7. Lawless, H. T. – Heymann, H. (2010). Sensory evaluation of food: Principles and practices. 2nd Ed. Springer_Verlag: New York, p. 596. ISBN 978-1-4419-6487-8.
8. Lorenzo, J. M. & Munekata, P., Pateiro, M., Domínguez-Valencia, R., Alaghbari, M., Tomasevic, I. (2021). Preservation of meat products with natural antioxidants from rosemary. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 854. 012053.
9. Marcinčák, S. Sokol, J., Turek P., Popelka, P., Nagy, J. (2006) Stanovenie malóndialdehydu v bravčovom mäse s použitím extrakcie na tuhej fáze a HPLC. In Chemické listy. ISSN 1213-7103, vol. 100, p. 528-532.
10. Miskinis, R. A., do Nascimento, L.´A., Colussi, R. J. (2023). Bioactive compounds from acerola pomace: A review. Food Chemistry, 404, Article 134613.

11. Flores, M., Perea-Sanz, L., Belloch, C. (2021) Chapter Four - Nitrite reduction in fermented meat products and its impact on aroma, Editor(s): Fidel Toldrá, Advances in Food and Nutrition Research, Academic Press, Volume 95, Pages 131-181.
12. Munekata, P.E.S.; Pateiro, M.; Tomasevic, I.; Domínguez, R.; Da Silva Barretto, A.C.; Santos, E.M.; Lorenzo, J.M. (2022). Functional Fermented Meat Products with Probiotics—A Review. J. Appl. Microbiol. 133, 91–103.
13. Olędzki R, Harasym J. Acerola (*Malpighia emarginata*) Anti-Inflammatory Activity-A Review. Int J Mol Sci. 2024 Feb 8;25(4):2089.
14. Pateiro, M.; Gómez-Salazar, J.A.; Jaime-Patlán, M.; Sosa-Morales, M.E.; Lorenzo, J.M. (2021). Plant Extracts Obtained with Green Solvents as Natural Antioxidants in Fresh Meat Products. *Antioxidants 10*, 181.
15. Righetto, A.M.; Netto, F.M.; Carraro, F. (2005). Chemical Composition and Antioxidant Activity of Juices from Mature and Immature Acerola (Malpighia emarginata DC). Food Sci. Technol. Int. 11, 315–321.
16. Selani MM, Herrero AM, Ruiz-Capillas C. (2022). Plant Antioxidants in Dry Fermented Meat Products with a Healthier Lipid Profile. Foods. Nov 8;11(22):3558.
17. Shahidi, F. and Ambigaipalan P. (2015).Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects – a review. J Funct Foods 18:820–897.
18. Toldrá, F. (2012). Biochemistry of Fermented Meat. In Food Biochemistry and Food Processing, 2nd ed.; Simpson, B.K., Ed.; John Wiley & Sons, Ltd.: Hoboken, NJ, USA, pp. 331–343. ISBN 9780813808741.
19. Van Buren, J. B., Epperson, B., Jepsen, S., Heimbuch, M., Oliver, K., Nasados, J., et al. (2024). Acerola cherry and rosemary extracts improve color and delay lipid oxidation in previously frozen beef. *Foods, 13*.
20. Xu, W., Nie, C., Li, Z., Qiu, S., Xiang, J., Zhou, Y., Tomasevic, I., Sun, W. (2025). Effect of green tea or black tea extract on lipid and protein oxidation in Cantonese sausage. J Sci Food Agric. Feb;105(3):1683-1690.

Kontaktná adresa: prof. MVDr. Slavomír Marcinčák, PhD., Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika, E-mail: slavomir.marcincak@uvlf.sk

VPLYV SEZÓNNYCH ZMIEN A ŠTÁDIA LAKTÁCIE NA PARAMETRE MLIEKA

IMPACT OF SEASONAL CHANGES AND LACTATION STAGE ON MILK PARAMETERS

Ondrašovičová Silvia [1], Zigo František [2], Lacková Zuzana [2], Farkašová Zuzana [2], Pecka-Kielb Ewa [3]

[1]Department of Biology and Physiology, [2]Department of Animal Nutrition and Husbandry, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 04181 Košice, Slovakia,[3] Department of Animal Physiology and Biostructure, Wroclaw University of Environmental and Life Sciences, Norwida 31, 50-375 Wroclaw, Poland

ABSTRACT

This study examined milk parameters in ruminants, focusing on dairy cows of the same breed observed across multiple seasons. Milk samples were analyzed using the Lactoscan SP analyzer, with twelve cows selected for regular sampling throughout the study. Key components, including fat, protein, lactose, urea, lactoferrin, and somatic cell count, were assessed. Results indicate a significant correlation between seasonal variations and the concentrations of fat, protein, urea, and lactoferrin. Additionally, the lactation phase significantly influenced protein, urea, and lactoferrin levels. These findings underscore the importance of considering seasonal factors in dairy herd management to enhance milk quality and nutritional value.

Key words: Lactoscan SP, dairy cows, milk, protein, fat

INTRODUCTION

Milk stands as one of the most essential food sources globally, providing vital nutrition to billions of people. Its significance extends beyond nourishment, deeply influencing economic stability, agricultural systems, and public health. The dairy industry is a cornerstone of the global economy, with global milk production reaching around 900 million tonnes annually, with this figure steadily rising each year. Approximately 75% of the world's population, equating to about 5.8 billion people, consumes milk or dairy products regularly, highlighting its cultural and dietary importance. The dairy sector is integral not only to nutrition but also to the livelihoods of millions of farmers, particularly in developing regions, thereby playing a critical role in food security and economic development (FAO, 2021).

Milk is a rich source of essential nutrients, including proteins, calcium, vitamins A and D, and several important minerals. It is particularly important for human growth, development, and health. Dairy products contribute significantly to global calcium intake, supplying nearly

60% of the recommended daily intake of this mineral worldwide. Furthermore, dairy serves as a primary source of high-quality protein, essential for the health of vulnerable groups, such as children, elderly individuals, and pregnant women (Pehrsson et al., 2019). As a nutrient-dense food, milk plays a pivotal role in promoting optimal growth, particularly in developing nations.

The growing global demand for dairy is fueled by population growth, rising incomes in emerging economies, and evolving dietary patterns. As the global population is expected to increase to approximately 9 billion by 2050, milk consumption is projected to rise by 50% over current levels. Innovations in dairy farming, including advancements in breeding, nutrition, and animal health, have significantly enhanced production efficiency and sustainability, contributing to meeting this demand (Haug et al., 2016).

This study aims to explore the primary factors that influence the nutritional composition of milk, focusing on components such as fat, protein, lactose, and somatic cell count (SCC). It also examines the seasonal and lactation-related variations in these parameters. Understanding these factors is crucial for optimizing milk production, ensuring the continued ability to meet global nutritional demands effectively.

MATERIALS AND METHODS

Farm and Housing Conditions

The practical part of this research was conducted on a farm that accommodates 350 Slovak Spotted dairy cows, located in the Stará Ľubovňa district within the Prešov region of Slovakia. This area lies in the northeastern part of the country, to the east of the High Tatras, at an elevation of 552.94 meters above sea level. The climate here is characterized by mild summers and cold, snowy winters. Average temperatures throughout the year range from -7 °C to 23 °C, with rare drops below -16 °C or rises above 28 °C.

The warm season lasts about 3.6 months (from May 23rd to September 11th), with daily maximum temperatures typically exceeding 18 °C. July tends to be the hottest month, with average highs of 22 °C and lows around 11 °C. Conversely, the cold season lasts roughly 3.5 months (from November 21st to March 4th), with average daily highs remaining below 4 °C. January is the coldest month, with average temperatures ranging from -7 °C to -1 °C.

The cows are kept in a modern high-air stall facility, divided into two main sections with a central feeding table. Each of these sections is further partitioned into four smaller subsections, each containing 42 cubicles arranged in three opposing rows. The aisles between these rows are equipped with automatic manure removal systems, ensuring smooth movement and efficient waste management during daily operations.

Milking and sampling

Cows from all sections were milked twice a day, at 5 a.m. and 4 p.m., using a parallel milking parlor with a capacity of 2 × 12 (BouMatic). Prior to milking, the udder and teats of the cows were disinfected with G-Mix Power (Agromont, SR), a solution containing chlorine dioxide. This cleaning process involved thoroughly wiping the udder with a disposable paper towel for 10 to 20 seconds. Following this disinfection, the first milk from each quarter was hand-drawn into dark-bottomed containers for subsequent sensory analysis.

During the milking process, the pulsation ratio was set at 60:40, operating at a frequency of 52 cycles per minute. Milking was automatically terminated when the milk flow decreased to 0.2 L/min. After the milking was completed, the teats were disinfected again using Power Blue Mix (Agromont, Slovakia), which contains lactic acid as its active ingredient. Once milking was finished, the cows were returned to their respective subsections, and the collected milk was stored in a tank maintained at a temperature between 4 and 6 °C to ensure its freshness and quality.

Laboratory analysis

Upon arrival, the milk temperature was immediately measured using a thermometer. If the temperature exceeded the acceptable range, the milk was discarded. The analysis of the milk was performed within 2 to 3 hours after milking to ensure the results' accuracy, as the milk's composition can alter over time due to microbial activity and chemical reactions.

The Lactoscan Milk Analyzer (manufactured by Milkotronic Ltd, Bulgaria) was employed to assess the milk's chemical properties, including fat, protein, lactose, SCC, urea, and lactoferrin. To maintain the reliability of the results, the device was thoroughly cleaned with distilled water after every 25 samples.

After the sampling process, a detailed cleaning protocol was followed, which involved rinsing with distilled water, cleaning with an alkaline solution, followed by another rinse with distilled water, cleaning with an acidic solution, and concluding with a final rinse using distilled water. This thorough cleaning procedure was essential to prevent cross-contamination and ensure that subsequent analyses were performed in ideal conditions.

The results of each analysis were recorded in the computer system, where each sample was assigned a unique serial number along with the corresponding data.

Statistical analysis

T-tests and ANOVA tests were utilized to compare the milk parameters across different seasons.

RESULTS AND DISCUSSION

The milk's fat content exhibited notable seasonal variation, reaching its peak in the fall at 4.16%, while it was at its lowest in the summer, measuring 3.57% (Table 1). The summer months, in particular, showed a greater degree of variability in fat levels, as reflected by a higher standard deviation. Protein content followed a similar seasonal pattern, with the highest average values found in fall and winter (3.78%) and the lowest in summer (3.45%). Unlike the fat content, the standard deviations for protein levels remained relatively low, indicating minimal seasonal fluctuations.

Lactose levels remained constant throughout the year, showing minimal variability and low standard deviations, highlighting its stable role in milk composition. Urea concentrations were lowest in winter (22.71 mg/dL) and highest in spring (35.40 mg/dL). Winter also had the smallest standard deviation for urea, indicating a more consistent composition among cows during this period, while spring and fall showed higher variability.

Lactoferrin levels peaked in fall (182.51 mg/L) and winter (180.39 mg/L) but were at their lowest in summer (147.59 mg/L), with these seasonal patterns mirrored by the respective standard deviations. The somatic cell count (SCC) was the lowest in spring (160.85 × 10^3 cells/ml) with the smallest standard deviation, indicating greater consistency during this season. In contrast, SCC was significantly higher in summer (744.39 × 10^3 cells/ml), likely due to increased environmental stress, as reflected by a higher standard deviation. The analysis of seasonal variations in milk components showed statistically significant differences in the levels of fat, protein, urea, and lactoferrin across seasons, whereas lactose did not exhibit significant seasonal variation.

Table 1. Seasonal variations in milk parameters

	Fall	Winter	Spring	Summer
Fat (%)	4.16 ± 0.35	3.95 ± 0.26	3.92 ± 0.28	3.57 ± 0.39
Protein (%)	3.78 ± 0.11	3.78 ± 0.18	3.50 ± 0.14	3.45 ± 0.13
Lactose (%)	4.87 ± 0.21	4.73 ± 0.23	4.83 ± 0.10	4.88 ± 0.16
Urea (mg/dL)	33.99 ± 5.52	22.71 ± 3.64	35.40 ± 5.43	32.32 ± 4.87
Lactoferrin (mg/L)	182.51 ± 26.50	180.39 ± 27.84	160.38 ± 17.79	147.59 ± 12.31
SCC (10^3 cells/ml)	350.27 ± 525.82	265.44 ± 352.76	160.85 ± 177.94	744.39 ± 1230.16

Note: SCC – somatic cell count.

Fat content differed notably between summer and the other seasons, with the largest difference observed between fall and summer (T-statistic = 3.89, p-value = 0.00078), followed by winter vs. summer (T-statistic = 2.75, p-value = 0.0116) and spring vs. summer (T-statistic = 2.49, p-value = 0.0206).

Similarly, protein content displayed significant seasonal variability. Major differences were found between fall and spring (T-statistic = 5.50, p-value = 1.56E-05) and fall and summer (T-statistic = 6.85, p-value = 6.88E-07). Winter protein levels were also significantly higher compared to spring (T-statistic = 4.42, p-value = 0.0002) and summer (T-statistic = 5.40, p-value = 1.97E-05).

Lactose levels remained stable across all seasons, with no statistically significant differences (p-values > 0.05).

Urea content showed significant variation, with highly significant differences between fall and winter (T-statistic = 5.91, p-value = 6.00E-06), winter and spring (T-statistic = -6.72, p-value = 9.26E-07), and winter and summer (T-statistic = -5.47, p-value = 1.66E-05).

Lactoferrin levels exhibited significant seasonal variations, with fall levels being significantly higher than in spring (T-statistic = 2.40, p-value = 0.02) and summer (T-statistic = 4.13, p-value = 0.0004). Winter lactoferrin levels also differed significantly from those in spring (T-statistic = 2.09, p-value = 0.04) and summer (T-statistic = 3.73, p-value = 0.001). The comparison between spring and summer approached statistical significance (T-statistic = 2.04, p-value = 0.05).

The seasonal variation in milk components is consistent with known physiological and environmental factors that influence dairy production. Fat content was notably lower in summer than in fall, winter, and spring. This variation can be attributed to the summer grazing conditions, which often involve lower fiber content in the forage, higher proportions of saturated fatty acids, and increased water content in the feed. These factors collectively contribute to reduced fat synthesis. Moreover, heat stress during the summer months exacerbates these effects by decreasing feed intake and altering energy metabolism, as shown in previous studies (Smith et al., 2017; Jones & Taylor, 2002).

Protein content was also significantly lower in the warmer seasons (summer and spring) compared to the colder months (winter and fall). This reduction can be attributed to the diminished feed intake under heat stress, as well as the higher availability of protein-rich feed in the colder seasons, which support greater protein synthesis (Johnson et al., 2018; White et al., 2015).

Lactose content, however, remained relatively stable throughout the seasons, with no significant variation observed. This stability in lactose synthesis suggests that it is less affected by environmental and dietary changes, which aligns with earlier findings (Kumar et al., 2019).

Urea concentrations showed distinct seasonal variation, with significantly lower levels observed in winter compared to other seasons. This can be explained by the dietary shifts in winter, where stored feeds offer better protein-to-energy ratios, which enhance nitrogen use efficiency and reduce excess urea production (Rodriguez & Diaz, 2003).

Lactoferrin concentrations were found to be significantly higher in winter and fall compared to summer and spring. This difference may be driven by the quality of the diet, the stage of lactation, and the animal's immune response to environmental stressors. Fresh forage in the warmer months may boost lactoferrin production due to its bioactive compounds, while heat stress and pathogen exposure during the summer can further enhance lactoferrin synthesis as part of the immune defense (Barker et al., 2014; Thompson et al., 2017).

CONCLUSION

This study emphasizes the significant impact of seasonal fluctuations on the composition of ruminant milk, particularly in terms of fat, protein, urea, and lactoferrin levels. Furthermore, the stage of lactation was shown to influence the concentrations of protein, urea, and lactoferrin. These results highlight the importance of integrating seasonal factors into dairy herd management practices to enhance both the quality and nutritional value of milk. A deeper understanding of these variations can assist in optimizing feeding strategies and overall herd health, leading to more efficient and sustainable dairy production.

REFERENCES

1. Barker, G., White, S., & Thomas, M. (2014). Seasonal influences on immune function and lactoferrin synthesis in dairy cows. *Journal of Dairy Science, 97*(7), 4796-4803.
2. FAO. (2021). The state of food and agriculture 2021: Making agri-food systems more resilient to shocks and stresses. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*.
3. Haug, W., Luthringer, E., & Scherf, D. (2016). Trends in global dairy production and demand. *Dairy Science and Technology, 101*(2), 1-12.
4. Johnson, P., Rogers, S., & Campbell, M. (2018). Impact of environmental conditions on protein metabolism in dairy cattle. *Animal Feed Science and Technology, 238*, 45-53.
5. Jones, R., & Taylor, D. (2002). Heat stress and its effects on milk production in dairy cattle. *Livestock Science, 78*(1), 1-12.

6. Kumar, S., Singh, A., & Sahoo, R. (2019). Lactose synthesis and stability in dairy cattle milk during environmental changes. *International Dairy Journal, 88*, 101-110.
7. Pehrsson, P. R., Harnly, J. M., & Moshfegh, A. J. (2019). Nutrient composition of dairy products. *Journal of Dairy Science, 102*(3), 1-15.
8. Rodriguez, J., & Diaz, M. (2003). Nitrogen utilization and urea synthesis in dairy cows fed winter stored feeds. *Journal of Animal Science, 81*(4), 567-572.
9. Smith, L., McDonald, T., & Thompson, R. (2017). Effects of grazing conditions on milk fat synthesis in dairy cows. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 65*(8), 1762-1771.
10. Thompson, S., Harris, C., & Thomas, J. (2017). The role of lactoferrin in immune response during heat stress in dairy cattle. *Animal Health Research Reviews, 18*(1), 55-62.
11. White, K., Black, G., & Lee, H. (2015). The seasonal variation in protein content in dairy cattle milk. *Journal of Dairy Research, 83*(2), 134-139.
12. ***Acknowledgments:*** This work was supported by the Research and Development Agency under Contract No. APVV-22-0457, SK-PL-23-0066 and NAWA BPN/BSK/2023/1/00049.

Contact address: Silvia Ondrašovičová, DVM. PhD., Department of Biology and Physiology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia, email: silvia.ondrasovicova@uvlf.sk

HYGIENICKÉ RIZIKÁ SPOJENÉ S VÝSKYTOM *YERSINIA ENTEROCOLITICA* VO VYSOKOHORSKOM PROSTREDÍ

HYGIENE RISKS ASSOCIATED WITH THE OCCURRENCE OF *YERSINIA ENTEROCOLITICA* IN HIGH-ALTITUDE ENVIRONMENTS

Pitoňáková Tatiana[1,2], Koščová Jana[1]

[1]Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

[2]Výskumný ústav vysokohorskej biológie, Žilinská univerzita v Žiline, Tatranská Javorina 7, 059 56 Tatranská Javorina, Slovenská republika

ABSTRACT

This research investigates the presence of pathogenic and potentially pathogenic bacteria, *Yersinia enterocolitica*, in the droppings of the red-breasted merganser (*Prunella collaris*) in hiking areas of high mountain environments. The aim is to highlight the pollution in these areas and the potential risks to the health of avifauna, as tourism in these sites can have a serious negative impact on this sensitive ecosystem. The prevalence of *Yersinia enterocolitica* was higher in areas with intense tourist activity, suggesting a direct impact of human activity on microbial contamination and potential deterioration of hygienic conditions in these habitats.

Key words: *Yersinia enterocolitica*, alpine ecosystem, real-time PCR, contamination

ÚVOD

Turistika vo vyšších nadmorských lokalitách ako sú štíty, sedlá a chaty môže mať vážny negatívny dopad na vysokohorské prostredie a jeho faunu. Tento ekosystém je citlivý na akýkoľvek minimálny zásah, či už klímy alebo človeka.

Vrchárka červenkavá (*Prunella collaris*), endemický vtáčí druh vyskytujúci sa v Západných Karpatoch v nadmorských výškach 1750 až 2600 m n. m., je transmigrujúci a čiastočne sťahovavý všežravec (Janiga, 2017; Janiga a kol., 2019). V minulosti bola označená ako vhodný druh pre biomonitoring alpínskeho prostredia (Janiga a kol., 2019) a vzhľadom na jej spôsob života môže zohrávať úlohu v šírení a udržiavaní baktérie *Yerisnia enterocolitica* vo vysokých nadmorských výškach. Výskyt *Y. enterocolitica* u vrchárky červenkavej už bol niektorými štúdiami potvrdený (Sedlárová 2004; Janiga a kol., 2007).

Yersinia enterocolitica je fakultatívne anaeróbna, Gram-negatívna, nesporulujúca baktéria z čeľade Enterobacteriaceae (Joutsen 2023). Je saprofytom životného prostredia, prežíva pri nízkych teplotách a jej výskyt v oblasti vysokohorskej turistiky, je obzvlášť dôležitý

z hľadiska bezpečnosti a hygieny. Tento potenciálne patogénny a zoonotický mikroorganizmus, prenášaný alimentárnou cestou, môže spôsobovať ochorenia ľudí a zvierat (Pilipčinec a kol., 2018).

Naša štúdia, nadväzujúca na štúdiu Novotný a kol. (2007), sa zameriava na typy odberných miest v súvislosti so sezónnou intenzitou turizmu a synantropizáciou fauny. Turisticky dostupné štíty, chaty a ubytovne sú miesta koncentrácie turistov, ktorých nezodpovedné správanie spôsobuje hygienické problémy a narúša ekosystém. Zvyšky jedál, odpadky a fekálie predstavujú ťažko riešiteľný problém v chránených územiach národných parkov, kde si pôvodná avifauna privykla na ľahko dostupnú ľudskú potravu alebo konzumáciu nepôvodnej flóry rastúcej v okolí „toaliet“ pri chatách. Cieľom práce je preukázať výskyt *Yersinia enterocolitica* u vybraného vtáčieho druhu v alpínskom vegetačnom stupni a jej kolobeh v prostredí.

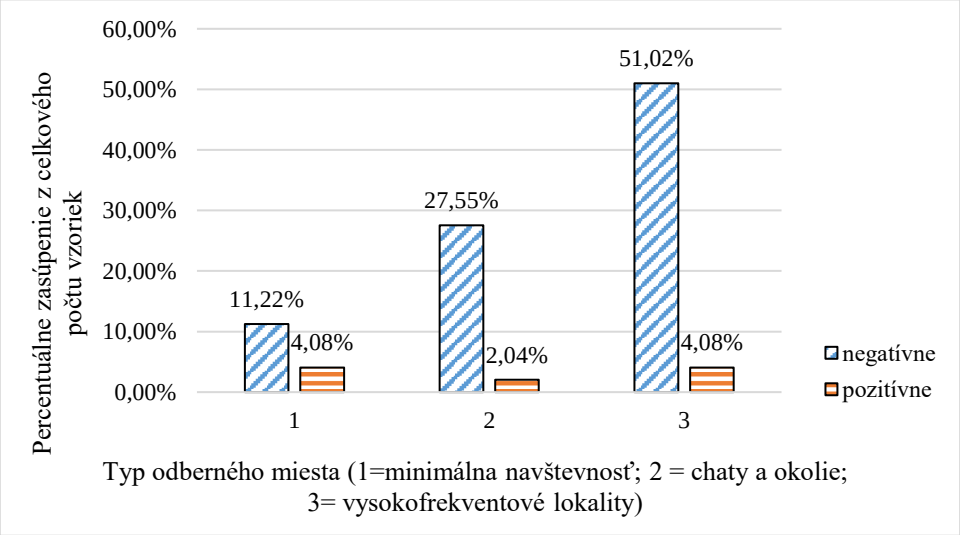
MATERIÁL A METODIKA

Vzorky trusu *Prunella collaris* boli odoberané od augusta 2022 do konca roka 2023. Počty sa v jednotlivých mesiacoch líšili, v závislosti od výjazdov do terénu a výskytu sledovaného druhu. Lokality boli rozdelené do troch kategórií podľa frekvencie návštevnosti od minimálne navštevovaných lokalít (1) cez chaty a okolie (2) po vysoko frekventované miesta (3). Odobraté vzorky trusu boli laboratórne spracované, naočkovali sa do tryptón-sójového bujónu a ponechali sa pri 24 °C počas 48 hodín. Na identifikáciu bola použitá metóda real-time PCR (Bio-Rad Laboratories, Inc., California, USA) s použitím pozitívnej kontroly (referenčný kmeň *Yersinia enterocolitica* CCM 5671, Masarykova univerzita, Brno). Z pomnoženej kultúry sa odobrala reprezentatívna vzorka 1 ml do sterilnej 1,5 ml Eppendorf skúmavky. Následne bol vyizolovaný templát DNA pomocou PBS roztoku (pH = 7,4) a tepelnej denaturácie. Výsledná DNA bola rozsuspendovaná v 100 µl STE pufru. Supernatant sa prepipetoval do čistej mikroskúmavky a pomocou nanosprektrofometra bola zaznamenaná koncentrácia DNA. Metóda je špecifikovaná v STN P CEN ISO/TS 18867, kde sa deteguje gén *ail* (attachment and invasion locus) asociovaný s virulenciou *Yersinia enterocolitica*. Po vytvorení reakčného mixu, kde boli okrem základných komponentov (TaqMan RT-PCR Master mix) pre real-time PCR pridané aj primery F-real 10A a R-real 9A, bola vzorka vyhodnotená na základe amplifikačnej krivky. V každej PCR platničke, naplnenej vzorkami, sa nachádzala tiež pozitívna a negatívna kontrola. Teplotný profil reakcie bol 2 min/50 °C; 10 min/95 °C; 45-krát 15 s/95 °C a 60s/60 °C.

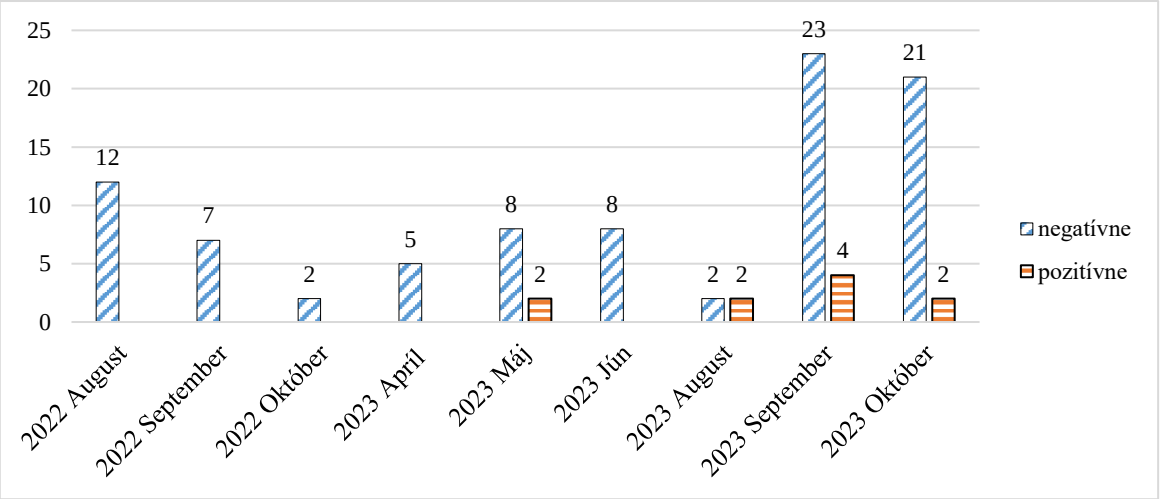
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výskyt *Yersinia enterocolitica* v truse vrchárky červenkavej bol vyšší v oblastiach s intenzívnou turistickou aktivitou. Tieto oblasti vykazovali zvýšenú mikrobiálnu kontamináciu, čo naznačuje priamy vplyv ľudskej činnosti na miestnu faunu. Výsledky naznačujú, že turizmus môže zhoršiť hygienické podmienky v prírodných biotopoch.

Ku koncu roka 2023 bolo celkovo odobratých 98 vzoriek. Z tohto množstva pripadalo 15 vzoriek na odberné miesto typu 1 (s minimálnou návštevnosťou), 29 vzoriek bolo odobratých na odbernom mieste typu 2 (chaty a okolie) a najvyšší počet, 54 vzoriek, pochádzal z odberného miesta typu 3 (vysoko frekventované lokality). Pozitívne výsledky na *ail* gén tvorili 10 % z celkového počtu odobratých vzoriek. Percentuálne rozloženie odberov a výsledkov real-time PCR v rôznych lokalitách je znázornené v grafe č. 1. Z grafu je zrejmé, že najvyššia úspešnosť odberu vzoriek bola zaznamenaná v odbernom mieste typu 3 (55 %), čo naznačuje, že vtáctvo je adaptované na prítomnosť človeka a využíva ľahko dostupnú potravu. Podobné zistenia uviedli aj Novotný a kolektív (2007), ktorí zaznamenali 65 % záchyt yersínií v biotopoch ovplyvnených ľudskou činnosťou.



Graf 1 Počet vzoriek v jednotlivých typoch odberných miest zo skúmaného obdobia (%)



Graf 2 Počet vzoriek odobratých v mesačných intervaloch a pozitívna detekcia *Y. enterocolitica*

Časový priebeh odberov od augusta 2022 do konca roka 2023 s mesačnou periodicitou je vizualizovaný v grafe č. 2. Pozitívne nálezy boli zaznamenané výlučne v roku 2023, konkrétne v mesiacoch máj, august, september a október. Na základe týchto výsledkov predpokladáme, že výskyt pozitívnych vzoriek koreluje s obdobím kulminácie turistickej sezóny. August a september sa vyznačujú stabilným letným počasím, čo vedie k najvyššej návštevnosti turistov v tomto období. Podobný trend bol pozorovaný aj v štúdii Novotného a kolektívu (2007), ktorá potvrdila vyššiu prevalenciu *Yersinia enterocolitica* v letných mesiacoch, čo autori spájajú s hniezdením a ľahším šírením baktérie medzi jedincami.

ZÁVER

Zistený výskyt *Yersinia enterocolitica* v truse vrchárky červenkavej v turisticky exponovaných oblastiach poukazuje na potenciálne riziko prenosu patogénov v alpínskom prostredí. Vzhľadom na preukázaný vplyv turizmu na mikrobiálnu kontamináciu je nevyhnutné pokračovať v monitorovaní a hlbšom skúmaní interakcií medzi ľudskou činnosťou, environmentálnymi zmenami a zdravím voľne žijúcich živočíchov v týchto citlivých ekosystémoch. Ďalší výskum by sa mal zamerať na kvantifikáciu rizika prenosu a identifikáciu konkrétnych mechanizmov, ktorými turizmus ovplyvňuje šírenie patogénov.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. JANIGA M, HAAS M. Alpine accentors as monitors of atmospheric long-range lead and mercury pollution in alpine environments. *Environ. Sci. Pollut. Res*. 2019; 26: 2445-2454.

2. JANIGA M, SEDLÁROVÁ A, RIGG R, NOVOTNÁ M. Patterns of prevalence among bacterial communities of alpine accentors (*Prunella collaris*) in the Tatra Mountains. *J. Ornithol.* 2007; 148: 135–143.
3. JANIGA, M. Biology of alpine accentor IX. Overwiew of the breeding distribution of the Alpine Accentor (*Prunella collaris*) in the West Carpathians. *Oecolog. Mon.* 2017.
4. JOUTSEN S. Ail-positive yersiniain wild animals and the food chain. 2023.
5. NOVOTNÝ M, FEČKOVÁ M, JANIGA M, Lukáň M, NOVOTNÁ M, KOVALČÍKOVÁ Z. High incidence of *Yersinia enterocolitica* (Enterobacteriaceae) in Alpine Accentors (*Prunella collaris)* of the Tatra Mountains. *Acta Ornithologica*, 2007; 42(2), 137-143
6. PILIPČINEC, E., PISTL, J., ŽILKa, N., DORKO, E., KOŠČOVÁ, J., TKÁČIKOVÁ, Ľ., NEMCOVÁ, R., SEGURADO BENITO, I. Špeciálna bakteriológia. Gram-negatívne baktérie. *UVLF. Edičné stredisko a predajňa literatúry UVLF v Košiciach*. Prvé vydanie. 2018. Košice. ISBN 978-80-8077-571-1
7. SEDLÁROVÁ A. Microbial flora of digestive tract of *Prunella collaris*. MS Thesis, Pedagogic faculty CU, Ružomberok. 2004.

Kontaktná adresa: Pitoňáková Tatiana, Department of Microbiology and Immunology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: tatiana.pitonakova@student.uvlf.sk

ROZMANITOST PYLOVÝCH TAXONŮ V EVROPSKÝCH MEDECH

DIVERSITY OF POLLEN TAXA IN EUROPEAN HONEYS

Pospiech Matej[1], Dobeš Jan[1], Bartlová Marie[1], Javůrková Zdeňka[1], Tremlová Bohuslava[1], Marcinčák Slavomír[2], Csilla Benedek[3], Hernik Jozef[4]

[1]*Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika*

[2]*Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika*

[3]*Faculty of Health Sciences, Semmelweis University, Üllői út 26, Budapest, Maďarsko*

[4]*Department of Land Management and Landscape Architecture, Faculty of Environmental Engineering and Land Surveying, University of Agriculture in Krakow, 31-120 Krakow, Polsko*

ABSTRACT

The honey bee (*Apis mellifera*) plays a crucial role in the ecosystem as a primary pollinator of both agricultural and wild plants. Due to anthropogenic changes in the landscape, the occurrence of wild honey bees has decreased, yet they remain integral to the environment through managed beekeeping practices. This study aims to assess the diversity of pollen taxa in honey samples from various European countries and to verify the differences for determining the geographical origin of honey. A total of 144 honey samples from the Czech Republic, Slovakia, Poland, Hungary, Greece, and one sample labelled as EU origin were analysed using pollen analysis. The results indicate significant differences in the number of pollen taxa between countries. However, no significant differences were found in the Shannon diversity index among the countries. The findings support the use of pollen analysis for determining the botanical origin of honey, with an overall classification accuracy of 84%.

Key words: *Apis mellifera*, botanical composition, biodiversity, authenticity

ÚVOD

Včela medonosná je běžně zastoupena v zemích EU. Postupnou antroponizací krajiny dochází k úbytku výskytu včely medonosné jako volně žijícího organismu (Potts *et al.*, 2010). Včely jsou ale i tak nadále součástí krajiny a jedním z hlavních opylovačů hospodářských a volně rostoucích rostlin (LeBuhn a Luna 2021). Důvodem je využívání včel jako hospodářských zvířat k produkci medu a v menší míře také dalších včelích produktů. Chov včel není pouze komerční, ale často se setkáváme i s hobby včelařením.

Na chov včel má ve všech jeho aspektech vliv nektarová a pylová snůška. Jejich diverzita je klíčovým předpokladem pro dosažení komerčních úspěchů, ale také zdravých včelstev u hobby včelařů. Důvodem je, že nektarová snůška musí poskytovat energii v průběhu celého produkčního cyklu a pylová snůška představuje nezastupitelný zdroj bílkovin a probiotik a rovněž musí být zastoupená v průběhu celého produkčního cyklu.

Pro posouzení vhodnosti zvoleného stanoviště, tedy dostatečné bohaté snůšky, můžeme využít pylovou analýzu medu (Liadi *et al.,* 2022). Rozmanitost pylových taxonů, jejich množství, botanické zastoupení nám umožnuje určit dostupnost snůšky v průběhu roku. Výhodou pylové analýzy je také možnost průkazu botanického původu medu, kdy lze právě na základě geografického rozšíření botanických druhů určit země původu.

Cílem této práce bylo zjistit rozdíly v biodiverzitě lokalit napříč vybranými zeměmi EU a ověřit zjištěné rozdíly pro určení krajiny původu medu.

MATERIÁL A METODIKA

Pro stanovení biodiverzity, botanického zastoupení a určení krajiny původu bylo použito 144 vzorků medu z České republiky (ČR, n = 12), Slovenska (SK, n = 40), Polska (PL, n = 43), Maďarska (HU, n = 40), Řecka (GR, n = 8) a jeden med označený pouze krajinou původu EU. Medy byly získány od včelařů a také z tržní sítě.

Pylová analýza byla provedena podle schválené metodiky SVS ČR (Pospiech *et al.,* 2021). Klasifikace botanických taxonů probíhala podle dostupných pylových atlasů od přítomnosti daného pylu nad 3 %. Vyjádření výsledků je kvantitativní jako relativní zastoupení ve vzorcích, přičemž vzorky byly pro eliminaci náhodné chyby vyšetřeny vždy v duplikátech.

Výpočet biodiverzity „Shannonův index diversity“ vychází se studie Shannon (1948). Vztah Shannonova indexu je vyjádřen v rovnici 1.

$$H' = \sum_{i=1}^{S} p_i ln p_i$$

Rovnice 1, Shannonův index diversity, kde platí S = celkový počet druhů v daném vzorku; p_i = relativní abundance (podíl) druhu; ln = přirozený logaritmus

Statistické zpracování dat bylo provedeno pomocí programu XLSTAT (Addinsoft, USA). Byl použit Kruskal-Wallissův test s mnohonásobným porovnáním Tukey HSD na hladině významnosti $p < 0,05$, pro ověření využití metody pro průkaz geografického původu medu byl použit test lineární diskriminační analýzy, který byl vyjádřen jako míra správné klasifikace (CCR).

VÝSLEDKY A DISKUZE

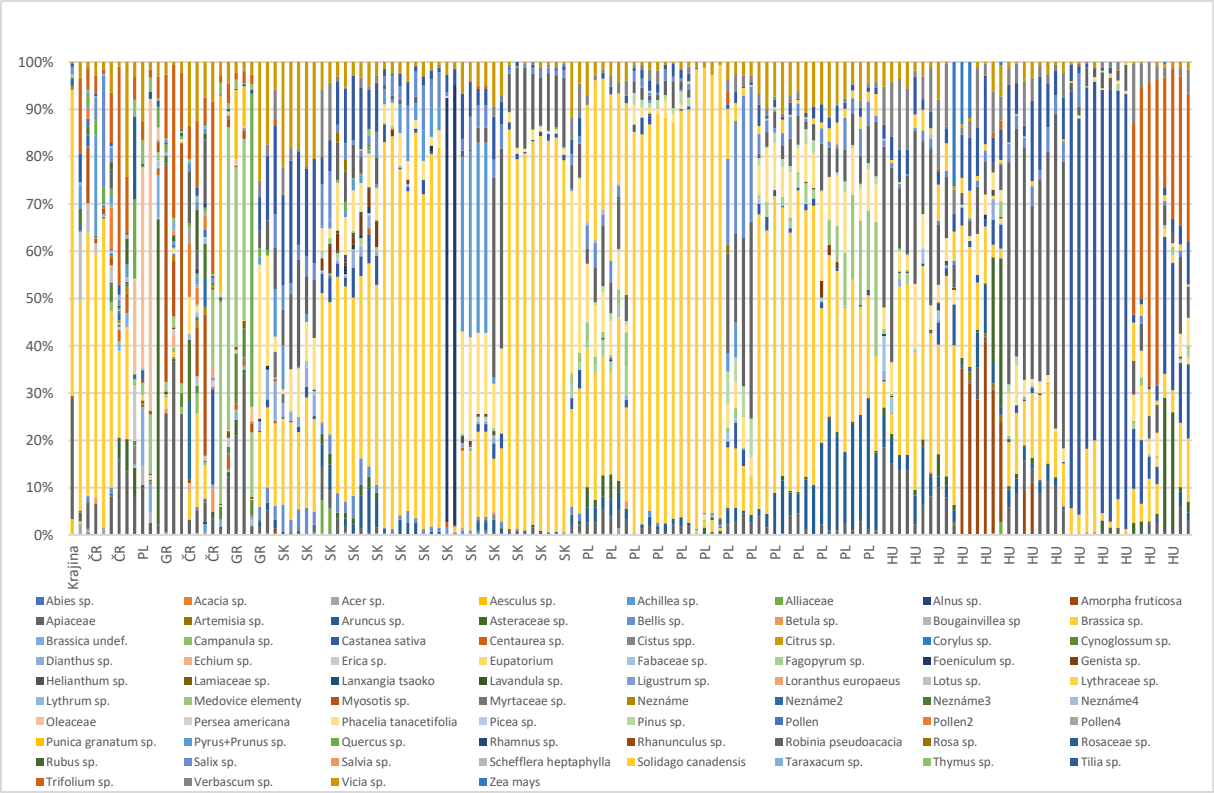
Počet taxonů a Shannonův index diversity jsou uvedeny v tabulce č. 1. Botanické zastoupení jednotlivých taxonů je zobrazeno v grafu č. 1. Shannonův index diverzity je široce používaný nástroj pro měření biodiverzity v ekologických studiích. Tento index kombinuje jak druhovou bohatost (počet druhů), tak rovnoměrnost zastoupení jednotlivých druhů v daném vzorku (Konopiński, 2020). V naší studii jsme použili Shannonův index diverzity k hodnocení rozmanitosti pylových taxonů v medu z různých evropských zemí.

Tabulka č. 1, Botanické taxony a Shannonův index diverzity v analyzovaných vzorcích

Země původu	Průměrný počet taxonů	SD	Shannonův index diversity	SD
EU	22,00*	*	1,94*	*
ČR	19,58 [b]	4,52	1,85 [a]	0,53
GR	20,25 [b]	2,82	1,58 [a]	0,24
HU	13,30 [a]	3,38	1,58 [a]	0,24
PL	13,77 [a]	3,46	1,54 [a]	0,65
SK	13,85 [a]	4,52	1,48 [a]	0,67

* Vzorek nebyl statisticky vyhodnocen z důvodu pouze jednoho odebraného vzorku

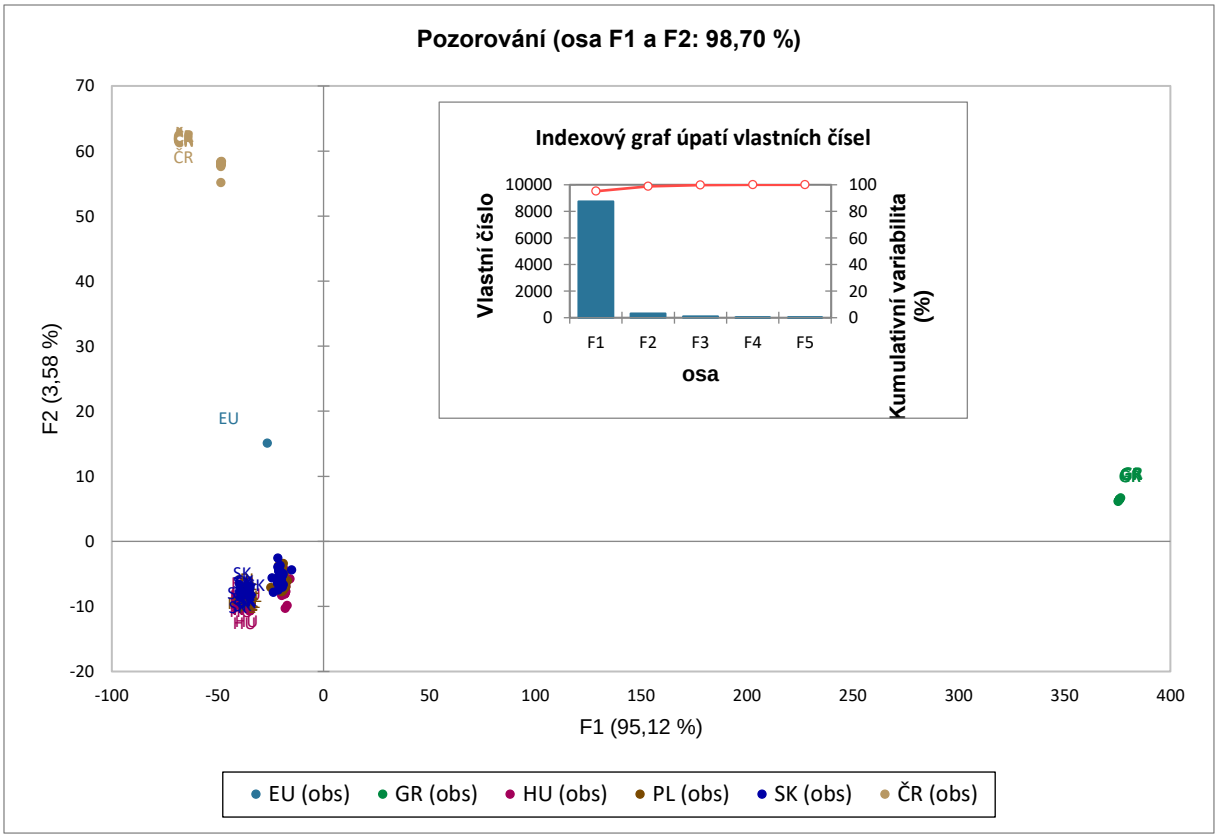
Tabulka 1 ukazuje statisticky významné rozdíly v počtu taxonů mezi jednotlivými zeměmi ($p < 0,05$). Přičemž medy z HU, PL a SK se statisticky významně nelišily. Zajímavým zjištěním je, že rozdíly diverzity nebyly potvrzeny. Tento výsledek je způsoben tím, že v medech s vyšším zastoupením botanických taxonů bylo zároveň vyšší relativní zastoupení některých taxonů a zbývající taxony byly minoritní, což snižuje Shannonův index. Tento jev je také patrný v grafu č. 1, kde stejná barva v sloupci indikuje jeden botanický taxon a velikost jeho relativního zastoupení. Z pohledu botanického zastoupení medy s vyšším Shannonovým indexem nemají „dominantní“ jednu barvu.



Graf č. 1, Graf relativního botanického zastoupení taxonů v jednotlivých zemích.

Výsledky tedy potvrzují, že mezi jednotlivými zeměmi jsou určité rozdíly, diverzita botanických druhů je ale srovnatelná. V SK, PL a některých medech z ČR snižuje diverzitu přítomnost dominantního taxonu řepky (*Brassica sp.*), v medech z GR přítomnost taxonů čeledi hluchavkovitých (*Thymus sp.*) a v HU zastoupení kaštanu (*Castanea sp.*). Podle Liadi *et al.* (2022) lze Shannonův index využít také k určení autenticity medu. Autorka uvádí, že vyšší hodnota Shannonova indexu značí vyšší pravděpodobnost, že se jedná o autentický med. Ve své studii zaznamenala hodnoty diverzity 2,4 a 2,3 u medů pocházejících z nigerijských savan. Nižší hodnota Shannonova indexu v naší studii 1,48-1,94 svědčí o odlišném typu krajiny, v níž dominují pyly ze zemědělských monokultur.

Dílčím cílem bylo také využít získaných výsledků botanických taxonů na ověření určení botanického původu medu. Pro tento účel byla využita lineární diskriminační analýza. Výsledky jsou zobrazeny v grafu č. 2. a potvrzují rozdíly v botanickém zastoupení botanických taxonů v medu, zejména pro medy z ČR, GR a EU. Medy SK, HU a PL jsou si více podobné zejména v 2D zobrazení prezentované grafem č. 2 (F1 a F2). Na úrovni více dimenzí vyjadřovaného jako vlastní číslo (Eigenvalue) je 100 % hodnoty dosaženo u pátého faktoru (F5).



Graf č. 2, Lineární diskriminační analýza analyzovaný medů

Vyjádřením míry správné klasifikace křížově validovaných výsledků bylo dosaženo u EU 100 %, GR 62,5 %, HU 92,5 %, PL 90,7 %, SK 85 % a u ČR 41,67 % CCR. Celková míra klasifikace byla 84 %. Naše dosažené výsledky jsou ve shodě s předchozími výzkumy, které ukazují, že botanické složení medu může být použito k určení geografického původu (Rodopoulou *et al.*, 2018; Von Der Ohe *et al.*, 2004). Další autoři úspěšně ověřili také možnosti průkazu geografického medu na základě kombinací více typů měření. Například studie Pasquini *et al.* (2014) použila chemometrické metody k charakterizaci geografického původu medu na základě jeho minerálního obsahu a antioxidační aktivity. Výsledky této studie ukázaly, že modely diskriminace mohou být použity k určení geografického původu medu s CCR až 66,67 %. Tato studie také ukázala, že minerální obsah a antioxidační aktivita mohou poskytnout dostatečné informace pro geografickou charakterizaci a diskriminaci medu.

Další studie provedená Dimakopoulou-Papazoglou *et al.* (2024) použila UV-vis spektroskopii kombinovanou s multivariační statistickou analýzou a chemometrikou k určení geografického a botanického původu medu. Výsledky této studie ukázaly, že diskriminace geografického a botanického původu byla úspěšně dosažena s vysokou přesností, citlivostí a specifitou pomocí statistických metod jako je analýza hlavních komponent (PCA), náhodný

les (RF), diskriminační analýza metodou parciálních nejmenších čtverců (PLS-DA) a datově řízené měkké nezávislé modelování analogií tříd (DD-SIMCA).

V naší studii jsme dosáhli vyšší míry správné klasifikace (84 %), což může být způsobeno použitím lineární diskriminační analýzy a pylové analýzy, které poskytují přesnější informace o geografickém původu medu na základě botanické diverzity jednotlivých zemí. Výsledky této studie jsou v souladu s předchozími výzkumy a ukazují, že pylová analýza může být účinným nástrojem pro určení geografického původu medu.

ZÁVĚR

Výsledky studie potvrdily rozdíly v zastoupení botanických taxonů v zemích EU, přičemž ale ve všech sledovaných zemích byla srovnatelná diverzita vyjádřena Shannovým indexem. Rozdíly v botanických taxonech lze rovněž použít na ověření geografického původu medu, kdy celková míra klasifikace u křížově validovaných výsledků byla 84 %. Odlišit od sebe lze podle dosažených výsledů také země blízce sousedící.

PODĚKOVÁNÍ

Příspěvek byl podpořen vládou České republiky, Maďarska, Polska a Slovenska grantovou agenturou Visegrad Grants z International Visegrad Fund. Název projekty: Sustainable Beekeeping in the Visegrad Group, číslo: 22220064 a z finančních prostředků na podporu výzkumu přidělených Ústavu hygieny a technologie potravin rostlinného původu Fakulty veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzity Brno.

POUŽITÁ LITERATURA

1. DIMAKOPOULOU-PAPAZOGLOU, D., PLOSKAS, N., KOUTSOUMANIS, K., & KATSANIDIS, E. Identification of geographical and botanical origin of Mediterranean honeys using UV-vis spectroscopy and multivariate statistical analysis. Journal of Food Measurement and Characterization, 2024, vol. 18, 3923-3934.

2. KONOPIŃSKI, Maciej K. Shannon diversity index: a call to replace the original Shannon's formula with unbiased estimator in the population genetics studies. PeerJ, 2020, vol. 8: e9391.
3. LIADI, M.T., AMUSA, T.O., AKINBOYE, A.A., & NGOR, J.T. *Assessing Pollen Diversity in Honey as an Indicator of Bee Colony Health and Honey Quality*. Bioscience Research Journal, 2022, vol. 33(3), 97–113.
4. LIMA MAP, CUTLER GC, MAZZEO G AND HRNCIR M. Editorial: The decline of wild bees: Causes and consequences. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2022. 10:1027169. doi: 10.3389/fevo.2022.1027169
5. PASQUINI, B., GOODARZI, M., ORLANDINI, S., BERETTA, G., & FURLANETTO, S. (2014). Geographical characterisation of honeys according to their mineral content and antioxidant activity using a chemometric approach. International Journal of Food Science and Technology, 2014, vol. 49, no. 5, 1351-1359. 2
6. POSPIECH, M., ŠTARHA, P., BEDNÁŘ, J., ČÍŽKOVÁ, H., HRABEC, P., KRUŽÍK, V., JAVŮRKOVÁ, Z., TITĚRA, D. Metodika semiautomatického stanovení pylového profilu –melissopalynologická analýza medu, MZe, 2021, 42 s. ISBN: 978-80-7305-858-6
7. Potts, S.G., Biesmeijer, J.C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., & Kunin, W.E. *Global pollinator declines: trends, impacts and drivers*. Trends in Ecology & Evolution, 2010, vol. 25, no. 6, 345–353.
8. RODOPOULOU, V., ET AL. Diversity of pollen taxa in European honeys. Journal of Apicultural Research, 2018, vol. 57, no. 2, pp. 123-130. ISSN 0021-8839.
9. SHANNON CE. 1948. A mathematical theory of communication. Bell System Technical Journal, 1948, vol. 27, 379-423.
10. Tella Liadi, M., Amusa, T.O., Akinboye, A.A., & Ngor, J.T. *Assessing Pollen Diversity in Honey as an Indicator of Bee Colony Health and Honey Quality*. Bioscience Research Journal, 2022, vol. 33, no. 3, 97–113.
11. VON DER OHE, W., PERSANO ODDO, L., PIANA, M.L., MERLOT, M., AND MARTIN, P. Harmonized methods of melissopalynology. Apidologie, 2004, vol. 35, no. 1, 18-25. ISSN 0044-8435.

Kontaktní adresa: doc. MVDr. Matej Pospiech, Ph.D., Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika; E-mail: mpospiech@vfu.cz

VLIV NANOČÁSTIC NA ANTIOXIDAČNÍ VLASTNOSTI PROTEINOVÝCH KOMPLEXŮ

EFFECT OF NANOPARTICLES ON ANTIOXIDANT PROPERTIES OF PROTEIN COMPLEXES

Pospiech Matej, Křištofová Kateřina, Bartlová Marie, Havlová Lenka, Javůrková Zdeňka, Čaloudová Jana, Tremlová Bohuslava

Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika

ABSTRACT

This study investigates the effect of iron (Fe), silver (Ag), and aluminium (Al) nanoparticles on the antioxidant properties of protein complexes, specifically gliadin. Gliadin samples were prepared and mixed with saturated solutions of nanoparticles at various concentrations (2.5-150 mg/ml). Antioxidant properties were evaluated using Folin-Ciocalteu, DPPH, ABTS, and FRAP tests. The results indicate that Fe and Ag nanoparticles enhance the antioxidant activity of gliadin, while Al nanoparticles have a complex concentration-dependent effect. Lower concentrations of Al decrease antioxidant activity, whereas higher concentrations increase it. The interactions between nanoparticles and gliadin, particularly at the level of electrostatic interactions and binding to amino acid residues such as cysteine, play a crucial role in these changes.

Key words: immunoreactivity, protein complex, alergenicity

ÚVOD

Potraviny představují základ výživy lidí. S ohledem na nové přístupy k výrobě, zpracování, složení a hygienickým požadavkům vznikají také nové, zatím nepopsané interakce mezi základními složkami potravin a používanými přídatnými látkami. Pro tuto studii byly vybrány v potravinářství povolené nanočástice železa (Fe), stříbra (Ag) a hliníku (Al) (EFSA, 2015, 2016, 2008). Jako základní matrice byla použita nejrozšířenější bílkovina využívaná při výrobě potravin gluten (lepek).

Gluten je tvořen bílkovinami ze skupiny gliadinů a gluteninů. Unikátní vlastností těchto bílkovin je schopnost vytvářet složité polymerní struktury, které se významně podílejí na formování potravin, kde je gluten použit (Wieser *et al.*, 2023). Využití má hlavně v pekárenských výrobcích, ale setkáváme se také s jeho využitím v masných, mléčných a veganských výrobcích. Kromě technologických vlastností má také vliv na antioxidační

stabilitu potraviny. U gliadinu byla potvrzena antioxidační aktivita (Choi *et al.*, 2019), zejména pak u hydrolyzovaných frakcí (Alashi *et al.*, 2014). Příčiny změny antioxidačních vlastností zatím nejsou dostatečně popsány. Předpokládá se, že dochází k interakcím mezi nanočásticemi a proteiny zejména na úrovni elektrostatických interakci které mohou vést k změně struktury proteinů, k jejich denaturaci a k navázání nanočástic na protein (Ghosh et al., 2013, 2014).

Cílem této práce bylo popsat změnu antioxidační aktivity vzniklých komplexů protein – nanočástice, na modelových vzorkcích gliadinu a nanočástic Fe, Ag, Al.

MATERIÁL A METODIKA

Byly připraveny vzorky s přídavkem gliadinu (10 mg/g v 55% alkoholu; Sigma-Aldrich, USA) a nasycené zásobní roztoky nanočástic železa (Thermofisher, GE), stříbra a hliníku (Sigma-Aldrich, USA), pro přípravu jednotlivých koncentrací. Výsledná směs s gliadinem byla připravena tak, aby bylo dosaženo požadované koncentrace nanočástic ve vzorcích 2,5- 150,0 mg/ml.

Antioxidační vlastnosti byly hodnoceny testy na obsah redukujících látek Folin-Ciocalteu, DPPH, ABTS, FRAP. Pro hodnocení obsahu redukujících polypeptidů a peptidů byla použita metoda Folin-Ciocalteu vyjádřeno na kyselinu gallovou (mg GAE/g). FRAP ABTS byli vyjádřeny jako TROLOX (mmol TE/l). Metodické postupy metod FRAP, ABTS a DPPH byly provedeny podle Xiaoa et al, 2020. Metoda Folin-Cicoalteu byla stanovena podle Zhang et al, 2006. Absorbance byla měřena pomocí spektrofotometru INFINITE 200 PRO (Tecan, Austria).

Statistické zpracování dat bylo provedeno pomocí programu XLSTAT (Addinsoft, USA). Byl použit Kruskal-Wallissův test s mnohonásobným porovnáním Tukey HSD na hladině významnosti $p < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Vliv přídavku nanočástic železa (Fe) na antioxidační vlastnosti gliadinu byl potvrzen pomocí metod Folin-Ciocalteu, FRAP, ABTS a DPPH pro všechny použité koncentrace. Výsledky metody Folin-Ciocalteu ukazují na významný nárůst redukující kapacity až při koncentracích od Fe 60,0 mg/ml a vyšších, přičemž nejvyšší hodnota byla pozorována u Fe 120,0 mg/ml (6,54 mmol GAE/l). V tomto parametru lze očekávat také interference přítomných nanočástic se spektroskopickým vyhodnocením. V parametru FRAP byl patrný progresivní nárůst antioxidační aktivity, s nejvyšší hodnotou rovněž při Fe 120,0 mg/ml (0,70 mmol TE/l). U metody ABTS došlo s rostoucí koncentrací nanočástic ke zvyšující se inhibici (tj. poklesu hodnot), což naznačuje efektivní odstranění radikálů, přičemž nejnižší hodnota (-11,27 mmol

TE/l) byla rovněž naměřena u Fe 120,0 mg/ml. Přičemž metoda DPPH vykazovala nejvyšší procento inhibice (tj. nejvyšší antioxidační aktivitu) při koncentraci Fe 150,0 mg/ml (27,66 %).

Tabulka č. 1, Vliv koncentrace přídavku nano Fe na antioxidační vlastnosti gliadinu

Koncentrace nanočástic mg/ml	Folin-Ciocalteu [mmol GAE/l]	FRAP [mmol TE/l]	ABTS [mmol TE/l]	DPPH [%]
Fe 0,0	$1,22\pm0,00^{abcde}$	$0,02\pm0,0^{a}$	$79,64\pm1,62^{a}$	$36,81\pm1,75^{ab}$
Fe 2,5	$0,81\pm0,02^{a}$	$0,05\pm0,01^{a}$	$-6,56\pm2,27^{abc}$	$57,74\pm1,43^{d}$
Fe 5,0	$0,85\pm0,11^{a}$	$0,08\pm0,01^{ab}$	$-5,78\pm0,24^{acd}$	$57,12\pm1,06^{d}$
Fe 10,0	$0,98\pm0,04^{ab}$	$0,16\pm0,01^{abcd}$	$-5,11\pm1,45^{ad}$	$54,84\pm0,87^{bcd}$
Fe 15,0	$1,16\pm0,07^{abcd}$	$0,13\pm0,00^{abc}$	$-9,12\pm0,25^{bcde}$	$55,59\pm1,35^{cd}$
Fe 30,0	$1,06\pm0,01^{abc}$	$0,16\pm0,01^{abcd}$	$-8,35\pm0,60^{abcd}$	$56,27\pm2,09^{cd}$
Fe 60,0	$1,88\pm0,20^{bcde}$	$0,51\pm0,12^{cd}$	$-10,81\pm0,18^{bce}$	$50,65\pm3,37^{abcd}$
Fe 90,0	$1,98\pm0,05^{cde}$	$0,44\pm0,01^{bcd}$	$-10,95\pm0,76^{be}$	$46,34\pm1,10^{abc}$
Fe 120,0	$6,54\pm1,17^{e}$	$0,7\pm0,12^{d}$	$-11,27\pm0,09^{e}$	$45,36\pm2,06^{abc}$
Fe 150,0	$4,98\pm0,26^{de}$	$0,57\pm0,10^{d}$	$-10,52\pm1,71^{be}$	$27,66\pm1,09^{a}$

Rozdílný index znamená statistický rozdíl ve sloupcích.

Získané výsledky ukazují na koncentraci-dependentní vliv Fe na antioxidační vlastnosti gliadinu, přičemž jednotlivé metody vykazují odlišnou citlivost. Zatímco FRAP a Folin-Ciocalteu reagují díky své závislosti na celkové redukční kapacitě vzorku pozitivně na vyšší koncentrace Fe, metody ABTS a DPPH rovněž vyšší inhibici TROLOX s rostoucí koncentrací přidaného Fe. Snižování antioxidační aktivity u FRAP a ABTS od Fe 150,0 mg/ml poukazuje pravděpodobně na komplexaci železa s funkčními skupinami gliadinu, což ovlivňuje schopnost vzorku neutralizovat volné radikály, a zároveň může při vyšší koncentraci docházet k fentonovským reakcím a tvorbě sekundárních radikálů, čímž se antioxidační účinek a inhibice TROLOX snižuje (Brand-Williams *et al.*, 1995).

Metoda ABTS, často citlivější jak na donory elektronů, tak vodíkové donory. V tomto případě potvrdila silný pokles hodnot, což koresponduje s rostoucí antioxidační aktivitou ve vyšších koncentracích. Nicméně negativní hodnoty mohou také naznačovat rušení signálu interferujícími produkty, které vznikají interakcí nanočástic se složkami média podobně jako u Folin-Ciocalteu. Ačkoliv jsou výsledky metody Folin-Ciocalteu interpretovány často jako „obsah polyfenolů“, ve vzorcích žádné polyfenolické sloučeniny přítomny nebyly. Reaktivita s Folin-Ciocalteuovým činidlem je způsobena přítomnosti aminokyselinových zbytků (zejména tyrosinu, cysteinu, histidinu) v peptidových strukturách gliadinu, které vykazují podobné redukční vlastnosti jako přírodní fenolické látky (Sarmadi and Ismail, 2010). Podobné trendy byly popsány také v literatuře – například pozorovali, že nanočástice Fe^{3+} mohou mít duální

antioxidační/prooxidační vlastnosti, v závislosti na koncentraci a přítomnosti aminokyselinových zbytků s redoxní aktivitou (Samrot *et al.*, 2022).

Přídavek Al ke gliadinu se projevil snížením hodnot Folin-Ciocalteu a FRAP u nižších koncentrací (2,5–10,0 mg/ml), zatímco vyšší koncentrace (30,0–150,0 mg/ml) vedly k nárůstu antioxidační aktivity, zejména u FRAP. U Folin-Ciocalteu došlo k nárůstu antioxidační aktivity od Al 30,0 mg/ml (1,87 mg GAE/g) ($p < 0,05$), respektive u Al 15,0 mg/ml (0,18 mmol TE/l) ($p > 0,05$) (Tabulka č. 2). Metoda ABTS ukázala vysoký stupeň inhibice už od nízkých koncentrací přídavku Al, což poukazuje na snížení volných radikálů. Nejnižší hodnota ABTS byla naměřena u 120,0 mg/ml (-10,97 umol TE/l). V případě DPPH bylo pozorováno snížení stupně inhibice při nižších koncentracích (2,5–15,0 mg/ml), s nejnižším stupněm inhibice u hodnot 2,5 mg/ml (58,01 %). Od koncentrace 30 mg/ml došlo k nárůstu inhibiční aktivity dle DPPH, přičemž nejvyšší stupeň inhibice byl zjištěn u 120 mg/ml (30,04 %).

Tabulka č. 2, Vliv koncentrace přídavku nano Al na antioxidační vlastnosti gliadinu

Koncentrace nanočástic mg/ml	Folin-Ciocalteu [mmol GAE/l]	FRAP [mmol TE/l]	ABTS [mmol TE/l]	DPPH [%]
Al 0,0	$1,22±0,00^{ab}$	$0,02±0,00^{a}$	$79,64±1,62^{a}$	$36,81±1,75^{ab}$
Al 2,5	$0,8±0,03^{a}$	$0,07±0,01^{ab}$	$-3,79±0,51^{ad}$	$58,01±0,29^{e}$
Al 5,0	$0,82±0,03^{a}$	$0,1±0,00^{ab}$	$-4,16±0,82^{acd}$	$55,61±0,47^{de}$
Al 10,0	$0,92±0,03^{ab}$	$0,12±0,01^{ab}$	$-3,88±0,64^{ad}$	$55,19±2,15^{cde}$
Al 15,0	$1,38±0,04^{abcd}$	$0,18±0,02^{bc}$	$-4,69±0,5^{abcd}$	$56,18±2,27^{de}$
Al 30,0	$1,87±0,01^{d}$	$0,16±0,01^{abc}$	$-6,01±0,77^{bcde}$	$50,99±2,20^{bcde}$
Al 60,0	$1,5±0,06^{bcd}$	$0,16±0,01^{bc}$	$-8,34±0,55^{bce}$	$40,25±1,93^{abcd}$
Al 90,0	$1,33±0,08^{abc}$	$0,23±0,01^{c}$	$-7,71±0,26^{bcde}$	$38,16±2,10^{abc}$
Al 120,0	$1,54±0,10^{bcd}$	$0,22±0,03^{c}$	$-10,97±0,43^{be}$	$30,04±2,18^{a}$
Al 150,0	$1,71±0,06^{cd}$	$0,23±0,01^{c}$	$-10,91±0,42^{e}$	$40,28±4,06^{abc}$

Rozdílný index znamená statistický rozdíl ve sloupcích.

Výsledky ukazují, že nanočástice Al ovlivňují antioxidační vlastnosti gliadinu v závislosti na koncentraci. Zpočátku nižší koncentrace Al mírně zvyšují antioxidační aktivitu (DPPH, FRAP), což může být způsobeno stabilizací volných radikálů prostřednictvím vazby na aminokyselinové zbytky gliadinu, především ty obsahující síru (např. cystein) (Mirzajani and Pooya, 2019).

Vyšší koncentrace (nad 30,0 mg/ml) již ale vedou k nárustu antioxidační aktivity dle DPPH, což naznačuje možnou agregaci nanočástic a menší stupeň inhibice redukčních vlastností gliadinu, jak bylo popsáno i u jiných kovových nanočástic (Tavaf *et al.*, 2017). Tento efekt je rovněž patrný z metod Folin-Ciocalteu, kde při vysokých koncentracích dochází k zesílení redukčních vlastností, ale současně k možné tvorbě vedlejších reaktivních druhů.

Literatura popisuje podobné jevy, kdy nanočástice Al mohou interagovat s proteiny prostřednictvím elektrostatických interakcí a měnit jejich prostorovou konformaci, což se odráží na jejich schopnosti vázat a/nebo deaktivovat radikály (Moradi *et al.*, 2022).

Odezva Folin-Ciocalteu reakce se s rostoucí koncentrací nanočástic Ag zvyšovala. Z hodnoty 1,22 ± 0,0 mg GAE/l u kontrolního vzorku až na 28,94 ± 0,4 mg GAE/l při koncentraci 150,0 mg/ml Ag. Statisticky významné rozdíly vůči kontrole byly zaznamenány od koncentrací vyšších než Ag 30,0 mg/ml. FRAP metoda ukázala rovněž postupné zvyšování antioxidační aktivity, a to z hodnoty 0,02 ± 0 mmol TE/l u kontroly na 2,64 ± 0,06 mmol TE/l při 150 mg/ml Ag.

Výsledky ABTS metody ukazují prudký nárust antioxidační aktivity (pokles stupně inhibice) ve srovnání s kontrolou od nejnižší koncentrace Ag 2,5 mg/ml. Metoda DPPH potvrdila zvyšující se inhibiční aktivitu s rostoucí koncentrací Ag. Inhibice DPPH radikálu vzrostla z 36,81 ± 1,75 % u kontroly až na 77,5 ± 1,17 % u koncentrace 2,5 mg/ml Ag, s tendencí mírného poklesu při vyšších koncentracích ($p > 0,05$), ale celkově byla antioxidační aktivita nižší než u samotného gliadinu.

Tabulka č. 3, Vliv koncentrace přídavku nano Ag na antioxidační vlastnosti gliadinu

Koncentrace nanočástic [mg/ml]	Folin-Ciocalteu [mmol GAE/l]	FRAP [mmol TE/l]	ABTS [mmol TE/l]	DPPH [%]
Ag 0,0	$1,22±0,00^{a}$	$0,02±0,00^{a}$	$79,64±1,62^{c}$	$36,81±1,75^{a}$
Ag 2,5	$1,72±0,03^{ab}$	$0,11±0,00^{abc}$	$3,86±2,33^{a}$	$77,5±1,17^{e}$
Ag 5,0	$1,96±0,05^{abc}$	$0,06±0,00^{ab}$	$3,17±0,97^{a}$	$73,82±1,06^{de}$
Ag 10,0	$2,12±0,21^{abc}$	$0,34±0,01^{abcd}$	$7,52±0,94^{ab}$	$72,61±3,60^{de}$
Ag 15,0	$2,22±0,13^{abcd}$	$0,42±0,09^{abcde}$	$8±0,39^{ab}$	$71,41±1,96^{cde}$
Ag 30,0	$2,63±0,02^{bcde}$	$0,72±0,14^{bcdef}$	$6,87±2,63^{ab}$	$67,71±3,08^{bcde}$
Ag 60,0	$11,26±1,79^{cde}$	$0,91±0,05^{cdef}$	$7,46±2,51^{ab}$	$61,36±1,78^{abcd}$
Ag 90,0	$11,89±1,24^{cde}$	$1,05±0,07^{def}$	$12,25±1,21^{bc}$	$62,04±2,39^{abcd}$
Ag 120,0	$15,24±0,58^{de}$	$1,39±0,09^{ef}$	$11,73±2,01^{bc}$	$55,85±0,40^{abc}$
Ag 150,0	$28,94±0,40^{e}$	$2,64±0,06^{f}$	$15,19±5,98^{bc}$	$38,64±0,74^{ab}$

Rozdílný index znamená statistický rozdíl ve sloupcích.

Výsledky ukazují, že přídavek nanočástic Ag výrazně zvyšoval schopnost gliadinu projevovat antioxidační aktivitu. Podobně jako v případě Fe a Al, i zde lze pozorovat synergický efekt mezi nanočásticemi a strukturou proteinů, což je v souladu s dřívějšími pracemi, které popisují zvýšenou antioxidační aktivitu v důsledku modifikace proteinů nanočásticemi kovů. Podobných výsledků bylo dosaženo také při interakci nanostříbra s kaseinovými hydrolyzáty (Tavaf *et al.*, 2017).

Metoda Folin-Ciocalteu vykazuje zvýšení hodnot, což může souviset nejen s přítomností zbytkových fenolických skupin, ale také se schopností gliadinu (po interakci s Ag) darovat elektrony a reagovat s činidlem. Výrazný pokles hodnot v ABTS testu značí, že nanočástice Ag významně zvýšily schopnost gliadinu deaktivovat kationtové radikály. Vyšší inhibice v testu DPPH potvrzuje, že gliadin po expozici Ag je schopen efektivněji neutralizovat volné radikály, což je klíčové pro potravinářské a biomedicínské aplikace.

Pozorovaná vysoká antioxidační aktivita při nižších koncentracích Ag a mírný pokles při vyšších dávkách může být spojen s fenoménem agregace nanočástic nebo saturace dostupných funkčních skupin na proteinu, jak ukazuje studie (Bélteky *et al.*, 2019).

ZÁVĚR

Všechny tři typy nanočástic (Fe, Ag, Al) interagovaly s gliadinem a ovlivňovaly antioxidační aktivitu vzniklých komplexů. Nanočástice Fe a Ag výrazně zvyšují antioxidační aktivitu gliadinu, přičemž tento efekt je závislý na koncentraci. Nanočástice Al mají dvojí účinek: nižší koncentrace mírně zvyšují antioxidační aktivitu, zatímco vyšší koncentrace vedou k výraznějšímu nárůstu aktivity. Tyto změny jsou pravděpodobně způsobeny elektrostatickými interakcemi a vazbou nanočástic na aminokyselinové zbytky gliadinu, zejména cystein.

U nanoželeza byla maximální hodnota Folin-Ciocalteu testu dosažena při Fe 120,0 mg/ml (6,54 mmol GAE/l), přičemž FRAP aktivita dosáhla až 0,7 mmol TE/l. Antioxidační kapacita dle ABTS metody (měřená inhibicí) se výrazně zvýšila, hodnota klesala do záporných čísel (např. -11,27 ± 0,09 mmol TE/l), což indikuje vysokou schopnost vychytávat radikály. DPPH inhibice byla nejvyšší při nižších koncentracích Fe (okolo 57,74 % při Fe 2,5 mg/ml), při vysokých koncentracích došlo k poklesu.

V případě nanohliníku bylo pozorováno mírnější zvýšení aktivity. Nejvyšší hodnota Folin-Ciocalteu činila 1,87 mg GAE/l při 30,0 mg/ml Al. FRAP hodnoty zůstaly relativně nízké (max. 0,23 µmol TE/l). ABTS metoda ukázala podobné trendy jako u Fe, s poklesem hodnot na -10,97 µmol TE/l při Al 120,0 mg/ml, zatímco DPPH inhibice se zvyšovala na 58,01 % při nízkých koncentracích a postupně klesala při vyšších dávkách.

Nanostříbro vykazovalo nejvýraznější účinek na zvýšení obsahu redukujících sloučenin (hodnota Folin-Ciocalteu dosáhla až 28,94 mg GAE/l při Ag 150,0 mg/ml). FRAP kapacita se zvýšila na 2,64 mmol TE/l, což bylo nejvíce ze všech hodnocených nanočástic. ABTS metoda potvrdila výrazné snížení hodnot již při nízkých koncentracích Ag (například 3,17 mmol TE/l při Ag 5,0 mg/ml). DPPH inhibice se zvýšila až na 77,5 % při Ag 2,5 mg/ml, což byla nejvyšší hodnota mezi všemi testovanými vzorky.

Výsledky potvrzují, že modifikace gliadinu pomocí nanočástic kovů je efektivní strategií pro zvýšení jeho antioxidační aktivity, s potenciálním využitím ve vývoji funkčních potravin nebo biomedicínských aplikací.

PODĚKOVÁNÍ

Příspěvek byl podpořen projektem ITA VETUNI názvem Vedlejší produkty rostlinného původu jako součást nových biodegradabilních/jedlých produktů pro ochranu životního prostředí a mechanismus ochrany zdraví před alergenními složkami potravin.

POUŽITÁ LITERATURA

1. ALASHI, A. M., BLANCHARD, C. L., MAILER, R. J., AGBOOLA, S. O., MAWSON, A. J., HE, R., GIRGIH, A., ALUKO, R. E. Antioxidant properties of Australian canola meal protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 2014, vol. 146, 500–506. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.081
2. BÉLTEKY, P., RÓNAVÁRI, A., IGAZ, N., SZERENCSÉS, B., TÓTH, I. Y., PFEIFFER, I., KIRICSI, M., KÓNYA, Z. Silver nanoparticles: Aggregation behavior in biorelevant conditions and its impact on biological activity. *International Journal of Nanomedicine*, 2019, vol. *14*, 667–687. https://doi.org/10.2147/IJN.S185965
3. BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 1995, vol. 28, no. 1, s. 25–30. ISSN 0023-6438. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5
4. EFSA (Evropský úřad pro bezpečnost potravin). "Scientific Opinion on the re-evaluation of iron oxides and hydroxides (E 172) as food additives." *EFSA Journal*, 2015, vol. 13 no. 10, 4254. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4317
5. EFSA (Evropský úřad pro bezpečnost potravin). "Scientific Opinion on the safety of silver nanoparticles for use in food contact materials." *EFSA Journal*, 2016, vol. 14 no. 1, 4364. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6790
6. EFSA (Evropský úřad pro bezpečnost potravin). "Safety of aluminium from dietary intake." *EFSA Journal*, 2008, vol. 6, no. 7, 754. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2008.754.
7. GHOSH, G., PANICKER, L., BARICK, K. C. Selective binding of proteins on functional nanoparticles via reverse charge parity model: An in vitro study. *Materials Research Express*, 2014, vol. *1*, *no.* 1. https://doi.org/10.1088/2053-1591/1/1/015017
8. GHOSH, G., PANICKER, L., NINGTHOUJAM, R. S., BARICK, K. C., TEWARI, R. Counter ion induced irreversible denaturation of hen egg white lysozyme upon electrostatic interaction with iron oxide nanoparticles: A predicted model. *Colloids and*

Surfaces B: Biointerfaces, 2013, vol. *103*, 267–274. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.10.034

9. CHOI, Y., LIM, T., HE, Y., HWANG, K. T. Chemical characteristics and antioxidant properties of wheat gluten hydrolysates produced by single and sequential enzymatic hydrolyses using commercial proteases and their application in beverage system. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2019, vol. *13*, no. 1, 745–754. https://doi.org/10.1007/s11694-018-9987-x
10. MIRZAJANI, F., POOYA, M. Nano particle CORONA formation; Rather than proteins. *Physical Chemistry Research*, 2019, vol. 7 no. 4, 849–857. https://doi.org/10.22036/pcr.2019.202628.1678
11. MORADI, M., RAZAVI, R., OMER, A. K., FARHANGFAR, A., MCCLEMENTS, D. J. Interactions between nanoparticle-based food additives and other food ingredients: A review of current knowledge. *Trends in Food Science & Technology*, 2022, vol. *120*, 75–87. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.01.012
12. SAMROT, A. V., RAM SINGH, S. P., DEENADHAYALAN, R., RAJESH, V. V., PADMANABAN, S., RADHAKRISHNAN, K. Nanoparticles, a Double-Edged Sword with Oxidant as Well as Antioxidant Properties—A Review. *Oxygen*, 2022, vol. *2*, *no.* 4, 591–604. https://doi.org/10.3390/oxygen2040039
13. SARMADI, B. H., ISMAIL, A. Antioxidative peptides from food proteins: A review. *Peptides*, 2010, vol. 31, no. 10, s. 1949–1956. ISSN 0196-9781. https://doi.org/10.1016/j.peptides.2010.06.020
14. TAVAF, Z., TABATABAEI, M., KHALAFI-NEZHAD, A., PANAHI, F. Evaluation of antibacterial, antibofilm and antioxidant activities of synthesized silver nanoparticles (AgNPs) and casein peptide fragments against Streptococcus mutans. *European Journal of Integrative Medicine*, 2017, vol. *12*, 163–171. https://doi.org/10.1016/j.eujim.2017.05.011
15. WIESER, H., KOEHLER, P. Chemistry of wheat gluten proteins: Qualitative composition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2023, vol. 21, no. 3, s. 1300-1320. https://doi.org/10.1002/cche.10572
16. XIAO, F., XU, T., LU, B., LIU, R. Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Frontiers*, 2020, vol. 1, p. 60-69. https://doi.org/10.62368/pn.v4i1.39

17. ZHANG, Q., ZHANG, J., SHEN, J., SILVA, A., DENNIS, D.A., BARROW, C.J. A simple 96-well microplate method for estimation of total polyphenol content in seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, 2006, vol. 18, p. 445-450. https://doi.org/10.1007/s13399-022-02301-x

Kontaktní adresa: doc. MVDr. Matej Pospiech, Ph.D., Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika; E-mail: mpospiech@vfu.cz

PLATFORMA B-THENET AKO NÁSTROJ VZDELÁVANIA NIELEN VČELÁRSKEJ VEREJNOSTI A SLEDOVANIE PREFERENCIÍ SPOTREBITEĽOV VČELÁRSKYCH PRODUKTOV

THE B-THENET PLATFORM AS A TOOL FOR EDUCATING NOT ONLY THE BEEKEEPING PUBLIC AND TRACKING THE PREFERENCES OF CONSUMERS OF BEEKEEPING PRODUCTS

Ratvaj Marek[1], Mudroňová Dagmar[1], Toporčák Juraj[2], Kollár Moskáľová Lenka[1], Chomová Natália[1]

[1]Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

[2]Klinika vtákov, exotických a voľne žijúcich zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

Beekeeping has been growing continuously in Slovakia in recent years. Connected to this growth, however, is the need for proper education of new beekeepers, which would benefit the health of the bees and provide sustainability. Consumers of beekeeping products also need to have a good overview of their health benefits and potential risks associated with them.

The B-THENET online platform was created to educate the beekeepers and the public, and to achieve this goal, a range of online articles, videos, infographics, and surveys is utilized. One such survey was focused on the consumer preferences regarding honey. Using an online survey system and distributing it through the available channels, we collected 180 answers from Slovak consumers, who stated that they are not active beekeepers. Results showed that consumers are relatively well educated regarding the health benefits of consuming honey and that they prefer the quality of local products above the price of honey. Slovak consumers are mostly concerned about the falsification of honey and that may also be the reason why they choose local beekeepers as a source of the honey they buy. The majority of consumers perceive added value in beekeeping that is sustainable and uses methods that protect the environment and the health of bees. For these reasons, adequate education is essential to ensure that beekeeping keeps growing in Slovakia and consumers receive healthy local honey.

Key words: honey, consumer, preferences, education

ÚVOD

Včelárstvo sa v poslednej dobe teší vysokej obľube nielen medzi odbornou verejnosťou, ale aj medzi laikmi. Nárast počtu registrovaných chovov včiel v posledných rokoch môžeme vidieť aj v centrálnom registri hospodárskych zvierat, v ktorom má každý včelár povinnosť byť registrovaný (CEHZ 2025). S nárastom počtu včelárov však rastie riziko spojené s prenosom chorôb (Pfeiffer a Crowder 2022) a rovnako stúpa potreba ďalšieho vzdelávania a získavania aktuálnych poznatkov z oblasti včelárstva. Bolo zistené, že zimné úhyny u malých včelárov sú takmer dvojnásobné oproti profesionálnym včelárom s adekvátnym vzdelaním (Jacques et al. 2017). Len využitím nových a overených informácií a postupov sa dá dosiahnuť zabezpečenie zdravia včiel a vysoká produkcia včelárskych produktov, ktoré budú pre koncového spotrebiteľa zdravotne prospešné.

Včelári majú mnoho možností na vzdelávanie, či už je to formou rôznych kurzov, veľkého množstva literatúry alebo elektronických zdrojov. V rámci Európskej únie vznikol projekt patriaci do schémy Horizont Europe, ktorého cieľom je vzdelávať európskych včelárov o najlepších včelárskych praktikách, ktoré sú overené priamo v teréne. Názov tejto platformy je B-THENET a spája národné centrá v 13 krajinách s cieľom naučiť včelárov metódy zvyšujúce udržateľnosť európskeho včelárstva.

MATERIÁL A METODIKA

Online platforma B-THENET vznikla v roku 2022 a obsahuje overené včelárske postupy, ktoré vznikajú v rámci projektu podľa princípu „zdola – nahor“. Včelári v prvom kroku využívajú online formulár, v ktorom hodnotia dôležitosť praktiky alebo jej relevanciu pre každého včelára. Po ukončení tohto zberu údajov prebieha proces publikovania a validovania jednotlivých tém. Na platforme sú uverejnené postupy k vybraným témam, pričom na tvorbe praktík sa podieľajú aj spolupracujúci včelári, ktorí tak priamo formujú vytvorený obsah. Validácia postupov je vykonávaná pomocou systému spätnej väzby, ktorý je na stránke dostupný. Len praktiky, ktoré prešli validáciou môžu byť následne považované za dobré včelárske praktiky. V celom procese môže byť praktika menená, aktualizovaná a včelári môžu pridávať k praktike komentáre. Pre jednotlivé roky projektu sú vždy dané všeobecné okruhy, ktorým sa platforma venuje, pričom vždy ide o kombináciu základných včelárskych postupov a boja proti rôznym nákazám včiel. Aby bola dosiahnutá čo najväčšia miera diseminácie poznatkov, vytvára každé národné centrum praktiky vo svojom štátnom jazyku, pričom používateľ sa môže rozhodnúť aj pre iný jazyk.

Vytvorenie a validácia postupov na stránke je však len prvým krokom ku vzdelávaniu včelárov. Po validácii sú praktiky prednášané včelárom, alebo poradcom včelárov a to na

lokálnej aj celonárodnej úrovni. Využívané sú školenia v teréne, webináre a semináre. Vyvrcholením spoločného snaženia je národné podujatie, ktoré bolo v roku 2023 organizované na Univerzite veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach a bolo spojené so včelárskou konferenciou BeeConnected. V rámci diseminácie praktík sú na platforme vytvárané aj videá, príručky a obežníky zasielané mailom.

Keďže platforma je dostupná pre všetkých, nielen pre včelárov, využívame dosah siete B-THENET aj na vzdelávanie spotrebiteľov. Jedným z nástrojov, ktoré sme v rámci platformy využili je aj celoeurópsky prieskum pre konzumentov včelích produktov. Pomocou online formulára na stránke EUSurvey, ktorý bol distribuovaný cez mailové zoznamy jednotlivých partnerov, na webových stránkach a na sociálnych sieťach partnerov, boli zozbierané odpovede na otázky o preferenciách pri kúpe medu. Každé národné centrum pripravilo svoj preklad tohto formulára, aby mohli spotrebitelia vypĺňať formulár vo svojom rodnom jazyku. V prieskume boli otázky s výberom jednej alebo viacerých možností, otvorené otázky a otázky s výberom hodnotenia na 5 bodovej stupnici. Počas mesiacov august a september 2023 bolo v celoeurópskom prieskume zozbieraných 2173 odpovedí, pričom vylúčené boli odpovede od včelárov, ktoré by mohli skresliť získané výsledky.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na začiatku roka 2025 obsahovala platforma v slovenskom jazyku 52 praktík, ktoré pojednávajú o správnej včelárskej praxi a 23 praktík, ktoré sa zaoberajú biologickou bezpečnosťou. V rámci spomínanej stratégie „zdola – nahor“, pri prebiehajúcej validácii nájdeme popis „Exchange“ a pri validovaných praktikách značku „Best practice“ (obrázok č. 1).

V rámci prieskumu spotrebiteľských preferencii sa zapojilo 180 respondentov, ktorí označili, že sa neradia medzi včelárov. Včelárov sme vylúčili z prieskumu, nakoľko je u nich očakávaná vyššia spotreba medu a iných produktov a tiež vyššia pravdepodobnosť, že med nenakupujú. Vzhľadom na počet respondentov hodnotíme dobrý dosah tohto prieskumu, keďže počtom odpovedí patrí Slovensko na piate miesto v rámci počtov odpovedí z ostatných zapojených štátov.

Obrázok č.1, Ukážka praktík zverejnených na stránke B-THENET



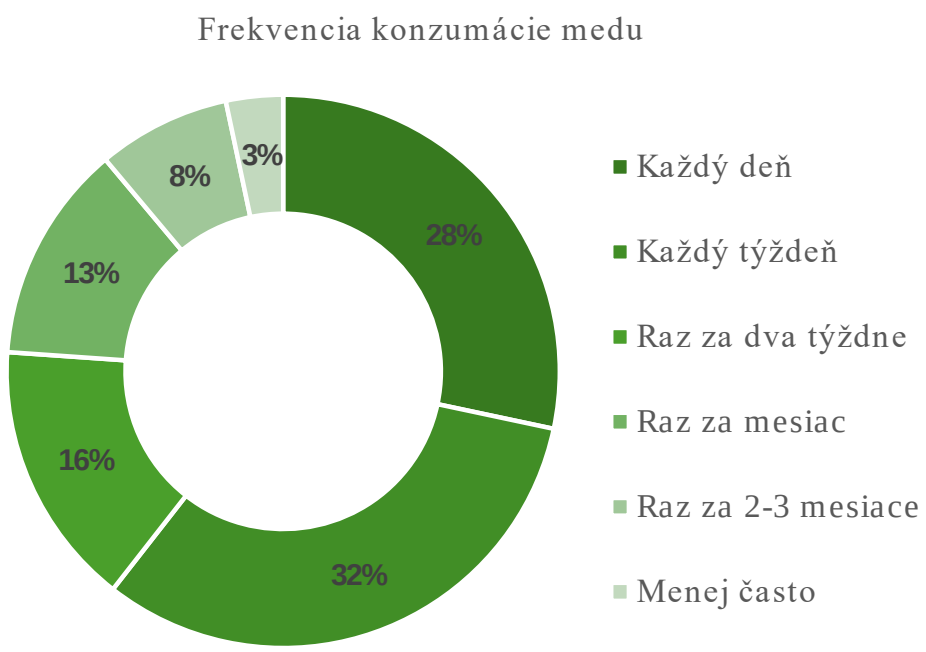
V rámci zlepšovania praktík a spätnej väzby, môžu používatelia využiť aj systém hodnotenia známy z iných sociálnych sietí a komentáre (obrázok č. 2), pričom komentáre podliehajú schvaľovaniu od moderátorov a sú prístupné len registrovaným používateľom.

Obrázok č.2, Ukážka možností hodnotenia praktík na stránke B-THENET



Spotrebitelia, ktorí odpovedali na dotazník v 60 % miere konzumujú med pravidelne aspoň raz týždenne (Obrázok č.3) a priemerne za mesiac skonzumujú okolo 205 g medu, pričom pri 3 odpovediach uviedli množstvo až nad 2 kg. V porovnaní s celoeurópskymi výsledkami, je na Slovensku častejšia konzumácia medu, čo môže súvisieť s historickým vývojom a tiež vývojom počtu nových registrovaných včelárov, ktorých počet neustále rastie. Celkovo je med v Európe populárny a Európa spotrebuje viac než 20 % svetovej produkcie medu (Popescu et al. 2021).

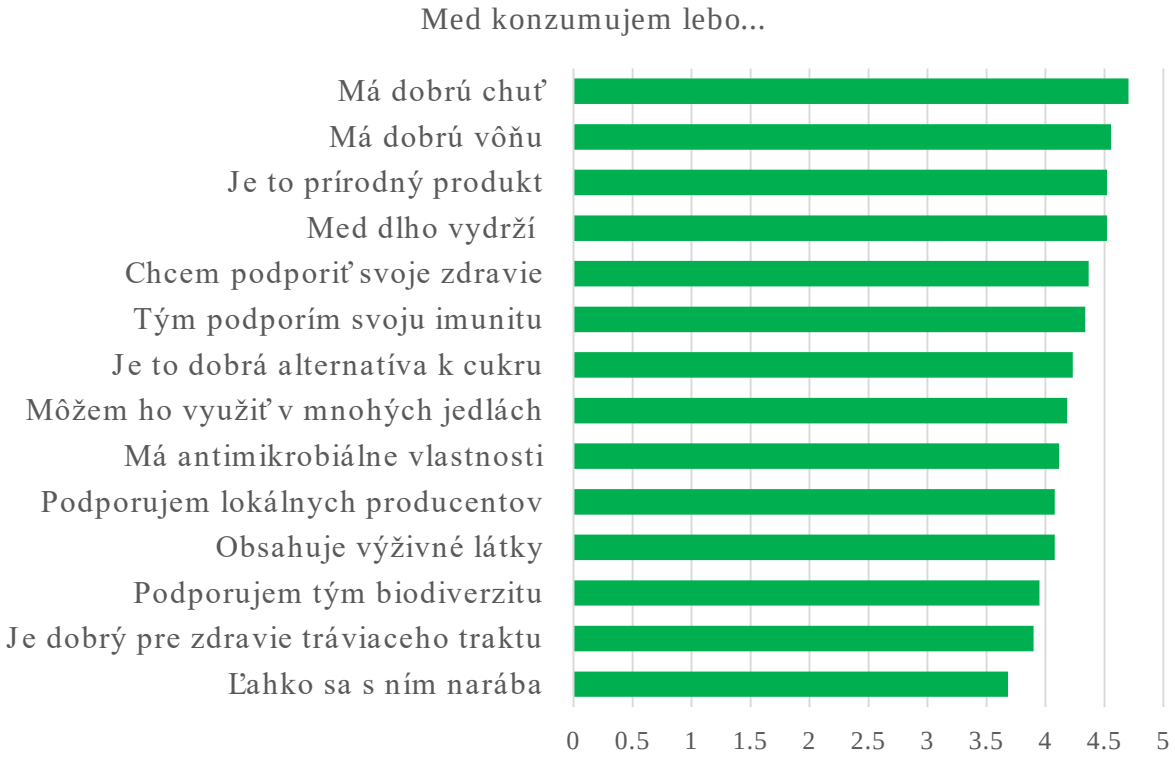
Obrázok č.3, Frekvencia konzumácie medu medzi slovenskými spotrebiteľmi



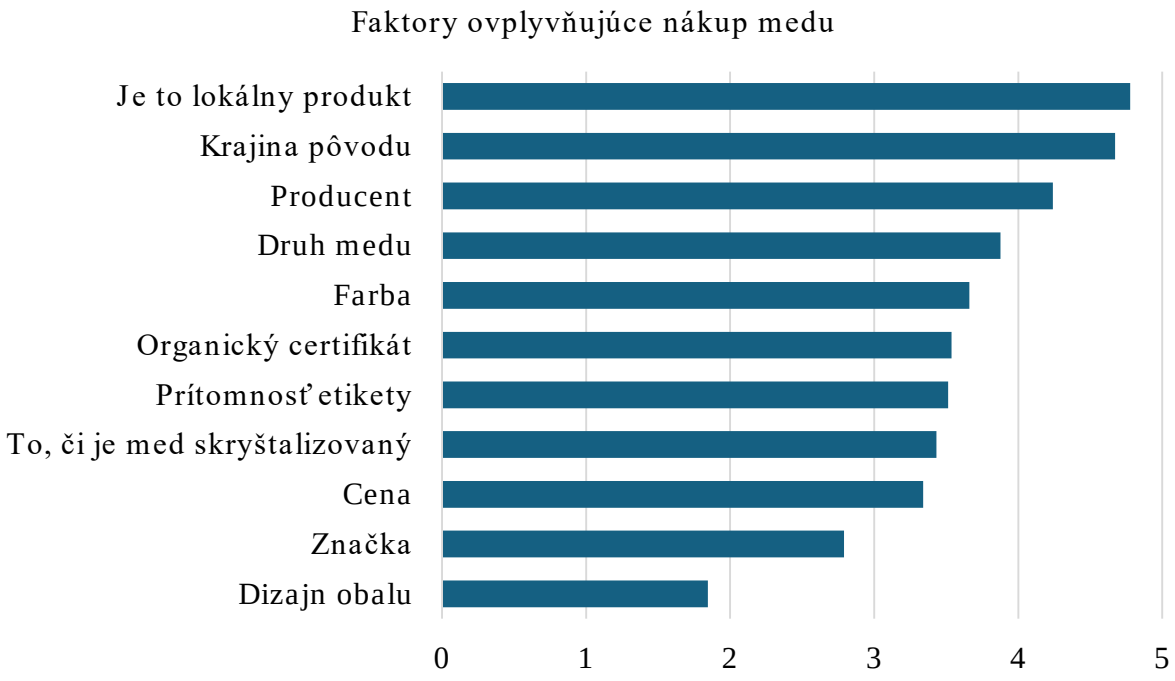
Pri otázke, prečo si spotrebitelia kupujú med sa ukázalo, že pre väčšinu z nich sú dôležité organoleptické vlastnosti medu, ako chuť a vôňa (Obrázok č.4). Treba však povedať aj to, že veľkú váhu pripisujú spotrebitelia imunomodulačným účinkom medu a uvedomujú si jeho zdravotné benefity, ktoré sú vedecky podložené (Scepankova, Saraiva a Estevinho 2017).

Za zmienku stojí, že relatívne menšia časť ho považuje za prospešný pre svoj črevný systém a bolo by možno vhodné informovať spotrebiteľa aj o tomto účinku (Schell et al. 2022). Spomedzi nevýhod pri nákupe medu viedla medzi slovenskými spotrebiteľmi vysoká miera falšovania medu a tiež ťažkosti pri určovaní pôvodu medu. Prekonali dokonca nevýhodu vysokej ceny medu.

Obrázok č.4, Dôvody prečo spotrebitelia konzumujú med



Obrázok č.5, Faktory ovplyvňujúce nákup medu

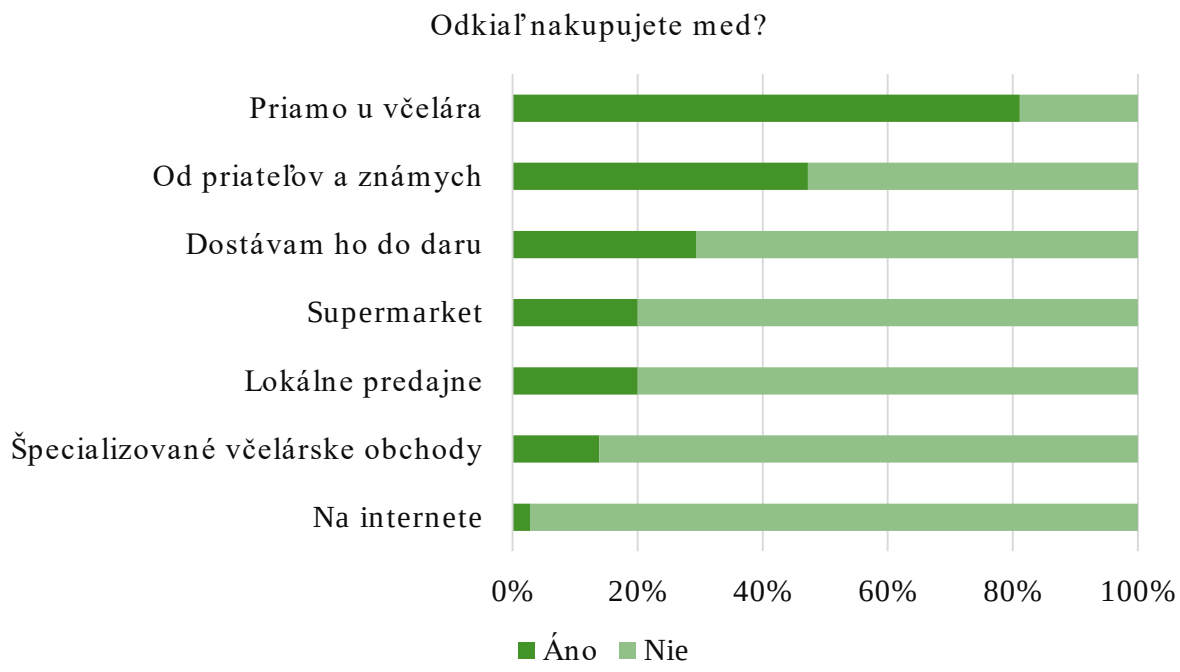


Nakupujúcich ovplyvňuje v prvom rade pôvod medu a záleží im na ňom viac, ako na cene medu (Obrázok č.5). V tomto ohľade sú slovenskí spotrebitelia rovnako zodpovední, ako zvyšok respondentov v európskom prieskume, ktorí takisto vybrali pôvod medu, ako hlavný

faktor pri výbere. Je priaznivé, že si spotrebitelia uvedomujú rastúcu mieru falšovania medu a potenciálne zdravotné riziká spojené s konzumáciou takéhoto medu (Bose a Padmavati 2024).

Spotrebitelia nakupujú med najčastejšie priamo od včelárov, alebo od svojich priateľov, ktorí med produkujú (obrázok č.6). Pri tejto otázke bolo možné vybrať viacero odpovedí, preto je tu možný prekryv. Tieto odpovede korelujú s predchádzajúcou otázkou a pravdepodobne súvisia s obavami spotrebiteľov o pôvode medu, pričom pri nákupe priamo od včelára vedia (a často aj vidia) od akých včiel med pochádza, a ako daný včelár pracuje.

Obrázok č.6, Odkiaľ spotrebitelia nakupujú med



Z prieskumu vyplynula aj informácia, že 80 % respondentov je ochotných si priplatiť za med, ak pochádza od producenta, ktorý včelári udržateľne a rešpektuje zdravie včiel, prostredia a spotrebiteľa. V takom prípade sú spotrebitelia ochotní priplatiť si okolo 10 % oproti bežnej cene medu. Aj táto informácia naznačuje potrebu dôraznej kontroly kvality medu predávaných na našom území, nakoľko nepravdivé označenia môžu predajcovia zneužívať za účelom zvyšovania zisku.

ZÁVER

Slovenskí spotrebitelia obľubujú med ako zdravú potravinu, ktorú konzumujú na pravidelnej báze. Uvedomujú si jej zdravotné benefity a často uprednostnia kvalitu pred cenou. Spotrebitelia sú zodpovední a uvedomujú si riziko spojené s falšovaním medu a preto sa rozhodujú pre lokálne produkty od včelárov, ktorých poznajú a ktorým dôverujú. Podporujú tým lokálnu produkciu a zároveň dostanú kvalitný produkt. V prípade uplatnenia metód

udržateľného včelárstva, ktoré dbá na zdravé včely a životné prostredie, sú slovenskí spotrebitelia ochotní priplatiť si za kvalitný med. Pre včelárov, ktorí chcú tieto metódy uplatniť je dostupných viacero zdrojov informácií a jednou z nich je aj platforma B-THENET, ktorej cieľom je spájať včelárov, ale aj spotrebiteľov v celej Európe.

POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla vďaka projektu B-THENET (Grant Agreemen N. 101059812) (European Commission, 2022) a projektu VEGA 1/0454/22.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. JACQUES, Antoine, et al. A pan-European epidemiological study reveals honey bee colony survival depends on beekeeper education and disease control. *PLoS one*, 2017, 12.3: e0172591.
2. PFEIFFER, Vera W.; CROWDER, David W. Factors affecting virus prevalence in honey bees in the Pacific-Northwest, USA. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2022, 187: 107703.
3. POPESCU, A. et al. (2021). Honey production in the European Union in the period 2008 – 2019 – A statistical approach. Scientific Papers Series Management, Economic Engineering in Agriculture and Rural Development, 21(2), 461–474.
4. SCEPANKOVA, Hana; SARAIVA, Jorge A.; ESTEVINHO, Letícia M. Honey health benefits and uses in medicine. In: Bee products-Chemical and biological properties. Cham: Springer International Publishing, 2017. p. 83-96.
5. SCHELL, Kathleen R., et al. The potential of honey as a prebiotic food to re-engineer the gut microbiome toward a healthy state. Frontiers in nutrition, 2022, 9: 957932.
6. *Sumárne počty a zoznamy fariem - Plemenárske služby SR, š.p.* (2025). Available at: https://www.pssr.sk/index.php/sk/sumarne-pocty-a-zoznamy-fariem/ (Accessed: 29 April 2025).

Kontaktná adresa: Ratvaj Marek**,** Department of Microbiology and Immunology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: marek.ratvaj@uvlf.sk

IDENTIFIKÁCIA ENOLOGICKY VÝZNAMNÝCH NON-*SACCHAROMYCES* KVASINIEK V MACEROVANOM MUŠTE

IDENTIFICATION OF ENOLOGICALLY SIGNIFICANT NON-*SACCHAROMYCES* YEASTS IN MACERATED MUST

Regecová Ivana, Výrostková Jana, Semjon Boris, Jevinová Pavlina, Bartkovský Martin, Eftimová Megyesy Zuzana, Marcinčák Slavomír

Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

This study investigated the biodiversity and dynamics of three non-*Saccharomyces* yeast species – *Hanseniaspora uvarum*, *Metschnikowia pulcherrima* and *Torulaspora delbrueckii* – during the fermentation of macerated must from the Lipovina variety. Yeast identification was performed using API 20 C AUX, ITS DNA barcoding, MALDI-TOF MS. The highest presence of *Hanseniaspora uvarum* was recorded on day 14 (16%), while *Metschnikowia pulcherrima* peaked on day 3 (15%). *Torulaspora delbrueckii* was present only during the first week. The results highlight the enological importance of non-*Saccharomyces* yeasts and their contribution to the sensory properties of wine in relation to the Tokay terroir.

Key words: maceration, must, non-*Saccharomyces*, yeasts

ÚVOD

Tokajské vína patria medzi najznámejšie slovenské produkty s chráneným označením pôvodu. Pochádzajú z vinohradníckych regiónov s vulkanickým podložím a špecifickou mikroklímou, čo vytvára jedinečné terroir (Atkin et al., 2017). Okrem klimatických a geografických podmienok hrá významnú úlohu aj mykobiota vinohradov, ktorá je ovplyvnená sezónou, reliéfom či spracovaním hrozna (Pinto et al., 2014). Zvýšený záujem je najmä o druhy kvasiniek mimo rodu *Saccharomyces*, ktoré prispievajú k tvorbe aróm a jedinečných senzorických vlastností vína. Na bobuliach prevládajú napr. *Rhodotorula*, *Hanseniaspora/Kloeckera* a *Metschnikowia* (Kačániová a kol., 2020). Po porušení šupky sa populačná hustota zvyšuje a dominujú *Hanseniaspora*, *Metschnikowia*, *Candida*, *Saccharomyces* a *Zygosaccharomyces* (Fleet and Querol, 2006; Felšöciová, 2016). Non-*Saccharomyces* kvasinky, ako *Hanseniaspora*, kolonizujú miesto pripojenia stopky a bobule, pričom prežívajú až do fermentácie a môžu zásadne ovplyvniť kvalitu a charakter vína (Nisiotou et al., 2010). Dôležitú úlohu pri druhovej biodiverzite non-*Saccharomyces* kvasiniek

zohráva aj macerácia (Sokolowsky et al., 2015). Je to tradičná technika, počas ktorej sú šupky, semená a stopky hrozna v kontakte s muštom (Casassa et al., 2021). Preto cieľom štúdie je identifikovať kvasinkové spoločenstvá počas fermentácie Tokajských vín z odrody Lipovina pri macerácii, s dôrazom na úlohu non-*Saccharomyces* kvasiniek, ktoré zohrávajú dôležitú úlohu pri senzorických vlastnostiach vína.

MATERIÁL A METODIKA

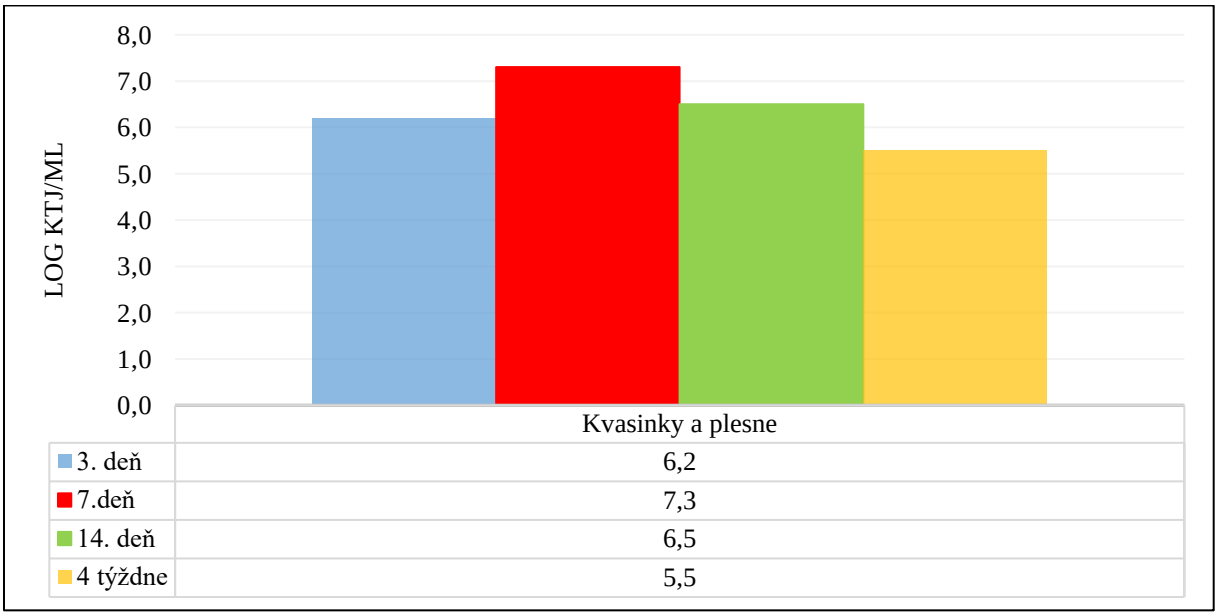
Hrozno odrody Lipovina (*Vitis vinifera* L.) bolo zozbierané v optimálnej zrelosti a podrobené 7-dňovej macerácii v nerezovej nádrži pri teplote 18 ± 2 °C bez prístupu kyslíka a pridaní SO_2 (40 mg/L). Po macerácii bol mušt vylisovaný a pokračoval v fermentácii pri teplote 18 ± 2 °C počas 4 týždňov. Vzorky (100 ml) boli odobraté na deň 0, 3, 7, 14 a 4. týždeň fermentácie a podrobené mikrobiologickému vyšetreniu.

Kvantitatívne mikrobiologické vyšetrenie bolo vykonané podľa ISO normy 21527-1 (2010) určenú na stanovenie počtu kvasiniek a plesní (KaP). Inokulácia pripravených riedení bola vykonaná metódou rozterom na povrch DRBC agaru (Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol). Inkulované petriho misky sa inkubovali pri 25 °C počas 5- 7 dní. Platne s menej ako 150 kolóniami boli vybrané na ďalšiu analýzu, pričom 5 fenotypovo rovnakých kolónií bolo izolovaných na druhovú identifikáciu. Identifikácia bola najprv vykonaná pomocou testov API 20 C AUX (Biomerieux, Francúzsko) a výsledky boli spracované pomocou softvéru Apiweb™ (Bruker Daltonics, 2008). Na potvrdenie boli druhy kvasiniek identifikované pomocou ITS DNA barcodingu s primerami ITS1 a ITS4 podľa protokolu White et al. (1990). DNA bola extrahovaná pomocou E.Z.N.A.® Fungal DNA mini kitu (OMEGA Biotek, USA). PCR reakcie boli vykonané s HOT Firepol® Blend Master Mix (Amplia, Bratislava). Amplifikované PCR fragmenty boli sekvenované a porovnané so sekvenciami v databáze GenBank-EMBL.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Kultivačným mikrobiologickým vyšetrením vzoriek muštu bol počet KaP vo vstupnej surovine (hrozno) stanovený na 4,0 log ± 0,1 KTJ/g. Do tretieho dňa fermentácie došlo k výraznému nárastu počtu KaP, pričom maximum bolo dosiahnuté na siedmy deň fermentácie a udržalo sa až do 14. dňa fermentácie (7,4 ± 0,1 log KTJ/ml). V štvrtom týždni fermentácie došlo k výraznému poklesu počtu KaP (graf č. 1).

Graf č. 1, Grafické zobrazenie počtov kvasiniek a plesní v priebehu fermentácie macerovaného muštu.



Po realizácii kultivačného mikrobiologického vyšetrenia sa na presnú druhovú identifikáciu odobralo 5 fenotypovo rovnakých kolónií. Prvotná druhová identifikácia sa uskutočnila na základe biochemických reakcii pomocou testu API 20 C AUX. Avšak kvasinky rodu *Hanseniaspora*, *Metschnikowia* ani *Torulaspora* neboli pomocou tohto testu identifikované.

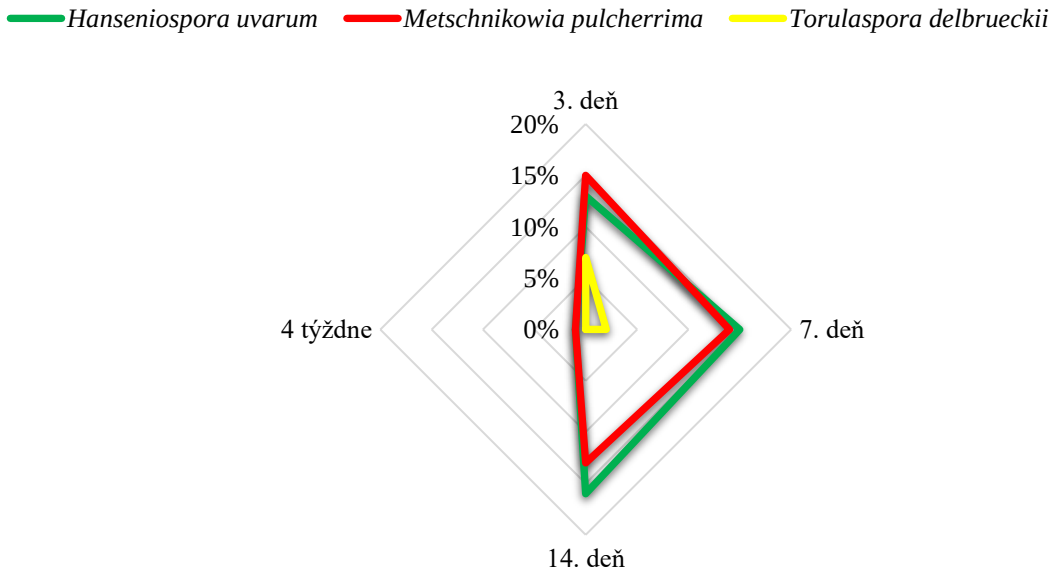
Tabuľka č. 1, Identifikácia jednotlivých druhov non-*Saccharomyces* kvasiniek zo vzoriek hrozna a muštu.

Druh	MALDI- TOF MS	ITS DNA barcoding
	hodnota skóre	sekvencia
Hanseniospora uvarum	2.30 - 2.53	MT635299.1
		OR507597.1
Metschnikowia pulcherrima	2.11 - 2.31	OR475099.1
		MW506809.1
Torulaspora delbrueckii	1.8 - 2.2	OR435441
		OR145787.1

Preto ďalšie metódy, ktoré sa využili na identifikáciu vyššie uvedených rodov boli MALDI- TOF hmotnostná spektrometria a ITS DNA barcoding. Hmotnostná spektrometria identifikovala druhy *Hanseniospora uvarum, Metschnikowia pulcherrima a Torulaspora delbrueckii*. Hodnota skóre pri identifikácii druhu *Hanseniospora uvarum* bola najvyššia, čo potvrdzuje vysokú presnosť pri identifikácii. Najnižšie skóre dosahovala identifikácia druhu

Torulaspora delbruecki, avšak hodnota skóre bola postačujúca na presnú identifikáciu rodu a vysoko pravdepodobnú identifikáciu druhu. Pre overenie správnosti tejto identifikácie sa pristúpilo k využitiu metódy ITS DNA barcoding, kde sa využíva sekvenovanie špecificky amplifikovaných segmentov DNA. Touto metódou sa potvrdili identifikované druhy kvasiniek (tabuľka č. 1).

Graf č. 2, Grafické zobrazenie percentuálneho podielu identifikovaných druhov kvasiniek počas fermentačného procesu macerovaného muštu.



Po druhovej identifikácii sa pristúpilo k retrospektívnemu percentuálnemu prepočítaniu prítomnosti identifikovaných druhov kvasiniek v procese fermentácie macerovaného muštu (graf č. 2). Vo vstupnej surovine (hrozno) boli identifikované všetky druhy v rovnakom percentuálnom zastúpení a to 3% z celej prítomnej kvasinkovej populácie. Počas fermentácie bola najvyššia prítomnosť *Hanseniaspora uvarum* zaznamenaná na 14. deň (16 %), pričom jej zastúpenie postupne stúpalo od 3. dňa. *Metschnikowia pulcherrima* bola najviac zastúpená na 3. deň fermentácie (15 %) a jej výskyt sa do 4. týždňa výrazne znížil. Oba tieto druhy non-*Saccharomyces* kvasiniek boli na konci fermentácie prítomné už len v minimálnom množstve (1 %). Druh *Torulaspora delbrueckii* bol detegovaný len počas prvého týždňa fermentácie, pričom jeho zastúpenie kleslo z 7 % na 2 % a následne nebol detegovaný.

Torulaspora delbrueckii je kvasinka s vysokým fermentačným potenciálom, ktorá patrí medzi významné non-*Saccharomyces* druhy a používa sa pri zmiešanej fermentácii so *Saccharomyces cerevisiae*. Výskumy ukazujú, že jej prítomnosť vo fermentácii môže zintenzívniť arómu vína a zlepšiť jeho celkové kvalitatívne vlastnosti (Padilla et al., 2016).

Jedným z hlavných mechanizmov konkurencieschopnosti voči *Saccharomyces cerevisiae* je vysoká tolerancia na etanol a schopnosť produkovať letálne toxíny, ktorých koncentrácia závisí od konkrétneho kmeňa (Mateus et al., 2020).

Hanseniaspora uvarum a *Metschnikowia pulcherrima* patria medzi hlavné druhy, ktoré prevládajú na hrozne v tokajskej vinohradníckej oblasti (Mas et al., 2016). *Metschnikowia pulcherrima* má viacero enologicky prospešných vlastností, ako napríklad nízku toleranciu na alkohol (čo umožňuje nižší výťažok alkoholu v počiatočných fázach fermentácie), dobrú schopnosť produkovať estery, podporu tvorby glycerolu a inhibíciu prítomnosti *Brettanomyces sp.* (Kunová et al., 2018).

V Európe sa vykonalo viacero štúdií podporujúcich použitie netradičných kvasiniek pri fermentácii hroznového muštu. Podľa jednej štúdie bolo identifikovaných 500 rôznych kvasiniek patriacich do 12 druhov non-*Saccharomyces* z muštov spontánne fermentovaných. Najdominantnejším druhom bola *Hanseniaspora uvarum*, ktorá predstavovala 55 % všetkých izolátov, nasledoval druh *Metschnikowia pulcherrima*, ktorý predstavoval 16,6 % populácie. Ďalšie druhy non-*Saccharomyces* kvasiniek identifikované v nižšej frekvencii (<4 %) boli napríklad *Torulaspora delbrueckii* a *Rhodotorula mucilaginosa* (Kačániová a kol., 2019; Puyo et al., 2023).

ZÁVER

Prítomnosť a dynamika non-*Saccharomyces* kvasiniek, konkrétne *Hanseniaspora uvarum, Metschnikowia pulcherrima* a *Torulaspora delbrueckii*, počas fermentácie muštu odrody Lipovina ukazuje na významnú úlohu týchto kvasiniek v procese vinifikácie. Výsledky naznačujú, že *Hanseniaspora uvarum* je dominantným druhom v počiatočných fázach fermentácie s výraznou prítomnosťou až do 14. dňa, zatiaľ čo *Metschnikowia pulcherrima* a *Torulaspora delbrueckii* vykazovali nižšie populácie. Tieto zistenia podporujú potenciál non-S*accharomyces* kvasiniek ovplyvniť proces fermentácie a senzorické vlastnosti vína, najmä v tokajskej oblasti, kde prispievajú k komplexnosti a kvalite konečného produktu. Ďalšie štúdie sú potrebné na preskúmanie konkrétnych enologických výhod, ktoré tieto kvasinky ponúkajú.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ATKIN, T., et al. Analyzing the impact of conjunctive labeling as part of a regional wine branding strategy. *Wine Economics and Policy*, 2017, 6(2): 155–164.
2. BRUKER DALTONICS, et al. MALDI Biotyper 2.0. Software for microorganism identification and classification user manual. United Kingdom, 2008.

3. CASASSA, L. F., et al. Effects of maceration length after prefermentative cold soak: Detailed chromatic, phenolic and sensory composition of Cabernet Sauvignon, Malbec, and Merlot wines. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2021, 104: 104168.
4. FELŠÖCIOVÁ, S., et al. Mycotoxin-producing Penicillium and other fungi isolated from Slovak wine grapes at various stages of maturation. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2016, 6(1): 747–751.
5. FLEET, G., et al. Yeasts in Food and Beverages. Berlin: Springer, 2006. ISBN 3-540-28388-9.
6. ISO 21527-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds. Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0.95. Bratislava: Slovak Standards Institute, 2010.
7. KAČÁNIOVÁ, M., et al. Microbiota of different wine grape berries. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 2019, 13(1): 174–181.
8. KAČÁNIOVÁ, M., et al. Microbiota of tokaj grape berries of Slovak regions. *Erwerbs-Obstbau*, 2020, 62: 25–33.
9. KUNOVÁ, S., et al. Microscopic fungi isolated from different Slovak grape varieties. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 2018, 12(1): 438–443.
10. MAS, A., et al. Taking advantage of natural biodiversity for wine making: The WILDWINE Project. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2016, 8: 4–9.
11. MATEUS, D., et al. Identification and characterization of non-Saccharomyces species isolated from port wine spontaneous fermentations. *Foods*, 2020, 9(2): 120.
12. NISIOTOU, A. A., et al. Yeast heterogeneity during spontaneous fermentation of black Conservolea olives in different brine solutions. *Journal of Applied Microbiology*, 2010, 108(2): 396–405.
13. PADILLA, B., et al. Past and future of non-Saccharomyces yeasts: from spoilage microorganisms to biotechnological tools for improving wine aroma complexity. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 411.
14. PINTO, C., et al. Unraveling the diversity of grapevine microbiome. *PLoS One*, 2014.
15. PUYO, M., et al. Use of oenological tannins to protect the colour of rosé wine in a bioprotection strategy with Metschnikowia pulcherrima. *Foods*, 2023, 12(4): 735.
16. SOKOLOWSKY, M., et al. Sensory impact of skin contact on white wines characterized by descriptive analysis, time–intensity analysis and temporal dominance of sensations analysis. *Food Quality and Preference*, 2015, 39: 285–297.
17. WHITE, T. J., et al. Application and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, 1990.

Kontaktná adresa: Regecová Ivana, Department of Food Hygiene, Technology and Safety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: ivana.regecova@uvlf.sk

VPLYV SPÔSOBU LOVU NA FYZIKÁLNO-CHEMICKÉ VLASTNOSTI DANIELIEHO MÄSA Z FARMOVÉHO CHOVU

EFFECT OF HUNTING METHOD ON PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF FARMED FALLOW DEER MEAT

Reitznerová Anna[1], Várady Matúš[1], Mesarčová Lýdia[1], Molnár Ladislav [2], Marcinčák Slavomí[1], Popelka Peter[1]

[1]Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín,

[2]Klinika vtákov, exotických a voľne žijúcich zvierat

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

Since 2009, bow hunting of game has been allowed in Slovakia in farms located. In our preliminary study we want to focus on the assessment of the bow hunting method, which is believed to be a less stressful method of hunting game and how it can affect the quality of the venison harvested. In our work, we compare the effect of hunting method (bow and firearm) on meat chemistry, the course of post-mortem changes and oxidative changes of lipids in meat of farmed fallow deer. Differences in fat ($p < 0.05$) and protein ($p < 0.01$) content were found between experimental groups. The gradual decrease in pH values indicated ongoing maturation processes and the acquisition of quality venison. The measurement of colorimetric parameters (L* a* b*) revealed differences in redness (a*) of venison obtained by firearm hunting ($p < 0.01$). Malondialdehyde (MDA) values, indicative of secondary lipid oxidation, were comparable between groups.

Key words: fallow deer, chemical composition, pH, colour, oxidation lipid

ÚVOD

Lov zveri v mnohých krajinách Európy zohráva dôležitú úlohu pri výžive ľudí a regulácii počtu voľne žijúcich zvierat. Mäso zo zveriny nepochádza len zo zveri žijúcej vo voľnej prírode, ale aj zo zveri z farmového chovu. Farmový chov umožňuje spotrebiteľom vyššiu dostupnosť zveriny, dostatok informácií o pôvode, pohlaví a veku zabitého zvieraťa, ale aj hygienickú bezpečnosť vďaka veterinárnemu dozoru (Needham et al., 2023). Danielia zver je jednou z najrozšírenejších druhov jelenej zveri využívanej na produkciu zveriny (Esattore et al., 2022). Konzumácia zveriny má viacero zdravotných prínosov, ktoré sú spojené s nízkym obsah tuku a cholesterolu, vysokým obsahom bielkovín a minerálnych látok, priaznivým

profilom mastných kyselín, absenciou liečiv (najmä antibiotík) a prísunom organického krmiva (bez GMO) (Marescotti et al., 2021).

Pri lovení lesnej zveri sa poľovníci riadia zákonom č. 274/2009 Z. z. Zákon o poľovníctve a Vyhláškou Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky č. 344/2009 Z. z., ktorou sa vykonáva zákon o poľovníctve, ale aj zákonom č. 39/2007 Z. z. o veterinárnej starostlivosti v znení neskorších predpisov. Poľovnú zver môžu loviť len ľudia, ktorý sú v danom odbore vyškolený a poverený, sú vlastníkom poľovníckeho lístka a platného povolenia na lov zveri. Lesnú zver je možné loviť iba v čase lovu, ale na základe povolenia sa môže loviť aj v inom čase. Loviť sa môže v skupinke alebo individuálnym spôsobom. Zver možno loviť strelnou zbraňou a lov lukom je povolený len vo zverniciach s najnižšou napínacou hmotnosťou 220 N. Podľa Európskej federácie lovu lukom (EBF) je lov lukom je časovo náročnejší, ale veľmi efektívny spôsob lovu zveri. Lov lukom je tichý, bezpečný, nerušivý a efektívny spôsob lovu. Ide o veľmi udržateľnú a ekologickú formu lovu. No vyžaduje si to nadšenie a dlhé hodiny tréningu, kým sa človek stane skúseným strelcom s lukom.

Cieľom tejto prvotnej štúdie je porovnanie fyzikálno-chemických vlastností mäsa získaného od zvierat lovených lukom a strelnou zbraňou.

MATERIÁL A METODIKA

V rámci pokusu boli vyšetrené vzorky mäsa z Daniela škvrnitého, *Dama dama*, (4 kusy), ktoré pochádzali zo zverníka Kováčová. Za účelom porovnania spôsobu lovu na fyzikálno-chemické vlastnosti a rozkladné zmeny tukov vo svalovine bola polovica zvierat ulovená lukom (skupina L) a druhá polovica ulovená strelnou zbraňou (skupina SZ). Hneď po usmrtení boli zmerané hodnoty pH vo svale vpichovým pH metrom (Hanna instruments, USA). Následne po vyvrhnutí a uskladnení boli opätovne zmerané hodnoty pH po 24 hodinách. Na druhý deň po zabití boli vzorky podrobené fyzikálno-chemickým analýzam v laboratóriu.

Chemické zloženie (voda, tuk, bielkoviny a popoloviny) vo vzorkách bolo merané pomocou blízkej infračervenej spektroskopie nedeštruktívnou metódou, a teda bez potreby chemickej úpravy vzoriek na TANGO FT-NIR spektrofotometri (Bruker, Germany) s rozlíšením 16 cm^{-1}, časom merania 64 skenov.

Farba mäsa bola meraná kolorimetricky, prístrojom Chroma meter CR-410 (Konica Minolta, Japonsko) s parametrami: meracia plocha Ø 50 mm, osvetlenie D65, štandardný pozorovací uhol 2°. Kolorimetrické parametre analyzovaných vzoriek boli vyjadrené vo farebnom priestore CIE L*a*b*. Hodnota L* predstavuje svetlosť (v rozsahu od 0 – čierna po 100 – biela), a* červenosť (farbu medzi červenou a zelenou) a b* žltosť (farbu medzi modrou

a žltou). Výsledky kolorimetrických parametrov boli spracované v programe Color Data Software CM-S100w SpectraMagic™ NX (Konica Minolta, Japonsko).

Rozkladné procesy tukov boli stanovené spektrofotometricky a vyjadrené ako množstvo malóndialdehydu (MDA) v 1 kg vzorky. MDA je hlavný sekundárny produkt oxidácie tukov a spolu kyselinou 2-tiobarbiturovou (TBA) vytvára komplex (MDA-TBA) ružového sfarbenia, ktoré je možné zmerať pomocou UV spektrofotometra Helios γ v 4.6 (Thermospectronic, Veľká Británia) pri vlnovej dĺžke 532 nm oproti slepej vzorke (Marcinčák et al., 2006).

Dáta sme vyhodnotili použitím štatistického softvéru GraphPad Prism 10.4.1 (627) 2024 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA). Hodnoty pH boli analyzované s použitím jednocestnej analýzy variácie (ANOVA) a Tukeyho viacnásobnými porovnávacími post hoc testami ($p < 0,01$). Chemické zloženie, kolorimetrické zloženie a rozkladné zmeny tukov boli vyhodnotené použitím párového t-testu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Hodnoty pH (Tabuľka č. 1) boli merané vpichovým pH metrom za účelom sledovania zrecieho procesu v mäse čo najskôr po zabití (>1 hod), do 24 hodín po zabití a na nasledujúci deň (48 hod.). Namerané hodnoty pH v danielej roštenke zveriny ulovenej lukom a strelnou zbraňou boli porovnateľné ($p > 0,05$). V obidvoch skupinách hodnoty pH klesali priebehu uskladnenia, so štatisticky významným rozdielom v skupine L ($p < 0,05$), čo súvisí so zrecím procesom prebiehajúcim po zabití zvieraťa za účelom dosiahnutia čo najlepších technologických a kulinárskych vlastností zveriny. Gomez-Basauri et al. (1992) uvádzajú, že vyhovujúcou hodnotou pH mäsa jednu hodinu po usmrtení je okolo 6,9 - 7,1 a hodnota pH 24 hodín *post mortem* okolo 5,7 - 5,9 (Gomez-Basauri et al.,1992). Nami namerané hodnoty pH po zabití (> 1 hod) boli nižšie, nakoľko *rigor mortis* u zveri nastupuje rýchlejšie ako u hospodárskych zvierat, a to dôsledku väčšieho namáhania svaloviny častým a rýchlym pohybom pri love (Nagy et al., 2011). Posmrtné stuhnutie prebieha u zveri v závislosti od zdravotného a kondičného stavu a od spôsobu lovu – čiže usmrtenia na mieste alebo dohľadania po určitom čase, od spôsobu ošetrenia po odstrele, od spôsobu odstrelu, teploty v čase odstrelu a teploty uskladnenia zveri (Nagy et al., 2011). Rýchlosť poklesu hodnôt pH závisí aj od koncentrácie glukózy, teploty svalu a metabolického stavu zvieraťa pred zabitím (Sanz et al, 2002). Jin et al. (2024) uvádza hodnoty pH v jelenej zveri v rozmedzí 5,49 – 5,78, čo sú hodnoty zhodné s našimi výsledkami. Hodnoty pH kvalitnej zveriny by mali byť v rozsahu 5,5 až 5,7 (Winklund et al. 2014).

Tabuľka č. 4: Hodnoty pH vo vzorkách roštenky danielej zveri lovenej lukom a strelnou zbraňou

	> 1 hod	**24 hod**	**48 hod**	p hodnoty
Skupina L	5,98 ± 0,26	5,69 ± 0,09	5,49 ± 0,04	< 0,05
Skupina SZ	6,28 ± 0,56	5,86 ± 0,01	5,59 ± 0,04	> 0,05
p hodnoty	> 0,05	> 0,05	> 0,05	

Mäso daniela je z výživového hľadiska cenené pre vysoký obsah bielkovín a železa, nízky obsah nasýtených mastných kyselín a vysoký obsah polynenasýtených mastných kyselín (Ivanovic et al. 2020). Obsah tuku je dôležitým ukazovateľom kvality mäsa. Tuk má veľký vplyv na zdravie človeka, ale nadmerným zastúpením v strave, ako aj nerovnováhou v zložení, prispieva k vzniku rôznych ochorení (Kilar and Kasprzyk, 2021). Priemerné chemické zloženie vzoriek danielej roštenky je uvedené v tabuľke č. 2. Rozdiely v chemickom zložení medzi skupinami boli zistené v obsahu tuku ($p < 0,05$) a bielkovín ($p < 0,01$). Na chemické zloženie vplýva viacero faktorov, ako je pohlavie, vek, obdobie lovu, výživa a mnoho ďalších. Nami získané hodnoty obsahu bielkovín, vody a popolovín sú vyššie ako uvádza Ivanovic et al. (2020) v *m. logissimus thoracis* (20,40 %; 72,15 % a 1,14 %). Kilar and Kasprzyk (2021) zistili vyšší obsah tuku (2,31 % - 3,10 %) v *m. longissimus lumborum* od danielej zveri chovanej v ekologických a konvenčných chovov. V porovnaní s našimi výsledkami uvádza Żmijewski et al. (2020) vyšší obsah tuku (1,55 %) a nižší obsah bielkovín (23,21 %) v roštenke z daniela z farmového chovu.

Tabuľka č. 2: Chemické zloženie vzoriek roštenky danielej zveri lovenej lukom a strelnou zbraňou

	Voda (%)	**Tuk (%)**	**Bielkoviny (%)**	**Popoloviny (%)**
Skupina L	71,94 ± 0,29	1,07 ± 0,26	26,54 ± 0,33	1,24 ± 0,15
Skupina SZ	71,74 ± 0,24	1,42 ± 0,20	25,99 ± 0,32	1,12 ± 0,18
p hodnoty	> 0,05	< 0,05	< 0,01	> 0,05

Myoglobín je hlavným pigmentom, ktorý je zodpovedný za farbu mäsa . Jeho obsah je vo svaloch ovplyvnený druhom zvieraťa, vekom, pohlavím a podobne. Čím vyšší obsah myoglobínu sa nachádza v mäse, tým je mäso tmavšie. Pri farbe mäsa hodnotíme svetlosť alebo tmavosť, ktorá závisí od štruktúry a stavu bielkovín mäsa (Toldrá, 2017). Farba je jedným z najdôležitejších atribútom, ktorý má veľký význam pri nákupe mäsa. Zákazníci si pri výbere mäsa priamo spájajú jasno červenú farbu mäsa s kvalitou (Araújo et al., 2023). Zverina v porovnaní s červeným mäsom má tmavšiu farbu, čo je spôsobené tým, že zver je lovená a preto vykazuje vyšší podiel krvi vo svalovine. Zverina tiež obsahuje viac svalových farbív

ako červené mäso (Nagy et al., 2011). Taktiež určenie farby mäsa je veľmi dôležitým parametrom hodnotenia kvality, pretože je náchylné na mikrobiálne kazenie a oxidáciu (Dutta and Nath, 2023). V tabuľke č. 3 sú porovnávané kolorimetrické parametre L* a* b* vzoriek rošteniek danielej zveri lovenej lukom a strelnou zbraňou. Parametre L* (svetlosť) a b*(žltosť) boli porovnateľné medzi skupinami ($p > 0,05$). Parameter pre červenú farbu a* bol vyšší v danielej roštenke v skupine lovenou strelnou zbraňou ($p < 0,01$). Daszkiewicz et al. (2015) namerali podobné hodnoty parametra a* v danielej roštenke 12,92 pochádzajúcej z daniela z farmového chovu a 16,37 v prípade voľne žijúcej danielej zveri. Podobne aj ďalší autori zistili rozdiely farby v závislosti od spôsobu chovu a pohlavia (Stanisz et al. 2015; Piaskowska et al., 2015).

Tabuľka č. 3: Kolorimetrické parametre vzoriek roštenky danielej zveri lovenej lukom a strelnou zbraňou

	L*	**a***	**b***
Skupina L	37,205 ± 0,124	13,666 ± 0,126	1,360 ± 0,048
Skupina SZ	38,465 ± 0,078	14,831 ± 0,126	1,265 ± 0,031
p hodnoty	> 0,05	< 0,01	> 0,05

Oxidácia tukov je nemikrobiologické kazenie mäsa a mäsových výrobkov pri ktorom dochádza k degradácií lipidov, pigmentov, bielkovín a vitamínov. Počas oxidačných reakcií dochádza k senzorickým zmenám produktu, čo spôsobuje zníženie kvality a atraktivity pre spotrebiteľa. Okrem toho dochádza k nutričným stratám, ktoré vedú k tvorbe toxických látok, a preto je kontrola rozkladných procesov tukov v mäsovom priemysle nevyhnutná (Domínguez et al., 2019). MDA je jedným z najviac vytváraných aldehydov v priebehu sekundárneho oxidačného procesu tukov a najbežnejšie používaným oxidačným markerom v mäse a mäsových výrobkoch (Barriuso et al., 2013). Rozkladné zmeny tukov vo vzorkách danielej roštenke sú uvedené v tabuľke č. 4. Hodnoty MDA boli medzi vzorkami porovnateľné a nebol preukázaný vplyv spôsobu lovu na oxidáciu lipidov ($p > 0,05$).

Tabuľka č. 4: Rozkladné zmeny tukov vzoriek roštenky danielej zveri lovenej lukom a strelnou zbraňou

	MDA mg.kg^{-1}
Skupina L	0,329 ± 0,03
Skupina SZ	0,338 ± 0,02
p hodnoty	> 0,05

Needham et al. (2023) vo svojej práci zdôrazňuje, že je ťažké štandardizovať kvalitu mäsa ulovenej zveri, pretože jeho fyzikálno-chemickú, senzorickú a mikrobiologickú kvalitu ovplyvňuje množstvo faktorov, a to živočíšne faktory (druh, vek, pohlavie, typ svalu), environmentálne faktory (výživa, environmentálne kontaminanty, vystavenie chorobám, ročné obdobie) a spracovateľské faktory (metóda zabíjania a jej účinnosť, čas od usmrtenia po vypitvanie, hygiena správania, chladenie).

ZÁVER

Na chemicko-fyzikálne vlastnosti mäsa, jeho zrecí proces a oxidáciu tukov má vplyv viacero faktorov. V našom pokuse sme porovnávali vplyv spôsobu lovu (lukom a strelnou zbraňou) na kvalitu danielej roštenky. Na základe našej analýzy sme zistili odlišné zastúpenie základných zložiek a kolorimetrických parametrov. Nakoľko ide o predbežný pokus je potrebné jeho opakovanie a podrobnejšie sledovanie jednotlivých parametrov vplývajúcich na kvalitu zveriny.

LITERATÚRA

1. Araújo, C. D. L. d., Costa, G. F. d., Dantas, T. D., Lima, T. L. S., Krauskopf, M. M., Alves, R. d. N., … & Ribeiro, N. L. (2023): Use of ultrasound and acerola (malpighia emarginata) residue extract in meat pork. Food Science and Technology, 43.
2. Barriuso, B., Astiasarán, I., Ansorena, D. (2013): A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: A challenging task. European Food Research and Technology. 236 (1).
3. Daszkiewicz,T.,Hnatyk, N., Dąbrowski, D., Janiszewski, P., A. Gugołek, A., Kubiak, D., Śmiecińska, K., Winarski, R., Koba-Kowalczyk, M. (2015): A comparison of the quality of the Longissimus lumborum muscle from wild and farm-raised fallow deer (Dama dama L.). Small Ruminant Research, Vol 129, p. 77-83.
4. Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F.J., Zhang, W., Lorenzo, J.M. (2019): A Comprehensive Review on Lipid Oxidation in Meat and Meat Products. Antioxidants (Basel). 25;8(10):429.
5. Dutta, K. and Nath, R. (2023): Application of Colorimetry in Food Industries. Advances in Colorimetry. IntechOpen.
6. Esattore, B., Saggiomo, L. , Sensi, M., Francia, V. , Cherin, M. (2022): Tell me what you eat and I'll tell you…where you live: an updated review of the worldwide distribution and foraging ecology of the fallow deer (*amad ama*). Mammalian Biology, 102, pp. 321-338.

7. European Bowhunting Federation (EBF), dostupné na : https://www.europeanbowhunting.org/#why
8. Gomez-Basauri, J.V., Regenstein, J.M. (1992): Vacuum packaging, ascorbic acid and frozen storage effects on heme and non-heme iron content of mackerel. J Food Sci 57, pp. 1337–1339.
9. Ivanovic et al. Quality of Meat from Female Fallow Deer (*Dama Dama*) and Roe Deer (*Capreolus Capreolus*) Hunted in Serbia (2020): Annals of Animal Science. ISSN 1642-3402, vol. 20, no. 1, p. 245-262.
10. Jin, C., Cui, S., Lu, Y., Li, Z., Huo, X., Wang, Y., Sha, J., Sun, Y. (2024): Nutritional Processing Quality of Sika Deer (Cervus nippon) Venison in Different Muscles. Foods. Nov 17;13(22):3661.
11. Kilar, J., & Kasprzyk, A. (2021). Fatty Acids and Nutraceutical Properties of Lipids in Fallow Deer (Dama dama) Meat Produced in Organic and Conventional Farming Systems. Foods, 10(10), 2290.
12. Nagy, J. et al. (2011): Hygiena mäsa hydiny, vajec a zveriny, 1 diel. Košice : Edičné stredisko UVLF, 383s. ISBN 978-80-8077-232-1.
13. Needham, T., Bureš, D., Černý, J., Hoffman, L. C. (2023): Overview of game meat utilisation challenges and opportunities: A European perspective. Meat Science, Vol 204, 109284.
14. Piaskowska, N. , Daszkiewicz, T. , Kubiak, D. , Janiszewski, P. (2015): The effect of gender on meat (*Longissimus lumborum* muscle) quality characteristics in the fallow deer (*Dama dama* L.). Italian Journal of Animal Science, 14 (3845), pp. 389-393
15. Sanz, Y. (2002). Role of muscle and bacterial exopeptidases in meat fermentation. In: F Toldr´a (ed.) Research Advances in the Quality of Meat and Meat Products. Research Signpost, Trivandrum, pp. 143–155.
16. Stanisz, M. , Ludwiczak, A. , Buda, P. , Pietrzak, M. , Bykowska, M. , Kryza, A. , Ślósarz, P. (2015): The effect of sex on the dressing percentage, carcass, and organ quality in the fallow deer (*Dama dama*). Annals of Animal Science, 15 (4), pp. 1055-1067
17. Toldrá, F. (2017): In Lawrie's Meat Science (8th Edition) - 5.7.2 Color. Elsevier.
18. Vyhláška Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky č. 344/2009 Z. z. z 10. augusta, ktorou sa vykonáva zákon o poľovníctve
19. Winklud, E., Farouk, M.M. and Finstad, G.2014): Venison – Meat from red deer (*Cervus elaphus*) and reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) Animal Frontiers, 4, pp. 55-61.

20. Zákon č. 274/2009 Z. z. Zákon o poľovníctve
21. Zákon č. 39/2007 Z. z. o veterinárnej starostlivosti v znení neskorších predpisov
22. Żmijewski, T., Modzelewska-Kapituła, M., Pomianowski, J., Ziomek, A. (2020): Farmed-raised fallow deer (*Dama dama* L.) carcass characteristics and meat nutritional value. J Food Sci Technol. 57(9):3211-3220.

Kontaktná adresa: Reitznerová Anna, Department of Food Hygiene, Technology and Safety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail anna.reitznerova@uvlf.sk

VPLYV PRÍDAVKU RASTLINNEJ VLÁKNINY NA FARBU FRANKFURTSKÝCH PÁRKOV

EFFECT OF THE ADDITION OF VEGETABLE FIBRE ON THE COLOUR OF FRANKFURTER SAUSAGES

Reitznerová Anna, Mesarčová Lýdia, Kloncková Sofia, Várady Matúš, Bartkovský Martin, Marcinčák Slavomír

Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

The addition of vegetable fibre may improve the technological, nutritional and textural properties of the meat product, but it may also positively or negatively affect the colour of the finished product, which may result in customer non-acceptance when purchasing. In our work, we compared the addition of bamboo, apple and phyllium fiber on the chemical composition and color of experimentally produced Frankfurters. The addition of vegetable fiber caused statistically significant differences in water, fat and protein content ($p < 0.001$) between the experimental meat samples and the finished product of Frankfurt sausages. Similarly, the measurement of colorimetric parameters showed the influence of vegetable fiber on their color ($p < 0.001$). The most pronounced colour variation compared to the control was obtained after the addition of apple fibre.

Key words: dietary fiber, chemical composition, colour, sausages

ÚVOD

Mäsové výrobky zohrávajú dôležitú úlohu v našom každodennom stravovaní vďaka bohatému obsahu bielkovín (Lee et al., 2023). Za účelom zlepšenia kvality a zníženia prídavných látok v mäsovom priemysle sa začínajú používať ich prírodné náhrady, ktoré sú menej škodlivé a nahrádzajú ich technologickú funkciu. Potravinovú vlákninu možno považovať za alternatívu fosfátov v mäsových výrobkoch. Má vynikajúce schopnosti viazať vodu a tuk, preto sa používa na zlepšenie množstva zadržanej vody a stability bezfosfátových výrobkov (William et al., 2019; Zuan et al., 2023). Fortifikáciou mäsových výrobkov rôznymi prírodnými látkami sa môžu zlepšiť ich nutričné, technologické a organoleptické vlastnosti. Pridanie rastlinnej vlákniny mäsových výrobkoch je významným faktorom pre zlepšenie trávenia, reguláciu hladiny cukru v krvi, podporu zdravej mikroflóry v črevách a zníženie rizika

civilizačných chorôb (Diao et al. 2024, Adeyemi et al. 2025). Pri spracovaní mäsových výrobkov je možné pridaním rastlinných látok bohatých na vlákninu (obilná a strukovinová múka, zeleninové a ovocné dužiny), zvýšiť podiel dennej dávky vlákniny pre častých konzumentov mäsa a mäsových výrobkov (Talukder, 2015).

V našom experimente boli vyrobené frankfurtské párky s prídavkom rastlinnej vlákniny (bambusovej, jablčnej a phylliumovej) a bol hodnotený ich vplyv na chemické zloženie a kolorimetrické parametre L* a* b* v mäsovom diele a hotovom výrobku.

MATERIÁL A METODIKA

V rámci experimentu boli vyšetrené vzorky frankfurtských párkov, ktoré boli vyrobené v technologickej dielni UVLF v Košiciach. Frankfurtské párky boli vyrobené podľa tradičnej receptúry s prídavkom rastlinnej (bambusová, jablčná, phylliumová) vlákniny. Jednotlivé experimentálne vzorky párkov boli označené: Kontrola – frankfurtské párky bez prídavku rastlinnej vlákniny, vzorka B – frankfurtské párky s prídavkom 2 % bambusovej vlákniny (Naturmind, Čína), vzorka J – frankfurtské párky s prídavkom 2 % jablčnej vlákniny (Naturmind, Nemecko) a vzorka P – frankfurtské párky s prídavkom 2 % phylliumovej vlákniny (Naturmind, India). Na analýzu chemického zloženia a kolorimetrických parametrov boli odobrané vzorky mäsového diela (MD) a po tepelnom opracovaní a vychladení hotový výrobok (HV) – frankfurtské párky.

Chemické zloženie experimentálnych vzoriek MD a HV frankfurtských párkov (voda, tuk, bielkoviny) bolo stanovené pomocou blízkej infračervenej spektroskopie nedeštruktívnou metódou, a teda bez potreby chemickej úpravy vzoriek na TANGO FT-NIR spektrofotometri (Bruker, Germany) s rozlíšením 16 cm^{-1}, časom merania 64 skenov.

Kolorimetrické parametre L* a* b* MD a HV frankfurtských párkov bola meraná kolorimetricky, prístrojom Chroma meter CR-410 (Konica Minolta, Japonsko, meracia plocha Ø 50 mm, osvetlenie D65, štandardný pozorovací uhol 2°). Kolorimetrické parametre analyzovaných vzoriek boli vyjadrené vo farebnom priestore CIE L*a*b*. Hodnota L* predstavuje svetlosť (v rozsahu od 0 – čierna po 100 – biela), a* červenosť (farbu medzi červenou a zelenou) a b* žltosť (farbu medzi modrou a žltou). Výsledky kolorimetrických parametrov boli spracované v programe Color Data Software CM-S100w SpectraMagic™ NX (Konica Minolta, Japonsko).

Dáta boli analyzované pomocou GraphPad Prism 10.4.1 (627) 2024 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA), s použitím dvojcestnej analýzy variancie (ANOVA). Model zahŕňal vplyv vlákniny a vplyv tepelného opracovania. Individuálne rozdiely sa určili

pomocou Tukeyho post-testu s viacnásobným porovnaním a rôzne písmená (a,b,c,d) v stĺpci označujú významné rozdiely $p < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Potravinová vláknina obsahuje množstvo nutričných, funkčných a zdraviu prospešných látok. Jej pridávanie do mäsových výrobkov môže zlepšiť ich fyzikálno-chemické vlastnosti, chemické zloženie, textúrne vlastnosti a organoleptické vlastnosti (Mishra et al., 2023). Porovnanie chemického zloženia jednotlivých experimentálnych vzoriek mäsového diela a hotového výrobku frankfurtských párkov je znázornené v tabuľke č. 1. Tepelným opracovaním došlo k poklesu vody v priemere o 3 % vo všetkých experimentálnych skupinách ($p < 0,001$), čo je spôsobe stratou vody v dôsledku zvýšenej teploty. K najvýraznejšiemu poklesu tuku medzi MD a HV došlo v kontrole (o 2,72 %) v porovnaní s ostatnými experimentálnymi skupinami B, J, P, kde pokles tuku bol nižší (1,70 %; 1,43 %; 2,03 %). Vláknina sa môže použiť do mäsových výrobkov ako účinné plnivo alebo spojivo na zníženie výrobných nákladov zvýšením výťažnosti varenia, ako aj na zníženie obsahu chudého mäsa, a tiež ako náhrada tuku za účelom výroby nízkokalorických alebo nízkotukových výrobkov (Mishra et al., 2023). Obsah bielkovín sa po tepelnom opracovaní v jednotlivých experimentálnych vzorkách HV zvýšil v priemere o 1% v porovnaní s MD. Analýza chemického zloženia preukázala významnú štatistickú rozdielnosť ($p < 0,001$) medzi experimentálnymi vzorkami mäsového diela a hotového výrobku frankfurtských párkov v závislosti od pridanej rastlinnej vlákniny. Prídavok bambusovej vlákniny zapríčinil, že MD a HV mali stanovený najvyšší obsah vody a najnižší obsah tuku v porovnaní s ostatnými experimentálnymi skupinami. Phylliumová vláknina zadržala viac vody po tepelnom opracovaní ako ostatné druhy vlákniny, rozdiel v obsahu vody medzi MD a HV bol 1,83 %. Rozdiel obsahu vody v kontrole bol 2,95 %, vo vzorke s prídavkom bambusovej vlákniny 3,11 % a vo vzorke s jablčnou vlákninou 3,08 %. Pri porovnaní HV frankfurtských párkov bol obsah tuku najvyšší vo vzorke s prídavkom jablčnej vlákniny ($p < 0,001$).

Tabuľka č. 1: Chemické zloženie experimentálnych vzoriek mäsového diela (MD) a hotového výrobku (HV) frankfurtských párkov

Vzorka	Voda (%)			Tuk (%)			Bielkoviny (%)		
	MD	HV	p-TO	MD	HV	p-TO	MD	HV	p-TO
K	68,73 ± 0,10^{b}	65,78 ± 0,06^{a,b}	0,001	14,08 ± 0,11^{d}	11,36 ± 0,04^{b}	0,001	12,42 ± 0,08^{d}	13,19 ± 0,09^{c}	0,001
B	69,11 ± 0,09^{d}	66,00 ± 0,09^{c}	0,001	12,86 ± 0,16^{a}	11,16 ± 0,05^{a}	0,001	12,01 ± 0,09^{a}	13,03 ± 0,05^{a}	0,001
J	68,93 ± 0,12^{c}	65,85 ± 0,13^{b,c}	0,001	13,48 ± 0,09^{c}	12,05 ± 0,04^{d}	0,001	12,17 ± 0,05^{b}	13,22 ± 0,09^{c,d}	0,001
P	68,11 ± 0,17^{a}	66,28 ± 0,04^{d}	0,001	13,44 ± 0,05^{b,c}	11,41 ± 0,09^{b,c}	0,001	12,63 ± 0,10^{c}	13,10 ± 0,05^{a,b,c}	0,001
p-vlák.	0,001	0,001		0,001	0,001		0,001	0,001	

K – kontrola; B – vzorka s prídavkom bambusovej vlákniny; J – vzorka s prídavkom jablčnej vlákniny; P – vzorka s prídavkom phylliumovej vlákniny; p-vlák: p hodnota pre hlavný faktor štatistickej analýzy vplyv prídavku vlákniny; p-TO: p hodnota pre hlavný faktor štatistickej analýzy vplyv tepelného opracovania. Priemery zdieľajúci zhodný horný index v stĺpci, nie sú vzájomne štatisticky významné (Tukeyho test, $p < 0,05$).

Meranie kolorimetrických parametrov L* (jas) a* (intenzita červenej (+)/zelenej (-)), b* (intenzita žltej (+)/modrej (-)) preukázali výraznú štatistickú významnosť medzi mäsovým dielom a hotovým výrobkom ($p < 0,001$) a vplyv prídavku rastlinnej vlákniny ($p < 0,001$) v MD aj HV frankfurtských párkov. Namerané hodnoty jednotlivých parametrov L* a* b* sú uvedené v tabuľke č. 2. Prídavok rastlinnej vlákniny ovplyvnil svetlosť L* MD ($p < 0,001$), pričom jablčná vláknina, ktorá je tmavohnedej farby, spôsobila najvýraznejšiu zmenu, a to stmavnutie MD. Tepelným opracovaním došlo k rovnomernému zosvetlenie HV, vďaka prídavku dusitanov. Použitie tejto multifunkčnej prísady vedie k stabilizácii farby a chuti, zníženiu oxidácie lipidov a inhibícii rastu mikroorganizmov v mäsových výrobkoch (Jo et al., 2020). Kolorimetrický parameter a* (červenosť) bol nižší v MD po pridaní bambusovej a jablčnej

vlákniny a po tepelnom opracovaní bola výraznejšia červenosť v HV s prídavkom jablčnej vlákniny. Kumar et al. (2015) uvádza, že hodnoty smerujúce k červenej farbe sú v prípade mäsových výrobkov očakávané a žiadúce, pretože prispievajú k ich senzorickej akceptácii. Parameter b* bol najvýraznejšie ovplyvnený prídavkom jablčnej vlákniny, čo je nežiaduce, nakoľko stúpa oproti kontrole.

Tabuľka č. 2: Kolorimetrické parametre jednotlivých experimentálnych vzoriek mäsového diela (MD) a hotového výrobku (HV) frankfurtských párkov

Vzorka	L*			a*			b*		
	MD	HV	p-TO	MD	HV	p-TO	MD	HV	p-TO
K	60,10 ± 0,14^{c}	65,50 ±0,09^{d}	0,001	11,03 ± 0,05 ^{b}	9,18 ± 0,04^{b}	0,001	10,47 ± 0,09 ^{a}	8,18 ± 0,08 ^{a}	0,001
B	60,62 ± 0,05 ^{d}	65,25 ± 0,08 ^{c}	0,001	10,72 ± 0,06 ^{a}	9,15 ± 0,08 ^{b}	0,001	10,49 ± 0,05 ^{a}	8,20 ± 0,11 ^{a}	0,001
J	57,38 ± 0,05 ^{a}	61,99 ± 0,07 ^{a}	0,001	10,81 ± 0,05 ^{a}	8,82 ± 0,04 ^{a}	0,001	13,56 ± 0,06 ^{c}	10,32 ± 0,06 ^{c}	0,001
P	59,95 ± 0,13 ^{b}	64,27 ± 0,06 ^{b}	0,001	11,31 ± 0,09 ^{c}	9,68 ± 0,05 ^{c}	0,001	11,12 ± 0,08 ^{b}	8,57 ± 0,05 ^{b}	0,001
p-vlák.	0,001	0,001		0,001	0,001		0,001	0,001	

K – kontrola; B – vzorka s prídavkom bambusovej vlákniny; J – vzorka s prídavkom jablčnej vlákniny; P – vzorka s prídavkom phylliumovej vlákniny; p-vlák: p hodnota pre hlavný faktor štatistickej analýzy vplyv prídavku vlákniny; p-TO: p hodnota pre hlavný faktor štatistickej analýzy vplyv tepelného opracovania. Priemery zdieľajúci zhodný horný index v stĺpci, nie sú vzájomne štatisticky významné (Tukeyho test, $p < 0,05$).

ZÁVER

Prídavok rastlinnej vlákniny má veľké opodstatnenie v mäsovom priemysle. Jej pridanie do mäsových výrobkov môže pozitívne interferovať ich fyzikálno-chemické vlastnosti, chemické zloženie, textúrne a senzorické vlastnosti. Z našich výsledkov vyplýva, že pridanie rastlinnej vlákniny má vplyv na chemické zloženie a kolorimetrické parametre

experimentálnych vzoriek frankfurtských párkov. Pridanie bambusovej vlákniny nespôsobilo farebnú odlišnosť od kontrolnej vzorky, naopak pridanie jablčnej vlákniny malo najvýraznejší vplyv na farbu mäsového diela i hotového výrobku oproti kontrole.

LITERATÚRA

1. Diao, X., Zhu, J., Huang, L.,Li, S., Mao, X., Li, C., Ke, W. (2024): Effect of citrus fiber on physicochemical quality of Frankfurter sausages: A study on lipid oxidation and protein gel characteristics, LWT, 2024, vol. 209. 116778. ISSN 0023-6438.
2. Deng, C., Li, M., Liu, Y., Yan, C., He, Z., Chen, Z.-Y.U., Zhu, H. (2023): Rice husk-fortified beef sausages: Cholesterol oxidation products, physicochemical properties, and sensory attributes, Meat Science, 2025, Volume 220, 109714. ISSN 0309-1740.
3. Lee, S., Jo, K., Jeong, S.K., Jeon, H., Choi, Y.S., Jung, S. (2023): Recent strategies for improving the quality of meat products. J Anim Sci Technol. Sep;65(5):895-911.
4. Williams, B.A., Mikkelsen, D., Flanagan, B.M., Gidley, M.J. (2019): „Dietary fibre": moving beyond the "soluble/insoluble" classification for monogastric nutrition, with an emphasis on humans and pigs. J Anim Sci Biotechnol. 10:45.
5. Yuan, D., Xu ,Y., Kong, B., Cao, C., Zhang, F., Xia, X. (2023): Application of seaweed dietary fiber as a potential alternative to phosphates in frankfurters with healthier profiles. Meat Sci. 196:109044.
6. Talukder, S. (2015): Effect of dietary fiber on properties and acceptance of meat products: a review. Crit Rev Food Sci Nutr. 55(7):1005-11.
7. Mishra, B.P., Mishra, J., Paital, B., Rath, P.K., Jena, M.K., Reddy, B.V.V., Pati, P.K., Panda, S.K., Sahoo, D.K. (2023): Properties and physiological effects of dietary fiber-enriched meat products: a review. Front Nutr. Nov 30;10:1275341.
8. Jo, K., Lee, S., Yong, H.I., Choi, Y.S., Jung, S. (2020): Nitrite sources for cured meat products. LWT. 129:109583.
9. Kumar, Y., Yadav, D.N., Ahmad, T., Narsaiah, K. (2015): Recent trends in the use of natural antioxidants for meat and meat products. Compr Rev Food Sci Food Saf 14(6):796–812.

Kontaktná adresa: Reitznerová Anna, Department of Food Hygiene, Technology and Safety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail anna.reitznerova@uvlf.sk

OZNAČOVANIE ENVIRONMENTÁLNYCH CHARAKTERISTÍK NA POTRAVINÁCH

LABELLING OF ENVIRONMENTAL CHARACTERISTICS ON FOOD

Rybnikár Samuel

Ústav duševného vlastníctva, technológií a produktového práva, Trnavská univerzita v Trnave, Právnická fakulta, Hornopotočná 23, 918 43 Trnava, Slovenská republika

ABSTRACT

The European Union has adopted Directive (EU) 2024/825 of the European Parliament and of the Council of 28 February 2024 amending Directives 2005/29/EC and 2011/83/EU as regards empowering consumers for the green transition through better protection against unfair practices and through better information, in order to promote the green transformation of society by strengthening consumer protection against unfair practices and by improving access to information. This Directive amends existing legislation to address misleading commercial practices that prevent consumers from making sustainable consumption choices, such as misleading environmental claims, unclear environmental characteristics of products and non-transparent sustainability labels. The authors of the paper offer a legal analysis of the ECGT Directive and examine its implications for food labelling across the European Union and how these changes will affect environmental labelling of food once the Directive is transposed into national laws in 2026.

Key words: food law, food labelling, environmental characteristics, unfair commercial practices, green transition, environmental claims, consumer protection.

ÚVOD

Cieľom Európskej komisie je dosiahnuť pokrok v *„zelenej transformácii“*. Ako chce tento pokrok dosiahnuť? Jedným z nástrojov má byť aj právna regulácia, ktorou sa zabezpečí lepšia ochrana spotrebiteľov pred nekalými praktikami na trhu (B2C), v našom prípade pri predaji potravín spotrebiteľom a lepšia informovanosť spotrebiteľov, aby mohli prijímať informované rozhodnutia o nákupe, a tým prispievať k udržateľnejším modelom spotreby (Bod 1 recitálu smernice ECGT). Touto právnou reguláciou je Smernica Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2024/825 z 28. februára 2024, ktorou sa menia smernice 2005/29/ES a 2011/83/EÚ, pokiaľ ide o posilnenie postavenia spotrebiteľov v rámci zelenej transformácie prostredníctvom lepšej ochrany pred nekalými praktikami a prostredníctvom lepšieho informovania (ďalej len ako *„smernica ECGT“*). Smernicou ECGT sa menia a dopĺňajú:

1. Smernica Európskeho parlamentu a Rady 2005/29/ES z 11. mája 2005 o nekalých obchodných praktikách podnikateľov voči spotrebiteľom na vnútornom trhu, a ktorou sa mení a dopĺňa smernica Rady 84/450/EHS, smernice Európskeho parlamentu a Rady 97/7/ES, 98/27/ES a 2002/65/ES a nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 2006/2004 (ďalej len ako *„smernica o nekalých obchodných praktikách“*) a

2. Smernica Európskeho parlamentu a Rady 2011/83/EÚ z 25. októbra 2011 o právach spotrebiteľov, ktorou sa mení a dopĺňa smernica Rady 93/13/EHS a smernica Európskeho parlamentu a Rady 1999/44/ES a ktorou sa zrušuje smernica Rady 85/577/EHS a smernica Európskeho parlamentu a Rady 97/7/ES (ďalej len ako *„smernica o právach spotrebiteľa“*).

Predmetom nášho záujmu budú len zmeny a doplnenia smernice o nekalých obchodných praktikách, ktorými sa do spotrebiteľského práva Európskej únie zavádzajú nové pravidlá na riešenie nekalých obchodných praktík, ktoré zavádzajú spotrebiteľov a bránia im prijímať rozhodnutia predstavujúce udržateľnú spotrebu, akými sú praktiky spojené s klamlivými tvrdeniami týkajúcimi sa životného prostredia, so zavádzajúcimi informáciami o environmentálnych charakteristikách výrobkov alebo podnikov a praktiky spojené s netransparentnými a nedôveryhodnými značkami udržateľnosti. Keďže smernica o nekalých obchodných praktikách predstavuje základný právny rámec regulácie nekalých obchodných praktík obchodníkov vrátane nekalej reklamy, ktoré priamo poškodzujú ekonomické záujmy spotrebiteľov, a tým nepriamo poškodzujú ekonomické záujmy aj ďalších oprávnených účastníkov hospodárskej súťaže, ide o všeobecnú právnu úpravu. Plne sa však uplatňuje aj vo vzťahu k predaju potravín konečnému spotrebiteľovi (Rybnikár, 2024).

Transpozícia smernice ECGT jednotlivými členskými štátmi Európskej únie má byť vykonaná do 27. marca 2026 (článok 4 ods. 1 prvý odstavec smernice ECGT). Prijaté opatrenia sa musia uplatňovať vo všetkých členských štátoch od 27. septembra 2026 (článok 4 ods. 1 druhý odstavec smernice ECGT). Tieto zmeny budú bezpochyby znamenať *„revolúciu“* v označovaní potravín naprieč všetkými poľnohospodárskymi a potravinárskymi sektormi v Európskej únii. Ako sa zmenia pravidlá pre označovanie potravín vo vzťahu k environmentálnym charakteristikám po 27. septembri 2026? Na túto a súvisiace otázky ponúkame v nasledovnom texte odpoveď.

MATERIÁL A METODIKA

Predmetom tohto príspevku je identifikácia právnych noriem obsiahnutých v smernici ECGT, ktoré regulujú praktiky spojené s klamlivými tvrdeniami týkajúcimi sa životného prostredia, so zavádzajúcimi informáciami o environmentálnych charakteristikách výrobkov alebo podnikov a praktiky spojené s netransparentnými a nedôveryhodnými značkami

udržateľnosti. Tento právny text je následne analyzovaný a interpretovaný tradičnými metódami právnej analýzy a právnohermeneutických metód s dôrazom na jazykový a systematický výklad. Jednotlivé právne normy a súvisiace dokumenty sú získané z portálu www.eur-lex.eu, oficiálnej webovej stránky Európspskej únie na vyhľadávanie právnych aktov Európskej únie, iných aktov a úradných informácií uverejnených v Úradnom vestníku Európskej únie a z portálu www.slov-lex.sk, oficiálnej webovej stránky Ministerstva spravodlivosti Slovenskej republiky, ktorá obsahuje Zbierku zákonov Slovenskej republiky a súvisiace akty. S ohľadom na interdisciplinárnu povahu príspevku, systém právnej dogmatiky označovania environmentálnych charakteristík na potravinách je konfrontovaný a doplnený tam, kde je to vhodne, o aktuálnu právnu a potravinársku doktrínu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Európska komisia zverejnila informáciu, že pri posudzovaní 150 tvrdení týkajúcich sa životného prostredia na výrobkoch naprieč Európskou úniou sa zistilo, že značná časť (až 53,3%) z nich poskytuje nejasné, klamlivé alebo nepodložené informácie o rôznych environmentálnych vlastnostiach výrobkov, a to v celej Európskej únii a v širokej škále skupín výrobkov, v reklame, ako aj na výrobkoch (Európska komisia. Tvrdenia týkajúce sa životného prostredia v EÚ – posúdenie inventáru a spoľahlivosti, 2020). Len tie tvrdenia týkajúce sa životného prostredia, ktoré budú správne (pravdivé) zrozumiteľné a spoľahlivé, umožnia obchodníkom pôsobiť za rovnakých podmienok na trhu a predovšetkým umožnia spotrebiteľom vybrať si výrobky, ktoré sú naozaj lepšie pre životné prostredie ako konkurenčné výrobky. To podporí hospodársku súťaž, ktorá povedie k environmentálne udržateľnejším výrobkom, čím sa zmiernia negatívne vplyvy na životné prostredie (Bod 1 recitálu smernice ECGT).

Čo je podľa smernice tvrdenie týkajúce sa životného prostredia? Tvrdenie týkajúce sa životného prostredia predstavuje akékoľvek oznámenie alebo zobrazenie, ktoré nie je povinné podľa práva Európskej únie alebo vnútroštátneho práva, v akejkoľvek forme, vrátane textového, obrazového, grafického alebo symbolického zobrazenia, ako sú označenia, obchodné značky, názvy spoločnosti alebo názvy výrobku, v rámci obchodnej komunikácie, a ktoré uvádza alebo naznačuje, že výrobok, kategória výrobku, značka alebo obchodník majú pozitívny alebo nulový vplyv na životné prostredie, prípadne menej škodlivý vplyv na životné prostredie ako iné výrobky, značky alebo iní obchodníci, alebo že sa im za určitý čas podarilo svoj vplyv zmierniť (článok 1 bod 1 písm. b) smernice ECGT).

Tvrdenia týkajúce sa životného prostredia možno na základe uvedenej definície a ďalších súvisiacich ustanovení smernice ECGT rozdeliť na nasledovné druhy:

1. všeobecné tvrdenia týkajúce sa životného prostredia,
2. špecifické (konkrétne) tvrdenia týkajúce sa životného prostredia a
3. osobitné tvrdenia týkajúce sa životného prostredia.

Všeobecné tvrdenie týkajúce sa životného prostredia je akékoľvek tvrdenie týkajúce sa životného prostredia v písomnej alebo ústnej forme, a to aj prostredníctvom audiovizuálnych médií, ktoré sa neuvádza na značke udržateľnosti a pri ktorom sa v tom istom komunikačnom prostriedku jasne a dôrazne neuvádza špecifikácia tvrdenia (článok 1 bod 1 písm. b) smernice ECGT). Príklady všeobecných tvrdení týkajúcich sa životného prostredia zahŕňajú vyhlásenia ako šetrné k životnému prostrediu, environmentálne vhodné, zelené, priateľské k prírode, environmentálne správne, šetrné ku klíme, neškodiace životnému prostrediu, tiež nízkouhlíkové alebo podobné vyhlásenia, z ktorých vyplýva alebo ktorými sa vytvára dojem vynikajúcich environmentálnych vlastností. Uvedenie všeobecného tvrdenia týkajúceho sa životného prostredia, pri ktorom obchodník nie je schopný preukázať, že v súvislosti s týmto tvrdením boli uznané vynikajúce environmentálne vlastnosti sa považuje za nekalú obchodnú praktiku, ktorá sa za každých okolností považuje za nekalú – obchodná praktika zaradená do prílohy I smernice o nekalých obchodných praktikách. Keďže vo vzťahu k potravinám nemožno uznať vynikajúce environmentálne vlastnosti, všeobecné tvrdenia týkajúce sa životného prostredia nebude možné na potravinách uvádzať (nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 66/2010 z 25. novembra 2009 o environmentálnej značke EÚ). V súčasnosti totiž neexistujú kritériá environmentálnej značky EÚ pre žiadnu skupinu produktov pre potraviny a krmivá. Európska komisia môže však svoje rozhodnutie v budúcnosti zmeniť. Výnimkou, kedy možno na potravine uviesť všeobecné tvrdenie týkajúce sa životného prostredia je len situácia, ak bude na potravine popri všeobecnom tvrdení uvedené aj špecifické (konkrétne) tvrdenie týkajúce sa životného prostredia. Obe tvrdenia však budú musieť byť uvedené v tom istom komunikačnom prostriedku jasne a dôrazne spolu. Právna úprava konkrétnych (špecifických) tvrdení však na úrovni Európskej únie ešte nebola prijatá – návrh smernice Európskeho parlamentu a Rady o zdôvodňovaní a oznamovaní výslovných tvrdení týkajúcich sa životného prostredia (smernica o tvrdeniach týkajúcich sa životného prostredia) (Európska únia. Riadny legislatívny proces 2023/0085/COD).

Okrem všeobecných a konkrétnych tvrdení týkajúcich sa životného prostredia rozlišujeme aj skupinu osobitných tvrdení. Sú nimi tvrdenia založené na kompenzácii emisií

skleníkových plynov, tvrdenia týkajúce sa životného prostredia vo vzťahu k budúcim environmentálnym vlastnostiam a porovnávacie tvrdenia týkajúce sa životného prostredia.

Podľa normotvorcu Európskej únie je mimoriadne dôležité zakázať uvádzanie tvrdení, založených na kompenzácii emisií skleníkových plynov, o tom, že výrobok, či už tovar alebo služba, má neutrálny, znížený alebo pozitívny vplyv na životné prostredie z hľadiska emisií skleníkových plynov (Bod 12 recitálu smernice ECGT). Uvedenie tvrdenia, založeného na kompenzácii emisií skleníkových plynov, že výrobok má neutrálny, znížený alebo pozitívny vplyv na životné prostredie z hľadiska emisií skleníkových plynov sa považuje za nekalú obchodnú praktiku, ktorá sa za každých okolností považuje za nekalú – obchodná praktika zaradená do prílohy I smernice o nekalých obchodných praktikách (bod 1 Prílohy smernice ECGT). Uvedené tvrdenia nebudú však na výrobku zakázané, ak budú založené na skutočnom vplyve životného cyklu príslušného výrobku (potraviny), nebudú teda založené na kompenzácii emisií skleníkových plynov mimo hodnotového reťazca daného výrobku.

Z osobitných tvrdení je vhodné sa bližšie pozrieť aj na tvrdenia týkajúce sa životného prostredia vo vzťahu k budúcim environmentálnym vlastnostiam. Tvrdenia týkajúce sa životného prostredia, najmä v súvislosti s klímou, sa totiž čoraz častejšie vzťahujú na budúce správanie spočívajúce v prechode na uhlíkovú alebo klimatickú neutralitu či v podobnom cieli, ktorý sa má dosiahnuť do určitého dátumu. Takýmito tvrdeniami vyvolávajú obchodníci dojem, že spotrebitelia zakúpením ich výrobkov prispejú k nízkouhlíkovému hospodárstvu (bod 4 recitálu smernice ECGT). Tvrdenia týkajúce sa životného prostredia vo vzťahu k budúcim environmentálnym vlastnostiam musia byť vždy podložené jasnými, objektívnymi, verejne dostupnými a overiteľnými záväzkami, ktoré sú stanovené v podrobnom a realistickom pláne vykonávania (ktorý obsahuje merateľné a časovo ohraničené ciele, iné relevantné prvky potrebné na podporu jeho vykonávania, ako je prideľovanie zdrojov a ktorý pravidelne overuje nezávislý odborník tretej strany, ktorého zistenia sa sprístupnia spotrebiteľom). Tvrdenie týkajúce sa životného prostredia vo vzťahu k budúcim environmentálnym vlastnostiam, ak nespĺňa stanovené predpoklady je klamlivou obchodnou praktikou, ak v skutkovej súvislosti, berúc do úvahy všetky jej črty a okolnosti, zapríčiňuje alebo je spôsobilá zapríčiniť, že priemerný spotrebiteľ urobí rozhodnutie o obchodnej transakcii, ktoré by inak neurobil.

Osobitne, vo vzťahu k environmentálnym aspektom označovania potravín možno spomenúť ešte tvrdenia, ktorými sa prezentujú požiadavky, ktoré sú uložené v právnych predpisoch na všetky výrobky v príslušnej kategórii výrobkov na trhu Európskej únie vrátane dovezených výrobkov ako charakteristických vlastností ponuky obchodníka. Takéto tvrdenia sú za všetkých okolností zakázané, a teda sú obsiahnuté v Prílohe I smernice o nekalých obchodných praktikách (Bod 3 prílohy smernice ECGT). Obdobné pravidlo je obsiahnuté vo

vzťahu k potravinám aj v čestnom informačnom postupe podľa článku 7 ods. 1 písm. c) Nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 1169/2011 z 25. októbra 2011 o poskytovaní informácií o potravinách spotrebiteľom, ktorým sa menia a dopĺňajú nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 a (ES) č. 1925/2006 a ktorým sa zrušuje smernica Komisie 87/250/EHS, smernica Rady 90/496/EHS, smernica Komisie 1999/10/ES, smernica Európskeho parlamentu a Rady 2000/13/ES, smernice Komisie 2002/67/ES a 2008/5/ES a nariadenie Komisie (ES) č. 608/2004 (ďalej len ako *„nariadenie FIC“*), podľa ktorého informácie o potravinách nesmú uvádzať do omylu poukazovaním na to, že potravina má osobitné vlastnosti, aj keď v skutočnosti majú takéto vlastnosti všetky podobné potraviny, najmä konkrétnym zdôrazňovaním prítomnosti alebo neprítomnosti určitých zložiek alebo živín. Tento čestný informačný postup podľa nariadenia FIC sa však vzťahuje len na vlastnosti potraviny. Nekalá obchodná praktika má širší rozmer a týka sa napríklad aj výrobného procesu potraviny.

Okrem tvrdení týkajúcich sa životného prostredia sú v smernici ECGT regulované aj tzv. značky udržateľnosti. Značky udržateľnosti sa môžu týkať mnohých charakteristík výrobku, procesu alebo podniku a je nevyhnutné zabezpečiť ich transparentnosť a dôveryhodnosť. Aj na potravinách a v súvislosti s predajom potravín konečnému spotrebiteľovi sa môžeme čoraz častejšie stretnúť s rôznymi značkami udržateľnosti. Značkou udržateľnosti sa podľa nariadenia ECGT rozumie (pozitívne vymedzenie) akákoľvek dobrovoľná verejná alebo súkromná známka dôveryhodnosti či kvality alebo rovnocenná známka, ktorej cieľom je odlíšiť a propagovať výrobok, proces alebo podnik s odkazom na jej environmentálne alebo sociálne charakteristiky, alebo oboje. Naopak, značkou udržateľnosti podľa smernice ECGT sa nebude rozumieť (negatívne vymedzenie) akákoľvek povinná značka, ktorá sa vyžaduje podľa práva Európskej únie alebo vnútroštátneho práva (článok 1 bod 1 písm. b) smernice ECGT). Zobrazenie značky udržateľnosti ktorá nie je založená na certifikačnom systéme alebo ktorú nezaviedli verejné orgány (napríklad Ministerstvo životného prostredia Slovenskej republiky, Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky) na potravine je nekalou obchodnou praktikou, ktorá sa za každých okolností považuje za nekalú – obchodná praktika zaradená do prílohy I smernice o nekalých obchodných praktikách. Na to, aby sa mohla značka udržateľnosti považovať za značku založenú na certifikačnom systéme podľa smernice ECGT, musí tento certifikačný systém byť systémom overovania treťou stranou, ktorým sa osvedčuje, že výrobok, proces alebo prevádzkovateľ spĺňajú určité požiadavky, ktorý umožňuje používanie príslušnej značky udržateľnosti a ktorého podmienky, vrátane jeho požiadaviek sú verejne dostupné. Podľa recitálu smernice ECGT (Bod 7 recitálu smernice ECGT) sa za značky udržateľnosti, ktoré zaviedli verejné orgány považujú aj ďalšie

formy vyjadrenia a prezentácie energetickej hodnoty a množstva živín na potravinách podľa článku 35 nariadenia FIC. Napokon, možno poznamenať, že ak bude zobrazenie značky udržateľnosti sprevádzané ďalšou obchodnou komunikáciou ohľadom životného prostredia, bude sa táto značka udržateľnosti spolu s obchodnou komunikáciou považovať aj za tvrdenie týkajúce sa životného prostredia.

ZÁVER

Všetky členské štáty Európskej únie majú povinnosť transponovať smernicu ECGT do 27. marca 2026 (článok 4 ods. 1 prvý odstavec smernice ECGT). Uplatňovať sa musí od 27. septembra 2026 (článok 4 ods. 1 druhý odstavec smernice ECGT). Jednotlivé členské štáty preto postupne pristupujú k procesu transpozície tejto smernice, nevynímajúc Slovenskú republiku. Transpozícia smernice ECGT bude vykonaná v Slovenskej republike do zákona č. 108/2024 Z. z. o ochrane spotrebiteľa a o zmene a doplnení niektorých zákonov. Gestorom totho legislatívneho procesu je preto Ministerstvo hospodárstva Slovenskej republiky. Legislatívny proces už bol začatý, a to zverejnením predbežnej informácie o príprave (PI/2024/216). Cieľom transpozície smernice ECGT je podľa vnútroštátneho zákonodarcu predovšetkým umožniť spotrebiteľom prijímať kvalifikované nákupné rozhodnutia, ktoré prispejú k udržateľnej spotrebe. Navrhovanými zmenami sa dopĺňajú ustanovenia týkajúce sa klamlivých obchodných praktík, rozširuje sa zoznam obchodných praktík, ktoré sa za každých okolností považujú za nekalé, a zavádzajú sa nové predzmluvné informačné povinnosti pre obchodníkov. Aj verejnosť sa môže zapojiť do prípravy právneho predpisu formou zasielania konkrétnych a konštruktívnych podnetov alebo návrhov v intenciách vecného zamerania pripomienok. Hoci bol predpokladaný dátum začiatku medzirezortného pripomienkového konania v Slovenskej republike stanovený na december 2024, Ministerstvo hospodárstva Slovenskej republiky doposiaľ (máj 2025) nezverejnilo príslušný návrh zákona na portáli Slov-lex.sk.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Európska komisia. Návrh SMERNICA EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY, ktorou sa menia smernice 2005/29/ES a 2011/83/EÚ, pokiaľ ide o posilnenie postavenia spotrebiteľov v rámci zelenej transformácie prostredníctvom lepšej ochrany pred nekalými praktikami a lepšieho informovania. COM/2022/143 final.
2. Európska komisia. Tvrdenia týkajúce sa životného prostredia v EÚ – posúdenie inventáru a spoľahlivosti, 2020.

3. Európska únia. Smernica Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2024/825 z 28. februára 2024, ktorou sa menia smernice 2005/29/ES a 2011/83/EÚ, pokiaľ ide o posilnenie postavenia spotrebiteľov v rámci zelenej transformácie prostredníctvom lepšej ochrany pred nekalými praktikami a prostredníctvom lepšieho informovania. *Úradný vestník EÚ L, 2024/825*, 6/3/2024.
4. Európska únia. Smernica Európskeho parlamentu a Rady 2011/83/EÚ z 25. októbra 2011 o právach spotrebiteľov, ktorou sa mení a dopĺňa smernica Rady 93/13/EHS a smernica Európskeho parlamentu a Rady 1999/44/ES a ktorou sa zrušuje smernica Rady 85/577/EHS a smernica Európskeho parlamentu a Rady 97/7/ES. *Úradný vestník EÚ L 304,* 22/11/2011, s. 64-88.
5. Európska únia. Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 66/2010 z 25. novembra 2009 o environmentálnej značke EÚ. *Úradný vestník EÚ L 27,* 30/1/2010, s. 1-19.
6. Európska únia. Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 1169/2011 z 25. októbra 2011 o poskytovaní informácií o potravinách spotrebiteľom, ktorým sa menia a dopĺňajú nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 a (ES) č. 1925/2006 a ktorým sa zrušuje smernica Komisie 87/250/EHS, smernica Rady 90/496/EHS, smernica Komisie 1999/10/ES, smernica Európskeho parlamentu a Rady 2000/13/ES, smernice Komisie 2002/67/ES a 2008/5/ES a nariadenie Komisie (ES) č. 608/2004. *Úradný vestník EÚ L 304,* 22/11/2011, s. 18-63.
7. Euróspka únia. Smernica Európskeho parlamentu a Rady 2005/29/ES z 11. mája 2005 o nekalých obchodných praktikách podnikateľov voči spotrebiteľom na vnútornom trhu, a ktorou sa mení a dopĺňa smernica Rady 84/450/EHS, smernice Európskeho parlamentu a Rady 97/7/ES, 98/27/ES a 2002/65/ES a nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 2006/2004 („smernica o nekalých obchodných praktikách“). *Úradný vestník EÚ L 149,* 11/6/2005, s. 22-39.
8. Rybnikár, S., Pogádl, M. Označovanie environmentálnych a sociálnych aspektov o potravinách. In: Hygiena a technologie potravin - 53. Lenfeldovy a Höklovy dny: sborník přednášek a posterů, 16. a 17. října 2024, Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2024, s. 26-32.
9. Slovenská republika. Zákon č. 108/2024 Z. z. o ochrane spotrebiteľa a o zmene a doplnení niektorých zákonov. Zbierka zákonov SR 2024.
10. Venhartová, J., Rybnikár, S., Gábriš, T. a kol. 2022. Potravinové právo. 1. vydanie. Bratislava: C. H. Beck.
11. https://www.slov-lex.sk/legislativne-procesy/SK/PI/2024/216 (navštívené 2/05/2025).

Kontaktná adresa: Rybnikár Samuel, Department of Intellectual Property, Technology and Product Law, Trnava university in Trnava, Faculty of Law, Hornopotočná 23, 918 43 Trnava, Slovak Republic; E-mail: samuel.rybnikar@truni.sk

ZMENY KVALITY VODY V RYBOCHOVNOM ZARIADENÍ

CHANGES OF WATER QUALITY IN RAINBOW TROUT FARMING

Sasáková Naďa, Popelka Peter [1], Štrkolcová Gabriela [2], Takáčová Daniela, Kachnič Ján, Vargová Mária, Veszelits Laktičová Katarína, Hromada Rudolf

Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat UVLF v Košiciach

[1]Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín UVLF v Košiciach,

[2] Katedra epizootológie, parazitológie a ochrany spoločného zdravia UVLF v Košiciach,

Komenského 73, 041 81 Košice

ABSTRAKT

Nature water is suitable habitat where rainbow trout live so it is important to monitored and preserved as best as possible in terms of temperature and physico-chemical parameters and quality. All these aspects are the basis of ensuring high-quality rainbow trout farming.

The study was aimed to compare the quality of water from four sampling sites in the farm for the breeding of rainbow trout. A comparison was intended to assess the changes the microbial contamination and physico-chemical parameters of water under intensive rearing conditions of rainbow trout. Results of microbiological parameters of water from four sampling sites in the farm showed that the highest level of microbial contamination was in the effluent from the breeding troughs. Changes in number of bacteria in these sampling sites is probably related to rainbow trout feeding and production of excrement. Comparison of changes of selected physical and chemical parameters showed that the biggest differences between sampling sites was recorded in the spring in chemical oxygen demand (COD) in the effluent from the breeding troughs. Higher values of COD in this place are likely related to the production of excreta and subsequent organic pollution of water in the breeding troughs. The amounts of soluble organic substances expressed by COD were highest in rearing troughs and in the effluent from the troughs.

Keywords: rainbow trout farming; water quality

ÚVOD

Chov pstruha dúhového prebieha vo vode, ktorú je nevyhnutné monitorovať a zabezpečovať hlavne z hľadiska výkyvov teploty a kvality fyzikálno-chemických parametrov. Udržateľný manažment spolu s genetickým programom použitých exemplárov pstruha dúhového je založený na výbere rýb, ktoré vykazujú najlepšie výsledky vo využití krmiva (Fiordelmondo et all., 2020). Kvalita vody je rozhodujúcim faktorom nielen pre zdravie rýb

a ich rodukciu, ale zároveň má priamy vplyv na rozmnožovanie rýb. Dôležitá je pravidelná kontrola hydrochemických a fyzikálnych vlastností vody v závislosti od cyklov kŕmenia v priebehu roka. Na základe chemických rozborov je potrebné zlepšovať kvalitu fyzikálnych a chemických vlastností vody a vytvárať čo najlepšie podmienky pre správnu produkciu rýb.

Pstruh dúhový sa dobre sa uplatnil v studenovodnom rybnikárstve, kde sa stal hlavnou chovanou rybou. Uprednostňuje chladnejšie vody v teplotnom rozmedzí 14 až 17 °C, no dobre znáša i teploty nad 20 °C pri dostatku kyslíka. Vyžaduje dobre prekysličené vody (9 - 11 $mg.l^{-1}$ O_2), a preto jeho pokles pod 6 $mg.l^{-1}$ už ohrozuje jeho chov. Táto ryba sa vyznačuje výborným rastom, je menej náročná na potravu ako pstruh potočný a dobre využíva krmivo. Pstruh dúhový je v porovnaní s ostatnými lososovitými rybami menej náročný na kvalitu vody. Možno ho chovať aj v dobre okysličených nížinných vodách. V dôsledku veľkej prispôsobivosti voči podmienkam prostredia sa vplyvom dlhoročnej šľachtiteľskej práce vytvorilo viacero úžitkových línií pstruha dúhového. Pre zlepšenie úžitkových vlastností sa dokonca vykonáva aj hybridizácia pstruha dúhového s inými druhmi lososovitých rýb (Woynarovich et all. 2011).

V úplnom rybničnom hospodárstve sa reprodukcia, inkubácia ikier a čiastočný odchov plôdika robí v liahni. Jej kapacita je závislá od množstva prítokovej vody. Kritéria kvality vody pre liahne lososovitých rýb sú oveľa prísnejšie než pre teplomilné druhy rýb. Za najvhodnejší zdroj môžeme považovať pramenitú vodu, ktorá si udržuje stálu teplotu, zároveň je čistá a nehrozí zavlečenie parazitov a ochorení. Pri použití pramenitej vody je však bezpodmienečne potrebné a dôležité prevzdušňovanie, pretože obsahuje menej kyslíka.

K získaniu optimálnej teploty sa môže pramenitá voda miešať s oteplenou priemyselnou vodou alebo geotermálnou vodou. Pri nedostatku prítokovej vody je možné použiť aj recirkuláciu použitej vody. Liahne napojené na povrchový zdroj musia vodu filtrovať a tak odstraňovať rôzne mechanické častice, ktoré sa môžu usadiť na ikrách a spôsobovať ich udusenie. Rozkladom mŕtvych ikier vzniká vhodné prostredie pre rozvoj baktérií a plesní. Používajú sa niekoľkodielne filtre, naplnené rôznymi filtračnými materiálmi ako napríklad piesok, štrk, rôzne porézne odpady z umelých hmôt. Zanesené filtračné náplne sa postupne vymieňajú, a tým je zabezpečená funkčnosť filtrov. Súčasťou liahne sú i manipulačné nádrže na krátkodobé prechovávanie generačných rýb pred výterom, resp. pri manipulácii. Základným faktorom pre priebeh procesu inkubácie ikier je zabezpečenie stáleho prietoku vody zodpovedajúcej kvality a teploty, ktorá má zásadný význam pri prežívaní, ako aj doby embryonálneho vývoja inkubovaných ikier (Ellis et all., 2002).

MATERIÁL A METÓDY

Rybochovné zariadenie sa nachádza v oblasti horného Turca a je napájané z rieky Turiec, ktorá vyteká z vodnej nádrže Turček. Vzorky vody boli odoberané zo 4 odberných miest, kde vzorku č. 1 predstavoval Rakšiansky potok, vzorkou č. 2 bola akumulačná nádrž, vzorku č. 3 predstavoval chovný žľab a vzorka č. 4 bola odoberaná na výtoku vody z chovných žľabov. Vzorky vody boli analyzované v súlade s nariadením č. 296/2006 Z. z., ktorým sa stanovujú legislatívne požiadavky na vybrané fyzikálno-chemické a mikrobiologické ukazovatele povrchových vôd zameranými na chov rýb.

VÝSLEDKY

V priebehu jednotlivých ročných období boli analyzované vzorky vody z hľadiska zmien počtov mikroorganizmov ako ukazovateľov kvality vody (mezofilné baktérie, koliformné a fekálne koliformné baktérie), ako aj zmeny fyzikálno-chemických ukazovateľov kvality vody.

Najväčšie zmeny v počtoch baktérií boli zistené v odberovom mieste 1 v letnom a jesennom období. Najnižšie počty uvedených baktérií boli zistené v jarnom období.

Porovnaním zmien mikrobiologických ukazovateľov vody v odberovom mieste 2 v jednotlivých ročných obdobiach bolo zistené, že najvyššia kontaminácia bola v letnom, ako aj v jesennom období. Najnižšie počty uvedených baktérií boli zistené v zimnom období. Zmeny v počtoch mikroorganizmov v odberovom mieste 3 poukazujú na kontamináciu mezofilnými baktériami vo všetkých ročných obdobiach. Počty koliformných baktérii boli najvyššie v letnom a jesennom období a fekálne koliformné baktérie boli najpočetnejšie v lete a najnižšie počty boli preukázané na jar.

Porovnaním zmien mikrobiologických ukazovateľov kvality vody v odberovom mieste 4 bolo zistené, že počty mezofilnými baktérií boli najvyššie v letnom a jesennom období, počty koliformných baktérii a fekálne koliformné baktérie boli tiež najvyššie v letnom a jesennom období a najnižšie počty boli zistené v zime.

Sledované boli vybrané fyzikálno-chemické ukazovatele kvality vody, ako sú pH, obsah dusičnanov (NO_3^-) a obsah organických látok vyjadrených ukazovateľom $CHSK_{Mn}$.

Porovnaním výsledkov zistených v jednotlivých ročných obdobiach v odberovom mieste 1 bolo zistené, že najvyššia hodnota dusičnanov bola zistená v zimnom období a najvyšší obsah organických látok ($CHSK_{Mn}$) bol nameraný v jarnom období v porovnaní so všetkými ostatnými ročnými obdobiami. V odberovom mieste 2 bola zistená najvyššia hodnota dusičnanov v zimnom období a najvyššia koncentrácia organických látok bola nameraná v jarnom období v porovnaní so všetkými ostatnými ročnými obdobiami.

V odberovom mieste 3 najvyššia hodnota dusičnanov bola zistená v zimnom období a najvyššia koncentrácia organických látok ($CHSK_{Mn}$) bola nameraná v jarnom období v porovnaní so všetkými ostatnými ročnými obdobiami.

V odberovom mieste 4 v jednotlivých ročných obdobiach bola zistená najvyššia hodnota dusičnanov v zimnom období a najvyššia koncentrácia organických látok ($CHSK_{Mn}$) bola nameraná v jarnom období v porovnaní so všetkými ostatnými ročnými obdobiami.
Koncentrácia amóniových iónov bola nižšia ako 0,2 $mg.l^{-1}$ počas celého hodnoteného obdobia v odberových miestach, kde bola sledovaná a hodnotená kvalita vody.

DISKUSIA

Cieľom Rámcovej smernice Európskej únie o vode je udržanie dobrého stavu vodných útvarov povrchových vôd, čo priamo súvisí aj s významom podpory trvalo udržateľného využívania vodných zdrojov v umelom chove rýb v súlade s environmentálnymi pravidlami. Autori Fiordelmondo et all. (2020) porovnávali fyzikálno-chemické parametre kvality vody v rokoch 2009-2019 s cieľom zistenia rozdielov v kvalite vody vytekajúcej z farmy. Zamerali sa na vyhodnotenie zmien prijatých v technológii chovu a kŕmenia na zlepšenie rastu, dosiahnutie vysokej kvality výroby v súlade s udržateľnosťou a kvalitou vody porovnanou na vstupe a výstupe.

V Európe je pstruh dúhový jednou z hlavných sladkovodných rýb chovaných v prostredí, ktoré si vyžaduje inovatívne štúdie na zlepšenie riadenia farmy, dobré životné podmienky rýb a udržateľnosť životného prostredia (EEA, 2018). Farmy s chovom rýb môžu byť ovplyvnené dôsledkami globálnych klimatologických zmien s dopadom týkajúcim sa zníženia množstva dostupnej vody a zhoršujúcej sa kvalite vody v riekach. Uvedené zmeny môžu viesť ku zhoršeniu kvality vody, redukcii kyslíka a hromadeniu metabolitov rýb, amoniaku, CO2 a NO2 ako aj bakteriálnych metabolitov vo vode (Welker a kol., 2019). Zhoršenie kvality vody vytvára stres, zvyšuje citlivosť na ochorenia, vplýva na príjem krmiva a rast a indukuje zníženie hodnoty dobrých životných podmienok (Ellis a kol., 2002).

V prípade akvakultúry špecializovanej na rastovú fázu pstruha dúhového je technika odchovu založená na použití prietokových systémov, ktoré pozostávajú z nábehových žľabov alebo betónových nádrží s vodou neustále stekajúcou po nádržiach a odstraňovaní odpadu na výstupe gravitáciou a prúdom vody. Vplyv odpadových vôd z fariem na pstruhy na priľahlé ekosystémy závisí od množstva a druhu znečisťujúcich látok a asimilačnej kapacity prijímacieho systému (O'Bryen and Lee, 2003).

ZÁVER

Chov pstruhov vyžaduje kvalitné krmivo, kde vzniká vedľajší produkt vo forme organického odpadu, výkalov, ako aj nespotrebované krmivo, ktoré ovplyvňujú kvalitu vody. Zmeny vo zvýšenom obsahu organických látok na odtoku súvisia s organickým znečistením vody v chovnom žľabe, a sú ovplyvnené aj spôsobom chovu pstruha dúhového, kedy sa síce v zimnom období znižuje intenzita kŕmenia, ale súčasne sa nevykonáva pravidelné odstraňovanie kalu chovných žľabov. Hromadiace sa organické znečistenie na dne žľabu a jeho rozklad negatívne ovplyvňujú zmeny kvality vody a prispievajú v zvýšeniu počtov mikroorganizmov. Porovnaním zmien sledovaných mikrobiologických ukazovateľov kvality vody vo všetkých odberových miestach v jednotlivých ročných obdobiach môžeme konštatovať, že najvyššia kontaminácia bola zistená v letnom a jesennom období, čo bolo v súlade s vyššou teplotou tohto ročného obdobia a intenzívnejším chovom.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená projektom VEGA 1/0709/23.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. EUROPEAN ENVIRONMENT AGENCY. European Waters—Assessment of Status and Pressures; European Environment Agency: Copenhagen, Denmark, 2018; pp. 21–29. ISBN 978-92-9213-947-6.
2. ELLIS, T. et al. The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. Review paper. In *Journal of Fish Biology*. 2002, 61, 493-531.
3. FIORDELMONDO, E et all.: Improvement of the Water Quality in Rainbow Trout Farming by Means of the Feeding Type and Management over 10 Years (2009–2019). Animals 2020, 10, 1541; doi:10.3390/ani10091541.
4. O'BRYEN P.J., LEE C.-S. Management of aquaculture effluents workshop discussion summary. In *Aquaculture*. 2003 266, 227-242.
5. WELKER, T.L.; OVERTURF, K.; ABERNATHY, J. Effect of aeration and oxygenation on growth and survival of rainbow trout in a commercial serial-pass, flow-through raceway system. Aquac. Rep. 2019, 14, 100194.
6. WOYNAROVICH, A.; HOITSY, G.; MOTH-POULSEN, T. Small-scale rainbow trout farming. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 561. Rome, FAO. 2011. 81 pp.

Kontaktná adresa: doc. MVDr. Naďa Sasáková, Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat UVLF v Košiciach, nada.sasakova@uvlf.sk

VPLYV MACERÁCIE A PRÍDAVKU KVASINKOVEJ KULTÚRY *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* V TECHNOOGII VÝROBY VÍNA NA SENZORICKÚ KVALITU SLOVENSKÉHO TOKAJSKÉHO VÍNA ODRODY LIPOVINA

INFLUENCE OF MACERATION AND ADDITION OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* YEAST CULTURE IN WINE PRODUCTION TECHNOLOGY ON THE SENSORY QUALITY OF SLOVAK TOKAJ WINE OF THE LIPOVINA VARIETY

Semjon Boris, Bartkovský Martin, Megyesy Eftimová Zuzana, Očenáš Peter[1], Marcinčák Slavomír

Department of Hygiene, Technology and Health Food Safety, [1] Department of Chemistry, Biochemistry and Biophysics, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate traditional Tokaj wine production methods in order to evaluate factors related to wine quality with regard to sensory wine variables, including the maceration of the Lipovina grape variety and the addition of a yeast culture. Sensory analysis was used for the examination of wine quality over three months of wine production. The wine samples that underwent maceration scored significantly lower in their appearance, aroma and taste ($p < 0.05$), which could be caused by a higher phenolic content and specific taste. The optimisation of maceration time and maturation conditions will be necessary to enhance the sensory quality of macerated wines without decreasing their quality.

Keywords: wine, quality, colorimetry, maceration, sensory

INTRODUCTION

Tokaj is an exceptional wine growing region in the heart of Europe located across two countries: Hungary (5800 ha) and Slovakia (929 ha). In Slovakia, Tokaj is in the south-eastern part, and in Hungary, in the north-eastern part of the Bodrog basin. In the northern part, the border is represented by Zemplinske Vrchy, and in the south, Tokaj is bound by the confluence of the rivers Tisa and Bodrog in Hungary (Marcinčák et al. 2022). The Lipovina grape variety (registered since 1952) is widespread mainly in the countries of Eastern Europe, such as Hungary, where it is grown in only wine growing areas, especially in the Tokaj region (Murphy 2014). Slovakia is the only area of the Tokaj winegrowing region where Lipovina comprises

about 25% of Tokaj wines (Marcinčák et al. 2022). Tokaj wines represent complicated matrices, containing large numbers of organic compounds with different polarities and volatility belonging to various chemical classes and wide concentration ranges (Furdíková et al. 2020). In order to clarify the relationships of the positive and negative correlation factors involved in the formation of biogenic amines during the production and maturation of wine, the use of multiple factor analysis as a modern statistical method is very appropriate.

From a sensory point of view, the effect of maceration on the organoleptic characteristics depends on the grape variety. To enhance the varietal wine aroma in white wines, extended grape skin contact is often applied to facilitate a better extraction of skin constituents, such as free and bound aroma compounds, which enhance the floral and fruity characteristics of the resulting wines (Sokolowsky et al. 2015).

In general, in macerated wines, pineapple, fruity, solvent and balsamic notes are observed to be reduced during maceration when the pH of the wine is changed (Prezioso et al. 2024). However, wines may exhibit lower fruitiness or even negative spicy attributes, masking varietal characteristics as a result of skin contact, due to the high amount of extractable aroma precursors in their skins (Sokolowsky et al. 2015).

The aim of this study was to evaluate traditional Tokaj wine production methods in order to evaluate factors related to wine quality with regard to sensory wine variables, including the maceration of the Lipovina grape variety and the addition of a yeast culture.

MATERIALS AND METHODS

Wine Preparation and Sampling

The monovarietal white grape variety Lipovina (*Vitis vinifera* L.) from the Slovak part of the Tokaj region was manually harvested and transported to the experimental wine cellar of the University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice (Košice, Slovakia). A total of 400 kg of grapes was collected in a good sanitary state and at optimal maturity based on the maximum sugar content (soluble solids: avg. 22.5° Brix). The grapes were destemmed and crushed using a DMCI Goma horizontal crusher and destemmer (Grifo Marchetti, Piadena Drizzona, Italy) and a Lancman VSX 80 water press (Lancman, Slovenia). The whole volume of the grapes was destemmed and crushed at once. Subsequently, the entire volume was divided into three parts for each separate treatment. The first experimental group (the control (C)) was distributed into stainless steel tanks with a volume of 100 L, to which sulphur dioxide (SO_2) was added at a concentration of 40 mg/L, as well as a yeast culture of *Saccharomyces cerevisiae* without prefermentative skin maceration (O.K. SERVIS BioPro, s.r.o., Prague, Czech Republic) in an amount of 30 g/100 L (approximately 3×10^3 cfu/mL). The second experimental group

(WM) was subjected to a maceration process in a stainlesssteel tank for 7 days without access to oxygen, at a temperature of 18 ± 2 °C, with SO2 added in an amount of 40 mg/L. After maceration, the fermented must was pressed and transferred to a stainlesssteel tank where the fermentation process was completed. The third group (WMY) underwent the same process as the second experimental group; however, the yeast culture *Saccharomyces cerevisiae* (O.K. SERVIS BioPro, s.r.o, Praha, Czech Republic) was added in an amount of 30 g/100 L (approximately 3×10^3 cfu/mL) during the 7-day maceration process. Each experimental treatment was performed in triplicate. The fermentation processes of each group took place at a controlled temperature (18 ± 2 °C) for four weeks. Samples were taken after 3 months into sterile closable containers at an amount of 500 mL and were immediately analysed.

Sensory Evaluation

A sensory evaluation of the experimental wine samples was conducted at the University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice (UVMP), Slovakia. In order to provide robustness to the analysis and compensate for the number of panellists, twelve members of the trained panel served as assessors. They aged between 26 and 49 years of age and work for the UVMP Department of Food Hygiene, Technology and Safety. The assessors received training involving 120 h of sensory analysis, which covered methodological, technical and tasting sessions. Tests were conducted using two replicates during two consecutive weeks in order to ensure data reliability. Two methods of sensory assessment were used in the present study. The 100-point OIV system (OIV 2009) and Quantitative Descriptive Analysis (QDA), which is an internationally applied standard method to describe food samples. QDA was performed to observe detailed differences between the experimental wine samples or the intensities of selected wine aroma and taste descriptors, respectively. The testing room was clean, light and odourless, and the temperature and relative humidity were controlled (ISO 8589 2007). Samples (100 mL each) were presented in standard, clear wine glasses at a usual consumption temperature of 10 ± 2 °C.

Sensory assessment was performed according to the OIV/concours 332A/2009 (OIV 2009), where assessors rated the samples based on four categories: appearance (clarity, colour), aroma (positive intensity, genuineness, quality), taste (positive intensity, genuineness, harmonious persistence, quality) and harmony (the overall judgement). The scores for each sensory attribute were recorded and a total score was calculated as the sum of the individual attribute scores. The OIV point scoring method comprises the following wine categories: table wine without a geographical indication (scores 60 to 64.99); table wine with a controlled geographical indication (score 65 to 74.99); quality wine with a controlled geographical origin

(score 75 to 84.99) and superior wine (scoring more than 85) (OIV 2009). The maximum score that a wine sample can obtain according to the OIV system with such an appraisal is 100.

With respect to the QDA as a preliminary stage in order to determine appropriate descriptors that better define the samples, a representative number of experimental wine samples from the whole set was presented to the judges to determine qualitative descriptions for each sample. In total, 15 different sensory attributes were applied in the QDA, namely green and gold appearance, powerful, spicy, exotic fruit, liquorice, violet, nectarine and kiwi aroma, tea rose, exotic fruit, apricot, honey, liquorice and mineral taste. Attributes were rated on a 10 cm intensity scale. Sensory attributes were defined during the first session of the QDA by the assessors.

Statistical Analysis

Data analysis was carried out via R-statistics software version 4.2.3 [30]. The Analysis of Variance (ANOVA) method and Tukey's test for multiple comparison of means at a significance level of $p < 0.05$ were conducted. The effects of the wine production technology (application of maceration and the combination of maceration and wine yeast culture) and the production phase were set as the main factors of the data analysis.

RESULTS AND DISCUSSION

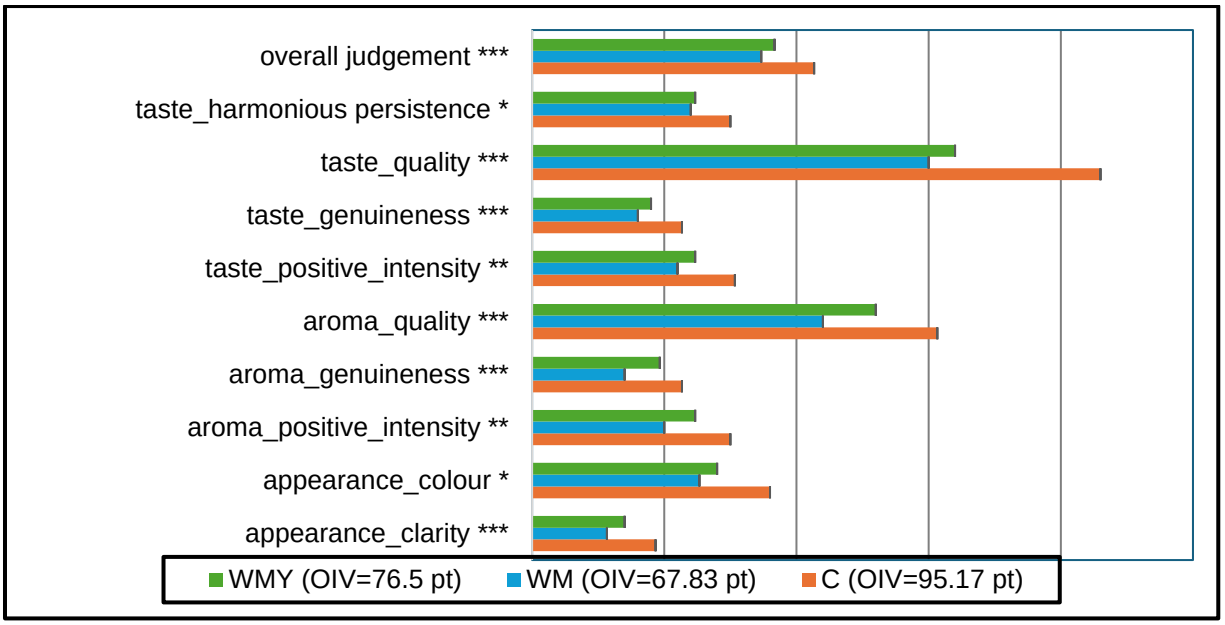
The experimental wine samples were evaluated according to the 100-point OIV evaluation method using a standard protocol. The results showed that C had the highest total point score of 95.17 pt, whereas the experimental wine samples that underwent maceration had a significantly lower total point score ($p < 0.001$) of WM = 67.83 pt and WMY = 76.5 pt, respectively (Figure 1). The C samples were evaluated with a higher number of points for each sensory attribute of the 100-point OIV protocol than the WM and WMY experimental groups, and the statistical significances of the attributes were as follows: appearance clarity ($p < 0.001$), colour ($p < 0.05$), positive aroma intensity ($p < 0.01$), genuineness of the aroma ($p < 0.001$), aroma quality ($p < 0.001$), positive taste intensity ($p < 0.01$), genuineness of the taste ($p < 0.001$), taste quality ($p < 0.001$), harmonious taste persistence ($p < 0.05$) and overall judgement ($p < 0.001$).

Figure 2 shows the results of the QDA evaluation of 15 different sensory attributes. The descriptive analysis did not show a statistical significance between the experimental groups ($p > 0.05$). However, Figure 2 presents small differences in various descriptor intensities, which could be responsible for the lower evaluation of the samples by he OIV point scoring method. Moreover, the addition of yeasts in WMY showed differences in the QDA compared to the WM

experimental wine group. In the C group, higher average intensities of green appearance, spicy, exotic fruit, liquorice, floral, violet and kiwi aroma, as well as tea rose, exotic fruit, apricot, honey and liquorice taste were found. On the other hand, the WM group had higher intensities of nectarine and a powerful aroma and mineral taste. The highest intensity of gold appearance (7.33) was observed in WMY; however, there was no significant difference between the wine samples ($p > 0.05$).

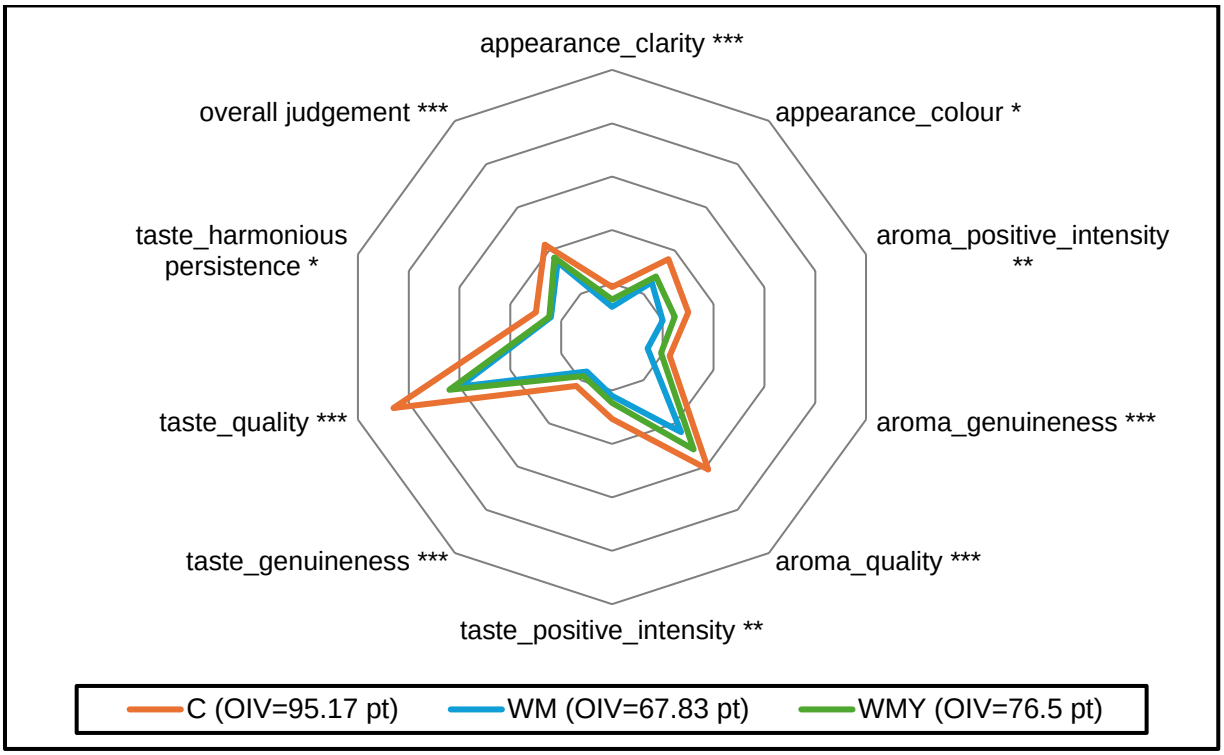
Higher maceration times provoke an increase in the content of terpenes, monoterpenic alcohols and phenolic compounds, which increases the astringency and bitterness of wines (Cejudo-Bastante et al. 2011). A short contact time could not only produce wines with a lower colour stability, but it could result in a lower colour stability than that observed in traditional wines (Cejudo-Bastante et al. 2014).

Figure 1. Results of the sensory analysis of the experimental wine samples according to the 100-point OIV system (means).



C: wine samples of the control group. WM: wine samples that underwent maceration (a process used in wine production technology). WMY: wine samples that underwent maceration with an added yeast culture. ***: $p < 0.001$. **: $p < 0.01$. *: $p < 0.05$.

Figure 2. Results of the Quantitative Descriptive Analysis of the experimental wine samples (means).



C: wine samples of the control group. WM: wine samples that underwent maceration (a process used in wine production technology). WMY: wine samples that underwent maceration with an added yeast culture.

Wine is a complex product comprising many molecules involved in organoleptic characteristics and many studies have focused on the impact of nitrogen supplementation of musts on the production of volatile compounds, as reviewed by Gobert et al. (2019).

The perception of wine quality is complex and multidimensional. It results from the interaction between product characteristics and consumer characteristics such as origin, involvement and expectations (Sáenz-Navajas et al. , 2016a; Urdapilleta et al. , 2021). In addition, quality perception results from intrinsic (organoleptic characteristics such as aroma, color or mouthfeel) and extrinsic dimensions of wine (region of origin, awards or package design) (Parga-Dans et al. , 2022; Sáenz-Navajas et al. , 2020). Despite the growing interest in natural wines, uncertainty prevails among consumers and professionals about their sensory and quality characteristics (Parga-Dans et al. , 2023). However, natural wines have been perceived as inferior to their conventional counterparts, both with and without the information provided, irrespective of the origin of the winemakers. The results of chemical analysis showed that natural wines had higher levels of volatile and total acids and turbidity, while they had lower levels of total and free sulphur. The study suggests the existence of sensory dimensions with an impact on overall quality associated with the production method (Ballester et al. 2024).

The category of wines without added sulphites has been investigated in recent years in terms of consumer behaviour and sensory characteristics. In terms of consumer acceptance of these wines, several marketing studies have found little overall impact of the 'no added sulphites' label on the willingness to pay of Italian and Spanish consumers (Amato et al., 2017) .These studies showed that only consumers prone to sulphite-related headaches had a higher willingness to pay for unsulphited wines. Regarding the sensory characteristics of wines without added sulfites, a recent study of red wines from Bordeaux showed that wines without added SO2 exhibited a much higher frequency of defects than wines with SO_2 , especially oxidation and volatile phenols (Pelonnier-Magimel et al., 2020). Urdapilleta et al. (2021) investigated social representations of conventional, organic and natural wine in experts and novices from France and New Zealand. Results showed cultural influence on evaluation. New Zealanders, regardless of level of expertise, reported several negative descriptors (unpredictable, cloudy, dull, bad, trendy, orange, expensive), whereas French participants did not assign any negative descriptor to novel wines.

In qualitative research with Italian consumers, Fabrizzi et al. (2021) showed that in addition to the expected attributes related to health and environment, consumers also expressed some sensory attributes they expect from a new wine, such as characteristic (typical, special, unique), acidity (harsh, unattractive) and intense floral and fruity aromas Sáenz-Navajas et al. (2024) pointed out that Spanish winemakers had a rather negative attitude towards the sensory quality of new wines, but a positive one regarding some external dimensions of new wines, such as social identity, ecology, health or craftsmanship.

CONCLUSION

It can be codncluded that maceration used in the wine production process in the Slovak part of the Tokaj region is essential for enhancing certain aspects of wines. Maceration of the Lipovina grape variety over seven days had significant effects on wine quality. The sensory variables of WM and WMY resulted in a lower total score compared to the C group, while sensory profiles indicated that the wines had very similar intensities of each analysed wine descriptor ($p > 0.05$). This study offers a perspective for future research and the development of macerated wines.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was funded by the Science Grant Agency of the Ministry of Education, Science, Research and Sport of the Slovak Republic and Slovak Academy of Sciences under the project VEGA 1/0156/21.

REFERENCES

1. Amato, M., Ballco, P., López-Galán, B., de Magistris, T., & Verneau, F. Exploring consumers' perception and willingness to pay for "Non-Added Sulphite" wines through experimental auctions: A case study in Italy and Spain. Wine Economics and Policy, 2017, 6, 2, 146–154. h
2. Ballester, J., n Belascoin, M., Gonzalez-Hernandez, M., Parga-Dans, E., González, P. A. (2024) Sensory attributes and quality perception of red natural wines: a comparative study in Spain and France. OENO One, 2024 58, 1
3. Cejudo-Bastante, M.J.; Castro-Vázquez, L.; Hermosín-Gutiérrez, I.; Pérez-Coello, M.S. Combined effects of prefermentative skin maceration and oxygen addition of must on color-related phenolics, volatile composition, and sensory characteristics of Airén white wine. J. Agric. Food Chem., 2011, 59, 12171–12182.
4. Cejudo-Bastante, M.J.; Gordillo, B.; Hernanz, D.; Escudero-Gilete, M.L.; González-Miret, M.L.; Heredia, F.J. Effect of the time of cold maceration on the evolution of phenolic compounds and color of syrah wines elaborated in warm climate. Int. J. Food Sci. Technol., 2014, 49, 1886–1892.
5. Fabbrizzi, S., Alampi Sottini, V., Cipollaro, M., & Menghini, S. . Sustainability and Natural Wines: An Exploratory Analysis on Consumers. Sustainability, 2021, 13, 14, 7645.
6. Furdíková, K.; Machyňáková, A.; Drtilová, T.; Špánik, I. Comparison of Different Categories of Slovak Tokaj Wines in Terms of Profiles of Volatile Organic Compounds. Molecules, 2020, 25, 669.
7. Gobert, A., Tourdot-Mar´echal, R., Sparrow, C., Morge, C., Alexandre, H. Influence of nitrogen status in wine alcoholic fermentation. Food Microbiol, 2019, 83, 71–85.
8. ISO 8589:2007; Sensory Analysis General Guidance for the Design of Test Rooms. International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2007.Prezioso, I.; Fioschi, G.; Rustioni, L.; Mascellani, M.; Natrella, G.; Venerito, P.; Gambacorta, G.; Paradiso, V.M. Influence of prolonged maceration on phenolic compounds, volatile profile and sensory properties of wines from Minutolo and Verdeca, two Apulian white grape varieties. LWT Food Sci. Technol. 2024, 192, 115698.

9. Marcinčák, S.; Semjon, B.; Turek, P.; Zigo, F. Cultural Heritage in the Region of Eastern Slovakia. In Cultural Heritage—Possibilities for Land-Centered Societal Development. Environmental History, 1st ed; Hernik, J., Walczycka, M., Sankowski, E., Harris, B.J. Eds.; Springer: Cham, Switzerland, 2022; Volume 13, pp. 35–55.
10. Murphy, C. Grapes: Origins and Development. In Encyclopedia of Global Archaeology, 1st ed. Smith, C., Ed.; Springer: New York, NY, USA, 2014; pp. 3107–3111.
11. OIV/CONCOURS 332A/2009; OIV Standard for International Wine and Spirituous Beverages of Vitivinicultural Origin Competitions. International Organisation of Vine and Wine: Paris, France, 2009.
12. Parga-Dans, E., Vecchio, R., Annunziata, A., Alonso González, P., & Otero Enríquez, R. A certification for natural wine? A comparative analysis of consumer drivers in Italy and Spain. Wine Economics and Policy, 2023, 12, 1, 23–35.
13. Pelonnier-Magimel, E., Mangiorou, P., Philippe, D., de Revel, G., Jourdes, M., Marchal, A., Marchand, S., Pons, A., Riquier, L., Teissedre, P-L., Thibon, C., Lytra, G., Tempère, S. & Barbe, J.-C. Sensory characterisation of Bordeaux red wines produced without added sulfites. OENO One, 2020, 54, 4, 733–743.
14. Sáenz-Navajas, M. P., Terroba, E., Parga-Dans, E., Alonso-Gonzalez, P., Fernández-Zurbano, P., & Valentin, D. Attitudes towards natural wines among Spanish winemakers: relationship with environmental awareness. Food Research International, 2024, 114022.
15. Sáenz-Navajas, M.-P., Ballester, J., Fernández-Zurbano, P., Ferreira, V., Peyron, D., & Valentin, D. Wine quality perception: A sensory point of view. In Wine Safety, Consumer Preference, and Human Health (pp. 119-138). Springer, 2016a
16. Sokolowsky, M.; Rosenberger, A.; Fischer, U. Sensory impact of skin contact on white wines characterized by descriptive analysis, time–intensity analysis and temporal dominance of sensations analysis. Food Qual. Prefer. 2015, 39, 285–297.
17. Urdapilleta, I., Demarchi, S., Parr, W. V.. Influence of Culture on Social Representation of Wines produced by Various Methods: Natural, Organic and Conventional. Food Quality and Preference, 2021, 87, 104034.

Contact address: Boris Semjon, MVDr. PhD., Department of Food Hygiene, Technology, and Safety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice; Slovakia. E-mail: boris.semjon@uvlf.sk

ANALÝZA KOLORIMETRICKCKÝCH PARAMETROV VYBRANÝCH BIELYCH VÍN Z MALOKARPATSKEJ A VÝCHODOSLOVENSKEJ VINOHRADNÍCKEJ OBLASTI

ANALYSIS OF COLORIMETRY PARAMETERS OF SELECTED WHITE WINES FROM THE LITTLE CARPATHIAN AND EAST SLOVAK VINEYARD REGIONS

Semjon Boris, Bartkovský Martin, Megyesy Eftimová Zuzana, Regecová Ivana, Marcinčák Slavomír

Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

The aim of this work was to compare colorimetry variables of selected wine samples of Traminer Red (2019, semi-dry), Traminer Red (2020, semi-dry), Sauvignon blanc (2019, dry), Rheinriesling (2021, dry) and Welschriesling (2021, dry) from the Little Carpathian and East Slovak vineyard regions. The sensory evaluation was completed with instrumental colour measurement of wine samples. The brightness of each white wine sample from the Little Carpathian vineyard was intensive opposite the samples from the East Slovak vineyard region. Colour of Tramín red and Sauvignon blanc samples was detected in red colour spectrum (+a*), compared to the samples from the Little Carpathian wine region, whose colour was detected in the green colour spectrum (-a*). The influence of vineyard region factor on colorimetric variables of wine samples was significant ($p < 0,05$). It can be concluded that the quality of wine samples from these two vineyards was in evaluated variables significantly different.

Keywords: wine, quality, colorimetry, Slovak wine region

ÚVOD

Víno je jedným z najrozšírenejších alkoholických nápojov na svete a preto má dôležitú spoločenskú a ekonomickú hodnotu (Vázques et al., 2011). Je vyrobený kvasením hrozna z *Vitis vinifera* L. (Puckette a Hammack, 2015). Vzhľadom k tomu, že kvalita vína je pre výrobcov a spotrebiteľov dôležitá, prevláda hlavne pôvod vína. Prísna kontrola povolených odrôd hrozna, legislatívne určené vinohradnícke oblasti a podmienky pre pestovanie viniča a produkciu vína zaručujú, že vína z jednotlivých oblasti sa budú navzájom líšiť a mať iné charakteristické vlastnosti. Výraz „terroir“ pochádza z Francúzska, kde vinári označovali vlastností vína, ktoré sú historicky spojené miestom pôvodu (Ballantyne et al., 2019). Pod

terroirom rozumieme pôdu, v ktorej sa hrozno pestuje, orientáciu vinohradu, sklon a nadmorskú výšku, mikroklímu regiónu, dĺžku slnečného svitu, teplotu, vlhkosť, zrážky, regionálne rozdiely, ktoré vplývajú na chuť finálneho vína (Almadanim et al., 2015).Na výslednom zložení vína sa podieľajú mnohé faktory, ako odroda, zrelosť bobúľ hrozna, typ pôdy, klimatické podmienky a technologicky proces spracovania vína. Všetky tieto faktory majú významný vplyv na kvalitu vína a zohrávajú dôležitú rolu v jeho charakteristike (Vázques et al., 2011).

Senzorické vlastnosti vína, ako je farba, aróma a pocit v ústach, sú úzko spojené s kvalitou vína, ktorú samotnú je veľmi ťažké definovať pre jej komplexnosť a mnohorozmerným aspektom (Charters a Pettigrew, 2007; Hopfer a Heymann, 2014). Okrem toho je ťažko určiť kvalitu vína kvôli jeho kvázi estetickým vlastnostiam a vzťahu k osobnému vkusu (Charters a Pettigrew, 2005). Informovaní spotrebitelia a konzumenti vín, ktorí majú dômyselné chápanie hodnoty produktu a schopnosť rozlišovať kvalitu, očakávajú, že vnútorné aj vonkajšie faktory vyhovujú ich predstavám (Bisson et al., 2002). Hopfer a Heymann (2014) uvádzajú, že hoci kvalita vína má niekoľko rozmerov, ako sú vonkajšie a vnútorné faktory, je tiež táto kvalita veľmi variabilná.

Farba vína je daná najmä odrodou viniča, vyzretosťou hrozna, kvalitou a technológiou spracovania hrozna. Intenzita sfarbenia vína závisí od chemického zloženia hrozna (koncentrácia pigmentov a kyselín), od dĺžky a spôsobu macerácie, od prítomnosti kyslíka, SO_2, teploty, typu fermentácie a použitých mikroorganizmoch. Vo fáze dozrievania vplýva na farbu spôsob a doba uskladnenia (teplota, O_2 a prístup svetla) a kontaminácie. Kvasinky vo víne významne ovplyvňujú kvalitatívne a kvantitatívne zastúpenie polyfenolických látok, ktoré dokážu meniť farebne vlastnosti vina a antiradikálový potenciál (Felšeciová, 2016).

Počas alkoholového kvasenia je stupeň macerácie prvým faktorom, ktorý ovplyvňuje extrakciu niektorých zlúčenín prítomných v šupke hrozna, hlavne fenolové zlúčeniny, ktoré sú zodpovedné za farbu vína. Macerácia má vplyv na extrakciu polyfenolov, ale aj iných látok z hrozna ako sú bielkoviny, polysacharidy a tiež aminokyseliny, ktoré sú prekurzory biogénnych amínov. Počas výroby vína zohrávajú dôležitú úlohu enzýmy, ktoré môžu napomôcť pri vývoji racionálnych a účinných stratégií na optimalizáciu spracovania vína s cieľom modulovať zloženie vína a zmyslové vlastností (Moreno-Arribas a . Polo 2009).

Cieľom tejto práce bolo inštrumentálnym meraním porovnať kolorimetrické parametre vybraných vzoriek bielych vín z Malokarpatskej a Východoslovenskej vinohradníckej oblasti.

MATERIÁL A METODIKA

Experimentálne vzorky použité v tejto práci pochádzali z dvoch rozdielnych vinárskych oblastí na Slovensku. Boli to vzorky pochádzajúce z východoslovenskej a Malokarpatskej vinohradníckej oblasti. Hodnotené boli nasledovné vzorky vín odrôd Tramín červený (ročník 2019, polosuché), Tramín červený (ročník 2020, polosuché), Sauvignon blanc (ročník 2019, suché), Rízling vlašský (2021, suché), Rízling rýnsky (2021, suché).

Stanovenie kolorimetrických parametrov experimentálnych vzoriek vín bolo vykonané za použitia prístroja Chroma meter CR-410 s nasledovnými parametrami prístroja: meracia plocha Ø 50 mm, osvetlenie D65, štandardný pozorovací uhol 2°(Konica Minolta, Sensing, Inc., Japonsko). Výsledky boli spracované za použitia softvéru Color Data Software CM-S100w SpectraMagic™ NX (Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japonsko). Kolorimetrické parametre analyzovaných vzoriek boli vyjadrené vo farebnom priestore CIELab. Hodnota L* predstavuje jas, a* červenosť (farbu medzi červenou a zelenou) a b* žltosť (farbu medzi modrou a žltou). Výsledky boli vyjadrené ako priemerné hodnoty a smerodajné odchýlky troch meraní každej experimentálnej vzorky. Pred vykonaním merania kolorimetrických parametrov bola vykonaná kalibrácia prístroja pomocou príslušenstva, tzv. kalibračnej doštičky (CR-A43, Konica Minolta).

Výsledky meraní kolorimetrických dát sme vyhodnotili použitím štatistického softvéru R - statistics software verzia 4.5.0 (R Core Team, 2025). V experimentálnych vzorkách vín sme ako hlavné faktory na analýzu zvolili vplyv lokality produkcie vín. Pre štatistické vyhodnotenie sme zvolili metódu Studentovho *t* - testu s intervalom spoľahlivosti nastaveným na 95%.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Hodnotenie kvality vína je vo všeobecnosti založené na senzorických a chemických analýzach. Pri senzorickom posudzovaní sú ukazovatele kvality vína, ako je farba, pocit v ústach a chuť, do značnej miery, ale nie výlučne, ovplyvnené fenolickým profilom experimentálnych vzoriek. Fenolové zlúčeniny sa teda široko používajú na hodnotenie kvality vína a pravosti (Chira et al., 2011; Heras-Roger et al., 2016; Lukic et al., 2019). Fenolické látky sa rozdeľujú podľa ich štruktúry na dve skupiny: flavonoidy a neflavonoidy, pričom tieto látky sa nachádzajú napríklad v dužine, v šupke bobúľ, ako aj v semenách. Prispievajú k senzorickým vlastnostiam vína, sú súčasťou farby, chuti a trpkosti, čo sa mohlo prejaviť aj v prípade rozdiel v hodnotení vzoriek experimentálnych vín v tejto práci. Okrem flavonoidov zohrávajú významnú skupinu látok tzv. taníny, ktoré ovplyvňujú chuťovú trpkosť a zvierajúci pocit v ústach pri senzorickom posúdení vín (Mazza, 1995; Llaudy et al., 2004). Chuťový profil je v rámci hodnotenia vín zodpovedný za posúdenie aj arómy, ale prevažne za celkovú

prijateľnosť spotrebiteľmi (Zhu et al., 2016), ako kritický ukazovateľ kvality nápojov vo všeobecnosti, a najmä alkoholických produktov (Yao et al., 2018).

Tabuľka č. 1 poukazuje na výsledky merania kolorimetrických parametrov experimentálnych vzoriek vín. Vzorky bielych vín (Tramín červený, Sauvignon blanc, Rízling vlašský, Rízling rýnsky) pochádzajúce z Východoslovenskej vinohradníckej oblasti mali nižšiu svetlosť (L* parameter) v porovnaní so vzorkami z malokarpatskej vinohradníckej oblasti. Taktiež farba vzoriek bielych vín Tramín červený a Sauvignon blanc sa pohybovala v červenom farebnom spektre (+a*), oproti vzorkám z Malokarpatskej oblasti, ktorých farba sa pohybovala viac v zelenom farebnom spektre (-a*). Zaujímavosťou boli výsledky odrôd Rízling vlašský a Rízling rýnsky, ktoré mali hodnotu kolorimetrického parametra a* v zápornej oblasti zápornej časti farebného spektra (červená – zelená).

V kolorimetrickom parametri žltosti vzoriek (b*) boli žltšie vzorky oboch bielych vín z Východoslovenskej vinohradníckej oblasti. Ich stanovené hodnoty b* boli vyššie vo všetkých analyzovaných vzorkách. Z dosiahnutých výsledkov prezentovaných v tabuľke 1 vyplýva, že farba vzoriek vín bola signifikantne rozdielna medzi vínami pochádzajúcimi z dvoch rôznych vinárskych regiónov Slovenska ($p < 0.05$).

Tabuľka 1 Výsledky stanovenia kolorimetrických parametrov experimentálnych vzoriek vín (priemer ± SD)

Vzorky	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)
TČ1_A	$72,48 \pm 0,05^{b}$	$1,21 \pm 0,02^{a}$	$30,16 \pm 0,02^{a}$
TČ1_B	$74,87 \pm 0,08^{a}$	$-1,65 \pm 0,03^{b}$	$28,06 \pm 0,02^{b}$
TČ2_A	$78,48 \pm 0,02^{b}$	$2,23 \pm 0,05^{a}$	$28,24 \pm 0,07^{a}$
TČ2_B	$79,87 \pm 0,06^{a}$	$-0,92 \pm 0,02^{b}$	$25,24 \pm 0,06^{b}$
SB_A	$73,71 \pm 0,07^{b}$	$0,95 \pm 0,00^{a}$	$25,19 \pm 0,01^{a}$
SB_B	$76,01 \pm 0,07^{a}$	$-2,97 \pm 0,01^{b}$	$24,04 \pm 0,03^{b}$
RV_A	$66,41 \pm 0,05^{b}$	$-0,21 \pm 0,04^{a}$	$27,32 \pm 0,02^{a}$
RV_B	$68,63 \pm 0,02^{a}$	$-0,82 \pm 0,07^{b}$	$25,41 \pm 0,01^{b}$
RR_A	$70,24 \pm 0,03^{a}$	$-0,81 \pm 0,06^{a}$	$29,22 \pm 0,06^{a}$
RR_B	$70,42 \pm 0,04^{a}$	$-1,2 \pm 0,04^{b}$	$28,34 \pm 0,05^{b}$

A: Východoslovenská vinohradnícka oblasť; B: Malokarpatská vinohradnícka oblasť; TČ1: odroda Tramín červený ročník 2019; TČ2: odroda Tramín červený ročník 2020; SB: odroda Sauvignon blanc; RV: Rízling vlašský; RR: Rízling rýnsky. Priemery zdieľajúce zhodný horný index (a-b) medzi A a B nie sú vzájomne štatisticky významne rozdielne (Studentov *t* - test, $p < 0.05$).

Pre porozumeniu samotnej kvality vína a jeho vlastností sa uskutočnilo niekoľko štúdií založených na senzorickom hodnotení, ako je napríklad deskriptívna analýza, resp. stanovenie senzorického profilu vín. V niektorých prípadoch sa vykonala aj analýza prchavých látok, aby sa získali ďalšie informácie o vnímaní arómy vína. To všetko sa môže podieľať aj na objektívnom odlíšení, identifikácií a rozpoznaní vín, ktoré sa vyrábajú v odlišných regiónoch (Cadot et al., 2010). Pre vinársky priemysel je typickosť resp. charakter vína pojem, ktorý úzko súvisí s terroir a s tým súvisiaci vplyv na vlastnosti vína z vymedzenej geografickej oblasti (Cadot et al., 2012). Mnohé faktory, ktoré ovplyvňujú kvalitu vína a prejav terroir, sú dané samotnými postupmi aplikovanými vo vinohrade, ako je napríklad použitie hnojív, spôsob obhospodarovania, resp. farmový manažment, režim rezu a závlaha (Robinson, 2015). Niektoré príklady vinohradníckych techník, ktoré môžu mať vplyv na regionálne profily vín uviedli Gutiérrez-Gamboa et al. (2017). Sú to napríklad: aplikovanie dusíkatých látok vo všeobecnosti znížila obsah flavonoidov vo víne, aplikácia močoviny vo všeobecnosti znížila obsah aminokyselín vo víne a taktiež negatívne ovplyvnila obsah fenolických látok, ošetrenie listov viniča ovplyvnilo zloženie vína a taktiež bola zistená negatívna korelácia medzi obsahom flavonolov a aminokyselín vína.

Pri väčšine červených vín prebieha alkoholová fermentácia v kontakte so šupkou hrozna. Predĺžená macerácia po alkoholovom kvasení pri nízkych teplotách je často používanou možnosťou predĺženia doby extrakcie. Komerčné pektolytické enzýmy sa bežne používajú vo vinárstve na zvýšenie extrakciu zlúčenín, čo uľahčuje lisovanie a čírenie, zvýšenie čírosti muštov, zlepšuje extrakciu fenolových zlúčenín a arómy a vín. Komerčné prípravky môžu produkovať niektoré sekundárne enzýmové aktivity, ktoré nie sú vždy vo vínach žiaduce. Proteolytická aktivita, ktorá môže viesť k zvýšeniu obsahu aminokyselín (Moreno-Arribas a . Polo 2009). Pri výrobe bieleho vína môže pektináza pridať pri predfermentačnej studenej macerácii, aby sa zlepšila extrakcia aromatických zlúčenín a sprievodných látok nachádzajúcich sa v šupkách. Pri výrobe červeného vína sa používajú pektinázové prípravky, často v kombinácii s celulázou a hemicelulázou, na zvýšenie degradácie bunkových stien šupiek s cieľom získať zvýšenie výťažkov z lisovania a lepšiu extrakciu farebných a aromatických prekurzorov počas macerácie (Ducruet et al. 2000).

Chemické zmeny farby vína boli do značnej miery preskúmané avšak k zmenám farby dochádza počas životnosti vína, Interpretácia farby vína z hľadiska fenolových látok je zložitá, pretože ju ovplyvňuje množstvo faktorov, ktoré ovplyvňujú zloženie fenolov vo víne, vlastná reaktívna povaha fenolových látok a ich antokyánov s vonkajšími a vnútornými podmienkami (teplota, prístup kyslíka, pH, obsah acetaldehydu alebo SO_2) (Monagas et al. 2006). Guadalupe et al. (2007) zistili, že vína vyrobené s prídavkom komerčných

mannoproteínov alebo inokuláciou muštu kvasinkami s nadmernou expresiou mannoproteínov mali na konci fermentácie nižšie hodnoty intenzity farby, ako kontroly a že tieto rozdiely sa zvyšovali počas jablčno-mliečnej fermentácie a zrenia a spochybňujú názor, že polysacharidy môžu chrániť farbu vína.

ZÁVER

Z dosiahnutých výsledkov analýzy kolorimetrických parametrov vzoriek bielych vín sme zistili, že existujú rozdiely medzi rovnakými odrodami vín, ktoré pochádzajú z rôznych vinohradníckych oblastí na území Slovenska. Na vzniku takýchto rozdielov sa však môže podieľať celý rad faktorov ako pestovateľské a vinárske technológie. Vo vzťahu k pôdnemu typu v danom vinohradníckom regióne, senzorické vlastnosti vína ovplyvňuje aj výber podpníka. Medzi ďalšie hlavné faktory ovplyvňujúce kvalitu vína patria environmentálne a technologické faktory. Preto by bolo zaujímavé v budúcnosti preskúmať vzťah a korelácie vybraných parametrov aj vo vzťahu ku senzorickým vlastnostiam bielych vín.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Vedeckou grantovou agentúrou Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky a Slovenskej akadémie vied projektom VEGA 1/0156/21.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Almadanim, M. C., Baleiras-Couto, M., Pereira, H. S., Carneiro, L. C., Fevereiro, P., Eiras-Dias, J. E., Morais-Cecilio, L., Viegas, W., Veloso, M. M. 2015. Genetic diversity of the grapevine (Vitis vinifera L.) cultivars most utilized for wine production in Portugal. VITIS - Journal of Grapevine Research, 46, 3, 116.
2. Ballantyne, D., Terblanche, N. S., Lecat, B., CHapuis, C. 2019. “Old World and New World Wine Concepts of Terroir and Wine: Perspectives of Three Renowned Non-French Wine Makers.” Journal of Wine Research 30, 2l, 122–43.
3. Bisson, L.F., Waterhouse, A.L., Ebeler, S.E., Walker, M.A., Lapsley, J.T. 2002. The present and future of the international wine industry. Nature, 18, 696.
4. Boido, E., Alcalde-Eon, C., Carrau, F., Dellacassa, E., & Rivas-Gonzalo, J. C. (2006). Aging effect on the pigment composition and color of Vitis vinifera L. cv Tannat wines. Contribution of the main pigment families to wine color. J. Agric. Food Chem., 54, 6692–6704.

5. Cadot, Y., Caillé, S., Samson, A., Barbeau, G. and Cheynier, V. 2010. Sensory dimension of wine typicality related to a terroir by quantitative descriptive analysis, just about right analysis and typicality assessment. Analytica Chimica Acta 660, 53–62.
6. Cadot, Y., Caillé, S., Thiollet-Scholtus, M., Samson, A., Barbeau, G. and Cheynier, V. 2012. Characterisation of typicality for wines related to terroir by conceptual and by perceptual representations. An application to red wines from the Loire Valley. Food Quality and Preference 24, 48–58.
7. Felšőciová, S. 2016. Mikrobiológia vína. Nitra: Vydavateľstvo SPU, 8s. ISBN: 978-80-552-1480-1.
8. Guadalupe, Z., Palacios, A., & Ayestaran, B. 2007. Maceration enzymes and mannoproteins: a possible strategy to increase colloidal stability and color extraction in red wines.J. Agric. Food Chem., 55, 4854–4862.
9. Gutiérrez-Gamboa, G., Garde-Cerdán, T., Portu, J., Moreno- Simunovic, Y. and Martínez-Gil, A.M. 2017. Foliar nitrogen application in Cabernet Sauvignon vines: effects on wine flavonoid and amino acid content. Food Research International 96, 46–53.
10. Heras-Roger, J., Díaz-Romero, C., Darias-Martín, J. 2016. A comprehensive study of red wine properties according to variety. Food Chemistry, 196, 1224–1231.
11. Hopfer, H., Heymann, H. 2014. Judging wine quality: Do we need experts, consumers or trained panelists? Food Quality and Preference, 32, 221–233.
12. Charters, S., Pettigrew, S. 2007. The dimensions of wine quality. Food Quality and Preference, 18, 997–1007.
13. Charters, S., Pettigrew, S. 2005. Is wine consumption an aesthetic experience? Journal of Wine Research, 16, 121–136.
14. Chira, K., Pacella, N., Jourdes, M., Teissedre, P.L.2011. Chemical and sensory evaluation of Bordeaux wines (Cabernet-Sauvignon and Merlot) and correlation with wine age. Food Chemistry, 126, 1971–1977.
15. Llaudy, M., Canals, R., Canals, J.M., Rozéz, N., Arola, L., Zamora, F. 2004. New method for evaluating astringency in red wine. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 742–746.
16. Lukic, I., Radek, S., Budic-Leton, I., Bubola, M., Vrhovsek, U. 2019. Targeted UPLC-QqQ-MS/MS profiling of phenolic compounds for di_erentiation of monovarietal wines and corroboration of particular varietal typicity concepts. Food Chemistry, 300, 125251.
17. Mazza G. Anthocyanins in grapes and grape products. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1995, 35, 4, 341–71.

18. Monagas., M., Bartolom´e., B., & G´ omez-Cordov´ es, C. 2005. Updated knowledge about the pres ence of phenolic compounds in wine. Critic. Rev. Food Sci. Nutr., 45, 85–118.
19. Moreno-Arribas, M.V., Polo M.C. 2009. Wine Chemistry and Biochemistry, CSpringerScience+BusinessMedia,LLC.735.
20. Puckette, M., Hammack, J. Wine Folly: The Essential Guide to Wine, 1st ed.; Penguin: New York, NY, USA, 2015, s. 4.
21. Robinson, J. 2015. The Oxford companion to wine, 4th ed. (Oxford University Press: New York, NY, USA).
22. Vázquez, E. S., Río Segade, S., Cortés Diéguez, S. 2011. Classification of red and white wines by denomination of origin according to phenolic composition and colour characteristics and correlation with standard parameters. International Journal of Food Science and Technology, 46, 3, 542–548.
23. Yao, J. W., Zong, X. Y., Cui, C., Mu, L. X., Zhao, H. F. 2018. Metabonomics analysis of nonvolatile small molecules of beers during forced ageing. International Journal of Food Science and Technology, 53, 7, 1698–1704.
24. Zhu, J. C., Chen, F., Wang, L. Y., Niu, Y. W., Chen, H. X., Wang, H. L., Xiao, Z. B. 2016. Characterization of the key aroma volatile compounds in cranberry (Vaccinium macrocarpon Ait.) using gas chromatography–olfactometry (GC-O) and odor activity value (OAV). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 64, 24, 4990–4999.

Kontaktná adresa: Boris Semjon, doc. MVDr., PhD., Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika. E-mail: boris.semjon@uvlf.sk

VČELAŘŮV ROK A KVALITA MEDU

BEEKEEPER´S YEAR AND QUALITI OF HONEY

Slepičková Mária, Šupíková Šárka

Krajská veterinární správa Státní veterinární správy pro Karlovarský kraj

kpt. Jaroše 318/4, 36006 Karlovy Vary

ABSTRACT

Honey is a natural sweetener, the composition of which is influenced by many factors. Its quality is also influenced by many factors. One of the basic factors influencing the quality of honey is the beekeeper as a honey producer. The deterioration of the quality of honey can be contributed to more or less unconsciously by incorrectly performed zootechnical/breeding procedures, but also by a completely conscious effort to obtain a larger amount of honey using inappropriate methods, thereby committing honey adulteration.

The State Veterinary Administration of the Czech Republic has been paying high attention to the investigation of the quality of honey for many years. It has set up systems for its control from primary production, through trading to putting it into circulation. The aim of the work was to evaluate the results of these controls for the period from 2016 to 2024. In the monitored period, a total of 33,936 analytes were examined, with a total of 90 unsatisfactory results found. The most frequently detected unsatisfactory values were for HMF, diastase and conductivity. All three parameters are related to improper handling of honey or its incorrect labeling, which can be assessed as adulteration of honey.

Key words: honey quality, beekeeper, adulteration

ÚVOD

Med je komodita, se kterou se na celosvětovém trhu čile obchoduje. Jeho cena se v jednotlivých zemích odvíjí od objemu vyprodukovaného medu a nákladů spojených s touto produkcí. Výše ceny medu je do značné míry ovlivněná i vysokými úhyny včelstev v důsledku nemocí včel. Med se tak stává stále vzácnějším zbožím a jeho falšování je ekonomicky motivováno.

Med je jedno z nejstarších přírodních sladidel, které bylo využíváno již v rané civilizaci. Je stále populární mezi spotřebiteli pro jeho pozoruhodné nutriční, léčivé a terapeutické účinky. Med je potravina, která obsahuje kolem 200 složek. Hlavními složkami medu jsou voda (80 – 85%) a cukry (15 – 17%). Dalšími složkami jsou bílkoviny (enzymy), organické kyseliny, vitamíny (zvláště vitamín B6, thiamin, niacin, riboflavin a kyselina pantothenová), minerály

(včetně vápníku, mědi, železa, hořčíku, manganu, fosforu, draslíku, sodíku a zinku), pigmenty, fenoly, velkého množství těkavých sloučenin, ale i pevné částice, které se do medu dostávají v průběhu jeho získávání (Manickavasagam et al., 2024; Silva et al, 2016; Bhalchandra et al., 2022). Směrnice Rady 2001/110/ES (2001) definuje med jako „přírodní sladká látka produkovaná včelou medonosnou z nektaru rostlin nebo ze sekretů živých částí rostlin nebo výměšků hmyzu sajícího rostliny na živých částech rostlin, které včely sbírají, přeměňují slučováním se specifickými vlastními látkami, ukládají, dehydratují, skladují a nechají dozrát v plástu“. Z hlediska původu se jedná o med květový, pokud je zdrojem medu nektar z kvetoucích rostlin, zatímco med, u kterého je zdrojem medu výměšek brouků sajících rostliny, je med medovicový. Z hlediska druhu květů, z kterých včely sbírají nektar, se med dělí na jednodruhový a vícedruhový (Manickavasagam et al., 2024).

Kvalitu medu a jeho specifický charakter (struktura, barva, vůně a chuť) určuje specifická flóra a vegetace v oblasti původu medu, klimatické podmínky, druh včel podílejících se na sklizni (Silva et al., 2016) a rozmanitost ekosystému, ve kterém se včely chovají. Jestliže botanický původ medu výrazně ovlivňuje jeho organoleptické vlastnosti, zeměpisný původ medu je často spojován s nízkými cenami, protože klimatické podmínky v některých zemích umožňují jeho celoroční produkci. Ve srovnání s Českou republikou (ČR) jsou počty včelstev v těchto zemích obrovské a pracovní síla levná. Přes náklady na dálkovou přepravu by cena takového medu mohla být mnohem nižší než cena medů vyrobených v ČR. Některé kvalitativní ukazatele medu ze vzdálených zemí se však od tradičního českého medu značně liší. To nutně neznamená, že zahraniční med je méně kvalitní, ale nese s sebou určité riziko, že bude z hlediska české legislativy nevyhovující. Značný význam je proto kladen na analýzu geografického a botanického původu medu (Zábrodská, Vorlová, 2014).

Jak bylo již zmiňováno, kvalita medu je ovlivněná mnoha faktory. Kromě přírodních vlivů je to neodlučitelný vliv samotných včelařů, kteří v průběhu roku víckrát zasahují do života včelstev a to zejména zootechnickými a chovatelskými úkony, a vzhledem k výskytu nemocí včel, i úkony spojené se zdravotním stavem včelstev a jejich léčení. Nelze opomenout ani dodržování správné výrobní praxe při samotném získávání medu (sklizeň, technika extrakce) a způsob manipulace s medem. Med podléhá mnoha změnám v průběhu skladování. Ke změnám obvykle dochází v důsledku různých chemických reakcí, včetně fermentace, oxidace a vlivu teploty (Silva et al., 2016). Tyto změny jsou ovlivněné teplotou a délkou skladování, jakožto i výší tepelného ošetření při zpětném ztekucování zkrystalovaného medu a plnění do spotřebitelských obalů.

Již od osmdesátých let minulého století trápí české včelaře některé nemoci včelstev. Mezi nejčastější a nejrozšířenější patří varroáza (parazit Varroa destrustor) a nosemóza

(mikrosporidie Nosema apis, Nosema ceranae). V posledních letech způsobují u včel stále větší problémy spojené často i s hromadnými úhyny včelstev. Včelař svou péčí o včelstva a jejich zdravotní stav ovlivňuje kvalitu medu prakticky v průběhu celého roku.

Včelařský rok lze v podstatě rozdělit na dvě období, a to období aktivní a období zimování, kdy včelí královna přestává plodit, včely kolem ní vytváří chomáč a základem je uchránit ji před zimou. Díky křidélkům jsou schopny zahřát jak sebe, tak právě královnu. Uvnitř úlu, vytvoří kouli kolem královny, na jehož vnějších stranách se střídají, aby se mohli zahřát uvnitř. Chomáč postupně přesouvají po plástech tam, kde mají zásoby. V tomto seskupení kolem včelí matky jsou schopny udržet teplo kolem 20 až 30 °C ve středu, po okrajích minimálně 10 °C. Pokud během zimy teplota vyšplhá nad 10 °C, odebírají se včely na průzkum okolí s cílem vyprášení a vyprázdnění výkalových váčků, díky kterým neznečišťují plásty a snižují riziko přenosu nemocí. Trvají-li mrazy dlouho, včely jsou ohroženy nákazou z výkalů (nosemóza) (Agrofert-Blog, 2023). Období klidu se vymezuje koncem plození matky na podzim a začátkem plození na jaře příštího roku. V tomto období včelař omezuje činnosti kolem včel na pouhé pozorování a kontrolu stavu včelstev s minimálním rušením.

Včelí královny se opět začínají aktivovat a klást vajíčka podle venkovní teploty. Do zahájení kladení vajíček je nutné vyšetřit včely na varroázu (počty roztočů) a dle zamoření případné jarní přeléčení. Dá se říci, že tímto je aktivní období zahájeno, i když vzhledem ke klimatickým podmínkám je nutné se včelstvy zacházet ještě šetrně. K vyšetření se odebírá spad zimní měli a dle metodiky zdraví zvířat (Ministerstvo zemědělství, 2025) ho musí včelař odevzdat do laboratoře nejdéle do 15. února v daném roce. Dle výsledku vyšetření je při průměrném zamoření 3 a více parazitů na včelstvo včelař povinen provést jarní ošetření co nejdříve, tedy než matky začnou klást plod, nejdéle však do 15. dubna. Od měsíce března včelař kontroluje i stav zimních zásob a podle potřeby lze včely přikrmovat medotěstem (směs medu a cukru), čímž se do jisté míry podpoří i jarní rozvoj včelstev. V závislosti na geografické poloze většinou během března včely začínají se sběrem a vytvářením zásob pylu potřebného ke krmení plodu rozvíjejících se včelstev. V posledním desetiletí v našich zeměpisných šířkách je nástup jara dříve a tedy koncem dubna již začínají kvést ovocné stromy a s tím spojená první snůška medu. To může negativně ovlivnit kvalitu prvních vytočených medů, jelikož se v úlech mohou nacházet ještě větší zbytky zimních zásob, tj. medu, kterého převažující cukernou složkou je sacharóza. V průběhu letních měsíců za příznivých klimatických podmínek, což je souhra vhodných teplot a optimálních srážek, může včelař dle geografického umístění včelstev a místní flóry (vliv nadmořské výšky) provést dvě až čtyři vytáčení medu s průměrným výtěžkem 15 až 60 kg na včelstvo. V případě extrémních podmínek však mohou být výnosy i mnohem vyšší, nebo naopak téměř žádné. V případě nepříznivého počasí (nízké teploty, ale i přílišné sucho

v případě příznivých teplot) může být snůška omezená až do takové míry, že je nutné včelstva přikrmovat i v letních měsících. Letním přikrmováním cukernými roztoky mohou včelaři docílit i zvýšenou produkci medu avšak na úkor jeho kvality. V tomto případě se jedná o úmyslné falšování medu.

V letním období včelař provádí průběžný monitoring přítomnosti již zmiňovaných roztočů Varroa destructor. Obvykle od poloviny srpna ustupuje snůška a až do konce září se ve včelstvu líhnou dlouhověké zimní včely, které musí přežít až do jara. Toto je období, kdy lze provádět letní ošetření včelstev. Od druhé poloviny srpna je nutné zahájit krmení včelstev z důvodu vytvoření nových zimních zásob.

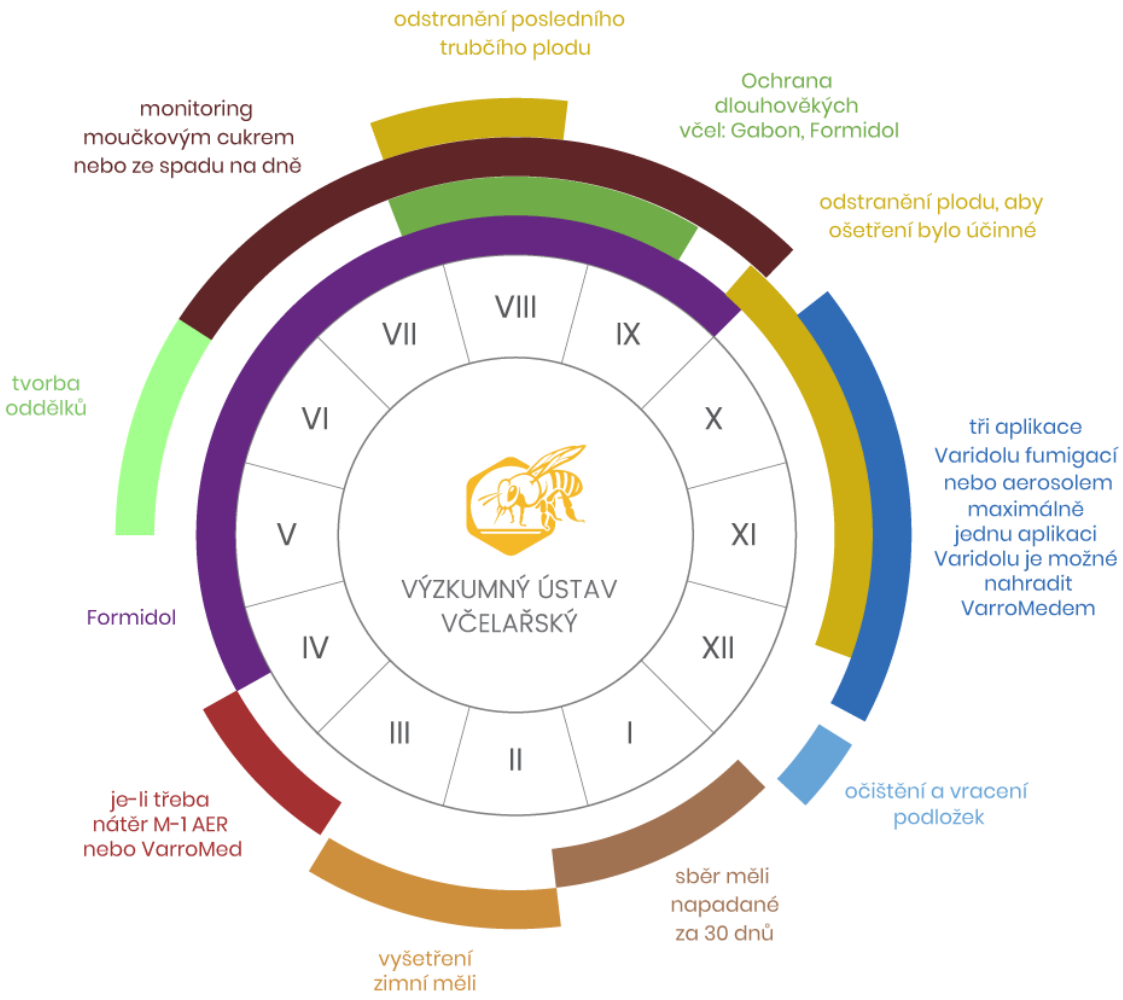
Důležitým období pro tlumení varroázy je v zima (říjen až prosinec), kdy jsou včelstva bez plodu a roztoči jsou jen na dospělých včelách. Pokud je ve včelstvu zavíčkovaný plod, většina roztočů je na plodu. Léčení nezasahuje roztoče pod víčky buněk. Pro likvidaci všech roztočů jsou nezbytná tři ošetření v odstupu minimálně 2 týdnů. Schéma jednotlivých ošetření je vyznačeno na obrázku č. 1 (VUVč.) a seznam schválených přípravků je uveden v tabulce č. 1. Při ošetřeních v průběhu listopadu a prosince je opět nutno postupovat šetrně, jelikož se včely opět stahují do chomáče, resp. již v chomáči jsou a každé vyrušení působí nepříznivě.

K chemickému ošetření včel proti varroáze existuje celá škála registrovaných veterinárních léčivých přípravků. Jejich seznam a způsob použití je uveden v Metodickém pokynu Státní veterinární správy pro chovatele včel k prevenci a tlumení varroázy (2019).

Používání léčiv by nemělo být nadbytečné, ale účelné, na základě vyhodnocení zdravotního stavu včel na daném stanovišti. Před použitím léčiva je důležité se řádně seznámit s pokyny výrobce a postupovat při aplikaci v souladu s nimi. Nevhodné použití přípravku může vést k zatěžování včelích produktů rezidui léčiv. Vesměs žádný z přípravků nelze použít v období snůšky medu určeného k lidské spotřebě.

V případě nosemózy není v ČR žádný účinný preparát. Dříve se používalo antibiotikum Fumagilin, které se objevovalo poté i v medu, není tedy pro léčbu včel povolen. Co se týká varroázy, se kromě přírodních preparátů založených na bázi kyseliny mravenčí, šťavelové a některých dalších, používá několik schválených léčiv s účinnými látkami Flumethrium, Tau-fluvalinatum či Amitraz. Žel, v některých zemích, jako jsou např. Ukrajina, Čína, Argentina, USA či Kanada je při léčení včel používání antibiotik povoleno. V důsledku nesprávné aplikace se pak mohou objevit jejich rezidua v medu.

Obrázek č. 1, Schéma vyšetření, monitoringu a léčení včelstev proti varroáze



(Výzkumný ústav včelařský, s.r.o.)

Seznam registrovaných léčiv určených k léčbě varroázy v České republice je uveden v tabulce č. 1. Účinným prostředkem k podpoře prevence proti nosemóze je Formidol obsahující kyselinu mravenčí.

Tabulka č. 1, Seznam registrovaných léčiv pro léčení včelstev.

Název (účinná látka)	**Prodej**	**Použití v období snůšky medu určeného pro lidskou spotřebu**
Apiquard (**thymol**)	vyhrazený	NE
Apitraz (**amitraz**)	na předpis	NE
Apivar (**amitraz**)	na předpis	NE
Dany´s BieneWohl (**kyselina šťavelová**)	vyhrazený	NE

Pokračování Tabulka č. 1, Seznam registrovaných léčiv pro léčení včelstev.

Název (účinná látka)	Prodej	Použití v období snůšky medu určeného pro lidskou spotřebu
Formidol (**kyselina mravenčí**)	vyhrazený	NE
Formidol 81 g proužky (**kys. mravenčí**)	vyhrazený	NE
Gabon Flum (**flumethrin**)	na předpis	NE
Gabon PF (**fluvalinat**)	na předpis	NE
M-1 AER (**fluvalinat**)	na předpis	NE
MP 10 FUM (**fluvalinat**)	na předpis	NE
Oxuvar (**kyselina šťavelová**)	vyhrazený	NE
Oxybee (**kyselina šťavelová**)	vyhrazený	NE
PolyVar Yellow (**flumethrin**)	na předpis	NE
Thymovar, 15 g, proužky, (**thymol**)	vyhrazený	NE
Varidol 125 (**amitraz**)	na předpis	NE
VarroMed (**kys. šťavelová a mravenčí**)	vyhrazený	NE

(SVS, 2019)

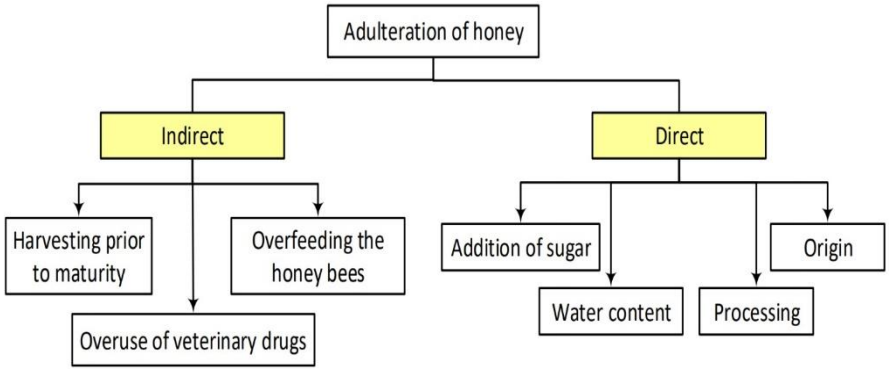
Při získávání medu a jeho dalším zpracování je nutné dodržovat správnou hygienickou a výrobní praxi. Na tom do značné míry závisí uchování kvality a zdravotní nezávadnosti medu. Celý proces získávání medu (odvíčkování, vytáčení, resp. okapání či lisování, přelévání do skladovacích nádob) provádí včelaři do značné míry v nechráněných prostorech a může při tom docházet k jeho kontaminaci. Proto je nutné při práci dodržovat maximálně dosažitelné hygienické podmínky. Je důležité vzít v úvahu typ zařízení používaného k získávání a zpracování medu a také kvalitu zařízení používaného ke skladování medu po sklizni (Nařízení EP a R 852/2004, 2004). Kontakt s povrchy z nerezové oceli během sklizně, zpracování a/nebo přípravy medu pro trh může generovat vysoký obsah chromu v důsledku korozivního účinku kyselosti medu. Stejně tak skladování medu v pozinkovaných nádobách může být zdrojem kontaminace zinkem (Bibi et al., 2008; González et al., 2000).

Dalšími důležitými technologickými kroky jsou podmínky skladování a tepelné opracování při ztekucování zkrystalizovaného medu. Krystalizace je u medu jeho přirozenou vlastností a rychlost krystalizace závisí na poměru cukrů v něm. Teplota ohřevu by neměla překročit +50°C. Při vyšší teplotě dochází k tvorbě HMF a deaktivaci enzymů.

Falšování medu lze rozdělit na dvě kategorie; přímé a nepřímé. Přímé falšování se týká látky, která se přímo přidává do medu. Zatímco k nepřímému falšování dochází, když jsou včely touto látkou krmeny. Zdroje látky používané k falšování jsou klasifikovány jako rostliny C3 nebo C4 (Zábrodská, Vorlová, 2014). Příklady rostlin C3 jsou řepa, pšenice a rýže, zatímco cukrová třtina a kukuřice jsou z rostlin C4. Proces nepřímého falšování, jako je nadužívání veterinárních léčiv, sběr medu před zralostí a překrmování včel sacharózou nebo jinými cukry

provádějí nezodpovědní včelaři kvůli poptávce konkurence trhu. Přímé falšování medu se může týkat přídavku cukru, obsahu vody, zpracování a původu (obrázek č. 2) (Jaafar et al., 2020).

Obrázek č. 2, Kategorie falšování medu.



(Jaafar et al., 2020)

MATERIÁL A METODIKA

Kvalitativní parametry medu jsou dané směrnicí Rady 2001/110/ES (2001), resp. vyhláškou č. 76/2003 Sb. (2003). Hlavními sledovanými parametry jsou obsah cukrů, vody,

5–(Hydroxymethyl)furfuralu (HMF), ve vodě rozpustných látek, kyselost, elektrická vodivost a aktivita enzymu diastáza. Jejich hodnoty jsou uvedené v tabulce č. 2.

Z těchto požadavků jsou povolené výjimky u některých parametrů v závislosti na původu medu a způsobu jeho získávání. Obsah sacharózy je u některých jednodruhových medů přirozeně vyšší, např. trnovník akát, tolice vojtěška, citrusy (nejvýše 10,0 %), nebo levandule (nejvýše 15,5 %); ve vodě nerozpustných látek až 0,50 % u medů lisovaných; obsah vody u medu vřesového (nejvýše 23 %), či medu pekařského z tohoto medu (nejvýše 25 %); u medů z regionů s tropickým klimatem a směsí těchto medů je povolená hodnota HMF až 80 mg/kg; u medů z vřesu obecného, blahovičníku, lípy, či vřesovce jsou povolené výjimky v elektrické vodivosti a u medů s nízkým obsahem enzymů (citrusové) a obsahem HMF nižším než 15 mg/kg jsou povolené nižší hodnoty aktivity diastázy (nejméně 3,0).

Cílem práce je vyhodnotit výsledky kontrolní činnosti Státní veterinární správy České republiky (SVS) v oblasti zjišťování kvality medu v období roků 2016 do 2024.

Tabulka č. 2, Kvalitativní parametry medu.

požadavek	Druh medu		
	květový	Medovicový	Pekařský (průmyslový)
Součet obsahu fruktózy a glukózy (% hmot. nejméně)	**nejméně** 60,0	**nejméně** 45,0	-
Obsah sacharózy (% hmot. nejvýše)	**nejvýše** 5,0[1)]	**nejvýše** 5,0	-
Obsah vody (% hmot. nejvýše) [3)]	20,0	20,0	23,0
Kyselost (mekv/kg nejvýše)	50,0	50,0	80
Hydroxymethylfurfural (mg/kg nejvýše)[4)]	40,0	40,0	-
Obsah ve vodě nerozpustných látek (% hmot. nejvýše)[2)]	0,10	0,10	-
Elektrická vodivost ($mS.m^{-1}$)[5)]	**nejvýše** 80,0	**nejméně** 80,0	-
Aktivita diastázy (stupeň podle Schadeho nejméně)[6)]	**nejméně** 8,0	**nejméně** 8,0	-

SVS v rámci kompetencí dle zákona č. 110/1997 Sb. (1997) provádí dozor nad prvovýrobou a zpracováním medu. Dále jsou prováděné kontroly v místech určení (KMU), což znamená kontroly obchodování s medem, tedy dovozu medu z jiných členských států Evropské unie nebo třetích zemí. Tady jsou kontroly zaměřené na plnění povinností provozovatelů potravinových podniků dle zákona č. 110/1997 Sb. (1997) včas a řádně informovat kompetentní autoritu, tj. místně příslušnou krajskou veterinární správu o příjmu zásilky živočišného původu. Ověřují se dokumenty provázející zásilku (veterinární osvědčení) a stav dovezené potraviny. Kontrola může být spojená také s odběrem vzorků.

Dále SVS kontroluje prodej na trzích a tržnicích a prodej ze dvora, používání medu v zařízeních společného stravování . Kontroly prodeje v tržní síti spadá do kompetence jiného kontrolního úřadu.

Kontroly jsou prováděné v rámci běžného hygienického dozoru (BHD), ale i mimořádných kontrolních akcí (MKA).

BHD je zaměřený na kontrolu celého procesu získávání medu, jeho zpracování a uvádění do oběhu, tj. vhodnost výrobních prostor, správnou výrobní a hygienickou praxi, dodržování HACCP, ale i kvalitu medu.

MKA jsou zaměřené na ověřování konkrétních parametrů, např. antibiotika, pesticidy, EKO-BIO kvalita, botanický původ, ale i prodej na trzích. Tady jsou kontroly zaměřené především na správnost označování a s kontrolou parametrů souvisejících s označením, tj. ověření druhu a původu medu). Nedílnou součástí kontrolní činnosti je již dlouhodobě i monitoring cizorodých látek (MCL) u medu.

Dle Plánu úředních kontrol (SVS, 2025) mohou být vzorky odebrány v jakémkoliv stupni procesu produkce (prodej ze dvora, sběrná a stáčecí místa medu a další zpracovatelská zařízení), během zpracování, skladování či jeho prodeje. Při odběru musí být plně zaručena sledovatelnost a nesmí docházet k odběru směsných vzorků medu.

V rámci plánu úředních kontrol jsou pro MCL v medu šetřené analyty zařazené do osmi skupin (tabulka č. 3).

Tabulka č. 3: Rozsah vyšetření v rámci MCL

Rozsah vyšetření	**zakázané/nepovolené farmakologicky účinné látky** (chloramfenikol, nitrofurany, nitroimidazoly, dapson
	antibiotika (tetracykliny, betalaktámy, aminoglykosidy, makrolidy, sulfonamidy, chinolony vč. ciprofloxacinu, flumequin, marbofloxacin, nalidixová kyselina, norfloxacin, oxolinová kyselina, sarafloxacin, lomefloxacin, ofloxacin, orbifloxacin, pefloxacin)
	Insekticidy, fungicidy (kumafos, amitraz, fluvalinát)
	pyretroidy (cypermethrin, permethrin, lambda-cyhalothrin, deltamethrin, tau-fluvalinát)
	chlorované pesticidy (aldrin, dieldrin, endosulfan, endrin, DDT, HCB, HCH α, HCH β, heptachlor, chlordan, lindan)
	organofosfáty (diazinon, phorat, pirimiphos-methyl, malathion, chlorpyrifos, chlorpyrifos methyl)
	monitoring ekologického zemědělství
	těžké kovy kontaminanty (kadmiun, olovo, rtuť)

(SVS, 2025)

VÝSLEDKY A DISKUSE

Celkový počet analytů z medu v celé šíři veterinárního dozoru za období 2016 až 2024 je 33 936, z čehož je 33 842 vyhovujících a 90 nevyhovujících platným limitům. Přestože se vyšetřování přítomnosti pesticidů v medu věnovala veliká pozornost, za celé sledované období nebyl zjištěn ani jeden nevyhovující výsledek (tabulka č. 4).

Tabulka č. 4: Počty analytů a výsledky vyšetření

	počet analytů	vyhovuje	nevyhovuje
MCL	14 688	14 686	**2**
Hyg. dozor	15 400	15 312	**88**
pesticidy	3 848	3 848	**0**
celkem	33 936	33 846	**90**

V tabulce č. 5 jsou rozdělené kontroly dle zaměření. Při tomto srovnání kontrol bylo nejvíce analytů šetřeno v rámci běžného hygienického dozoru (9 062) s největším počtem nevyhovujících výsledků (45). SVS v jednotlivých rocích vyhlašovala mimořádné kontrolní

akce (MKA) se zaměřením na vyšetření medu. V rámci těchto MKA bylo celkem vyšetřeno 3 917 analytů s nevyhovujícím výsledkem ve 23 případech (tabulka č. 6).

Tabulka č. 5: Výsledky v rámci hygienického dozoru

Druh kontroly	KMU	BHD	FARM Trhy	REST	MCL 2 došetření	Regionální potravina
Analyty celkem	672	9 062	1 670	73	4	2
Vyhovující	667	9 017	1 661	64	2	2
Nevyhovující	5	42	9	9	2	0

Tabulka č. 6: Výsledky v rámci MKA

Druh kontroly	MKA med 2016	MKA EPI med 2016	Med na trhu 2017	MKA EKO-BIO 2019	MCL PVS Ruzyně
Analyty celkem	722	265	2 836	12	82
Vyhovující	717	265	2 818	12	82
Nevyhovující	5	0	18	0	0

Srovnáním jednotlivých roků bylo zjištěno nejvíce nevyhovujících výsledků v roce 2017, celkem 41, kdy probíhala i MKA „Med na trhu“. Nejčastějším porušením byl nález zvýšených hodnot HMF (19x), snížená aktivita diastázy (7x), nesprávná hodnota vodivosti vzhledem k deklarovanému druhu medu na etiketě (6x) a zvýšený obsah sacharózy (5x).

V rámci monitoringu cizorodých látek byla u dvou vzorků, a to v roce 2019 a 2022 zjištěna nadlimitní hodnota těžkých kovů, konkrétně olova. Ve vzorku z roku 2019 byla zjištěná hodnota 0,134 mg/kg a ve vzorku z roku 2022 až 5,11 mg/kg, přičemž hodnota maximálního limitu reziduí je dle Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006 (2006) 0,1 mg/kg. Ani v jednom případě nešlo o med z průmyslově zatížené oblasti, ale šlo o medy, které byly vytočené v medometech starých asi třicet let s cínovo-olověným spájením. K vylučování olova dochází vlivem nízkého pH medu. Dle rozboru okapaného medu přes noc se množství olova větší expozicí s olovnatým pájením ještě zvýšilo.

Ve třech případech byl pylovou analýzou rovněž zjištěn nesprávně uvedený původ medu, kdy byly za český med vydávané medy v obsahem pylů rostlin v takovém obsahu, kdy to vzhledem z české flóře bylo vyloučené.

Z nepovolených farmakologicky účinných látek byly v roce 2018 ve čtyřech případech zjištěny nadlimitní referenční hodnoty pro opatření pro med (RHO) u farmakologicky účinných látek. Jednalo se o nález nitrofuranů (AOZ) ve vzorcích medů dovezených z Ukrajiny s hodnotami 0,6 – 0,8 µg/kg, přičemž RHO je dle Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 470/2009 (2009) 0,5 µg/kg (tabulka č. 7).

Tabulka č. 7: Počty nevyhovujících nálezů v průběhu sledovaného období

ROK	AKCE	HMF	diastáza	Vodivost	sacharóza	Bot. původ	P. Larvae	Senzorika	Farm. Zakáz. látky	Pb	celkem
2016	BHD MKA	3	3	2	1		2				11
2017	**BHD FT MKA**	**19**	**7**	**6**	**5**	**3**		**1**			**41**
2018	BHD FT	2							4		6
2019	BHD KMU	3	2	1			1			1	8
2020	BHD FT	2	1		1			1			5
2021	BHD KMU	3	1	1							5
2022	MCL 2									1	1
2023	BHD	1									1
2024	BHD KMU FT	5	2	2	1			2			12
Celkem		38	16	12	8	3	3	4	4	2	**90**

ZÁVĚR

Bezpečnost potravin a krmiv je jedním z hlavních cílů politiky zdraví spotřebitelů. Udržení vysoké úrovně ochrany v této oblasti je životně důležité nejen pro veřejné zdraví, ale také pro zachování důvěry spotřebitelů v potraviny.

Ekonomicky motivované falšování (EMF) se může vyskytovat u všech potravinářských výrobků. V medovém průmyslu bylo identifikováno několik typů EMF, např. ředění a množení medu, intenzivní doplňkové krmení včel pro zvýšení produkce medu, používání antibiotik a dalších chemikálií v populacích včel způsobem, který vede k reziduím v medu a maskování skutečné země původu medu, aby se zabránilo clům a testování (Strayer a kol., 2014).

Ze závěrů práce vyplývá, že nejčastějším zjištěným porušením kvality medů byly zvýšené hodnoty 5–(Hydroximetyl)furfuralu (HMF) a to ve 38 případech. Lze jenom spekulovat, jestli šlo o nedbalost při nastavení teploty, resp. doby ohřevu medu při jeho ztekucování ze zkrystalizovaného stavu, nebo o záměrný ohřev při vyšší teplotě, aby došlo ke změně barvy medu a vyvolání falešného dojmu, že jde o tmavý med, který je u spotřebitelů ceněnější, jako jsou medy světlé. O nesprávné teplotě při zacházení s medem svědčí i zjištění nižší hodnoty aktivity diastázy (16 případů). Domněnku, že v některých případech šlo o záměrnou manipulaci navozující tmavou barvu medu, potvrzují i případy zjištění nižší

vodivosti u stejných vzorků (12 vzorků) u medů uváděných do oběhu označených jako medy medovicové.

Zvýšené hodnoty sacharózy byly zjištěné u 8 vzorků medu. Vzorky pocházely většinou od malých producentů, tudíž nelze jednoznačně určit, jestli šlo o nesprávnou včelařskou praxi, tj. v období prvního vytáčení bylo v úlech ještě větší množství zimních zásob sirupového medu, nebo o záměrné krmení včel sacharózovým sirupem s cílem falšování objemu získaného medu.

V rámci monitoringu cizorodých látek byla u dvou vzorků, a to v roku 2019 a 2022 zjištěna nadlimitní hodnota těžkých kovů a to olova. Ani v jednom případě nešlo o med z průmyslově zatížené oblasti, ale šlo o nevhodnou hygienickou praxi, kdy byly medy vytočené za použití nevhodných medometů.

Na základě zjištěných výsledků lze celkově konstatovat, že u medů uváděných na český trh dochází k falšování, resp. k produkci medu v nevyhovující kvalitě vzhledem k objemu prodaného medu jen v zanedbatelné míře.

POUŽITÁ LITERATURA

1. Agrofert-Blog, 2023, https://agrofert.cz/co-delaji-vcely-v-zime
2. Bagdańska, Ž.; Ślebioda, M.; Namieśnik, J. Determination of antibiotic residues in honey, In *Trends in Analytical Chemistry*, 2011, vol. 30, No 7, p. 1035-1041
3. Bibi, S.,;Husain, S. Z.; Malik, R. N. Pollen analysis and heavy metals detection in honey samples from seven selected countries, In *Pak. J, Bot.*, 2008, vol. 40, no. 2, p. 507-516
4. Bhalchandra, W. A.; Joshi, M.; Jawalkar, N. Effect of storage on various honey quality parameters of *Apis mellifera* honey harvested from Kannad region, Aurangabad. In *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2022, vol. 11, no. 1, p. 239-246, DOI: https://doi.org/10.22271/phyto.2022.v11.ild.14352
5. FAO & WHO. Codex Alimemtarius Commision Procedure Manual – Thirieth edition, Rome, 2025, https://doi.org/10.4060/cd4216en
6. González, A.; Gómez, J.; García-Villanova, R.; Rivas, T.; Ardanuy, R.; Sánchez, J. Geographical discrimination of honeys by using mineral composition and common chemical quality parameters, In *J. The Science of Food and Agriculture*, 2000, vol. 80, p. 157-165
7. Jaafae, M. B.; Othman, M. B.; Yaacob, M.; Talip, B. A.; Ilyas, M. A.; Ngajikin, N. H.; Fauzi, N. A. M. A Review o Honey Adulteration and tje Available Detection Approaches. In *International Journal of Integrated Engineering*, 2020, vol. 12, no. 2, p. 125-131, http://penerbit.uthm.edu.my/ojs/index.php/ijie

8. Manickavasagam, G.; Saaid, M.; Lim, V. Impact of prolonged storage on quality assessment properties and constituents of honey: A systematic review. In *J. Food Sci*, 2024, vol. 89, p. 811-833
9. Ministerstvo zemědělství České republiky, In *Metodika kontroly zdraví zvířat a povinné vakcinace*, 2025, Dokument č.j.: MZE-90125/2024-13141, https://www.svscr.cz/metodika-kontroly-zdravi-zvirat-a-narizene-vakcinace-na-rok-2025/
10. Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 470/2009, kterým se stanoví postupy Společenství pro stanovení limitů reziduí farmakologicky účinných látek, In *Úřední věstník Evropské unie L152/11*, https://eur-lex.europa.eu/legal-content
11. Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (EU) č. 852/2004 o hygieně potravin, příloha II kapitola I a II, 2004, In *Úřední věstník L 139, 30.4.2004, s. 1*, 2004, p. 1-25,
12. ELI: http://data.europa.eu/eli/reg/2004/852/2021-03-24
13. Nařízení Komise (EU) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách, In *Úřední věstník L 364/5*, 2006,
14. ELI: http://data.europa.eu/eli/reg/2006/1881/oj
15. Státní veterinární správa, Metodický pokyn Státní veterinární správy pro chovatele včel k prevenci a tlumení varroázy č. j.: SVS/2019/114754-G, In *Úřední deska: Státní veterinární správa*, 2019, https://beedol.cz/wp-content/uploads/2019/11/Metodicky_pokyn_SVS_pro_chovatele_vcel_k_prevenci_a_tlumeni_varroazy.pdf
16. Státní veterinární správa, Plán úředních kontrol reziduí farmakologicky účinných látek, pesticidů a kontaminujících látek v potravinovém řetězci na rok 2025, Řízený dokument B14/02/25-HYG-1, In *Řízené dokumenty SVS*, 2025, č. j. SVS/2024/163396-G
17. Silva, P. M.; Gauche, C.; Gonzaga, L. V.; Costa, A. C. O. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. In *Food Chemistry*, 2016, vol. 196, p. 309-323
18. Směrnice Rady 2001/110/ES ze dne 20. prosince 2001 o medu. In *Ústřední věstník Evropské unie L 010 ze dne 12.1.2002 – zvláštní vydání v českém jazyce, ve znění oprav L 52/16 ze dne 21.2.2007 a L 314/47 ze dne 14.11.2012*, vol. 27, p. 179-184, http://data.europa.eu/eli/dir/2001/110/oj
19. Stayer, S. E.; Everstine, K.; Kennedy, S. Economically Motivated Adulteration of Honey: Quality Control Vulnerabilities in the International Honey Market. In *Food Protection Trends, PEER-REVIEWED ARTICLE, academian.edu*, 2014, p. 8-14

20. Vyhláška MZe č. 76/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro přírpdní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony. In *Sbírka zákonů*, 2003, část 32, p. 2470-2487
21. Výzkumný ústav včelařský, s.r.o., Celý rok proti varroáze, https://www.beedol.cz
22. Zábrodská, B.; Vorlová, L. Adulteration of honey and available methods for detection – a review. In *Acta veterinaria Brno*, 2014, vol. 83, p. 85-102
23. Zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích ve znění pozdějších předpisů. In *Sbírka zákonů*, 1997, částka 38, p. 1-82 https://next.codexis.cz/legislativa/CR475_2025_04

Kontaktní adresa: Mária Slepičková, Krajská veterinární správa SVS pro Karlovarský kraj, kpt. Jaroše 318/4, 36006 Karlovy Vary, E-mail: m.slepickova.kvsk@svscr.cz

PRODUKCIA LOSOSA V NÓRSKU - TRENDY, VÝZVY A HROZBY

SALMON PRODUCTION IN NORWAY – TRENDS, CHALLENGES AND THREATS

Sørensen Mette

Faculty of Biosciences and Aquaculture, Nord University, 8026 Bodø, Norway

ABSTRACT

Trends in aquaculture production

Aquaculture is the fastest-growing food sector globally, with output increasing from approximately 50 to 130.9 million tonnes over the past two decades. In 2022, global aquaculture production surpassed that of capture fisheries for the first time. The European aquaculture sector also demonstrated significant growth, contributing 3.5 million tonnes in 2022, with much of the production driven by Norway. In 2024, Norway produced 1.65 million tonnes of salmonids, accounting for 50% of the European aquaculture production. Meanwhile, aquaculture production in the European Union (EU) reached 1.1 million tonnes in 2023, with shellfish comprising the largest share (51%) followed by freshwater species (28%) and marine fish (21%). The total value of EU aquaculture was estimated at €4.8 billion, with Spain, France and Greece being the leading producers.

Keywords: Fish production**,** salmonids, fish welfare, sustainability, production technology

CHALLENGES

A key concern for the EU aquaculture sector is its limited contribution– just 1%–to global aquaculture production, coupled with stagnating growth despite the availability of multiple EU funding instruments. The European Court of Auditors has identified several persistent challenges that hinder the sector's development. These include inefficient maritime spatial planning and prolonged licensing procedures that delay the establishment of new aquaculture sites. Moreover, there is insufficient strategic use of available funding to effectively support EU aquaculture. The lack of clear indicators to monitor EU funds contribution to environmental sustainability, social outcomes and sectoral competitiveness further weakens impact assessment. Finally, there remains limited public awareness of the vital role aquaculture can play in ensuring food security for a growing population. Unlike in EU countries, the Norwegian government does not identify site availability as the main constraint to future aquaculture growth. Instead, it emphasizes fish welfare and environmental sustainability as the main bottlenecks. Aquaculture production in Norway is already subject to strict regulatory

frameworks, and the Norwegian government has announced to introduce additional measures to ensure that future growth aligns with sustainability principles.

THREATS

The Norwegian government has defined poor fish welfare and unacceptable environmental impacts as primary threats to long-term sustainability of the aquaculture sector. One of the main challenges contributing to both issues is the ectoparasite *Lepeophtheirus salmonis*, commonly known as salmon sea lice, which poses a serious threat to farmed salmon health and the surrounding marine environment. The spread of salmon lice from aquaculture facilities is currently considered the greatest human-induced threat to Norwegian wild and farmed salmon. To mitigate this, regulatory upper limits are set for the number of lice per fish at each aquaculture site. The overall impact of salmon lice in different production areas is controlled through a traffic light system, to regulate the maximum allowable biomass (MAB) based on environmental risk of salmon lice infestation and its impact on wild salmon stocks. Since the implementation of the traffic light system, Western Norway has consistently been coded red, indicating a high environmental risk level and triggering measures to reduce or halt production to protect wild salmon and the broader ecosystem. As a consequence of welfare and environmental risks posed by sea lice, the Norwegian government has announced plans to introduce new and stricter measures aimed at improving fish welfare and mitigating the negative effects of salmon lice on wild salmon.

NEW POLICIES AS DRIVERS OF TECHNOLOGICAL INNOVATION

In the near future, new policies will be implemented to regulate the production biomass based on mortality (as an indicator of fish welfare) and salmon lice emission. This marks a significant shift from the current system, which regulates the production based on the MAB at the site and company levels. A major policy goal is to reduce average mortality in aquaculture–15.4% in 2024–to an acceptable level of 5% across all species.

Controlling salmon lice infestations has been a central concern since 2009, when the first Salmon Lice Act came into force. While medicinal treatments were traditionally the main method, the emergence of resistant strains have diminished their effectiveness. As a result, non-therapeutic or alternative delousing and preventive measures–such as thermal and mechanical treatments, freshwater baths, laser application, and other methods or a combination of methods–have become more common. These approaches offer important advantages, including reducing the risk of resistance development in lice and minimizing the release of therapeutics into the environment. However, the thermo-mechanical treatments, which involve netting, handling and

physical manipulation can compromise fish welfare due to increased stress and injury. Thus, while the pressure to reduce sea lice prevalence increases, it may paradoxically result in poorer welfare and higher mortality.

To address these challenges, the government acknowledges that achieving better fish welfare through lice reduction along with lower environmental impact must be supported by appropriate incentives. One proposed solution is the introduction of tradable quotas for sea lice emissions within the same regulatory zone, taking into account the carrying capacity of local marine environments. Additionally, a fee on fish mortality during production is being considered to encourage the adoption of cleaner, welfare-friendly technologies, aiming to reduce high fish mortality often associated with current sea lice treatment methods.

CONCLUSION

The Farm to Fork strategy under the EU green deal aim to revise regulations to enhance animal welfare and promote a fair, healthy and environmentally friendly food system. This ambition has also been embraced by the Norwegian Government, which is developing new regulatory framework for aquaculture with the goal of producing Norwegian salmon more sustainably, minimizing environmental impact while upholding high standards of fish welfare. In addition to raising welfare and sustainability standards, the planned policies are expected to stimulate innovation in aquaculture technology. Key examples include offshore farming, submerged production systems, advanced feeding technologies, as well as land-based aquaculture and post-smolt production on land combined with shorter on-growth periods at sea.

The presentation given at the conference will explore current trends in Norwegian aquaculture, with primary focus on technological advancements aimed at enhancing fish welfare.

Contact address: Sørensen Mette, Faculty of Bioscience and Aquaculture, Nord University, Post box 1490, 8049 Bodø; E-mail: mette.sorensen@nord.no

POPS V SLEPAČÍCH VAJCIACH PÔVODOM ZO SLOVENSKA

POPS IN HEN EGGS ORIGINATING FROM SLOVAKIA

Stachová Sejáková, Z. [1]*,Čonka, K. [1], Gago, F. [1], Drobná, B. [1], Murín, M. [2]

[1] Laboratórium toxických organických polutantov, NRC pre dioxíny a príbuzné zlúčeniny, Slovenská Zdravotnícka Univerzita, Limbová 12, 833 03 Bratislava, Slovenská republika

[2] Ekotoxikologické centrum Bratislava s.r.o., Tomášikova 10/F, 821 03 Bratislava, Slovenská republika)

ABSTRACT

During 2007-2024, we analyzed hen eggs for polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs), and polychlorinated biphenyls (PCBs). The samples were from different small and large-scale farmers. Some samples were collected by the State Veterinary and Food Administration, some were from monitoring carried out in 2007 and some from private suppliers in Slovakia. 77 hen egg samples were processed, from different regions of Slovakia. WHO-TEQ_{2005} values were calculated from the measured results. Neither the mean nor the median of the sample of hen eggs from Slovak farms exceeds the maximum and action values set by the European Commission for this commodity. However, for small-scale farmers, both the mean and median values for PCDDs, PCDFs and dl-PCBs are well above the limit.

Key words: PCDDs, PCDFs , dl-PCBs, hen eggs

ÚVOD

Polychlórované dibenzo-p-dioxíny (PCDD), polychlórované dibenzo-furány (PCDF) apolychlórované bifenyly (PCB) predstavujú širokú skupinu látok patriacich medzi perzistentné organické polutanty (POPs). V životnom prostredí dlhodobo pretrvávajú kvôli svojej odolnosti voči akejkoľvek degradácii. POPs sa začali vyskytovať v životnom prostredí vo zvýšenej miere až v dôsledku ľudskej činnosti najmä v 20. storočí [1,2,3]. Putujú v životnom prostredí a pre svoju silnú schopnosť bioakumulácie sa dostávajú až k najvyššiemu bodu v potravinovom reťazci[4, 5]. PCDD a PCDF vznikajú najmä nedokonalým spaľovaním, pri staršom postupe bielenia papiera a sú vo všeobecnosti považované za jedny z najtoxickejších zlúčenín. Podľa IARC (International Agency for Researcherch on Cancer) sú zaradené do skupiny 1. ako dokázané karcinogény.

PCB sa vyrábali na našom území komerčne v Chemko Strážske v okrese Michalovce do roku 1984. PCB sa používali o.i. ako stabilizátory náterov, chladiace a dielektrické kvapaliny a teplonosné médiá. Doposiaľ sa v životnom prostredí nachádza niekoľko ton starých záťaží v

starých náteroch, pozostatky po starých výrobných závodoch, starých transformátoroch, ktoré sú najčastejším dôvodom kontaminácie drobnochovateľov sliepok. PCB sa ďalej transportujú v životnom prostredí a bioakumulujú sa v potravinovom reťazci[6, 7]. Účinky PCB na zdravie človeka sa týkajú najmä nervového, endokrinného, reprodukčného a na imunitného systému[8].

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky sa po prijatí skladovali v chladničke pri cca +4°C.

Z vajec sa oddelili žĺtka a zmiešali s bezvodým Na_2SO_4 na sypký prášok. Tuk sa extrahoval dietyléterom. K alikvotnej časti lipidov izolovaných zo vzoriek vajec sa pred ďalším spracovaním pridalo známe množstvo 13C12-označených extrakčných štandardov PCDD/F a PCB.

Po odstránení lipidov na kolóne plnenej 44%-nou H_2SO_4 na silikagéli sa PCDD/F a PCB frakcionovali použitím poloautomatizkého zariadenia Power-PrepTM (Fluid Management Systems, Waltham, Massachusetts, USA). K prečisteným extraktom boli pred analýzou pridané známe množstvá 13C12-označených dávkovacích štandardov PCDD/F a PCB na výpočet výťažnosti 13C12-označených extrakčných štandardov. S každou sadou vzoriek (10) bol spracovaný slepý pokus a QC vzorka (referenčný materiál s prídavkom známeho množstva prirodzených PCDD/F a PCB).

Identifikácia a kvantifikácia kongenérov PCDD/F a PCB bola vykonaná izotopovou zrieďovacou metódou US EPA 1613 a 1668 s použitím vysokorozlišovacej plynovej chromatografie a vysokorozlišovacej hmotnostnej spektrometrie (HRGC/HRMS; HP 6890 GC, Hewlett-Packard, USA; MAT 95XP, Thermo Finnigan, Brémy, Nemecko). Sedemnásť 2,3,7,8-substituovaných kongenérov PCDD/F a 12 kongenérov dl-PCB sa separovalo na kapilárnej kolóne DB-5MS (60 m × 0,25mm i.d. × 0,25 µm; J&W scientific, Folsom, California, USA) za použitia hélia ako nosného plynu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Stanovené obsahy 2,3,7,8-substituovaných PCDD a PCDF, ako aj obsahy dioxínom podobných PCB (dl-PCB) sa udali ako toxický ekvivalent (TEQ) v pg TEQ.g^{-1} tuku získaného zo žĺtku slepačích vajec, pričom na výpočet TEQ sa použili faktory ekvivalentnej toxicity (TEF) ustanovené WHO v roku 2005 (WHO_{2005} TEQ)[9]. Indikátorové PCB (ind-PCB) sú udané ako suma 6-tich tzv. indikátorových di-ortho-PCB (PCB-28, -52, -101, -138, -153 a -180) v ng.g^{-1} tuku. Pri vyhodnotení výsledkov bola použitá rozšírená neistota merania pre PCDD/F 15,05%, pre dl-PCB 20,15% a pre PCDD/F + dl-PCB 13,41%. Jednotlivé výsledky , ktoré boli nižšie ako medza stanovenia (LOD) boli počítané s hodnotou LOD “horná medza“ (uperbound), na

výpočet TEQ. Pre jednotlivé skupiny sa vypočítali priemery, mediány, maximá a minimá POPs vo vzorkách. Komodita slepačie vajcia má podľa európskych smerníc určené svoje akčné limity a maximálne limity[9]. Pri akčných limitoch je potrebné hľadať zdroj znečistenia a pri maximálnych limitoch by sa nemali dané produkty dostať k spotrebiteľovi, alebo by mal byť o tom informovaný (drobnochov).

Z nameraných výsledkov pre veľkochov vidno, že v hodnotení celoslovenských priemerov a mediánov POPs sa neprekročili maximálne a ani akčné limity (Tab. 1.). Avšak pri jednotlivých vzorkách sa našli aj vzorky prekračujúce akčný limity pre dl-PCB v jednom prípade skoro dvojnásobne a v druhom viac ako 2,5 násobne v Trenčianskom a Košickom kraji (Tab. 2).

Z nameraných výsledkov pre drobnochov vidieť, že v hodnotení celoslovenských priemerov a mediánov POPs sa prekročili maximálne a aj akčné limity (Tab. 1.). Avšak pri jednotlivých vzorkách sa našla aj vzorky neprekračujúce akčný limity pre jednotlivé skupiny zlúčenín (Tab. 2.), avšak aj z rozdielov medzi priemerom a mediánom a rozptylom medzi minimálnymi a maximálnymi hodnotami (Tab. 1.) vyplýva, že koncentrácie jednotlivých zlúčenín sú veľmi rôznorodé.

Tabuľka č. 1: Porovnanie priemerov, mediánov, maximálnych a minimálnych hodnôt s akčnými a maximálnymi limitmi pre jednotlivé tipy zlúčenín v slepačích vajciach z veľkochovu a drobnochovu[9].

Slepačie vajcia/ n			Priemer	Medián	Min	Max	Akčný limit	Maximálny limit
Veľkochov / 15	PCDD	WHO_{2005}-TEQ (pg/g uku)	0,05	0,04	0,03	0,09		
	PCDF		0,09	0,03	0,02	0,64		
	PCDD/F		0,14	0,07	0,04	0,68	1,75	2,50
	non ortho-PCB		0,59	0,05	0,02	4,84		
	mono ortho-PCB		0,01	0,01	0,001	0,02		
	dl-PCB		0,60	0,06	0,02	4,87	1,75	--
	PCDD/F+dl-PCB		0,73	0,13	0,07	4,99	--	5,00
	∑ IND PCB (ng/g)		2,81	5,45	0,44	7,52	--	40,00
Drobnochov / 62	PCDD	WHO_{2005}-TEQ (pg/g tuku)	2,73	1,27	0,05	22,89		
	PCDF		4,82	3,53	0,38	38,36		
	PCDD/F		7,55	4,80	0,46	61,25	1,75	2,50
	non ortho-PCB		14,61	8,81	0,83	91,59		
	mono ortho-PCB		0,94	0,43	0,03	5,60		
	dl-PCB		15,54	9,24	0,87	97,19	1,75	--
	PCDD/F+dl-PCB		23,09	14,04	1,33	138,10	--	5,00
	∑ IND PCB (ng/g)		414,00	191,72	7,67	4530,42	--	40,00

Tabuľka č. 2: Počty vzoriek slepačích vajec z veľkochovov, ktoré prekračovali maximálne limity (ML)/akčné limity(AL) v daných zlúčeninách[9]

Kraj	∑n	PCDD/F (ML)	dl-PCB (AL)	PCDD/F+dl-PCB (ML)	∑ ind PCB (ML)
Nitriansky kraj	3	0	0	0	0
Banskobystrický	2	0	0	0	0
Prešovský	1	0	0	0	0
Košický	5	0	1	0	0
Bratislavský	1	0	0	0	0
Trenčiansky	2	0	1	0	0
Žilinský	1	0	0	0	0

Tabuľka č. 3: Počty vzoriek slepačích vajec v drobnochovoch, ktoré prekračovali maximálne limity (ML)/akčné limity(AL) v daných zlúčeninách

Kraj	∑n	PCDD/F (ML)	dl-PCB (AL)	PCDD/F+dl-PCB (ML)	∑ ind PCB (ML)
Nitriansky kraj	11	9	10	9	9
Banskobystrický	18	15	18	18	17
Prešovský	10	5	8	7	6
Košický	23	19	21	20	15

ZÁVER

Z údajov o kontaminácii slepačích vajec z drobnochovu PCDD/F, DL-PCB a NDL-PCB je zrejmá dôležitosť a opodstatnenosť pravidelných monitoringov na Slovensku. Pri porovnaní drobnochovov a veľkochov je zrejmé, že u drobnochovateľov je omnoho väčšie riziko produkcie slepačích vajec prekračujúcich maximálne limity kontaminácie PCDD, PCDF a PCB a tým môže dôjsť pri dlhodobej konzumácii k ohrozeniu zdravia dotknutých obyvateľov. Týmto oblastiam a jednotlivcom je potrebné venovať zvýšenú pozornosť, upozorňovať ich na zdravotné riziká spôsobené konzumáciou takýchto vajec a prípadne, ak je to možné, eliminovať zdroj kontaminácie.

POĎAKOVANIE

Výsledky použité v tejto práci sú vlastníctvom Štátnej veterinárnej a potravinovej správy. Oddelenie toxických organických polutantov ďakuje za možnosť ich prezentácie.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Kočan A., Petrík J., Drobná B., Chovancová J., Jursa S., Pavúk M., Kovrižnych J., Langer P., Bohov P., Tajtáková M., Suchánek P.: Zaťaženie životného prostredia ľudskej populáce v oblasti kontaminovanej polychlórovanými bifenylmi [Správa za 2. rok riešenia]. ÚPKM (1999), 206.

2. Petrík J., Kočan A., Jursa S, Drobná B., Chovancová J., Marián Pavúk.: Polychlorinated biphenyls in sediments in Eastern Slovakia, Fresenius Environ. Bull. 10(2001), 375-380.
3. European Commission, Health and Consumer Protection Directorate-General, 2000. Opinion of the Scientific Committee on Food on the Risk Assessment of Dioxins and Dioxin-like PCBs in Food. SCF/CS/CNTM/ DIOXIN/8 Final. 23 (2000), 141.
4. Catalán P.J.G., Castell V., Llobet J.M., Domingo J.L.: Assessment of the temporal trend of the dietary exposure to PCDD/Fs and PCBs in Catalonia, over Spain: Health risks, Food and Chemical Toxicology 50 (2012) 399–408.
5. Lakea I.R., Foxall CH.D., Fernandes A., Lewis M., White O., Mortimer D., Dowding A., Rose M.: The effects of river flooding on dioxin and PCBs in beef, Science of the Total Environment 491–492 (2014), 184–191
6. Čonka K., Chovancová J., Stachová Sejáková Z., Dömötörová M., Fabišiková A., Drobná B., Kočan A., PCDDs, PCDFs, PCBs and OCPs in sediments from selected areas in the Slovak Republic, Chemosphere 98, (2014), 37-43
7. Li-Na Zhang, Ping-An Peng, Hui-Ru Li, Ming-Yang Liu, Jian-Fang Hu, Halogenated aromatic pollutants in routine animal-derived food of south China: Occurrence, sources, and dietary intake risks, Environmental Pollution 350, (2024), 124002
8. Peiwei Xu, Xiaoming Lou, Gangqiang Ding, Haitao Shen, Lizhi Wu, Zhijian Chen, Jianlong Han, Guangen Han, Xiaofeng Wang, Association of PCB, PBDE and PCDD/F body burdens with hormone levels for children in an e-waste dismantling area of Zhejiang Province, China, Science of The Total Environment 499, (2014), 55-61
9. NARIADENIE KOMISIE (EÚ) č. 1259/2011 z 2. decembra 2011,ktorým sa mení a dopĺňa nariadenie (ES) č. 1881/2006, pokiaľ ide o maximálne hodnoty obsahu dioxínov, PCB podobných dioxínom a PCB nepodobných dioxínom v potravinách, L320/18, https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SK/TXT/PDF/?uri=CELEX:32011R1259&from=LT
10.

Kontaktná adresa: Stachová Sejáková Zuzana, Laboratórium toxických organických polutantov, NRC pre dioxíny a príbuzné zlúčeniny, Slovenská Zdravotnícka Univerzita, Limbová 12, 833 03 Bratislava, Slovenská republika; E-mail: zuzana.stachova@szu.sk

CHEMICKÉ ZLOŽENIE ANATOMICKÝCH CELKOV DIVIAKA LESNÉHO (*SUS SCROFA*)

CHEMICAL COMPOSITION OF ANATOMICAL PARTS OF THE WILD BOAR (*SUS SCROFA*)

Staruch Ladislav, Riečanová Rebeka, Bodík Igor, Ďurka Ervín

Ústav potravinárstva a výživy, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika

ABSTRACT

In the past, game meat was a common part of daily diet. Nowadays, despite its high nutritional value and quality parameters, game meat is less widespread and consumed. These parameters stem from the intravital influences of the animal, which affect the chemical composition of its meat. In this study, we focused on the chemical composition of meat from wild boar (*sus scrofa*). We determined the values using reference methods in three anatomical regions of the body. Our aim was to compare the water, protein and fat content with results from the scientific literature, between the different anatomical regions of the specie.

Key words: game meat, meat, water, proteins, fat

ÚVOD

Divina sa svojou vysokou nutričnou hodnotou radí medzi jedno z najvýznamnejších mias. Dopyt po nej sa za posledné desaťročia zvýšil, a to aj z dôvodu, že tento druh mäsa neobsahuje zvieraťu podávané liečivá, hormóny, antibiotiká a iné produkty nepriaznivo vplývajúce na človeka (Ciberej, 2020). Fyzikálno - chemické a senzorické vlastnosti diviny môžu byť ovplyvnené faktormi ante mortem ako druh, pohlavie, vek, lokalita, klíma, telesný stav, strava, hladina hormónov a ročné obdobie. Po zabití nastupujú postmortálne zmeny ako pH, či teplota, ktoré rovnako ovplyvňujú vlastnosti mäsa (Kudrnáčová et al., 2018). Okrem týchto parametrov, má divina kladné senzorické vlastnosti, ktoré môžu prilákať spotrebiteľov, pre ich intenzívnu červenú farbu, jemnosť a rôznosť špecifických chutí. Červená farba diviny je ovplyvnená vysokým obsahom hémových farbív, ktorá je charakteristická pre toto mäso (Čuboň, Haščík, 2019). Vďaka týmto pozitívam sa divina stala atraktívnou potravinou a jej konzumácia sa rozšírila po celom svete, no najmä v krajinách strednej a stredomorskej Európy (Herrero et al., 2006).

Diviak je rozšírený po celom svete a to vďaka svojej prispôsobivosti na meniace sa prostredie (Sales, Kotrba, 2013). Venujeme sa zdrojom jeho potravy, anatomickej stavbe tela,

získavaným produktom(stehno, pliecko a krkovička) a chemickým zložením. Parametre, ktoré sme skúmali, sú voda, bielkoviny a tuky. Na záver sme porovnávali diviačie mäso s bravčovým.

Obrázok 5 Diviak lesný (*Sus scrofa*)



MATERIÁL A METODIKA

Vzorky boli získané v Poľovnom združení Plieška v Hontianskych Tesároch. Do skúmania sme zaradili tri anatomické časti tela a to pliecko, krkovička a stehno. Všetky skúmané vzorky pochádzali zo zvierat samčieho pohlavia. Z každej časti sme približne 500 g vzorky zhomogenizovali, ktoré sme následne použili na stanovenie chemických vlastností.

Voda sa stanovovala metódou sušenia (Dúbravický et al., 1989), bielkoviny sa stanovovali podľa Kjeldahla (na prístroji KJELTEC AUTO 1030 Analyzer na základe stanovenia celkového dusíka vo vzorke a následnom prepočte na bielkoviny podľa STN ISO 1871 1997) a tuk sa stanovoval pomocou priamej Soxhletovej extrakcie (Dúbravický et al., 1989).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z grafov 1, 2 a 3 sme zistili, že najvyšší obsah bielkovín bol stanovený v mäse zo stehna 21,78 %, pričom tam bol stanovený najnižší obsah tuku 2,53 %. V pliecku 20,2 % a krkovičke 18,12 % bol stanovený výrazne nižší obsah bielkovín ako v stehne. V krkovičke bol stanovený najvyšší obsah tuku, až 14,82 % spomedzi všetkých skúmaných vzoriek. Toto vysoké číslo môže byť pripísané tomu, že diviak má celkovo viac tuku, hlavne podkožného, ako iné zvieratá. Zároveň to môže byť spôsobené tým, že na odobratej časti vzorky sa nachádzalo väčšie množstvo tuku čo mohlo mať za následok, že množstvo tuku v danej anatomickej časti je vyššie.

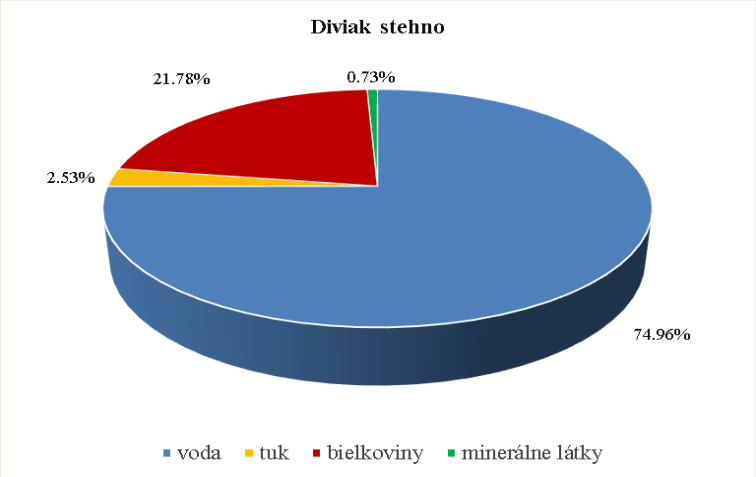
Dopočtom sme zistili, že minerálne látky u diviaka sa nachádzajú v rozmedzí 0,63 % – 0,73 %. Vojtaššáková (2002) vo svojich tabuľkách uvádza, že obsah vody tvorí 74,50 %, bielkovín 21,60 % čo je veľmi blízky výsledok ako pri našom stanovení, kde obsah vody je 74,96 % a bielkovín bol 21,78 %. Obsah tuku je 2,4 % čo je podobné číslo nameranému nami, ktoré bolo 2,53 % v stehne.

Sales a Kotrba (2013) sa vo svojej štúdii zaoberali kvalitou mäsa u diviaka a ošípanej. Rozoberali fyzikálno - chemické, senzorické a chemické vlastnosti tohto mäsa. Zo senzorického hľadiska hodnotili textúru a chuť mäsa. Dôraz kládli hlavne na intramuskulárny tuk, ktorý zásadne ovplyvňuje tieto vlastnosti. Pri chemických vlastnostiach sa venovali obsahu bielkovín, kde im obsah vody v daných vzorkách diviaka sa pohyboval na úrovni 70,50 %, obsah bielkovín 25,83 % a obsah tuku 1,55 %.

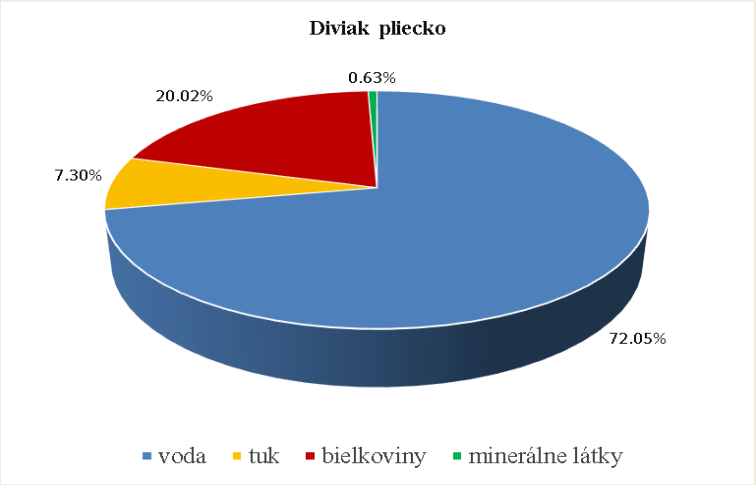
Modzelewska-Kapitula a Zmijewski (2021) poukazovali na vplyv pohlavia a veku na chemické zloženie a senzorické vlastnosti mäsa diviakov ako je farba a textúra. Sledovali obsah chemických parametrov u diviaka v rôznych rokoch života. Pri dospelom jedincovi diviaka bol stanovený obsah bielkovín 24,40 ± 0,40 % a tuku 3,03 ± 0,03 %. V porovnaní s našimi vzorkami je obsah bielkovín a tuku v stehne nižší.

Pri porovnaní našich vzoriek s dostupnou literatúrou hodnotíme, že krkovička a pliecko mali zásadne vyšší obsah tuku ako sa uvádzajú iní autori. Môže to byť zapríčinené tým, že naše vzorky boli ulovené v letnej sezóne, kedy je dostatok potravy a živín. Rovnako na to môže mať vplyv aj daná lokalita lovu, ktorá je bohatá na poľnohospodárske plodiny, ktoré ovplyvňujú celkové chemické zloženie mäsa daného jedinca.

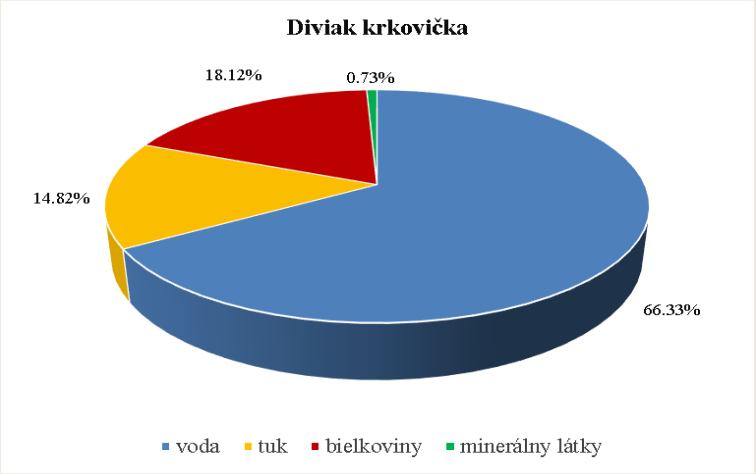
Graf 3 Chemické zloženie mäsa zo stehna diviaka



Graf 4 Chemické zloženie mäsa z pliecka diviaka



Graf 5 Chemické zloženie mäsa z krkovičky diviaka



ZÁVER

U diviačej zveri najvyššia koncentrácia bielkovín sa nachádza v mäse zo stehna diviaka 21,78 % a zároveň stehno obsahuje najnižšie percento tuku 2,53 %. Naopak najnižšia hodnotia bielkovín 18,12 % a výrazne vyššie percento tuku 14,82 % sa nachádza v krkovičke. Pri porovnaní našich hodnôt s dostupnou literatúrou evidujeme zásadné vychýlenie v anatomických častiach krkovička a pliecko, kde nami namerané hodnoty boli zásadne vyššie ako v dostupnej, odbornej literatúre. Rovnako chemické zloženie môže ovplyvniť aj lokalita a poľnohospodárske plodiny, ktoré boli zdrojom obživy daného jedinca.

POĎAKOVANIE

„This work was supported by the Slovak Research and Development Agency under the Contract no. APVV-22-0292.“

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. CIBEREJ, J., 2020. Biológia vybraných druhov srstnatej a pernatej zveri a ich zoologické zatriedenie. In Poľovnícka zoológia a biológia , Vydavateľ: Vydavateľ: Technická univerzita vo Zvolene, Vydavateľstvo TU vo Zvolene, Zvolen, 2020. ISBN 978-80-228-3221-2.
2. ČUBOŇ, J. - HAŠČÍK, P. 2019. Hodnotenie surovín a potravín živočíšneho pôvodu, Vydavateľ: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Vydavateľstvo SPU, Nitra, 2019. ISBN 978-80-552-2091-8
3. DÚBRAVICKÝ, J. – SMIRNOV, V. -ŠIMKO, P. 1989. Laboratórium odboru II. Technológia živočíšnych neúdržných potravín. Bratislava: Edičné stredisko SVŠT. 1989. 323 s. ISBN 80-227-0079-7.
4. HERRERO, J. - GARCÍA-SARRANO, A., et al. 2006. Diet of wild boar Sus scrofa L. and crop damage in an intensive agrocosystem. In European Journal of Wildlife Research, Springer link, [online]. 2006, vol. 52: p. 145-250, [cit. 2023-04-12]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1007/s10344-006-0045-3>.
5. KUDRNÁČOVÁ, E. - BARTOŇ, L. - BUREŠ, D. - HOFFMAN, C., L. 2018. Carcass and meat characteristics from farm-raised and wild fallow deer (Dama dama) and red deer (Cervus elaphus). Meat Science, [online]. 2018, vol. 141: pp. 9-27, [cit. 2023-04-12]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.02.020>. ISSN 0309-1740.
6. MODZELEWSKA-KAPITULA, M. - ŻMIJEWSKI, T., 2021. The influence of age and gender on the quality of raw and roasted wild boars (Sus scrofa) meat, Meat Science, [online]. 2021, vol. 181. [cit. 2023-04-12]. Dostupné na internete: < https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108600>. ISSN 0309-1740.
7. SALES, J. - KOTRBA, R., 2013. Meat from wild boar (Sus scrofa L.), Meat Science, [online]. 2013, vol. 94: p. 187-201, [cit. 2023-04-14]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.01.012>. ISSN 0309-1740.
8. STN ISO 1871: 1997, Poľnohospodárske potravinárske výrobky. Všeobecné pokyny na stanovenia dusíka metódou podľa Kjeldahla
9. VOJTAŠŠÁKOVÁ, A. - KOVAČÍKOVÁ, E. - PASTOROVÁ, J. - MOSNÁČKOVÁ, J. - SIMONOVÁ, E. - HOLČÍKOVÁ, K. 2002. Mäso jatočných zvierat – Potravinové tabuľky, Vydavateľstvo ÚVTIP Nitra, Nitra, 2002. ISBN 80-89088-10-4.

Kontaktná adresa: Ladislav Staruch, Ing. PhD., ÚPV, FCHPT STU, Radlinského 9, Bratislava, 812 37, Slovak Republic ; E-mail: ladislav.staruch@stuba.sk

KINETIKA RŮSTU TOXIGENNÍCH *BACILLUS CEREUS* V PŠENIČNÝCH TĚSTOVINÁCH

THE GROWTH KINETICS OF TOXIGENIC *BACILLUS CEREUS* IN WHEAT PASTA

Stojanová Kateřina[1], Bursová Šárka[1], Necidová Lenka[1], Haruštiaková Danka[2], Pechanová Klára[1], Mátl Patrik[1]

[1]Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno, Česká republika

[2]Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita Brno, Česká republika

ABSTRACT

The study was focused on the use of predictive growth models to evaluate the growth of toxigenic *Bacillus cereus* in cooked wheat pasta at 4, 15, 24 and 33 °C. The number of *Bacillus cereus* was determined by the plate method on MYP agar (30 °C, 24 h). The bacteria multiplied in cooked pasta at 15, 24 and 33 °C. At 4 °C, bacterial mortality was observed after a lag phase, with the population decreasing over time. The Gompertz model was chosen to model bacterial growth. The study demonstrated that it is essential to maintain a maximum storage temperature of 4 °C for cooked wheat pasta to ensure food safety and prevent cereulid toxin production. When pasta is stored at room temperature (24 °C) or higher (33 °C), the lag phase is significantly shortened, and rapid bacterial growth occurs, leading to potential toxin formation within a few hours.

Key words: *predictive microbiology, Gompertz model, growth rate, lag phase*

ÚVOD

Škrobnaté potraviny patří mezi oblíbené součásti jídelníčku, avšak často bývají spojovány s kontaminací emetickým toxinem cereulidem, produkovaným bakterií *Bacillus cereus*. Cereulid je toxin odolný vůči běžně používanému tepelnému ošetření i kyselému prostředí. Po konzumaci kontaminované potraviny se příznaky intoxikace, zejména nevolnost a zvracení, objevují obvykle během 1 až 5 hodin a zpravidla odezní do 24 hodin (Meng et al., 2022).

Současné studie se zabývaly kontaminací *Bacillus cereus* například ve vařené rýži (Bursová et al., 2024). Model predikující růst *Bacillus cereus* ze spor během chlazení vařených těstovin vyvinuli ve své studii Juneja et al. (2019).

Zajištění bezpečnosti potravin spočívá zejména v eliminaci nežádoucích mikroorganismů nebo v prevenci jejich růstu, k čemuž mohou významně přispět prediktivní matematické modely. Ty umožňují předpovídat růst a chování mikroorganismů v potravinách a posoudit, zda budou za daných podmínek z mikrobiologického hlediska bezpečné (Stavropoulou & Bezirtzoglou, 2019). Primární matematické modely, například Buchananův nebo Gompertzův, se používají především k popisu růstu mikroorganismů v čase (Taiwo et al., 2024).

Cílem naší práce bylo pomocí Gompertzova modelu popsat dynamiku růstu *Bacillus cereus* ve vzorcích vařených pšeničných těstovin při různých teplotách skladování.

MATERIÁL A METODIKA

Pro zhodnocení dynamiky růstu *Bacillus cereus* ve vařených pšeničných těstovinách byly použity toxigenní kmeny *B. cereus*, přehled použitých kmenů a jejich původu je uveden v tabulce 1.

TABULKA Č. 1, POUŽITÉ KMENY *BACILLUS CEREUS* A JEJICH PŮVOD

Kmen	Původ (vzorek)	Sbírka
Bacillus cereus 302	segedínský guláš, houskový knedlík	VETUNI
Bacillus cereus 335	karbanátek, žampionová omáčka, bramborové pyré	VETUNI
Bacillus cereus 634	vaječné těstoviny	VETUNI
Bacillus cereus DSM 4312	případ otravy jídlem	DSZM

DSM – German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH (Braunschweig, Germany); VETUNI – Sbírka Ústavu hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Veterinární univerzita Brno (Brno, Česká republika)

Suspenze spor byla připravena samostatně pro každý použitý kmen *Bacillus cereus*. Testovaný kmen byl nejprve hadovitým pohybem naočkován na šikmý trypton-sojový agar (TSA; HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, Indie; pH 7). Zkumavky byly inkubovány aerobně při teplotě 30 °C po dobu 24 hodin. Po ukončení inkubace byla narostlá kultura asepticky resuspendována ve 2 ml sterilního fyziologického roztoku a následně naočkována na povrch sporulačního média v Roux láhvi. Jako sporulační médium byl použit živný agar (pH 7,4) obohacený 0,5 % glukózy a 0,003 % síranu manganatého. Inkubace probíhala aerobně při 30 °C po dobu šesti dnů.

Za použití sterilních skleněných kuliček a 20 ml sterilního fyziologického roztoku byl mikrobiální nárůst uvolněn z povrchu média. Vzniklá suspenze byla asepticky přenesena do sterilní zkumavky a odstředěna při 4 400 rpm po dobu 10 minut. Supernatant byl odstraněn a sedimentované buňky byly resuspendovány ve sterilním fyziologickém roztoku a znovu odstředěny. Tento promývací postup byl opakován celkem třikrát. Po posledním promytí byly sedimentované buňky resuspendovány v 50 ml sterilního fyziologického roztoku (s přibližnou koncentrací 10^8 KTJ.ml^{-1}), ošetřeny ultrazvukem (15 minut při frekvenci 38 kHz) a uchovávány při 4 °C. Tvorba spor byla kontrolována mikroskopicky pomocí barvení za tepla 5% roztokem malachitové zeleně s následným dobarvením karbolfuchsinem.

K inokulaci vařených pšeničných těstovin byla použita směs čtyř sbírkových kmenů *Bacillus cereus*. Jednotlivé suspenze spor byly nejprve smíchány dohromady v poměru 1:1:1:1. Takto připravená směsná suspenze byla tepelně ošetřena záhřevem na teplotu 85 °C po dobu 10 minut (inaktivace případných vegetativních buněk a aktivace spor). Po zchlazení a naředění byla použita k inokulaci vařených těstovin.

Vařené pšeničné těstoviny (vařeno dle pokynů výrobce) připravené přímo v laboratoři, byly po 10 g asepticky rozděleny do sterilních homogenizačních sáčků s filtrem. Pro každou ze čtyř sledovaných teplot (4, 15, 24 a 33 °C) byly připraveny 4 sady vzorků (A, B, C + kontrolní vzorky nezaočkované *Bacillus cereus*). Vařené těstoviny (sady A, B, C) byly následně inokulovány připravenou směsnou suspenzí sbírkových kmenů tak, aby bylo dosaženo výchozí koncentrace přibližně 10^2 KTJ.g^{-1}.

TABULKA Č. 2, ČASOVÉ INTERVALY ODBĚRŮ VZORKŮ V ZÁVISLOSTI NA SLEDOVANÉ TEPLOTĚ

Teplota skladování	Doba skladování/časový interval (h)												Celkem vzorků (1 sada)
4 °C	0	12	24	48	72	96	168	192	216	240	264	336	12
15 °C	0	3	6	8	10	12	24	31	48	55	72	79	12
24 °C	0	3	6	8	10	12	24	31	48	55	72	79	12
33 °C	0	1	2	3	4	6	8	10	12	24	31	48	12

Odběr vzorků pro stanovení počtu *Bacillus cereus* byl proveden po různé době skladování v závislosti na skladovací teplotě (viz tabulka 2). Stanovení počtu bylo provedeno roztěrem 0,2 ml příslušného ředění vzorku na povrch Mannitol Yolk Polymyxin B agaru (MYP agar, Oxoid Ltd.), přičemž inkubace probíhala aerobně při teplotě 30 °C po dobu 24 hodin.

Zjištěné počty (KTJ.g^{-1}) byly logaritmicky transformovány s použitím dekadického logaritmu. Tyto hodnoty byly použity k vypočítání průměrných hodnot a směrodatných odchylek a taky pro vytvoření růstových modelů.

K popisu růstu bakterií *B. cereus* byl použit lineární regresní model, charakterizující růst bakterie při teplotě 4 °C a nelineární Gompertzův model (Gibson et al., 1988; Zwietering et al., 1990), charakterizující růst bakterie při vyšších teplotách. Ke zpracování dat byl použit software R a knihovna „nlsMicrobio“ (R Core Team, 2024).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Vytvořené růstové křivky *B. cereus* pro jednotlivé skladovací teploty jsou uvedeny na obrázku 1. Při teplotě 4 °C nebyl během 14 dnů skladování zaznamenán růst *B. cereus*. Lze předpokládat, že bakteriální populace setrvávala po celou dobu v lag-fázi růstu (počet *Bacillus cereus* = 2,788 - 0,036*čas). U vyšších teplot byla vytvořená růstová křivka kompletní.

Rychlost růstu *B. cereus* se se zvyšující teplotou skladování zvyšovala. Při teplotě 15 °C bylo dosaženo maximálního počtu *B. cereus* až na konci sledování (tj. po 79 hodinách). Při teplotě skladování 24 °C bylo maximálního počtu *B. cereus* dosaženo již po přibližně 30 hodinách, a při teplotě 33 °C to bylo již po přibližně 15 hodinách (Obrázek 1).

TABULKA Č. 3, POČET *B. CEREUS* (LOG KTJ.G^{-1}) V PŠENIČNÝCH TĚSTOVINÁCH PŘI RŮZNÉ TEPLOTĚ (PRŮMĚR ± SMĚRODATNÁ ODCHYLKA, N = 3)

Čas (hodiny)	Teplota 4 °C	Teplota 15 °C	Teplota 24 °C	Teplota 33 °C
0	2,90 ± 0,10	2,66 ± 0,02	2,90 ± 0,07	2,98 ± 0,06
1				3,08 ± 0,07
2				3,54 ± 0,09
3		2,84 ± 0,22	3,45 ± 0,08	4,43 ± 0,08
4				5,30 ± 0,07
6		2,92 ± 0,13	4,56 ± 0,07	6,91 ± 0,08
8		3,12 ± 0,04	5,57 ± 0,06	7,80 ± 0,05
10		2,99 ± 0,18	6,51 ± 0,02	8,07 ± 0,14
12	2,91 ± 0,07	3,24 ± 0,06	7,07 ± 0,02	8,35 ± 0,15
24	2,52 ± 0,60	4,25 ± 0,24	8,44 ± 0,11	8,96 ± 0,09
31		4,96 ± 0,32	8,61 ± 0,09	9,25 ± 0,15
48	2,73 ± 0,11	6,61 ± 0,36	8,96 ± 0,01	9,19 ± 0,22
55		7,06 ± 0,15	9,00 ± 0,13	
72	2,71 ± 0,05	7,85 ± 0,14	9,03 ± 0,05	
79		8,13 ± 0,05	9,05 ± 0,02	
96	2,61 ± 0,21			
168	2,60 ± 0,07			

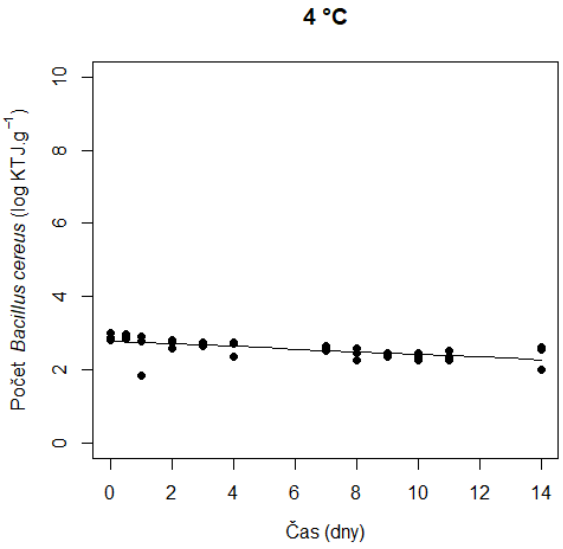
POKRAČOVÁNÍ TABULKY 3

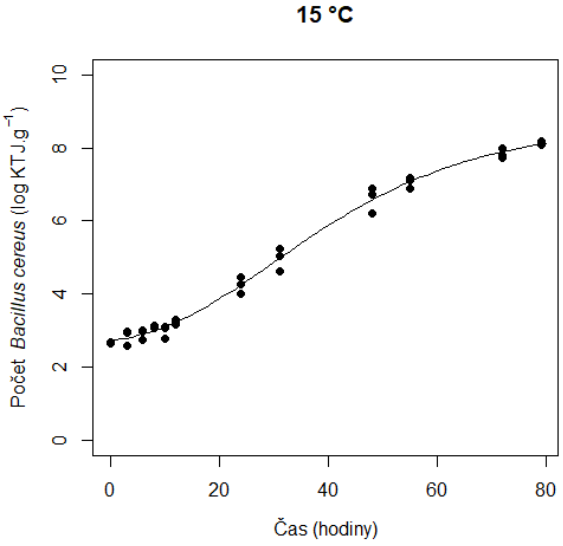
Čas (hodiny)	Teplota 4 °C	Teplota 15 °C	Teplota 24 °C	Teplota 33 °C
192	2,43 ± 0,17			
216	2,40 ± 0,04			
240	2,35 ± 0,10			
264	2,38 ± 0,13			
336	2,39 ± 0,34			

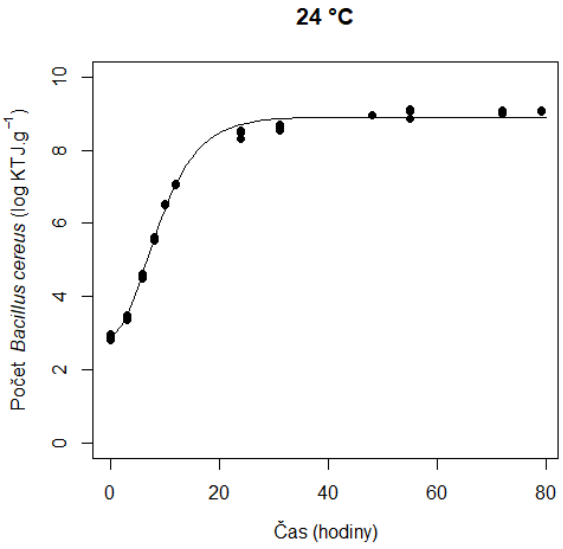
TABULKA Č. 4, PARAMETRY VYTVOŘENÝCH GOMPERTZOVÝCH RŮSTOVÝCH MODELŮ

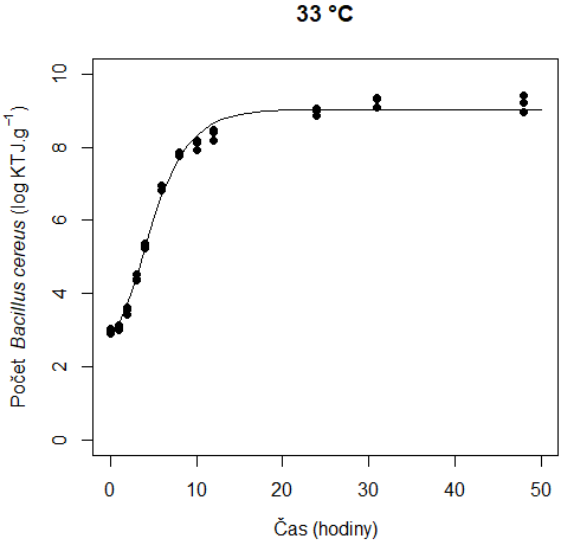
Teplota skladování	Délka lag-fáze (h)	Rychlost růstu (ln KTJ $g^{-1}.h^{-1}$)	Min (log KTJ.g^{-1})	Max (log KTJ.g^{-1})
15 °C	8,238 ± 2,224	0,239 ± 0,011	2,610 ± 0,126	8,687 ± 0,208
24 °C	1,699 ± 0,471	1,035 ± 0,039	2,727 ± 0,130	8,904 ± 0,038
33 °C	0,739 ± 0,320	1,840 ± 0,071	2,630 ± 0,176	9,030 ± 0,066

OBRÁZEK Č. 1, RŮST *BACILLUS CEREUS* V PŠENIČNÝCH TĚSTOVINÁCH CHARAKTERIZOVANÝ LINEÁRNÍM MODELEM (PŘI TEPLOTĚ 4 °C) A NELINEÁRNÍMI GOMPERTZOVÝMI MODELY (PŘI TEPLOTÁCH 15, 24 A 33 °C).




15 °C
Počet Bacillus cereus (log KTJ.g^{-1})
0
2
4
6
8
10
0
20
40
60
80
Čas (hodiny)


24 °C
Počet Bacillus cereus (log KTJ.g^{-1})
0
2
4
6
8
10
0
20
40
60
80
Čas (hodiny)


33 °C
Počet Bacillus cereus (log KTJ.g^{-1})
0
2
4
6
8
10
0
10
20
30
40
50
Čas (hodiny)

Rychlost růstu *Bacillus cereus* ve vařených pšeničných těstovinách byla ovlivněna teplotou. S narůstající teplotou skladování se zvyšovala také rychlost růstu (viz tabulka 4). Z naměřených dat je také patrné, že při 4 °C nedocházelo k růstu bakterií.

Podobné výsledky jako v rámci naší studie uvádí také Juneja et al. (2019). V jejich experimentu bylo rovněž patrné, že s rostoucí skladovací teplotou docházelo ke zkracování lag fáze růstu *Bacillus cereus*. Srovnatelné hodnoty byly pozorovány při teplotách 15 °C (tato studie) vs. 16 °C (Juneja et al., 2019), 24 °C vs. 25 °C a 33 °C vs. 34 °C.

Je však třeba uvést, že zatímco v rámci naší studie byla sledována i nízká skladovací teplota 4 °C, v práci Juneja et al. (2019) měření při této teplotě neprobíhalo, neboť jejich experimentální podmínky začínaly až na 13 °C. Výsledky získané při 4 °C tedy nelze s jejich daty přímo porovnat.

ZÁVĚR

Pro hodnocení bezpečnosti a zdravotní nezávadnosti potravin je klíčové znát především dynamiku růstu patogenních bakterií a také závislost rychlosti jejich růstu na skladovací teplotě. Z hlediska bezpečnosti je nezbytné vařené pšeničné těstoviny co nejdříve po přípravě zchladit a uchovávat při teplotě nepřesahující 4 °C, jak ukládá Vyhláška č. 137/2004 Sb., o hygienických požadavcích na stravovací služby a o zásadách osobní a provozní hygieny při činnostech epidemiologicky závažných (Česká republika, 2004). Nevhodné je ponechávat vařené těstoviny při pokojové teplotě (24 °C) nebo vyšší, protože již během několika hodin může dojít k výraznému pomnožení *Bacillus cereus*, což zvyšuje riziko produkce toxinu a následné intoxikace. S rostoucí teplotou skladování se zároveň zvyšuje i rychlost růstu těchto bakterií.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce byla finančně podpořena Interní grantovou agenturou VETUNI Brno, projekt č. 228/2025/FVHE.

POUŽITÁ LITERATURA

1. BURSOVÁ, Š. et al. Evaluation of *Bacillus cereus* growth in cooked rice. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, ISSN 1338-5178, 2024, vol. 14, no. 1, p. 7.
2. ČESKÁ REPUBLIKA. Ministerstvo zdravotnictví. Vyhláška č. 137/2004 Sb., o hygienických požadavcích na stravovací služby a o zásadách osobní a provozní hygieny při činnostech epidemiologicky závažných. Sbírka zákonů České republiky, 2004, částka 44, s. 2485–2491.

3. GIBSON, A., M. et al.. Predicting microbial growth – growth responses of Salmonellae in a laboratory medium as affected by pH, sodium chloride and storage temperature. *International Journal of Food Microbiology*, 1988, ISSN 0168-1605, vol. 6, no. 2, p. 155–178.
4. JUNEJA, V. K. et al.. Predictive model for growth of Bacillus cereus at temperatures applicable to cooling of cooked pasta. *Journal of Food Science*, ISSN 0022-1147, 2019, vol. 84, no. 3, p. 590–598.
5. MENG, J. N. et al. Detection of emetic *Bacillus cereus* and the emetic toxin cereulide in food matrices: Progress and perspectives. *Trends in Food Science & Technology*, ISSN 0924-2244, 2022, vol. 123, p. 322–333.
6. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, 2024, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/.
7. STAVROPOULOU, E. and BEZIRTZOGLOU, E. Predictive modeling of microbial behavior in food. *Foods*, ISSN 2304-8158, 2019, vol. 8, no. 12, p. 654.
8. TAIWO, O.R. et al., 2024. Advancements in predictive microbiology: Integrating new technologies for efficient food safety models. *International Journal of Microbiology*, ISSN 1687-918X, vol. 2024, no. 1, p. 21.
9. ZWIETERING, M., H. et al. Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology*, ISSN 0099-2240, 1990, vol. 56, no. 6, p. 1875–1881.

Kontaktní adresa: Bc. Ing. Kateřina Stojanová, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno, e-mail: stojanovak@vfu.cz

PROLIFERAČNÁ AKTIVITA MYOCYTOV *MUSCULUS PECTORALIS MAJOR* AKO POTENCIÁLNY PRODUKČNÝ MARKER U HYDINY

PROLIFERATIVE ACTIVITY OF *MUSCULUS PECTORALIS MAJOR* MYOCYTES AS A POTENTIAL PRODUCTION MARKER IN POULTRY

Szabóová Renáta[1], Herich Robert[2], Levkut Martin[2], Hudec Erik[2], Ševčíková Zuzana[2], Čechová Michaela[2], Faixová Zita[1], Karaffová Viera[2]

[1]Katedra biológie a fyziológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

[2]Katedra morfologických disciplín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

The effect of probiotic bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* CECT 5940 strain was evaluated on proliferative activity (as PCNA parameter) in connection with gene expression of IGF-1 of brojler pectoralis major muscle myocytes. A total of 20 000 chicken breed ROSS 308 were randomly divided into 2 groups (both groups were separately placed in two halls on the farm) – experimental group E with Ecobiol application and control group C. Ecobiol preparation was applicated into water from experimental day 2 to day 6. The experiment lasted 12 days. We conclude that *Bacillus amyloliquefaciens* CECT 5940 (in Ecobiol preparation) supplementation improves the broiler pectoralis major muscle proliferation due to significant effects by increased PCNA expression ($P < 0,05;$ 5 days of Ecobiol application) and up-regulation of IGF-1 ($P < 0,05$ and $P < 0,0001;$ during administration as well as after administration of Ecobiol administration on experimental days 8 and 12). From these results PCNA parameter can be considered as potential meat production marker in poultry.

Key words: proliferation, myocyte, poultry, marker

ÚVOD

Hydina je hlavným zdrojom bielkovín pre človeka a dopyt po hydinovom mäse a iných vedľajších produktoch sa na celom svete každým dňom zvyšuje. S rýchlym rozvojom modernej spoločnosti spotrebitelia požadujú čoraz viac kvalitného hydinového mäsa. V posledných desaťročiach sa dosiahol veľký pokrok v genetickom výbere a manažmente u hydiny mäsového typu, čo prispieva k rýchlemu rastu a produkcii svalovej hmoty pri súčasnom zvýšení mäsovej výťažnosti (Oviedo-Rondón a kol. 2020).

Myogénna aktivácia a špecifikácia svalovej génovej expresie vo vyvíjajúcom sa embryu je riadená myogénnymi regulačnými faktormi, z ktorých inzulínu podobný rastový faktor (IGF-1) sa podieľa na kontrole vývoja a rastu kostrového svalstva počas embryogenézy ako aj postnatálnej svalovej hypertrofie a regenerácie organizmu (Wang a kol. 2022). IGF-1 je hormón, ktorý má množstvo účinkov na rast a metabolizmus. Produkuje sa v pečeni, svalovom a tukovom tkanive (Salehizadeh a kol. 2019). Ďalším markerom podieľajúcim sa na proliferácii a regenerácii svalových buniek je proteín – proliferujúci bunkový nukleárny antigén (PCNA). Vo svalovom tkanive je expresia PCNA obzvlášť významná v satelitných bunkách – svalových kmeňových bunkách, ktoré sú zodpovedné za svalovú regeneráciu a hypertrofiu. Druhy hydiny, ako sú kurčatá a morky, majú odlišné „vzorce“ rastu, ktoré ovplyvňujú akumuláciu svalovej hmoty. U brojlerových kurčiat, ktoré sú selektívne chované pre rýchly rast a vysoký výťažok svalov, je expresia PCNA v satelitných bunkách obzvlášť vysoká. Táto zvýšená expresia koreluje so zvýšeným rastom svalov pozorovaným u týchto zvierat, vďaka čomu je PCNA užitočným biomarkerom na štúdium vývoja svalov u hydiny (Che a kol., 2022).

Aj probiotiká sa javia ako potenciálne rastové faktory mikrobiálneho pôvodu, a to v rámci ich podpory konverzie krmiva ako aj denných hmotnostných prírastkov, a tým aj mäsovej hmoty u hydiny. Intramuskulárny systém predstavujúci IGF-1 a hlavné myogénne regulátory funkčnosti satelitných buniek – PAX7 a MYF5, sú modulované liečbou probiotík, čo dáva možné vysvetlenie pozitívnych účinkov probiotík na rast (Albrecht a kol. 2022).

Cieľom práce bolo určiť vplyv probiotického kmeňa *Bacillus amyloliquefaciens* CECT 5940 (v prípravku Ecobiol) na proliferačnú aktivitu myocytov a expresiu génu rastového faktora IGF-1 zapájajúceho sa do procesov myogenézy prsného svalu u kurčiat.

MATERIÁL A METODIKA

Schéma pokusu

Pokus prebiehal v dvoch separovaných halách farmového chovu brojlerových kurčiat plemena ROSS 308 (n = 20 000). V prvej hale sa nachádzali zvieratá experimentálnej skupiny E s podávaním probiotika a v druhej hale zvieratá kontrolnej skupiny K. Prvý deň experimentu – po vyliahnutí boli kurčatá (1. deň života) experimentálnej skupiny E v liahni nasprejované probiotickým preparátom Ecobiol obsahujúcim probiotikum *Bacillus amyloliquefaciens* CECT 5940 (Evonik; Nemecko). Počas druhého až šiesteho dňa experimentu bol preparát Ecobiol (Evonik; Nemecko) podávaný kurčatám v E v pitnej vode podľa pokynov výrobcu. Odbery vzoriek prsného svalu prebiehali na 5. (1. odber), 8. (2. odber) a 12. deň (3. odber) experimentu, pričom počas každého odberu boli odobraté vzorky prsného svalu náhodne vybratým desiatim kurčatám z E (n = 10) a K (n = 10). Experiment trval 12 dní. Počas pokusu boli kurčatá v oboch

skupinách skrmované štandardnou štartérovou kompletnou sypanou kŕmnou zmesou pre kurčatá K1 (Biokrmivá Bonamix, Slovenská republika) so zabezpečením prístupu k vode *ad libitum.*

Detekcia a kvantifikácia proliferačnej aktivity myocytov u kurčiat pomocou IHC

Vzorky svaloviny kurčiat s objemom 1 cm^3 boli získané z *musculus pectoralis major* a fixované v 4 % formaldehyde, dehydratované a zaliate do parafínu. Parafínové bloky – rezy svalového tkaniva boli narezané na hrúbku 5 µm (mikrotóm Leica, Nemecko), umiestnené na podložné sklíčka, zbavené parafínu a rehydratované podľa Koivukoski a kol. (2023). Rezy boli IHC-farbené primárnou monoklonálnou protilátkou PCNA SPM350 na stanovenie aktivity proliferačných buniek hydiny, a to použitím komerčnej súpravy (Novus Biologicals, USA) a sekundárnou protilátkou – biotinylačným činidlom (Dako, Glostrup, Dánsko) s finálnym protokolom. Negatívna kontrola bola získaná rovnakou metodológiou, ale bez použitia primárnej PCNA protilátky na tkanivových rezoch.

Počet PCNA-pozitívnych jadier (v %) kostrového svalu *m. pectoralis major* bol sledovaný mikroskopicky v siedmich náhodných zorných poliach (400-násobné zväčšenie, mikroskop Nikon Labophot 2, Nikon Corporation, Japonsko) každej vzorky (n = 6) tkanivových rezov z experimentálnej a/alebo kontrolnej skupiny pomocou kamery Nikon DS-Fi1 Corporation a softvéru NIS-NElements-Fi1 (verzia 3.0, Laboratory Imaging, Česká republika). Percento jadier exprimujúcich PCNA pre každú vzorku tkanivového rezu sa určilo ako počet jadier exprimujúcich PCNA vydelený celkovým počtom buniek vynásobených číslom 100 (Guo a kol. 2011).

Relatívna expresia pre IGF-1 gén (inzulínu podobný rastový faktor)

Homogenizácia vzoriek a izolácia RNA

Vzorky prsného svalu (20 mg) sa umiestnili do RNA Later (Qiagen, Hilden, Nemecko) roztoku a skladovali pri -70 °C. Následne prebehla purifikácia a transkripcia RNA podľa opisu Karaffová a kol. (2019).

Kvantitatívna Real Time-qPCR

Hladiny expresie mRNA IGF-1 génu v prsnom svale brojlerových kurčiat (n=10) boli stanovené a normalizované voči referenčnému génu GAPDH (glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenáza). Amplifikácia a detekcia cieľových produktov sa uskutočnila použitím SsoAdvanced Universal SYBR Green Supermix (Bio-Rad, Hercules, Kalifornia) a špecifických primerov (Tabuľka č. 1) na prístroji LightCycler 480 II (Roche, Basel, Švajčiarsko) podľa preddefinovaného programu. Pre každú jednotlivú qReal-Time PCR platňu bola zaznamenaná

krivka topenia od 55 °C do 95 °C s odčítaním pri každých 0,5 °C. Všetky reakcie pre qReal-Time PCR sa uskutočňovali v duplikátoch a jednotlivé sady primerov umožňovali účinnosť amplifikácie cDNA medzi 94 % a 100 %. Účinnosť amplifikácie pre cieľový gén (vrátane GAPDH) bola 100 % v exponenciálnej fáze reakcie, kde sa vypočítal kvantifikačný cyklus (Cq). Hodnoty Cq génu boli normalizované na priemernú hodnotu Cq referenčného génu (ΔCq) a relatívna expresia každého génu bola vypočítaná matematicky ako $2^{-\Delta Cq}$.

Tabuľka 1. Zoznam primerov použitých na kvantifikáciu génov v prsnom svale brojlerových kurčiat

Primer	Sekvencia 5'–3'	Annealing teplota/čas	Referencie
IGF-1 Fw	GAGCTGGTTGATGCTCTTCAGTT	60 °C/30s	Xiao a kol., 2017
IGF-1 Rev	CCAGCCTCCTCAGGTCACAACT		
GAPDH Fw	CCTGCATCTGCCCATTT	59 °C/30s	De Boever a kol., 2008
GAPDH Rev	GGCACGCCATCACTATC		

Štatistická analýza

Štatistická analýza sa uskutočnila pomocou Studentovho párového t-testu použitím Graph Pad Prism verzie 8.00 (GraphPad Software Inc., Kalifornia, USA) na určenie rozdielov medzi každou skupinou. Rozdiely medzi priemernými hodnotami pre každú skupinu sa považovali za štatisticky významné pri $P < 0,05^{*}$; $P < 0,0001^{****}$. Hodnoty sú uvedené ako priemery so štandardnými odchýlkami (± SD).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Po 4-dňovej aplikácii prípravku Ecobiol (t. j. počas 1. odberu) bola pozorovaná významná expresia PCNA ($P < 0,05$) vo svalových bunkách kurčiat v E (93,26 ± 1,64) v porovnaní s K (82,30 ± 11,09) kurčiat. Zvýšené percento PCNA-pozitívnych jadier v E kurčiat (69,97 ± 4,62) bolo namerané 2 dni po ukončení aplikácie probiotík (t. j. počas 2. odberu) v porovnaní s K (62,61 ± 11,93). Šesť dní po ukončení aplikácie Ecobiolu (počas 3. odberu) sa nezistil významný rozdiel v PCNA markeroch medzi E a K (Tabuľka č. 2).

Tabuľka č. 1, Expresia PCNA v myocytoch kurčiat počas/po podávaní prípravku Ecobiol

	E (PCNA (%) ± SD)	K PCNA (%) ± SD
1. odber (5. deň experimentu)	93,26 ± 1,64*	82,30 ± 11,09
2. odber (8. deň experimentu)	69,97 ± 4,62	62,61 ± 11,93
3. odber (12. deň experimentu)	51,29 ± 5,79	54,74 ± 9,19

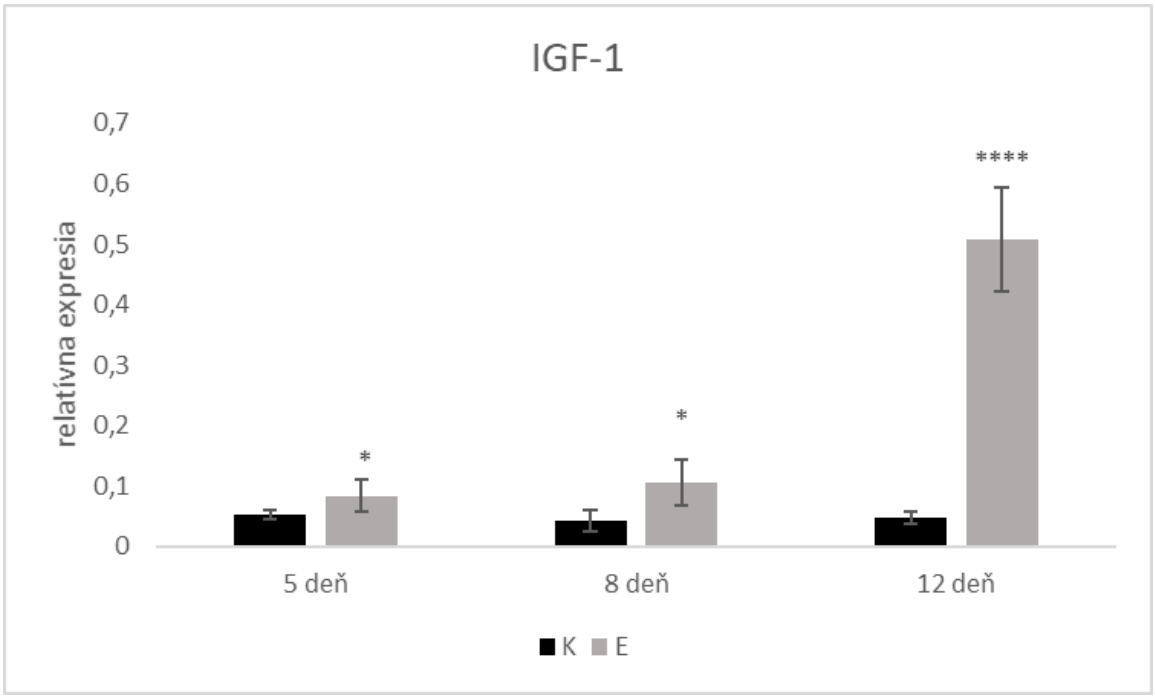
E – experimentálna skupina; K – kontrolná skupina; PCNA - proliferujúci bunkový nukleárny antigén; SD – smerodajná odchýlka; štatisticky významné hodnoty pri *P* < *0,05

U hydiny, môže expresia PCNA poskytnúť dôležité informácie o aktivite svalových/satelitných buniek počas rastu, s čím súvisia aj produkčné vlastnosti (Yin a kol. 2013). Počet satelitných buniek, ako aj expresia PCNA v satelitných bunkách tkaniva kostrového svalstva sa zvyšuje najmä počas fázy rýchleho rastu u druhov hydiny, ako sú kurčatá a morky (Halevy 2020). Avšak u brojlerových kurčiat, ktoré sú selektívne chované pre rýchly rast a vysoký výťažok svalov, je expresia PCNA v satelitných bunkách obzvlášť vysoká (Ferreira a kol. 2020).

Napríklad po podaní probiotík ako rastových stimulátorov by na základe detekcie PCNA-markera v myocytoch mohla probiotická os črevo-kostrový sval potenciálne podporiť hypertrofiu svalových vlákien a/alebo zlepšiť rýchlosť rastu (Krysiak a kol. 2021) ako bolo tiež pozorované v našej štúdii, keď podávanie probiotík významne zvýšilo expresiu PCNA (*P* < *0,05*) v myocytoch prsného svalu.

Produkčné parametre akými sú napr. tučnota jatočného tela, živá a porážková hmotnosť, priemerný denný prírastok a účinnosť konverzie krmiva sú spojené s IGF-1. Hladiny IGF-1 u mladých jedincov môžu byť použité ako selekčné kritérium v rámci efektívneho rastu a výťažnosti mäsa u mladých jedincov (Salehizadeh a kol. 2019). V našej práci bola relatívna expresia pre IGF-1 gén významne zvýšená u kurčiat v experimentálnej skupine v porovnaní s kontrolou počas všetkých odberov (*P* < *0,05**; *P* < *0,0001*****) (Obrázok č. l).

Obrázok č. 1, Relatívna génová expresia pre IGF-1 v prsnom svale brojlerových kurčiat



E – experimentálna skupina; K – kontrolná skupina; štatisticky významné hodnoty pri $P < 0,05^{*}$; $P < 0,0001^{****}$

ZÁVER

Na základe výsledkov dosiahnutých v našej práci vzniká potreba ďalších štúdií o expresii a regulácii IGF-1 a PCNA ako potenciálneho produkčného parametra. V rámci súčinnej modulácie uvedených parametrov na myocyty v prsnom svale v kombinácii s efektom probiotík môže byť ovplyvnená na osi črevo-myocyt rýchlosť rastu svalstva brojlerových plemien kurčiat.

POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla za podpory projektov Vedeckej grantovej agentúry Slovenskej republiky VEGA 1/0098/22, 1/0107/21 a 1/0181/25 ako aj za podpory projektu Agentúry na podporu výskumu a vývoja APVV-21-0129.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ALBRECHT, E., et al. Effects of the Probiotic *Enterococcus faecium* on Muscle Characteristics of Chickens. In *Life (Basel)*, ISNN 2075-1729, 2022, vol. 25, no. 12(11), p. 1695.
2. DE BOEVER, S. et al. Identification and validation of house keeping genes as internal control for gene expression in an intravenous LPS inflammation model in chickens. In

Veterinary Immunology and Immunopathology, ISSN 0165-2427, 2008, no. 122, p. 312-317.

3. FERREIRA, T. Z. et al. Characterization of Pectoralis Major Muscle Satellite Cell Population Heterogeneity, Macrophage Density, and Collagen Infiltration in Broiler Chickens Affected by Wooden Breast. In *Frontiers in Physiology*, ISSN 1664-042X, 2020, vol. 11, article no. 529.
4. GUO, L. et al. Comparison of adipose tissue cellularity in chicken lines divergently selected for fatness, In *Poultry Science*, ISSN 1525-3171, 2011, vol. 90, no. 9, p. 2024-2034.
5. HALEVY, O. Timing Is Everything-The High Sensitivity of Avian Satellite Cells to Thermal Conditions During Embryonic and Posthatch Periods. In *Frontiers in Physiology*, ISSN 1664-042X, 2020, vol. 11, no. article 235.
6. CHE, S. et al. Characteristics of Broiler Chicken Breast Myopathies (Spaghetti Meat, Woody Breast, White Striping) in Ontario, Canada. In *Poultry Science*, ISNN 1525-3171, 2022, no. 101, p. 101747.
7. KARAFFOVÁ, V. et al. (2019) The influence of Farmatan® and Flimabend® on the mucosal immunity of broiler chicken, In *Poultry Science*, ISSN 1525-3171, 2019, no. 98, p. 1161–1166.
8. KOIVUKOSKI, S. et al. Unstained Tissue Imaging and Virtual Hematoxylin and Eosin Staining of Histologic Whole Slide Images, In *Laboratory Investigation*, ISNN 0023-6837, 2023, vol. 103, no. 5, p. 100070.
9. KRYSIAK, K. et al. Overview of the Use of Probiotics in Poultry Production. In *Animals*, ISSN 2076-2615, 2021, no. 11, p. 1620.
10. OVIEDO-RONDÓN, E. O. et al. The Role of Incubation Conditions in the Onset of Avian Myopathies. In *Frontiers in Physiology*, ISSN 1664-042X, 2020, no. 11, p. 545045.
11. WANG, Y. H. et al. The Role of Incubation Conditions on the Regulation of Muscle Development and Meat Quality in Poultry. In *Frontiers in Physiology*, ISNN 1664-042X, 2022, no. 13, p. 883134.
12. XIAO, Y. et al. Association of growth rate with hormone levels and myogenic gene expression profile in broilers. In *Journal of Animal Science and Biotechnology*, ISSN 2049-1891, 2017, no. 8, p. 43.
13. YIN, H. et al. Satellite cells and the muscle stem cell niche. In *Physiological Review*, ISNN 0031-9333 , 2013, vol. 93, no. 1, p. 23-67.

14. SALEHIZADEH, M. et al. Effects of probiotic lactic acid bacteria on growth performance, carcass characteristics, hematological indices, humoral immunity, and IGF-I gene expression in broiler chicken. In Tropical Animal Health Production, ISSN 00494747, 2019, vol. 51, no. 8, p. 2279-2286.

Kontaktná adresa: Szabóová Renáta, Department of Biology and Physiology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: renata.szaboova@uvlf.sk

VLIV SUROVINOVÉ SKLADBY NA VYBRANÉ VLASTNOSTI DRŮBEŽÍCH MASOVÝCH POMAZÁNEK

IMPACT OF RAW MATERIAL COMPOSITION ON SELECTED PROPERTIES OF POULTRY MEAT SPREADS

Šiška Ladislav[1], Pětová Markéta [2], Gál Robert[1], Novosad Ondřej [2], Salek Richardos Nikolaos[1]

Ústav technologie potravin, Fakulta technologická. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Vavrečkova 5669, 760 01 Zlín, Česká republika

Fakulta vojenského leadershipu, katedra logistiky, Univerzita Obrany Kounicova 156/65, 662 10 Brno, Česká republika

ABSTRACT

As the reduction of risk aspects related to animal source food, following consumer's expectations, trends to the quality characteristics, health benefits, and environmentally friendly production, low-fat poultry spreads can be found in the market. For the above-mentioned products, a promising approach is the use of poultry industry by-products, such as chicken skins, and various types of poultry liver, as raw material components. This work aimed to investigate the effect of different types of poultry liver (chicken, duck, turkey), chicken skins, and the use of different types and concentrations of two hydrocolloids (furcellaran and κ-carrageenan) on the physicochemical, textural, and rheological properties of model poultry meat spreads. The values of the complex modulus (G*) showed different viscoelastic properties for the tested samples. A lower hardness level was found in spreads with chicken liver than with duck or turkey liver spreads. Furthermore, a specific influence of the hydrocolloid used (κ-carrageenan, furcellaran) was detected concerning the composition used. Samples with duck liver had higher hardness values with κ-carrageenan. In contrast, spreads with turkey liver achieved higher hardness values with furcellaran.

ÚVOD

V současné době lze pozorovat rostoucí poptávku po potravinách s vyšším obsahem bílkovin, přičemž drůbeží maso se těší stále větší oblibě. V porovnání s jinými druhy masa má kuřecí maso vyšší obsah bílkovin, nižší celkový obsah tuku a nižší obsah nasycených tuků (Agrawal et al., 2024).

Mezi tradiční drůbeží masné produkty patří i roztíratelné výrobky z masa a jater. Tyto výrobky lze také definovat jako emulgované masné výrobky vyrobené převážně z jater, tuku,

masa a koření (Tiensa et al., 2017). Ve vztahu k masným výrobkům a potravinám živočišného původu obecně, je vhodné zmínit proměnu spotřebitelských preferencí směrem k produktům s nižším výskytem zdravotně rizikových složek (Kerry et al., 2011), stejně jako rostoucí zájem o složky přírodního původu namísto syntetických aditiv (Liran et al., 2017). Výrobci tak hledají cesty, jak vytvářet produkty s nižším obsahem tuku, zejména toho živočišného původu, či s omezeným množstvím nepřírodních přísad. Příkladem těchto přístupů může být redukce dusitanů pomocí přídavku rajčatového protlaku nebo bylin a lesních plodů bez negativního dopadu na technologické a senzorické vlastnosti produktu. (Hung et. al, 2016).

Vnímání kvality produktu je založeno na zkušenosti spotřebitele s potravinářským výrobkem. Spotřebitelé při hodnocení kvality očekávají, že si v co největší míře zachová charakteristické senzoricky detekovatelné vlastnosti – barvu, texturu (jemnost, pevnost, tuhost, šťavnatost, roztíratelnost, konzistence), chuť a vůni (De Araújo et al., 2022; Jridi et al., 2015) a totéž platí pro reformulované potraviny.

S narůstající celosvětovou produkcí a spotřebou drůbeže vzniká rovněž množství vedlejších produktů, jako jsou drůbeží kůže, běháky nebo hlavy, které bývají z hlediska potravinářského nedostatečně využívány. Přidávání hodnoty produktu, který je považován za odpad, díky kterému je využitelný a zpracovatelný jako potravinová surovina, je žádoucí z několika hledisek. Jde o naplňování strategie zvýšení efektivity a udržitelnosti rozvoje výroby, spojené současně se zmírňováním negativních dopadů průmyslové činnosti na životní prostředí (Mohan et al., 2021; Toldrá et al., 2012). Reformulace živočišných produktů však s sebou nese riziko zhoršení texturních, reologických a senzorických vlastností, což může negativně ovlivnit spotřebitelské přijetí těchto inovací. Některé studie se proto zaměřují na potenciál vedlejších produktů jako nástroje ke zlepšení fyzikálně-chemických charakteristik finálních masných výrobků. (Jridi et al., 2015; Gómez-Guillén et al., 2011). Strategie využití hydrokoloidů ke zlepšení jakostních charakteristik emulgovaných masných výrobků lze považovat za účinnou, ekonomickou a pohodlnou. (Cao et al., 2022).

Jednou z efektivních, ekonomických a technologicky přívětivých strategií je aplikace hydrokoloidů. Hydrokoloidy jsou definovány jako koloidní systém, ve kterém jsou koloidní částice nebo hydrofilní polymery dispergovány ve vodě (Saha et al., 2010). Jednou ze skupin látek, jejichž použití jako zahušťovadel, stabilizátorů a emulgátorů je široce rozšířené, jsou sulfatované galaktany, které jsou získávány ve formě extraktů z červených řas (Polášek et al., 2021; Abzhanova et al., 2022). Tato skupina sulfatovaných galaktanů se terminologicky označuje jako karagenany.

Karagenany představují směs několika příbuzných sulfatovaných galaktanů (Zhia et al., 2017). Z potravinářského hlediska se karagenany dělí podle chemického složení na tři hlavní

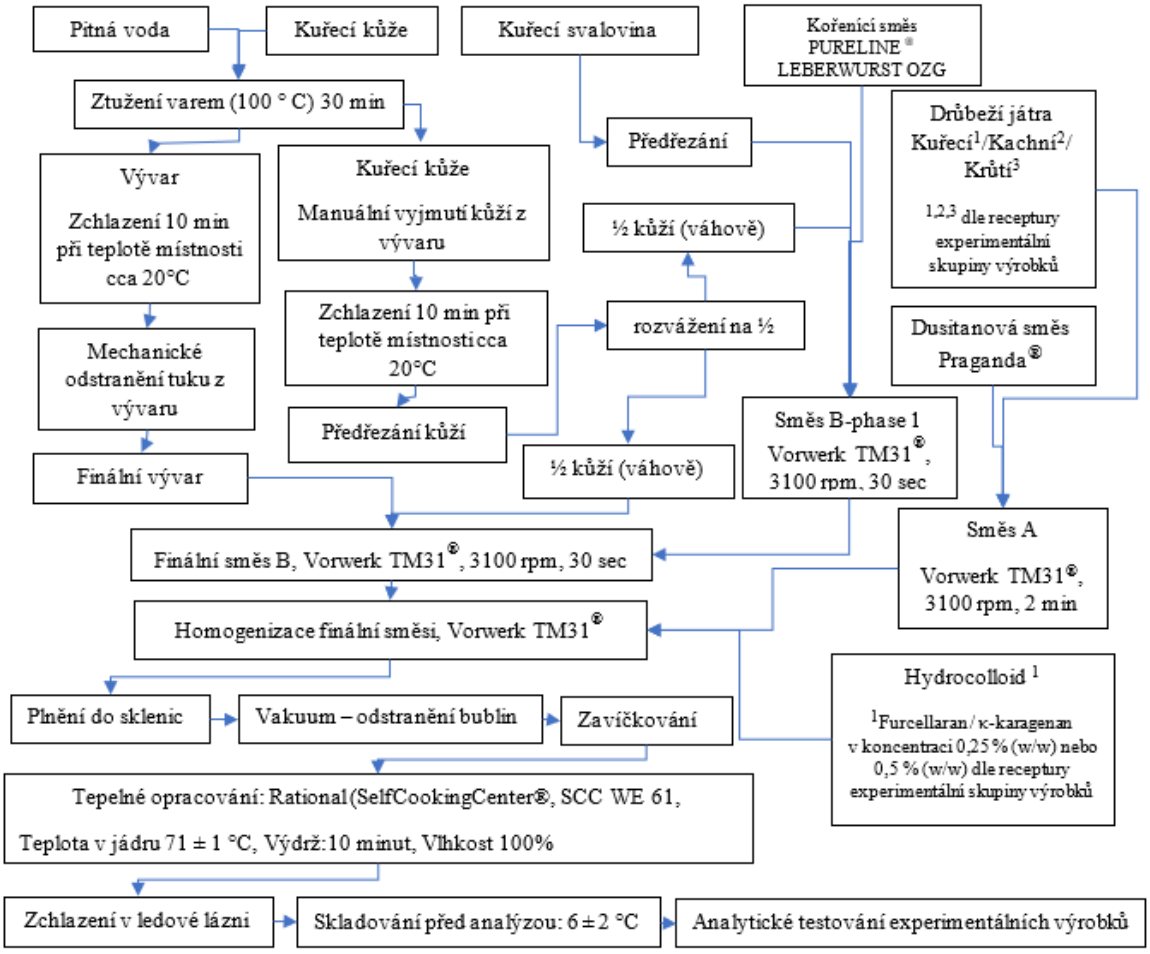
frakce: kappa, iota a lambda (Tuvikene et al., 2021; Hassan et al., 2019). Zmiňujeme-li pro potravinářství významné karagenany, je třeba také zmínit furcellaran, což je β /κ-karagenan (Saluri et all, 2021). Jedná se o přírodní sulfatovaný aniontový polysacharid, získávaný z extraktu červené řasy (*furcellaria lumbricalis*), který svými vlastnostmi připomíná karagenan (Marangoni Júnior et al., 2021). Karagenan, furcellaran i agar mají páteřní strukturu galaktózy, ale liší se podílem a umístěním esterových sulfátových skupin a podílem 3,6-anhydrogalaktózy (Imeson et al., 2009). Na rozdíl od poměrně dobře dostupných studií zabývajících se účinky aplikace κ-karagenanu v masných výrobcích je výzkum týkající se furcellaranu výrazně omezený či prakticky chybí. Dosavadní výzkum se zaměřoval především na použití furcellaranu pro povrchové ošetření potravin (Marangoni Júnior et al., 2021, Kulawik et. al, 2023). V současnosti však prakticky neexistují dostupné aplikace furcellaranu, které by se zabývaly jeho účinkem na charakteristické vlastnosti emulsifikovaných masných výrobků, jako jsou například pomazánky z drůbežího masa a jater. Cílem naší práce bylo vyrobit experimentální drůbeží pomazánky s různými druhy drůbežích jater v receptuře (kuřecí játra (experimentální skupina 1), kachní játra (experimentální skupina 2), krůtí játra (experimentální skupina 3), s využitím vedlejších produktů drůbeží porážky (kuřecí kůže) a posoudit specifičnost vlivu κ-karagenanu a furcellaranu v různých koncentračních hladinách na charakteristické vlastnosti těchto experimentálních pomazánek.

MATERIÁL A METODIKA

Práce byla zaměřena na hodnocení vybraných fyzikálně-chemických, texturních a reologických vlastností drůbežích masových pomazánek a na posouzení vlivu rozdílné surovinové skladby u tří experimentálních skupin. Tyto skupiny se lišily především typem použitých drůbežích jater a to, kuřecích, kachních a krůtích. U skupiny 1 experimentálních pomazánek byla použita kuřecí játra, u skupiny 2 použita kachní játra a u skupiny 3 použita krůtí játra. V recepturách experimentálních pomazánek nebyl použit tuk ani tuková tkáň jako samostatná složka výrobku ve smyslu Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům, konsolidované znění k 01/01/2018 (dále jen „Nařízení 1169/2011“). Současně bylo v rámci výrobního postupu provedeno mechanické odstranění tuku také z vývaru, který byl získán jako produkt ztužení kuřecích kůží. U každé skupiny experimentálních pomazánek byla provedena aplikace přídavku 3,75g a 7,50 g κ-karagenanu (Sigma-Aldrich®, Merck KGaA, Darmstadt, Německo) a furcellaranu EstGel1000™ (Est-agar as, Kärla, Estonsko) což odpovídá koncentrační hladině 0,25 % w/w a 0,50 % w/w κ-karagenanu a furcellaranu. Pro porovnání vlivu aplikace hydrokoloidů zahrnula dále každá skupina experimentálních pomazánek výrobky bez aplikace

hydrokoloidu. Následující obrázek (Obrázek č.1) obsahuje přehlednou vizualizaci výrobního postupu experimentálních pomazánek.

Obrázek č. 1, Postup výroby experimentálních drůbežích pomazánek



Stanovení základních fyzikálně-chemických a viskoelastických vlastností experimentálních výrobků dané skupiny dle použitého druhu jater bylo, provedeno vždy 5krát. Pro stanovení fyzikálně-chemických vlastností byly využity postupy dle ISO 5534 (obsah vody), ISO 936 (popel), ISO 11289 (pH), ISO 18787 (vodní aktivita), ISO 1443 (obsah tuku), ISO 12966 (profil mastných kyselin). Na základě naměřených hodnot fyzikálně – chemických vlastností ve shodě s pokyny Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům (konsolidované znění 01/01/2018, Celexové číslo 32011R1169) vypočten celkový obsah sacharidů a energetická hodnota. Celkový obsah sacharidů byl dopočítán na základě hodnot obsahu popele, vody, bílkovin a tuku podle následující rovnice.

$$S\ (g/100g) = 100 - (A(g/100g) + M(g/100g) + P(g/100g) + F(g/100g))$$

kde je S obsah sacharidů (g/100g), A obsah popela (g/100g), M obsah vody (g/100g),

P obsah bílkovin (g/100g), F = obsah tuku (g/100g),

Texturní vlastnosti (tvrdost, elasticita, žvýkatelnost, roztíratelnost) vzorků experimentálních pomazánek byly změřeny na analyzátoru TA.XTplus (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, UK). Vzorky byly stlačeny ve dvou cyklech na 50 % jejich původní výšky pomocí 100 mm válcové sondy s rychlostí sondy 1 mm/s. Pro každý vzorek provedeno 6 opakovaných měření (n=6) při laboratorní teplotě 20 ± 2 °C. Roztíratelnost byla stanovena podle Vincové et al. (Vincová et al., 2023) s hlavní sondou ve tvaru kužele (samec; 90°) a držáky analytu ve tvaru plexiskla (samice), pomocí analyzátoru TA.XTplus (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, UK; software Exponent Lite verze 4.0.13.0). Vzorky byly aplikovány na spodní kužel a přebytečný vzorek byl odstraněn. Testované vzorky byly následně proraženy horním kuželem pod úhlem 45°. Rychlost průniku do vzorku byla 1,0 mm/s v hloubce 2,0 mm. Reologická analýza byla provedena pomocí dynamického oscilačního smykového reometru (Kinexus; Netzsch-Gerätebau GmbH, Selb, Německo). Analýzy byly provedeny při teplotě 20,0±0,1 °C v lineární viskoelastické oblasti s použitím geometrie deska-deska (průměr 35 mm, mezera 1 mm) a amplitudě smykového napětí 20 Pa. Vzorky byly pokryty tenkou vrstvou silikonového oleje, aby se zabránilo dehydrataci vzorků pomazánek. Elastické (G′; Pa) a viskózní (G″; Pa) moduly byly stanoveny ve frekvenčním rozsahu 0,01–10,00 Hz. Analýzy každého vzorku byly opakovány třikrát (n=3).

Ze zmíněných modulů byl dle následující rovnice vypočítán komplexní modul pružnosti (G^*).

$$G^*(w) = \sqrt{\left(G'(w)\right)^2 + \left(G''(w)\right)^2}$$

kde G* (ω) je hodnota komplexního modulu (Pa) pro individuální frekvenci ω (Hz) (Polášek et al, 2021).

Narůstající hodnota G^* koreluje se zvyšující pevností produktu. Zvyšující se elastický charakter produktů s přídavkem polysacharidů by mohl být pravděpodobně způsoben „lepší“ schopností vázat vodu (Bourne et al., 2002; Polášek et al.,2021).

Získané výsledky byly zpracovány pomocí neparametrické analýzy rozptylu pomocí Kruskal–Wallisových a Wilcoxonových testů (software Minitab® 16; Minitab Ltd.; Coventry, UK) s hladinou významnosti nastavenou na 0,05. Účinky typu hydrokoloidu a přidáná koncentrace hydrokoloidu byly hodnoceny odděleně.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Průměrné hodnoty fyzikálně-chemických analýz z pěti měření jednotlivých skupin

experimentálních pomazánek jsou uvedeny v tabulce č. 1. Nebyl zjištěn žádný statisticky významný vliv druhu použitých drůbežích jater na obsah vody, obsah popele ani vodní aktivitu výsledného produktu ($p > 0,05$). Jednotlivé experimentální pomazánky si v těchto parametrech byly velmi podobné. Pomazánky s krůtími a kachními játry vykázaly mírně vyšší vzájemnou podobnost ve sledovaných parametrech ve srovnání s pomazánkami připravenými z kuřecích jater. Všechny experimentální pomazánky vykazovaly poměrně nízký celkový obsah tuku, což lze přičíst zejména absenci volně přidaného tuku jako samostatné složky v receptuře. Nižší celkový obsah tuku a s tím korespondující nižší celková energetická hodnota se jeví poměrně zajímavě z hlediska již zmíněných trendů spotřebitelských preferencí. To však za předpokladu zachování charakteristických vlastností výrobku.

Obsah tuku mezi jednotlivými experimentálními skupinami výrobků s využitím různých druhů drůbežích jater byl srovnatelný. Rovněž tak byl srovnatelný obsah nasycených mastných kyselin, který se pohyboval v rozmezí od 3,0±0,1 g/100g do 3,3±0,1 g/100g výrobku. Obsah nasycených mastných kyselin nevykázal ve vztahu k žádné z skupině pomazánek významnou specifickou závislost. Průměrný obsah mononenasycených a polynenasycených mastných kyselin je uveden v tabulce. (Tabulka č. 1). Masové pomazánky s kuřecími játry ve srovnání s pomazánkami s kachními, nebo krůtími játry měly mírně nižší obsah mononenasycených mastných kyselin. V rámci mononenasycených mastných kyselin byla majoritní kyselina olejová. Naměřené hodnoty kyseliny olejové byly u jednotlivých skupin pomazánek srovnatelné, v rozmezí 4,1 ± 0,1 g/100g do 4,7 ± 0,1 g/100g Obsah proteinu se u skupiny pomazánek s kuřecími játry pohyboval od 12,7 ± 0,1 g/100g do 12,9 ± 0,1 g/100g. Zatímco u skupiny pomazánek s kachními nebo krůtími játry se obsah proteinu pohyboval v rozmezí hodnot od 14,1 ± 0,1 g/100g do 14,7 ± 0,1 g/100g. Při porovnání naměřených fyzikálně-chemických hodnot nezjištěna signifikantní závislost na použití furcellaranu a κ-karagenanu v koncentračních hladinách 0,25 g/100 g a 0,50 g/100 g. Celkové sacharidy nebyly stanoveny analyticky, jedná se pouze o dopočtenou hodnotu. Jejich dopočtené hodnoty lze považovat za minoritní, a proto vliv nejistoty tímto vznikající není příliš významný. Lze konstatovat, že ve vztahu k fyzikálně chemickým parametrům experimentálních pomazánek, zejména obsahu proteinu, má významnější roli použitý druh drůbežích jater.

Tabulka č. 1, Výsledky fyzikálně chemických hodnot experimentálních pomazánek

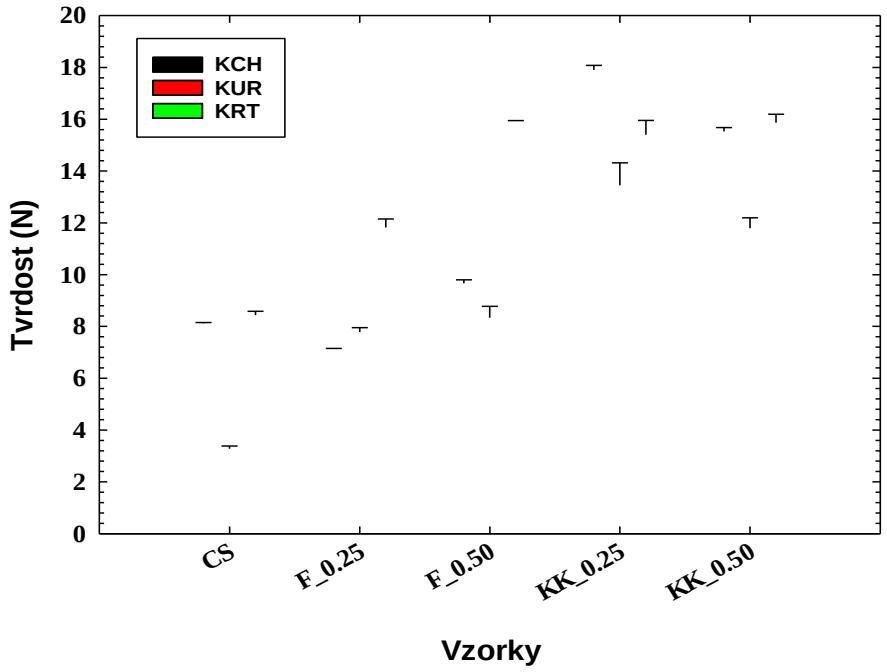
Sk[1)] Sk1	Obsah vody g/100g	Popel g/100g	Protein g/100g	Tuk g/100g	MUFA[2)] g/100g	PUFA[3)] g/100g	CS[4)] g/100g	EH[5)] kJ/100g
0	71,4±0,2	3,1±0,1	12,9±0,2	11,3±0,2	4,9±0,1	2,9±0,1	1,3±0,1	660,0±60,0
0,25 F*	71,3±0,2	3,1±0,1	12,9±0,2	11,5±0,2	4,9±0,1	2,9±0,1	1,2±0,1	664,0±66,4
0,5 F**	71,3±0,2	3,1±0,1	12,8±0,2	11,4±0,2	4,9±0,1	2,9±0,1	1,4±0,1	663,0±66,3
0,25 K*	71,5±0,2	3,1±0,1	12,8±0,2	11,3±0,2	4,9±0,1	2,9±0,1	1,4±0,1	660,0±60,0
0,5 K**	71,4±0,2	3,1±0,1	12,7±0,2	11,3±0,2	4,9±0,1	2,9±0,1	1,5±0,1	660,0±60,0
Sk 2								
0	68,6±0,1	3,0±0,1	14,9±0,2	12,7±0,3	5,5±0,2	3,1±0,1	0,8±0,2	737,0±73,7
0,25 F*	68,5±0,1	2,9±0,1	14,7±0,3	12,5±0,3	5,6±0,2	3,1±0,1	1,4±0,2	736,0±73,6
0,5 F**	66,8±0,1	3,1±0,1	14,6±0,3	12,4±0,3	5,5±0,2	3,0±0,1	3,1±0,2	760,0±76,0
0,25 K*	67,9±0,1	3,0±0,1	14,7±0,3	12,5±0,3	5,5±0,2	3,1±0,1	1,9±0,2	745,0±74,5
0,5 K**	67,6±0,2	3,1±0,1	14,6±0,3	12,4±0,3	5,5±0,2	3,1±0,1	2,3±0,2	746,0±74,6
Sk 3								
0	69,7±0,1	2,9±0,2	14,7±0,2	12,4±0,2	5,4±0,1	3,1±0,1	0,3±0,1	714,0±36,0
0,25 F*	69,7±0,1	2,9±0,2	14,6±0,2	12,3±0,2	5,4±0,1	3,1±0,1	0,5±0,1	712,0±36,0
0,5 F**	69,6±0,1	2,8±0,2	14,6±0,2	12,3±0,2	5,4±0,1	3,0±0,1	0,7±0,1	715,0±36,0
0,25 K*	69,7±0,1	2,9±0,2	14,6±0,2	12,3±0,2	5,4±0,1	3,1±0,1	0,5±0,1	712,0±36,0
0,5 K**	69,6±0,1	2,7±0,2	14,4±0,2	12,4±0,2	5,5±0,1	3,0±0,1	0,9±0,1	719,0±36,0

[1)] identifikace skupiny vzorků (Sk) dle druhu použitých jater (Sk1 kuřecí, Sk2 kachní, Sk3 krůtí) [2)] MUFA Mononenasycené MK [3)] PUFA Polynenasycené MK [4)] CS Celkové sacharidy dopočtem [5)]EH Energetická hodnota, 0,25 K*/ F*κ-karagenan/Furcellaran 3,75 g/100g; 0,5 K**/ F**κ-karagenan/Furcellaran 7,5 g/100g, 0 Kontrolní vzorek bez hydroloidů.

Výsledky texturní profilové analýzy, reprezentované hodnotami tvrdosti, jsou znázorněny v grafu (Obrázek č. 2). Z výsledků je patrná odlišnost a nižší tvrdost pomazánek s kuřecími játry. Tento rozdíl je zřejmý z grafu zobrazujícího závislost hodnot komplexního modulu pružnosti **G*** (Obrázek 3). Pomazánky s kuřecími játry ve srovnání s pomazánkami s kachními nebo krůtími játry vykázaly nižší míru tvrdosti při použití furcellaranu i κ-

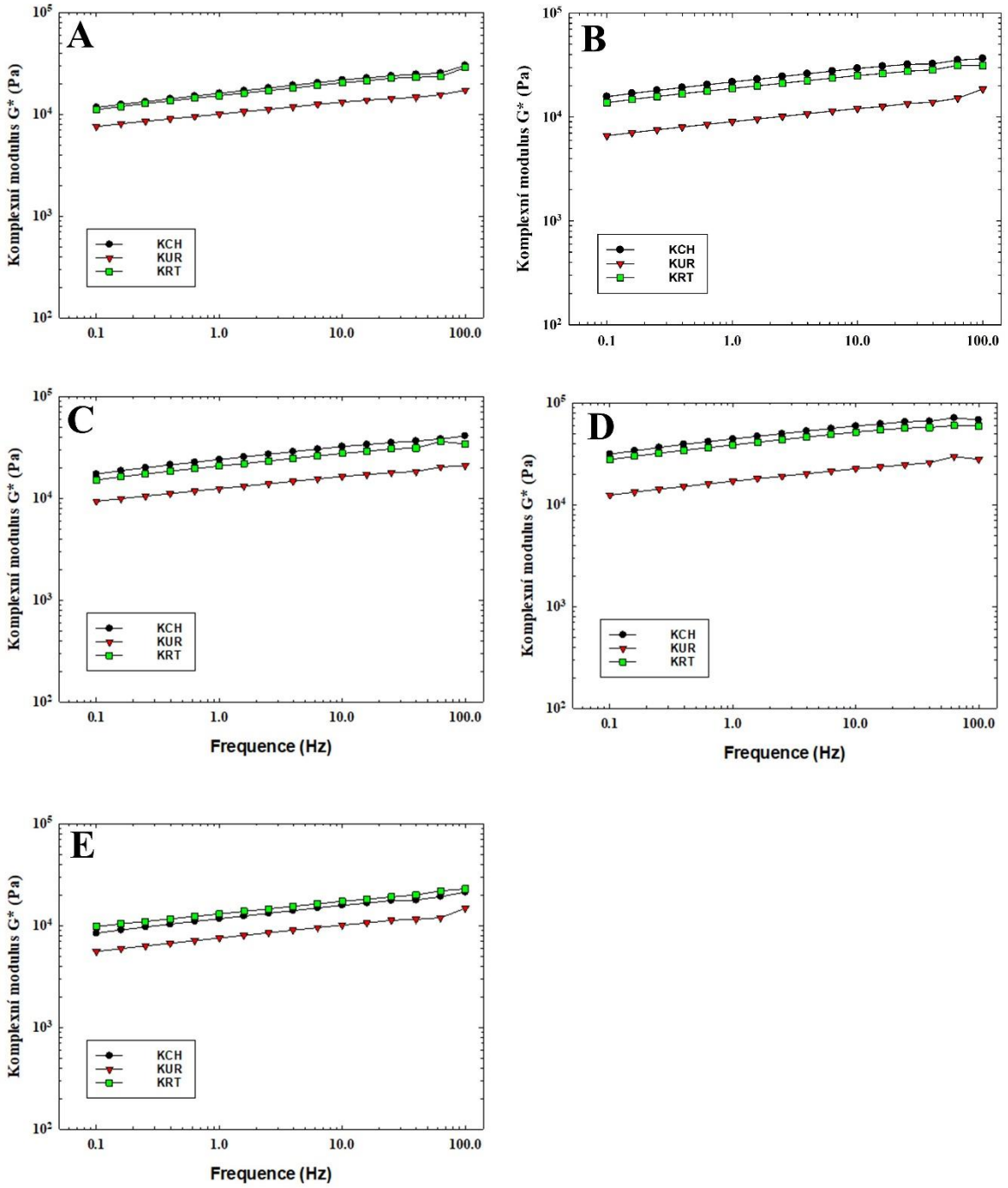
karagenanu v obou testovaných koncentračních hladinách (0,25 % w/w což odpovídá přídavku 3,75 g/100g a 0,50% w/w odpovídá přídavku 7,50g/100g). Ze získaných výsledků lze dále konstatovat, že druh a koncentrace použitého hydrokoloidu měly vliv v závislosti na složení proteinové matrice jednotlivých skupin experimentálních pomazánek, které se lišily druhem použitých jater. Byla zjištěna specifičnost efektu druhu hydrokoloidu ve vztahu k druhu použitých jater. Pomazánky s kachními játry měly vyšší hodnoty tvrdosti s κ-karagenanem. Naproti tomu, pomazánky s krůtími játry vyšší hodnoty tvrdosti dosahovaly s furcellaranem.

Obrázek č. 2, Grafické vyjádření tvrdosti experimentálních pomazánek



Grafké vyjádření závislosti tvrdosti (N) vzorků experimentálních pomazánek s kachními játry (černý sloupec, KCH), kuřecími játry (červený sloupec, KUR) a krůtími játry (zelený sloupec, KRT) vyrobených s furcelaranem (F_0.25; přídavek 3,75 g/100g a F_0.50;přídavek 7,5 g/100g) a κ-karagenanem (KK_0.25; přídavek 3,75 g/100g a KK_0.50; přídavek 7,5 g/100g) a kontrolního vzorku bez přídavku hydrokoloidu (CS)

Obrázek č. 3, Závislost komplexního modulu pružnosti G*



Závislost komplexního modulu pružnosti (G*; Pa) vzorků paštik z kachních jater (černý kruh), kuřecích jater (červený trojúhelník) a krůtích jater (zelený čtverec) vyrobených s furcelaranem (část A a část C; koncentrace 0,25 % a 0,50 % hm.) a κ-karagenanem (část B a D; koncentrace 0,25 % a 0,50 % hm.) na frekvenci (v rozmezí 0,1-100,0 Hz). Byl zařazen také kontrolní vzorek (bez přídavku hydrokoloidu) (část E).

Výše učiněná zjištění korespondují se studií dalších autorů (Polášek et al.,2021). Podle jmenovaných autorů lze nárůst těchto hodnot přičíst možným interakcím mezi molekulami hydrokoloidů a proteinovou matricí. Interakce, jako jsou vodíkové vazby a hydrofobní nebo

kovalentní vazby, mohou hrát roli při podpoře struktury protein-polysacharid (Roque et al.2022).

Jak uvádí Ayadi et al. (2009), další vysvětlení by mohlo zahrnovat vytvoření doplňkové gelové sítě v důsledku přítomnosti polysacharidů. Masové proteiny mohou tvořit kompaktní gelovou síť, ve které karagenan (κ-karagenan) nebo furcellaran zůstávají v diskrétních oblastech, pravděpodobně v intersticiálních prostorech této proteinové sítě. V případě hodnot komplexního modulu pružnosti G* (Pa), lze konstatovat korespondenci se zjištěními a hypotézami dalších autorů (Feng et al., 2024; Lesiow et al., 2017). Dle uvedených autorů přídavek hydrokoloidů podporoval agregaci masových proteinů (Feng et al., 2024). Lesiow et al. (2017) dále v této souvislosti zdůraznil, že při nižších teplotách hrají předem vytvořené proteinové agregáty důležitou roli v následné tvorbě gelu během tepelného ohřevu produktu. Nárůst tvrdosti, pravděpodobně vlivem pokračující tvorby proteinových agregátů, pokračoval v průběhu vychlazování. Podle Feng et al. (2024) to může být pravděpodobně způsobeno pokračujícím vznikem vazeb mezi molekulami bílkovin, což naznačuje, že gelová struktura vzorků experimentálních drůbežích pomazánek se během chlazení dále posilovala.

ZÁVĚR

Cílem této práce, bylo vyrobit experimentální drůbeží pomazánky s různými druhy drůbežích jater, s použitím vedlejších produktů drůbežářského průmyslu ve složení výrobku při zachování jejich charakteristických vlastností. Studie sledovala vybrané fyzikálně-chemické, texturní a reologické vlastnosti modelových vzorků experimentálních drůbežích pomazánek v závislosti na použité surovinové skladbě, použitém druhu a koncentraci hydrokoloidů. Lze konstatovat, že byly vyrobeny pomazánky s poměrně nízkým obsahem tuku, což je v korelaci s aktuálními požadavky spotřebitelů ve smyslu reformulace tradičních játrových pomazánek. U pomazánek s kuřecími játry ve srovnání s pomazánkami s kachními nebo krůtími játry zjištěna nižší míra tvrdosti. Dále byl zjištěn specifický vliv použitého hydrokoloidu (κ-karagenan, furcellaran) ve vztahu k použitému druhu drůbežích jater ve složení experimentální pomazánky. Experimentální pomazánky s kachními játry měly vyšší hodnoty tvrdosti s κ-karagenanem. Naproti tomu s furcellaranem vyšších hodnot tvrdosti dosahovaly experimentální pomazánky s krůtími játry.

POUŽITÁ LITERATURA

1. ABZHANOVA, S. – ZHAKSYLYKOVA, G. – KULAZHANOV, T. – BAYBOLOVA, L. – NABIYEVA, Z. Application of functional ingredients in canned meat

production. *Food Science and Technology* [online]. 2022, 42 [cit. 2025-03-13]. ISSN 1678-457X.

2. AGRAWAL, N. – SINGH, P.K. – JAIRATH, G. – AHMAD, M.F. – RAPOSO, A. – KHANAM, A. – ALARIFI, S. N. – HAN, H. – THAKUR, N. Physico-chemical changes in developed probiotic chicken meat spread fermented with Lactobacillus acidophilus and malted millet flour. *Applied Food Research* [online]. 2024, 4(2) [cit. 2025-03-13]. ISSN 27725022.
3. AYADI, M.A. – KECHAOU, A. – MAKNI, I. – ATTIA, H. Influence of carrageenan addition on turkey meat sausages properties. *Journal of Food Engineering* [online]. 2009, 93(3), 278-283 [cit. 2025-03-13]. ISSN 02608774.
4. BOURNE, M. C. Texture, Viscosity, and Food. In: *Food Texture and Viscosity* [online]. Elsevier, 2002, s. 1-32 [cit. 2025-03-13]. ISBN 9780121190620.
5. BOUYER, E. – MEKHLOUFI, G. – ROSILIO, V. –GROSSIORD, J. L. –AGNELY, F. Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field? *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2012, 436(1-2), 359-378 [cit. 2025-03-13]. ISSN 03785173.
6. CAO, Ch. – YUAN, D. – KONG, B. – CHEN, Q. –HE, J. – LIU, Q.. Effect of different κ-carrageenan incorporation forms on the gel properties and in vitro digestibility of frankfurters. *Food Hydrocolloids* [online]. 2022, 129 [cit. 2025-03-13]. ISSN 0268005X.
7. ÇELEBI, U. – ERGE, A. An approach to produce healthier meat products: effect of k-carrageenan and inulin on quality characteristics of bologna-type chicken sausages. *International Journal of Gastronomy and Food Science* [online]. 2024, 36 [cit. 2025-03-13]. ISSN 1878450X.
8. CIERACH, M. – MODZELEWSKA-KAPITUŁA, M. – SZACIŁO, M. The influence of carrageenan on the properties of low-fat frankfurters. *Meat Science* [online]. 2009, 82(3), 295-299 [cit. 2025-03-13]. ISSN 03091740.
9. DE ARAÚJO, P. D. – ARAÚJO,W.M.C. – Luís PATARATA, L. – FRAQUEZA, M.J. Understanding the main factors that influence consumer quality perception and attitude towards meat and processed meat products. *Meat Science* [online]. 2022, 193 [cit. 2025-03-13]. ISSN 03091740.
10. DELGADO-PANDO, G. –COFRADES, S. –RUIZ-CAPILLAS, C. – TRIKI, M. – JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Low-fat pork liver pâtés enriched with n-3 PUFA/konjac gel: Dynamic rheological properties and technological behaviour during chill storage. *Meat Science* [online]. 2012, 92(1), 44-52 [cit. 2025-03-13]. ISSN 03091740.

11. FENG, Y. –LIANG, X. –ZHANG, J. –KONG, B. - SHI, P. –CAO, Ch. – ZHANG, H. – LIU, Q. –ZHANG, Y. Effects of transglutaminase coupled with κ-carrageenan on the rheological behaviours, gel properties and microstructures of meat batters. *Food Hydrocolloids* [online]. 2024, 146 [cit. 2025-03-13]. ISSN 0268005X.
12. GÓMEZ-GUILLÉN, M.C. – GIMÉNEZ, B. – LÓPEZ-CABALLERO, M.E. – MONTERO, M.P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids* [online]. 2011, 25(8), 1813-1827 [cit. 2025-03-13]. ISSN 0268005X.
13. HASSAN, R. –HENG, L.Y. – TAN, L.L.. Novel DNA Biosensor for Direct Determination of Carrageenan. *Scientific Reports* [online]. 2019, 9(1) [cit. 2025-03-13]. ISSN 2045-2322.
14. HUNG, Y. – DE KOK, T.M. – VERBEKE, W. Consumer attitude and purchase intention towards processed meat products with natural compounds and a reduced level of nitrite. *Meat Science* [online]. 2016, **121**, 119-126 [cit. 2025-03-24]. ISSN 03091740.
15. IMESON, A.P. Carrageenan and furcellaran. In: *Handbook of Hydrocolloids* [online]. Elsevier, 2009, s. 164-185 [cit. 2025-03-24]. ISBN 9781845694142.
16. JRIDI, M. – ABDELHEDI, O. – SOUISSI, N. – KAMMOUN, M. – NASRI, M. – AYADI, M. A. Improvement of the physicochemical, textural and sensory properties of meat sausage by edible cuttlefish gelatin addition. *Food Bioscience* [online]. 2015, **12**, 67-72 [cit. 2025-03-13]. ISSN 22124292.
17. KERRY, J. P. – KERRY, J. F. *Processed meats: improving safety, nutrition and quality*. Cambridge: Woodhead Pub., 2011, p. 34-37. Woodhead Publishing series in food science, technology and nutrition. ISBN 9780857092946
18. KULAWIK, P. – JAMRÓZ, E. – JANIK, M. – TKACZEWSKA, J. – KRZYŚCIAK, P. –SKÓRA, M. – GUZIK, P. – MILOSAVLJEVIĆ, –. – a Wondyfraw TADELE. Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan-furcellaran-gelatin hydrolysate coatings enhanced with bioactive peptides. *Food Control* [online]. 2023, 153 [cit. 2025-03-13]. ISSN 09567135.
19. LESIOW, T. - RENTFROW, G. K. – XIONG, Y. L.. Polyphosphate and myofibrillar protein extract promote transglutaminase-mediated enhancements of rheological and textural properties of PSE pork meat batters. *Meat Science* [online]. 2017, 128, 40-46 [cit. 2025-03-13]. ISSN 03091740.
20. MARANGONI JÚNIOR, L. , VIEIRA, R. P. – JAMRÓZ, . – ANJOS, C. A. R.. Furcellaran: An innovative biopolymer in the production of films and

coatings. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2021, **252** [cit. 2025-03-13]. ISSN 01448617.

21. MOHAN, A. – LONG, J. M. Valorization of wastes and by-products from the meat industry. In: *Valorization of Agri-Food Wastes and By-Products* [online]. Elsevier, 2021, s. 457-474 [cit. 2025-03-13]. ISBN 9780128240441.
22. PATRASCU, L. – DOBRE, I. – ALEXE, P. K-CARRAGEENAN EFFECTS ON TEXTURE CHARACTERISTICS OF MEAT EMULSIFIED SISTEMS. *STUDIA UNIVERSITATIS BABES-BOLYAI CHEMIA* [online]. 2010, 55(3), 75-82 [cit. 2025-03-13]. ISSN 12247154.
23. POLÁŠEK, Z. – SALEK, R.S. – VAŠINA, M. – LYČKOVÁ, A. – GÁL, R. – PACHLOVÁ, V. – BUŇKA, F. The effect of furcellaran or κ-carrageenan addition on the textural, rheological and mechanical vibration damping properties of restructured chicken breast ham. *LWT* [online]. 2021, 138 [cit. 2025-03-13]. ISSN 00236438.
24. ROQUE, A. M. – MONTINOLA, D. – GEONZON, L. – MATSUKAWA, S. – LOBARBIO, C.F.Y. – TABOADA, E. B. – BACABAC, R. G,. Rheological elucidation of the viscoelastic properties and network interaction of mixed high-methoxyl pectin and kappa-carrageenan gels. *Food Hydrocolloids* [online]. 2022, 129 [cit. 2025-03-13]. ISSN 0268005X.
25. SAHA, D. – BHATTACHARYA, S. Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. *Journal of Food Science and Technology* [online]. 2010, 47(6), 587-597 [cit. 2025-03-13]. ISSN 0022-1155.
26. SALURI, M. – KALJUVEE, K.L. – PAALME,T. – REILE, I. – TUVIKENE, R.. Structural variability and rheological properties of furcellaran. *Food Hydrocolloids* [online]. 2021, 111 [cit. 2025-03-13]. ISSN 0268005X.
27. SHAN, L. C. – DE BRÚN, A. – HENCHION, M. – LI, Ch. – MURRIN, C. – WALL, P. G. – MONAHAN, F.J. Consumer evaluations of processed meat products reformulated to be healthier – A conjoint analysis study. *Meat Science* [online]. 2017, 131, 82-89 [cit. 2025-03-13]. ISSN 03091740.
28. SIDDIQUI, S. A. – ALVI, T. – BISWAS, A. – SHITYAKOV, S. – GUSINSKAIA, T. –LAVRENTEV, F. – DUTTA, K. – KHAN, M. K. I. – STEPHEN, J. – et al. Food gels: principles, interaction mechanisms and its microstructure. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 2023, 2023-12-20, 63(33), 12530-12551 [cit. 2025-03-13]. ISSN 1040-8398.

29. TIENSA, B. E. – BARBUT, S. – MARANGONI, A. G. Influence of fat structure on the mechanical properties of commercial pate products. *Food Research International* [online]. 2017, 100, 558-565 [cit. 2025-03-13]. ISSN 09639969.
30. TOLDRÁ, F. M. – ARISTOY, C. – MORA, L. – REIG, M. Innovations in value-addition of edible meat by-products. *Meat Science* [online]. 2012, 92(3), 290-296 [cit. 2025-03-13]. ISSN 03091740.
31. TUVIKENE, R. Carrageenans. In: *Handbook of Hydrocolloids* [online]. Elsevier, 2021, s. 767-804 [cit. 2025-03-13]. ISBN 9780128201046.
32. UDO, T. – MUMMALETI, G. – MOHAN, A. – SINGH, R. K. – KONG, F. Current and emerging applications of carrageenan in the food industry. *Food Research International* [online]. 2023, 173 [cit. 2025-03-13]. ISSN 09639969.
33. VINCOVÁ, A. – ŠANTOVÁ, K. – KŮROVÁ,V. – KRATOCHVÍLOVÁ, A. – HALÁMKOVÁ, V. – SUCHÁNKOVÁ, M. – LORENCOVÁ, E. –SUMCZYNSKI, D. –SALEK, R.S. The Impact of Divergent Algal Hydrocolloids Addition on the Physicochemical, Viscoelastic, Textural, and Organoleptic Properties of Cream Cheese Products. *Foods* [online]. 2023, 12(8) [cit. 2025-03-13]. ISSN 2304-8158.
ZIA, K. M. – TABASUM, S. – NASIF, M. – SULTAN, N. – ASLAM, N. –NOREEN, A. – ZUBER, M. A review on synthesis, properties and applications of natural polymer based carrageenan blends and composites. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2017, 96, 282-301 [cit. 2025-03-13]. ISSN 01418130.

Kontaktní adresa: Šiška Ladislav, Ústav technologie potravin, Fakulta technologická, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Vavrečkova 5669,760 01 Zlín, Česká republika; E-mail: siska@utb.cz

OCHRANA RÝB V PRÁVNYCH PREDPISOCH SLOVENSKEJ REPUBLIKY A EURÓPSKEJ ÚNIE

FISH PROTECTION IN THE SLOVAK REPUBLIC AND EUROPEAN UNION LEGAL RULES

Takáčová Daniela, Nagyová Alena, Sasáková Naďa, Beregszásziová Nicol

Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

The protection of fish as vertebrate animals is governed in Slovakia by various regulations, including the Fisheries Act and the Veterinary Care Act, as well as by the provisions of the implementing regulations of the Slovak Republic. In the European Union, Council Regulation (EC) No. 1005/2008 that establishes a communal framework to prevent, deter, and eradicate illegal, unreported, and unregulated fishing. In February 2023, the European Commission introduced a comprehensive package of measures aimed at enhancing the sustainability and resilience of the fisheries and aquaculture sector. These measures include communications about the operation of the common fisheries policy, the safeguarding of marine ecosystems, the energy transition in the fisheries and aquaculture sector within the EU, and the structuring of the common market.

Key words: acquaculture, fish, fisheries, legislation,

ÚVOD

Rybám, ako živočíšnym stavovcom, je možno menej venovaná pozornosť z pohľadu ich ochrany, keďže v porovnaní so suchozemskými živočíchmi, ich výraz nie je zreteľný a hovorí sa im, že sú nemé tváre. Ich význam sa všeobecne vníma a spája s tým, že ich lovíme a s tým, že ich konzumujeme. Iný predpojatý postoj ľudí voči rybám spočíva v tom, že sú označované ako primitívne, jednoduché, nerozvinuté a necitlivé živočíchy. Nové informácie o rybách, s ohľadom na ich evolúciu, či správanie, nás nútia odpovedať na otázku, či je potrebné ryby chrániť. Otázka, či ryby cítia bolesť, je významná, pretože organizmus, ktorý cíti bolesť, môže trpieť a na druhej strane, má záujem sa bolesti a utrpeniu zároveň vyhýbať.

Zákon o veterinárnej starostlivosti a súvisiace vykonávacie predpisy

V zmysle ustanovení zákona o veterinárnej starostlivosti (§ 22 – ochrana zvierat) je vlastník alebo držiteľ zvieraťa povinný zabezpečiť živočíšnym stavovcom (s výnimkou človeka) ochranu a pohodu (s ohľadom na druh zvieraťa, stupeň jeho vývoja, prispôsobenia sa) tým, že im zaručí dobrý zdravotný stav, fyziologické a etologické potreby, dostatočnú voľnosť pohybu. Zákonom je zakázané týranie zvierat, za ktoré sa o. i. považuje zbavovanie rýb šupín alebo plutiev pri manipulácii so živými rybami alebo vtláčanie očí do očníc a násilné vytláčanie ikier (ods. 2, písm. p) zákona o veterinárnej starostlivosti.

Podmienky usmrcovania rýb musia byť v súlade s § 22 zákona č. 39/2007 Z. z. o veterinárnej starostlivosti v znení neskorších predpisov ako aj s nariadením vlády SR č. 432/2012 Z. z., ktorým sú ustanovené požiadavky na ochranu zvierat počas usmrcovania.

Ryby možno omračovať omračovacím prístrojom využívajúcim elektrický výboj, plynným CO_2, pričom ryby musia byť úplne ponorené do vody, prístrojom na mechanické omráčenie, chladením rýb zaživa pomocou CO, alebo udusením v ľade alebo v ľadovej vode. Pri kúpe živých rýb ŠVPS SR odporúča každému občanovi/kupujúcemu v maximálnej miere využiť možnosť usmrtenia ryby priamo na predajnom mieste (v zázemí predajného miesta) alebo, maximálne minimalizovať dobu, od kedy bola ryba vybratá z vody a daná opäť do vodného prostredia v obydliach kupujúcich. Pri ambulantnom predaji nesmú byť príručné nádrže preplnené. Ryby je potrebné držať vo vhodných nádobách, v ktorých na 1 m^3 vody pripadá najviac 200 kg živých rýb, teplota vody sa má pohybovať v rozmedzí 5°C až 10°C a zabezpečená má byť možnosť dostatočnej výmeny pitnej vody. Veľkú pozornosť treba venovať systému pumpovania čistej vody a odtoku špinavej vody. Ryby možno z vody vyberať len pomocou podberáka. Kvalita vody v zbernej nádrži sa musí pravidelne sledovať. Počas manipulácie s rybami je nevyhnutné minimalizovať čas, ktorý ryby prežívajú mimo nádrže.

Problémom z hľadiska ochrany rýb môže byť ich preprava, keďže tieto živočíchy sú veľmi citlivé a trpia pri nevhodnom zaobchádzaní a nešetrnej preprave v dôsledku stavu vozovky, neprimeraného množstva prepravovaných rýb, nedostatočnej kvality vody alebo hladiny kyslíka počas prepravy, či nedostatočným chladením a reguláciou teploty vzduchu.

Tak ako ostatné živočíšne stavovce, aj ryby sú bytosti, ktoré vnímajú okolité prostredie a sú schopné preciťovať bolesť, strach aj stres.

Pri definovaní bolesti zvierat existujú dve kľúčové kritériá, ktoré musia zvieratá spĺňať, aby boli považované za schopné pociťovať bolesť. Prvým kritériom je, že reakcie zvieraťa na škodlivú, potenciálne bolestivú udalosť sa líšia od reakcií na neškodnú stimuláciu. Druhým kritériom je, že skúsenosť s bolesťou by mala viesť k tomu, že zviera svoje budúce správanie

bude zakladať na tejto negatívnej udalosti (skúsenosti), takže motivácia zvieraťa sa zmení (Sneddon, 2015).

Ryby vykazujú známky bolesti fyzicky aj behaviorálne (správaním). Ukazovateľom úzkosti u rýb je rýchlosť otvárania a zatvárania žiaber. Ryby disponujú špecializovanými nervovými vláknami, ktoré u cicavcov a vtákov slúžia k rozpoznávaniu bolestivých podnetov.

Braithway (2010) a Seddon (2003) skúmali trojklanný nerv a zistili, že obsahuje A-delta a C vlákna. U ľudí a iných cicavcov sú tieto vlákna spojené s dvomi druhmi pocitu bolesti: A-delta vlákna signalizujú ostrú, počiatočnú bolesť pri poranení, kým C vlákna signalizujú tupú, pulzujúcu bolesť, ktorá nasleduje. C vlákna boli u rýb menej zastúpené (4 % v porovnaní s inými stavovcami – 50 – 60 %). A-delta vlákna u rýb sa však správajú rovnako ako C vlákna u cicavcov a reagujú na rôzne bolestivé podnety.

Pri skúmaní bolesti boli rybám (pstruhy) v oblasti *ganglion trigeminale* (zhluk nervových buniek v trojklannom nerve) zavedené mikroelektródy, následne boli v receptorovej oblasti na hlave a v tvárovej oblasti aplikované tri rôzne druhy podnetov: dotyk, teplo a slabý roztok kyseliny octovej. Elektrické signály zaznamenali aktivitu v trojklannom nerve po aplikácii všetkých troch podnetov, čo potvrdilo, že pstruhy reagujú na rôzne druhy potenciálne bolestivých impulzov: mechanické poranenie (rez alebo bodnutie), popálenie, či chemické poškodenie (kyselinou), čo znamená, že ich organizmus vníma bolesť. Chervova a Lapshin (2004) zistili, že nocireceptory (senzorické neuróny, ktoré reagujú na škodlivé alebo potenciálne škodlivé podnety vysielaním signálov „možnej hrozby“ do miechy a mozgu) sa nachádzajú po celom tele pstruhov, tresiek a kaprov. Najviac citlivé sú v okolí očí, nosných otvorov, chvosta, prsných a chrbtových plutiev.

V smernici pre eutanáziu zvierat (2013) uvádzanej Americkou asociáciou veterinárnych lekárov je uvedené: domnienky, že reakcie rýb na bolesť sú iba reflexy, boli vyvrátené štúdiami, ktoré dokázali elektrickú aktivitu v prednom a strednom mozgu v reakcii na stimuláciu. Táto elektrická aktivita sa naviac líši podľa typu stimulácie nocireceptorov. Učenie a upevňovanie pamäti, ku ktorým došlo pri pokusoch, kedy boli ryby vedené k vyhýbaniu sa bolestivým podnetom, potvrdzujú poznávaciu schopnosť a vnímavosť rýb. To znamená, že aj s rybami by sa malo zaobchádzať rovnako ako so suchozemskými stavovcami.

Zákon o rybárstve a súvisiace vykonávacie predpisy

Zákon o rybárstve (zákon č. 219/2018 Z. z. v znení neskorších predpisov) upravuje podmienky ochrany, chovu a lovu rýb a ostatných vodných organizmov tak, aby priamo alebo prostredníctvom ekologických väzieb nedochádzalo k narušeniu vodných ekosystémov a k ohrozeniu genofondu rýb. Týmto predpisom sú upravené aj práva a povinnosti fyzických osôb

a právnických osôb pri využívaní vôd na ochranu, chov a lov rýb, pôsobnosť orgánov štátnej správy na úseku rybárstva, ako aj zodpovednosť za porušenie povinností podľa tohto zákona. Zákon sa nevzťahuje na ochranu, chov a lov rýb vo vodných plochách s výmerou do 25 m^2.

1. Na vykonanie zákona o rybárstve bola prijatá Vyhláška Ministerstva životného prostredia Slovenskej republiky č. 381/2018 Z. z., ktorou sa vykonáva zákon č. 216/2018 Z. z. o rybárstve a o doplnení zákona č. 455/1991 Zb. o živnostenskom podnikaní (živnostenský zákon) v znení neskorších predpisov, ktorá ustanovuje podmienky ochrany rýb, ich lov a chov. Jednotlivé ustanovenia tohto normatívneho právneho aktu definujú kaprové, pstruhové a lipňové vody, požiadavky pre užívateľov, evidenciu a označovanie rybárskeho revíru, zarybňovací plán ako aj úlohy rybárskeho hospodára. V predpise je uvedený čas individuálnej ochrany jednotlivých druhov rýb, ustanovený je denný čas lovu rýb a ich lovná miera. Uvedený je Zoznam pôvodných druhov rýb a mihúľ, inváznych nepôvodných druhov rýb a rýb s dokázateľne negatívnym dopadom na prirodzené ekosystémy. Opatrenia na záchranu rýb počas mimoriadnych udalostí zahŕňajú opatrenia na záchranu rýb, najmä odlov a ich prepravu do inej, vhodnej lokality, opatrenia na navrátenie rýb späť do pôvodného rybárskeho revíru, opatrenia uložené v rozhodnutí príslušného orgánu štátnej správy a zber uhynutých rýb a ich likvidáciu. Vyhláškou o. i. sú upravené aj rôzne spôsoby lovu rýb (na plávanú, na položenú, prívlačou, muškárením, pod ľadom, čereňom).
2. Ďalším vykonávacím predpisom, ktorý bol prijatý k zákonu o rybárstve, je vyhláška č. 383/2018 Z. z. o technických podmienkach návrhu rybovodov a monitoringu migračnej priechodnosti rybníkov. Účelom rybovodu je zabezpečenie migračnej priechodnosti vodnej stavby tvoriacej migračnú bariéru alebo migračnú prekážku pre ryby a ďalšie vodné živočíchy. Technické podmienky návrhu rybovodov musia spĺňať vhodné technické požiadavky a biologické požiadavky na výstavbu rybovodov, keďže sú dôležité pre životný cyklus rýb a ďalších vodných živočíchov.

Európske právne predpisy súvisiace s ochranou rýb

Nariadenie Rady (ES) 1/2005, ktoré nadobudlo účinnosť v roku 2007, je relevantným právnym predpisom EÚ, ktorý sa vzťahuje na „dobré životné podmienky zvierat počas prepravy“, a bolo transponované do vnútroštátnych právnych predpisov v celej Európe. Príručky na prepravu rýb už existujú napr. v Nemecku, Škótsku, Taliansku, a sú výsledkom spoločných dohôd medzi vnútroštátnymi orgánmi a zainteresovanými stranami. V máji 2020 Európska komisia oznámila revíziu vyššie uvedeného nariadenia v rámci stratégie EÚ z farmy na stôl. Z tohto hľadiska chce Federácia európskych výrobcov akvakultúry (FEAP) riešiť

niektoré problémy súvisiace s prepravou niektorých druhov rýb. Pri preprave rýb by sa mali brať do úvahy:

Preprava rýb sa nedá (aspoň čiastočne) porovnať s prepravou suchozemských zvierat;

- Ryby určené na chov patria k rôznym druhom, majú rôzne etologické charakteristiky a rôzne spôsoby prepravy, z toho dôvodu nemôže existovať jeden typ prístupu;
- Poľnohospodári a iní prevádzkovatelia akvakultúry už nadobudli značné skúsenosti v súvislosti s dopravou, dôležité je zvážiť rozvinuté praktické aspekty, ako aj vedecké otázky alebo otázky týkajúce sa správania;
- Musia sa zaručiť vysoké štandardy pre bezpečnosť potravín, bezpečnosť operátorov (preprava na dlhé vzdialenosti), ako aj zdravie rýb (nariadenie o zdraví zvierat) a osobitné delegované nariadenie o požiadavkách na premiestňovanie vodných živočíchov a produktov z nich v EÚ a musia sa zaručiť dobré životné podmienky zvierat.

3. Pre udržateľné riadenie európskych rybárskych flotíl a ochranu populácií rýb bol prijatý súbor pravidiel („spoločná rybárska politika“), ktorý je zameraný na zvýšenie produktivity, stabilizáciu trhov, poskytovanie zdrojov zdravých potravín a na zabezpečenie primeranej ceny pre spotrebiteľov (https://ec.europa.eu/info/departments/maritime-affairs-and-fisheries_en).
4. Balík opatrení v oblasti rybárskej politiky na zlepšenie udržateľnosti a odolnosti odvetvia rybolovu a akvakultúry EÚ obsahuje
   a. oznámenie o fungovaní spoločnej rybárskej politiky
   b. ochrana morských ekosystémov predstavuje úsilie Komisie o dosiahnutie konzistentnejšieho vykonávania environmentálnej politiky EÚ a spoločnej rybárskej politiky s jej tromi piliermi udržateľnosti – environmentálnym, hospodárskym a sociálnym;
   c. energetická transformácia v odvetví rybolovu a akvakultúry EÚ, ktorá súvisí so znižovaním závislosti od fosílnych palív, so zameraním sa na klimaticky neutrálne odvetvie rybolovu a akvakultúry, na základe opatrení na podporu tohto odvetvia pri urýchľovaní jeho energetickej transformácie zlepšením palivovej účinnosti a prechodom na obnoviteľné nízkouhlíkové zdroje energie;
   d. spoločná organizácia trhu, ktorej cieľom je podpora čistejšieho využívania energie, znižovanie závislosti od fosílnych palív a znižovanie vplyvu tohto odvetvia na morské ekosystémy.

5. Komisia predložila v januári 2025 štúdiu s názvom „Rybári budúcnosti“, kde sú uvedené scenáre pre odvetvie rybolovu v EÚ do roku 2050. Pripravené boli štyri scenáre (Directorate-General for Maritime Affairs and Fisheries, 2025):
   a. Zodpovedný rozvoj (rybársky priemysel EÚ sa dobre prispôsobil výzvam a vysokému dopytu po rybách ulovených v EÚ)
   b. Naháňanie sa za klesajúcimi populáciami (zmena klímy, klesajúce populácie, vysoký dopyt po rybách ulovených v EÚ)
   c. Napadnuté trhy (mierna zmena klímy, nízky dopyt po rybách ulovených v EÚ)
   d. Nedostatok a prežitie (nedostatok populácií rýb, nízky dopyt po rybách ulovených v EÚ)

Nariadenia EÚ č. 1380/2013 a 1379/2013 majú zabezpečiť, aby činnosti odvetvia rybolovu a akvakultúry boli dlhodobo environmentálne udržateľné a riadené spôsobom, ktorý je v súlade s cieľmi dosiahnutia hospodárskeho a sociálneho prínosu a prínosu v oblasti zamestnanosti, na základe:

- pozornosti venovanej environmentálnemu, hospodárskemu a sociálnemu rozmeru rybného hospodárstva;
- riadenia populácií rýb na úrovni maximálneho udržateľného výnosu pre všetky populácie, s ktorými sa hospodári;
- riadenia populácií rýb založeného na vedeckých odporúčaniach;
- postupného zavedenia povinnosti vylodiť úlovky (povinnosť bola zavedená v r. 2015 a uplatňuje sa od januára 2019);
- pokračovania v uplatňovaní tzv. viacročných plánov na riadenie rybolovu v rôznych morských oblastiach;
- technických opatrení, ktorými sa má riadiť, ako, kde a kedy môžu rybári loviť;
- decentralizovania rozhodovania (regionalizácia), s cieľom umožniť krajinám EÚ so záujmom o riadenie navrhnúť podrobné opatrenia, ktoré môže Komisia následne prijať ako delegovaný alebo vykonávací akt a transponovať do práva EÚ;
- systému kontroly rybárstva, ktorým sa zabezpečuje dodržiavanie pravidiel SRP vrátane boja proti nezákonnému, nenahlásenému a neregulovanému rybolovu;
- obchodných noriem týkajúcich sa označovania, kvality a vysledovateľnosti;
- stropov kapacity flotily pre jednotlivé krajiny EÚ v kombinácii s povinnosťou krajín EÚ zabezpečiť v priebehu času stabilnú a trvalú rovnováhu medzi rybolovnou kapacitou a rybolovnými možnosťami;

- zásady udržateľnosti, ktorá sa uplatňuje aj na plavidlá EÚ loviace mimo vôd EÚ. Komisii sa udeľuje právomoc rokovať v mene EÚ o dohodách o partnerstve v odvetví udržateľného rybárstva s určitými partnerskými krajinami mimo EÚ a uzatvárať ich;
- udržateľnej akvakultúry prostredníctvom viacročných národných plánov.

ZÁVER

Uznanie, že ryby majú schopnosť vnímať bolesť, podnietilo mnohých jednotlivcov k tomu, aby aj rybám, ako iným živočíchom schopným pociťovať bolesť a utrpenie, bola poskytovaná primeraná ochrana.

V súčasnosti existuje úprava širokej škály tzv. minimálnych štandardov alebo požiadaviek na určitú úroveň životných podmienok zvierat chovaných pre konkrétny účel. Takto stanovené uplatniteľné právne požiadavky nie sú jednotné alebo porovnateľné na celom svete a sú naozaj uvádzané len ako minimálne, z hľadiska objektívneho stavu dobrých životných podmienok zvierat, a preto nemôžu zabezpečiť optimálnu úroveň ich pohody. Nakoľko aj ryby patria medzi živočíchy, ktoré vyžadujú starostlivosť a vhodné podmienky pre chov, je potrebné aj tomuto živočíšnemu druhu poskytovať ochranu a dobré životné podmienky.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AVMA guideliness for the euthanasia of animals (2013) [cit. 31/03/2025] [Dostupné na internete] www.avma.org/KB/Policies/Documents/euthanasia.pdf
2. BRAITHWAIT, V.A. (2010): Do fish feel pain? Oxford University Press.: New York, USA. p. 256 ISBN: 978-0-199-55120-0
3. CHERVOVA, L. S., LAPSHIN, D. N. (2004): Pain sensitivity of fishes and analgesia induced by opioid and nonopioid agents. *Proceedings of the fourth international Irean and Russia Conference* (Moscow State University)
4. NARIADENIE EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (EÚ) 2016/429 z 9. marca 2016 o prenosných chorobách zvierat a o zmene a doplnení a zrušení niektorých zákonov v oblasti zdravia zvierat („nariadenie o zdraví zvierat“); Úradný vestník Európskej únie L 84/1
5. NARIADENIE EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (EÚ) č. 1379/2013 z 11. decembra 2013 o spoločnej organizácii trhov s produktmi rybolovu a akvakultúry,

ktorým sa menia nariadenia Rady (ES) č. 1184/2006 a (ES) č. 1224/2009 a zrušuje nariadenie Rady (ES) č. 104/2000; Úradný vestník Európskej únie L 354/1

6. NARIADENIE EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (EÚ) Č. 1380/2013 z 11. decembra 2013 o spoločnej rybárskej politike, ktorým sa menia nariadenia Rady (ES) č. 1954/2003 a (ES) č. 1224/2009 a zrušujú nariadenia Rady (ES) č. 2371/2002 a (ES) č. 639/2004 a rozhodnutie Rady 2004/585/ES; Úradný vestník Európskej únie L 354/22
7. NARIADENIE RADY (ES) č. 1/2005 z 22. decembra 2004 o ochrane zvierat počas prepravy a s ňou súvisiacich činností a o zmene a doplnení smerníc 64/432/EHS a 93/119/ES a nariadenia (ES) č. 1255/97; Úradný vestník Európskej únie L 003 5.1.2005, s. 1
8. NARIADENIE VLÁDY SLOVENSKEJ REPUBLIKY č. 432/2012 Z. z., ktorým sa ustanovujú požiadavky na ochranu zvierat počas usmrcovania. Zbierka zákonov, čiastka 105/2012
9. SNEDDON, L. U. (2003): The evidence for pain in fish. The use of morphine as an analgesic. *Apl Anim Behav Sci* 83(2):153-162
10. SNEDDON, L. U. (2015): Pain in aquatic animals. *J Exp Biol* 218:967-76
11. SPOLOČNÁ RYBÁRSKA POLITIKA (2023) [cit. 31/03/2025] [Dostupné na internete] https://ec.europa.eu/info/departments/maritime-affairs-and-fisheries_en
12. VYHLÁŠKA MINISTERSTVA ŽIVOTNÉHO PROSTREDIA SLOVENSKEJ REPUBLIKY č. 381/2018 Z. z., ktorou sa vykonáva zákon č. 216/2018 Z. z. o rybárstve a o doplnení zákona č. 455/1991 Zb. o živnostenskom podnikaní (živnostenský zákon) v znení neskorších predpisov. Správne právo; Právna oblasť: Poľovníctvo a rybárstvo
13. VYHLÁŠKA MINISTERSTVA ŽIVOTNÉHO PROSTREDIA SLOVENSKEJ REPUBLIKY č. 383/2018 Z. z. o technických podmienkach návrhu rybovodov a monitoringu migračnej priechodnosti rybovodov. Správne právo; Právna oblasť: Poľovníctvo a rybárstvo
14. ZÁKON O RYBÁRSTVE č. 219/2018 Z. z. v znení neskorších predpisov. Zbierka zákonov, čiastka 60/2002
15. ZÁKON O VETERINÁRNEJ STAROSTLIVOSTI č. 39/2007 Z. z. v znení nesk. predpisov. Zbierka zákonov, čiastka 28/2007

Kontaktná adresa: Takáčová Daniela, Department of Public Veterinary Medicine and Animal Welfare, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: daniela.takacova@uvlf.sk

DODRŽIAVANIE HYGIENICKÉHO DIZAJNU PRI ODVODNENÍ – KLÚČ K BEZPEČNOSTI V MÄSOSPRACUJÚCICH PREVÁDZKACH

THE IMPORTANCE OF HYGIENIC DESIGN IN DRAINAGE SYSTEMS OF MEAT PROCESSING PLANTS

Valo Michal, Svitana Juraj

ACO Stavebné prvky, s.r.o. Fraňa Kráľa 35, 81105 Slovenská republika

ABSTRACT

In food processing environments, especially in meat plants, drainage systems are among the most critical hygiene-sensitive areas. When not designed according to hygienic engineering principles, they can become sources of microbial contamination and operational inefficiencies. ACO hygienic drainage systems follow EHEDG guidelines and offer fully drainable designs, smooth surfaces, and cleanable components. Independent testing confirms these systems significantly improve cleanability, reduce cleaning time and water use, and enhance food safety. Adhering to hygienic design in drainage is no longer optional – it is essential for compliance, risk management, and sustainable operation.

Key words: drainage, meat, hygienic drainage, wastewater

ÚVOD

Odvodňovacie systémy sú v potravinárskych prevádzkach nevyhnutné, ale zároveň predstavujú potenciálne riziko – prirodzené miesto pre rast mikroorganizmov. Ak nie sú navrhnuté v súlade s hygienickými štandardmi, môžu sa stať zdrojom krížovej kontaminácie, zvýšených nákladov na čistenie i ohrozenie kvality finálneho produktu. Vo svetle sprísňujúcich sa hygienických noriem a očakávaní kontrolných orgánov (napr. EFSA, HACCP, IFS) sa pozornosť presúva práve na konštrukčné detaily a dizajn týchto systémov Hygienické odvodnenie sa tak stáva neoddeliteľnou súčasťou komplexného riadenia bezpečnosti potravín.

PREČO JE HYGIENICKÝ DIZAJN DÔLEŽITÝ

ACO navrhuje svoje odvodňovacie systémy s dôsledným rešpektovaním princípov hygienického dizajnu, ktoré odporúča Európska skupina pre hygienické inžinierstvo a dizajn (EHEDG). Tieto zásady sú známe najmä z technologických zariadení prichádzajúcich do priameho kontaktu s potravinami, avšak v posledných rokoch sa čoraz intenzívnejšie uplatňujú aj na architektonické prvky infraštruktúry, akými sú práve žľaby a vpuste. Základom správneho

hygienického návrhu je optimalizácia povrchov a tvarov tak, aby sa zabránilo akumulácii nečistôt a vzniku miest podporujúcich rast mikroorganizmov.

Kľúčové konštrukčné prvky zahŕňajú hladké povrchy, dostatočne veľké vnútorné rádiusy (minimálne 3 mm), elimináciu ostrých hrán, plynulé a hygienicky zvarované spoje bez štrbín, ako aj plne odvodniteľné dno. Tieto charakteristiky prispievajú k tomu, že sa v systéme nezadržiavajú organické zvyšky, čím sa minimalizuje riziko kontaminácie a uľahčuje každodenné čistenie. Zároveň sa tým eliminuje tvorba biofilmu, znižuje sa zápach z kanalizácie a zlepšuje sa celková bezpečnosť pracovného prostredia, vrátane zníženého rizika pošmyknutia na vlhkých plochách.

OVERENÉ VÝSLEDKY Z PRAXE

Účinnosť hygienického dizajnu v praxi potvrdil aj renomovaný Fraunhoferov inštitút IVV v Drážďanoch, ktorý v roku 2016 realizoval štúdiu zameranú na čistiteľnosť rôznych typov žľabov. Výsledky jednoznačne ukázali, že hygienicky navrhnutý žľab ACO je možné kompletne vyčistiť za menej ako osem minút, a to bez potreby ďalších mechanických čistiacich krokov. Počas testovania nezostali v žľabe žiadne zvyškové nečistoty. Naopak, pri tradičných typoch žľabov bez hygienického dizajnu sa čistota systému dosiahnuť nepodarila ani pri rovnakom čase čistenia.

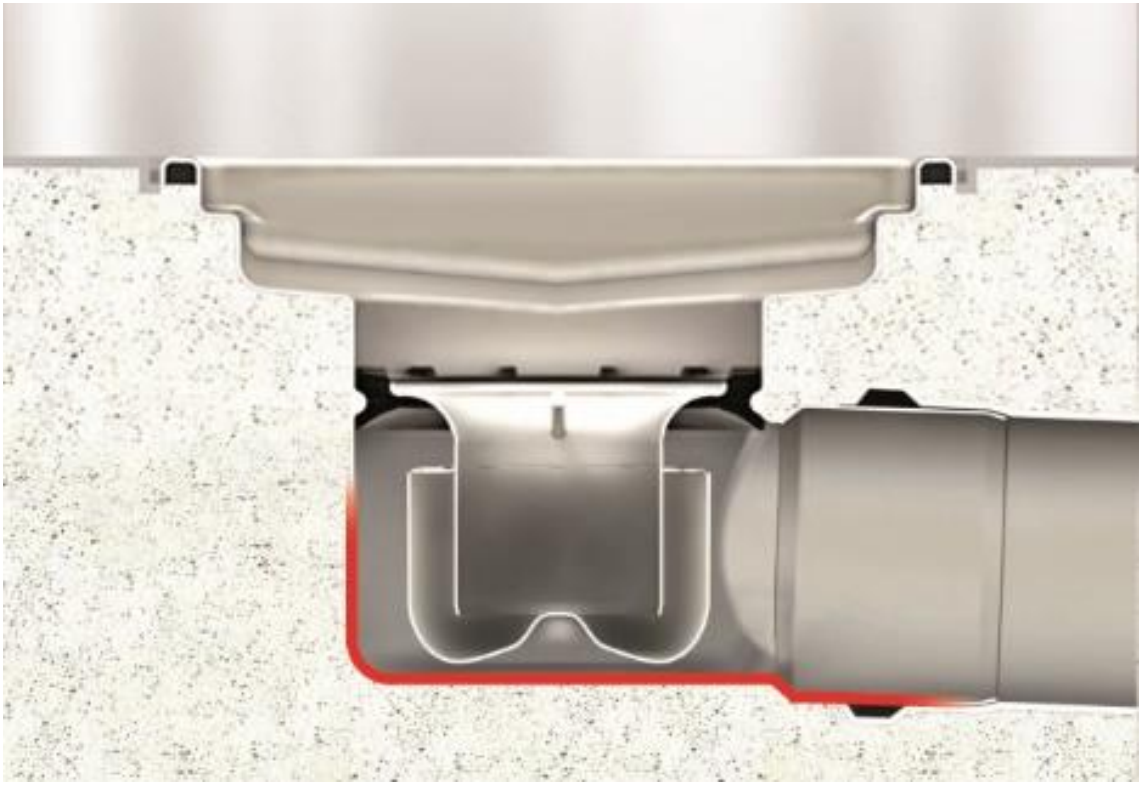
Z praktického hľadiska to znamená zvýšenie hygienickej bezpečnosti prevádzky, zníženie spotreby vody a sanitačných prostriedkov, ako aj zníženie nárokov na pracovnú silu. Prevádzkovatelia tak dosahujú nielen lepšiu efektivitu čistiacich procesov, ale aj pozitívnejšie výsledky pri hygienických auditoch a kontrolách zo strany dozorných orgánov.

VOĽBA ROŠTOV PODĽA NÁROKOV NA HYGIENU

Súčasťou odvodňovacieho systému je aj vhodná voľba roštu, ktorá závisí od úrovne zaťaženia prevádzky a požiadaviek na hygienu. V prevádzkach s nízkym zaťažením, kde sa pohybujú výlučne osoby, možno použiť mriežkové rošty, ktoré však nie sú vhodné tam, kde sa kladie dôraz na maximálnu čistiteľnosť.

V náročnejších prevádzkach, kde dochádza k pohybu manipulačnej techniky a vyššiemu znečisteniu, sa odporúča použiť priečkové rošty alebo rošty z nerezovej liatiny, ktoré lepšie odolávajú zaťaženiu a zároveň sa ľahšie čistia. V prípade vysokých hygienických nárokov sú ideálnym riešením bezrámové rošty alebo plné štrbinové hygienické kryty, ktoré eliminujú riziko zachytávania nečistôt v medzerách medzi rámom a roštom. Všetky typy roštov ACO sú navrhnuté tak, aby spĺňali vysoké požiadavky na protišmykovosť, mechanickú odolnosť a zároveň sa dali jednoducho začleniť do hygienicky optimalizovaného systému.

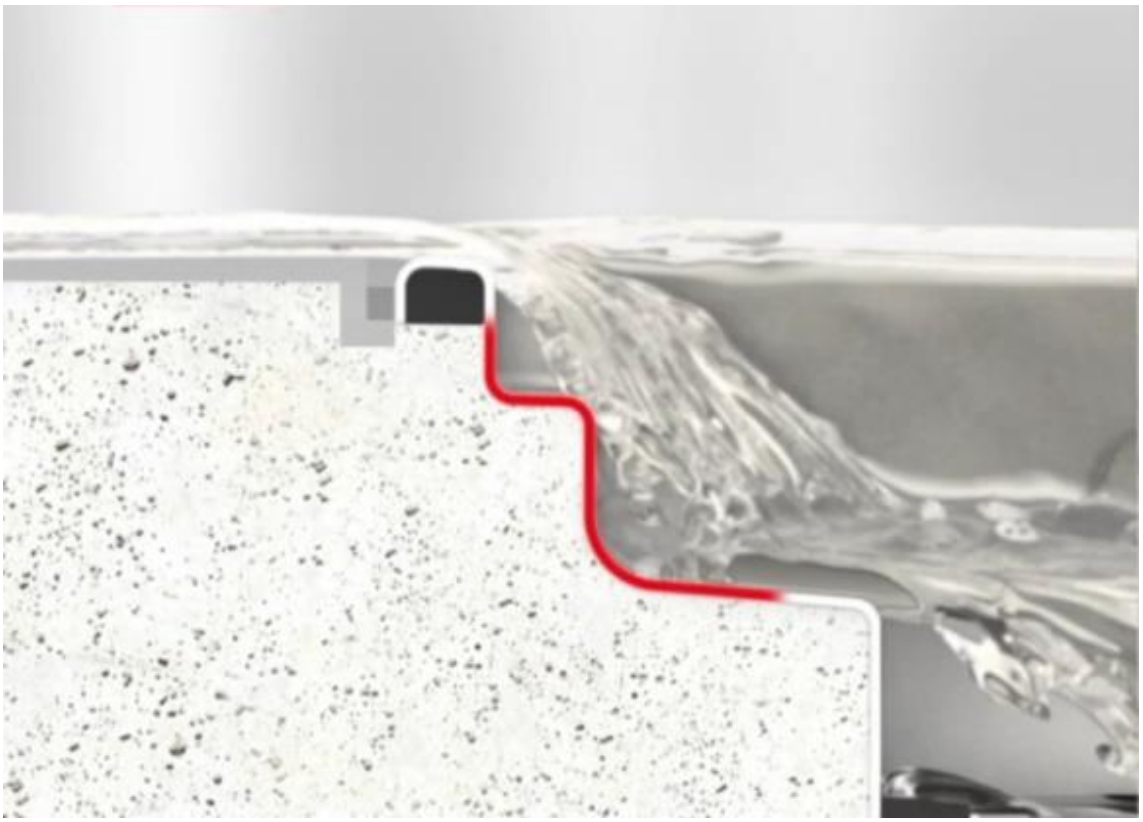
Obrázok č. 1, vpust s horizontálnym odtokom v ktorej nezostáva v spodnej časti žiadna voda.



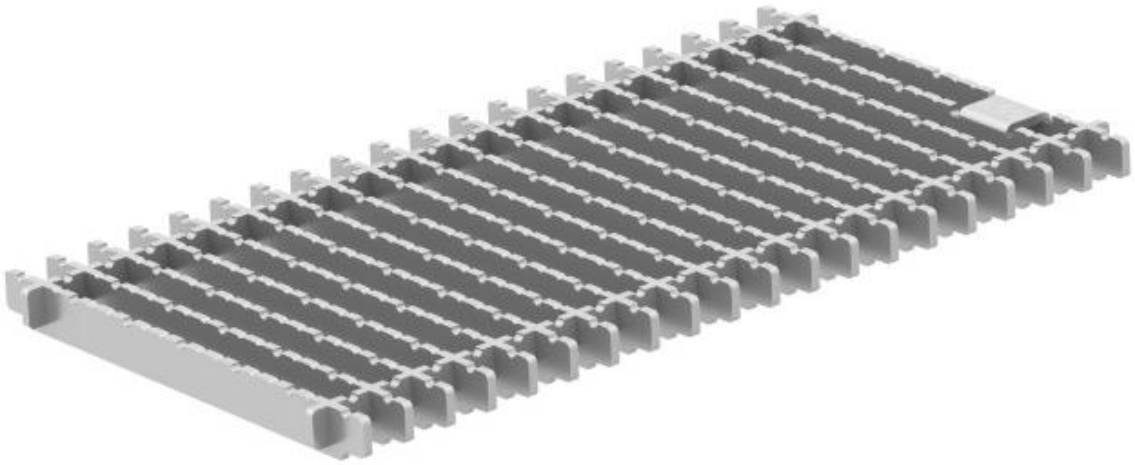
Obrázok č. 2, Výplň okraja vpustu



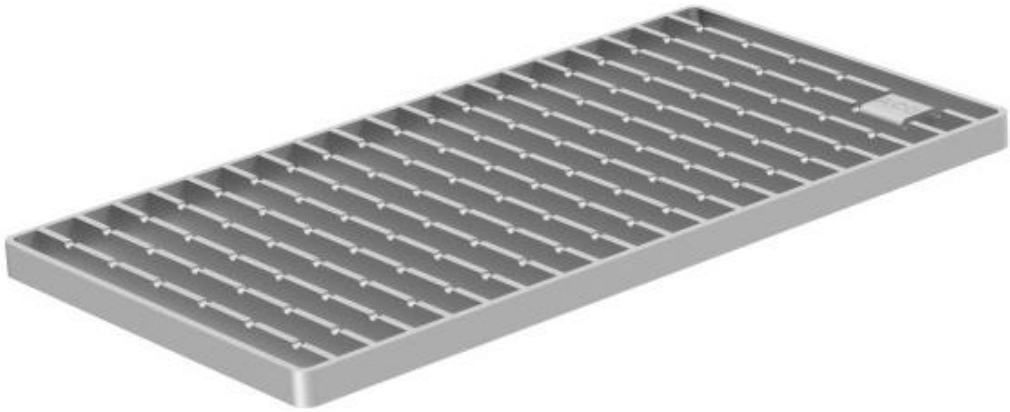
Obrázok č. 3, žiadne ostré hrany, kde by dochádzalo k usadzovaniu nečistôt



Obrázok č. 4, hygienický bezrámový rošt



Obrázok č. 5, hygienický priečkový rošt



MATERIÁL A METODIKA

www.aco.sk, www.hygienefirst.com/cz

ZÁVER

Dodržiavanie princípov hygienického dizajnu pri návrhu odvodnenia je dnes nevyhnutné. Európske normy ako EN 1672-2, EN ISO 14159 a EN 1253 kladú dôraz na to, aby aj odvodňovacie systémy spĺňali rovnaké požiadavky ako potravinárske technológie. Znižuje sa tým riziko kontaminácie, zvyšuje efektivita sanitačných procesov a uľahčuje splnenie noriem a auditov podľa štandardov IFS, BRC alebo HACCP. Hygienické riešenia ACO sú preto nielen technicky efektívne, ale aj investíciou do dlhodobej bezpečnosti a udržateľnosti potravinárskej prevádzky.

Kontaktná adresa:

Ing. Michal Valo, sales manager, mvalo@aco.sk +421 903 435 738 ;

Ing. Juraj Svitana, sales manager, jsvitana@aco.sk , +421 903 425 924;

Jozef Lukáč, sales manager, jlukac@aco.sk , +421 903 435 739;

ACO Stavebné prvky, s.r.o., Fraňa Kráľa 35, 81105 Bratislava, www.aco.sk

AKTIVITY ÚRADU EFSA V SÚVISLOSTI S VÝSKYTOM A ŠÍRENÍM ENTEROBAKTERIÍ PRODUKUJÚCICH KARBAPENEMÁZY V POTRAVINOVOM REŤAZCI

ACTIVITIES OF EFSA IN CONNECTION WITH THE OCCURENCE AND SPREAD OF CABAPENEMASE-PRODUCING ENTEROBACTERALES IN THE FOOD CHAIN

Vanková Petra, Dringušová Gabriela, Lépesová Kristína

Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR, národný Kontaktný bod pre vedeckú a technickú spoluprácu s úradom EFSA, Odbor bezpečnosti potravín a výživy, Dobrovičova 12, 812 66 Bratislava; efsa.focalpoint@land.gov.sk

ABSTRACT

Since the first description of carbapenemase-producing Enterobacterales (CPE) in the food chain in the European Union (EU) in 2011, concerns about their occurrence has grown. Therefore, the European Food Safety Authority (EFSA) initiated a self-task to in order to collect information from EU/EFTA countries reporting data to EFSA for the EU AMR monitoring regarding ongoing or planned studies, investigations and existing contingency plans and/or control measures related to CPE and to review all new data and literature to provide scientific advice on the sources and dissemination pathways of CPE detected in food-producing animals, products derived thereof and the food-producing environment. According to the reporting of the EU/EFTA countries, CPE have been detected in 14 of 30 countries, mostly via the EU and national anitimicrobial resistance (AMR) monitoring programmes.

Keywords: European Food Safety Authority, carbapenemase-producing Enterobacterales, carbapenem resistance, One Health approach.

ÚVOD

Karbapenémy sú širokospektrálne β-laktámové antimikrobiálne látky poslednej voľby používané na liečbu závažných bakteriálnych infekcií u ľudí. Rezistencia na karbapenémy je spôsobená najmä produkciou enzýmov karbapenemáz a považuje sa za vážny problém v oblasti verejného zdravia v EÚ a na celom svete. Infekcie rezistentné na karbapenémy, ktoré sú často spojené so zdravotnou starostlivosťou, sa ťažko liečia a môžu mať zlé výsledky.

V posledných rokoch viaceré štúdie poukazujú na sporadický výskyt baktérií produkujúcich karbapenemázu u zvierat určených na výrobu potravín a v ich prostredí, a to aj v EÚ. Okrem toho údaje z harmonizovaného monitorovania AMR v EÚ nedávno ukázali

prítomnosť baktérií produkujúcich karbapenemázu v niekoľkých sektoroch živočíšnej výroby. Gény karbapenemázy sa často nachádzajú v plazmidoch, transpozónoch, integrónoch, ktoré sú nositeľmi iných AMR génov, ktoré poskytujú rezistenciu voči viacerým skupinám antimikrobiálnych látok, t. j. multirezistenciu. Hoci karbapenémy nie sú (a nikdy neboli) v EÚ povolené na používanie u zvierat určených na produkciu potravín, baktérie produkujúce karbapenemázy, ak sa dostanú do produkčných systémov hospodárskych zvierat, môžu byť zvolené používaním/selektívnym tlakom iných antimikrobiálnych látok, u zvierat aj v životnom prostredí. V súlade s vykonávacím rozhodnutím Komisie (EÚ) 2020/1729, ktoré sa uplatňuje od januára 2021 do decembra 2027, je monitorovanie AMR povinné v prípade *Salmonell*a spp, *Campylobacter coli* a *Campylobacter jejuni* a indikátorovej komenzálnej *Escherichia coli* v hlavných domácich populáciách zvierat určených na výrobu potravín a v mäse z nich získanom. Rutinné monitorovanie indikátorových *E. coli* a *Salmonella* spp., ako aj špecifické monitorovanie *E. coli* produkujúcu širokospektrálne beta-laktamázy (ESBL)/ beta-laktamázy typu AmpC (AmpC)/karbapenemázy v slepých črevách zvierat určených na produkciu potravín a ich mäsových výrobkov je preto teraz povinné. Okrem toho sa v rámci monitorovania *E. coli* stalo v roku 2021 povinným monitorovanie vo vzorkách výkrmových ošípaných a hovädzieho dobytka mladšieho ako jeden rok, ako aj v bravčovom a hovädzom mäse zozbieraných v maloobchode a na hraničných kontrolných staniciach, zatiaľ čo monitorovanie *E. coli* vo vzorkách slepého čreva brojlerov, výkrmových moriek a v čerstvom brojlerovom mäse odobratom v maloobchode a na hraničných kontrolných staniciach sa stalo povinným v roku 2022.

Odkedy boli v Nemecku v rokoch 2011-2012 prvýkrát hlásené CPE (*Salmonella* Infantis produkujúca VIM-1 a *E. coli*), výskyt bol potvrdený v 14 z 30 krajín EÚ/EZVO, konkrétne v Rakúsku, Belgicku, ČR, Nemecku, Grécku , Maďarsku, Taliansku, Nórsku, Holandsku, Portugalsku, Rumunsku, Španielsku, Švédsku a Švajčiarsku. Nárast je možné spojiť aj s nárastom na úrovni testovania.

ZÁVER

Pre lepšie pochopenie toho, ako predchádzať výskytu a šíreniu CPE u zvierat určených na produkciu potravín alebo ho minimalizovať v produktoch z nich získaných a v prostredí, v ktorom sa potraviny produkujú, úrad EFSA prirpavil niekoľko odporúčaní na vyplnenie medzier v poznatkoch zistených v súvislosti so zdrojmi a spôsobmi šírenia: i) zaviesť monitoring v potravinových zdrojoch, ktoré momentálne nespadajú do súčasného monitoringu (napr. produkty akvakultúry, krmivá, nové potraviny – hmyz); ii) vykonať špecifický monitoring väčšej skupiny baketirálnych druhov – najmä enterobaktérie spájané s infekciami

u ľudí ako *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. a *Salmonella enterica*; iii) vykonať spätné vyšetrovanie s cieľom objasniť cesty prenosu u pozitívnych nálezoch v rámci potravinového reťazca (vrátane pracovníkov). Na účinné riešenie príčin šírenia CPE v potravinovom reťazci vo svete je potrebný prístup „One Health“ – Jedno zdravie, ktorý by zahŕňal zdravie ľudí, zvierat a životného prostredia.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Occurrence and spread of carbapenemase-producing Enterobacterales (CPE) in the food chain in the EU/EFTA. Part 1: 2025 update, EFSA Journal. 2025;23:e9336, Dostupné na: https://doi.org/10.2903/j.efsa.2025.9336
2. Vykonávacie rozhodnutie Komisie (EÚ) 2020/1729 o monitorovaní a ohlasovaní antimikrobiálnej rezistencie v prípade zoonotických a komenzálnych baktérií a o zrušení vykonávacieho rozhodnutia Komisie 2013/652/EÚ

Kontaktná adresa: Vanková Petra, Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR, Odbor bezpečnosti potravín a výživy, Dobrovičova 12, 812 66 Bratislava, Slovenská republika; E-mail: efsa.focalpoint@land.gov.sk

VPLYV FERMENTÁCIE KÁVY Z POHĽADU JEJ KVALITY A BEZPEČNOSTI

THE EFFECT OF COFFEE FERMENTATION IN TERMS OF QUALITY AND SAFETY

Várady Matúš [a], Tauchen Jan [b], Jevinová Pavlína [a], Popelka Peter [a]

[a]Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

[b]Katedra kvality a bezpečnosti potravín, Česká zemědelská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 165 00 Praha – Suchdol, Česká republika

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effect of the primary processing method (washed) and inducted processing methods (anaerobic fermentation and carbonic maceration) on the content of bioactive compounds and heavy metals in roasted specialty coffee beans from Guatemala. Processing had a significant effect on the content of chlorogenic acid (CGA), caffeine (CAF) and gallic acid (GLA). The highest CGA content was in GUA-W (53.3 µg/1000 µg), which was significantly different from GUA-AF-H (47.7 µg/1000 µg). The CAF content was highest in GUA-CM (86.4 µg/1000 µg). Antioxidant capacity (AC) and total polyphenol content (TPC) values were not significantly different between coffees. Pb content varied significantly in GUA coffees and was highest in anaerobically fermented coffee (GUA-AF), moreover, we did not detect Cd content in our samples. The importance of monitoring heavy metals should be part of the entry controls for green coffees entering the market, even though further processing of the coffee, such as roasting, significantly reduces their amounts. Coffee beans processed by anaerobic fermentation were able to retain bioactive compounds at high levels and contributed to the antioxidant activity of roasted coffee.

Keywords: specialty coffee, coffee processing, anaerobic fermentation, bioactive compounds

ÚVOD

Kávové nápoje sú jednou z najobľúbenejších komodít, ktoré sa v posledných rokoch konzumujú, a ich antioxidačné vlastnosti zohrávajú dôležitú úlohu v ľudskom zdraví. Spracovanie kávy je jedným z najdôležitejších procesov vedúcich k eliminácii poškodených zŕn a zvýšeniu kvality zŕn vrátane úpravy chuti a vône. S príchodom výberovej kávy na obchodné trhy začali farmári experimentovať s novými metódami jej spracovania. Výberová káva má presne daný rodný list, je známe kedy a kde bola pestovaná, ako a kým bola spracovaná a to ju odlišuje od kávy komoditnej, ktorá je zmesou káv rôznych pôvodov, rôznych zberov či

ročníkov a často aj rôznych typov praženia. Prirodzené metódy počiatočného spracovania výberových káv ako sú prírodná, premývaná a medová nahradili v posledných rokoch nové indukované metódy ako sú anaeróbna fermentácia a karbonická macerácia. Nové metódy pozberového spracovania výberovej kávy zvyšujú jej kvalitu a cenu a zároveň ovplyvňujú zdraviu prospešné či potenciálne zdraviu škodlivé látky (Várady a kol. 2022, 2024). Anaeróbna fermentácia a karbonická macerácia rýchlo menia kávové ovocie, výsledkom čoho je chuť výrazne odlišná od tradičných prirodzených metód fermentácie. Proces anaeróbnej fermentácie začína odstránením dužiny z kávových čerešní, ktoré sa prenesú do uzavretých anaeróbnych nádob, kde prebieha fermentácia. Karbonická macerácia je novší spôsob spracovania kávy, ktorý vedie k fermentácii zahŕňajúcej celé kávové čerešne v anaeróbnom prostredí sýtenom oxidom uhličitým v uzavretej nádobe.

Naším cieľom bolo zistiť vplyv nových metód spracovania ako anaeróbna fermentácia a karbonická macerácia na obsah bioaktívnych látok a ťažkých kovov v káve z Guatemaly.

MATERIÁL A METODIKA

Boli použité vzorky guatemalských kávových zŕn (GUA) 100% *Coffea arabica*. Kávové zrná boli spracované základnými- prírodná (W) a indukovanými- anaeróbna fermentácia (AF) a karbonická macerácia (CM) pozberovými metódami (Várady a kol. 2022).

Pri GUA-W sa zo zŕn úplne odstráni dužina, čím sa odstránia všetky obaly. Potom sa zrná namočia a nechajú kvasiť 12 – 72 hodín, očistia sa od zvyšných plodov a potom sa sušia. Pri anaeróbnej fermentácii (GUA-AF) sa ovocie ručne zbiera, triedi podľa veľkosti a kvality a potom fermentuje 250 hodín v uzavretých nádržiach. Okrem toho, pri metóde AF-H (t. j. GUA-AF-H) sa kávové bobule nechajú v nádrži 12–24 hodín a potom sa odstraňuje dužina a fermentujú v nádržiach 12–24 hodín. Vrstva pergamenu sa okamžite prenesie na podložku na sušenie. Pri metóde CM (GUA-CM) sa sušené kávové bobule umiestnia do vzduchotesných plastových sudov a macerujú sa v prostredí bohatom na CO2. Zozbierané zrelé čerešne sa umyjú a potom rozložia na terase, kde sa sušia na slnku 20–25 dní. Po dokončení tohto procesu sa čerešne utesnia na 24 - 48 hodín v sudoch naplnených vodou s jednosmerným výstupom na vrchu.

Zelená káva sa pražila pri konečnej teplote 204 °C počas 5 minút v dávkach po 50 g na pražičke Ikawa PRO 100 (Ikawa Ltd., Londýn, Spojené kráľovstvo). Ťažké kovy chróm (Cr), kadmium (Cd), meď (Pb) a olovo (Pb) boli identifikované viacprvkovou technikou pomocou hmotnostnej spektrometrie s indukčne viazanou plazmou. Celkový obsah polyfenolov (TPC) sa meral pomocou reakcie s Folin-Ciocalteau fenolovým činidlom. Výsledky boli vyjadrené ako ekvivalenty kyseliny galovej (µg GAE/mg kávy). Antioxidačná kapacita (AC) bola

stanovená pomocou metódy zachytávania radikálov (DPPH). Výsledky sú vyjadrené ako ekvivalenty Troloxu (µg TE/mg kávy). Kofeín (CAF), kyselina chlorogénová (CGA) a kyselina galová (GLA) boli analyzované pomocou HPLC Ultimate 3000 (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA). Výsledky sú vyjadrené ako µg/1000 µg kávy.

Dáta sme analyzovali pomocou GraphPad Prism 10.4.1 (627) 2024 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA) s použitím jednocestnej analýzy variancie (ANOVA) a Tukeyho viacnásobnými porovnávacími post hoc testami ($p < 0,05$).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Účinky rôzneho spracovania káv na obsah bioaktívnych zložiek, ako sú celkové polyfenoly (TPC), celková antioxidačná kapacita (AC), chlorogénová kyselina (CGA), kofeín (CAF) a galová kyselina (GLA) sú uvedené v Tabuľke č. 1. Hodnoty AC a TPC sa významne nelíšili a najnižšie boli pri metóde GUA-AF-H (23,9 µg TE/mg a 35,5 µg GAE/mg).

Obsah celkových polyfenolov (TPC) je vyšší vo fermentovaných ako nefermentovaných kávach (Haile and Kang, 2019). Podobne obsah TPC v prírodnej *C. arabica* uvádzaný z rôznych oblastí (Brazília, Kolumbia, Etiópia a India) sa pohyboval od 29,5 do 43,0 µg GAE/mg, ale obsah tiež závisel od stupňa praženia. Antioxidačná aktivita káv závisí od rovnováhy zlúčenín vytvorených a degradovaných počas praženia (Vignoli a kol. 2014), čo bolo tiež v súlade so súčasnými výsledkami. Spracovanie malo významný vplyv na obsah CGA, CAF a GLA. Najvyšší obsah CGA bol v GUA-W (53,3 µg/1000 µg), čo sa významne líšilo s GUA-AF-H (47,7 µg/1000 µg). Obsah CAF bol najvyšší v GUA-CM (86,4 µg/1000 µg). Svetlo pražené kávy obsahujú viac kofeínu, ktorý sa znižuje s intenzívnejším pražením v dôsledku uvoľňovania kofeínu z bunkových stien pražených zŕn a/alebo ak zrná strácajú hmotnosť v dôsledku degradácie iných organických látok (Hecimovic a kol. 2011). Podobne sa obsah kofeínu podstatne mení v závislosti od pôvodu kávy a spôsobu praženia a prípravy nápoja (Budryn a kol. 2015). Najnižší obsah GLA bol v GUA-AF (1,36 µg/1000 µg), čo sa významne líšilo s GUA-W (1,66 µg/1000 µg). Je jasné, že kávové zrná strávia viac času v kávových plodoch počas anaeróbnej fermentácie a kávové zlúčeniny sú pravdepodobne viac chránené pred degradáciou počas praženia v porovnaní s prirodzene spracovanými zrnami.

Tabuľka č. 1

Vplyv metód spracovania na obsah bioaktívnych látok v praženej káve.Spracovanie	TPC µg GAE/mg	AC µg TE/mg	CGA µg/1000 µg	CAF µg/1000 µg	GLA µg/1000 µg
GUA-W	40,6 ± 7,81	29,4 ± 5,61	53,3 ± 0,98^{c,d}	79,7 ± 0,61 ^{a,b}	1,66 ± 0,047^{d}
GUA-AF	39,5 ± 6,20	30,6 ± 2,39	52,7 ± 0,48^{c}	78,4 ± 3,00^{a}	1,36 ± 0,072^{a}
GUA-CM	37,7 ± 5,88	30,0 ± 4,01	50,4 ± 0,71^{b}	86,4 ± 1,19 ^{d}	1,43 ± 0,015 ^{a,b}
GUA-AF-H	37,5 ± 3,95	23,9 ± 2,47	47,7 ± 0,38^{a}	84,2 ± 0,92 ^{c,d}	1,56 ± 0,020^{c,d}
p	ns	ns	0,001	0,013	0,002

Rôzne písmená v riadku označujú významné rozdiely pri p < 0,05

Obsah Pb sa významne líšil v GUA kávach a bol najvyšší v anaeróbne fermentovanej káve (GUA-AF), čo je znázornené v Tabuľke č. 2. Da Silva a kol. (2017) uviedli vyššie obsahy Pb, s maximálnym obsahom 1,5758 mg/kg. Obsah Cr v našej štúdii bol vo všeobecnosti nízky, ale absolútny obsah prvkov v zrnách sa môže líšiť v dôsledku rôznych stupňov praženia, od svetlej po tmavú (Azam a kol. 2021). Každá káva má špecifické vývojové obdobie (čas vývoja) počas ktorého vznikajú nielen jej senzorické vlastnosti, ale aj jej bioaktívne a aromatické zlúčeniny. Niektorým kávam vo všeobecnosti vyhovuje dlhší čas praženia, takže predpokladáme, že spracovanie hrá dôležitú úlohu v obsahu Cr, pričom obsah Cr v súčasnosti nie je pre kávové produkty legislatívne upravený. V našich vzorkách sme nezistili obsah Cd, pričom Várady a kol. (2021) zistili vyšší obsah Cd (0,15 mg/kg) v kolumbijskej káve spracovanej pomocou anaeróbnej fermentácie. Maximálna povolená hladina Cd v kávových výrobkoch stanovená Európskou úniou je 100 µg/kg. Obsah Cu v pražených kávach sa významne nelíšil a najvyšší bol v anaeróbne fermentovanej káve (GUA-AF).

Tabuľka č. 2

Vplyv metód spracovania na obsah ťažkých kovov (mg/kg) v praženej káve (priemer ± SD, n = 3)

Spracovanie	Cr	Cd	Cu	Pb
GUA-W	0,108 ± 0,046	Nd	11,76 ± 2,320	0,051 ± 0,002 ^{a,b}
GUA-AF	0,190 ± 0,071	Nd	12,10 ± 2,932	0,123 ± 0,053 ^{c}
GUA-CM	0,129 ± 0,021	Nd	11,51 ± 2,123	0,063 ± 0,003 ^{a,b,c}
GUA-AF-H	0,104 ± 0,020	Nd	11,80 ± 2,442	0,049 ± 0,001 ^{a}
p	ns	ns	ns	0,028

Rôzne písmená v riadku označujú významné rozdiely pri p < 0,05

ZÁVER

Výsledky predloženej štúdie viedli k záveru, že spôsob spracovania kávy môže ovplyvniť obsah ťažkých kovov a bioaktívnych zlúčenín vo výberovej káve. Štúdia tiež zistila, že zrná kávy spracované anaeróbnou fermentáciou boli schopné zachovať bioaktívne zlúčeniny na vysokej úrovni a prispeli k antioxidačnej aktivite praženej kávy. Pražená fermentovaná káva však mala vyšší obsah ťažkých kovov ako prirodzene fermentovaná káva. Preto je dôležité monitorovania ťažkých kovov v rámci vstupných kontrol, keď káva spracovaná novými metódami vstupuje na trh. Nové metódy fermentácie môžu pravdepodobne pomôcť zlepšiť väčšinu kvalitatívnych parametrov, ale je potrebné ďalšie štúdium, aby sme pochopili vplyv fermentácie na výberové kávy z rôznych oblastí a na ďalšie kvalitatívne a senzorické parametre.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená vedeckou grantovou agentúrou Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu SR a Slovenskej akadémie vied (VEGA 1/0038/25) a prostriedkami z Early Stage Grants for Researchers (UVLF 09I03-03-V05-00017, IGA-ESGV/01/2024: „Nové metódy pozberového spracovania výberovej kávy – výhody a potenciálne riziká“).

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Azam, K. et al. Evaluation of the impact of activated carbon-based filtration system on the concentration of aflatoxins and selected heavy metals in roasted coffee. In *Food Control*. ISSN 0956-7135, 2021, vol. 121, 107583.
2. Budryn, G. - Nebesny, E. - Oracz, J. Correlation between the stability of chlorogenic acids, antioxidant activity and acrylamide content in coffee beans roasted in different conditions. In *International Journal of Food Properties*. ISSN 1532-2386, vol. 18, pp. 290–302
3. da Silva, A., et al. Determination of heavy metals in the roasted and ground coffee beans and brew. In *African Journal of Agricultural Research.* ISSN 1991-637X, 2017, vol.12 , no. 4 pp. 221–228.
4. Haile, M. - Kang, W.H.. Antioxidant activity, total polyphenol, flavonoid and tannin contents of fermented green coffee beans with selected yeasts. In *Fermentation*. ISSN 2311-5637, 2019, vol. 5, p. 29.
5. Hecimovic, I. et al. Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. In *Food Chemistry*. ISSN 0308-8146, 2011, vol. 129, 991-1000.

6. Várady, M. et al. Effect of method of processing specialty coffee beans (natural, washed, honey, fermentation, maceration) on bioactive and volatile compounds. In *LWT - Food Science and Technology*. ISSN 1096-1127, 2022, vol. 172, p. 114245.
7. Várady, M. - Boržíková, J. - Popelka, P. Effect of processing method (natural, washed, honey, fermentation, maceration) on the availability of heavy metals in specialty coffee. In *Heliyon*. ISSN 2405-8440, 2024, vol. 10(3), p. e25563.
8. Várady, M. et al. Heavy-metal contents and the impact of roasting on polyphenols, caffeine, and acrylamide in specialty coffee beans. In *Foods*. ISSN 2304-8158, 2021, vol. 10, no. 6, art. no. 1310, p. 1-14.
9. Vignoli, J. et al. Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of Arabica and Robusta coffees. In *Food Research International*. ISSN 1873-7145, vol. 61, pp. 279-285.

Kontaktná adresa: Várady Matúš, Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika. E-mail: matus.varady@uvlf.sk

ZHODNOTENIE SANITAČNÝCH OPATRENÍ Z HĽADISKA OCHRANY ZDRAVIA KONZUMENTA

EVALUATION OF SANITATION MEASURES FROM THE PERSPECTIVE OF CONSUMER HEALTH PROTECTION

Vargová Mária[1], Veszelits Laktičová Katarína[1], Sasáková Naďa[1], Zigo František[2], Farkašová Zuzana[2], Lacková Zuzana[2], Výrostková Jana[3]

[1]Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice;

[2]Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, Košice;

[3]Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice

ABSTRACT

Consumer health protection is the priority of every company providing quality products, as well as EU and state organizations overseeing good production practices and compliance with the HACCP system. If there is a failure at some point, the health of the consumer is at risk, namely the emergence of food-borne diseases of varying intensity depending on the type of the dominant pathogen as well as the infectious dose. This work dealt with the control of microbial load of evaluated surfaces and disinfectant used in the operation in terms of their effectiveness. Disinfectant P3-topactive DES based on active ingredient peracetic acid / hydrogen peroxide in 2 % concentration during exposure time 15 minutes was applied by spray. Occurrence of total count of bacteria, coliform bacteria and microscopic fungi was monitor by microbiological swabs (n = 23) which were taken from monitored surfaces. From the obtained results, it is clear that the disinfection provided by evaluated disinfectant was effective in all monitored groups of microorganisms ($P < 0,001$). If proper hygiene practices are not followed, food can become contaminated either during its initial handling or at later stages, which may endanger consumer health.

Kľúčové slová: sanitácia, zdravie konzumenta, hygiena, dezinfekčné prostriedky

ÚVOD

Pre konzumenta je prioritou zdravotná neškodnosť a kvalita potravín, ktorá sa dá docieliť dodržiavaním správnej výrobnej praxe a taktiež výberom hygienicky vhodných vstupných surovín. V dôsledku nedostatočných sanitačných opatrení a ich kontrole je

konzument vystavený riziku poškodenia zdravotného stavu. Potravinový kódex Slovenskej republiky určuje požiadavky na bezpečnosť, technologické postupy, spôsob spracovania vyrábaných potravín a ich kvalitu (Hudecová a kol., 2011). Medzi zdroje vyvolávajúce nárast patogénov patrí vzduch, voda, povrchy pracovných liniek a samotný zamestnanci prevádzky. Znehodnotenie suroviny resp. potraviny môže nastať primárne alebo sekundárne. Pod primárnou kontamináciou sa rozumie nespôsobilosť suroviny ešte pred začatím jej spracovania. Sekundárne znečistené produkty sú produkty kontaminované počas ich spracovania (Breidenstein a kol., 1994).

Všetky prevádzky musia mať vypracovaný sanitačný plán, zavedený HACCP plán (Hazard Analysis and Critical Control Point) a dokumentáciu definujúcu prevádzku a jej výkony. HACCP je preventívny kontrolný systém, ktorého cieľom je zabezpečiť bezpečnosť potravín. Systém HACCP bol implementovaný do legislatívy EÚ a stal sa celosvetovým štandardom a možno ho efektívne využívať vo všetkých stupňoch výroby v potravinovom reťazci. Je dokumentovateľný a overiteľný, využívaný k realizácii sledovacieho systému vo výrobných procesoch. Tento systém je rozpoznateľný, zabezpečuje jeho aplikáciu celosvetovo v potravinárskom priemysle, rovnako aj v iných sektoroch pri vstupoch a výstupoch. Navyše dovoľuje označenie a analýzu rizík spojených s odlišnými stavmi výrobného procesu potravín, definovanie prostriedkov potrebných pre kontrolu týchto rizík a garanciu, že tieto prostriedky budú efektívne aplikované (Court, 1998).

Vargová a kol. (2022) definujú sanitáciu ako opatrenie, ktorým vieme dosiahnuť zdravotnú neškodnosť, najvyššiu kvalitu výrobkov, predĺžiť trvanlivosť výrobkov a znížiť straty pri spracovaní a preprave. Z hľadiska mikrobiológie je sanitácia definovaná ako čistiaci a dezinfekčný proces, ktorý zabezpečuje zníženie počtu vegetatívnych baktérií o 99,0 – 99,9 %. Sanitáciu možno tiež definovať ako aplikovanú vedu, ktorá zahŕňa údržbu, vývoj, obnovu potravinárskych prevádzok a taktiež zlepšenie hygienických podmienok (Kunová, Lopašovský, 2015). Sanitácia pozostáva z mechanického čistenia, dezinfekcie, dezinsekcie a deratizácie (Small, 2006). Neustále vylepšovanie sanitačných podmienok prispieva ku zvýšenej kvalite a predĺženej dobe trvanlivosti (Marriott, Robertson, 1997). Na dosiahnutie správnej úrovne sanitácie je potrebné dodržiavať stanovené regulácie.

Cieľom práce bolo vyhodnotiť účinnosť dezinfekčného prípravku P3-topactive DES pomocou mikrobiologických sterov so záchytom koliformných baktérií, celkového počtu mikroorganizmov a mikroskopických húb nachádzajúcich sa na sledovaných povrchoch a na základe získaných výsledkov posúdiť úroveň hygieny v sledovanej prevádzke.

MATERIÁL A METÓDY

Dezinfekčný prípravok P3-topactive DES na báze kyseliny peroctovej < 0,1 % a peroxidu vodíka > = 0,25 - < 0,5 % bol použitý v 2 % koncentrácii s časovou expozíciou 15 minút, aplikovaný striekaním na sledované povrchy v mliekarenskej prevádzke. Je to kyslý, tekutý dezinfekčný prostriedok s penivým účinkom, vhodný na dezinfekciu hliníka, nehrdzavejúcej ocele, polyetylénu, polypropylénu a polyvinylchloridu. Na stanovenie celkového počtu mikroorganizmov (CPM), koliformných baktérií (KB) a mikroskopických húb (MH) bola použitá sterová metóda podľa platných ISO noriem. Odber mikrobiologických sterov bol vykonaný v sledovanej prevádzke pred dezinfekciou a po dezinfekcii pomocou sterilných tampónov z plochy 10 cm^2 z povrchov: podlaha, stena, stôl, vozík, dvere. Ster bol následne prenesený do 10 ml sterilného fyziologického roztoku, suspenzia bola naočkovaná na živné agary v množstve 0,1 ml a platne boli inkubované v termostate. Pre stanovenie CPM bol použitý mäsopeptonový agar (MPA), počas 24 hodinovej kultivácie pri 37 ºC. Na stanovenie KB bol použitý Endo agar (EA) počas 24 hodinovej kultivácie pri 37 ºC. Stanovenie MH bolo založené na počítaní kolónii tvoriacich jednotiek (KTJ) po kultivácii na Sabouraudovom agare (SA) počas 3 – 5 dní pri izbovej teplote.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výskyt sledovaných povrchových mikroorganizmov v hodnotenej prevádzke pred dezinfekciou a po dezinfekcii je uvedený v tabuľke č. 1 a 2.

Z analýzy výskytu CPM, KB a MH pred dezinfekciou a po dezinfekcii vyplýva, že po dezinfekcii došlo k štatisticky významnému poklesu ($P < 0,001$) sledovaných mikroorganizmov na monitorovaných povrchoch, čo poukazuje na dostatočnú hygienickú účinnosť použitého dezinfekčného prípravku P3-topactive DES z pohľadu koncentrácie a expozičnej doby.

Zabezpečenie hygieny prostredia je jedným z kľúčových aspektov pri výrobe zdravotne bezpečných potravín (Štefkovičová, 2012). Najpresnejším ukazovateľom úrovne hygieny a účinnosti sanitácie v potravinárskych zariadeniach je prítomnosť mikrobiálnej kontaminácie. Tá poskytuje spätnú väzbu o efektivite aplikovaných dezinfekčných prípravkov a mechanického čistenia, ktoré významne prispieva k úspešnosti celého sanitárneho procesu.

Na základe výsledkov sa následne môžu prijať opatrenia na zlepšenie hygienických podmienok. Pravidelné čistenie výrobných priestorov a technologických zariadení je zásadným krokom hygienickej praxe, ktorý má priamy dopad na výslednú účinnosť dezinfekcie (Kottferová a kol., 2005). Dezinfekcia, ktorej cieľom je redukovať počet mikroorganizmov na úroveň, ktorá nepredstavuje riziko pre bezpečnosť potravín, tvorí neoddeliteľnú súčasť technologických operácií v potravinárskych prevádzkach.

Tabuľka č. 1: Priemerné počty mikroorganizmov pred dezinfekciou

miesto odberu	KTJ [log10]		
	Ø CPM	**Ø MH**	**Ø KB**
vozík	2,3	0,48	2,3
podlaha	6,04	1,06	3,81
stôl	2,6	0,25	2,3
stena	3,85	0,13	2,85
dvere	3,52	0,86	0

CPM – celkový počet mikroorganizmov, KB – koliformné baktérie, MH – mikroskopické huby, KTJ – kolónie tvoriace jednotky

Tabuľka č. 2: Priemerné počty mikroorganizmov po dezinfekcii

miesto odberu	KTJ [log10]		
	Ø CPM	**Ø MH**	**Ø KB**
vozík	0	0	0
podlaha	0,48	0,56	0,30
stôl	0	0	0
stena	0	0	0
dvere	0,23	0	0

CPM – celkový počet mikroorganizmov, KB – koliformné baktérie, MH – mikroskopické huby, KTJ – kolónie tvoriace jednotky

ZÁVER

Uplatňovanie sanitačných opatrení je v súčasnosti mimoriadne dôležité, keďže ich nedodržiavanie predstavuje vážnu hrozbu z pohľadu ochrany zdravia konzumenta. Sanitácia je preto základným pilierom správnej výrobnej praxe, systémov HACCP a štandardov potravinovej bezpečnosti. Kontrola účinnosti dezinfekcie zohráva kľúčovú úlohu pri overovaní efektivity dezinfekčných prípravkov a sanitačných postupov (Vargová a kol., 2020). Analýza výskytu sledovaných mikroorganizmov po dezinfekcii preukázala ich významný pokles, čo potvrdzuje účinnosť dezinfekčného prípravku a zabezpečuje dostatočnú hygienickú bezpečnosť v sledovanej prevádzke.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-22-0457 a projektom VEGA č. 1-0162-23.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Breidenstein, B. C., Kauffman, R. G.: Muscle foods. 1st ed. Springer UD, 1994; 573 p. ISBN 978-1-4757-5935-8.
2. Court, F.: Hazard analysis and critical control point principles and application guidelines. In Journal of food protection. 1998; vol. 61, no. 6, 762-775.
3. Hudecová, D., Šimkovič, M. Mikrobiológia. Bratislava: Nakladateľstvo STU, 2011. 200 s. ISBN 978-80-227-3600-8.
4. ISO Standard 18593-2004: Microbiology of food and animal feeding stuffs: Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates.
5. ISO Standard 21527-2008: Microbiology of food and animal feeding stuffs: Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds.
6. ISO Standard 4832-2006: Microbiology of food and animal feeding stuffs: Horizontal method or the enumeration of coliforms.
7. Kottferová, J.: Zborník Hygiena Alimentorum XXVI: Kontrola účinnosti sanitácie v mäsospracujúcej prevádzke. 2005; Štrbské Pleso, 234-236.
8. Kunová, S., Lopašovský, Ľ.: Hygiena a sanitácia vo vinárstve. Nitra: SPU 2015. ISBN 978-80-5521-384-2.
9. Marriott, N.G., Boling, J.W., Bishop, J.R., Hackney, C.R.: 1997. Quality assurance manual for the food industry. Virginia Cooperative Extension, Virginia Polytechnic Institute & State University, Blacksburg. Publication no. 458-013.
10. Small, A.: Water quality and sanitation in the food industry. 2006. Dostupné na internete: https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20063117050.
11. Štefkovičová, M.: Dezinfekcia a sterilizácia - teória a prax. Žilina: Vrana, 2012.
12. Vargová, M., Veszelits Laktičová, K., Sasáková, N., Gregová, G., Hromada, R., Szabóová, T.: Hygiena zdravotníckych a farmaceutických zariadení. Košice, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach. 2022; 193 s. ISBN 978–80–8077–754–8.

Kontaktná adresa: doc. MVDr. Mária Vargová, PhD., Department of Public Veterinary Medicine and Animal Welfare, University of veterinary medicine and pharmacy in Košice, Komenského 73, 04181 Košice, Slovak republic; E-mail: Maria.Vargova@uvlf.sk

MIKROBIOLOGICKÁ KVALITA MLETÉHO MASA A MASNÝCH POLOTOVARŮ

MICROBIOLOGICAL QUALITY OF MINCED MEAT AND MEAT PREPARATIONS

Veselá Helena, Dušková Marta, Kameník Josef, Svobodová Hana, Ondruchová Simona, Ježek František

Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Veterinární univerzita Brno, Palackého třída, 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika

ABSTRACT

Minced meat and meat preparations belong to microbiologically high-risk food products with a short shelf life. The aim of this study was to evaluate the microbiological quality of selected samples of minced meat and meat preparations available in the retail in the Czech Republic. A total of 24 samples (12 minced meats and 12 meat preparations) were tested for the presence of the following microorganisms: total viable count (TVC), *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., and *Listeria monocytogenes*. The results showed that not all samples met the requirements of Regulation (EC) No. 2073/2005. A statistically significant difference in TVC values was observed between the two groups ($P < 0.05$), with higher microbial loads found in meat preparations, which is likely related to the higher permitted storage temperature. *E. coli* was most frequently detected in chicken meat, while pork and mixed products showed minimal occurrence. *Salmonella* Enteritidis was confirmed in one sample of chicken minced meat, and *L. monocytogenes* was detected in one pork minced meat sample and one beef-based meat preparation. The findings highlight the importance of strict hygiene standards and continuous microbiological monitoring for these high-risk products.

Key words: total viable count, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *food safety*

ÚVOD

Mleté maso a masné polotovary se řadí mezi *convenience* potraviny, jejichž obliba stále roste. Podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 je mleté maso definováno jako vykostěné maso, které bylo rozmělněno a obsahuje méně než 1 % soli. Masnými polotovary se rozumí čerstvé maso, včetně rozmělněného masa, ke kterému byly přidány potraviny, koření nebo přídavné látky anebo které bylo podrobeno ošetření, jež nestačí ke změně vnitřní struktury svalových vláken masa, a tím i k vymizení vlastností čerstvého masa.

Surovina pro výrobu mletého masa i masných polotovarů musí splňovat požadavky na čerstvé maso. V tržní síti České republiky je v současnosti dostupné mleté maso s podmínkou skladování do 2 °C a masné polotovary, u kterých teplota skladování nesmí překročit 4 °C (Nařízení, 2004). Aktuálně je připravena novela vyhlášky č. 69/2016 Sb., podle které se balené mleté maso při prodeji spotřebiteli může v maloobchodě uchovávat při vnitřní teplotě nejvýše do + 4 °C. Novela by měla vejít v platnost od 1. 1. 2026.

Mleté maso je z mikrobiálního pohledu považováno za vysoce rizikovou potravinu. Příčina kažení syrového masa souvisí s nežádoucím růstem mikroorganismů v mase během skladování. Druh a počet mikroorganismů závisí na počáteční kontaminaci masa a konkrétních podmínkách skladování, které mohou ovlivnit vývoj různé mikrobioty spojené s kažením, a tím i ovlivnit typ a rychlost procesu kažení. Díky vlastnostem mletého masa je nástup kažení poměrně rychlý, což souvisí s krátkou dobou údržnosti (Xu et al., 2023). Mikrobiologické vyšetření potravin je jedním z nejdůležitějších kontrolních mechanismů při jejich výrobě a uvádění do oběhu. Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 určuje mikrobiologické požadavky pro mleté maso a masné polotovary. U mletého masa jsou sledovány jako indikátorové mikroorganismy v rámci kritérií hygieny výrobního procesu celkový počet mikroorganismů (CPM) a počet *E. coli*. U masných polotovarů je to počet *E. coli*. V rámci kritérií bezpečnosti potravin se sleduje přítomnost *Salmonella* spp. a *Listeria monocytogenes* v obou typech produktů (Nařízení, 2005). Nejčastěji izolovanými patogeny z mletého masa a masných polotovarů jsou různé patotypy *E. coli* nebo salmonely (Kalaba et al., 2021). Mleté maso je spojeno také s výskytem *L. monocytogenes* (Radwan et al., 2022). Cílem této studie bylo ve vybraných vzorcích mletého masa a masných polotovarů stanovit následující mikroorganismy: CPM (celkový počet mikroorganismů), *E. coli*, *Salmonella* spp. a *L. monocytogenes*, zhodnotit jejich mikrobiologickou kvalitu a srovnat skupinu mletého masa masných polotovarů.

MATERIÁL A METODIKA

K mikrobiologickému vyšetření byly zakoupeny různé druhy mletého masa a masných polotovarů. Jednalo se o výrobky běžně dostupné v tržní síti České republiky. Vzorky byly uchovávány dle platné legislativy (Nařízení, 2004). Celkem bylo analyzováno 12 vzorků mletého masa a 12 vzorků masných polotovarů v posledním dnu spotřeby. V každé skupině byl zastoupený stejný podíl různých druhů masa. Konkrétně šlo o maso drůbeží (n = 3), vepřové (n = 3), hovězí (n = 3) a mix vepřového a hovězího (n = 3). V každém vzorku byly stanoveny následující skupiny mikroorganismů: CPM, *E. coli*, *Salmonella* spp. a *L. monocytogenes*. Kultivace a vyhodnocení byly prováděny dle platných ISO norem (ČSN ISO 72541, 2006; ČSN EN ISO 4833-1, 2014; ČSN EN ISO 11290-1, 2017; ČSN EN ISO 6579-1, 2020). Statistické

zpracování dat bylo provedeno pomocí dvouvýběrového t-testu (Microsoft Excel, 2019). Statistické hodnocení bylo prováděno při 5% hladině významnosti. Rozdíly byly považovány za statisticky významné, pokud bylo $P < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Výsledky mikrobiologických analýz vzorků mletého masa a masných polotovarů jsou uvedeny v tabulce č. 1. Z tab. č. 1 vyplývá, že 3 vzorky mletého masa překročily limit 5,7 log KTJ/g, z toho 2 vzorky hovězího mletého masa překročily limit 6,7 log KTJ/g (Nařízení, 2005). Nejnižší průměrné hodnoty CPM (4 log KTJ/g) byly stanoveny u vepřového masa a mixu vepřového a hovězího. Jelikož se jedná o hodnoty stanovené k poslednímu dnu spotřeby, jedná se z mikrobiologického hlediska o kvalitní výrobky. Nejvyšší průměrné hodnoty CPM byly zjištěny ve vzorcích hovězích mletých mas (6,05 log KTJ/g) a u polotovarů vyrobených z vepřového masa (6,88 log KTJ/g). Statisticky významný rozdíl (P <0,05) byl prokázán v hodnotách CPM mezi skupinami vzorků mletých mas a masných polotovarů, což podporuje předpoklad, že vyšší přípustná teplota skladování negativně ovlivňuje mikrobiální zatížení masných polotovarů.

Celkový počet mikroorganismů je důležitým aspektem při výrobě mletého masa a masných polotovarů, protože ovlivňuje jeho bezpečnost a údržnost. Hodnoty CPM jsou ovlivněny různými faktory, jako je druh masa, způsob zpracování, podmínky skladování atd. Po porážce se CPM na jatečných tělech pohybuje mezi 2 a 4 log KTJ/cm ^{2}, což lze vysvětlit tím, že během porážkového procesu dochází ke kontaminaci svaloviny (původně sterilní) mikroorganismy z kůže zvířete i z okolního prostředí (Lončina et al., 2019). Počáteční množství mikroorganismů rovněž závisí na druhu poráženého zvířete, přičemž se uvádí, že bakteriální zátěž je obecně nejvyšší u vepřových jatečně upravených těl. Kromě toho je mleté maso obzvláště náchylné ke kontaminaci kvůli samotnému procesu mletí, během něhož dochází k rozšíření mikroorganismů. U mletého masa, ihned po přípravě z čerstvého masa přímo z bourárny, se hodnoty CPM pohybují kolem 1 log KTJ/g. V závislosti na kvalitě vstupní suroviny a způsobu zpracování je obsah CPM při dalším skladování různý (Rushitha et al., 2024).

Tabulka č. 1, Výskyt celkového počtu mikroorganismů (CPM) a *E. coli* u různých druhů mletého masa a masných polotovarů. Výsledky jsou uvedeny v log KTJ/g (průměr, minimální a maximální hodnota).

Typ vzorku	Mleté maso		Masný polotovar	
	CPM	*E. coli*	CPM	*E. coli*
Drůbeží (min.; max.)	5,06±0,67 (4,15; 5,72)	2,04±0,89 (<1,7; 3,00)	6,02±0,95 (4,79; 7,08)	1,92±0,76 (<1,7; 2,52)
Vepřové (min.; max.)	4,38±0,47 (3,88; 5,00)	<1,7±0,00 (<1,7; <1,7)	6,88±1,15 (5,40; 8,20)	<1,7±0,00 (<1,7; <1,7)
Hovězí (min.; max.)	6,05±0,66 (5,11; 6,53)	1,48±0,89 (<1,7; 2,74)	5,62±0,77 (4,66; 6,54)	1,63±1,10 (<1,7; 3,18)
Mix vepřové, hovězí (min.; max.)	4,63±0,58 (4,00; 5,40)	<1,7±0,00 (<1,7; <1,7)	6,64±0,98 (5,56; 7,94)	1,89±0,80 (<1,7; 2,81)

Za kvalitní produkt je považováno mleté maso s obsahem CPM kolem 4 log KTJ/g (Lončina et al., 2019). Při skladování mletého masa při teplotě 4 °C dochází k rychlému nárůstu CPM. Z počátečních hodnot 5,8 log dochází během jednoho dne k nárůstu na 6,1 log KTJ/g. Čtvrtý den skladování je maso zkažené a nevhodné ke konzumaci (Shaltout et al., 2019).

Bakterie *E. coli* je považovaná za indikátor fekální kontaminace a její přítomnost naznačuje nízkou úroveň hygieny výrobního procesu a nedodržení sanitačních postupů (Ghafir et al., 2008). Dále byla prokázána schopnost těchto bakterií tvořit biofilmy, což zvyšuje jejich přežívání a odolnost vůči dezinfekčním prostředkům (Dandrawy et al., 2025). V naší studii byl u 3 vzorků překročen limit 1,7 log KTJ/g pro *E. coli.* Z toho 1 vzorek kuřecího masa překročil limit 2,7 log KTJ/g, a to s hodnotou 3 log KTJ/g. U vepřového a mixu vepřového a hovězího mletého masa nebyla *E. coli* detekována. U masných polotovarů nebyla *E. coli* stanovena pouze u vepřového masa. U ostatních vzorků masných polotovarů byly zjištěné hodnoty nad limitem uvedeným v nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 (2,7 log KTJ/g, resp. 3,7 log KTJ/g**).** U srovnání vzorků mletého masa a masných polotovarů z hlediska obsahu *E. coli* statisticky významný rozdíl nebyl prokázán (P >0,05).

Salmonela může představovat závažné riziko při konzumaci mletého masa a masných polotovarů, zejména v případě nedostatečné tepelné úpravy nebo křížové kontaminace. Navzdory přísným hygienickým a technologickým požadavkům se tyto patogeny v potravinách v tržní síti stále vyskytují (Rašeta et al., 2018). V roce 2023 bylo pozitivních 8,1 % vzorků

drůbežího mletého masa a masných polotovarů určených k tepelnému opracování (EFSA, 2024). V případě salmonely může představovat riziko vstupní surovina, častější je ale sekundární kontaminace. I nadále je nutné provádět kontroly farem, zpracovatelů a produktů v tržní síti (Ehuwa et al., 2021). V naší studii byly bakterie rodu *Salmonella* prokázány u jednoho vzorku mletého kuřecího masa. Konkrétně se jednalo o sérovar *S.* Enteritidis. Tento sérovar byl identifikován v roce 2023 u 70,8 % případů salmonelóz v lidské populaci EU (EFSA, 2024).

Výrobní prostředí je považováno za jeden z hlavních zdrojů kontaminace potravin bakterií *L. monocytogenes*, která se může dlouhodobě udržovat na površích včetně výrobních zařízení. Riziko se zvyšuje v důsledku křížové kontaminace, kdy se bakterie přenáší mezi potravinami, nástroji a pracovními plochami (Luo et al., 2017). V námi analyzovaných vzorcích byla *L. monocytogenes* prokázána u 1 masného polotovaru vyrobeného z hovězího masa a u 1 vzorku mletého vepřového masa.

ZÁVĚR

Mleté maso a masné polotovary patří mezi mikrobiologicky nejrizikovější masné produkty. Na mikrobiální kvalitu mletého masa mají zásadní vliv nejen skladovací podmínky (teplota, balicí atmosféra), ale také hygienické standardy v provozovnách a při manipulaci s masem. V tržní síti České republiky je v současnosti dostupné mleté maso s podmínkou skladování do 2 °C. Charakter mletého masa mají i masné polotovary nabízené ve většině obchodních řetězců. Ty mohou být skladovány do 4 °C a složení není tak limitováno jako u mletého masa. Výsledky předložené studie ukázaly dobrou mikrobiální kvalitu analyzovaných výrobků, ale potvrdily, že masné polotovary mají vyšší mikrobiální zátěž než mleté maso. Zjištění vzorků pozitivních na salmonely (*S.* Enteritidis) a *L. monocytogenes* zdůrazňuje nutnost opatrné manipulace při kulinárních úpravách pokrmů v domácnostech gastroprovozovnách (prevence křížové kontaminace) a důkladné tepelné opracování s tepelným účinkem odpovídajícímu působení teploty 70 °C/2 minut (devitalizace 99,9999 % vegetativních patogenních bakterií). K potvrzení prezentovaných výsledků budou nutné analýzy větších souborů.

PODĚKOVÁNÍ

Tato studie byla podpořena grantem č. 216/2025/FVHE Interní grantové agentury Veterinární univerzity Brno.

POUŽITÁ LITERATURA

1. ČSN EN ISO 7251 Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda průkazu a stanovení počtu presumptivních *Escherichia coli* - Technika nejvýše pravděpodobného počtu. 2006.
2. ČSN EN ISO 4833-1 Mikrobiologie potravinového řetězce – Horizontální metoda pro stanovení počtu mikroorganismů – Část 1: Technika přelivem a počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C. 2014.
3. ČSN EN ISO 11290-1 Mikrobiologie potravinového řetězce – Horizontální metoda průkazu a stanovení počtu *Listeria monocytogenes* a *Listeria* spp. - Část 1: Metoda průkazu. 2017.
4. ČSN EN ISO 6579-1 Mikrobiologie potravinového řetězce - Horizontální metoda průkazu, stanovení počtu a sérotypizace bakterií rodu *Salmonella* - Část 1: Průkaz bakterií rodu *Salmonella.* 2020.
5. DANDRAWY, M. et al. Probiotic approaches to *E. coli* in meat and chicken products: prevalence, resistance, and virulence. In *Assiut Veterinary Medical Journal.* ISSN 2314-5226, 2025, vol. 71, s. 151-174.
6. EFSA. The European Union One Health 2023 Zoonoses report. In *EFSA Journal*. ISSN 1831-4732, 2024, vol. 22, e9106.
7. EHUWA et al. *Salmonella*, food safety and food handling practices. In *Foods.* ISSN 2304-8158, 2021, vol. 10, 907.
8. GHAFIR, Y. et al. Hygiene indicator microorganisms for selected pathogens on beef, pork, and poultry meats in Belgium. In *Journal of Food Protection.* ISSN 0362-028X, 2008, vol. 71, s. 35-45.
9. KALABA, V. et. al. Microbiological quality of minced meat and meat preparations. In *Veterinary Journal of Republic of Srpska*. ISSN 1840-2887, 2021, vol. 21, s. 178-186.
10. LONČINA, J. et al. Spoilage-related bacteria of pork and beef minced meat under vacuum and modified atmosphere. In *Romanian Biotechnological Letters.* ISSN 2248-3942, 2019, vol. 24, s. 658–668.
11. LUO, L.J. et al. A 12-month longitudinal study of *Listeria monocytogenes* contamination and persistence in pork retail markets in China. In *Food Control.* ISSN 0956-7135, 2017, vol. 76, p. 66–73.
12. NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) Č. 853/2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu. In *Úřední věstník Evropské unie* L 139, 2024, s. 55–205.

13. NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 2073/2005, o mikrobiologických kritériích pro potraviny. In *Úřední věstník Evropské unie* L 338, 2005, s. 1–26.
14. RADWAN, M. et al. Assessment of proteomic and molecular techniques in isolation of *Listeria monocytogenes* in minced meat. In *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*. ISSN 1110-2047, 2022, vol. 74, p. 31–39.
15. RAŠETA, M. et al. Prevalence and antibiotic resistance of *Salmonella* spp. in meat products, meat preparations and minced meat. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.* ISSN 1755-1315, 2017, vol. 85, 012028.
16. RUSHITHA, K. et al. Storage stability of minced chicken meat and pork at ambient temperature. In *Journal of Meat Science*. ISSN 0975-5209, 2024, vol. 19, p. 76–81.
17. SHALTOUT, E. et al. Impact of some natural preservatives on bacterial profile of minced meat in Egypt. In *Benha Veterinary Medical Journal*. ISSN 1110-6581, 2016, vol. 31, p. 5–42.
18. VYHLÁŠKA č. 69/2016 Sb., o požadavcích na maso, masné výrobky, produkty rybolovu a akvakultury a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich.
19. XU, M.M. et al. Culture-dependent and culture-independent evaluation of the effect of protective cultures on spoilage-related bacteria in vacuum-packaged beef mince. In *Food and Bioprocess Technology.* ISSN 1935-5149, 2023, vol. 16, p. 382–394.

Kontaktní adresa: Veselá Helena, Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Veterinární univerzita Brno, Palackého třída, 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika; E-mail: veselah@vfu.cz

BEZPEČNOSŤ VÝROBY PRODUKTOV V PODNIKU SPRACUJÚCOM RYBY

PRODUCTION SAFETY OF PRODUCTS IN THE FISH PROCESSING PLANT

Veszelits Laktičová Katarína, Vargová Mária, Hromada Rudolf, Sasáková Naďa

Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

Food quality and safety issues are presently in the foreground of attention of respective professionals and the wide consumer circles. In our study we focused on evaluation of hygiene and sanitation in the fish processing plant from reason quality and safety of food production. Good disinfectant effect was recorded in case of evaluated disinfectants 2 % Topax 66 and 2 % P3-Steril on tested surfaces in fish processing plant with the exception of evaluated auxiliary cart No. 1, where after disinfection we recorded oftotal numbers of microorganisms with number 55 CFU and 5 CFU of coliform bacteria. Failure to observe operational hygiene regulations or insufficient cleaning and disinfection result in serious negative consequences in food production. Selection of suitable disinfectant, its concentration, exposure time and way of application play a key role in the overall hygiene.

Key words: disinfection, efficiency control, sanitation, Topax 66, P_3-STERIL.

ÚVOD

Podiel sanitácie na plnení spoločenských úloh formulovaných v oblasti ochrany zdravia a výživy obyvateľstva, ako aj rozsah a zložitosť činností, ktoré sa robia v rámci sanitácie, zvýrazňuje význam a potrebu jej všestranného zabezpečenia (Lopašovská a kol., 2006). Vplyv dezinfekcie na hygienu rôznych povrchov v jednotlivých častiach prevádzky má svoje opodstatnenie z hľadiska prevencie pred vznikom alimentárnych nákaz (Zeleňáková, 2008). Správna voľba a aplikácia dezinfekčného prípravku zohrávajú kľúčovú úlohu pri dosiahnutí požadovaného cieľa (Ondrašovič, 1996). Dodržiavanie zásad správnej výrobnej praxe spolu s opatreniami vyplývajúcimi zo systému HACCP ako aj správne vykonaná dezinfekcia by mala značne znížiť uvedené riziko (Ostrý, 2002). V predloženej práci sme sa zamerali na otestovanie devitalizačného účinku komerčne vyrábaného dezinfekčné prostriedky P3 Topax 66 a P_3- Steril a vyhodnotenie ich vplyvov na celkové počty mikroorganizmov, koliformné baktérie a plesne nachádzajúc sa na jednotlivých povrchoch sledovaných priestoroch prevádzky. praktických podmienkach sme zhodnotili hygienickú úroveň zariadení a efektivitu sanitačných prác v proces získavania rybacích produktov.

MATERIÁL A METODIKA

Cieľom našej práce bolo hodnotenie hygieny vybraných povrchov v hodnotenom podniku spravujúcom ryby. Hodnotené boli vybrané plochy povrchov, používaného náradia a pomocného zariadenia v priestoroch kyslej výroby rybacích produktov. Hodnotili sme dezinfekčnú účinnosť 2 % P3 Topaxu 66 (Ecolab Hygiene s.r.o., Brno) a 2 %P_3-Sterilu (Ecolab, s.r.o., Bratislava). P3 Topax 66 sa používal na dezinfekciu vybraných povrchov a pomocných zariadení. P_3-Steril sa používal na dezinfekciu používaného náradia. Denná dezinfekcia vybraných povrchov a pomocných zariadení sa vykonáva 2 % P3 Topaxom 66 s expozičnou dobou pôsobenia 20 min. P3 Topax 66 je (chlórnan sodný, 13% roztok aktívneho chlóru, hydroxid sodný, N-alkyl-N,N-dimetylamíny, N-oxidy) tekutý, alkalický čistiaci a dezinfekčný prostriedok s obsahom aktívneho chlóru. Denná dezinfekcia používaného náradia sa vykonáva 2 % P_3-Sterilom. *P_3-Steril* je tekutý, stredne alkalický dezinfekčný prostriedok s obsahom kvartérnych aminozlúčenín, odporúčaný na dezinfekciu v potravinárskych prevádzkach pre ručné čistenie. Má vynikajúce čistiace a dezinfekčné vlastnosti. Mikrobiologické stery boli odobraté klasickou mikrobiologickou metódou. Stery sa odoberali z rôznych povrchov (stena, podlaha, stôl, stĺp, vozík). Mikrobiologické stery boli odobraté za pomoci sterilnej šablóny z plochy 10 cm^2 do skúmaviek s fyziologickým roztokom. Následne bola suspenzia naočkovaná na živné agary v množstve 0,1 ml. Platne boli inkubované v termostate, po inkubácii sa vyhodnotili narastené kolónie. Na stanovenie celkových počtov mikroorganizmov (CPM), koliformných baktérií (KB) a plesní bol použitý postup podľa platných ISO noriem (ISO Standard 18593-2004; ISO Standard 4832-2006; ISO Standard 21527-2008). Jednotlivé druhy mikroorganizmov sú vyjadrené v KTJ (kolónie tvoriace jednotky).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tabuľke č.1sú uvedené mikrobiologické stery, ktoré sa odobrali z podlahy, steny, stola a stĺpa. Pred dezinfekciou sme zaznamenali nepočítateľné (NP)celkové počty mikroorganizmov na podlahe a stĺpe. Vyšší počet plesní sa stanovili len na stĺpe. Po dezinfekcii boli z hygienického hľadiska jednotlivé plochy vyhovujúce, počty sledovaných mikroorganizmov a plesní rádovo klesli. Prevedenie dezinfekcie sa požaduje v potravinárskom závode, kde mokré povrchy vytvárajú priaznivé podmienky pre rast mikróbov. Použitie efektívnych dezinfekčných prostriedkov minimalizuje kontamináciu výrobku, zvyšuje ich životnosť a znižuje riziko z alimentárnych ochorení. Predĺžená expozícia dezinfekčných prostriedkov na povrchu zvyšuje ich mikrobicídny účinok (Wirtanen et al, 2003).

Tabuľka č. 1, Priemerné hodnoty mikroorganizmov z priestorov kyslej výroby z plochy 10 cm^2 (KTJ.10 cm^{-2}) pri použití Topaxu 66

Miesto steru	Počet sterov	Pred dezinfekciou			Po dezinfekcii		
		CPM	KB	Plesne	CPM	KB	Plesne
Podlaha	6	NP	22	0	0	0	0
Stena	6	15	0	0	6	0	0
Stôl	6	45	0	0	0	0	0
Stĺp	6	NP	0	41	0	0	0

Na dezinfekciu náradia sa použil prostriedok P_3-Steril v 2 % koncentrácii. V tabuľke č.2 sú zaznamenané výsledky zo sterov z používaného náradia. Najvyššie zaznamenané boli celkové počty mikroorganizmov v množstve 61 na denku. Po dezinfekcii sme zaznamenali výborné výsledky sledovaných počtov mikroorganizmov.

Tabuľka č. 2, Priemerné hodnoty mikroorganizmov zo sterov používaného náradia z plochy 10 cm^2 (KTJ.10 cm^{-2}) v časti kyslej výroby pri použití P3-Sterilu

Miesto steru	Počet sterov	Pred dezinfekciou			Po dezinfekcii		
		CPM	KB	Plesne	CPM	KB	Plesne
Denko	6	61	3	0	0	0	0
Cedidlo	6	4	0	0	6	0	0
Naberačka	6	45	0	0	0	0	0
Lopatka	6	12	0	1	0	0	0

Okrem používaného náradia boli stery odobraté aj z pomocných zariadení. Výsledky získané z týchto zariadení sú uvedené v tabuľke č. 3. Vysoké celkové počty mikroorganizmov sa stanovili na všetkých troch sledovaných vozíkoch pred dezinfekciou. Po dezinfekcii sme zaznamenali neprípustné celkové počty mikroorganizmov len na vozíku č.1 v počte 55, Neprípustný bol aj počet koliformných zárodkov na vozíku č.1, v počte 5 KTJ. Sanitácia je súčasťou výrobných postupov v potravinárskom priemysle. Pri nedostatočnej sanitácii povrchov, resp. technologických zariadení môže dôjsť ku kontaminácii spracovaného materiálu, čo je označované aj ako „krížová kontaminácia“ (Šiška a kol., 2006).

Tabuľka č. 3, Priemerné hodnoty mikroorganizmov zo sterov pomocných zariadení z plochy 10 cm^2 (KTJ.10 cm^{-2}) v priestoroch kyslej výroby pri použití Topaxu 66

Miesto steru	Počet sterov	Pred dezinfekciou			Po dezinfekcii		
		CPM	KB	Plesne	CPM	KB	Plesne
Vozík č.1	6	61	3	0	55	5	0
Vozík č.2	6	4	1	0	6	0	0
Vozík č.3	6	45	2	0	0	0	0

Výsledky získané pomocou mikrobiologickej kontroly účinnosti sú podkladom pre vyhľadávanie nedostatkov v sanitácii a spätne vytvárajú možnosť ich odstraňovania (Machalec a Machalcová, 2006).

ZÁVER

Môžeme konštatovať, že dezinfekcia prípravkom Topax 66 v priestoroch kyslej výroby rýb bola účinná až na dezinfekciu pomocného zriadenia vozíka č.2., kde sme po dezinfekcii zachytili 10 KTJ koliformných baktérií. Dezinfekcia náradia používaného v časti kyslej výroby rýb prostriedkom P3-Steril bola účinná. Pri nedodržaní hygieny prevádzky alebo pri nedostatočnom čistení, prípadne dezinfekcii, je nutné počítať s negatívnymi vplyvmi na vyrobené potraviny (Drdák et al., 1996), z čoho vyplývajú sankcie, alebo v extrémnych prípadoch môže dôjsť až k zastaveniu prevádzky (Synák a Šlapal, 2000). A práve preto, aby sme predišli negatívnym vplyvom na potraviny v dôsledku nesprávneho čistenia a dezinfekcie je dôležitý výber dezinfekčného prostriedku a spôsob aplikácie, ktorý ovplyvňuje kvalitu celého sanitačného procesu.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. DRDÁK, M. - STUDNICKÝ, J. - MÓROVÁ, E. - KAROVIČOVÁ, J. Základy potravinárskych technológií, Malé centrum Bratislava, 1996, 512 s.
2. ISO Standard 21527-2008: Microbiology of food and animal feeding stuffs: Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds.
3. ISO Standard 4832-2006: Microbiology of food and animal feeding stuffs: Horizontal method or the enumeration of coliforms.
4. LOPAŠOVSKÁ, J. - PETRÍKOVÁ, J. - KOREŇOVÁ, J. - STOLÁŘOVÁ, K. Monitoring úrovne hygieny a sanitácie v malých potravinárskych prevádzkach. In: Zborník prác z medzinár. ved. konf. „Bezpečnosť a kontrola potravín“, Nitra, s.2006, 65-69.

5. MACHALEC, M. – MACHALCOVÁ, T. 2006. Verifikácia a validácia systému bezpečnosti potravín. In: Zborník prác z medzinár. ved. konf. „Bezpečnosť a kontrola potravín“, Nitra, 17-19 s.
6. ONDRAŠOVIČ, M. – PARA, Ľ. – ONRAŠOVIČOVÁ, O. – VARGOVÁ, M. – KOČIŠOVÁ, A. Veterinárna starostlivosť o životné prostredie, Magnus, Košice, 1996.
7. OSTRÝ, V. Maso, vol. 13, no. 44, 2002.
8. ISO Standard 18593-2004: Microbiology of food and animal feeding stuffs: Horizontal methods for sam-pling techniques from surfaces using contact plates and swabs.
9. SYNÁK, T. - ŠLAPAL, P.: Nová měřítka pre dezinfekci v poravinářskych provozech, Maso, 5, 2000, 31-32 s.
10. ŠIŠKA, B. – GOLIAN, J. – POPELKA, P. Zborník prác z medzinárodnej vedeckej konferencie, Bezpečnosť a kontrola potravín: Využitie P3M Petrifilm pri monitorovaní úrovne hygieny v zariadeniach spoločného stravovania, Nitra. 2006, 86 s.
11. WIRTANEN G. – SALO, S. Rev. Environ. Sci. Bio/Technol., vol. 2, no. 293, 2003.
12. ZELEŇÁKOVÁ, L. – PAUKOVÁ, J. Potravinárstvo, vol. 2, no. 32, 2008.

Kontaktná adresa: Veszelits Laktičová Katarína, Department of Public Veterinary Medicine and Animal Welfare, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: Katarina.VeszelitsLakticova@uvlf.sk

POSTBIOTICKÉ SUBSTANCIE PRE INHIBÍCIU METICILÍN-REZISTENTNÝCH STAFYLOKOKOV V CHOVE KRÁLIKOV

POSTBIOTIC SUBSTANCES FOR METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCI INHIBITION IN RABBIT HUSBANDRY

Zábolyová Natália, Lauková Andrea, Pogány Simonová Monika

Centrum biovied SAV, v.v.i, Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, , Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

The aim of this study was to characterize staphylococci in terms of species identification, antibiotic resistance, virulence factors, and susceptibility to partially purified enterocins (Ents; proteinaceous substances with antimicrobial activity produced by enterococci). Among 27 straphylococcal strains obtained from feces, gastrointestinal contents and meat samples of rabbits, 22 methicillin-resistant staphylococci (MRS) were identified. The presence of penicillin-binding protein 2a (PBP2a), a key determinant of methicillin resistance, was confirmed in 13 strains using the PBP2' latex agglutination test. Virulence factor analysis revealed β-hemolytic activity in 33.3% of isolates, DNase production in 59.3% and biofilm formation in 55.6% of MRS strains. Susceptibility testing showed that the majority of MRS (85%) were inhibited by Ents in a range of 100–6400 AU/mL, with the highest activity observed for EntA/P, EntM, and Ent7420. These findings provide a basis for further research into the application potential of Ents as alternative feed additives - antimicrobial agents, particularly for the prevention and treatment of infections caused by MRS and multidrug-resistant staphylococci.

Key words: staphylococci, methicillin resistance, meat, enterocins, antimicrobial therapy

ÚVOD

Výrazný rast svetovej populácie a dĺžky života by mohol viesť k budúcej „potravinovej kríze“. Zatiaľ čo dopyt po živočíšnych bielkovinách rastie, konvenčné zdroje sú nedostatočné a oblasti pre poľnohospodárstvo a využitie krmovín sú menej dostupné (Frunză a kol., 2023). Vzhľadom na svoju výbornú výživovú hodnotu, predstavuje králičie mäso perspektívny a udržateľný zdroj živočíšnych bielkovín. V roku 2018 celosvetová produkcia králičieho mäsa dosiahla 1,39 milióna ton, pričom prevládali ázijské krajiny (72,71 %) a európske krajiny predstavovali len 19,43 % z celkovej produkcie mäsa (Wu, 2022). Králičie mäso je charakteristické ľahko stráviteľnými bielkovinami s vysokou biologickou hodnotou, ako aj

nízkym obsahom tuku, sodíka a cholesterolu, vďaka čomu má výbornú nutričnú hodnotu (Abdullatif a kol., 2023). Je bohaté na esenciálne aminokyseliny, najmä na lyzín, aminokyseliny obsahujúce síru, treonín, valín, izoleucín, leucín a fenylalanín. Z esenciálnych mastných kyselín obsahuje najmä omega-3 (n-3) mastné kyseliny, α-linolénovú (prekurzor kyseliny eikosapentaneovej a dokosahexaneovej) a n-6 mastné kyselinu, kyselinu linolénovú (prekurzor kyseliny arachidonovej). Je to mäso bohaté aj na komplex vitamínov skupiny B (B_1-B_{12}), vitamín E a minerálie, najmä na fosfor, horčík, draslík, meď, zinok a selén. Navyše, je aj najbohatším zdrojom železa a vitamínu B_{12}. Neobsahuje kyselinu močovú a má nízky obsah purínov (Siudak a Pałka, 2022), čo je významnou prevenciou aterosklerózy; preto sa odporúča pacientom s vysokým tlakom a kardiovaskulárnymi ochoreniami, diabetikom, ale je vhodné aj pre deti, tehotné ženy, obéznych ľudí a športovcov (Dalle Zotte a Szendrő, 2011). Na druhej strane, králičie mäso často môže byť aj zdrojom mikrobiálnej kontaminácie, najmä v dôsledku výskytu ochorení v chove, pri manipulácii so zvieratami pri porážke, ale pôvodcom môžu byť aj pracovníci či okolité prostredie. Je potrebné vynaložiť všetko úsilie na to, aby sa čo najviac zabránilo možnej bakteriálnej kontaminácii, ktorá môže ohroziť zdravie konzumenta (Abdullatif a kol., 2023). Jedným z významných kontaminantov králičieho mäsa sú stafylokoky, konkrétne druh *Staphylococcus aureus*, ktorý je známy svojím patogénnym potenciálom a schopnosťou produkcie enterotoxínov. Ešte závažnejší problém predstavujú jeho rezistentné druhy, ako napríklad meticilín-rezistentný *S. aureus* (MRSA), ktoré sú rezistentné voči viacerým skupinám antibiotík a predstavujú vážne riziko pre verejné zdravie (da Silva Guedes a kol., 2024). Prenos takýchto baktérií zo zvierat na človeka hrozí najmä prostredníctvom nedostatočne tepelne upraveného mäsa alebo pri manipulácii so zvieraťom. Z dôvodu rastúcej antimikrobiálnej rezistencie a obmedzených možností liečby sa čoraz väčšia pozornosť venuje alternatívnym prístupom v boji proti rezistentným patogénnym baktériám. Jednou z perspektívnych stratégií je využitie postbiotík. V roku 2021 Medzinárodná vedecká asociácia probiotík a prebiotík (ISAPP) navrhla definíciu postbiotík, v ktorej sa uvádza, že postbiotikum je „prípravok neživých mikroorganizmov a/alebo ich zložiek, ktorý hostiteľovi prináša zdravotné výhody“ (Salminen a kol., 2021). Postbiotiká zahŕňajú enzýmy, exopolysacharidy, povrchové proteíny, organické a mastné kyseliny, vitamíny a peptidy – bakteriocíny. Bakteriocíny sú ribozomálne syntetizované antimikrobiálne bielkoviny, ktoré sú produkované baktériami (najmä kyselinu mliečnu produkujúcimi baktériami) a môžu vykazovať jednak úzke spektrá inhibičnej aktivity (zamerané na baktérie rovnakého druhu), zatiaľ čo iné vykazujú širšie spektrum inhibičnej aktivity (inhibujú iné viac či menej príbuzné druhy a rody; Mathur a kol. 2017). Enterocíny sú malé, teplo-stabilné peptidy produkované prevažne niektorými kmeňmi a druhmi z rodu *Enterococcus*. Tieto substancie môžu pôsobiť

bakteriostaticky či baktericídne a ich aplikácia v diéte by mohla prispieť k zníženiu výskytu MRSA resp. iných meticilín-rezistentných stafylokokov (MRS) v chove brojlerových králikov. Cieľom tejto štúdie bolo preto otestovať potenciál postbiotík - enterocínov (Ent) ako alternatívy v inhibícii MRS v králičom chove a zhodnotiť ich využitie v prevencii možnej mikrobiálnej kontaminácie králičieho mäsa.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky (142) boli odobraté z trusu, obsahu tráviaceho traktu a mäsa brojlerových králikov vo veku od 2 do 4 mesiacov. Na spracovanie vzoriek bola použitá štandardná mikrobiologická metóda podľa ISO normy. Vzorky boli vyriedené v Ringerovom roztoku (pH 7,0; Oxoid, Basingstoke, Veľká Británia) a inokulované na kultivačné médium Baird Parker agar (Difco Laboratories, Franklin lakes, NJ, USA) obohatený teluritovo vaječným žĺtkom a kultivované 18-24 hod./37°C. Z najvyšších riedení vzoriek boli následne odpichnuté viaceré kolónie, ktoré boli identifikované pomocou MALDI-Tof systému (Bruker Daltonics, USA). Našim cieľom bolo vytvoriť súbor MRS otestovaním ich antibiotickej rezistencie pomocou diskovej difúznej metódy na Mueller-Hinton agare (Oxoid; EUCAST 2024, CLSI 2024). Sústredili sme sa na meticilín (MET-30µg; Liofilchem, Taliansko), oxacilín (OX-5µg; Oxoid) a cefoxitín (FOX-5µg; Oxoid). Na základe výsledkov rezistencie na minimálne 2 z uvedených antibiotík bol vytvorený súbor 22 MRS. Rezistencia na meticilín bola ďalej potvrdená aj testom PBP´2 Latex Agglutination Test (Oxoid). U izolovaných MRS boli testované aj ďalšie fenotypové vlastnosti: hemolytická aktivita na Brain Heart Infusion agare (BHI; Difco) s 5% obsahom defibrinovanej baranej krvi, aktivita DNázy na DNase agare (Oxoid). Tvorba biofilmu bola testovaná dvoma metódami: kvalitatívne na BHI agare s kongo červeňou - 24h/48h/72h podľa Freemana a kol. (1989) a kvantitatívne pomocou platničkovej metódy tzv. biofilm plate assay v mikrotitračných platničkách - 24 h/570 nm s použitím BHI kultivačného média po odčítaní pomocou readra Synergy TM4570 nm (Chaieb a kol., 2007). Citlivosť MRS ku čiastočne purifikovaným enterocínom (Ent), izolovaným a charakterizovaným v našom laboratóriu bola testovaná na BHI agare s použitím „agar spot testu“ (De Vuyst a kol., 1996). Do testovania boli zaradené tieto enterocíny: Ent A/P, Ent M, Ent 2019, Ent 9296, Ent 55, Ent 412, Ent EF9a, Ent KI2b a Durancin ED26E/7.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Súbor stafylokokov (27 kmeňov) pozostával zo 14 kmeňov *Staphylococcus aureus* (51,90 %), 3 kmeňov *S. xylosus* (11,10 %) a *S. epidermidis* (11,10 %), 2 kmeňov *S. equorum* (7,40 %) a *S. cohnii* (7,40 %) a 1 kmeňa *S. sciuri* (3,70 %), *S. vitulinus* (3,70 %) a *S. warneri*

(3,70 %). Na základe fenotypového testovania antibiotickej rezistencie na vybrané antibiotiká bol vytvorený súbor 22 MRS, čo predstavuje 81,50 % všetkých kmeňov. Prítomnosť penicilín viažuceho proteínu 2a (PBP2a), ktorý je determinantom meticilínovej rezistencie, bola následne potvrdená pomocou PBP2' latexového testu u 13 kmeňov, u ktorých sme testovali aj ďalšie vlastnosti. β-hemolytickú aktivitu vykazovalo 9 kmeňov (33,30 %), zatiaľ čo 4 kmene (14,80 %) nevykazovali hemolytickú aktivitu. Produkcia enzýmu DNázy, ktorý je považovaný za jeden z faktorov virulencie stafylokokov, bola potvrdená u 16 izolátov (59,30 %). Produkcia biofilmu bola kvalitatívne detegovaná u 6 kmeňov (22,20 %) už po 24 hodinách, u 7 kmeňov (25,90 %) po 48–72 hodinách a u 2 kmeňov (7,40 %) až po 72 hodinách. U všetkých týchto kmeňov (celkovo 15, t. j. 55,60 %) bola produkcia biofilmu potvrdená aj kvantitatívne, pričom bola zaznamenaná mierna schopnosť produkcie biofilmu ($0.1 \leq OD570 < 1$). Testovaním citlivosti 13 MRS (potvrdených aj PBP2' latexovým testom) ku čiastočne purifikovaným Ent bola väčšina kmeňov (11 z 13; 85%) citlivá v rozmedzí 100-6400 AU/ml. Najvyššiu antimikrobiálnu aktivitu sme zaznamenali v prípade EntA/P, EntM a Ent7420, ktoré inhibovali 5 resp. 6 kmeňov v najvyšších hodnotách inhibície (3200-6400 AU/ml). Ent4231 neinhiboval žiaden z MRS. Najviac citlivé kmene (SA6A/1, SAK/2, SARUM1) boli inhibované až 5 resp. 6 Ent z celkovo 8 testovaných. Naopak, 2 kmene *S. epidermidis* (P2/Tr-4-2017 a P3/Tr1) neboli inhibované žiadnym Ent. Získané výsledky poukazujú na rozšírený výskyt MRS v chovoch brojlerových králikov. Fenotypovo potvrdená rezistencia na meticilín bola zistená u viac ako 80% kmeňov, čo zvýrazňuje potrebu alternatív k bežným antibiotikám, vzhľadom na ich čoraz častejšie zlyhávanie pri liečbe infekcií spôsobených rezistentnými kmeňmi. Latexový test PBP2' potvrdil prítomnosť PBP2a iba u 13 z 22 fenotypovo rezistentných kmeňov, čo naznačuje možnú prítomnosť alternatívnych mechanizmov rezistencie alebo rozdiely v expresii génov spojených s meticilínovou rezistenciou (Zábolyová a kol., 2024). Významné percento MRS produkovalo DNázu a biofilm, čo poukazuje na ich virulenčný potenciál (prežívanie v prostredí, odolnosť voči imunitnému systému hostiteľa, čistiacim a dezinfekčným prostriedkom). Testovanie citlivosti MRS ku čiastočne purifikovaným Ent potvrdzuje sľubný inhibičný účinok testovaných Ent, najmä EntA/P, EntM a Ent7420 v prípade väčšiny kmeňov MRS, ako to bolo uvedené aj v našich predchádzajúcich štúdiách (Pogány Simonová a kol., 2021). Tieto výsledky naznačujú potenciál ich využitia ako alternatívnych antimikrobiálnych látok v chovoch králikov. Vysoká citlivosť, až 85 % MRS na testované Ent v rozmedzí 100–6400 AU/ml predpokladá účinnosť týchto substancií aj proti multirezistentným kmeňom stafylokokov. Celkové výsledky poukazujú na sľubný potenciál aplikácie testovaných Ent v chovoch brojlerových králikov, a to nielen z hľadiska preventívneho použitia Ent pre podporu zdravia a

produktivity zvierat a pre zabezpečenie vhodnej mikrobiologickej kvality mäsa králikov, ale aj s medicinálnym účinkom najmä počas možného výskytu stafylokokovej infekcie.

ZÁVER

Výsledky tejto štúdie otvárajú priestor pre ďalší výskum využitia Ent ako alternatívnych antimikrobiálnych látok v boji proti rezistentným stafylokokom, najmä proti MRS. Majú totiž sľubný aplikačný potenciál ako kŕmne aditívum v chovoch králikov nielen v prevencii výskytu a v podpore liečby infekcií spôsobených multirezistentnými a meticilín-rezistentnými kmeňmi stafylokokov, ale aj z hľadiska prevencie a kontroly kontaminácie králičieho mäsa v potravinárskom reťazci pre zabezpečenie zdravia konzumenta.

POĎAKOVANIE

Táto štúdia bola podporená projektami Doktogrant APP464, Doktogrant APP595 a VEGA 2/0009/25.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ABDULLATIF, A. F. a kol. Rabbit meat consumption: A mini review on the health benefits, potential hazards and mitigation. In *Journal of Advanced Veterinary Research*, ISSN 2090-6277, 2023, vol. 13, no. 4, p. 681-684.
2. DA SILVA GUEDES, J. a kol. Microbiological quality and safety of fresh rabbit meat with special reference to methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) and ESBL-producing *E. coli*. In Antibiotics, ISSN 2079-6382, 2024, vol. 13, no. 3, p. 256.
3. DALLE ZOTTE, A. - SZENDRŐ, Z. The role of rabbit meat as functional food. In *Meat science*, ISSN 1873-4138, 2011, vol. 88, no. 3, p. 319-331.
4. FRUNZĂ, G. a kol. Meat quality in rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) and hare (*Lepus europaeus Pallas*)—A nutritional and technological perspective. In *Agriculture*. ISSN 2077-0472, 2023, vol. 13, no. 1, p. 126.
5. SALMINEN, S. a kol. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. In *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, ISSN 1759-5053, 2021, vol. 18, no. 9, p. 649-667.
6. SIMONOVÁ, M. P. a kol., Effect of enterocins against methicillin-resistant animal-derived staphylococci. In Veterinary Research Communications, ISSN 1573-7446, 2021, vol. 45, p. 467-473.

7. SIUDAK, Z. - SYLWIA P. Rabbit meat as a functional food. In *Roczniki Naukowe Zootechniki*, ISSN 2956-3356, 2022, vol. 49, no. 2, p. 127-139.
8. WU, L. Rabbit meat trade of major countries: regional pattern and driving forces. In *World Rabbit Science*, ISSN 1989-8886, 2022, vol. 30, no. 1, p. 69-82.
9. ZÁBOLYOVÁ, N. a kol., výskyt génov rezistencie na antibiotiká a virulentných faktorov u stafylokokov animálneho pôvodu, In Zborník zo seminára doktorandov venovaného pamiatke akademika Boďu, XIX. Ročník, Košice: Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, 2024, ISBN ISBN 978-80-974246-6-4. s. 86-88.

Kontaktná adresa: Zábolyová Natália, Centre of Biosciences SAS, Institute of Animal Physiology, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice, Slovak Republic; E-mail: kotesovska@saske.sk

VÝVOJ PH, HMOTNOSTNÍCH ZTRÁT GRILOVÁNÍM A KŘEHKOSTI MASA BÝKŮ PLEMENE WAGYU V PRŮBĚHU ZRÁNÍ

DEVELOPMENT OF PH, GRILLING WEIGHT LOSS AND TENDERNESS OF WAGYU BULLS MEAT DURING MATURATION

Zábrodská Blanka[1], Brücknerová Tereza[1], Nekvapil Jiří[2], Vepřková Eva[1]

[1] Agrovýzkum Rapotín s.r.o., Zemědělská 2520/16, 787 01 Šumperk, Česká republika

[2] Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, nám. T. G. Masaryka 5555, 760 01, Zlín, Česká republika

ABSTRACT

Today's consumers demand high-quality food products, which has led to a growing consumer demand for high-quality meat. The quality of meat and its maturation process are therefore currently receiving increased attention. The aim of this study was to monitor the development of pH, grilling weight loss, and especially tenderness of meat of Wagyu bulls during four weeks of maturation, as tenderness of meat is one of the basic parameters according to which consumers judge the quality of beef. The meat of ten bulls of Wagyu and its crossbreed was used for the research. Individual meat samples were matured in vacuum at 2 °C. During maturation, pH (Testo602-pH2-CONRAD probe), grilling weight loss and tenderness of grilled meat samples were evaluated once a week using a TA.XT. plus Stable Micor Systems TM texturometer (Warner-Bratzler knife). During the four weeks of maturation of Wagyu beef, a standard development of pH changes was found. In Wagyu beef, a statistically significant ($p \leq 0.05$) increase in grilling weight loss occurred during maturation. However, grilling weight loss was lower compared to other breeds. The increasing tenderness of the meat during maturation, or the decrease in shear force of Wagyu beef, was statistically highly significant ($p \leq 0.01$). Compared to other breeds, Wagyu beef is exceptionally tender. The high tenderness of Wagyu beef is related to the high content of intramuscular fat, or the “marbling” of the meat, which increases its tenderness. For optimal tenderness of Wagyu beef, a three-week maturation period is sufficient, as there was no significant increase in tenderness in the last week of maturation.

Key words: Wagyu, meat, maturation, quality, tenderness, grilling weight loss

ÚVOD

Požadavky spotřebitelů na potraviny se neustále zvyšují. Dnešní spotřebitelé požadují bezpečné, a především vysoce kvalitní potravinářské produkty (Fiedlerová, 2022). Tyto trendy se objevují i na trhu s čerstvým hovězím masem, což se odráží ve snaze spotřebitelů rozlišovat

hovězí maso na základě značek produktů, zeměpisného původu, senzorických nebo zpracovatelských vlastností a v poptávce po vyšší kvalitě, tzn. vyzrálé, křehké, šťavnaté a chutné maso se stálou kvalitou (Jůzl a Mülerová, 2017). Kvalitě masa a procesu jeho zrání je tedy v současnosti věnována zvýšená pozornost.

Kvalitu hovězího masa hodnotí spotřebitelé na základě jeho senzorických vlastností (Barton-Gade et al., 1988; Bukala and Kedzior, 2001), a to především na základě vzhledu, resp. barvy a protučnění, vůně, chuti, šťavnatosti (Faustman and Cassens, 1990; Loop and Weber, 2005; Suman et al., 2014) a křehkosti (Boleman et al., 1997; Caine et al., 2003; Behrends, 2004; Brewer and Novakofski, 2008). Barva masa v okamžiku prodeje je indikátorem čerstvosti a znakem kvality je jasně červená barva (Hood and Riordan, 1973; Behrends, 2004). Téměř 95 % spotřebitelů rozlišuje kvalitu hovězího masa na základě jeho křehkosti, což z něj činí hlavní charakteristiku konzumace hovězího masa následovanou chutí a šťavnatostí (Boleman et al., 1997; Spanier et al., 1997; Loop and Weber, 2005; Nowak, 2005; Duran and Ardic, 2014; Dujková *et al*. 2016).

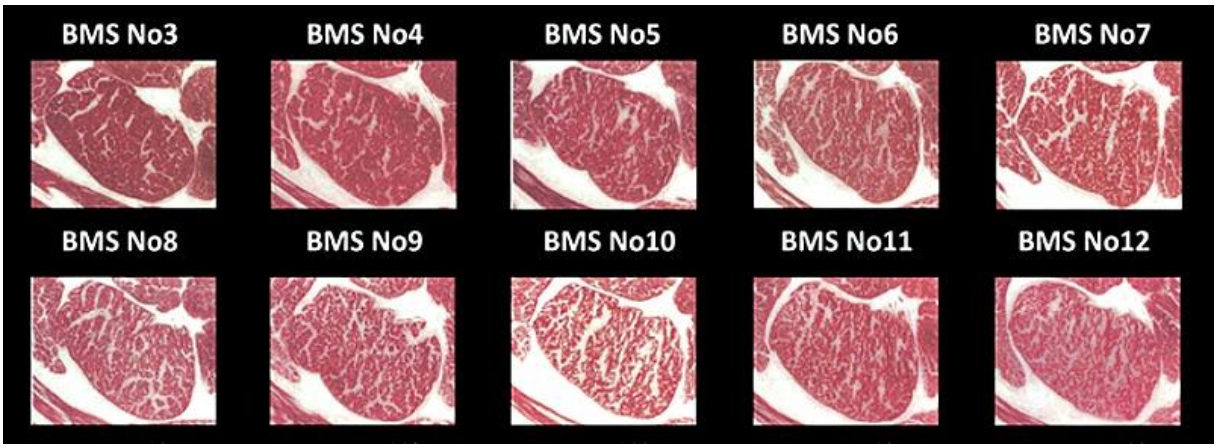
Existuje velké množství parametrů, které ovlivňují výslednou kvalitu hovězího masa. Na senzorické parametry hovězího masa má významný vliv:

- Pohlaví
  - jalovice mají nejkřehčí a nejšťavnatější maso, voli mají křehčí a šťavnatější maso než býci (Pipek et al., 2003; Jeleníková et al., 2008; Filipčík and Šubrt, 2009; Zhang et al., 2010; Bureš and Bartoň, 2012)
- Stáří zvířete
  - optimální stáří je u skotu 18-24 měsíců, tzn. kategorie „mladý býk“ a „jalovice“ (Campo et al., 2000; Sañudo et al., 2004; Filipčík and Šubrt, 2009; Bureš and Bartoň, 2012)
- Plemeno
  - nejkvalitnější je maso z masného (Wagyu, Aberdeen Angus, Belgický modrý skot, Blonde d'Aquitaine, Galloway, Hereford, Charolais, Limousinský skot, Gasconne, Masný simentálský skot) popř. kombinovaného plemene (Český strakatý skot, Normandský skot) (Campo et al., 2000; Sañudo et al., 2004; Bown et al, 2016)
- Druh masa
  - část JUT, ze které maso pochází (svíčková, vysoký a nízký roštěnec – nejméně namáhané části, maso je měkké a křehké, spodní šál – nejvíce namáhaná část zadní kýty, maso je poměrně tuhé (Basset et al., 2000)
- Množství tuku

- intramuskulární tuk, resp. „mramorování“ masa zvyšuje křehkost a chutnost masa, např. plemeno Wagyu je typické svým silným mramorováním masa (Basset et al., 2000)

- Způsob a délka zrání masa
  - balení masa v průběhu zrání - balení pod ochrannou atmosférou zamezí přístupu kyslíku a tím omezí množení mikroorganismů, nejčastěji se ochranná atmosféra skládá z dusíku a oxidu uhličitého, což může ovlivňovat barvu masa, atmosféra může být i zcela odstraněna - vakuové balení, prodlužuje trvanlivost masa
  - délka zrání - během skladování masa se mění jeho senzorické vlastnosti (křehkost, šťavnatost, chuť a vůně) vlivem oxidace lipidů, mikrobiální činnosti, biochemických změn (rozklad bílkovin)
  - metoda zrání masa – mokré či suché zrání - u suché varianty zraje maso v suchém prostředí, pověšené ve větších kusech ve speciálně upravených lednicích, u mokré varianty dochází k uchování ve vakuových sáčcích (Locker and Hagyard, 1963; Epley, 1992; Koohmaraie, 1994; Resconi, 2013; Dashdorj et al., 2016; Jůzl and Müllerová, 2017; Terjung et al., 2021).

Jedním z významných parametrů ovlivňujících výslednou kvalitu masa je plemeno. Purchas a Barton (1976) či Koohmaraie et al. (1995) uvádí, že existují plemena, která produkují křehčí maso než ostatní plemena. Plemeno Wagyu je původní japonské plemeno. Zvířata jsou černého nebo červeného celopláštového zbarvení, geneticky rohatá. Wagyu jsou zvířata neobyčejně zdravá a dokáží se bez problémů přizpůsobit širokému spektru klimatických podmínek (Krejčová, 2017). Jedinci tohoto plemene mají vynikající jatečnou hodnou, jsou jedineční kvalitou masa, mramorované maso lze získat jak z pastevního chovu, tak z intenzivního výkrmu, protože je dáno genetickou predispozicí (Český svaz chovatelů masného skotu, 2025). Wagyu jsou zlepšovateli mramorování masa (Obr. 1) a kříženci dosahují lepšího zatřídění jatečně upraveného těla (Radunz et al., 2009; Motoyama et al., 2016). Wagyu samice jsou méně osvalené, ale mramorování je mnohem jemnější a rovnoměrně rozptýlené po celém svalu. Velmi specifický způsob chovu i technika výkrmu japonského Wagyu měly za následek vznik takových vlastností, které v průběhu let vedly k vzniku nynějšího světovému standardu, co se týče chuti a jemnosti masa. Jen těžko lze nalézt maso srovnatelných vlastností a kvality (Český svaz chovatelů masného skotu, 2025; Müler, 2025).



Obr. 1: Japonský systém hodnocení mramorování masa pomocí stupnice BMS od 3 do 12 (Müler, 2025).

Dalším z významných parametrů, které mají vliv na výslednou kvalitu masa je průběh procesu jeho zrání. Během doby od porážky zvířete do konzumace masa musí proběhnout přirozený chemický proces zrání, při němž se mění struktura svalové a později i pojivové tkáně a probíhá proteolýza klíčových myofibrilárních proteinů, která je hlavním důvodem pro zlepšení křehkosti masa (Koohmaraie, 1994). Také se vytvářejí se aromatické látky (Resconi, 2013). Zrání hovězího masa je totiž nezbytným procesem pro zlepšení atributů kvality masa, tzn. zvýšení křehkosti, zintenzivnění vůně a zlepšení a zintenzivnění chuti (Ouali, 1990; Epley, 1992; Campbell et al., 2001). Proces známý jako mokré nebo vakuové zrání se rozšířil s rozvojem vakuového balení (Dashdorj et al., 2016). Vakuové balení se používá k ochraně masa před zkažením a vysycháním při skladování pro zrání v chladícím prostředí. Mokré zrání však může být úspěšné pouze s nízkými zbytkovými tlaky a regulací teploty při -1 až 2 °C. Mokré zrání je nejdominantnější metodou balení v současném masném průmyslu díky souvisejícím výhodám, pokud jde o ekonomické (výrazné snížení hmotnosti produktu, ztráta odřezků), výrobní (méně potřebného prostoru, přizpůsobitelné automatizaci, efektivní tok produktů), mikrobiální (prodloužená údržnost) a senzorické (vynikající chuťové vlastnosti) faktory (Kim et al., 2018). Většina chuťových vlastností se se zráním masa za mokra zlepšuje (Dashdorj et al., 2016).

Cílem této studie bylo sledování vývoje pH, hmotnostních ztrát grilováním, a především křehkosti masa býků plemene Wagyu a jeho kříženců v průběhu čtyř týdnů zrání, jelikož křehkost masa je jedním ze základních parametrů, dle nějž spotřebitelé posuzují kvalitu hovězího masa.

MATERIÁL A METODIKA

Za účelem získání vzorků pro analýzu senzorických parametrů masa býků plemene Wagyu bylo poraženo deset býků plemene Wagyu a jeho kříženců (Obr. 2, 3) (čtyři 100% Wagyu, tři 82% Wagyu a tři 75% Wagyu křížení s plemenem Český strakatý skot). Zvířata pocházela z provozu VÚCHS Rapotín. Býci byli chováni intenzivním způsobem ve stájovém systému chovu. Průměrný věk býků plemene Wagyu byl 29 měsíců a průměrná hmotnost 618 kg. Směsná krmná dávka (TMR), která byla podávána v průběhu výkrmu, byla složena z následujících komponent: kukuřičná siláž (63,8 % - 68,6 %), seno (2,9 % - 4,3 %) a doplňková krmná směs (28,6 % – 31,9 %), 10,10 kg - 10,77 kg sušiny KD. Tato krmná dávka byla v průběhu výkrmu krmena ad libitum. Porážka všech zvířat a bourání JUT proběhly na jatkách v Poličce. V tomto provozu probíhalo také chlazení a odběr vzorků masa. Jako vzorky byly použity vždy plátky vysokého roštěnce *M. longissimus dorsi*. Z jatek byl dovezen celý vysoký roštěnec, který byl okamžitě po přivezení do bourárny VÚCHS Rapotín rozdělen na plátky o výšce 2,5 cm (Obr. 5), přičemž každý plátek masa byl ihned vakuově zabalen zvlášť. Zrání probíhalo ve tmě v lednici při konstantní teplotě 2 °C. Intervaly zrání byly stanoveny na 7, 14, 21 a 28 dní od porážky.



Obr. 2: Býk plemene Wagyu (vlevo), býk kříženec plemene Wagyu (vpravo)



Obr. 3: Býk plemene Wagyu

Před grilováním bylo měřeno pH, měření probíhalo v řezné ploše svalu sondou Testo602-pH2, CONRAQD. Vzorky byly grilovány bez přidaného tuku na oboustranném grilu při vyhřátí grilovacích ploten na teplotu 180°C. Doba grilování vzorku byla 5 minut. Hmotnostní ztráta tepelnou úpravou grilováním byla stanovena vážením vzorků před grilováním a po grilování a následném 5 min okapání. Procentuální hmotnostní ztráta byla spočítána = ((hmotnost masa za syrova – hmotnost po grilování a následném okapání)/hmotnost masa za syrova) x 100. Po odkapání byl plátek nakrájen na cca 5 hranolků o síle 1,5 cm, Střižná síla v kg nutná k přestřižení hranolku masa pro zjištění křehkosti byla měřena pomocí deseti řezů nožem Warner-Bratzler ve tvaru obráceného písmena V na texturometru TA.XT. plus Stable Micro System ™. (Obr. 4). Rychlost sondy při řezání vzorku byla 3,33 $mm.sec^{-s}$. U každého vzorku bylo provedeno 10 stanovení střižné síly. Z těchto deseti stanovení byla vypočítána průměrná hodnota.



Obr. 4: Texturometr TA.XT. plus Stable Micro System ™

Pro statistické výpočty a tvorbu grafů byl využit software pro datovou analýzu Microsoft Excel, verze 2016, statistická hodnocení byla realizována metodou Studentův T-test.

VÝSLEDKY A DISKUSE

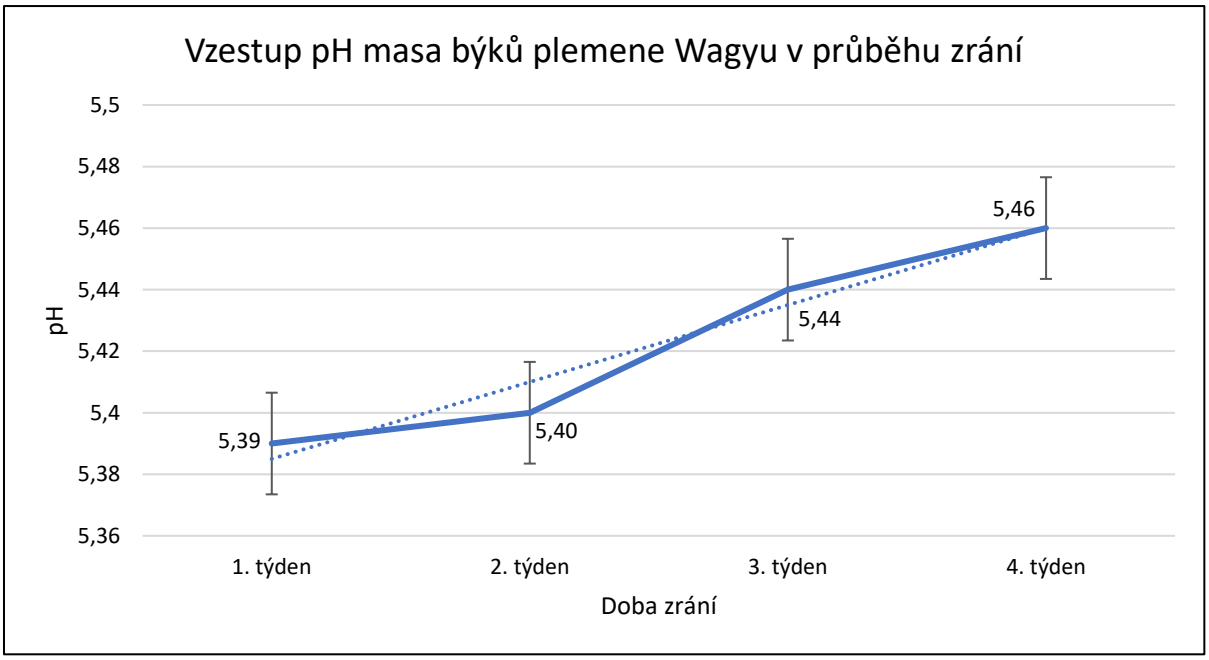
Hodnoty pH vysokých roštěnců býků plemene Wagyu a jeho kříženců v průběhu čtyř týdnů mokrého zrání jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1: pH masa býků plemene Wagyu a jeho kříženců v průběhu čtyř týdnů zrání

pH	1. týden	2. týden	3. týden	4. týden
Průměr	5,39	5,40	5,44	5,46
SD	0,10	0,15	0,06	0,04
MIN	5,26	5,11	5,36	5,41
MAX	5,60	5,64	5,57	5,51
MEDIAN	5,36	5,40	5,45	5,46

Průměrná hodnota pH byla u masa býků plemene Wagyu a jeho kříženců zjištěna 5,42. PH masa býků plemene Wagyu na počátku mokrého zrání bylo nižší než ve své studii uvádí Dufek et. al. (2018), kteří u vysokého roštěnce kříženců býků plemen Wagyu, Galloway, Charolais a Český strakatý skot naměřili průměrné pH v prvním týdnu po porážce 5,66. Výsledky pH naměřeného na počátku zrání jsou blízké studii Huidobra et al. (2003), kteří zjistili u masa devíti jalovic a osmi býků kříženců plemen Charolais, Limousin, Brown Swiss a Avileña-Negra Ibérica v prvním týdnu po porážce pH 5,5. PH masa býků plemene Wagyu a jeho kříženců je také nižší, než prezentovali ve studii Dufek et al. (2015), kteří zjistili průměrnou hodnotu pH v průběhu čtyř týdnů zrání u býků plemene Charolais 5,58, u plemene Limousine 5,71 a u plemene Hereford 6,00. U hodnot pH masa býků plemene Wagyu a jeho kříženců byl zjištěn standardní vývoj změn pH v průběhu zrání masa (Graf 1).

Graf 1: Vzestupné trendy pH v průběhu čtyř týdnů zrání masa býků plemene Wagyu a jeho kříženců



Hodnoty hmotnostní ztráty grilováním (%) vysokých roštěnců býků plemene Wagyu a jeho kříženců v průběhu čtyř týdnů mokrého zrání jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka 2: Hmotnostní ztráty grilováním (%) masa býků plemene Wagyu a jeho kříženců v průběhu čtyř týdnů zrání

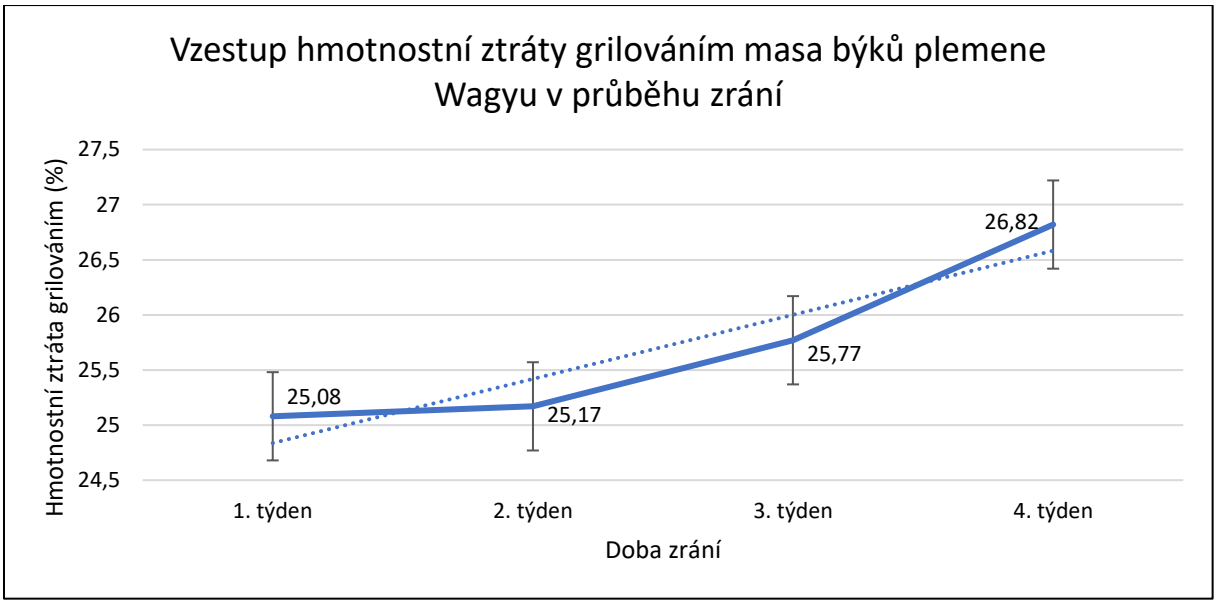
Hmotnostní ztráta grilováním (%)	1. týden	2. týden	3. týden	4. týden
Průměr	25,08	25,17	25,77	26,82
SD	5,63	4,64	6,43	6,15
MIN	13,86	18,13	18,10	19,33
MAX	32,61	32,52	37,97	38,27
MEDIAN	26,67	25,71	25,51	25,78

Průměrná hmotnostní ztráta grilováním byla u masa býků plemene Wagyu a jeho kříženců zjištěna 25,71 %. Lee et al. (2009) se zabývali porovnáním fyzikálně-chemických vlastností hovězího masa Hanwoo jakostní třídy stupeň 1 (HW1) a hovězího masa Wagyu z Austrálie. Hmotnostní ztráta vařením u australského hovězího masa Wagyu vykazovala nejvyšší hodnotu 23,77 %. Dufek *et al.* (2018) hodnotili hmotnostní ztráty grilováním v průběhu čtyř týdnů zrání vysokého roštěnce u býků kříženců plemen Wagyu, Galloway, Charolais a Český strakatý skot. V průběhu zrání masa zjistili podobný vývoj hmotnostních ztrát grilováním, avšak celkově vyšší hodnoty. V průběhu zrání zjistili průměrné hmotnostní ztráty grilováním 30,3 % tři dny po porážce, 32,24 % po dvou týdnech zrání, 33,36 % po třech týdnech zrání a 33,06 % po čtyřech týdnech zrání (max. 43,55 %). Podobné počáteční hodnoty hmotnostních ztrát grilováním jako u býků plemene Wagyu zjistili Hanzelková et al. (2011), kteří studovali zrání masa 72 zvířat (34 býků, 38 jalovic) plemen Galloway, Simmental, Charolais, Český strakatý skot a jejich kříženců. Po porážce zjistili průměrnou hmotnostní ztrátu grilováním 25,3 %, avšak po dvou týdnech zrání již 32,2 %, po čtyřech týdnech zrání 32,2 % a po šesti týdnech zrání 34,0 %. Hmotnostní ztráta grilováním však u těchto zvířat vykazovala rychlejší vzrůst oproti masu býků plemene Wagyu. Plemeno Wagyu tedy vykazuje oproti masu ostatních plemen nižší hmotnostní ztráty po tepelné úpravě.

Bylo zjištěno, že v průběhu zrání dochází u masa býků plemene Wagyu ke statisticky významnému ($p \leq 0,05$) nárůstu hmotnostních ztrát grilováním (Tabulka 2, Graf 2). Tato zjištění potvrzují výsledky Dufka *et al.* (2018), kteří také zjistili, že u hmotnostních ztrát grilováním u masa býků kříženců plemen Wagyu, Galloway, Charolais a Český strakatý skot v průběhu zrání dochází ke statisticky průkaznému zvyšování ($p \leq 0,01$). Stejných výsledků dosáhli i Hanzelková et al. (2011), kteří zjistili u masa býků Galloway, Simmental, Charolais,

Český strakatý skot a jejich kříženců v průběhu šesti týdnů zrání statisticky průkazné zvyšování ($p \leq 0{,}001$) hmotnostních ztrát vařením.

Graf 2: Vzestupné trendy hmotnostní ztráty grilováním (%) v průběhu čtyř týdnů zrání masa býků plemene Wagyu a jeho kříženců



Hodnoty střižné síly (kg) vysokých roštěnců býků plemene Wagyu a jeho kříženců v průběhu čtyř týdnů mokrého zrání jsou uvedeny v tabulce 3. Průměrná hodnota střižné síly vyjadřující křehkost masa byla u masa býků plemene Wagyu a jeho kříženců zjištěna 2,14 kg. Vysoká křehkost masa plemene Wagyu souvisí s vysokým obsahem intramuskulárního tuku, resp. „mramorováním“ masa, které zvyšuje jeho křehkost (Basset et al., 2000, Motoyama et al., 2016). Lee et al. (2009) při porovnání fyzikálně-chemických vlastností hovězího masa Hanwoo jakostní třídy stupeň 1 (HW1) a hovězího masa Wagyu z Austrálie naměřili nižší hodnoty střižné síly Warner-Bratzlera (WBSF) u hovězího masa Wagyu z Austálie, a to 2,81 kg.

Tabulka 3: Hodnoty střižné síly (kg) masa býků plemene Wagyu a jeho kříženců v průběhu čtyř týdnů zrání

Střižná síla (kg)	1. týden	2. týden	3. týden	4. týden
Průměr	3,27	2,91	1,24	1,11
SD	0,97	0,65	0,85	0,64
MIN	1,97	1,29	0,56	0,29
MAX	4,68	3,81	2,65	1,95
MEDIAN	3,28	2,77	1,28	1,14



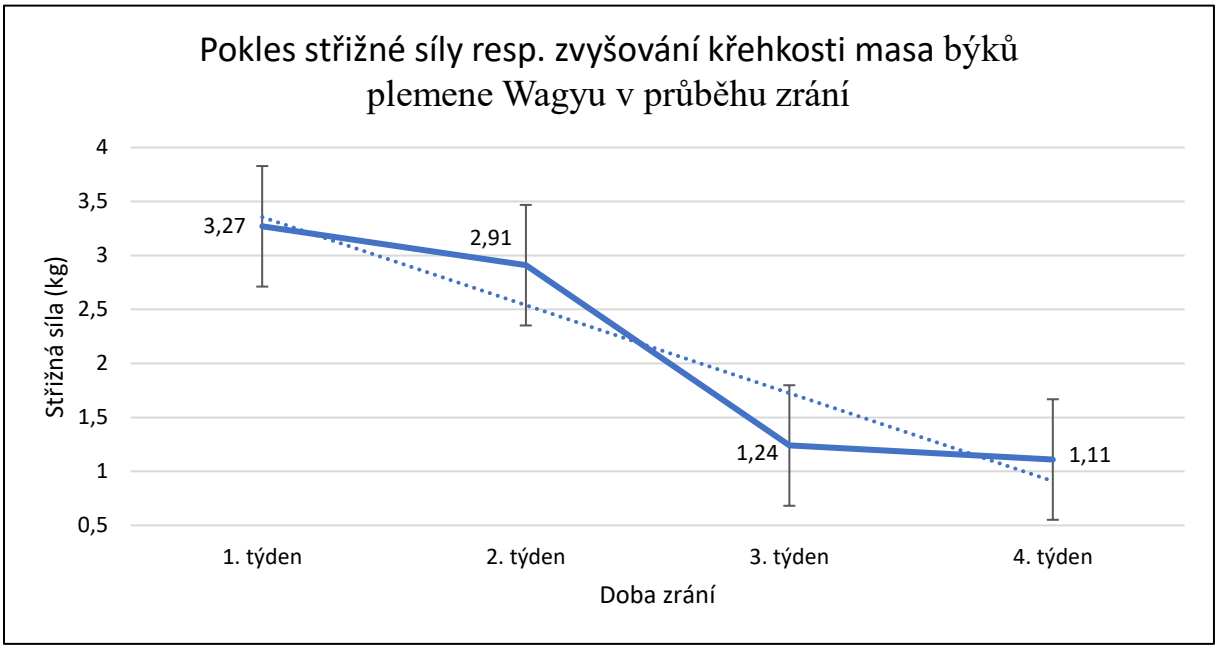
Obr. 5: Maso býka 75% kříženec plemene Wagyu s plemenem Český strakatý skot po porážce

Dikeman et al. (2005) studovali křehkost masa různých plemen skotu. U 7179 vzorků nízkých roštěnců plemen Aberdeen Angus, Brahman, Brangus, Charolais, Gelbvieh, Hereford, Limousin, Maine-Anjou, Red Angus, Salers, Shorthorn, Simbrah, Simmental, a South Devon stanovili průměrnou hodnotu pro hovězí maso 4,61 kg (1,84 kg – 13,14 kg). Maso býků plemene Wagyu je tedy křehčí než průměrné hovězí maso. Tatum (2006) srovnával charakteristiky křehkosti hovězího masa pro několik nejrozšířenějších plemen skotu v produkčních systémech USA. Uvádí, že průměrná střižná síla u masa býků plemene Aberdeen Angus je 4,0 kg, u plemene Hereford činí 4,1 kg, u Red Angus 4,1 kg, u plemene Charolais 4,3 kg, u plemene Gelbvieh 4,5 kg, u Limusine činí 4,3 kg a u plemene Simental 4,3 kg. Friederich et al. (2015) u masa 48 volů plemene Galloway naměřili průměrnou střižnou sílu 4,56 kg. Lze tedy konstatovat, že křehkost masa býků plemene Wagyu byla vyšší oproti jiným plemenům, křehkostí jej lze spíše srovnávat s křehkostí masa krůtího (1,78 kg) nebo s masem lososa (1,02 kg) (Dujková et al., 2016). Nicméně křehkost masa je i v rámci jednotlivých plemen vysoce variabilní, jelikož Dufek et al. (2015b) ve studii křehkosti masa býků plemene Aberdeen Angus uvádí průměrnou střižnou sílu 8,24 kg (2,78 kg - 18,92 kg), srovnatelných hodnot střižné síly masa (se studií Tatum, 2006) bylo dosaženo až po 28 dnech zrání (4,81 kg).

Zvyšující se křehkost masa v průběhu zrání, resp. pokles střižné síly u vysokého roštěnce býků plemen Wagyu a jeho kříženců v průběhu zrání (Tabulka 3, Graf 3) byl statisticky vysoce významný ($p \leq 0,01$), což potvrzují práce Dufka et al. (2015a) u křehkosti masa býků

plemen Charolais, Limousine a Hereford a především práce Dufka *et al.* (2018), kteří dospěli u kříženců býků plemene Wagyu ke stejným závěrům. Radunz et al. (2009) porovnávali křehkost masa plemene Aberdeen Angus a Wagyu v průběhu zrání. Maso obou plemen mělo podobnou ($p > 0,50$) křehkost po dobu zrání 72 hodin a 14 dnů, což potvrzuje výsledky u plemene Wagyu a kříženců. V průběhu čtyř týdnů zrání masa došlo ke snížení střižné síly, resp. zvýšení křehkosti masa u býků plemene Wagyu a jeho kříženců o 11,01 % po dvou týdnech zrání, o 62,08 % po třech týdnech zrání a o 66,06 % po čtyřech týdnech zrání. Nejvyššího poklesu střižné síly, resp. nejvýraznějšího zvýšení křehkosti došlo tedy mezi druhým a třetím týdnem zrání masa.

Graf 3: Pokles střižné síly (%) v průběhu čtyř týdnů zrání masa býků plemene Wagyu a jeho kříženců



ZÁVĚR

Požadavky spotřebitelů na potraviny se neustále zvyšují. Dnešní spotřebitelé požadují bezpečné a vysoce kvalitní potravinářské produkty, tzn. vyzrálé, křehké, šťavnaté a chutné maso se stálou kvalitou. Kvalitě masa a procesu jeho zrání je tedy v současnosti věnována zvýšená pozornost. V průběhu čtyř týdnů zrání masa býků plemene Wagyu a jeho kříženců byl zjištěn standardní vývoj změn pH. U masa býků plemene Wagyu a kříženců došlo v průběhu zrání ke statisticky významnému ($p \leq 0,05$) nárůstu hmotnostních ztrát grilováním. Hmotnostní ztráty grilováním byly však oproti ostatním plemenům nižší. Zvyšující se křehkost masa v průběhu zrání, resp. pokles střižné síly u vysokého roštěnce býků plemene Wagyu a kříženců byl statisticky vysoce významný ($p \leq 0,01$). Oproti ostatním plemenům je maso plemene

Wagyu výjimečně křehké. Vysoká křehkost masa plemene Wagyu souvisí s vysokým obsahem intramuskulárního tuku, resp. „mramorováním“ masa, které zvyšuje jeho křehkost. Pro optimální křehkost masa býků plemene Wagyu i jeho kříženců je dostatečná doba zrání masa tři týdny, jelikož v posledním týdnu zrání již nedošlo k výraznému zvýšení křehkosti masa.

PODĚKOVÁNÍ

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1225.

POUŽITÁ LITERATURA

1. BASSET, O. - BUQUET, B. - ABOUELKARAM, S. - DELACHARTRE, P. - CULIOI, J. Application of texture image analysis for the classification of bovine meat. *Food Chemistry*. ISSN 0308-8146, 2000, vol. 69, no 4, p. 437-445.
2. BARTON-GADE, P. A. - CROSS, H. R. - JONES, J. M. - WINGER, R. J. Factors affecting sensory properties of meat. In CROSS, H. R. - OVERBY, A. J. Meat science, milk science and technology. Elsevier, Amsterdam, 5. edition, 1988, 458 p. ISBN 9780444425782.
3. BEHRENDS, J. M. (2004): Metmyoglobin reducing ability and visual characteristics of nine selected bovine muscles. A Dissertation. Texas A&M University.
4. BOLEMAN, S. J. - BOLEMAN, S. L. - MILLER, R. K. - TAYLOR, J. F. - CROSS, H. R. – WHEELER, T. L. - KOOHMARAIE, M. - SHACKELFORD, S. D. - MILLER, M. F. - WEST, R. L. - JOHNSON, D. D. - SAVELL, J. W. Consumer evaluation of beef of known categories of tenderness. *Journal of Animal Science*. ISSN 0021-8812, 1997, vol. 75, no 6, p. 1521-1524.
5. BOWN, M. D. - MUIR, P. D. - THOMSON, B. C. Dairy and beef breed effects on beef yield, beef quality and profitability: a review. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. ISSN 00288233, 2016, vol. 59, no. 2, p. 174-184.
6. BREWER, S. - NOVAKOFSKI, J. Consumer sensory evaluations of aging effects on beef quality. *Journal of Food Science*. ISSN 1750-3841, 2008, vol. 73, no. 1, p. 78-82.
7. BUKALA, J. - KEDZIOR, W. Consumer criteria of quality of meat and meat products. 47 ICoMST, 2001, p. 262-263.
8. BUREŠ, D. - BARTOŇ, L. Growth performance, carcass traits and meat quality of bulls and heifers slaughtered at different ages. *Czech Journal of Animal Science*, ISSN 1212-1819, 2012, vol. 57, no. 1, p. 34-43.

9. CAINE, W. R. - AALHUS, J. L. - BEST, D. R. - DUGAN, M. E. R. - JEREMIAH, L. E. Relationship of texture profile analysis and Warner-Bratzler shear force with sensory characteristics of beef rib steaks. *Meat Science.* ISSN 0309-1740, 2003, vol. 64, no. 4, p. 333-339.
10. CAMPO, M. M. – SANTOLARIA, P. – SAÑUDO, C.- LEPETIT, J. – OLLETA, J. L.- PANEA, B. – ALBERTÍ, P. Assessment of breed type and ageing time effects on beef meat quality using two different texture devices. *Meat Science.* ISSN 0309-1740, 2000, vol. 55, no. 4, p. 371-378.
11. CAMPBELL, R. E. - HUNT, M. C. - LEVIS, P. – CHAMBERS, E. Dry-aging effects on palatability of beef longissimus muscle. *Journal of Food Science.* ISSN 0022-1147, 2001, vol. 66, no 2, p. 196-199.
12. ČESKÝ SVAZ CHOVATELŮ MASNÉHO SKOTU Wagyu. Základní charakteristika plemene. [On-line]. [Citováno dne 26.03.2025]. Dostupné z: https://www.cschms.cz/index.php?page=pl_info&plid=18
13. DASHDORJ, D. – TRIPATHI, V. K. – CHO, S. – KIM, Y. – HWANG, I. Dry aging of beef; Review. *Journal of Animal Science and Technology*. ISSN 2672-0191**,** 2016, vol. 58, no 20.
14. DIKEMAN, M. E. - POLLAK, E. J. - ZHANG, Z. - MOSER, D. W. - GILL, C. A. - DRESSLER, E. A. Phenotypic ranges and relationships among carcass and meat palatability traits for fourteen cattle breeds, and heritabilities and expected progeny differences for Warner-Bratzler shear force in three beef cattle breeds. *Journal of Animal Science*. ISSN 0021-8812, 2005, vol. 83, no. 10, p. 2461–2467.
15. DUFEK, A. - VESELÝ, A. - VACÁTKO, E. - LÁTAL, O. Kvalita masa býků-kříženců plemene wagyu poražených ve dvou věkových skupinách z extenzivního chovu. *Výzkum v chovu skotu.* ISSN 0139-7265, 2018, vol. 60, no. 2, p. 13-23.
16. DUFEK, A. - NAVRÁTIL, L. - VACÁTKO, E. - HULOVÁ, I. Zhodnocení křehkosti grilovaného hovězího masa v průběhu suchého zrání u býků tří plemen. *Výzkum v chovu skotu.* ISSN 0139-7265, 2015a, vol. 57, no. 3, p. 2-11.
17. DUFEK, A. - VACÁTKO, E. - HULOVÁ, I. - NAVRÁTIL, L. – ŠKROBÁK, F. Analýza hmotnosti telat, křehkosti masa býků a délky mezidobí u krav aberdeen-anguského plemene ve vybrané oblasti ČR. *Výzkum v chovu skotu.* ISSN 0139-7265, 2015b, vol. 57, no. 2, p. 2-10.
18. DUJKOVÁ, R. - DUFEK, A. – NAVRÁTIL, L. Křehkost grilovaného, soleného a vyzrálého masa u pěti druhů zvířat. *Výzkum v chovu skotu.* ISSN 0139-7265, 2016, vol. 58, no. 2, p. 2-8.

19. DURAN, A. – ARDIC, M. Meat tenderness. *International Journal of Multidisciplinary Thought*. ISSN 2156-6992, 2014, vol. 4, no. 3, p. 259–263.
20. EPLEY, R. J. Aging beef. Produced by the Educational Development System, Minnesota Extension Service. 1992 [On-line]. [Citováno dne 18.03.2025]. Dostupné z: https://hdl.handle.net/11299/51510
21. FAUSTMAN, C. - CASSENS, R. G. The biochemical basis for discoloration in fresh meat: A review. *Journal of Muscle Foods*. ISSN 104607561, 1990, p. 217-243.
22. FIEDLEROVÁ, A. (2022): Chování spotřebitele při nákupu masa a masných výrobků v Praze. Bakalářská práce. Ekonomika a management, AMBIS vysoká škola, a.s.
23. FILIPČÍK, J. - ŠUBRT, M. The factors influencing beef quality in bulls, heifers and steers. *Slovak Journal of Animal Science*. ISSN 1337-9984, 2009, vol. 42, no 2, p. 54–61.
24. FRIEDRICH, M. S. – SCHIFFER, K. J. – RETZ, S. – STEHLING, C. – SEUß-BAUM, I. – HENSEL, O. The Effect of On-Farm Slaughter via Gunshot and Conventional Slaughter on Sensory and Objective Measures of Beef Quality Parameters. *Journal of Food Research*. ISSN 1927-0887, 2015, vol. 4, no. 2, p. 1439-1446.
25. HANZELKOVÁ, Š. - SIMEONOVOVÁ, J. – HAMPEL, D. – DUFEK, A. – ŠUBRT, J. The effect of breed, sex and aging time on tenderness of beef meat. *Acta Veterinaria Brno*. ISSN 0001-7213, 2011, vol. 80, p. 191–196.
26. HOOD, D. E. - RIORDAN, E. B. Discolouration in pre-packaged beef: measurement by reflectance spectrophotometry and shopper discriminatiom. *Journal of Food Technology*. ISSN 1684-8462, 1973, vol. 8, p. 333–343.
27. HUIDOBRO, F. R. - MIGUEL, E. - ONEGA, E. - BLÁZQUEZ B. Changes in meat quality characteristics of bovine meat during the first 6 days post mortem. *Meat Science.* ISSN 0309-1740, 2003, vol. 65, no. 4, p. 1439-1446.
28. JELENÍKOVÁ, J. – PIPEK, P. – STARUCH, L. The influence of ante mortm treatment relationship between pH and tenderness of beef. *Meat Science.* ISSN 0309-1740, 2008, vol. 80, p. 870–874.
29. JŮZL, M. – MÜLLEROVÁ, M. Hovězí maso - nedílná součást našeho jídelníčku. *Výživa a potraviny.* ISSN 1211-846X, 2017, vol. 4, p. 100-104.
30. KIM, Y. H. B. – MEYERS, B. – KIM, H. W. – LICEAGA, A. M. – LEMENAGER, R. P. Effects of stepwise dry/wet-aging and freezing on meat quality of beef loins. *Meat Science*. ISSN 0309-1740, 2017, vol. 123, p. 57-63.
31. KOOHMARAIE, M. – WHEELER, T. L. – SHACKELFORD, S. D. Beef tenderness: regulation and prediction. *Meat Animal Research Center*. 1995, vol. 9, p. 1-25.

32. KOOHMARAIE, M. Muscle proteinases and meat aging. *Meat Science.* ISSN 0309-1740, 1994, vol. 36, no. 1–2, p. 93-104.
33. KREJČOVÁ, H. Chov a hodnocení užitkových vlastností plemene Wagyu a jeho kříženců – review. *Výzkum v chovu skotu.* ISSN 0139-7265, 2017, vol. 59, no. 3, p. 21-28.
34. LEE, J. M. - KIM, T. W. - KIM, J. H. - CHO, S.-H. - SEONG, P. N. - JUNG, M. O. - CHO, Y. M. - PARK, B. Y. - KIM, D. H. Porovnání chemických, fyzikálních a smyslových vlastností hovězího Longissimus Lumborum Hanwoo a australského hovězího Wagyu. *Food Science of Animal Resources.* ISSN: 2636-0772, 2009, vol. 29, no. 1, p. 91–98.
35. LOCKER, R. H. - HAGYARD, C. J. A cold shortening effect in beef muscles. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. ISSN 0022-5142, 1963, vol. 14, no. 11, p. 787-793.
36. LOOP, A. - WEBER, H. Untersuchungen zur Optimierung der Zartheit von Rindfleisch. *Fleischwirtschaft.* ISSN 0015-363X, 2005, vol. 85, no. 3, p. 111-116.
37. MOTOYAMA, M. – SASAKI, K. - WATANABE, A. Wagyu and the factors contributing to its beef quality: A Japanese industry overview. *Meat Science.* ISSN 1873-4138, vol. 120, 2016, p. 10-18.
38. MÜLER, J. O Wagyu. Wagyufarm Müler. [On-line]. [Citováno dne 01.04.2025]. Dostupné z: https://www.wagyufarm.cz/o-wagyu/
39. NOWAK, D. Enzymes in tenderization of meat - The system of calpains and other systems - a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. ISSN 1230-0322, 2011, vol. 61, no 4, p. 231-237.
40. OUALI, A. Meat tenderization: possible causes and mechanisms. a review. *Journal of Muscle Foods.* ISSN 10460756, 1990, vol. 1, no. 2, p. 129-165.
41. PIPEK, P. – HABERL, A. – JELENÍKOVÁ, J. Influence of slaughterhouse handling on the quality of beef carcasses. *Journal of Animal Science*. ISSN 0021-8812, 2003, vol. 9, p. 371–378.
42. PURCHAS, R.W. - BARTON, R.A. The tenderness of meat of several breeds of cattle raised under New Zealand pastoral conditions. *New Zealand Journal of Agricultural Research.* ISSN 1175-8775, 2012, vol. 19, no. 4, p. 421-428.
43. RADUNZ, A. E. - LOERCH, S. C. - LOWE, G. D. - FLUHARTY, F. L. - ZERBY, H. N. Effect of Wagyu versus Angus-sired calves on feedlot performance, carcass characteristics, and tenderness. *Journal of Animal Science*. ISSN 0021-8812, 2009, vol. 87, no 9, p. 2971–2976.

44. RESCONI, V. C. – ESCUDERO, A. – CAMPO, M. M. The development of aromas in ruminant meat. *Molecules*. ISSN 1420-3049, 2013, vol. 18, no. 6, p. 6748-6781.
45. SAÑUDO, C. – SMACIE, E. – LOLLETA, J. – VILLARROEL, M. – PANEA, B. – ALBERTÍ P. The effects of slaughter weight, breed type and ageing time on beef meat quality using two different texture devices. *Meat Science*. ISSN 0309-1740, 2004, vol. 66, no. 4, p. 925-932.
46. SPANIER, A. M. - FLORES, M. - MCMILLIN, K. W. - BIDNER, T. D. The effect of post-mortem aging on meat flavor quality in Brangus beef. Correlation of treatments, sensory, instrumental and chemical descriptors. *Food Chemistry,* ISSN 0308-8146, 1997, vol. 59, no. 4, p. 531-538.
47. SUMAN, S. P. - HUNT, M. C. - NAIR, M. N. - RENTFROW, G. Improving beef color stability: practical strategies and underlying mechanisms. *Meat Science,* ISSN 0309-1740, 2014, vol. 98, no. 3, p. 490-504.
48. TATUM, J. D. (2006): Pre-harvest cattle management practices for enhancing beef tenderness. Executive summary. National Cattlemen's Beef Asociation. [On-line]. [Citováno dne 31.01.2025]. Dostupné z: https://www.agrireseau.net/bovinsboucherie/documents/PreHarvest%20Cattle%20Management%20Practices%20for%20Enhancing%20Beef%20Tenderness.pdf
49. TERJUNG, N. – WITTE, F. – HEINZ, V. The dry aged beef paradox: Why dry aging is sometimes not better than wet aging. *Meat Science*. ISSN 1873-4138, 2021, vol. 172, no 4.
50. ZHANG, Y. Y. – ZAN, L. S. – WANG, H. B. – XIN, Y. P. – ADOLIGBE, C. M. – UJAN, J. A. Effect of sex on meat quality characteristics of Qinchuan cattle. *African Journal of Biotechnology*. ISSN: 1684-5315, 2010, vol. 9, no. 28, p. 4504-4509.

Kontaktní adresa: Mgr. Blanka Zábrodská, Ph.D.; Agrovýzkum Rapotín s.r.o.; Zemědělská 2520/16, 787 01 Šumperk, Česká republika; Tel.: +420 583 392 134; E-mail: zabrodska@agrovyzkum.cz

MÄSOVÉ POKRMY AKO SÚČASŤ ŠKOLSKÉHO STRAVOVANIA Z POHĽADU HYGIENY PROCESU VÝROBY A MIKROBIOLOGICKEJ KVALITY

MEAT DISHES AS PART OF SCHOOL CATERING FROM THE PERSPECTIVE OF PRODUCTION PROCESS HYGIENE AND MICROBIOLOGICAL QUALITY

Zeleňáková Lucia*, Fikselová Martina

Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra.

ABSTRACT

The objective of this study was to monitor selected microbiological indicators of dish hygienic quality, including those related to meat-based dishes, in school catering facilities at primary and secondary schools within a selected region of Slovakia. Over a ten-month period during the school year, a total of 30 food samples were collected and analyzed, 13 of which were meat-based. The microbiological analyses demonstrated that only one sample — pizza with ham and cheese — exhibited a concentration of coliform bacteria exceeding the permissible limit (1.5×10^3 CFU/g). In all other samples, neither coliform bacteria nor other microorganisms monitored in accordance with Slovak legislation, specifically *Clostridium perfringens*, coagulase-positive staphylococci, and *Bacillus cereus*, were detected. These findings highlight a generally high level of hygiene and food safety in the school catering facilities of the examined region.

Key words: scholl catering, dishes, hygiene, microbiology, analysis

ÚVOD

Vzdelávacie inštitúcie, predovšetkým školské stravovacie programy na úrovni základných a stredných škôl, majú pri správnom nastavení potenciál prispieť k zlepšeniu stravovacích návykov, rozšíreniu výživového povedomia a zlepšeniu praktických zručností tak poskytovateľov služieb, ako aj samotných žiakov (Szakály et al., 2020).

Dôraz na implementáciu opatrení v oblasti bezpečnosti potravín v školských stravovacích programoch vyplýva najmä zo zvýšenej zraniteľnosti detí a dospievajúcich voči ochoreniam prenášaným potravinami, čo je dôsledkom ich menej vyvinutého imunitného systému v porovnaní s dospelou populáciou (Sibanyoni et al., 2017).

Významným faktorom prenosu alimentárnych ochorení je predovšetkým hydinové, bravčové a hovädzie mäso, ako aj rôznorodý sortiment mäsových výrobkov, ktoré patria medzi obľúbené potraviny spotrebiteľov. Viaceré štúdie naznačujú, že najvyššie riziko predstavujú

pokrmy pripravované v reštauračných zariadeniach a stánkoch s rýchlym občerstvením (Mayo Clinic, 2020).

Podľa systému riadenia bezpečnosti potravín sú nevyhnutnými programami povinné požiadavky, ktoré zahŕňajú správne hygienické postupy, čistenie, sanitáciu, zónovanie oblasti (vysoké riziko a nízke riziko), hodnotenie a kontrola dodávateľov, skladovanie, logistika a dodávateľský reťazec, upratovanie, personálna hygiena a tiež lekárske prehliadky. Toto všetko je súčasťou správnej výrobnej praxe, ktorá pomáha kontrolovať hygienu v každej fáze potravinového dodávateľského reťazca, aby sa zabránilo akémukoľvek druhu kontaminácie potravín (Abdullah et al., 2014; Geppert et al., 2019).

Za základ osobnej hygieny v školskom stravovacom zariadení sa považuje umývanie rúk (Fung et al., 2018). Na povrchu rúk sa môžu nachádzať mikroorganizmy, ktoré tam môžu prežívať aj niekoľko hodín. Umývanie rúk je najjednoduchší spôsob ako prechádzať kontaminácii jedál a eliminovať vznik alimentárnych ochorení u konzumentov (Vargová et al., 2016).

Zamestnanec si musí umývať ruky bezprostredne pred začatím prípravy jedál, počas prípravy jedál, po použití toalety, pred použitím rukavíc, po výmene pracovných operácií (manipulácia so surovinami a potravinami na priamu spotrebu), po manipulácii so znečisteným zariadením alebo riadom a kedykoľvek kedy by sa mohli ruky kontaminovať (napr. po dotyku podlahy, odpadkových košov atď.). Veľmi dôležité je dôkladné umytie rúk po manipulácii so surovým mäsom. Na vysušenie rúk je vhodné použiť jednorazové papierové utierky. Vlhká textilná utierka môže predstavovať vhodné prostredie pre škodlivé mikroorganizmy (Ali a Immanuel, 2017).

V potravinárskom priemysle je veľmi významná krížová kontaminácia. Za krížovú kontamináciu je možné označiť akúkoľvek činnosť, pri ktorej dôjde k prenosu škodlivých mikroorganizmov z mikrobiálne nečistých potravín, povrchov pracovných plôch, z rúk alebo nástrojov na čisté potraviny a jedlá (Sibanyoni a Tabit, 2019).

Hlavné potravinové zdroje krížovej kontaminácie:

- surové mäso (hovädzie, bravčové, jahňacie, kuracie, morčacie)
- surové ryby, mäkkýše, vajcia
- zelenina a ovocie, ktoré nie sú určené na priamu spotrebu (najmä zelenina, ktorá je viditeľné znečistená napríklad zvyškami hliny) (Nerín et al., 2016).

Dôležitým predpokladom na zabránenie krížovej mikrobiálnej kontaminácie je dodržanie vysokých hygienických noriem v prostredí spracovania potravín, a to najmä povrchov, vybavení a pomôcok, ktoré prichádzajú do styku s potravinami. Odporúča sa riadiť písmenami v anglickom slove SAFE (bezpečný). Pričom S predstavuje zamestnancov (anglicky Staff), A

predstavuje areál (anglicky Area), F ako jedlo (anglicky Food) a E predstavuje vybavenie prevádzky (anglicky Equipment) (Ripolles-Avila et al., 2019).

MATERIÁL A METÓDY

Cieľom práce bolo sledovať vybrané mikrobiologické ukazovatele hygienickej kvality pokrmov – aj mäsového charakteru – v zariadeniach školského stravovania pri základných a stredných školách vo vybranom kraji na Slovensku.



Obr. 1 Odber vzorky

Na mikrobiologický rozbor sme odoberali hotové pokrmy hodinu pred výdajom. Vzorky pokrmov v školských stravovacích prevádzkach sme odoberali do sterilných sklenených nádob so zátkou pomocou sterilných lyžíc alebo naberačiek, vyvarených pri 100 °C počas 15 minút. Každú vzorku sme odobrali zvlášť v množstve aspoň 50 g, zakryli alobalom a uzavreli zátkou. Nádoby sme označili názvom vzorky, dátumom, miestom odberu, menom odberateľa a miestom doručenia. Vzorky sme následne uložili do transportných chladničiek pri teplote 2 – 6 °C. Takto pripravené vzorky sme doručili do akreditovaného laboratória RÚVZ. Odber aj preprava prebiehali za dodržania prísnych hygienických podmienok. Analýza mikrobiologickej kvality pokrmov bola náhodná, každý mesiac sme vybrali inú školskú stravovaciu prevádzku. Za 10 mesiacov školského roka sme vyšetrili 30 vzoriek pokrmov, z toho 13 mäsového charakteru.

Metódy stanovenia a živné médiá použité na analýzu pokrmov:

1. Metóda stanovenia koliformných baktérií v hotových pokrmoch podľa STN ISO 4832:2006. VRBL – agarové médium s kryštálovou fialovou, neutrálnou červenou, žlčovými soľami, laktózou.
2. Metóda stanovenia baktérií *Clostridium perfringens* v hotových pokrmoch podľa STN EN ISO 79372. SC – agarové médium so siričitanom a cyklosterínom.
3. Metóda stanovenia koagulázopozitívnych stafylokokov v hotových pokrmoch podľa STN EN ISO 6888-1:20213. Bairdovo-Parkerovo agarové médium.
4. Metóda stanovenia *Bacillus cereus* v hotových pokrmoch podľa STN ISO EN 7932. MYP – kompletne agarové médium.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V prevádzkach školského stravovania na základných a stredných školách vo vybranom kraji sme v priebehu školského roka odobrali za každý mesiac 3 pokrmy (spolu 30 vzoriek pokrmov). V analyzovaných vzorkách hotových pokrmov sme sledovali tieto ukazovatele:

- *Clostridium perfringens*,
- koliformné baktérie,
- koagulázopozitívne stafylokoky,
- *Bacillus cereus*.

Výsledky sme vyhodnotili podľa Výnosu 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 a ich balenie. (Príloha č. 13 Pokrmy čerstvo pripravené tepelne opracované, Príloha č. 10 Výrobky zo zemiakov, Príloha č. 13 Varené, smažené, údené a sušené produkty rybolovu, a to nebalené i vákuovo balené), štvrtá hlava druhej časti Potravinového kódexu SR. Komplexné výsledky mikrobiologickej analýzy pokrmov sú uvedené v tab. 1.

Z nich vyplýva, že iba jeden pokrm – pizza so šunkou a syrom – nevyhovoval legislatívne stanoveným požiadavkám, kde boli zistené zvýšené počty koliformných baktérií a to $1{,}5.10^3$ KTJ/g.

Koliformy nie sú jediný druh organizmu. Ide o skupinu blízko príbuzných, väčšinou neškodných baktérií, ktoré žijú v pôde a vode, ako aj v črevách zvierat. Počet koliformných baktérií je hygienickým indikátorom a vysoký počet koliformných baktérií vo všeobecnosti naznačuje nehygienický stav alebo zlé hygienické postupy počas alebo po výrobe potravín (Keeratipibul et al., 2017).

Z analýz vyplynulo, že v žiadnom jedle neboli prekročené medzné hodnoty pre baktériu *Clostridium perfringens*, a to 50 KTJ/g. *Clostridium perfringens* je dôležitý anaeróbny patogén spôsobujúci gastrointestinálne ochorenia u ľudí a zvierat.

Baktérie *C. perfringens* sú prirodzenou súčasťou životného prostredia, ale aj tráviaceho traktu zvierat a ľudí. Do potravín sa dostávajú v prvom rade z čriev jatočných zvierat či infikovaných osôb manipulujúcich s potravinami. Vylúčená nie je ani kontaminácia prachom, vodou alebo znečistenými predmetmi. Najčastejšie preto bývajú kontaminované potraviny živočíšneho pôvodu (mäso, mäsové výrobky), zelenina a ovocie (Ghoneim et al., 2017; Packer et al., 2020).

Tab. 1 Zhodnotenie mikrobiologických ukazovateľov hygienickej kvality pokrmov

Mesiac	Názov pokrmu	Koliformné baktérie	*Clostridium perfingens*	Koagulázopozitívne stafylokoky	*Bacillus cereus*
január A	Polievka zeleninová	<10	-	-	-
	Polievka mrkvová so závarkou	<10	-	-	-
	Pizza so šunkou a syrom	$1{,}5.10^3$	<10	<10	<10
február B	Guľášová polievka	<10	<10	<10	<10
	Gazdovská polievka s ryžou	<10	<10	<10	<10
	Pangasius s brokolicou	<10	<10	<10	<10
marec C	Polievka cícerová so zeleninou a zemiakmi	<10	-	-	-
	Špagety	-	<10	<10	<10
	Kuracie prsia plnené syrom	-	<10	<10	<10
apríl D	Polievka brokolicová s lievankou	<10	-	-	-
	Zemiaková kaša	-	<10	<10	<10
	Bravčový rezeň zapekaný so syrom a broskyňou	-	<10	<10	<10
máj E	Polievka krúpová s mäsom	<10	-	-	-
	Hovädzie mäso varené	-	<10	<10	<10
	Knedľa	-	<10	<10	<10
jún F	Polievka kyslá zemiaková s vajcom	<10	-	-	-
	Zemiaky opekané	-	<10	<10	<10
	Kuracie prsia na kukurici	-	<10	<10	<10
september G	Polievka kalerábová s krúpkami	<10	-	-	-
	Polievka zeleninová	<10	-	-	-
	Zemiaky na francúzsky spôsob	x	<10	<10	<10
október H	Rybie filé	<10	<10	<10	<10
	Zemiaková kaša	<10	<10	<10	<10
	Polievka šampiňónová	<10	-	-	-
november I	Hovädzie na spôsob stroganov	<10	<10	<10	<10
	Polievka cibuľová s tofu syrom	<10	-	-	-
	Ryža dusená	<10	<10	<10	<10
december J	Bravčové stehno pečené	<10	<10	<10	<10
	Polievka hovädzia	<10	-	-	-
	Kurací perkelt	<10	<10	<10	<10

Rovnaká medzná hodnota (50 KTJ/g) je stanovená aj pre baktériu *Bacillus cereus*, pričom ani v jednom z odobratých vzoriek jedál nebola prekročená.

Bacillus cereus je sporulujúca baktéria produkujúca toxíny, ktorá sa bežne vyskytuje v životnom prostredí. Má schopnosť prežívať v nepriaznivých podmienkach. Táto vlastnosť prispieva k častému výskytu *B. cereus* ako kontaminanta rôznych potravinárskych produktov, ako sú hovädzie a morčacie mäso, ryža, fazuľa a zelenina. Baktéria sa môže rýchlo množiť pri izbovej teplote, pričom môže produkovať vopred vytvorený toxín. Po konzumácii kontaminovaných potravín môže tento toxín spôsobiť gastrointestinálne ťažkosti, ktoré sa prejavujú vracaním a hnačkami (Kimura et al., 2019).

Stafylokokové enterotoxíny boli zistené v rôznych druhoch potravín. Medzi tie najrizikovejšie patria predovšetkým surové mäso, hydina, ryby a výrobky z nich, mlieko a mliečne výrobky, vajcia, ale aj pekárenský sortiment. Všetko uvedené totiž predstavuje médium ideálne pre rast a rýchle množenie baktérií *S. aureus* (Fetsch et al., 2018).

Mikrobiologická kontaminácia potravín podávaných v školských stravovacích prevádzkach sa môže vyskytnúť v ktorejkoľvek fáze skladovania, manipulácie a spracovania, alebo dokonca vo fáze podávania pokrmov. Môže pochádzať z kontaminovaných surovín alebo krížovej kontaminácie zo vzduchu, vody, prachu, ľudských a živočíšnych odpadov a mnohých iných zdrojov (Garayoa et al., 2017; Lee et al., 2017).

ZÁVER

Komplexná analýza hygienického stavu školských stravovacích prevádzok je nesmierne dôležitým krokom pri zabezpečovaní zdravého a bezpečného stravovania pre študentov. Vstup do sveta vzdelávania nie je len cestou k duševnému rozvoju, ale aj k formovaniu správnych stravovacích návykov a získavaniu vedomostí o dôležitosti vyváženej a zdravej stravy.

Mikrobiologická analýza hotových jedál odoberaných počas desaťmesačného obdobia zo školských stravovacích zariadení v jednom z krajov Slovenska ukázala, že nadlimitné množstvo koliformných baktérií (1,5.10³ KTJ/g) bolo zistené iba v jednom prípade, konkrétne v pokrme pizza so šunkou a syrom. Vo všetkých ostatných jedlách neboli detegované koliformné baktérie ani ďalšie mikroorganizmy sledované podľa požiadaviek slovenskej legislatívy, ako sú *Clostridium perfringens*, koagulázopozitívne stafylokoky a *Bacillus cereus*. Tieto výsledky poukazujú na celkovo dobrú hygienickú úroveň a bezpečnosť stravovania v školských zariadeniach v danom regióne.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená projektom KEGA č. 002SPU-4/2025.

ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

1. ABDULLAH SANI, N. – SIOW, O.N. 2014. Knowledge, attitudes and practices of food handlers on food safety in food service operations at the Universiti Kebangsaan Malaysia. *Food Control*, 37, 210-217. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/ijerph18031304.
2. ALI, A.I. – IMMANUEL, G. 2017. Assessment of Hygienic Practices and Microbiological Quality of Food in an Institutional Food Service Establishment. *Journal of Food Processing and Technology*, 8(8), 1-9. Dostupné na internete: https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000685.
3. FETSCH, A. – JOHLER, S. 2018. *Staphylococcus aureus* as a Foodborne Pathogen. *Current Clinical Microbiology Reports*, 5, 88-96. Dostupné na: https://doi.org/10.1007/s40588-018-0094-x.
4. FUNG, F. – WANG, H.S. – MENON, S. 2018. Food safety in the 21st century. *Biomedical*, 41(2), 88-95. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.bj.2018.03.003
5. GARAYOA R.C. – ABUNDANCIA, M. – DÍEZ-LETURIA, A. 2017. Essential tools for food safety surveillance in catering services: On-site inspections and control of high-risk cross-contamination surfaces. *Food Control*, 75, 48-54. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.032.
6. GEPPERT, S.S. – STRUCHTRUP, R. – STAMMINGER, C. – HAARHOFF, V. – EBERT, S. – KOCH, G.F. 2019. Food safety behavior observed in German TV cooking shows. *Food Control*, 96. 205-211. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/B978-0- 323-85780-2.00002-0.
7. GHONEIM N.H. – HAMZA, D.A. 2017. Epidemiological studies on Clostridium perfringens food poisoning in retail foods. *Rev Sci Tech*, 36(3), 1025-1032. PMID: 30160688. Dostupné na: https://doi.org/10.20506/rst.36.3.2734.
8. KEERATIPIBUL, J, T. – LAOVITTAYANURAK, O. – PORNRUANGSARP, Y. – CHATU RONGKASUMRIT, H. – TAKAHASHI, P. 2017. Effect of swabbing techniques on the efficiency of bacterial recovery from food contact surfaces. *Food Control*, 77, 139-144, Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.02.013.
9. KIMURA K. – YOKOYAMA S. 2019. Trends in the application of *Bacillus* in fermented foods. *Curr Opin Biotechnol*, 56, 36-42. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.09.001.
10. LEE H. – ABDUL-HALIM, H. –THONG, K. –CHAI. L. 2017. Assessment of food safety knowledge, attitude, self-reported practices, and microbiological hand hygiene

of food handlers. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 55, 1-14. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/ijerph14010055.

11. MAYO CLINIC. 2020. Food poisoning. *Mayo Clinic*. Dostupné na: https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/food-poisoning/symptoms-causes/syc-20356230.
12. NERÍN, C. – AZNAR, M. – CARRIZO, D. 2016. Food contamination during food process. *Trends in Food Science & Technology*, 48, 63-68. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.12.004.
13. NGUYEN, A.T. – TALLENT, S.M. 2019. Screening food for Bacillus cereus toxins using whole genome sequencing. *Food Microbiol*., 78, 164-170. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.10.008.
14. PACKER, S. et al. 2020. A cohort study investigating a point source outbreak of *Clostridium perfringens* associated with consumption of roasted meat and gravy at a buffet on Mothering Sunday 2018, South West, England. *Food Control*, 112. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107097.
15. RIPOLLES-AVILA, C. – HASCOET, A.S. – MARTÍNEZ-SUÁREZ, J.V. – CAPITA,R. – RODRÍGUEZ-JERE, J.J. 2019. Evaluation of the microbiological contamination of food processing environments through implementing surface sensors in an iberian pork processing plant: An approach towards the control of 91 *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 99(1), 40-147. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.12.013.
16. SIBANYONI, J.J. – TSHABALALA, P.A. – TABIT, F.T. 2017. Food safety knowledge and awareness of food handlers in school feeding programmes in Mpumalanga, South Africa. *Food Control*, 73, 1397-1406. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/ijerph18031304.
17. SIBANYONI, J.J. – TABIT, F.T. 2019. An assessment of the hygiene status and incidence of foodborne pathogens on food contact surfaces in the food preparation facilities of schools. *Food Control*, 28, 94-99. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.11.009.
18. SZAKÁLY, Z. – KOVÁCS, B. – SZAKÁLY, M. – NAGY-PETŐ, D.T. – GÁL, T. – SOÓS, M. 2020. Examination of the eating behavior of the hungarian population based on the tfeq-r21 model. *Nutrients*, 12, 3514. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/ijerph18031304.
19. VARGOVÁ, M. – VESZELITS LAKTIČOVÁ, K. – HROMADA, R. – TOROPILOVÁ, D. – MAĽOVÁ, J. – VÝROSTKOVÁ, J. – ECKEROVÁ, R. 2016.

Význam osobnej hygieny v prevencii moţnej kontaminácie finálneho produktu. In Hygiena a technologie potravin XLVI. Lenfeldovy a Höklovy dny Brno. Brno : Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, pp. 278-283. ISBN 978- 80-7305-782-4.

20. Výnos Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky zo 6.februára 2006 č.06267/2006-SL.

Kontaktná adresa: Zeleňáková Lucia, Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra. E-mail: Lucia.Zelenakova@uniag.sk

SKÚMANIE PRENOSU STAFYLOKOKOV V RÁMCI ZDRAVOTNÉHO KONCEPTU "ONE HEALTH"

INVESTIGATION OF THE CARRIAGE IN STAPHYLOCOCCAL SPECIES WITHIN THE FRAMEWORK OF THE ONE HEALTH APPROACH

Zigo František[1], Lacková Zuzana[1], Farkašová Zuzana[1], Ondrašovičová Silvia[2], Hoppejová Tamara [1], Vargová Mária[3], Výrostková Jana[4], Ivana Regecová[4]

[1]Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

[2]Katedra biológie a fyziológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

[3] Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 04181 Košice, Slovenská Republika

[4] Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

The aim of the study was to determine the prevalence of bacterial pathogens in animal and environmental sources and antimicrobial resistance levels of staphylococci within the framework of the One Health approach in the region of eastern Slovakia with dairy cattle breeding. The current study was conducted with quarter milk samples (n = 3600) from 900 dairy cows from 6 different dairy herds located in eastern Slovakia, 140 raw milk consumed by the public as well as 81 swabs from surfaces of the floor, teat cup, and cow restraints. Of the 900 dairy cows tested, 252 (28%, 252/900) were found to be CMT positive. In this study, bacterial growth was observed in 87% (219/252), with coagulase-negative staphylococci (CoNS) (52.1%, 131/252) being the most frequently isolated organisms, followed by *S. aureus* (19.1%, 48/252), *E. coli* (9.1%, 23/252) and streptococci (5.9%, 15/252). Of the 140 unpasteurised cow's milk samples, the most common organisms were CoNS (6,4%, 9/140), *S. aureus* (3.5%, 5/140) and *Bacillus subtilis* (2.8%, 4/140). From the 81 swab samples, the most isolated bacteria were *E. coli* with 38.3% (31/81), followed by *S. aureus* with 16% (13/81), and *Enterococcus faecalis* with 11.3% (14/81). While virulence factors and resistance to 14 antimicrobial agents of *S. aureus* and CoNS were determined by disc diffusion, the methicillin resistance gene (*mec*A) was detected by PCR. Staphylococci with resistance to one or more antimicrobial classes were found in 52 and 56 isolates of *S. aureus* and CoNS, respectively. In

addition, the results of the present study showed that *mec*A, was confirmed in four isolates (1.8% 4/218) of resistant staphylococci to ß-lactam antimicrobials including two isolates of *S. aureus* and two isolates of *S. chromogenes* from milk of mastitic cows. These results lead to serious complications in the treatment of dairy cows and pose a significant health risk to milk consumers.

K**ey words:** dairy cows, milk, mastitis, staphylococci, resistance gene

ÚVOD

Chovatelia zvierat sa častokrát stretávajú so zvýšeným rizikom prenosu patogénov z prvovýroby do potravinového reťazca. V tejto súvislosti je riešenie nárastu ochorení v oblasti zdravia ľudí aj zvierat ešte väčším problémom pre vedeckú komunitu a priemysel pretože koncept „Jedno zdravie“, ktorý uznáva prepojenie zdravia ľudí, zvierat a životného prostredia, má dôležité miesto (Garcia a kol., 2019).

Jedným z infekčných ochorení dojníc je mastitída, ktorá vplýva nielen na zdravie zvierat ale aj na kvalitu produkovaného mlieka a jeho zdravotnú bezpečnosť. Toto ochorenie stojí producentov mlieka v USA ročne až 2 miliardy dolárov a je hlavnou príčinou ekonomických strát farmárov. V posledných rokoch bolo zdokumentované, že a koaguláza-negatívne stafylokoky (CoNS) patria medzi najčastejšie mikroorganizmy spôsobujúce mastitídu u dojníc (Cobirka a kol., 2020). Stafylokoky napomáhajú adhézii a kolonizácii epitelu mliečnej žľazy tvorbou biofilmu, ktorý je jedným z kľúčových faktorov virulencie, a tým sa stávajú rezistentnými voči antimikrobiálnym látkam, čo sťažuje ich liečbu. Svetová zdravotnícka organizácia WHO klasifikovala *S. aureus* ako patogén s vysokou prioritou. Dá sa povedať, že *S. aureus* je stále zodpovedný za veľký počet prípadov chronických alebo klinických foriem mastitíd, pretože disponuje mnohými faktormi virulencie, ale aj niektoré druhy CoNS môžu mať rovnaký agresívny potenciál vďaka produkcii želatinázy, hemolýze, tvorbe biofilmu, hydrolýze DNA a multirezistencii (Taponen a kol., 2009). Veľkým rizikom u stafylokokov je aj ich schopnosť prenosu kontaktom medzi ľuďmi (priamo alebo prostredníctvom predmetov) alebo môžu sa prenášať zoonoticky priamym kontaktom so zvieratami alebo živočíšnymi produktmi, vrátane surového mlieka a mäsa. Tieto patogény dokážu prežiť dlhé obdobia v prostredí, v exkrementoch, vode alebo pôde čo z nich robí dôležité baktérie, ktoré predstavujú významné riziko pre ľudské zdravie (Szczuka a kol., 2022).

Cieľom štúdie bolo zistiť prevalenciu bakteriálnych patogénov a úrovne kontaminácie stafylokokov v rámci zdravotného konceptu “One health” na farmách dojníc lokalizovaných na východnom Slovensku.

MATERIÁL A METODIKA

Chovy dojníc a odber vzoriek

Praktická časť štúdie bola realizovaná na 6 farmách dojníc situovaných na východnom Slovensku. Na všetkých 6 farmách je dobytok chovaný systémom voľného ustajnenia na hlbokej podstielke s voľným prístupom k vode a kŕmené TMR v súlade s nutričnými požiadavkami pre dojnice o hmotnosti 650 kg (NRC, 2001). Pre komplexné vyšetrenie mliečnej žľazy bolo 900 ks dojníc podrobených klinickému vyšetreniu a mlieko z každej štvrte vemena bolo podrobené senzorickému vyšetreniu. NK-test (nepriamy diagnostický test, Krause, Dánsko) sa vykonával na všetkých štvrtiach vemena kráv a výsledky sa vyhodnocovali podľa Jackson a Cockcroft (2002). Následne od pozitívnych dojníc na NK-test bol vykonaný aseptický odber 12 ml zmesnej vzorky mlieka na laboratórne analýzy bakteriálnych patogénov.

Vzorky z povrchov dojárne (n = 81): podlahy, strukových násadcov a zábran pre kravy vo všetkých 6 monitorovaných chovoch boli odoberané počas samotného procesu dojenia. Pomocou sterilného vatového tampónu, navlhčeného vo fyziologickom roztoku, boli vykonané mikrobiologické stery z povrchov (5 × 2 cm^2) v troch opakovaniach, odobraté z rovnakých povrchov, aby sa zachytili mikroorganizmy.

Tri farmy zo šiestich predávali mlieko cez mliečny automat. Z týchto automatov bolo v 40 cykloch odobraných 140 vzoriek nepasterizovaného mlieka pre laboratórne analýzy. Následne, všetky odobraté vzorky mlieka od pozitívnych kráv, z mliečnych automatov ako aj stery z prostredia dojárne boli ochladené na 4 °C a ihneď transportované do laboratória a analyzované nasledujúci deň. Bakteriologické vyšetrenie bolo prevedené podľa metodiky Sztachańska a kol. (2016) s identifikáciou *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. *a Enterobacteriaceae* spp. pomocou STAPHY-testu, STREPTO-testu resp. ENTERO-testu a identifikované pomocou softwaru TNW Pro 7.0 (Erba-Lachema, CZ) (Zigo a kol., 2018).

Detekcia faktorov virulencie u stafylokokov

Potvrdené stafylokoky boli podľa predchádzajúcej štúdie Vasiľ a kol. (2017) testované na tvorbu biofilmu pomocou fenotypovej metódy na Kongo Red agare (CRA). Schopnosť stafylokokov produkovať hemolyzíny bola stanovená podľa Moraveji a kol. (2014). Typy hemolýzy boli fenotypovo charakterizované na základe zóny lýzy každého stafylokokového izolátu na platniach s krvným agarom s prídavkom 5% ovčej krvi po 24 a 48 hodinách inkubácie pri 37 °C.

Citlivosť stafylokokov bola testovaná *in vitro* voči 14 antimikrobiálnym látkam. Testy citlivosti izolátov sa vykonávali na Mueller Hintonovom agare pomocou diskovej difúznej metódy (CLSI, 2018). Inhibičné zóny boli klasifikované ako citlivé, intermediálne alebo

rezistentné podľa noriem CLSI (2021). Ako kontrola v testoch slúžili referenčné kmene *S. aureus* CCM 4750 a *S. chromogenes* CCM 3386 (CCM, Masarykova univerzita, Brno, CZ).

Fenotypovo pozitívne CoNS a *S. aureus* na základe ich antimikrobiálnej rezistencie na β-laktámové antimikrobiálne látky boli podrobené PCR na prítomnosť rezistentného génu na meticilín (*mec*A) podľa Hein et al. (2005).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z 900 testovaných dojníc bolo 252 (28 %, 252/900) pozitívnych na NK-test. Z odobratých vzoriek od pozitívnych dojníc na NK-test bol bakteriálny rast pozorovaný v 87 % prípadov (219/252), pričom najčastejšie izolovanými organizmami boli koaguláza-negatívne stafylokoky (CoNS) (52,1 %, 131/252), nasledované *S. aureus* (19,1 %, 48/252), *E. coli* (9,1 %, 23/252) a streptokokmi (5,9 %, 15/252). Zo 140 vzoriek nepasterizovaného kravského mlieka odbraného z mliečnych automatov boli najčastejšie izolované CoNS (6,4 %, 9/140), *S. aureus* (3,5 %, 5/140) a *Bacillus subtilis* (2,8 %, 4/140). Z 81 sterov bola najčastejšie izolovaná *E. coli* (38,3 %, 31/81), nasledovaná *S. aureus* (16 %, 13/81) a *Enterococcus faecalis* (11,3 %, 14/81). Z výsledkov vyplýva, že z vyhodnotených vzoriek tvoria najväčšie zastúpenie stafylokoky (Tab. 1; 46,1%).

Tabuľka č. 1, Výsledky identifikácie bakteriálnych izolátov zo vzoriek

Patogén	Počet izolátov n (%)	Mastídne dojnice n (%)	Mliečny automat n (%)	Prostredie dojárne n (%)
CoNS	151 (31,9)	131 (52,1)	9 (6,4)	11 (13,6)
S. aureus	67 (14,2)	48 (19,1)	5 (3,5)	14 (17,3)
Escherichia coli	55 (11,6)	23 (9,1)	1 (0,7)	31 (38,3)
Streptococcus spp.	15 (3,2)	15 (5,9)	0	0
Enterococcus spp.	24 (5,1)	11 (4,4)	0	13 (16)
Bacillus spp.	12 (2,5)	8 (3,2)	4 (2,8)	0
Aerococcus viridans	7 (1,5)	7 (2,8)	0	0

Poznámka: CoNS – koaguláza-negatívne stafylokoky (*S. chromogenes, S. xylosus, S. simulans, S. warneri, S. haemolyticus* a *S. epidermidis*).

Doteraz bolo charakterizovaných viac ako 50 druhov a poddruhov stafylokokov rozdelených na koaguláza-pozitívne a koaguláza-negatívne stafylokoky na základe ich schopnosti koagulovať plazmu (Condas a kol., 2017). Z naších výsledkov vyplýva, že zo vzoriek mastitídneho mlieka kráv, dojární a nepasterizovaného mlieka z mliečnych automatov bolo izolovaných 6 rôznych druhov CoNS: *S. chromogenes, S. xylosus, S. simulans, S. warneri, S. haemolyticus* a *S. epidermidis*, ktoré tvorili 31,9 % zo všetkých vzoriek.

Podľa Holko a kol. (2019) po poklese výskytu mastitíd spôsobených hlavnými patogénmi bol na farmách zaznamenaný nárast prípadov spôsobených CoNS. Tieto baktérie vykazujú rastúcu odolnosť voči bežným antibiotikám a dezinfekčným prostriedkom, pričom tvorba biofilmu je považovaná za najdôležitejší faktor ich patogenity. Biofilm chráni baktérie pred účinkami antibiotík a dezinfekčných prostriedkov, čo komplikuje liečbu infekcií. Výsledky štúdie poukazujú na schopnosť tvorby biofilmu u izolovaných stafylokokov, čo sťažuje ich elimináciu z prostredia. Navyše u všetkých izolátov schopných tvoriť biofilm sa preukázala multirezistencia na testované antibiotiká (Tab. 2).

Tabuľka č. 2, Faktory virulencie u izolovaných stafylokokov

***Staphylococcus* spp.**	**Kategória** n	**Hemolýza** n (%)	**Biofilm** n (%)	**Rezistencia**			***mecA* gén**
				R1 n (%)	R2 n (%)	MDR n (%)	
S. aureus (n=67)	Dojnice (48)	25 (52,1)	22 (45,8)	25 (52,1)	9 (18,8)	4 (8,3)	2 (4,1)
	Automat (5)	3 (60)	4 (80)	1 (20)	2 (40)	1 (20)	0
	Dojáreň (14)	6 (42,8)	2 (14,3)	5 (35,7)	3 (21,4)	2 (14,3)	0
CoNS (n=151)	Dojnice (131)	27 (20,6)	51 (38,9)	23 (17,6)	14 (10,7)	5 (3,8)	2 (1,5)
	Automat (9)	2 (22,2)	3 (33,3)	2 (22,2)	3 (33,3)	0	0
	Dojáreň (11)	4 (36,4)	4 (36,4)	5 (45,5)	4 (36,4)	0	0

Poznámka: CoNS – koaguláza-negatívne stafylokoky (*S. chromogenes, S. xylosus, S. simulans, S. warneri, S. haemolyticus* a *S. epidermidis*).

Nedávne výskumy tiež poukazujú na prítomnosť multirezistentných stafylokokov, najmä na β-laktámové antibiotiká, vrátane meticilín-rezistentných stafylokokov (MRS), ktoré boli detegované v mliečnych výrobkoch, vrátane surového mlieka a syrov. Podľa WHO predstavujú kmene MRS, ktoré oportunisticky spôsobujú mastitídy, hrozbu pre verejné zdravie (Poulsen, 2003).

Rovnaké zistenia sa potvrdili aj v našej štúdií. U 21 testovaných izolátoch *S. aureus* a 27 CoNS bola zaznamenaná rezistencia na dve alebo viac antimikrobiálnych látok s detekciou *mec*A génu u dvoch izolátoch *S. aureus* a dvoch izolátoch *S. chromogenes*.

ZÁVER

Výsledky štúdie poukazujú na zvýšené riziko výskytu stafylokokov na monitorovaných farmách dojníc ako aj ich prenosu do potravinového reťazca. Z 900 testovaných dojníc, 140 vzoriek nepasterizovaného kravského mlieka a 81 sterov z prostredia dojárne bolo 217 odobratých vzoriek pozitívnych na stafylokoky (19% 217/1121), pričom CoNS tvorili až 80%

podiel. *S. aureus* a CoNS: *S. warneri, S. chromogenes* a *S. xylosus,* vykazovali najviac faktorov virulencie (tvorba hemolýzy, biofilmu a rezistencia na antibiotiká). Okrem toho sa u izolátoch *S. aureus* a CoNS zistila rezistencia na tri alebo viac tried antimikrobiálnych látok. Testovanie citlivosti na antibiotiká metódou diskovej difúzie ukázalo, že izoláty *S. aureus* zo vzoriek kravského mlieka s mastitídou boli rezistentné na ß-laktámové antibiotiká. Výsledky tejto štúdie ukázali, že gén *mec*A bol detegovaný u 4 izolátoch zo všetkých testovaných stafylokokov (1,8 %, 4/217), vrátane dvoch izolátov *S. aureus* a dvoch izolátov *S. chromogenes* zo vzoriek mlieka od kráv s mastitídou. Tieto zistenia môžu viesť k vážnym komplikáciám v liečbe dojníc a predstavujú významné zdravotné riziko pre konzumentov mlieka.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APPV SK-PL-23-0066 a projektom VEGA 1-0162-23.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. CLSI document M100–S31. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Thirty–first informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA, 2021, 350 p.
2. CLSI document M2–A13. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, Thirteenth informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA, 2018, 92 p.
3. COBIRKA, M. - TANCIN, V. - SLAMA, P. Review epidemiology and classification of mastitis animals. *Animals*, 2020, vol. 10, p. 2212.
4. CONDAS, L.A.Z. et al. Distribution of non-aureus staphylococci species in udder quarters with low and high somatic cell count, and clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*. 2017, vol. 100(7), p. 5613-5627.
5. GARCİA, S.N. et al. A one health perspective on dairy production and dairy food safety. *One Health*. 2019, vol. 7, p. 9.
6. HEIN, I. et al. Quantification of *Staphylococcus aureus* in unpasteurised bovine and caprine milk by real-time PCR. *Res. Microbiol.* 2005, vol. 156, p. 554–563.
7. HOLKO, I. Occurence and antimicrobial resistance of common udder pathogens isolated from sheep milk in Slovakia. *Slovak J. Food Sci*. 2019, vol. 13(1), p. 258–261.
8. JACKSON, P. – COCKCROFT, P. Clinical Examination of Farm Animals. Oxford, UK, Blackwell Science Ltd, Wiley-Blackwell, 2002, p. 154−166.

9. MALINOWSKI, A. – KŁOSSOWSKA, A. Diagnostics of intramammary infections. *National Vet. Res. Institute*, Puławy, Poland, 2002.
10. MORAVEJI, Z. et al. Characterization of hemolysins of Staphylococcus strains isolated from human and bovine, southern Iran. *Iran J. Vet. Res*. 2014, vol. 15, p. 326-330.
11. NRC. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th ed. WASHINGTON, USA: The National Academies Press, National Research Council. 381 p.
12. POULSEN, A.B. et al. Detection of methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci and in staphylococci directly from simulated blood cultures using the EVIGENE MRSA Detection Kit. *J. Antimicrob. Chemother.* 2003, vol. 51, p. 419-421.
13. SZCZUKA, E. et al. Occurrence and Characteristics of *Staphylococcus aureus* Isolated from Dairy Products. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2022, vol. *27*(14), p. 4649.
14. SZTACHAŃSKA, M. et al. Prevalence and etiological agents of subclinical mastitis at the end of lactation in nine dairy herds in North-East Poland. *Polish J. of Vet. Sciences*, 2016, vol. 19, p. 119–124.
15. TAPONEN, S. et al. Clinical characteristics and persistence of bovine mastitis caused by different species of coagulase-negative staphylococci identified with API or AFLP, *Veterinary Microbiology*, 2006, vol. 115, p. 199-207.
16. VARGOVÁ, M. et al. Biofilm-Producing Ability of *Staphylococcus aureus* Obtained from Surfaces and Milk of Mastitic Cows. *Veterinary Sci.*, 2023, vol. *10*(6), p. 386.
17. VASIĽ, M. et al. Comparison of biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from sheep milk using three diagnostic methods. *Pol. J. Vet. Sci*. 2017, vol. 20, p. 795-801.
18. ZIGO, F. et al. Mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in herds of dairy cows situated in marginal parts of Slovakia. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 2018, vol. 12, no. 1, p. 285–291.

Kontaktná adresa: František Zigo, Assoc. prof., DVM., PhD., Department of Animal Nutrition and Husbandry, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: frantisek.zigo@uvlf.sk

GENERÁLNY PARTNER - TAURIS ® GROUP



GENERÁLNY PARTNER - TAURIS ® GROUP



HLAVNÍ PARTNERI - BILLA, s.r.o. Bratislava

BILLA

V KVALITE SA VYZNÁME

HLAVNÍ PARTNERI - BILLA, s.r.o. Bratislava



HLAVNÍ PARTNERI - Domäsko s.r.o.



HLAVNÍ PARTNERI - Labaš, s.r.o. a Potraviny FRESH, s.r.o.

HLAVNÍ PARTNERI - Labaš, s.r.o. a Potraviny FRESH, s.r.o.



HLAVNÍ PARTNERI - Labaš, s.r.o. a Potraviny FRESH, s.r.o.



HLAVNÍ PARTNERI - SYRÁREŇ BEL SLOVENSKO, a.s.



HLAVNÍ PARTNERI - Tesco Stores SR, a.s.



HLAVNÍ PARTNERI - Vector Invest, s.r.o.



MEDIÁLNI PARTNERI

Maso.cz - odborný časopis pro obor zpracování masa

FOLIA VETERINARIA - vedecké periodikum Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach





The scientific journal of the
UNIVERSITY OF VETERINARY MEDICINE
AND PHARMACY IN KOŠICE — Slovakia

ISSN 0015-5748
eISSN 2453-7837

SPONZORI - Dalton spol. s r.o. - Staromestská Mäsiareň





SPONZORI - MINERÁLNE VODY, a.s., Prešov









SPONZORI - Rybárstvo Požehy s.r.o.

Spoločnosť RYBÁRSTVO-Požehy,s.r.o bola založená 14.11.1997.

Chov rýb (Pstruha dúhového) sa začal v roku 1991 po kolaudácii rybochovných zariadení. Následné spracovanie začalo v roku 1992 v spracovni rýb, ktorá bola vybudovaná rekonštrukciou pôvodného poľnohospodárskeho objektu. V tomto roku bola zakúpená technológia od Nemeckej firmy FORESTA FISH GMBh na údenie a filetovanie pstruhov.

V roku 2002 došlo k zmene vlastníka spoločnosti, ktorý vlastní 100% podiel. Spoločnosť od roku 2002 do júna 2008 využívala na základe nájomnej zmluvy okrem vlastných rybochovných zariadení aj Stredisko chovu rýb Diviaky v správe SOUPaR Mošovce. Od júna 2008 prešlo toto stredisko na základe kúpnej zmluvy do vlastníctva spoločnosti. Naša spoločnosť patrí medzi štyroch najväčších producentov lososovitých rýb na Slovensku a výhradnú časť produkcie spracováva vo vlastnej spracovni, ktorá prešla komplexnou rekonštrukciou v roku 2003 a po splnení podmienok EU jej bolo pridelené schvaľovacie číslo SK 9-92ES.

SPONZORI - Rybárstvo Požehy s.r.o.

Spoločnosť vlastní dve strediská na chov a spracovanie rýb: Stredisko Požehy a Stredivko Diviaky

STREDISKO POŽEHY

Je sídlom spoločnosti a nachádza sa 2 km od obce Dubové a 5 km od kúpeľného mesta Turčianske Teplice.



VÝROBNÉ ZAMERANIE

Chladené ryby sladovodné a morské

pstruh,kapor ,tolstolobik,losos

Údené sladkovodné a morské ryby

makrela,pstruh,tolstolobik,losos

Mrazené sladkovodné a morské ryby

pstruh,kapor,losos

SPONZORI - Rybárstvo Požehy s.r.o.

Spoločnosť vlastní dve strediská na chov a spracovanie rýb: Stredisko Požehy a Stredivko Diviaky

STREDISKO DIVIAKY

Nachádza sa 2 km od kúpeľného mesta Turčianske Teplice. Stredisko je zamerané na odchov plôdika pstruha dúhového pre vlastnú produkciu tržného pstruha dúhového/40t/ ako aj pre produkciu jednoročných násad pstruha pre stredisko Požehy,sádkovanie nakupovaných kaprovitých rýb pre potreby spracovne rýb.



SPONZORI - URPINER - BANSKOBYSTRICKÝ PIVOVAR, A.S.



VYSTAVOVATELIA - Bioing,s.r.o.

BIOING

VYSTAVOVATELIA - Biomedica Slovakia, s.r.o.



VYSTAVOVATELIA - BIOTECH s.r.o.



VYSTAVOVATELIA - GeneProof a.s.

GeneProof®

VYSTAVOVATELIA - JEMO TRADING spol. s r.o.

profood
JEMO TRADING

VYSTAVOVATELIA - JEMO TRADING spol. s r.o.

profood
JEMO TRADING

JEMO: Jednoducho, Efektívne, Moderne, Objektívne

Analýza ***ALERGÉNOV***, ***MYKOTOXÍNOV, RIL a Mikrobiológia***
Kontrola ***HYGIENY a SANITÁCIE***

Inovatívne vyhodnotenie pomocou aplikácií: **RIDA®SMART APP a IRIS**

Rýchlo a jednoducho vo **formáte testovacích pásikov**



JEMO TRADING spol. s r.o. • diagnostics@profood.sk • www.profood.sk

VYSTAVOVATELIA - NOACK

NOACK Part of Barentz.

Dodávame diagnostické súpravy a prístroje pre mikrobiologické a chemické analýzy a kontrolu hygieny a sanitácie

V portfóliu našich produktov nájdete:

- prístroj na rýchlu kontrolu hygieny – luminometer 3M Clean-Trace LM1
- rýchle metódy na detekciu mikrobiológie a patogénov
- rýchle testy na kontrolu alergénov, mykotoxínov, inhibičných látok
- rýchla mikrobiologická metóda CertaBlue (24 hod. CPM, 48 hod. Kv. a pl...)
- mikrobiologické živné pôdy Solabia Biokar a 3M Petrifilm
- pomôcky na odber vzoriek z prostredia – sterové tampóny, abrazívne hubky
- kontrola ovzdušia – AirWel 200 L/min
- enzymatické testy – chemické zloženie potravín (kyseliny, cukry, vláknina a.i.)
- analyzátory mlieka, mäsa a obilnín a produktov z nich

V prípade záujmu nás neváhajte kontaktovať, rady vám poskytneme informácie o všetkých dodávaných testoch.



www.noackgroup.com

NOACK Part of Barentz.

NOACK – SLOVAKIA, spol. s r.o.
Seberíniho 1
821 03 Bratislava
tel.: +421 2 4341 1631
mob.: +421 905 293 756
e-mail: office.sk@noackgroup.com

AUSTRIA BULGARIA CROATIA CZECH REPUBLIC HUNGARY POLAND ROMANIA SERBIA SLOVAKIA SLOVENIA

VYSTAVOVATELIA - O.K. SERVIS BioPro, s.r.o.



VYSTAVOVATELIA - O.K. SERVIS BioPro, s.r.o.

KONTROLA KVALITY

O.K. SERVIS BioPro s.r.o. www.biopro.cz

Nová legislativa týkající se *Listeria monocytogenes*



Nabízíme řešení v návaznosti na novou legislativní situaci týkající se **přítomnosti bakterie *Listeria moocytogenes* v potravinách a potravinářských provozech**:

- Přístroje VIDAS KUBE™, GeneUp®
- Řešení NEMIS N-light™
- Kultivační média
- Ochranné kultury LALCULT® Protect





NEMIS pro testování patogenů

- Testy NEMIS N-light™ pro spolehlivou **detekci patogenů** bez nutnosti využití patogenní laboratoře.



CYTOQUANT

- **Průtokový cytometr CytoQuant®** kvantifikuje bakterie a rezidua částic do 30 sekund. Umožňuje tak okamžité ověření účinnosti čisticích postupů v potravinářských provozech a všude tam, kde je hygiena zásadní.



Modifikovaná atmosféra

- Laboratorní **off-line analyzátory** modifikované atmosféry.
- **On-line analyzátory** modifikované atmosféry pro balící stroje.
- Přístroje pro **kontrolu integrity obalů.**

www.biopro.cz

Názov publikácie:	Zborník vedeckých príspevkov z medzinárodnej vedeckej konferencie Hygiena Alimentorum XLV: Trendy produkcie a predaja kvalitných a bezpečných produktov z hydiny, rýb a zveri Scientific Proceedings of the International Scientific Conference Hygiena Alimentorum XLV: Trends in the production and sale of quality and safe poultry, fish and game products
Druh publikácie:	Zborník - podľa Vyhlášky MŠVVaŠ SR č. 456/2012 Z. z. (do roku 2021) - AFD; podľa Vyhlášky MŠVVaŠ SR č. 397/2020 Z. z. (od roku 2022): V2 - Vedecké práce v domácich recenzovaných vedeckých zborníkoch
Autori:	Kolektív autorov
Zostavila:	BODNÁROVÁ Libuša, MVDr. Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika
Recenzovali:	VAŠKOVÁ Janka, prof. RNDr., PhD. Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Slovenská republika HUDÁK Marek, MVDr., PhD. Regionálna veterinárna a potravinová správa Bardejov, Slovenská republika MAŠLEJ MILOŠ, MVDr., PhD. Regionálna veterinárna a potravinová správa Bratislava, Slovenská republika
Vydal:	Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika
Náklad:	250 ks
Počet strán:	644 strán
Dátum vydania:	Máj 2025
Vydanie:	Prvé

ISBN 978 – 80 – 8077 – 852 – 1

ISBN 978 – 80 – 8077 – 852 – 1