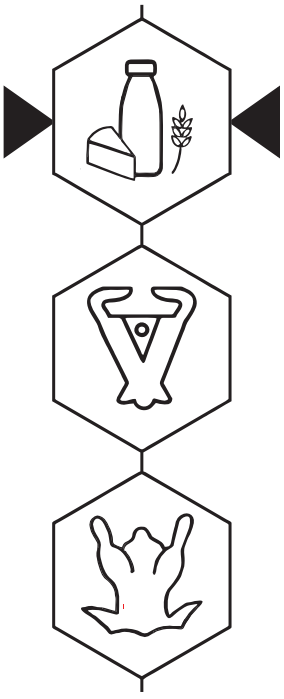
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín
Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky
Národný kontaktný bod pre vedeckú a technickú spoluprácu s úradom EFSA v SR
Štátna veterinárna a potravinová správa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

HYGIENA ALIMENTORUM XLVI

Medzinárodná vedecká konferencia

pod záštitou Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky

Trendy produkcie a predaja bezpečných mliečnych a rastlinných produktov



Zborník vedeckých príspevkov z medzinárodnej vedeckej konferencie

Scientific Proceedings of the International Scientific Conference

13. – 15. máj, 2026
Hotel Patria**** - Štrbské Pleso
Slovenská republika

HYGIENA ALIMENTORUM XLVI | 13. – 15. máj 2026

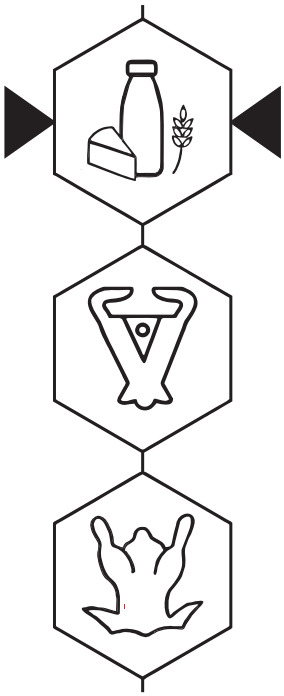
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín
Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky
Národný kontaktný bod pre vedeckú a technickú spoluprácu s úradom EFSA v SR
Štátna veterinárna a potravinová správa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

HYGIENA ALIMENTORUM XLVI

Medzinárodná vedecká konferencia

pod záštitou Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky

Trendy produkcie a predaja bezpečných mliečnych a rastlinných produktov



Zborník vedeckých príspevkov z medzinárodnej vedeckej konferencie

Scientific Proceedings of the International Scientific Conference

13. – 15. máj, 2026
Hotel Patria**** - Štrbské Pleso
Slovenská republika

ZOSTAVILA

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

RECENZOVALI

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

DUDRIKOVÁ Eva, doc. 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
DUDA Aleksandra, prof. Dr. hab.
Fakulta potravinárskej technológie, Poľnohospodárska univerzita Krakov, Poľsko
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
JAROŠOVÁ Alžbeta, prof. Ing., Ph.D.
Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brne, Česká republika
KRAJČOVIČ Martin
Slovenská aliancia moderného obchodu, Slovenská republika
MARCINČÁK Slavomír, prof. MVDr., PhD.
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika
MELLEN Martin, doc. Ing. PhDr., PhD.
Zväz slovenských mliekarov, Slovenská republika
NAGY Jozef, prof. MVDr., PhD.
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika
GÁL Robert, doc. Ing., Ph.D.
Fakulta technologická, Univerzita Tomáše Bati v Zlíne, Česká republika
PASTOREK Alexander, Ing.
Slovenský zväz prvovýrobcov mlieka, Slovenská republika
ŠOLTY Marián, MUDr.
Slovenský mliekarenský zväz, Slovenská republika
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
VORLOVÁ Lenka, prof. MVDr., Ph.D.
Fakulta veterinárnej hygieny a ekológie, Veterinárna univerzita Brno, Česká republika

ORGANIZAČNÝ VÝBOR

KOVÁČOVÁ Mariana, PhDr., PhD.
LÉPESOVÁ Kristína, Ing., PhD.
MARCINČÁK Slavomír, prof. MVDr., PhD.
MEGYESY EFTIMOVÁ Zuzana, PhDr. Ing., PhD.
REGECOVÁ Ivana, doc. MVDr., PhD.
SEMJON Boris, doc. MVDr., PhD.
VÝROSTKOVÁ Jana, doc. MVDr., PhD.
ZAHUMENSKÁ Jana, MVDr., PhD.

GENERÁLNY PARTNER

SYRÁREŇ BEL SLOVENSKO a.s.

HLAVNÍ PARTNERI

BILLA, s.r.o.
Domäsko, s.r.o.
Labaš, s.r.o.
Potraviny FRESH, s.r.o.
TAURIS, a.s.
TESCO STORES SR, a.s.

MEDIÁLNI PARTNERI

Maso.cz - odborný časopis pro obor zpracování masa
Folia Veterinaria- vedecké periodikum Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Folia Pharmaceutica Cassoviensia - vedecké periodikum Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

SPONZORI

AQUA PRO EUROPE, a.s.
Dalton, spol. s r.o. - Staromestská Mäsiareň
URPINER, BANSKOBYSTRICKÝ PIVOVAR, a.s.

VYSTAVOVATELIA

ACO Stavebné prvky, s.r.o.
BioIng, s.r.o.
Biomedica Slovakia, s.r.o.
Biotecha Slovakia, s.r.o.
GeneProof, a.s.
HELAGO-CZ, s.r.o.
JEMO TRADING, spol. s r.o.
Latte ingredients, s.r.o.
NOACK - SLOVAKIA, spol. s r.o.
Novonesis
O.K. SERVIS BioPro, s.r.o.
SALESIANER MIETTEX, s.r.o.
SHIMADZU

OBSAH | TABLE OF CONTENTS

1. Barboráková, Z., Tančinová, D., Mašková, Z., Mrvová, M., Solgajová, M., Dráb, Š., Felšöciová, S.: ZMENY V ENDOGÉNNEJ MYKOCENÓZE SLADOVNÍCKEHO JAČMEŇA V PROCESE SLADOVANIA | CHANGES IN THE ENDOGENOUS MYCOCENOSIS OF MALTING BARLEY DURING THE MALTING PROCESS 13
2. Cabanová, L., Klempaiová, M.: VÝSLEDKY EURÓPSKEHO PROJEKTU MIKROBIOLOGICKÉHO VYŠETROVANIA HOTOVÝCH RASTLINNÝCH VÝROBKOV NAHRÁDZAJÚCICH MÄSO A MLIEKO | MICROBIOLOGICAL RESULTS OF THE EUROPEAN PROJECT ANALYZING READY-TO-EAT PLANT BASED MEAT AND MILK SUSBSTITUTES 26
3. Cenci-Goga, B., Costanzi, E.: OD FARMY PO CHLADNIČKU: MENIACE SA VÝZVY V BEZPEČNOSTI MLIEČNYCH VÝROBKOV | FROM FARM TO FRIDGE: EVOLVING SAFETY CHALLENGES IN DAIRY PRODUCTS 29
4. Dančová, N., Gregová, G., Szabóová, T., Klein, R., Nagyová, M., Király, J.: PREVALENCIA A DRUHOVÁ DIVERZITA NON-*AUREUS* STAFYLOKOKOV A MAMMALIIKOKOV IZOLOVANÝCH Z PROSTREDIA CHOVU DOJNÍC | PREVALENCE AND SPECIES DIVERSITY OF NON-*AUREUS* STAPHYLOCOCCI AND MAMMALIICOCCI ISOLATED FROM THE DAIRY CATTLE HOUSING ENVIRONMENT 39
5. Demianová, A., Bobková, A., Švecová, T., Bobko, M., Lidiková, J.: HODNOTENIE MULTIELEMENTOVÉHO PROFILU ZELENEJ KÁVY AKO NÁSTROJ JEJ GEOGRAFICKEJ AUTENTIFIKÁCIE | EVALUATION OF THE MULTI-ELEMENTAL PROFILE OF GREEN COFFEE AS A TOOL FOR ITS GEOGRAPHICAL AUTHENTICATION 45
6. Dobeš, J., Pospiech, M., Javůrková, Z., Bartlová, M., Havlová, L., Tremlová, B.: POROVNÁNÍ ANTIOXIDAČNÍCH VLASTNOSTÍ PIVA S PŘÍDAVKEM BIOAKTIVNÍCH LÁTEK | COMPARISON OF THE ANTIOXIDANT PROPERTIES OF BEER ENRICHED WITH BIOACTIVE COMPOUNDS 53
7. Dudriková, E., Hanzelová, Z., Výrostková, J., Regecová, I.: IZOLÁCIA A IDENTIFIKÁCIA ENTEROBACTERIACEAE ZO SYROV S DÔRAZOM NA ANTIBIOTICKÚ REZISTENCIU | ISOLATION AND IDENTIFICATION OF ENTEROBACTERIACEAE FROM CHEESES WITH AN EMPHASIS ON ANTIBIOTIC RESISTANCE 61
8. Ďurka, E., Kolarič, L., Vavro, M., Staruch, L.: AFLATOXÍN M1 VO VYBRANÝCH VZORKÁCH MLIEKA NA SLOVENSKU | AFLATOXIN M1 IN SELECTED MILK SAMPLES FROM SLOVAKIA 71
9. Fedorková, B., Schreiberová, A., Dudriková, E., Štrkolcová, G.: Z FARMY NA STÔL: VÝZNAM GIARDIÓZY U HOSPODÁRSKYCH ZVIERAT | FROM FARM TO FORK: THE IMPORTANCE OF GIARDIASIS IN LIVESTOCK 79

10. Fikselová, M., Kunová, S., Letková, P., Mendelová, A., Zeleňáková, L., Lukáčová, S., Zajác, P., Fraňo, L.: ARÓNIA A REPA CVIKLOVÁ AKO ZDROJE BIOLOGICKY CENNÝCH LÁTOK PRE BEZODPADOVÉ VYUŽITIE DO POTRAVÍN PRE OSOBITNÉ SKUPINY ĽUDÍ | ARONIA AND BEETROOT AS SOURCES OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES FOR WASTE-FREE FOOD APPLICATION FOR SPECIAL GROUPS OF PEOPLE 86
11. Gago, F., Stachová Sejáková, Z., Čonka, K., Drobná, B.: POPS V BRYNDZI PÔVODOM ZO SLOVENSKA | POPS IN BRYNDZA SHEEP CHEESE ORIGINATING FROM SLOVAKIA 95
12. Gregová, G., Szabóová, T., Dančová, N., Róbert, K.: ANTIMIKROBIÁLNA REZISTENCIA U KOAGULÁZA NEGATÍVNYCH STAFYLOKOKOV V EXKREMENTOCH HOVÄDZIEHO DOBYTKA | ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN COAGULASE-NEGATIVE STAPHYLOCOCCI IN CATTLE EXCREMENTS 100
13. Hajdučková, V., Hudecová, P., Király, J., Hisirová, S., Pilipčinec, E., Teleky, J.: ANTIBAKTERIÁLNA A ANTIBIOFILMOVÁ AKTIVITA ÉTERICKÝCH OLEJOV VOČI STAFYLOKOKOM IZOLOVANÝM Z MLIEKA DOJNÍC | ANTIBACTERIAL AND ANTIBIOFILM ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS AGAINST STAPHYLOCOCCI ISOLATED FROM DAIRY COW MILK 105
14. Havlová, L., Javůrková, Z., Pospiech, M., Bartlová, M., Dobeš, J., Tremlová, B.: VYUŽITÍ ELEKTROFORÉZY KE STANOVENÍ HMYZU V POTRAVINÁCH | APPLICATION OF ELECTROPHORESIS FOR THE DETECTION OF INSECTS IN FOOD 113
15. Hisirová, S., Hajdučková, V., Király, J., Hudecová, P., Koščová, J.: POROVNANIE PRODUKCIE EFLUXNÝCH PÚMP U STAFYLOKOKOV IZOLOVANÝCH Z MLIEKA DOJNÍC A DOJACÍCH ZARIADENÍ | COMPARISON OF EFFLUX PUMP PRODUCTION IN STAPHYLOCOCCI ISOLATED FROM MILK OF DAIRY COWS AND MILKING EQUIPMENT 122
16. Hodoši, R. and Application team at Shimadzu Scientific Instruments: ANALÝZA CEREULIDU V POTRAVINÁCH POMOCOU HMOTNOSTNÉHO SPEKTROMETRA S TROJITÝM KVADRUPÓLOM | ANALYSIS OF CEREULIDE IN FOOD USING A TRIPLE QUADRUPOLE MASS SPECTROMETER 130
17. Hodoši, R., Mayser, J. P.: BUDÚCNOSŤ, KTORÁ CHUTÍ POVEDOME: VEDA ZA TÝM, AKO VYTVORIŤ RASTLINNÉ ALTERNATÍVY ROVNAKO DOBRÉ AKO ORIGINÁL | GIVING THE FUTURE A FAMILIAR TASTE: THE SCIENCE BEHIND MAKING PLANT-BASED ALTERNATIVES AS GOOD AS THE ORIGINAL 133
18. Hoppejová, T., Zigo, F., Kubišová, Z., Récky, A., Farkašová, Z., Lacková, Z., Pecka-Kielb, E.: VPLYV SEZÓNNOSTI A VEKU BAHNÍC NA VÝSKYT MASTITÍD A KVALITU PRODUKOVANÉHO MLIEKA | THE INFLUENCE OF SEASONALITY AND THE AGE OF EWES ON THE OCCURRENCE OF MASTITIS AND QUALITY OF PRODUCED MILK 138

19. Hudecová, P., Hajdučková, V., Hisirová, S., Király, J., Koščová, J.: TESTOVANIE SCHOPNOSTI ÉTERICKÝCH OLEJOV INHIBOVAŤ PRODUKCIU EFLUXNÝCH PÚMP | TESTING THE ABILITY OF ESSENTIAL OILS TO INHIBIT THE PRODUCTION OF EFFLUX PUMPS 144
20. Chomová, N., Ratvaj, M., Mudroňová, D., Popelka, P., Mareš, J., Palíková, M., Faldyna, M.: VPLYV ENKAPSULOVANÉHO AUTOCHTÓNNEHO PROBIOTICKÉHO KMEŇA NA IMUNITNÚ ODPOVEĎ SPROSTREDKOVANÚ TNF-α U PSTRUHOV DÚHOVÝCH INFIKOVANÝCH *AEROMONAS SALMONICIDA* | IMPACT OF AN ENCAPSULATED AUTOCHTHONOUS PROBIOTIC STRAIN ON THE TNF- α MEDIATED IMMUNE RESPONSE IN RAINBOW TROUT INFECTED WITH *AEROMONAS SALMONICIDA* . 149
21. Jakabová, S., Árvay, J., Šnirc, M., Grófová, M., Golian, J.: SKRYTÝ POTENCIÁL PEČEŇOVCA DUBOVÉHO (*FISTULINA HEPATICA*): AMINOKYSELINY A BIOGÉNNE AMÍNY V NETRADIČNEJ JEDLEJ HUBE | HIDDEN POTENTIAL OF BEEFSTEAK FUNGUS (*FISTULINA HEPATICA*): FREE AMINO ACIDS AND BIOGENIC AMINES IN AN UNCONVENTIONAL EDIBLE MUSHROOM 155
22. Javůrková Z., Budská, P., Ježek, F., Pospiech, M., Bartlová, M., Tremlová, B.: MĚŘENÍ BARVY SUŠENÉHO OVOCE | DRIED FRUIT COLOR MEASUREMENT 162
23. Jevinová, P., Pipová, M., Pivka, S., Regecová, I., Koréneková, B.: VÝSKYT PRODUCENTOV OCHRATOXÍNU A V KORENÍ MAJORÁN | OCCURRENCE OF OCHRATOXIN A PRODUCERS IN MARJORAM SPICE 168
24. Kaluža, M., Macháček, M., Kabrhel, V.: MONITORING ORGANICKÉHO ZNEČIŠTĚNÍ BĚHEM SANITAČNÍ PROCEDURY V OBOHACENÝCH KLECOVÝCH SYSTÉMECH NOSNIC | MONITORING OF ORGANIC CONTAMINATION DURING THE SANITATION PROCEDURE IN ENRICHED CAGE SYSTEMS FOR LAYING HENS 175
25. Király, J., Hajdučková, V., Hudecová, P., Pilipčinec, E., Teleky, J.: TESTOVANIE ÚČINKU RASTLINNÝCH EXTRAKTOV VOČI KOAGULÁZA-NEGATÍVNYM STAFYLOKOKOM | TESTING THE ACTIVITY OF PLANT EXTRACTS AGAINST COAGULASE-NEGATIVE STAPHYLOCOCCI 199
26. Kiššová Z., Karaffová, V., Vinclérová, V., Tóthová, C.: VPLYV *LIMOSILACTOBACILLUS REUTERI CCM 9425* NA IMUNITNÉ MARKERY V EX VIVO CEKÁLNOM MODELI HYDINY | EFFECT OF *LIMOSILACTOBACILLUS REUTERI CCM 9425* ON IMMUNE MARKERS IN AN EX VIVO POULTRY CECAL MODEL 207
27. Kollár Moskáľová, L., Hudecová, P., Ratvaj, M., Mudroňová, D.: ANTIBAKTERIÁLNA AKTIVITA VYBRANÝCH ÉTERICKÝCH OLEJOV VOČI BAKTÉRIÁM ASOCIOVANÝMI S *APIS MELLIFERA* | ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SELECTED ESSENTIAL OILS AGAINST BACTERIA ASSOCIATED WITH *APIS MELLIFERA* 214
28. Kopáček, J.: SOUČASNÝ STAV SVĚTOVÉHO A EVROPSKÉHO MLÉKÁRENSTVÍ | CURRENT STATE OF THE WORLD AND EUROPEAN DAIRY SECTOR 220

29. Korčok, M., Demianová, A., Jakubčinová, J., Čeryová, N., Jurášková, D., Lidiková, J.: VPLYV PRÍDAVKU NETRADIČNÝCH RASTLINNÝCH DRUHOV NA VLASTNOSTI ČERSTVÝCH SYROV | EFFECT OF THE ADDITION OF UNCONVENTIONAL PLANT SPECIES ON THE PROPERTIES OF FRESH CHEESES 234
30. Kožárová, I., Koréneková, B.: RASTLINY A FYTOZLÚČENINY AKO PRÍRODNÉ KOKCIDIOSTATIKÁ | PLANTS AND PHYTOCOMPOUNDS AS NATURAL COCCIDIOSTATS 244
31. Kročko, M., Hanuska, A., Sołowiej, B., Nastaj, M., Szafrańska, J. O., Mesárošová, A., Jurčaga, L.: AKO ÚDENIE MENÍ OŠTIEPOK? SENZORICKÁ ANALÝZA A PCA PRÍSTUP | HOW SMOKING INFLUENCES OŠTIEPOK CHEESE: A SENSORY AND PCA STUDY 249
32. Lacková, Z., Zigo, F., Halás, Š., Timkovičová Lacková, P., Farkašová, Z., Ondrašovičová, S., Pikhtirová, A.: MODULAČNÝ EFEKT HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA BACHOROVÉ PARAMETRE A KVALITU MLIEKA V CHOVE DOJNÍC | MODULATING EFFECT OF HUMIC SUBSTANCES ON RUMEN PARAMETERS AND MILK QUALITY IN DAIRY CATTLE BREEDING 255
33. Macháček, M., Kaluža, M., Kabrhel, V.: MONITORING MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE V OBOHACENÝCH KLECOVÝCH SYSTÉMECH CHOVU NOSNIC | MICROBIAL CONTAMINATION MONITORING IN ENRYCHED CAGES FOR LAYERS 263
34. Mašková, Z., Tančinová, D., Barboráková, Z., Mrvová, M., Solgajová, M., Dráb, Š., Felšöciová, S.: DYNAMIKA MYKOBIOTY SLADOVNÍCKEHO JAČMEŇA POČAS SLADOVANIA SO ZAMERANÍM NA ROD *FUSARIUM* | DYNAMICS OF MYCOBIOTA IN MALTING BARLEY DURING MALTING WITH A FOCUS ON THE GENUS *FUSARIUM* 280
35. Mázor, M., Golian, J., Ailer, L., Harangozo, L., Jakabová, S.: VARIABILITA VOĽNÝCH AMINOKYSELÍN PO TEPELNÝCH ÚPRAVÁCH MÄSA MORSKEJ ŠŤUKY (*MERLUCCIUS HUBBSI*) | VARIABILITY OF FREE AMINO ACIDS AFTER HEAT TREATMENT OF SEA PIKE MEAT (*MERLUCCIUS HUBBSI*) 298
36. Megyesy Eftimová Z., Zahumenská J., Semjon, B., Dudriková, E.: VPLYV TECHNOLOGICKEJ ÚPRAVY NA OBSAH POLYFENOLOV V ČERNICIACH | INFLUENCE OF TECHNOLOGICAL TREATMENT ON THE CONTENT OF POLYPHENOLS IN BLACKBERRIES 306
37. Mesarčová, L., Reitznerová, A., Semjon, B., Klempová, T., Čertík, M., Marcinčák, S.: FERMENTOVANÉ KRMIVO A JEHO VPLYV NA KVALITU MÄSA BROJLEROV | FERMENTED FEED AND ITS IMPACT ON THE QUALITY OF BROILER MEAT 315
38. Mesárošová, A., Bobko, M., Hviščová, S., Kročko, M.: VPLYV PRÍDAVKU SILVERSKINU NA FYZIKÁLNO-CHEMICKÉ A SENZORICKÉ VLASTNOSTI MÄKKÉHO MÄSOVÉHO VÝROBKU | EFFECT OF SILVERSKIN ADDITION ON THE PHYSICOCHEMICAL AND SENSORY PROPERTIES OF RAW COOKED MEAT PRODUCT 326

39. Mudroňová, D., Ratvaj, M., Chomová, N., Popelka, P., Sasáková, N., Kollár Moskáľová, L., Žitňan, R.: VPLYV HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA AKVAKULTÚRU PSTRUHA DÚHOVÉHO | THE IMPACT OF HUMIC SUBSTANCES ON RAINBOW TROUT AQUACULTURE 339
40. Nagyová, A., Takáčová, D., Korim, P., Nagy, J., Bartkovský, M.: KOZIE MLIEKO V KONTEXTE PRÁVNYCH PREDPISOV | GOAT'S MILK IN THE CONTEXT OF LEGISLATION 347
41. Najgebauer-Lejko, D., Żmudziński, D., Walczycka, M.: POROVNANIE FYZIKÁLNO-CHEMICKÝCH VLASTNOSTÍ A ŽIVOTASCHOPNOSTI ŠTARTOVACEJ KULTÚRY FERMENTOVANÉHO SÓJOVÉHO NÁPOJA, KRAVSKÉHO MLIEKA A ICH ZMESI | COMPARISON OF THE PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES AND STARTER CULTURE VIABILITY OF FERMENTED SOY BEVERAGE, COW MILK, AND THEIR BLEND 352
42. Ondrašovičová, S., Zahumenská, J., Kováčová, M., Zigo, F., Récky, A., Kirovski, D.: SEZÓNNE VARIÁCIE OBSAHU TUKU A BIELKOVÍN V MLIEKU DOJNÍC | SEASONAL VARIATION IN MILK FAT AND PROTEIN CONTENT IN DAIRY COWS 358
43. Ondrašovičová, S., Zahumenská, J., Zigo, F., Kiss, D. S., Schilling-Toth, B. M., Alymbaeva, D.: SEZÓNNA VARIÁCIA LAKTOFERÍNU A JEHO SÚVISLOSŤ S POČTOM SOMATICKÝCH BUNIEK V SUROVOM KRAVSKOM MLIEKU | SEASONAL VARIATION OF LACTOFERRIN AND ITS ASSOCIATION WITH SOMATIC CELL COUNT IN RAW COW'S MILK 363
44. Pastorek, A., Štefániková, M., Borovská, S.: VÝVOJ A SÚČASNÁ SITUÁCIA V SEKTORE MLIEKA | DEVELOPMENT AND CURRENT SITUATION IN DAIRY SECTOR 367
45. Pipová, M., Jevinová, P., Regecová, I., Várady, M., Mesarčová, L.: MIKROSKOPICKÉ HUBY VO VYBRANÝCH KORENINÁCH | MICROSCOPIC FUNGI IN SELECTED SPICES 377
46. Pirčová, Š., Sventeková, A., Vargová, N., Horňáková, Ľ.: VYUŽITIE MIKROSKOPICKEJ METÓDY PRI STANOVENÍ ZLOŽIEK Z HMYZU V MLYNSKÝCH VÝROBKOCH | THE USE OF MICROSCOPIC METHOD IN DETERMINING INSECT COMPONENTS IN MILLING PRODUCTS 386
47. Pospiech, M., Bartlová, M., Javůrková, Z., Dobeš, J., Havlová, L.: SNIŽOVÁNÍ ALERGENICITY ROSTLINNÝCH PROTEINŮ | REDUCING THE ALLERGENICITY OF PLANT PROTEINS 393
48. Pospiech, M., Fikselová, M., Javůrková, Z., Tremlová, B.: MIKROPLASTY V POTRAVINÁCH ROSTLINNÉHO PŮVODU A MOŽNOSTI JEJÍCH DETEKCE | MICROPLASTICS IN PLANT-BASED FOODS AND METHODS FOR THEIR DETECTION 400
49. Provazník, A., Vevera, P., Sláma, P., Pavlík, A.: BIOLOGICKÉ ÚČINKY NÍZKÝCH KONCENTRACÍ ANTIMONU SOUVISEJÍCÍ S POTRAVINOVÝMI OBALY | BIOLOGICAL EFFECTS OF LOW CONCENTRATIONS OF ANTIMONY ASSOCIATED WITH FOOD PACKAGING 408

50. Ratvaj, M., Hudecová, P., Kollár Moskáľová, L., Mudroňová, D.: HODNOTENIE ÉTERICKÝCH OLEJOV AKO SELEKTÍVNYCH ANTIBAKTERIÁLNYCH LÁTOK V AKVAKULTÚRE | EVALUATING ESSENTIAL OILS AS SELECTIVE ANTIBACTERIAL AGENTS IN AQUACULTURE 414
51. Regecová, I., Výrostková, J., Pipová, M., Jevinová, P., Dudriková, E., Badovská, S., Adamková, V., Hatalová, J.: DRUHOVÁ DIVERZITA BAKTÉRIÍ MLIEČNEHO KVASENIA VO VYBRANÝCH POTRAVINOVÝCH MATRICIACH | SPECIES DIVERSITY OF LACTIC ACID BACTERIA IN SELECTED FOOD MATRICES 420
52. Reitznerová, A., Várady, M., Najt, D., Mellen, M., Olekšáková, M., Gerbáčová, K., Marcinčák, S.: ÚČINOK SKRMOVANIA HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA KVALITU PRODUKOVANÝCH VAJEC | THE EFFECT OF FEEDING HUMIC SUBSTANCES ON EGG QUALITY 426
53. Rešková, Z., Čaplová, Z., Koreňová, J., Klištincová, N.: ZLOŽENIE BAKTERIÁLNYCH SPOLOČENSTIEV OVČEJ SRVÁTKY PRI VÝROBE BRYNDZE NA SLOVENSKU | BACTERIAL COMMUNITY COMPOSITION OF EWES´ WHEY FROM THE PRODUCTION OF BRYNDZA CHEESE IN SLOVAKIA 433
54. Samková, E., Dadáková, E., Švecová, L., Janoušek Honesová, S., Baldíková, E., Janů, T., Hasoňová L.: KYSANÉ MLÉČNÉ VÝROBKY A SPOTŘEBITELÉ | FERMENTED MILK PRODUCTS AND CONSUMERS 439
55. Sasáková, N., Kachnič, J., Hromada, R., Štrkolcová, G., Kottferová, J., Takáčová, D., Korim, P., Vargová, M., Veszelits Laktičová, K.: HODNOTENIE HYGIENY DOJENIA | MILKING HYGIENE ASSESSMENT 440
56. Schreiberová, A., Fedorková, B., Dudríková, E., Marcinčák, S., Štrkolcová, G.: PRVÁ MOLEKULÁRNA IDENTIFIKÁCIA *SARCOCYSTIS* SPP. U HOVÄDZIEHO DOBYTKA URČENÉHO NA ĽUDSKÚ SPOTREBU NA SLOVENSKU | FIRST MOLECULAR IDENTIFICATION OF *SARCOCYSTIS* SPP. IN CATTLE INTENDED FOR HUMAN CONSUMPTION IN SLOVAKIA 448
57. Sleziaková J., Kubicová Z., Cabanová L.: SKÚSENOSTI S RIEŠENÍM PRÍPADU *LISTERIA MONOCYTOGENES* V R. 2025 U VÝROBCU MLIEČNYCH VÝROBKOV | EXPERIENCE WITH RESOLVING A *LISTERIA MONOCYTOGENES* CASE IN 2025 AT A DAIRY PRODUCTS MANUFACTURER 454
58. Stachová Sejáková, Z., Čonka, K., Gago, F., Drobná, B.: OBSAH POPS VO VYBRANÝCH VZORKÁCH RASTLINNÉHO OLEJA | POPS CONTENT IN SELECTED VEGETABLE OIL SAMPLES 468
59. Staruch, L., Ďurka, E., Bodík, I.: SENZORICKÉ HODNOTENIE PÁRKOV NA BÁZE HRACHU A ICH POROVNANIE S VYBRANÝMI MÄSOVÝMI A RASTLINNÝMI ALTERNATÍVAMI | SENSORY EVALUATION OF PEA-BASED SAUSAGES AND THEIR COMPARISON WITH SELECTED MEAT AND PLANT-BASED ALTERNATIVES 473

60. Szabóová, T., Gregová, G., Dančová, N., Hajdučková, V., Teleky, J.: ANTIMIKROBIÁLNA REZISTENCIA U KOAGULÁZA-NEGATÍVNYCH STAFYLOKOKOV U KRÁV SO SUBKLINICKOU MASTITÍDOU | ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN COAGULASE-NEGATIVE STAPHYLOCOCCI IN COWS WITH SUBCLINICAL MASTITIS 479
61. Švecová, T., Bobková, A., Demianová, A., Lidiková, J., Jurčaga, L.: POROVNANIE OBSAHU KOFEÍNU A CHLOROGÉNOVÝCH KYSELÍN V 100 % *COFFEA CANEPHORA* A POUŽITEJ KÁVOVEJ USADENINE AKO POTENCIÁLNEHO ZDROJA BIOAKTÍVNYCH ZLÚČENÍN | COMPARISON OF CAFFEINE AND CHLOROGENIC ACID CONTENT IN 100% *COFFEA CANEPHORA* AND SPENT COFFEE GROUNDS AS A POTENTIAL SOURCE OF BIOACTIVE COMPOUNDS 484
62. Takáčová, D., Nagyová, A., Sasáková, N., Korim, P.: PRAVIDLÁ PRE OZNAČOVANIE ŽIVOČÍŠNYCH A RASTLINNÝCH MLIEČNYCH VÝROBKOV | RULES FOR LABELING ANIMAL AND PLANT-BASED DAIRY PRODUCTS 494
63. Teleky, J., Hajdučková, V., Király, J., Hudecová, P., Pilipčinec, E.: MASTITÍDA: PREDSTAVUJÚ DOJACIE ZARIADENIA RIZIKO? | MASTITIS: DO MILKING MACHINES POSE A RISK? 499
64. Valo, M., Svitana, J.: HYGIENICKÉ ODVODNENIE SUŠIARNE ŠKROBU: CASE STUDY ZÁVODU TATE & LYLE, BOLERÁZ (2025) | HYGIENIC DRAINAGE IN A STARCH DRYING FACILITY: A CASE STUDY OF TATE & LYLE, BOLERÁZ (2025) 507
65. Vanková, P., Lépesová, K., Dringušová, G., Kotrčová, Z.: ŠTÚDIA PREVALENCIE NA ÚROVNI MALOOBCHODU ZAMERANÁ NA MIKROBIOLOGICKÚ KONTAMINÁCIU RASTLINNÝCH ALTERNATÍV MLIEČNYCH, MÄSOVÝCH A RYBÍCH VÝROBKOV URČENÝCH NA PRIAMU SPOTREBU – VÝSLEDKY Z TMA ÚRADU EFSA | A RETAIL-LEVEL PREVALENCE STUDY ON THE MICROBIOLOGICAL CONTAMINATION OF READY-TO-EAT PLANT-BASED ALTERNATIVES TO DAIRY, MEAT, AND FISH PRODUCTS – RESULTS FROM THE EFSA`S TM..... 510
66. Várady, M., Reitznerová, A., Marcinčák, S., Kováčová, M., Jevinová, P., Popelka, P.: NOVÉ METÓDY SPRACOVANIA VÝBEROVEJ KÁVY | NEW METHODS OF PROCESSING SPECIALTY COFFEES 522
67. Veszelits Laktičová, K., Vargová, M., Zahumenská, J.: VÝZNAM SANITÁCIE Z HĽADISKA BEZPEČNEJ VÝROBY MLIEČNYCH PODUKTOV | THE IMPORTANCE OF SANITATION IN TERMS OF DAIRY PRODUCTS SAFE PRODUCTION..... 532
68. Výrostková, J., Zahumenská, J., Kováčová, M., Dudriková, E., Regecová, I., Mastiľák, M.: REOLOGICÉ VLASTNOSTI LEPKU AKO INDIKÁTOR TECHNOLOGICKEJ KVALITY MÚKY | RHEOLOGICAL PROPERTIES OF GLUTEN AS INDICATORS OF FLOUR TECHNOLOGICAL QUALITY..... 539

69. Zahumenská, J., Megyesy Eftimová, Z., Bujňák, L., Kováčová, M., Dudriková, E.: VPLYV SPÔSOBU ROZMRAZOVANIA NA FYZIKÁLNO-CHEMICKÉ, FAREBNÉ A SENZORICKÉ VLASTNOSTI MRAZENÝCH JAHÔD | INFLUENCE OF THAWING METHOD ON PHYSICOCHEMICAL, COLOR AND SENSORY PROPERTIES OF FROZEN STRAWBERRIES 545
70. Zając, M.: VÝŽIVOVÁ HODNOTA RASTLINNÝCH MLIEČNYCH A MÄSOVÝCH NÁHRAD – MÔŽEME SKUTOČNE NAHRADIŤ PÔVODNÉ PRODUKTY? | NUTRITIONAL VALUE OF PLANT-BASED DAIRY AND MEAT ANALOGS – CAN WE REALLY REPLACE THE ORIGINAL PRODUCTS? 553
71. Zajác, P., Čapla, J.: ANALÝZA OBSAHU MIKROPLASTOV V OŠTIEPKOCH | ANALYSIS OF MICROPLASTIC CONTENT IN SHEEP CHEESE 556
72. Zeleňáková, L., Gabašová, M., Fikselová, M., Gálik, B.: VPLYV FRITOVANIA NA ZASTÚPENIE SFA, MUFA A PUFA V ZEMIAKOVÝCH HRANOLČEKOCH | EFFECT OF FRYING ON THE DISTRIBUTION OF SFA, MUFA, AND PUFA IN FRENCH FRIES 567
73. Zigo, F., Farkašová, Z., Lacková, Z., Výrostková, J., Regecová, I., Vargová, M., Ondrašovičová, S., Hoppejová, T., Récky, A.: VPLYV MASTITÍDY NA KVALITU MLIEKA A REPRODUKČNÉ PARAMETRE U SLOVENSKÉHO STRAKATÉHO DOBYTKA | IMPACT OF MASTITIS ON MILK QUALITY AND REPRODUCTIVE PARAMETERS IN SLOVAK SPOTTED CATTLE 574
74. Ženišová, K., Jankura, E., Rešková, Z.: FT-IR SPEKTROSKOPIA AKO NÁSTROJ NA ŠTÚDIUM DIVERZITY KVASINIEK V HROZNE | FT-IR SPECTROSCOPY AS A TOOL FOR THE STUDY OF YEAST DIVERSITY IN GRAPES 581

ZMENY V ENDOGÉNNEJ MYKOCENÓZE SLADOVNÍCKEHO JAČMEŇA V PROCESE SLADOVANIA

CHANGES IN THE ENDOGENOUS MYCOCENOSIS OF MALTING BARLEY DURING THE MALTING PROCESS

Barboráková Zuzana[1], Tančinová Dana[1], Mašková Zuzana[1], Mrvová Monika[1], Solgajová Miriam[2], Dráb Štefan[3], Felšöciová Soňa[1]

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, [1]Ústav biotechnológie, [2]Ústav potravinárstva, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika; [3]Heineken Slovensko, a.s., Novozámocká 2, 947 01 Hurbanovo, Slovenská republika

ABSTRACT

The aim of the study was to monitor changes in the endogenous mycocenosis of malting barley during the malting process, with a focus on potentially toxigenic genera of filamentous microscopic fungi. Barley samples were analyzed before malting and during individual stages of the technological process (steeping, germination, kilning) using the direct plating method of surface-sterilized grains on DRBC (Dichloran Rose-Bengal Agar)) and DCPA (Dichloran Chloramphenicol Peptone agar) media. A total of 3,801 isolates belonging to 13 genera of micromycetes were obtained. In barley grains before malting, the dominant genera were *Alternaria* (frequency of occurrence = Fr 100.0%, relative density = RD 43.0%), *Penicillium* (Fr 100.0%, RD 23.5%), and *Aspergillus* (Fr 100.0%, RD 16.1%), which are typical for field and storage microcenosis. Within the genus *Aspergillus*, section *Flavi* (Fr 100.0%, RD 67.6%) predominated, followed by sections *Clavati* (Fr 75.0%, RD 11.0%), and *Fumigati* (Fr 75.0%, RD 10.3%). The most frequently isolated species of the genus *Penicillium* were *P. aurantiogriseum* (Fr 100.0%, RD 34.7%), *P. griseofulvum* (Fr 100.0%, RD 26.1%), and *P. miczynskii* (Fr 50.0%, RD 22.1%). During steeping, a significant shift in the microbial spectrum was observed, particularly an increase in fungi of the genus *Fusarium* (Fr 100.0%, RD 49.1%), which remained the dominant genus also during germination (Fr 100.0%, RD 53.9%). At the same time, a decrease in the diversity of *Aspergillus* and *Penicillium* was recorded, with section *Flavi* (Fr 100.0%, RD 81.5%) remaining dominant within *Aspergillus,* and *P. aurantiogriseum* (Fr 50.0%, RD 41.7%) within *Penicillium*. Germination was identified as the most critical stage in terms of microbial contamination, during which the occurrence of *Aspergillus* and *Penicillium* was markedly reduced. During kilning, the total number of micromycetes decreased; however, a subsequent increase in *Aspergillus*, particularly section

Flavi (Fr 75.0%, RD 95.8%), and *Penicillium*, dominated by *P. griseofulvum* (Fr 50.0%, RD 58.8%), was observed. The results confirm that technological conditions during malting significantly influence the mycocenosis of malting barley grains. The increased occurrence of *Fusarium* represents a potential risk in terms of mycotoxin production and malt quality, while the presence of *Aspergillus* and *Penicillium* reflects the importance of storage conditions and the possible production of other toxic metabolites.

Key words: steeping, germination, kilning, fungal diversity, grain contamination

ÚVOD

Endogénna mykocenóza jačmeňa predstavuje komplexné spoločenstvo mikroskopických húb, ktoré kolonizujú vnútorné časti zrna už počas vegetácie. Mikroskopické vláknité huby majú významnú úlohu v kvalite zrna jačmeňa určeného na sladovnícke účely, keďže môžu ovplyvňovať jeho klíčivosť, hygienickú bezpečnosť a technologické vlastnosti. Prítomnosť a dynamika týchto mikroorganizmov sú výsledkom interakcie medzi genotypom jačmeňa, environmentálnymi podmienkami a skladovacími faktormi, pričom jednotlivé druhy húb sa môžu počas spracovania výrazne meniť (Ajayi et Mahalingam, 2025).

Počas skladovania zŕn jačmeňa dochádza k postupným zmenám v zastúpení mikromycét, ktoré môžu byť ovplyvnené typom a dĺžkou skladovania a mikroklimatickými podmienkami. Štúdie ukazujú, že početnosť a diverzita húb sa môže v priebehu mesiacov zvyšovať alebo znižovať v závislosti od prostredia, pričom dominantnými rodmi bývajú najmä rody *Penicillium* a *Aspergillus* (tzv. skladové huby). Tieto rody sú významné nielen z hľadiska technologickej kvality, ale aj z dôvodu potenciálnej produkcie mykotoxínov (Felšöciová et al., 2021).

Proces sladovania – zahŕňajúci máčanie, klíčenie a hvozdenie (sušenie) – predstavuje pre mykocenózu výrazný selekčný tlak. Zmeny vlhkosti, teploty a aerácie vytvárajú prostredie, ktoré podporuje rast niektorých mikroorganizmov, zatiaľ čo iné sú potlačené. Počas sladovania dochádza k významným posunom v mikrobiálnych komunitách, pričom sa ukazuje, že jednotlivé fázy v priebehu sladovania majú odlišný vplyv na bakteriálne aj hubové spoločenstvá. Tieto zmeny môžu ovplyvniť nielen kvalitu sladu, ale aj riziko tvorby mykotoxínov, ako sú deoxynivalenol, fumonizíny či aflatoxíny (Bakker et al., 2024).

Z hľadiska bezpečnosti potravín je dôležité sledovať nielen zmeny v mykocenóze, ale aj potenciálnu prítomnosť mykotoxínov, ktoré môžu pretrvávať alebo sa transformovať počas sladovania a následného varného procesu (Gonzalez Pereyra et al., 2011). Komplexné pochopenie zmien v endogénnej mykocenóze počas sladovania je preto kľúčové pre optimalizáciu technologických postupov, zabezpečenie kvality sladu a minimalizáciu

zdravotných rizík. Moderné analytické metódy, vrátane chromatografických a molekulárnych techník, umožňujú presnejšie monitorovať prítomnosť mikromycét a ich metabolitov, čo otvára priestor pre efektívnejšie riadenie mikrobiologickej kvality sladovníckej suroviny (Pernica et al., 2019).

Cieľom štúdie bolo sledovať zmeny v mycocenóze sladovníckeho jačmeňa v procese sladovania. Štúdia bola zameraná najmä na skladové mikromycéty potenciálne toxinogénnych rodov *Aspergillus* a *Penicillium*.

MATERIÁL A METODIKA

Stanovenie endogénnej mykocenózy zŕn

V štúdii bola analyzovaná endogénna mykocenóza štyroch vzoriek sladovníckeho jačmeňa (Tab. 1) v priebehu procesu sladovania (etapy máčanie, klíčenie a hvozdenie). Pri analýze bola použitá metóda priameho ukladania povrchovo vysterilizovaných jačmenných zŕn podľa Samson et al. (2002). Po povrchovej sterilizácii zŕn 0,4 % roztokom chloramínu-T boli zrná 3x opláchnuté sterilnou destilovanou vodou a osušené (100 ks) ukladané na agarové kultivačné médiá DRBC (agar s dichlóranom, bengálskou červenou a chloramfenikolom, Biokar diagnostics, Francúzsko) a DCPA (agar s dichlóranom, chloramfenikolom a peptónom, Pitt et Hocking, 2009). Kultivácia prebiehala počas 7 dní pri teplote 25 ± 1 °C v termostate.

Tabuľka č. 1, Prehľad analyzovaných vzoriek sladovníckeho jačmeňa

Číslo vzorky	Odroda	Lokalita/krajina pôvodu
1	LG Tosca	Chotín, Česká republika
2	LG Tosca	Letonice, Česká republika
3	Overture	Voderady, Slovensko
4	Malz	Agrocoop Mihály, Maďarsko

Po ukončení kultivácie bola vykonaná rodová identifikácia vyrastených mikromycét. Preparáty boli pripravené v roztoku kyseliny mliečnej s bavlníkovou modrou a následne pozorované pod mikroskopom Olympus BX51 (Olympus, Japonsko). Pre identifikáciu na druhovej úrovni v prípade rodu *Penicillium*, resp. na úrovni sekcií pri izolátoch rodov *Aspergillus*, boli izoláty preočkované na identifikačné kultivačné médiá určené pre jednotlivé rody podľa Samson et al. (2010). Identifikácia bola realizovaná na základe hodnotenia morfologických, fyziologických a chemotaxonomických znakov podľa Samson et al. (2002, 2010, 2014, 2019), Samson et Frisvad (2004), Varga et al. (2011), Visagie et al. (2014a, 2014b) a Yilmaz et al. (2014).

Vyhodnotenie výskytu mikromycét

Pri vyhodnocovaní výsledkov výskytu mikroskopických vláknitých húb na rodovej, druhovej úrovni a na úrovni sekcií, boli využité ukazovatele frekvencia výskytu (Fr, podiel vzoriek, v ktorých sa daný rod/druh/sekcia vyskytol najmenej jedenkrát) a relatívna denzita (RD, podiel izolátov daného rodu/druhu/sekcie ku všetkým izolátom) podľa Gonzáles et al. (1996).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Rodová identifikácia izolátov mikromycét

Zo zrna pred sladovaním a v procese sladovania (po etapách máčanie, klíčenie, hvozdenie) bolo na DRBC a DCPA živných médiách celkovo vyizolovaných 3 801 izolátov mikroskopických vláknitých húb, ktoré patrili do 13 rodov (Tab. 2, Tab. 3). Mikroskopické vláknité huby, ktoré nebolo možné rodovo identifikovať kvôli tomu, že netvorili fruktifikačné štruktúry, boli označené ako „Mycelium sterillium“.

Tabuľka 2, Rodové zastúpenie mikromycét vo vzorkách jačmeňa pred sladovaním a po máčaní

Rod	Zrno					Máčanie				
	1	2	3	4	Spolu	1	2	3	4	Spolu
Alternaria	161	98	47	58	**364**	159	118	59	85	**421**
Arthrinium	4	6	1	1	**12**	-	-	-	-	-
Aspergillus	22	40	51	23	**136**	13	7	1	6	**27**
Cladosporium	4	10	4	2	**20**	5	4	6	3	**18**
Epicoccum	-	2	2	2	**6**	1	2	-	-	**3**
Fusarium	5	9	1	1	**16**	85	127	186	88	**486**
Lichtheimia	-	-	1	2	**3**	-	-	-	-	-
Mucor	2	1	1	1	**5**	1	-	-	6	**7**
Myc. sterillium	3	1	8	11	**23**	-	-	-	-	-
Nigrospora	-	1	2	-	**3**	-	-	-	-	-
Penicillium	16	112	27	44	**199**	1	8	3	-	**12**
Rhizopus	8	10	30	9	**57**	5	-	-	4	**9**
Sordaria	-	1	-	-	**1**	-	-	-	-	-
Trichoderma	-	-	1	-	**1**	-	-	-	6	**6**
Spolu	**225**	**291**	**176**	**154**	**846**	**270**	**266**	**255**	**198**	**989**

Tabuľka 3, Rodové zastúpenie mikromycét vo vzorkách po klíčení a hvozdení

Rod	Klíčenie					Hvozdenie				
	1	2	3	4	Spolu	1	2	3	4	Spolu
Alternaria	180	133	73	66	**452**	81	77	40	13	**211**
Aspergillus	2	2	-	1	**5**	13	10	1	-	**24**
Cladosporium	-	14	2	-	**16**	-	7	-	-	**7**
Fusarium	195	192	184	146	**717**	31	50	75	49	**205**
Mucor	1	37	27	65	**130**	17	16	72	44	**149**
Myc. sterillium	-	-	-	-	-	-	1	-	-	**1**
Penicillium	1	5	-	5	**11**	2	15	-	-	**17**
Rhizopus	-	-	-	-	-	3	3	-	-	**6**
Sordaria	-	-	-	-	-	-	-	-	1	**1**
Trichoderma	-	-	-	-	-	-	-	-	3	**3**
Spolu	**379**	**383**	**286**	**283**	**1 331**	**147**	**184**	**194**	**110**	**635**

Získané výsledky poukázali na výraznú dynamiku zastúpenia mikromycét počas jednotlivých etáp sladovania, pričom dominantné rody sa menili v závislosti od podmienok prostredia. V počiatočnej fáze (zrno pred sladovaním) dominovali rody *Alternaria* (Obr. 1; Fr 100,0 %, RD 43,0 %), *Penicillium* (Fr 100,0 %, RD 23,5 %) a *Aspergillus* (Fr 100,0 %, RD 16,1 %), ktoré sú typické pre poľnú a skladovú mykocenózu. Ich prítomnosť je v súlade s literatúrou, podľa ktorej tieto rody kolonizujú zrno ešte pred zberom alebo počas skladovania (Magan et Aldred, 2007; Pitt et Hocking, 2009). Rody *Alternaria* a *Fusarium* sú často spájané s poľnou kontamináciou, zatiaľ čo rody *Penicillium* a *Aspergillus* sú charakteristické pre skladovanie, keďže dokážu rásť aj pri nižšej aktivite vody (Samson et al., 2010).

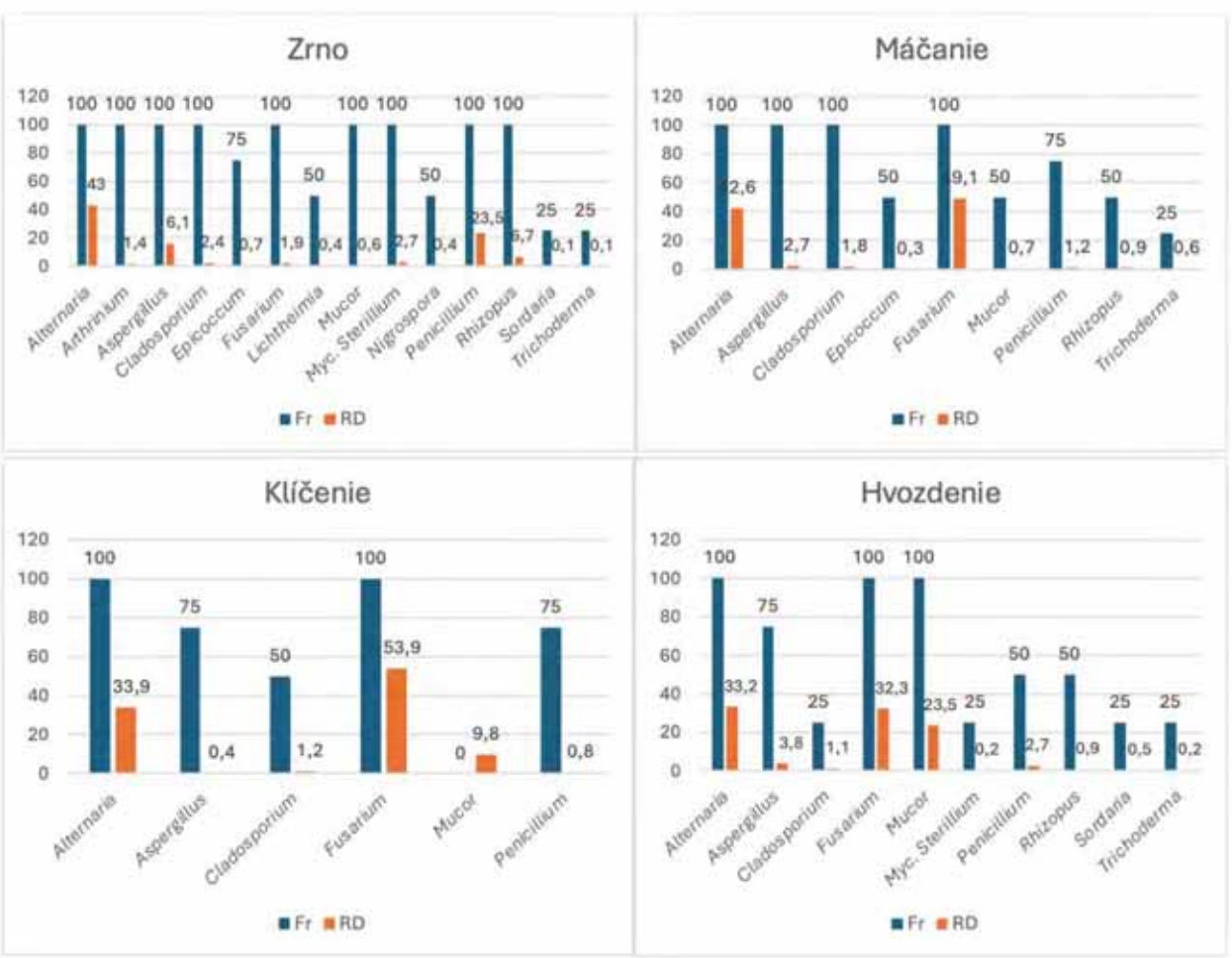
Počas máčania došlo k výraznej zmene spektra mikroskopických vláknitých húb, najmä k prudkému nárastu rodu *Fusarium* (Fr 100,0 %, RD 49,1 %). Tento trend možno vysvetliť zvýšenou vlhkosťou, ktorá vedie k aktivácii latentne prítomných mikroorganizmov na povrchu aj vo vnútri zrna. Podľa viacerých autorov je máčanie kritickým krokom, ktorý podporuje rast rodu *Fusarium* v dôsledku hydratácie zrna a mobilizácie živín (Flannigan, 1996; Laitila et al., 2007). Súčasne bol zaznamenaný výrazný pokles počtu izolátov rodu *Penicillium* (Fr 75,0 %, RD 1,2 %), čo naznačuje ich slabšiu schopnosť adaptácie na vysokú vlhkosť. Toto bolo pozorované aj v iných štúdiách, ktoré uvádzajú, že skladové huby sú menej konkurencieschopné pri plne hydratovanom substráte (Magan et Aldred, 2007).

Najvyšší počet izolátov mikromycét bol zaznamenaný vo fáze klíčenia, čo potvrdzuje, že ide o kritickú fázu z hľadiska kontaminácie mikromycétami. Dominancia rodu *Fusarium* (Fr 100,0 %, RD 53,9 %) v tejto etape je významná, keďže tento rod zahŕňa druhy schopné produkcie mykotoxínov, ako je napr.d eoxynivalenol (DON), ktorý je často detegovaný v slade

a pive (Lancova et al., 2008; Schwarz et al., 2006). Zvýšený výskyt zygomycét z rodu *Mucor* (Fr 100,0 %, RD 9,8 %) možno pripísať schopnosti týchto hú rýchlo kolonizovať substrát pri vysokej vlhkosti (Pitt et Hocking, 2009).

Počas hvozdenia došlo k poklesu celkového počtu vyizolovaných mikromycét, čo poukazuje na inhibičný účinok zvýšenej teploty a zníženej vlhkosti. Napriek tomu niektoré rody, najmä *Fusarium*, *Alternaria* a *Mucor*, pretrvávali, čo naznačuje ich relatívnu odolnosť voči stresovým podmienkam. Toto bolo potvrdené aj v iných štúdiách, podľa ktorých hvozdenie síce redukuje mikrobiálnu záťaž, avšak nie je schopné úplne eliminovať všetky mikromycéty (Laitila et al., 2007). Dominancia rodu *Fusarium* je významná, keďže mykotoxíny produkované počas predchádzajúcich fáz pri sladovaní sú tepelne stabilné a môžu pretrvávať aj po technologickom spracovaní (Lancova et al., 2008).

Obrázok 1, Frekvencia výskytu a relatívna denzita rodov mikromycét v jednotlivých etapách sladovania



Skladové mikroskopické vláknité huby

Rod *Aspergillus*

Rod *Aspergillus* patrí medzi významné skladové mikroskopické vláknité huby, čo potvrdzujú aj výsledky tejto štúdie. V počiatočnej fáze (zrno pred sladovaním) bol zaznamenaný jeho pomerne vysoký výskyt, pričom dominovala sekcia *Flavi* (Fr 100,0 %, RD 67,6 %), nasledovaná sekciami *Clavati* (Fr 75,0 %, RD 11,0 %) a *Fumigati* (Fr 75,0 %, RD 10,3 %). Ostatné sekcie, sekcia *Nigri, Circumdati, Candidi* a *Versicolores,* mali nižšie hodnoty RD. Tento profil je typický pre skladované obilniny, kde druhy rodu *Aspergillus* kolonizujú zrno pri nižšej aktivite vody a vyšších teplotách (Pitt et Hocking, 2009; Samson et al., 2010).

Počas máčania zŕn došlo k výraznému poklesu diverzity rodu *Aspergillus*, pričom dominantnou zostala sekcia *Flavi* (Fr 100,0 %, RD 81,5 %). Sekcie *Nigri* a *Clavati* boli zastúpené v menšej miere (Tab. 4). Tento pokles druhovej rozmanitosti možno vysvetliť nízkou schopnosťou väčšiny druhov rodu *Aspergillus* adaptovať sa na podmienky vysokej vlhkosti počas máčania. Podľa literatúry sú tieto huby typicky xerofilné a preferujú prostredie s nižšou aktivitou vody (Magan et Aldred, 2007).

Tabuľka 4, Frekvencia výskytu a relatívna denzita sekcií rodu *Aspergillus* v jednotlivých etapách sladovania

Sekcia	Zrno							Máčanie						
	1	2	3	4	Spolu	Fr	RD	1	2	3	4	Spolu	Fr	RD
Flavi	16	39	21	16	92	100	67,6	11	7	1	3	22	100	81,5
Clavati	3	-	8	4	15	75	11,0	-	-	-	1	1	25	3,7
Circumdati	3	-	-	-	3	25	2,2	-	-	-	-	-	-	-
Nigri	1	-	2	2	5	75	3,7	2	-	-	2	4	50	14,8
Fumigati	-	1	12	1	14	75	10,3	-	-	-	-	-	-	-
Versicolores	-	-	1	-	1	25	0,7	-	-	-	-	-	-	-
Candidi	-	-	6	-	6	25	4,4	-	-	-	-	-	-	-
Sekcia	**Klíčenie**							**Hvozdenie**						
	1	2	3	4	Spolu	Fr	RD	1	2	3	4	Spolu	Fr	RD
Flavi	1	2	-	1	4	75	80,0	12	10	1	-	23	75	95,8
Nigri	1	-	-	-	1	25	20,0	1	-	-	-	1	25	4,1

Vo fáze klíčenia bol výskyt rodu *Aspergillus* výrazne redukovaný, pričom boli vyizolovaný iba aspergily zo sekcie *Flavi* (Fr 75,0 %, RD 80,0 %) a *Nigri* (Fr 25,0 %, RD 20,0 %). Celkový počet izolátov bol nízky, čo naznačuje, že podmienky klíčenia (vysoká vlhkosť a konkurencia iných mikroorganizmov, najmä rodu *Fusarium*) nie sú pre tento rod optimálne.

Podobné výsledky uvádzajú aj iné štúdie, podľa ktorých sú druhy rodu *Aspergillus* počas klíčenia potláčané rýchlejšie rastúcimi mikromycétami (Flannigan, 1996).

Počas hvozdenia došlo opätovne k nárastu výskytu rodu *Aspergillus*, pričom výrazne dominovala sekcia *Flavi* (Fr 75,0 %, RD 95,8 %) a sekcia *Nigri* bola zastúpená len minimálne (Fr 25,0 %, RD 4,1 %). Toto súvisí s poklesom vlhkosti a zvýšením teploty, ktoré vytvárajú priaznivejšie podmienky pre xerofilné druhy rodu *Aspergillus*. Sekcia *Flavi* je z technologického hľadiska významná, keďže zahŕňa druhy schopné produkcie aflatoxínov, čo predstavuje potenciálne riziko pre bezpečnosť potravín (Samson et al., 2010).

Celkovo možno konštatovať, že rod *Aspergillus* je najvýznamnejší v počiatočných a záverečných fázach sladovania, zatiaľ čo počas máčania a najmä klíčenia jeho zastúpenie klesá. Dominancia sekcie *Flavi* vo všetkých sledovaných fázach poukazuje na jej vysokú adaptačnú schopnosť a potenciálny význam z hľadiska kvality a zdravotnej bezpečnosti sladu.

Rod *Penicillium*

Rod *Penicillium* patrí medzi typické skladové mikroskopické vláknité huby, čo potvrdzuje aj jeho výrazné zastúpenie v zrne pred sladovaním. Najvýznamnejšími druhmi, ktoré boli vyizolované, boli *P. aurantiogriseum* (Tab. 5, Fr 100,0 %, RD 34,7 %), *P.griseofulvum* (Fr 100,0 %, RD 26,1 %) a *P. miczynskii* (Fr 50,0 %, RD 22,1 %). Menej zastúpené boli druhy *P. hordei*, *P. freii*, *P. crustosum*, *P. expansum* a *P. caseifulvum*. Takéto druhové spektrum je typické pre skladované obilniny, kde druhy rodu *Penicillium* dominujú najmä pri nižšej aktivite vody a počas skladovania zrna (Christensen et Kaufmann, 1969; Lacey, 1989).

Počas máčania došlo k výraznému poklesu diverzity aj početnosti rodu *Penicillium*. Detegované boli len niektoré druhy, najmä *P. aurantiogriseum* (Fr 50,0 %, RD 41,7 %) a *P. griseofulvum* (Fr 2,05 %, RD 16,7 %), pričom ostatné druhy sa vyskytovali len sporadicky. Tento pokles možno vysvetliť tým, že druhy rodu *Penicillium* sú typicky skladové huby preferujúce suchšie podmienky, a preto sú počas máčania, charakterizovaného vysokou vlhkosťou, potláčané (Flannigan, 1996; Narziß, 2005). Súčasne dochádza k zvýhodneniu vlhkomilných mikromycét, najmä rodu *Fusarium*, ktoré sú schopné rýchlej kolonizácie hydratovaného zrna.

Vo fáze klíčenia bol výskyt rodu *Penicillium* výrazne redukovaný, pričom dominoval druh *P. aurantiogriseum* (Fr 50,0 %, RD 90,9 %) a v menšej miere bol prítomný druh *P. griseofulvum* (Fr 25,0 %, RD 9,1 %). Nízke zastúpenie tohto rodu vo fáze klíčenia potvrdzuje, že podmienky klíčenia (vysoká vlhkosť, intenzívna enzymatická aktivita a silná mikrobiálna konkurencia) nie sú pre skladové huby priaznivé (Briggs et al., 2004). V tejto fáze

sú často dominantné rýchlo rastúce mikromycéty, ktoré dokážu efektívnejšie využívať dostupné živiny.

Počas hvozdenia došlo k miernemu nárastu výskytu rodu *Penicillium*, pričom dominantným druhom bol *P. griseofulvum* (Fr 50,0 %, RD 58,8 %). Okrem neho boli zaznamenané aj druhy *P. palitans*, *P. flavigenum* a tiež penicíliá, ktoré nebolo možné druhovo identifikovať (*Penicillium* sp.). Súvisí to s poklesom vlhkosti počas sušenia, čo opätovne vytvára priaznivejšie podmienky pre rast skladových húb (Narziß, 2005). Druhy rodu *Penicillium* sú známe schopnosťou prežívať nepriaznivé podmienky a následne opätovne kolonizovať substrát.

Z hľadiska kvality sladu je významné, že niektoré druhy rodu *Penicillium*, napr. druhy *P. expansum* alebo *P. verrucosum*, sú schopné produkcie mykotoxínov (napr. patulín alebo ochratoxín A), ktoré môžu pretrvávať aj počas technologického spracovania (Cabañes et al., 2010).

Tabuľka 5, Frekvencia výskytu a relatívna denzita druhov rodu *Penicillium* v jednotlivých etapách sladovania

Druh	Zrno							Máčanie						
	1	2	3	4	Spolu	Fr	RD	1	2	3	4	Spolu	Fr	RD
P. aurantiogriseum	8	30	1	30	69	100	34,7	-	4	1	-	5	50	41,7
P. caseifulvum	-	1	-	-	1	25	0,5	-	-	-	-	-	-	-
P. crustosum	-	6	-	-	6	25	3,0	-	-	-	-	-	-	-
P. expansum	7	-	-	-	7	25	3,5	-	-	-	-	-	-	-
P. freii	-	8	-	-	8	25	4,0	-	1	-	-	1	25	8,3
P. glabrum skupina	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	25	8,3
P. griseofulvum	1	34	14	3	52	100	26,1	-	2	-	-	2	25	16,7
P. hordei	-	-	12		12	25	12,6	-	-	-	-	-	-	-
P. miczynskii	-	33	-	11	44	50	22,1	-	1	-	-	1	25	8,3
P. thomii skupina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2		2	25	16,7
Druh	**Klíčenie**							**Hvozdenie**						
	1	**2**	**3**	**4**	**Spolu**	**Fr**	**RD**	**1**	**2**	**3**	**4**	**Spolu**	**Fr**	**RD**
Penicillium sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	2	25	11,8
P. aurantiogriseum	-	5	-	5	10	50	90,9	-	-	-	-	-	-	-
P. flavigenum	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	2	25	11,8
P. griseofulvum	1	-	-	-	1	25	9,1	2	8	-	-	10	50	58,8
P. palitans	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	3	25	17,6

Celkovo možno konštatovať, že rod *Penicillium* je charakteristický najmä pre počiatočné štádiá sladovania, pričom jeho význam počas máčania a klíčenia výrazne klesá v dôsledku nevhodných vlhkostných podmienok. Opätovný výskyt počas hvozdenia poukazuje na jeho schopnosť adaptácie na suchšie prostredie a jeho potenciálny význam pre kvalitu výsledného produktu.

ZÁVER

Výsledky štúdie preukázali, že proces sladovania významne ovplyvňuje zloženie endogénnej mykocenózy zrna sladovníckeho jačmeňa a pôsobí ako selekčný faktor pre jednotlivé rody mikromycét. V počiatočnej fáze dominovali najmä rody *Alternaria*, *Penicillium* a *Aspergillus*, ktoré sú typické pre poľnú a skladovú mikrocenózu. Počas máčania došlo k výraznej zmene mikrobiálneho spektra, pričom bol zaznamenaný prudký nárast rodu *Fusarium*. Tento trend pokračoval aj počas klíčenia, kde rod *Fusarium* dosahoval najvyššie hodnoty frekvencie výskytu aj relatívnej denzity, čím sa táto fáza potvrdila ako najkritickejšia z hľadiska mikrobiálnej kontaminácie v priebehu sladovania. Proces hvozdenia viedol k zníženiu celkového počtu mikromycét, avšak niektoré rody, najmä *Fusarium*, *Alternaria* a *Mucor* pretrvávali, čo poukazuje na ich schopnosť prežiť nepriaznivé podmienky. Zároveň bol pozorovaný opätovný nárast výskytu skladových húb rodu *Aspergillus* a *Penicillium*, v dôsledku poklesu vlhkosti.

Z hľadiska kvality a bezpečnosti sladu predstavuje najväčšie riziko rod *Fusarium*, ktorý zahŕňa druhy schopné produkcie mykotoxínov, najmä DON. Tieto metabolity sú termostabilné a môžu pretrvávať aj po technologickom spracovaní a negatívne ovplyvniť kvalitu finálnych produktov.

Na základe získaných výsledkov možno konštatovať, že kontrola mikrobiálnej kontaminácie počas sladovania, najmä vo fáze klíčenia, je kľúčová pre zabezpečenie hygienickej bezpečnosti a technologickej kvality sladu. Optimalizácia podmienok spracovania a dôsledný monitoring mikromycét predstavujú dôležité nástroje na minimalizáciu rizika kontaminácie a tvorby mykotoxínov.

POĎAKOVANIE

Príspevok vznikol vďaka finančnej podpore projektu APVV-24-0266: Udržateľné pestovanie jačmeňa a jeho kvalitatívne parametre na sladovnícke účely v meniacich sa klimatických podmienkach Slovenska.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AJAYI, O., & MAHALINGAM, R. Seed endophytes of malting barley from different locations are shaped differently and are associated with malt quality traits. In *BMC Plant Biology* [online]. 2025, vol. 25, no. 1, p. 151. [cit. 2026-04-1]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1186/s12870-025-06089-6>
2. BAKKER, M. G. et al. Microbiome dynamics during malting of barley grains infested by Fusarium graminearum strains. In *Plant Pathology* [online]. 2024, vol. 73, no. 7, p. 1886-1900. [cit. 2026-04-1]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1111/ppa.13946>
3. BRIGGS, D. E. et al. *Brewing: science and practice*. Elsevier, 2004. 900 p.
4. CABAÑES, F. J. et al. Ochratoxin A producing species in the genus *Penicillium*. In *Toxins* [online]. 2010, vol. 2, no. 5, p. 1111-1120. [cit. 2026-04-9]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.3390/toxins2051111>
5. FELŠÖCIOVÁ, S. et al. Effect of long-term storage on mycobiota of barley grain and malt. In *Plants* [online]. 2021, vol. 10, no. 8, p. 1655. [cit. 2026-04-9]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.3390/plants10081655>
6. FLANNIGAN, B. The microflora of barley and malt. In *Brewing Microbiology*, Boston, MA: Springer US, 1996. pp. 83-125.
7. GONZALEZ PEREYRA, M. L. et al. Mycobiota and mycotoxins in malted barley and brewer's spent grain from Argentinean breweries. In *Letters in Applied Microbiology* [online]. 2011, vol. 53, no. 6, p. 649-655. [cit. 2026-04-10]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03157.x>
8. GONZÁLEZ, H. H. L. et al. Deoxynivalenol and contamination mycoflora in freshly harvested Argantinean wheat in 1993. In *Mycopathologia* [online].1996, vol. 135, no. 2, pp. 129-134. [cit. 2026-04-07].
9. CHRISTENSEN, C. M., & KAUFMANN, H. H. *Grain storage: The role of fungi in quality loss*. U of Minnesota Press. 1969. 172 p.
10. LACEY, J. (1989). Pre-and post-harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products. In *Journal of Applied Bacteriology* [online]. 1989, vol. 67, no. s18, pp. 11s-25s. [cit. 2026-04-07]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1989.TB03766.x>
11. LAITILA, A. et al. Indigenous microbial community of barley greatly influences grain germination and malt quality. In *Journal of the Institute of Brewing* [online]. 2007, vol. 113, no. 1, p. 9-20. [cit. 2026-04-10]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2007.tb00250.x>

12. LANCOVA, K. et al. Transfer of *Fusarium* mycotoxins and 'masked'deoxynivalenol (deoxynivalenol-3-glucoside) from field barley through malt to beer. In *Food Additives and Contaminants* [online]. 2008, vol. 25, no. 6, p. 732-744. [cit. 2026-04-10]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1080/02652030701779625>

13. MAGAN, N., & ALDRED, D. (2007). Post-harvest control strategies: minimizing mycotoxins in the food chain. In *International Journal of Food Microbiology* [online]. 2007, vol. 119, no. 1-2, p. 131-139. [cit. 2026-04-10]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.034>

14. NARZIß, L. et al. *Abriss der bierbrauerei*. John Wiley & Sons. 2017. 471 p. [cit. 2026-04-10]. Online ISBN 9783527812820. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1002/9783527812820>

15. PERNICA, M. et al. Analytical techniques for determination of mycotoxins in barley, malt and beer: A review. In *Kvasny prumysl* [online]. 2019, vol. 65, no. 2, p. 46-57. [cit. 2026-04-09]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.18832/kp2019.65.46>

16. PITT, J. I., & HOCKING, A. D. *Fungi and food spoilage*. New York: Springer. 2009. vol. 519, [cit. 2026-04-10]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1007/978-0-387_92207-2>

17. SAMSON, R. A., et al. *Introduction to Food—And Airborne Fungi*. 6th ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS): Utrecht, The Netherlands, 2002. 389 p. [cit. 2026-04-09]. ISBN 90-70351-42-0

18. SAMSON, R. A., & FRISVAD, J. C. *Penicillium subgenus Penicillium: New Taxonomic Schemes and Mycotoxins and Other Extrolites.* Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS): Utrecht, The Netherlands, vol. 449, 2004. 174 p. [cit. 2026-04-10]. ISBN 90-70351-53-6

19. SAMSON, R. A. et al. *Food and Indoor Fungi.* Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS): Utrecht, The Netherlands, 2010. 390 p. [cit. 2026-04-06]. ISBN 978-90-70351-82-3

20. SAMSON, R. A. et al. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. In *Studies in Mycology*. 2014, vol. 78, no. 1, p. 141-173. [cit. 2026-04-06]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.07.004>

21. SAMSON, R. A. et al. *Food and Indoor Fungi*. Westerdijk Fungal Biodiversity Institute. 2019. 481 p. [cit. 2026-04-06]. ISBN 978-94-91751-18-9

22. SCHWARZ, P. B. et al. Quality risks associated with the utilization of *Fusarium* head blight infected malting barley. In *Journal of the American Society of Brewing Chemists*.

2006, vol. *64*, no. 1, p 1-7. [cit. 2026-04-10]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-64-0001>

23. VARGA, J. et al. New and revisited species in *Aspergillus* section *Nigri*. In *Studies in Mycology*. 2009, vol. 69, no. 1, p. 1-17. [cit. 2026-04-06]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.3114/sim.2011.69.01>
24. VISAGIE, C. M. et al. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. In *Studies in mycology*. 2014a, vol. 78, no. 1, p. 343-371. [cit. 2026-04-06]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.001>
25. VISAGIE, C. M. et al. Ochratoxin production and taxonomy of the yellow aspergilli (*Aspergillus* section *Circumdati*). In *Studies in mycology*. 2014b, vol. 78, p. 1-61. [cit. 2026-04-06]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.07.001>
26. YILMAZ, N. et al. Polyphasic taxonomy of the genus *Talaromyces*. In *Studies in Mycology*. 2014, vol. 78, p. 175-341. [cit. 2026-04-06]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.08.001>

Kontaktná adresa: Ing. Barboráková 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.barborakova@uniag.sk

VÝSLEDKY EURÓPSKEHO PROJEKTU MIKROBIOLOGICKÉHO VYŠETROVANIA HOTOVÝCH RASTLINNÝCH VÝROBKOV NAHRÁDZAJÚCICH MÄSO A MLIEKO

MICROBIOLOGICAL RESULTS OF THE EUROPEAN PROJECT ANALYZING READY-TO-EAT PLANT BASED MEAT AND MILK SUSBSTITUTES

Cabanová Lenka, Klempaiová Monika

Štátny veterinárny a potravinový ústav v Dolnom Kubíne

Skúšobné laboratórium Dolný Kubín, Jánoškova ul. 1611/58, 026 01 Dolný Kubín

ABSTRACT

Plant-based food which substitutes milk and meat products becomes increasingly popular in the last years. This became one of the reasons why European Food Safety Agency (EFSA) decided to control microbiological quality of these products placed on the market. Several EU countries were involved.

There were 100 samples analysed by each country. In Slovakia the samples were taken mainly from retail (different supermarkets) and 10 samples were bought via e-shop.

Results showed good microbiological quality as in none of the samples there were no any pathogen bacteria present. In 7 of 100 samples there were other *Listeria* than *Listeria monocytogenes* found but only at low numbers (10-20 cfu/g). Other *Listeria* are considered to be only as hygienic criterium in the food.

Salmonella spp., Listeria monocytogenes, Escherichia coli numbers were not found in the samples. pH and water activity were analysed in all samples.

Keywords: plant-based food, microbiological safety, retail, European project

ÚVOD

Európsky projekt prebiehal v r.2025 v niekoľkých krajinách EÚ. Cieľom bolo vyšetriť potraviny, ktoré predstavujú rastlinnú variantu mäsovým a mliečnym výrobkom a zistiť ich fyzikálno-chemické vlastnosti (pH a aktivitu vody a_w) a mikrobiologickú kvalitu.

Nakoľko podmienkou bolo, aby vzorky potravín boli odoberané v obchodnej sieti, bola snaha vyšetriť čo najširší počet obchodov z rôznych miest (90 vzoriek) a zároveň bolo 10 vzoriek UHT mlieka zakúpených aj cez internetový obchod.

Všetky vzorky, ktoré boli vyšetrované v rámci projektu, boli presne špecifikované, aby išlo výlučne o potraviny určené na priamy konzum – tzv. ready-to-eat (RTE) bez ďalšej potreby

tepelného ošetrenia. Vzorky boli rozdelené do troch základných skupín, a to náhrady mlieka, náhrady mäsa a náhrady rýb.

MATERIÁL A METÓDY

Najväčšiu časť vzoriek tvorili mliečne (37 vzoriek) a mäsové (37 vzoriek) náhrady, 25 rastlinných mliek a 1 vzorka náhrady rybieho mäsa. U každej vzorky bolo potrebné vykonať fotodokumentáciu, zaznamenať miesto nákupu, podmienky skladovania, výrobcu/ distribútora a zloženie. Žiadna zo vzoriek neobsahovala viac ako dve rôzne základné zložky.
Vzorky boli vyšetrované čo najbližšie k dátumu spotreby.

Mikrobiologické analýzy boli vyšetrované podľa platných noriem – STN EN ISO 11290-1,2 na dôkaz a stanovenie počtu *Listeria* spp. a *Listeria monocytogenes*, STN EN ISO 6579 na dôkaz *Salmonella* spp . a STN ISO 16649-2 na stanovenie počtu *Escherichia coli*. Fyzikálno – chemické vyšetrenia boli vykonané podľa interných štandardných pracovných postupov (ŠPP).

VÝSLEDKY

Na základe fyzikálno-chemických ukazovateľov najviac vzoriek bolo v rozmedzí pH 6.1-7.0 (52/100, najmä mäsové náhrady), pH≤4.4 bolo u 36/100 (najmä syrové náhrady), 5 vzoriek malo pH medzi 4.5-5.0 a 7 vzoriek viac ako pH 7.0.

Vzorka rýb mala pH 4.4. a a_w 0.97-0.98.

Hodnota a_w bola u 30/100 viac ako 0.99, 56/100 vzoriek malo a_w v rozsahu 0.97-0.98 a iba 9 vzoriek malo a_w v rozsahu 0.95-0.96. 2 vzorky mali a_w 0.93-0.94 a 3 vzorky menej ako 0.92.

Pri vyšetrení vzoriek na dôkaz prítomnosti listérií väčšina agarových misiek vykazovala netypické alebo žiadne kolónie. *Listeria monocytogenes* nebola potvrdená v žiadnej vzorke.

Pri stanovení počtov listérií, žiadna nepotvrdila *Listeria monocytogenes*, čo znamená, že vzorky vyhovujú európskej legislatíve.

V prípade počtov *Listeria* spp. sa vyskytli typické aj atypické kolónie, ktoré boli následne podrobené ďalšej identifikácii. 7 vzoriek malo stanovený počet iné *Listeria spp*. 6 vzoriek malo výsledok 10 KTJ/g a 1 vzorka pôvodom z Maďarska mala výsledok 20 KTJ/g.
Salmonella spp. ani počty *Escherichia coli* neboli zistené v žiadnej zo 100 analyzovaných výrobkov.

ZÁVER

Kontrola u výrobcov ako aj v obchodnej sieti je veľmi dôležitá a potrebná. Dáta zo Slovenska ukazujú, že v obchodnej sieti sa nachádzajú vzorky, ktoré pre konzumenta nepredstavujú žiadne mikrobiologické riziko. Je to dôležitá informácia, keďže ide o potraviny, ktoré sú určené na priamy konzum a majú vo väčšine prípadov dlhú dobu spotreby.

LITERATÚRA U AUTOROV

Kontaktná adresa: MVDr. Lenka Cabanová, PhD., Ing. Monika Klempaiová, PhD., Veterinárny a potravinový ústav Dolný Kubín, Jánoškova 1611/58, 026 01 Dolný Kubín, Slovensko. E-mail: lenka.cabanova@svpu.sk; monika.klempaiova@svpu.sk

OD FARMY PO CHLADNIČKU: MENIACE SA VÝZVY V BEZPEČNOSTI MLIEČNYCH VÝROBKOV

FROM FARM TO FRIDGE: EVOLVING SAFETY CHALLENGES IN DAIRY PRODUCTS

Cenci-Goga Beniamino, Costanzi Egidia

University of Perugia, School of Veterinary Medicine

ABSTRACT

Ensuring dairy safety today requires a truly farm-to-fridge perspective. This keynote will explore how hazards and control measures interact along the entire dairy chain, starting with on-farm practices that influence udder health, raw milk hygiene and initial refrigeration. Particular attention will be given to the integrity of the cold chain during milk collection and transportation, where time–temperature abuse can amplify microbial risks, especially in raw milk destined either for direct consumption or for specialty products. In the processing environment, we will examine how pasteurization, fermentation, packaging and hygienic design mitigate or, when poorly managed, reintroduce contamination risks. The talk will then follow products through wholesale, retail and domestic storage, highlighting how distribution logistics, small breaks in the cold chain and consumer handling behaviors shape the real safety margin of dairy products. Throughout, special emphasis will be placed on the contrasting risk profiles of raw versus heat-treated milk, the evidence on cold-tolerant pathogens, and how integrated, risk-based control strategies can maintain both product quality and consumer trust.

Keywords: milk, refrigeration, *Listeria monocytogenes*, data-logger, cold-chain

OVERVIEW

Dairy safety is best understood as a continuum rather than a single control point. The final safety of milk and dairy products is determined by the cumulative interaction of animal health, milking hygiene, rapid cooling, transport conditions, heat treatment, fermentation, packaging, distribution, retail display, and domestic storage [1]. A farm-to-fridge perspective is therefore essential because every stage either preserves or erodes the microbiological safety margin carried by the product to the next step [1]. Refrigeration remains one of the most important safeguards in the dairy chain, yet its protective effect is frequently overestimated. Chilled storage slows microbial growth, reduces the rate of chemical and biochemical deterioration, and helps maintain sensory quality, but it does not fully prevent the survival or multiplication

of all relevant hazards. This is especially important for refrigerated dairy products with extended shelf life, high moisture, and direct-to-consumer use (the so-called ready-to-eat), where small failures in time-temperature control may have significant microbiological consequences [2] .The microbiological quality of dairy products is established long before processing begins. Udder health, environmental cleanliness, milking hygiene, and the speed with which milk is cooled after production all influence the initial contamination level and the residual safety margin available to downstream controls [3]. Milk is a highly perishable food matrix, rich in nutrients and water, and therefore particularly vulnerable to microbial growth when cooling is delayed or inconsistent. Because shelf life and safety are shaped by both intrinsic and extrinsic factors, early contamination cannot be viewed as an isolated farm problem; it conditions the performance of every later hurdle, including pasteurization, packaging, and chilled storage [1,4].

Refrigeration

For perishable foods, refrigeration should begin as early as possible and remain stable throughout commercial life. In dairy systems, this means that milk should be rapidly cooled after milking and maintained under controlled refrigerated conditions during on-farm storage and collection. This requirement is particularly important for raw milk because raw milk does not benefit from a terminal inactivation step before every possible use. When the initial microbial load is high, or when early refrigeration is delayed, the entire chain is forced to manage increased risk from the outset. Conversely, when raw milk hygiene is strong and chilling is immediate, the downstream system operates with a substantially wider margin for both safety and quality preservation [4-7]. Raw milk and heat-treated milk must be discussed as products with different risk architectures. Raw milk safety depends primarily on preventive hygiene, immediate cooling, and strict maintenance of temperature control, because no later step can be assumed to neutralize hazards completely before consumption. Heat-treated milk follows a different logic. Pasteurization acts as a major microbial reduction step and remains one of the most effective interventions available in the dairy chain. Yet the presence of an effective lethal treatment does not eliminate risk if contamination is reintroduced later through equipment, surfaces, air, brines, fillers, packaging lines, or poor operator practices. In practical terms, pasteurization can create a strong safety margin, but only hygienic process design can preserve it. Refrigeration of foods generally takes place between 0 and 10 °C, with a practical target close to 4 °C in domestic use. At these temperatures, microbial activity is slowed, shelf life is extended, and many forms of deterioration progress more slowly. However, chilled foods remain biologically active systems because the water within the product remains unfrozen and

available to microorganisms. This distinction is crucial for dairy safety. Milk, cream, fresh cheeses, and many fermented dairy products remain capable of supporting microbial growth during refrigerated storage if temperature rises or holding times become excessive. Refrigeration is therefore a kinetic control, not an absolute barrier: it reduces the speed of risk development, but it does not stop risk from developing altogether [1,2,5,8].

Cold chain

The refrigerated life of a food can be divided into four connected stages: commercial storage, transport, retail sale, and domestic storage. In all four stages, the decisive factor is not simply the nominal temperature target but the integrity of the cold chain over time. Transport is one of the most sensitive links in this sequence. Loading and unloading operations, door openings, structural heat gains, and time spent in transfer can all produce thermal deviations that are short in duration but important in effect. In dairy logistics, these moments must be regarded as microbiological control points, especially for raw milk, fresh products, and ready-to-eat items with limited shelf life. Temperature monitoring is therefore not a documentary exercise; it is part of the safety system itself [4,6,9-11]. The processing environment can either consolidate or reverse the gains achieved through good primary production and heat treatment. Rapid cooling, sanitary layout, separation of clean and dirty zones, effective cleaning, and controlled air circulation are all essential for preserving microbiological stability after processing. This is where dairy safety often becomes more complex than a simple raw-versus-pasteurized debate. Many products become safer after thermal treatment, but they also become more dependent on environmental hygiene because any contamination introduced afterward may face little microbial competition and may persist through the remainder of shelf life. The practical implication is clear: in modern dairy plants, the safety of the final product often depends as much on hygienic design and environmental control as on the lethality of the main process [1-4]. Among refrigerated hazards, *Listeria monocytogenes* remains one of the most important organisms for dairy safety. Growth at low temperatures makes it especially relevant in refrigerated foods, and chilled storage cannot be assumed to prevent its persistence or multiplication. Low-temperature growth is not the only concern. Environmental persistence and biofilm formation increase the difficulty of control, particularly in facilities producing ready-to-eat refrigerated foods. This raises the stakes for soft cheeses, fresh cheeses, and other dairy products consumed without a final kill step in the home. The central challenge is therefore not only preventing entry of the organism into the plant, but preventing establishment, persistence, and recurrent post-process transfer into finished products [8,9,12,13].

Combined hurdles

Fermentation remains one of the most effective natural control strategies in dairy technology. Acidification, microbial competition, and physicochemical change can reduce the capacity of pathogens and spoilage organisms to grow. Yet fermentation should not be treated as a complete substitute for hygiene or refrigeration. Delayed acidification, inadequate process control, or contamination after fermentation can weaken the expected protective effect. Packaging contributes in a similar way. Vacuum systems and modified atmospheres can limit oxygen exposure, slow deterioration, and help preserve product stability, but their effect is conditional on low initial contamination and proper temperature maintenance. In dairy safety, no single hurdle should be interpreted in isolation; the strongest protection emerges when multiple barriers act together and remain stable throughout storage and distribution [14,15]. The importance of this combined-hurdle approach becomes even clearer when the behavior of *Listeria monocytogenes* is examined through quantitative risk modelling. Analysis of 1,568 product samples, together with consumer behavior data and temperature recordings from 57 domestic refrigerators in the Perugia area, showed how modest contamination at production can become much more significant by the time a ready-to-eat refrigerated product is consumed, especially when storage is prolonged and household refrigeration is suboptimal. Mean domestic refrigerator temperature was 8.8 ± 2.91 °C, with most units operating between 4 and 14 °C and 26% showing excursions above 14 °C during part of the monitoring period, conditions that substantially narrow the microbiological safety margin of chilled foods. Under these realistic storage conditions, model outputs indicated that the risk associated with longer-stored vacuum-packed products was markedly influenced by domestic refrigeration performance, and that improving household storage temperature to about 5 °C reduced predicted listeriosis risk by approximately 80% in both the general and high-risk populations. Shortening the use-by date to 30 days also emerged as an effective mitigation measure, confirming that the final stages of the food chain can be decisive even when earlier production controls are appropriate. Although these data were generated in a ready-to-eat product model rather than in dairy itself, the implications for chilled dairy foods are immediate: when a refrigerated product supports growth, is consumed without a lethal step, and may be stored for extended periods in domestic refrigerators that perform above ideal temperature, post-purchase conditions become a critical determinant of actual exposure. This reinforces the need to view refrigeration, packaging, shelf-life setting, and consumer instructions as an integrated safety system rather than as separate technical decisions [13].

Storage

Retail refrigeration is often treated as an extension of manufacturing control, but in practice it is a distinct and variable phase of risk. Multi-product display cabinets, frequent door opening, lighting effects, shelf position, and uneven airflow can all produce localized temperature differences that affect microbiological stability. These variations matter because the safety margin of a refrigerated dairy product is finite. Every deviation in storage temperature consumes part of that margin before the product reaches the consumer. For products with limited durability, especially those intended for direct consumption, apparently modest thermal abuse at retail may have disproportionate significance once combined with later domestic handling [5,6,9,10,15]. The most underestimated stage in dairy safety is often the domestic refrigerator. Professional temperature control largely ends when the product is purchased, and the remaining storage period becomes highly dependent on consumer behavior, household appliance performance, and handling practices. Domestic refrigerators frequently operate closer to 9 °C than to the ideal 4 °C, and internal temperatures are not uniform. The warmest area is commonly the door, while colder zones are located lower in the cabinet. These differences have direct relevance for dairy products because they influence the actual growth potential of cold-tolerant pathogens and spoilage organisms during the final stage of shelf life. Thus, a product that remained apparently compliant during industrial storage may encounter its highest relative risk during home storage, particularly after opening and repeated handling [1,4,8,11,13]. Blue discoloration in mozzarella offers a useful reminder that refrigerated dairy products face not only pathogen-related risks but also technologically and commercially significant spoilage phenomena driven by psychrotrophic bacteria. Experimental work with mozzarella intentionally contaminated with different *Pseudomonas fluorescens* strains showed that even a very low initial contamination of the preservation liquid, as little as 10 cfu/ml, was sufficient to allow rapid bacterial growth in both conditioning brine and cheese, reaching levels close to or above 10^6 cfu/g within a few days, including under refrigeration at 8 °C. The blue defect, however, was strain-dependent rather than a generic consequence of *Pseudomonas*. spp. contamination, because the characteristic discoloration was reproduced by the field strain isolated from blue mozzarella, whereas other tested strains did not generate the same visual alteration despite bacterial growth. Time and temperature after purchase proved decisive for defect expression: when packages were opened and the product was subsequently held at abuse temperature, blue coloration could appear within hours, while longer storage before opening accelerated the onset of visible pigmentation even when prior storage had occurred under refrigerated conditions. This makes blue mozzarella an instructive farm-to-fridge example, because it shows that cold-chain maintenance alone may not fully prevent spoilage by

psychrotrophic organisms and that post-processing water quality, strain specificity, storage duration, package opening, and consumer handling can together determine whether an apparently acceptable product develops a dramatic visible defect [8,12].

Real-world shelf life

Nominal shelf life reflects expected storage conditions, but real shelf life depends on real exposure. For dairy products, the difference between these two concepts may be substantial when distribution, retail, and home conditions deviate from the intended cold chain. Time-temperature abuse does not need to be dramatic to be meaningful. Repeated minor warming events during loading, shopping, transport home, domestic placement in warmer refrigerator zones, and frequent door opening can cumulatively alter microbial behavior in ways that static date marking does not capture. A realistic dairy safety strategy must therefore consider not only what should happen to the product, but what is likely to happen in practice. Continuous temperature documentation provides a more realistic basis for safety management than nominal temperature declarations alone. Data loggers and time-temperature indicators allow thermal histories to be recorded across transport and storage phases and can reveal deviations that would otherwise remain hidden. When these data are integrated with predictive microbiology, the result is a more dynamic and evidence-based understanding of shelf life. This approach is particularly useful in dairy products because microbial growth during chilled storage is highly sensitive to both duration and small changes in temperature. Rather than relying exclusively on fixed assumptions, operators can use real exposure profiles to estimate how much microbiological margin has been consumed before the product is finally eaten [1,5,6,13,14].

Integrated risk-based dairy safety strategy

An effective dairy safety system must be integrated across the whole chain. Control begins with udder health and hygienic milk production, continues with immediate chilling and controlled collection, is strengthened by validated processing, and is preserved only if hygienic design, sanitation, packaging integrity, and uninterrupted refrigeration remain in place. This integrated approach is especially important because different dairy products fail in different ways. Raw milk products are more dependent on primary hygiene and rapid chilling, whereas pasteurized products are more dependent on post-process environmental control and temperature stability during distribution and storage. Fermented dairy foods may benefit from natural inhibitory mechanisms, but they still depend on correct process execution and clean post-fermentation handling. A risk-based strategy therefore requires product-specific control plans built on common chain-wide principles [16-19]. Consumer confidence in dairy products is closely

linked to consistency. Products that appear fresh, correctly packaged, and refrigerated are often assumed to be safe, yet the true safety margin depends on cumulative control history rather than outward appearance alone. For this reason, communication must be treated as part of risk management. Storage instructions, realistic use-by dates, guidance after opening, and clear handling advice are not merely informational features; they extend the control system into the household, where professional oversight no longer operates. In dairy safety, the final barrier is often the consumer's understanding of time, temperature, and cross-contamination risk [8,14,20-24].

Conclusion

The farm-to-fridge model offers the clearest framework for understanding dairy safety because it reflects the real trajectory of hazard development and control. Dairy products do not become safe once and for all at a single point in the chain; safety is created progressively and can be weakened progressively by failures in hygiene, refrigeration, transport, processing, retail storage, or domestic [25,26]. Refrigeration remains indispensable, but it should be understood as a means of slowing microbial risk rather than abolishing it. Raw milk hygiene, pasteurization, fermentation, packaging, hygienic design, environmental sanitation, temperature monitoring, and realistic consumer guidance all contribute to a cumulative and risk-based safety architecture. Maintaining the integrity of that architecture is essential not only for preventing foodborne disease, but also for preserving quality, extending valid shelf life, and sustaining trust in dairy products from farm to fridge [20-24,27].

References

1. Martinez-Martinez, E.; Welti-Chanes, J.; Torres, J.A. Microbial preservation performance evaluation in residential refrigerators: A multiple product, refrigerator placement and temperature setting case study. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **2026**, *109*, doi:10.1016/j.ifset.2026.104456.
2. Uyttendaele, M.; De Bock, T.; Zhao, X. Emerging and Reemerging Food Microbial Hazards. In *Antimicrobial Strategies in the Food System: Updates, Opportunities, Challenges*, 2025; 10.1007/978-3-031-95056-8_1pp. 3-42.
3. Elmoslemany, A.M.; Keefe, G.P.; Dohoo, I.R.; Wichtel, J.J.; Stryhn, H.; Dingwell, R.T. The association between bulk tank milk analysis for raw milk quality and on-farm management practices. *Preventive Veterinary Medicine* **2010**, *95*, 32-40, doi:https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2010.03.007.

4. Renoldi, N.; Marino, M.; Lopriore, M.; Rossi, A.; Di Filippo, G.; Innocente, N. Combining microbiological and technological indicators into a qualitative score for optimizing raw milk refrigeration in cheesemaking. *Food Control* **2026**, *187*, doi:10.1016/j.foodcont.2026.112155.
5. Li, B.; Flint, S.; Palmer, J.; Lindsay, D. On farm cleaning-in-place (CIP) vs multi-species biofilm: Rethinking hygiene strategies in raw milk bulk tanks. *International Dairy Journal* **2026**, *176*, doi:10.1016/j.idairyj.2026.106560.
6. Liasota, V.; Bohatko, N.; Tkachuk, S.; Bukalova, N.; Khitska, O. Effectiveness of Detergents and Disinfectants in the Production of Cow's Milk. *Ukrainian Journal of Veterinary Sciences* **2022**, *13*, 25-33, doi:10.31548/ujvs.13(3).2022.25-33.
7. Abegewi, U.A.; Esemu, S.N.; Ndip, R.N.; Ndip, L.M. Prevalence and risk factors of coliform-associated mastitis and antibiotic resistance of coliforms from lactating dairy cows in North West Cameroon. *PLoS ONE* **2022**, *17*, doi:10.1371/journal.pone.0268247.
8. Cenci-Goga, B.T.; Karama, M.; Sechi, P.; Iulietto, M.F.; Novelli, S.; Mattei, S. Evolution under different storage conditions of anomalous blue coloration of Mozzarella cheese intentionally contaminated with a pigment-producing strain of Pseudomonas fluorescens. *J Dairy Sci* **2014**, *97*, 6708-6718, doi:10.3168/jds.2014-8611.
9. Zarei, M.; Rahiminejad, M.; Gharibi, D.; Mohammadpour, H.; Yousefvand, A. Psychrotrophic Acinetobacter species from cold raw milk: Characterization of biofilm formation, antimicrobial susceptibility, lipolytic and proteolytic activities. *International Dairy Journal* **2026**, *176*, doi:10.1016/j.idairyj.2026.106579.
10. Bachrouri, M.; Quinto, E.J.; Mora, M.T. Kinetic parameters of Escherichia coli O157:H7 survival during fermentation of milk and refrigeration of home-made yoghurt. *International Dairy Journal* **2006**, *16*, 474-481, doi:10.1016/j.idairyj.2005.06.002.
11. Paravicini, T.; Stevens, M.J.A.; Barmettler, K.; Cernela, N.; Stephan, R. Assessment of the Microbiological Quality of Raw Milk Sold Through Vending Machines at the Farm Level in Switzerland. *Pathogens* **2026**, *15*, doi:10.3390/pathogens15030322.
12. del Olmo, A.; Calzada, J.; Nuñez, M. The blue discoloration of fresh cheeses: A worldwide defect associated to specific contamination by Pseudomonas fluorescens. *Food Control* **2018**, *86*, 359-366, doi:https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.12.001.
13. Hadjicharalambous, C.; Grispoldi, L.; Chalias, T.; Cenci-Goga, B. A quantitative risk assessment of Listeria monocytogenes from prevalence and concentration data:

Application to a traditional ready to eat (RTE) meat product. *International Journal of Food Microbiology* **2022**, *379*, doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109843.

14. Gonzales-Barron, U.; Cadavez, V.; Guillier, L.; Sanaa, M. A Critical Review of Risk Assessment Models for Listeria monocytogenes in Dairy Products. *Foods* **2023**, *12*, doi:10.3390/foods12244436.
15. Pannella, G.; Messia, M.C.; Tremonte, P.; Tipaldi, L.; la Gatta, B.; Lombardi, S.J.; Succi, M.; Marconi, E.; Coppola, R.; Sorrentino, E. Concerns and solutions for raw milk from vending machines. *Journal of Food Processing and Preservation* **2019**, *43*, doi:10.1111/jfpp.14140.
16. Borthakur, D.; Sharma, B.K.; Duncan, T. Investigating the probiotic and flavor-producing functions of Bacillus sp. FPIK1 sourced from fermented bamboo shoots of Assam. *Microbial Cell Factories* **2026**, *25*, doi:10.1186/s12934-025-02869-9.
17. Dankar, I.; Melhem, A.; Serhan, M.; Hassan, H.F. Microbial and processing factors affecting biogenic amine formation and accumulation in dairy: a narrative review. *Applied Food Research* **2025**, *5*, doi:10.1016/j.afres.2025.101376.
18. Kolech, A.; Alemu, S.; Milkessa, T. Evaluation of the antimicrobial properties of potential probiotic lactic acid bacteria from raw and fermented cow milk. *Scientific Reports* **2026**, *16*, doi:10.1038/s41598-026-39586-1.
19. Kushima, N.; Yanagihara, T.; Koga, K.; Asahara, T.; Yamamoto, S.; Shundo, Y.; Hamada, N.; Hamasaki, M.; Fujita, M. Lacticaseibacillus paracasei bacteremia and mediastinitis secondary to esophageal invasion by left hilar pleomorphic carcinoma: case report. *BMC Infectious Diseases* **2026**, *26*, doi:10.1186/s12879-026-12971-x.
20. Andreani, G.; Tur-Cardona, J.; Antonioli, F.; Barreiro-Hurle, J.; Sogari, G.; Menozzi, D. To label or not to label? A meta-regression analysis of consumer willingness to pay for sustainability claims. *Trends in Food Science and Technology* **2026**, *170*, doi:10.1016/j.tifs.2025.105435.
21. Hallez, L.; Bulcaen, T.; Glenisson, L.; Boen, H.; Smits, T. Consumer perceptions and behaviors around date labeling, packaging, and dairy food waste: A qualitative photo-elicitation study. *Future Foods* **2026**, *13*, doi:10.1016/j.fufo.2026.100989.
22. Höchli, B.; Holenweger, G.; Morf, A.; Stämpfli, A.; Messner, C. The role of halo effects in consumer perceptions of meat and dairy alternatives. *Food Quality and Preference* **2026**, *143*, doi:10.1016/j.foodqual.2026.105934.
23. Kranjc, K.; Čanžek Majhenič, A.; Žontar, T.P. Consumption Habits and Perception of Plant-Based Milk and Dairy Alternatives Among Vegetarians and Omnivores: A Case Study of Consumers in Slovenia. *Foods* **2026**, *15*, doi:10.3390/foods15050961.

24. Norton, V.; Lignou, S.; Anguiano-Arreola, P.; Oloyede, O.O.; Vásquez, G.; Wang, Q.J.; Sfyra, K.; Alexi, N. Investigating Consumer-Centric Sustainable Food Packaging Challenges and Preferences: A Cross-Cultural Analysis From Seven European Countries in a GenZ and Millennials Population. *Food Frontiers* **2026**, *7*, doi:10.1002/fft2.70253.

25. Madoramae, H.; Bhoopong, P.; Lertcanawanichakul, M. Spore-forming lactic acid bacteria: Stability, health benefits, and applications. *Food and Humanity* **2025**, *5*, doi:10.1016/j.foohum.2025.100946.

26. Wang, Y.; Yan, B.; Xu, H.; Huang, Y.; Sheng, Q.; Wang, L.H. Biogenic amines in fermented foods: A comprehensive review from formation pathways, risk analysis, detection technologies to control measures. *Food Research International* **2026**, *223*, doi:10.1016/j.foodres.2025.117832.

27. Sit, J.E.; Coad, B.R.; Bozkurt, H.; Morris, H. Food waste minimisation via dairy date and storage labelling: A comparative review of regulations and industry guidance across five countries. *Cleaner Waste Systems* **2026**, *14*, doi:10.1016/j.clwas.2026.100506.

Contact Address: Prof. DVM. Beniamino Cenci Goga, PhD., University of Perugia, Via San Cosranzo, 4, 06126 Perugia, Italy. E-mail: bengi@mac.com

PREVALENCIA A DRUHOVÁ DIVERZITA NON-*AUREUS* STAFYLOKOKOV A MAMMALIIKOKOV IZOLOVANÝCH Z PROSTREDIA CHOVU DOJNÍC

PREVALENCE AND SPECIES DIVERSITY OF NON-*AUREUS* STAPHYLOCOCCI AND MAMMALIICOCCI ISOLATED FROM THE DAIRY CATTLE HOUSING ENVIRONMENT

Dančová Nikola[1], Gregová Gabriela[1], Szabóová Tatiana[1], Klein Róbert[2], Nagyová Mária[3], Király Ján[1]

[1]*Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Košice, Slovenská republika*

[2]*Veterinárni univerzita, Brno-Královo Pole, Česká republika*

[3]*Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Košice, Slovenská republika*

ABSTRACT

Non-*aureus* staphylococci and mammaliicocci (NASM) are abundant in the dairy farm environment and represent the primary causative agents of intramammary infections in cattle. This study aimed to isolate and identify NASM from environmental samples—a significant reservoir for these bacteria—and to characterize their species diversity. Potential NASM isolates were selected based on phenotypic characteristics, and their genus affiliation was confirmed via mPCR. A total of 120 NASM isolates were subsequently identified at the species level using MALDI-TOF MS analysis. The results revealed the presence of eleven distinct species, with *S. xylosus* and *M. sciuri* being the most dominant. Other species, such as *S. equorum*, *M. vitulinus*, and *S. succinus*, were detected at lower frequencies. Additionally, *S. haemolyticus*, *M. lentus*, *S. chromogenes*, *S. cohnii*, *S. nepalensis*, and *S. simulans* were identified too. The high diversity of these pathogens underscores their significant role in the epidemiology of bovine mastitis and highlights the need for systematic monitoring.

Key words: non-*aureus* staphylococci and mammaliicocci, dairy cows, prevalence, species diversity

ÚVOD

V súčasnom manažmente chovu dojníc predstavujú non-*aureus* stafylokoky a mammaliikoky (NASM) najčastejšie izolovanú skupinu baktérií z mlieka. Hoci sa považujú za prirodzenú súčasť kožnej mikrobioty zvierat, zároveň sú hlavnou príčinou subklinických, ale aj klinických mastitíd (Freu et al. 2024). Dlhodobo boli NASM považované za menej významné patogény, avšak v súčasnosti ich význam narastá – nielen kvôli stúpajúcej prevalencii, ale aj

pre ich schopnosť tvoriť biofilm a pôsobiť ako rezervoárov génov antimikrobiálnej rezistencie (Ruiz-Romero et al. 2023).

Uskutočnené štúdie potvrdzujú, že výskyt NASM je úzko spätý s prostredím, v ktorom je hovädzí dobytok ustajnený. Tieto baktérie sa bežne vyskytujú v rôznych zložkách prostredia, ako je podstielka, vzduch, voda, povrchy technologických zariadení či ruky dojičov (Piessens et al. 2011; Ruiz-Romero et al. 2023). Niektoré druhy, napríklad *S. xylosus*, *S. equorum*, *S. cohnii*, *M. sciuri* alebo *M. fleurettii*, sú klasifikované ako primárne environmentálne, čo znamená, že prostredie maštale predstavuje ich hlavný rezervoár, z ktorého následne infikujú mliečnu žľazu. Schopnosť NASM prežívať v nepriaznivých podmienkach prostredia a tvoriť biofilmy na povrchoch dojacích zariadení zvyšuje riziko ich prenosu počas procesu dojenia (De Visscher et al. 2014; Ruiz-Romero et al. 2023). Identifikácia a pochopenie druhovej diverzity NASM v prostredí sú preto nevyhnutnými predpokladmi pre pochopenie dynamiky infekcií a implementáciu efektívnych sanitačných programov na farmách s mliečnou produkciou.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky prostredia (podstielka, exkrementy, stery z povrchov, voda z napájačiek) boli odoberané v pravidelných intervaloch na farme zameranej na chov dojníc plemena Holstein so zavedeným systémom voľného ustajnenia kráv s ležiskovými boxami s podstielkou.

Odobraté vzorky boli primárne spracované a následne inokulované na povrch pevných kultivačných médií, t.j. krvného agaru (HiMedia Laboratories, India), Baird-Parker agaru (HiMedia Laboratories, India) a Chapman-Mannitol Salt agaru (Bio-Rad, Francúzsko). Po inkubácii podľa podmienok stanovených výrobcom, boli potenciálne izoláty NASM iniciálne identifikované na základe fenotypových znakov, ktoré zahŕňali skúmanie morfológie kolónií, farbenie podľa Grama a vyhodnotenie katalázového testu.

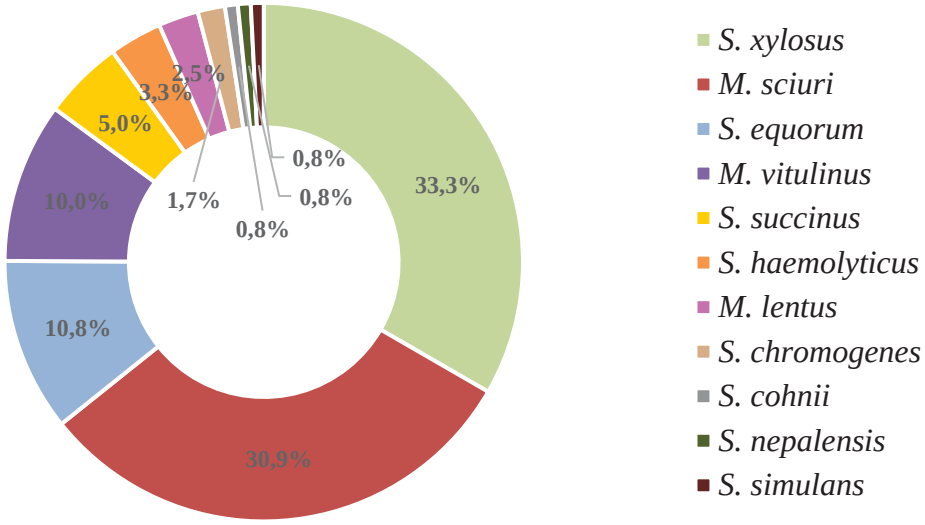
Rodová príslušnosť a diferenciácia od druhu *S. aureus* boli potvrdené na molekulárnej úrovni pomocou konfirmačnej multiplexnej PCR (mPCR) cielenej na amplifikáciu segmentov génov 16S rRNA (rodová identifikácia) a génov *eap* a *nuc*, ktoré sú špecifické pre *S. aureus*. Ako referenčný kmeň bol použitý *Staphylococcus aureus* CCM 4223. Detailný protokol extrakcie bakteriálnej DNA, zloženie reakčnej zmesi, použité primery, podmienky PCR a elektroforetickej separácie sú uvedené v štúdii Király a kol. (2024). Následná druhová identifikácia izolátov bola realizovaná proteomickým prístupom prostredníctvom MALDI-TOF MS analýzy podľa štandardného protokolu (Bessède et al. 2011). Hmotnostné spektrá boli analyzované pomocou softvéru Biotyper, verzia 2.0 (Bruker Daltonics).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Po skončení inkubačnej doby bola na kultivačných médiách vizuálne hodnotená morfológia a charakter rastu jednotlivých bakteriálnych kolónií. Na krvnom agare tvorili NASM stredne veľké, okrúhle, vypuklé, hladké, biele až krémové kolónie bez viditeľnej hemolýzy. Na povrchu Baird-Parker agaru boli pozorované menšie, vypuklé, lesklé, sivé až čierne kolónie, pri ktorých absentovalo jasné halo v dôsledku chýbajúcej lecitinázovej aktivity. Na Chapman-Mannitol Salt agare boli viditeľné menšie až stredne veľké, okrúhle, vypuklé, lesklé kolónie. Farba kolónií bola biela až ružová (manitol-negatívne NASM) alebo biela až žltá s prítomným halo (manitol-pozitívne NASM). Pri mikroskopickom hodnotení preparátov boli pozorované menšie Gram-pozitívne bunky guľovitého tvaru, ktorých usporiadanie bolo samostatne, v pároch alebo v nepravidelných zhlukoch. Katalázový test bol u vyšetrovaných izolátov pozitívny, čím bola potvrdená prítomnosť enzýmu katalázy, ktorý rozkladá peroxid vodíka na vodu a kyslík, čo sa prejavilo viditeľným uvoľňovaním bubliniek.

Identifikáciou izolátov na molekulárnej úrovni prostredníctvom konfirmačnej mPCR bola detegovaná prítomnosť segmentu génu 16S rRNA, ktorý je typický pre rod *Staphylococcus*, celkovo u 120 vyšetrovaných izolátov. Keďže sa u žiadneho izolátu nepotvrdili druhovo špecifické segmenty génov *eap* a *nuc*, prítomnosť druhu *S. aureus* bola vylúčená. Všetkých 120 potvrdených stafylokokov sa následne podrobilo druhovej identifikácii pomocou MALDI-TOF MS. Výsledky ukázali, že celý súbor vyšetrovaných izolátov tvorili baktérie patriace do skupiny NASM, pričom bolo identifikovaných celkovo jedenásť rôznych druhov (Graf č. 1). Najviac zastúpenými druhmi boli *S. xylosus* a *M. sciuri* (> 30%), nasledované druhmi *S. equorum*, *M. vitulinus* a *S. succinus*. Ostatné druhy, ako *S. haemolyticus*, *M. lentus*, *S. chromogenes*, *S. cohnii*, *S. nepalensis* a *S. simulans*, sa vyskytovali len v nízkych percentuálnych podieloch (< 5%).

Graf č. 1, Percentuálne zastúpenie druhov NASM izolovaných z prostredia chovu dojníc



V našej práci sme potvrdili širokú druhovú diverzitu NASM v prostredí chovu dojníc, pričom najvyšší podiel tvorili druhy *S. xylosus* a *M. sciuri*. Toto zistenie koreluje so štúdiou De Visscher et al. (2014), v ktorej sú uvedené druhy definované ako dominantné environmentálne NASM v chovoch hovädzieho dobytka. Podobne Taponen a Pyörälä (2009) uvádzajú *S. xylosus*, *M. sciuri* a *S. saprophyticus* ako najčastejšie izolované druhy osídľujúce prostredie maštale. Dominancia *S. xylosus* poukazuje na jeho mimoriadnu schopnosť adaptácie na rozmanité podmienky prostredia a vysokú mieru adhézie na rozličné povrchy technologických zariadení, na ktorých často vytvára biofilmy (Ruiz-Romero et al. 2023). Odlišné výsledky publikovali Piessens et al. (2011), v ktorých práci zasa dominovali druhy *S. equorum*, *S. sciuri* a *S. haemolyticus*. Autori potvrdili aj prítomnosť ďalších druhov, ako *S. cohnii*, *S. simulans*, *S. xylosus*, *S. devriesei* a *S. arlettae*, hoci ich výskyt bol v porovnaní s predchádzajúcimi druhmi menej častý. Novší výskum (Penati et al. 2024) identifikoval *S. chromogenes* ako dominantný druh NASM, nasledovaný *S. borealis*, *M. sciuri* a *S. xylosus*.

Zaujímavým aspektom je aj prítomnosť *S. haemolyticus*, ktorý v našej štúdii patril k menej často izolovaným druhom. Naopak, v prácach Freu et al. (2024) a Ruiz-Romero et al. (2023) bol *S. haemolyticus* druhým najrozšírenejším druhom hneď po *S. chromogenes*. Identifikácia *S. borealis* v štúdii Penati et al. (2024) poukazuje na pravdepodobnú predchádzajúcu zámenu s druhom *S. haemolyticus*, čím sa zdôrazňuje dôležitosť presnej druhovej identifikácie.

Významným zistením nášho výskumu je vyšší výskyt zástupcov rodu *Mammaliicoccus* (najmä *M. sciuri* a *M. vitulinus*), ktorí sú v súčasnosti považovaní za dôležité rezervoáre génov antimikrobiálnej rezistencie. Tieto gény môžu byť horizontálnym prenosom odovzdané patogénnejším druhom, ako je *S. aureus* (Ruiz-Romero et al.

2023). Naopak, len sporadický výskyt druhov *S. simulans, S. cohnii* alebo *S. nepalesis* v našich vzorkách z environmentu môže naznačovať ich užšiu afinitu k tkanivám hostiteľa (epitel mliečnej žľazy a ceckový kanálik) než k samotnému prostrediu maštale (Piessens et al. 2011; Crippa et al. 2024).

ZÁVER

Zistenia tejto práce prinášajú dôležité poznatky o prevalencii a druhovej rozmanitosti NASM v environmentálnych vzorkách z chovu dojníc. Tieto informácie môžu prispieť k nastaveniu efektívnych sanitačných programov a preventívnych opatrení s cieľom minimalizovať riziko vzniku intramamárnych infekcií u dojníc a zabezpečiť vysokú kvalitu mliečnej produkcie.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená grantom APVV-23-0488 a projektom KEGA 009UVLF-4/2025.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BESSÈDE, E. et al. Matrix-assisted laser-desorption/ionization biotyper: Experience in the routine of a university hospital. In *Clinical Microbiology and Infection.* ISSN 1469-0691, 2011, vol. 17, no. 4, p. 533–538.
2. CRIPPA, B.L. et al. Non-aureus staphylococci and mammaliicocci (NASM): their role in bovine mastitis and One Health. In *Journal of Dairy Research.* ISSN 1469-7629, 2024, vol. 91, no. 1, p. 44-56.
3. DE VISSCHER, A. et al. Further evidence for the existence of environmental and host-associated species of coagulase-negative staphylococci in dairy cattle. In *Veterinary Microbiology.* ISSN 1873-2542, 2014, vol. 172, no.3-4, p. 466-474.
4. FREU, G. et al. Frequency of non-*aureus* staphylococci and mammaliicocci species isolated from quarter clinical mastitis: A 6-year retrospective study. In *Journal of Dairy Science*. ISSN 1525-3198, 2024, vol. 107, no. 6, p. 3813-3823.
5. KIRÁLY, J. et al. Resistant *S. aureus* Isolates Capable of Producing Biofilm from the Milk of Dairy Cows with Subclinical Mastitis in Slovakia. In *Agriculture*. ISSN 2077-0472, 2024, vol. 14, no. 4, art. no. 571.
6. PENATI, M. et al. An update on non-aureus staphylococci and mammaliicocci in cow milk: unveiling the presence of *Staphylococcus borealis* and *Staphylococcus rostri* by MALDI-TOF MS. In *Veterinary Research Communications.* ISSN 1573-7446, 2024, vol. 48, no. 4, p. 2555-2561.
7. PIESSENS, V. et al. Distribution of coagulase-negative *Staphylococcus* species from milk and environment of dairy cows differs between herds. In *Journal of Dairy Science.* ISSN 1525-3198, 2011, vol. 94, no. 6, p. 2933-2944.

8. RUIZ-ROMERO, R.A. et al. Non-*aureus* staphylococci and mammaliicocci as a cause of mastitis in domestic ruminants: current knowledge, advances, biomedical applications, and future perspectives – a systematic review. In *Veterinary Research Communications.* ISSN 1573-7446, 2023, vol. 47, no. 3, p. 1067-1084.
9. TAPONEN, S.−PYÖRÄLÄ, S. Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis- not so different from *Staphylococcus aureus*? In *Veterinary Microbiology*. ISSN 1873-2542, 2009, vol. 134, no. 1-2, p. 29-36.

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

HODNOTENIE MULTIELEMENTOVÉHO PROFILU ZELENEJ KÁVY AKO NÁSTROJ JEJ GEOGRAFICKEJ AUTENTIFIKÁCIE

EVALUATION OF THE MULTI-ELEMENTAL PROFILE OF GREEN COFFEE AS A TOOL FOR ITS GEOGRAPHICAL AUTHENTICATION

Demianová Alžbeta, Bobková Alica, Švecová Terézia, Bobko Marek, Lidiková Judita

Ústav potravinárstva, Fakulta Biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

ABSTRACT

This study focuses on the chemometric evaluation of the multi-elemental profile of green coffee as a tool for geographical authentication. A total of 12 specialty green coffee samples originating from South America were analyzed using atomic absorption spectrometry (AAS) to determine selected essential and trace elements. The obtained data were further processed using multivariate statistical methods, including principal component analysis (PCA). The results revealed that Fe, Mn, and Cu were the most abundant elements, while toxic metals such as Pb and Cd were present at low concentrations. PCA explained 64.5% of the total variability and enabled partial discrimination of samples according to their geographical origin. The findings suggest that the elemental composition of green coffee reflects environmental and geochemical conditions and can serve as a reliable marker for origin authentication.

Key words: green coffee, authentication, heavy metals, PCA

ÚVOD

Zelená káva predstavuje významnú globálnu komoditu, ktorej kvalita a autenticita sú čoraz viac predmetom vedeckého aj priemyselného záujmu. Chemické zloženie kávy je ovplyvnené komplexom faktorov, ako sú geografický pôvod, geochemické vlastnosti pôdy, klimatické podmienky a agronomické postupy (Rofner et la., 2025). Okrem organických zlúčenín obsahuje káva aj široké spektrum anorganických prvkov, vrátane esenciálnych mikroelementov (napr. Fe, Zn, Cu, Mn) a stopových prvkov, ktorých koncentrácie môžu odrážať environmentálne podmienky pestovania (Albals et al., 2021).

V posledných rokoch sa čoraz väčšia pozornosť venuje využitiu multielementového profilu ako nástroja na autentifikáciu a vysledovateľnosť potravín (León-Bravo et al., 2022). Obsah kovov v rastlinných materiáloch je úzko spätý s geochemickým zložením pôdy a je menej ovplyvnený krátkodobými technologickými zásahmi, čo z neho robí stabilný marker

geografického pôvodu. Prvky ako Mn, Fe, Ni, Co alebo Cr môžu vytvárať špecifické „chemické podpisy“ (fingerprinty), ktoré umožňujú diferenciáciu vzoriek pochádzajúcich z rôznych pestovateľských oblastí (Barbosa et al., 2013).

V kontexte kávy predstavuje takýto prístup perspektívny nástroj na overovanie deklarovaného pôvodu, čo je dôležité najmä pri produktoch s vysokou kvalitou, ako je káva výberovej kvality (Botola et al., 2026). Kombinácia analytických techník na stanovenie prvkového zloženia s pokročilými chemometrickými metódami, ako je analýza hlavných komponentov (PCA), umožňuje identifikovať vzory a vzťahy medzi vzorkami, ktoré nie sú zjavné pri klasickom univariačnom hodnotení. Takéto prístupy boli úspešne aplikované v oblasti autenticity potravín a predstavujú efektívny nástroj na odhaľovanie nesprávne deklarovaného pôvodu (Lozano-Castellón et al., 2024).

Cieľom tejto práce je preto zhodnotiť prvkový profil zelenej kávy s dôrazom na jeho potenciál pre vysledovateľnosť geografického pôvodu, pričom osobitná pozornosť je venovaná variabilite jednotlivých prvkov a ich využitiu v multivariačných štatistických modeloch.

MATERIÁL A METODIKA

V tejto práci bolo analyzované vzorky zelenej kávy výberovej kvality (n=12) z viacerých oblastí Južnej Ameriky. Podrobný popis vzoriek je zobrazený v Tabuľke 1. Všetky vzorky boli dodané spoločnosťou Fidelis s r.o. (Zvolen, Slovenská republika).

Tabuľka 1 Popis analyzovaných vzoriek

Pôvod	Lot	Nadmorská výška	Spracovanie
Kolumbia	Santander - Bucamaranga	1000-1960 m n.m	mokré pozberové spracovanie
Kolumbia	Aranzazu - Caldas		
Peru	Amazonas Province - Rodriguez de Mendoza		
Brazília	Espirito Santo		
Kolumbia	Huila - Tello		
Brazília	Monte Belo, Sul de Minas		
Peru	Chachapoyas		
Kolumbia	Aranzazu - Caldas		
Ekvádor	Vilcabamba, Andes		
Brazília	Monte Belo, Sul de Minas		
Brazília	São Sebastião da Grama, São Paulo		
Brazília	Minas Gerais, São Paulo		

Stanovenie vybraných prvkov pomocou AAS

Presne 1 g homogenizovanej vzorky bol navážený na analytických váhach. Navážená vzorka bola umiestnená do mineralizačnej kazety a zaliata 5 cm^3 redestilovanej vody a 5 cm^3 koncentrovanej kyseliny dusičnej. Uzavretá kazeta bola mineralizovaná v mikrovlnnom mineralizačnom zariadení MARS X-press (USA). Po mineralizácii boli získané mineralizáty prefiltrované cez kvantitatívny filtračný papier MUNKTELL grade 390.84 g/m^2 do 50 mL odmerných baniek. Následne boli doplnené destilovanou vodou po značku. Merania boli vykonané na prístroji VARIAN AA 240FS (Austrália) za podmienok mineralizácie uvedených v tabuľke 2. Použitý štandard: multi-prvkový štandard pre GF AAS (16 prvkov) Merck. Opakovateľnosť stanovenia mala maximálnu odchýlku 3 %, prietoky plynov: vzduch 13,5 $L \cdot min^{-1}$, acetylén 2,0 $L \cdot min^{-1}$. Ortuť bola stanovená priamo vo vzorke bez úpravy na prístroji AMA 254 pomocou atómovej absorpčnej spektrometrie s využitím techniky generovania pár ortuti. Vlnová dĺžka Hg: 253,65 nm; detekčný limit: 1,5 $ng \cdot kg^{-1}$ sušiny. Podmienky AAS sú uvedené v nasledujúcej časti boli nastavené podľa Bobková et al., (2021).

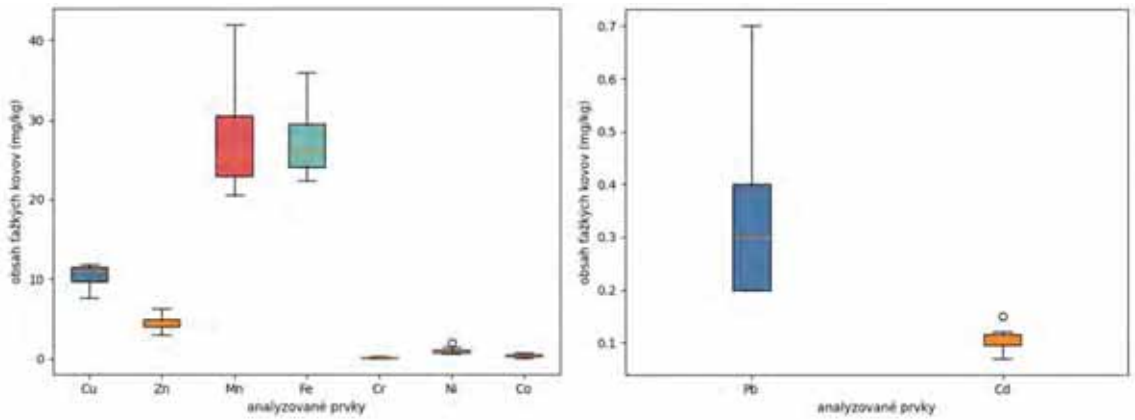
Štatistická analýza

Dáta boli vyhodnotené pomocou deskriptívnej štatistiky (priemer, štandardná odchýlka, RSD) a multivariačných metód. Na vizualizáciu distribúcie boli použité boxploty a heat mapa po z-score normalizácii. Na redukciu dimenzie dát bola aplikovaná analýza hlavných komponentov (PCA). Štatistické spracovanie bolo realizované v prostredí Python s využitím knižníc pandas, NumPy, matplotlib a scikit-learn.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Boxplot vizualizácia obsahu prvkov (Obrázok 1) v analyzovaných vzorkách zelenej kávy poukazuje na výrazné rozdiely medzi esenciálnymi a potenciálne toxickými kovmi, a zároveň poukazuje na možnú variabilitu spojenú s geografickým pôvodom a environmentálnymi faktormi. Stelmach et al. (2015) potvrdili, že zelená káva môže obsahovať Cu, Fe, Mg and Mn. Analýza ťažkých kovov ukázala, že najviac zastúpenými prvkami boli Fe (27.93 $mg \cdot kg^{-1}$), Mn (27.45 $mg \cdot kg^{-1}$) a Cu (10.51 $mg \cdot kg^{-1}$). Stopové prvky ako Cr, Ni a Co sa vyskytovali vo výrazne nižších koncentráciách (< 2 $mg \cdot kg^{-1}$). Olovo a kadmium boli detegované iba v 7 vzorkách, pričom priemerné koncentrácie dosiahli hodnoty 0.34 $mg \cdot kg^{-1}$ pre Pb a 0.106 $mg \cdot kg^{-1}$ pre Cd. Podobnú koncentráciu Cd v peruánskej káve potvrdili aj Rofner et al., (2025).

Obrázok 1: **Boxplot vizualizácia obsahu ťažkých kovov**

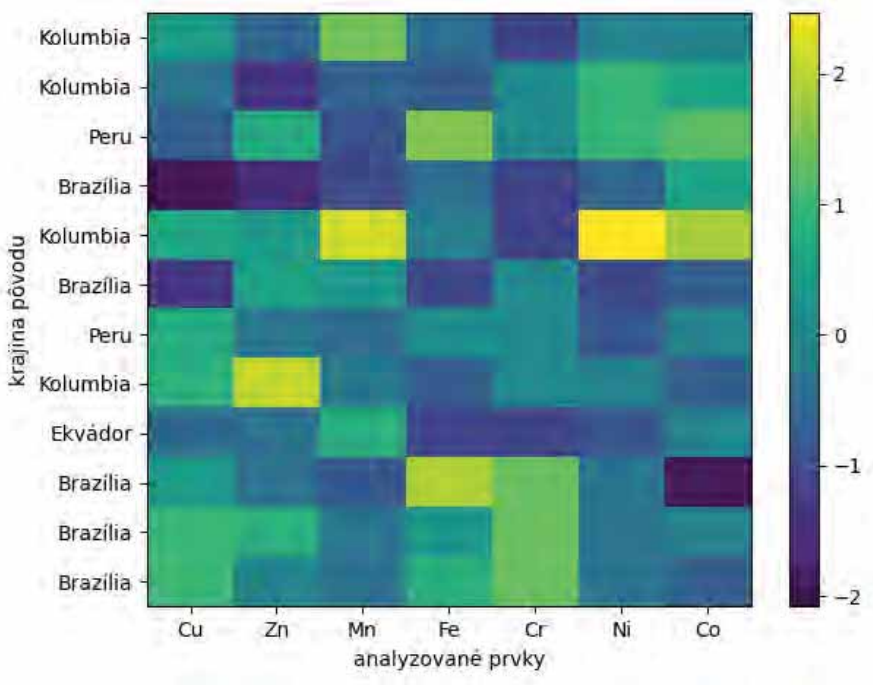


Analýza variability (Tabuľka 2) preukázala relatívne nízku variabilitu v prípade Cu a Fe (RSD < 15 %), zatiaľ čo stopové prvky ako Pb, Cr, Ni a Co vykazovali vysokú variabilitu (RSD > 35 %), čo naznačuje výrazný vplyv geografického pôvodu alebo environmentálnych faktorov. Na podobné rozdiely poukázali aj **Thom et al., (2026)**, no zároveň zdôraznili, že na realizáciu komplexnej empirickej štúdie vplyvu takýchto environmentálnych faktorov je potrebné veľké množstvo inventarizačných dát od farmárov, čo môže predstavovať logistický problém a neprimeranú záťaž. Celkovo nízke koncentrácie Pb zaznamenali aj v štúdii **Guadalube et al., (2024)**, a to na úrovni 0.7 ± 0.05 mg/kg, avšak, v porovnaní s touto štúdiou sme pozorovali výrazne vyššie priemerné koncentrácie Cr (Tabuľka 2), ktoré v spomínanej štúdii pohybovali a úrovni 0.02 mg/kg.

Tabuľka č. 2 Multi-elementový profil zelenej kávy

Prvok	Priemer (mg/kg) ± SD	Medián (mg/kg)	Min–Max (mg/kg)	RSD (%)
Cu	10.51 ± 1.40	11.1	7.60–11.90	~13 %
Zn	4.43 ± 0.90	4.3	3.00–6.30	~20 %
Mn	27.45 ± 6.72	25.25	20.60–41.90	~24 %
Fe	27.93 ± 4.3	27.1	22.40–35.90	~15 %
Cr	0.20 ± 0.08	0.20	0.10–0.30	~40 %
Ni	1.04 ± 0.39	0.95	0.60–2.00	~37 %
Co	0.41 ± 0.16	0.40	0.10–0.70	~38 %
Pb	0.34 ± 0.19	0.30	0.20–0.70	~55 %
Cd	0.106 ± 0.025	0.10	0.07–0.15	~24 %

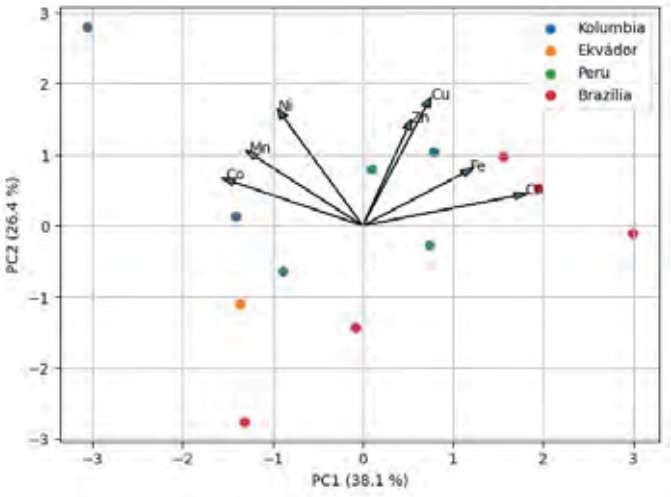
Obrázok 2: Heat mapa z-normalizovaného prvkového profilu zelenej kávy



Na základe normalizácie dát a heat map (Obrázok 2) analýzy je zrejmé, že najvýraznejšia variabilita bola pozorovaná pri Mn a Fe, čo potvrdzuje aj boxplotová analýza. Vzorka z Kolumbie (vzorka 5) vykazuje výrazne nadpriemerné hodnoty Mn (z-score > +2), zatiaľ čo brazílske vzorky majú v niektorých prípadoch podpriemerné hodnoty tohto prvku. Podobný trend je pozorovaný aj pri Fe, kde napríklad brazílska vzorka (vzorka 10) vykazuje výrazne zvýšený obsah (z-score > +1,5), zatiaľ čo iné vzorky z tej istej krajiny sú bližšie k priemeru. Tento jav poukazuje na vysokú heterogenitu aj v rámci jednej krajiny, pravdepodobne v dôsledku rozdielnych pôdnych podmienok alebo agronomických praktík.

Pri stopových prvkoch (Cr, Ni, Co) heat mapa odhaľuje prítomnosť lokálnych extrémov. Nikel dosahuje vysoké kladné odchýlky vo vybraných kolumbijských vzorkách (z-score > +2), zatiaľ čo v brazílskych vzorkách sú tieto hodnoty prevažne nižšie alebo blízke priemeru. Podobne Co vykazuje výrazne negatívne hodnoty v niektorých brazílskych vzorkách (z-score < -2), čo poukazuje na nízky obsah tohto prvku. Tieto rozdiely naznačujú silný vplyv geochemického pozadia a podporujú využitie týchto prvkov ako potenciálnych markerov geografického pôvodu.

Obrázok 3: PCA prvkového profilu zelenej kávy podľa krajiny pôvodu



PCA analýza (Obrázok 3) poukázala, že dva hlavné komponenty vysvetlili spolu 64,5 % celkovej variability (PC1: 38,1 %; PC2: 26,4 %), čo poukazuje na obmedzenú reprezentatívnosť modelu. PC1 bol pozitívne asociovaný najmä s prvkami Fe, Zn, Cu a Cr, zatiaľ čo negatívne koreloval s Mn, Ni a Co.

Druhý komponent (PC2) bol ovplyvnený predovšetkým prvkami Cu, Zn a Ni, ktoré prispievajú k diferenciácii vzoriek v druhom smere variability. Projekcia vzoriek do priestoru PC1–PC2 ukázala čiastočnú separáciu podľa krajiny pôvodu, pričom vzorky z Brazílie sa koncentrovali najmä v kladných hodnotách PC1 a boli asociované s vyšším obsahom Fe a Zn. Naopak, vzorky z Kolumbie sa nachádzali prevažne v záporných hodnotách PC1, čo naznačuje ich väzbu na vyšší obsah Mn, Ni a Co. Vzorky z Peru vykazovali intermediárnu pozíciu bez výraznej dominancie konkrétneho prvku, zatiaľ čo vzorka z Ekvádoru bola od ostatných oddelená, čo poukazuje na jej špecifický prvkový profil. Rovnako, **Habte et al., (2016)** poukázali na možnosť kombinácie PCA, LDA a klastrovej analýzy na účely autnetifikácie kávy. Autori naznačujú, že niektoré mikro- a stopové prvky sú dobrými chemickými deskriptormi analyzovaných vzoriek kávy. Naše výsledky zároveň odhalili korelačné vzťahy medzi prvkami, napríklad silnú pozitívnu koreláciu medzi Cu a Zn, ako aj medzi Mn a Co, čo naznačuje ich spoločný geochemický pôvod.

ZÁVER

Výsledky tejto práce naznačujú, že multielementový profil zelenej kávy predstavuje vhodný nástroj na hodnotenie jej geografického pôvodu. Analýza preukázala rozdiely v koncentráciách jednotlivých prvkov, ktoré súvisia s environmentálnymi a geochemickými podmienkami pestovania. Chemometrické spracovanie dát, najmä PCA analýza, umožnilo čiastočnú diferenciáciu vzoriek podľa krajiny pôvodu a identifikáciu prvkov s diskriminačným

potenciálom. Napriek určitej limitácii modelu možno konštatovať, že kombinácia prvkovej analýzy a multivariačných štatistických metód môže mať významný potenciál v oblasti autentifikácie kávy a kontroly jej pôvodu.

POĎAKOVANIE

Táto publikácia bola financovaná Grantovou agentúrou Slovenskej poľnohospodárskej univerzity (GA SPU), projekt č. 03-GA-SPU-2024, a z Plánu obnovy a odolnosti Slovenskej republiky, projekt č. 09I03-03-V05-00018 – Early Stage Grants na SPU v Nitre, a Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky, grant VEGA 1/0412/25.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ALBALS, D. et al. Multi-element determination of essential and toxic metals in green and roasted coffee beans: A comparative study among different origins using ICP-MS. In *Science Progress* [online]. 2021. Vol. 104, no. 2, s. 368504211026162. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1177/00368504211026162>.
2. BARBOSA, R.M. et al. The use of advanced chemometric techniques and trace element levels for controlling the authenticity of organic coffee. In *Food Research International* [online]. 2013. Vol. 61, s. 246–251. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.060>.
3. BOBKOVÁ, A. et al. Detection of changes in total antioxidant capacity, the content of polyphenols, caffeine, and heavy metals of teas in relation to their origin and fermentation. In *Foods* [online]. 2021. Vol. 10, no. 8, s. 1821. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.3390/foods10081821>.
4. BOTOLA, O.R. et al. The role of traceability system in enhancing the triple bottom line sustainability performance of smallholder specialty coffee producers in southwestern Oromia, Ethiopia. In *Environmental and Sustainability Indicators*[online]. 2026. Vol. 30, s. 101244. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.indic.2026.101244>.
5. GUADALUPE, G.A. et al. Ecological and Health Risk Assessment of Metals in Organic and Conventional Peruvian Coffee from a Probabilistic Approach. In *Agronomy* [online]. 2024. Vol. 14, no. 12, s. 2817. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.3390/agronomy14122817>.

6. HABTE, G. et al. Elemental profiling and geographical differentiation of Ethiopian coffee samples through inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy (ICP-OES), ICP-mass spectrometry (ICP-MS) and direct mercury analyzer (DMA). In *Food Chemistry* [online]. 2016. Vol. 212, s. 512–520. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.178>.
7. LEÓN-BRAVO, V. et al. Traceability for sustainability: seeking legitimacy in the coffee supply chain. In *British Food Journal* [online]. 2022. Vol. 124, no. 8, s. 2566–2590. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1108/bfj-06-2021-0628>.
8. LOZANO-CASTELLÓN, J. et al. Proven traceability strategies using chemometrics for organic food authenticity. In *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2024. Vol. 147, s. 104430. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104430>.
9. ROFNER, N.F. et al. Determinants of cadmium and lead levels in coffee beans: A regression analysis from the Upper Huallaga Valley, Peru. In *Environmental Challenges* [online]. 2025. Vol. 20, s. 101244. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.envc.2025.101244>.
10. STELMACH, E. et al. The content of Ca, Cu, Fe, Mg and Mn and antioxidant activity of green coffee brews. In *Food Chemistry* [online]. 2015. Vol. 182, s. 302–308. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.105>.
11. THOM, B. et al. Beyond the average: understanding the heterogeneity of environmental impacts of green coffee in Brazil and the Democratic Republic of the Congo. In *Journal of Cleaner Production* [online]. 2026. Vol. 546, s. 147805. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2026.147805>.

Kontaktná adresa: Demianová Alžbeta, Institute of Food Sciences, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic. E-mail: alzbeta.demianova@uniag.sk

POROVNÁNÍ ANTIOXIDAČNÍCH VLASTNOSTÍ PIVA S PŘÍDAVKEM BIOAKTIVNÍCH LÁTEK

COMPARISON OF THE ANTIOXIDANT PROPERTIES OF BEER ENRICHED WITH BIOACTIVE COMPOUNDS

Dobeš Jan, Pospiech Matej, Javůrková Zdeňka, Bartlová Marie, Havlová Lenka, 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

The aim of this study was to compare antioxidant properties of model beer samples enriched with selected bioactive compounds representing different chemical classes (protein, phenolic acid, flavonoid and metal nanoparticles) and to discuss implications for beer technology and stability. Functional beers enriched with bioactive compounds are increasingly studied; however, the addition stage and form strongly affect phenolic extraction, antioxidant activity and sensory profile.

Six variants (B1–B6) were prepared: control (B1), 1.0% gliadin (B2), 3.0% gallic acid (B3), 0.2% rutin (B4), 3.0% silver nanoparticles (B5) and 9.0% iron nanoparticles (B6). Total phenolic content (TPC) was determined by the Folin–Ciocalteu assay calibrated with gallic acid, and antioxidant activity by the ABTS assay calibrated with Trolox.

TPC increased markedly in the gallic acid sample (B3; 1.95 mg GAE/g) compared with control (B1; 0.49 mg GAE/g), while gliadin and metal nanoparticle additions exhibited lower TPC. ABTS results showed the most pronounced change for B3; however, unit definition (Trolox equivalents vs. residual absorbance) must be clarified in the final manuscript. The discussion highlights the need to complement ABTS/TPC with DPPH and FRAP and, where possible, HPLC phenolic profiling, since no single assay fully captures antioxidant behavior in beer.

Key words: phenolics; fortification; ABTS; Folin–Ciocalteu; brewing

ÚVOD

Pivo je jedním z nejstarších a celosvětově nejčastěji konzumovaných nápojů (Paiva et al., 2021). Podle některých studií může mít střídmá konzumace piva, kromě příznivých nutričních a smyslových vlastností, i pozitivní dopad na lidské zdraví (Tsoupras et al., 2024; Collin et al., 2013). Tyto účinky jsou spojovány především s přítomností bioaktivních molekul,

jako jsou vitamíny, minerály, vláknina a zejména fenolické sloučeniny (Collin et al., 2013). Pivo je přirozeně velmi komplexní matrice obsahující široké spektrum fenolických sloučenin, jež pocházejí ze sladu (70-80 %) a částečně i z chmele (20-30 %) (Wannenmacher et al., 2018). Tyto látky přímo přispívají ke smyslovým vlastnostem (např. barvě a chuti) a vykazují antioxidační vlastnosti, díky kterým dokážou chránit buňky před oxidativním stresem způsobeným volnými radikály (Carvalho a Guido, 2022; Collin et al., 2013).

V současné době na trhu výrazně roste trend tzv. funkčních potravin a nápojů, což otevírá nové možnosti i v pivovarnictví (Perrot et al., 2011). Vývoj inovativních „funkčních piv“ spočívá v cíleném obohacení nápoje o netradiční příměsi a izolované bioaktivní molekuly – například o fenolické kyseliny (např. kyselina gallová) či flavonoidy (např. rutin). Využití takových látek má za cíl zvýšit celkovou antioxidační kapacitu nápoje a jeho zdraví prospěšný potenciál (Humia et al., 2020).

Pro antioxidační aktivitu se aplikují testy založené na odlišných mechanismech (ABTS, DPPH, FRAP, TPC a jiné). Studie na pivech ukazují, že výsledky mezi metodami mohou být kompatibilní (např. ABTS a DPPH), ale mezi principiálně odlišnými testy mohou vznikat systematické rozdíly, a proto se obecně doporučuje více-analytický přístup (Mitić et al., 2014).

MATERIÁL A METODIKA

Základní suroviny pro výrobu piva tvořily slad plzeňského typu (200 g/1000 ml), chmel žatecký poloraný červeňák (30 g/1000 ml) a kvasinky SafAle US-05 (Fermentis, Francie) v množství 0,5 g/1000 ml. Pro přípravu byla použita destilovaná voda jako kontrola bez přídavku bioaktivních látek (vzorek B1). Modelové vzorky byly obohaceny o 1,0 % gliadinu (vzorek B2), 3,0 % kyseliny gallové (vzorek B3), 0,2 % rutinu (vzorek B4), 3,0 % nanočástic stříbra (vzorek B5) nebo 9,0 % nanočástic železa (vzorek B6). Vzorky piva (B1-B6) byly 10x ředěny destilovanou vodou a následně odstředěny (1600 RPM/2 min).

Celkový obsah polyfenolů

Příprava 1. roztoku: FC (Folin-Ciocalteau): 5 ml FC roztoku se zředilo 50 ml destilované vody.
Příprava 2. roztoku: 75 g Na_2CO_3 se rozpustilo v 1000 ml destilované vody.

Do mikrotitrační destičky bylo napipetováno 20 µl vzorku, 100 µl FC (1:10) a 80 µl roztoku Na_2CO_3. Kalibrační křivka byla připravena z kyseliny gallové. Následovala inkubace při pokojové teplotě ve tmě po dobu 30 min a absorbance byla měřena při 765 nm.

ABTS

Reakce s ABTS (diamonná sůl kyseliny 2,2´-azino-bis(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonové) funguje na podobném principu jako DPPH. Přítomností antioxidantů ve vzorku dochází k redukci ABTS radikálů, což vede ke snížení absorbance.

Příprava 1. roztoku: 0,09602 g ABTS se rozpustilo v 25 ml octového pufru (pH = 4,5). Roztok je nutné skladovat ve tmě při 4 °C.

Příprava 2. roztoku: 0,06624 g $K_2S_2O_8$ se rozpustilo ve 100 ml octového pufru (pH = 4,5). Roztok je nutné skladovat ve tmě při 4 °C.

Po smíchání těchto dvou roztoků následovala inkubace po dobu 12-16 h ve tmě při pokojové teplotě. Následovalo zkušební měření absorbance roztoku (734 nm), které musí být v rozmezí A = 0,74±0,03.

Do mikrotitrační destičky bylo napipetováno 10 µl vzorku do 200 µl pracovního roztoku ABTS. Následovala inkubace při pokojové teplotě ve tmě po dobu 7 min. Absorbance byla opět měřena při vlnové délce 734 nm a kalibrační křivka byla sestavena z Troloxu.

Statistické vyhodnocení dat

Naměřená data byla statisticky zpracována pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (one-way ANOVA) a následně vyhodnocena post hoc Tukeyho HSD testem za účelem stanovení rozdílů mezi jednotlivými vzorky Unistat 6.0 (Unistat Ltd, UK). Statistická významnost byla posuzována na hladině významnosti $p < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Naměřené hodnoty celkového obsahu polyfenolů (TPC) a antioxidační aktivity (ABTS) u jednotlivých modelových vzorků piva jsou souhrnně uvedeny v tabulce č. 1. Tyto parametry představují klíčové ukazatele biologické hodnoty piva, přičemž jejich změny odrážejí vliv přidaných bioaktivních látek na fenolický profil a antioxidační potenciál analyzovaných vzorků.

Tabulka č. 1, Celkový obsah polyfenolů a antioxidační aktivita

Vzorky	TPC (mg GAE/ml)	ABTS (µmol T/l)
B1	$0,49^{ab}$	$56,04^{c}$
B2	$0,44^{a}$	$56,41^{c}$
B3	$1,95^{c}$	$3,20^{a}$
B4	$0,60^{b}$	$55,26^{bc}$
B5	$0,45^{ab}$	$54,33^{b}$
B6	$0,36^{a}$	$54,37^{b}$

**Vysvětlivky: B1 – kontrola bez přídavku bioaktivní látky, B2 – gliadin, B3 – kyselina gallová, B4 – rutin, B5 – nanočástice stříbra, B6 – nanočástice železa*

Celkový obsah polyfenolů

Kontrolní vzorek (B1) bez přídavku bioaktivních látek vykazoval TPC 0,49 mg GAE/g, což představuje standardní základ pro běžná piva (Habschied et al., 2020). Po přepočtu na objemovou jednotku (490 mg/l) je tato hodnota vyšší než rozmezí polyfenolů uvedené v nařízení rady (ES) č. 510/2006 „České pivo" (130–230 mg/l), což lze vysvětlit odlišným principem stanovení, kdy TPC zahrnuje kromě fenolických látek i další redukující sloučeniny.

Nejvýraznější statisticky významný nárůst ($p < 0,05$) byl zaznamenán u vzorku B3 obohaceného o 3,0 % kyseliny gallové, kde hodnota TPC vzrostla téměř čtyřnásobně na 1,95 mg GAE/g. Tento výsledek odpovídá skutečnosti, že kyselina gallová patří mezi hlavní fenolické kyseliny přirozeně se vyskytující v pivu (Mitić et al., 2014), přičemž její cílená fortifikace významně zvyšuje fenolický profil nápoje, v souladu s trendem výroby funkčních piv (Coulibaly et al., 2023).

Vzorek B4 s přídavkem 0,2 % rutinu vykazoval vyšší TPC (0,60 mg GAE/g) ve srovnání se vzorky B2 a B6, avšak ve srovnání se vzorky B1 a B5 nebyl tento rozdíl statisticky významný ($p > 0,05$). Flavonoidy, jako je rutin, jsou významné bioaktivní látky s prokazovanými biologickými účinky (Musial et al., 2021), přičemž jejich přídavek může zvyšovat obsah fenolických sloučenin v pivu (Callemien a Collin, 2009).

Naopak u vzorku B2 obohaceného o 1,0 % gliadinu došlo k mírnému poklesu TPC na 0,44 mg GAE/g oproti kontrole, což lze vysvětlit interakcemi fenolických látek s proteiny vedoucími ke vzniku nerozpustných komplexů (Haslam et al., 1992). K poklesu TPC došlo také u vzorků s nanočásticemi kovů, zejména u vzorku B6 (0,36 mg GAE/g), pravděpodobně v důsledku komplexace polyfenolů s kovovými ionty nebo jejich zapojení do oxidačních procesů (Pan et al., 2022).

Mezi vzorky B1, B2, B5 a B6 nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly ($p > 0,05$).

ABTS

Antioxidační aktivita stanovená metodou ABTS vykazovala statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými vzorky ($p < 0,05$) a úzce souvisela s obsahem fenolických látek, což je trend opakovaně potvrzovaný v řadě studií (Coulibaly et al., 2023; Paixão et al., 2007; Thaipong et al., 2006). Princip metody ABTS spočívá v interakci antioxidantů se stabilním kation-radikálem, přičemž jejich přítomnost vede k jeho redukci, což se projevuje snížením absorbance.

Kontrolní vzorek B1 dosahoval hodnoty 56,04 µmol T/l. Nejvýraznější změna byla zaznamenána u vzorku B3 obohaceného o 3,0 % kyseliny gallové, kde byla naměřena výrazně nižší hodnota 3,20 µmol T/l. Tento rozdíl byl statisticky významný ve srovnání se všemi ostatními vzorky ($p < 0,05$) a odráží vysokou schopnost tohoto vzorku redukovat radikál ABTS.

U zbývajících vzorků (B2, B4, B5, B6) se hodnoty pohybovaly v relativně úzkém rozmezí 54,33–56,41 µmol T/l, což odpovídá méně výrazným změnám v antioxidační aktivitě. Mezi vzorky B1 a B2 nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl ($p > 0,05$), což naznačuje srovnatelnou úroveň antioxidační kapacity. Naproti tomu vzorky B5 a B6 vykazovaly statisticky významně nižší hodnoty ve srovnání se vzorky B1 a B2 ($p < 0,05$).

Vzorek B4 s přídavkem 0,2 % rutinu (55,26 µmol T/l) vykazoval mírné snížení hodnoty oproti kontrole, avšak tento rozdíl nebyl statisticky významný ani ve srovnání se vzorky B1 a B2, ani se vzorky B5 a B6 ($p > 0,05$). Přesto lze pozorovat trend odpovídající mírnému zvýšení antioxidační aktivity, který koresponduje se změnami v TPC. Nižší efekt lze přičíst relativně nízké koncentraci přidané látky.

U vzorků s přídavkem gliadinu (B2) a nanočástic stříbra (B5) či železa (B6) se antioxidační aktivita pohybovala v hodnotách blízkých kontrole, přičemž případné odchylky lze přičíst interakcím těchto látek s fenolickými sloučeninami přítomnými v matrici piva.

ZÁVĚR

Tato práce prokázala, že obohacení modelových piv bioaktivními látkami a nanočásticemi vede ke zvýšení celkového obsahu polyfenolů i antioxidační aktivity v závislosti na jejich chemické povaze. Statisticky významné zvýšení bylo zaznamenáno u kyseliny gallové, která významně zvýšila TPC i antioxidační kapacitu, zatímco přídavek gliadinu a kovových nanočástic vedl ke snížení obsahu polyfenolů, pravděpodobně vlivem komplexace či oxidace. Byla potvrzena souvislost mezi TPC a antioxidační aktivitou, avšak výsledky zároveň ukázaly na nutnost přesné interpretace ABTS dat a využití více analytických metod (např. DPPH, FRAP, HPLC) pro komplexní hodnocení. Z technologického hlediska se ukazuje jako klíčová forma a přídavku bioaktivních látek, které ovlivňují stabilitu, extrakci i senzorické

vlastnosti piva, přičemž vhodně zvolené fenolické sloučeniny představují perspektivní nástroj pro vývoj funkčních piv. V budoucím výzkumu by bylo možné sledovat vliv fáze přídavku bioaktivních látek a upravit použité množství s ohledem na již zjištěné výsledky v této studii.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce vznikla za podpory projektu Veterinární univerzity Brno ITA/Tremlová/2026 „Technologie pro udržitelnou výrobu potravin a mechanismy ochrany zdraví před alergenními složkami potravin“.

POUŽITÁ LITERATURA

1. CALLEMIEN, D., COLLIN, S. Structure, Organoleptic Properties, Quantification Methods, and Stability of Phenolic Compounds in Beer—A Review. In *Food Reviews International*, 2009, vol. 26, no. 1, pp. 1-84. Dostupné na: https://doi.org/10.1080/87559120903157954
2. CARVALHO, D. O., GUIDO, L. F. A review on the fate of phenolic compounds during malting and brewing: Technological strategies and beer styles. In *Food Chemistry*, 2022, vol. 372, no. 4, p. 131093. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131093
3. COLLIN, S., JERKOVIC, V., BRÖHAN, M., CALLEMIEN, D. Polyphenols and Beer Quality. In *Natural Products*, 2013, pp. 2333-2359. ISBN 9783642221439. Dostupné na: https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6_78
4. COULIBALY, W. H., TOHOYESSOU, Y. M. G., KONAN, P. A. K., DJÈ, K. M. Bioactive compounds and antioxidant activities of two industrial beers produced in Ivory Coast. In *Heliyon*, 2023, vol. 9, no. 8, p. e19168. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e19168
5. HABSCHIED, K., LONČARIĆ, A., MASTANJEVIĆ, K. Screening of Polyphenols and Antioxidative Activity in Industrial Beers. In *Foods*, 2020, vol. 9, no. 2, p. 238. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/foods9020238
6. HASLAM, E., LILLEY, T. H., WARMINSKI, E., LIAO, H., CAI, Y. et al. Polyphenol Complexation: A Study in Molecular Recognition. In *ACS Symposium Series*, 1992, vol. 26, no. 1, pp. 8-50. Dostupné na: https://doi.org/10.1021/bk-1992-0506.ch002
7. HUMIA, B. V., SANTOS, K. S., SCHNEIDER, J. K., LEAL, I. L., DE ABREU BARRETO, G. et al. Physicochemical and sensory profile of Beauregard sweet potato beer. In *Food Chemistry*, 2020, vol. 312, no. 6, p. 126087. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126087

8. MITIĆ, S. S., PAUNOVIĆ, D. Đ., PAVLOVIĆ, A. N., TOŠIĆ, S. B., STOJKOVIĆ, M. B. et al. Phenolic Profiles and Total Antioxidant Capacity of Marketed Beers in Serbia. In *International Journal of Food Properties*, 2013, vol. 17, no. 4, pp. 908-922. Dostupné na: https://doi.org/10.1080/10942912.2012.680223
9. MUSIAL, C., SIEDLECKA-KROPLEWSKA, K., KMIEC, Z., GORSKA-PONIKOWSKA, M. Modulation of Autophagy in Cancer Cells by Dietary Polyphenols: A Study in Molecular Recognition. In *Antioxidants*, 2021, vol. 10, no. 1, p. 123. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/antiox10010123
10. PAIVA, R. A. M., MUTZ, Y. S., CONTE-JUNIOR, C. A. A Review on the Obtaining of Functional Beers by Addition of Non-Cereal Adjuncts Rich in Antioxidant Compounds. In *Antioxidants*, 2021, vol. 10, no. 9, p. 1332. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/antiox10091332
11. PAIXAO, N., PERESTRELO, R., MARQUES, J. C., CAMARA, J. Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rosé and white wines: A Study in Molecular Recognition. In *Food Chemistry*, 2007, vol. 105, no. 1, pp. 204-214. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.017
12. PERROT, N., TRELEA, I. C., BAUDRIT, C., TRYSTRAM, G., BOURGINE, P. Modelling and analysis of complex food systems: State of the art and new trends. In *Trends in Food Science*, 2011, vol. 22, no. 6, pp. 304-314. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.03.008
13. RADA EVROPSKÉ UNIE. NAŘÍZENÍ RADY (ES) č. 510/2006: „České pivo“. EK č.: CZ/PGI/005/00375/14.10.2004. 2006. Dostupné na: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A52008XC0123%2803%29
14. THAIPONG, K., BOONPRAKOB, U., CROSBY, K., CISNEROS-ZEVALLOS, L., HAWKINS BYRNE, D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. In *Journal of Food Composition and Analysis*, 2006, vol. 19, no. 6-7, pp. 669-675. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003
15. TSOUPRAS, A., GKIKA, D. A., MARKOPOULOS, T., VOORHOUT, A., GURNEE, K. et al. Beneficial Effects of Beer, Brewery By-Products, and Their Bioactives: Potential Applications in Novel Health-Promoting Products. In *Reference Series in Phytochemistry*, 2024, pp. 965-1024. ISBN 9783031386626. Dostupné na: https://doi.org/10.1007/978-3-031-38663-3_215
16. WANNENMACHER, J., GASTL, M., BECKER, T. Phenolic Substances in Beer: Structural Diversity, Reactive Potential and Relevance for Brewing Process and Beer Quality. In

Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2018, vol. 17, no. 4, pp. 953-988. Dostupné na: https://doi.org/10.1111/1541-4337.12352

Kontaktní adresa: Dobeš Jan, Department of Plant Origin Food Science, Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology, University of Veterinary Sciences Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Czech Republic, E-mail: dobesj@vfu.cz

IZOLÁCIA A IDENTIFIKÁCIA ENTEROBACTERIACEAE ZO SYROV S DÔRAZOM NA ANTIBIOTICKÚ REZISTENCIU

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF ENTEROBACTERIACEAE FROM CHEESES WITH AN EMPHASIS ON ANTIBIOTIC RESISTANCE

[1]Dudriková Eva, [2]Hanzelová Zuzana, [1]Výrostková Jana, [1]Regecová Ivana

[1]Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, UVLF v Košiciach

[2]Centrum klinického a predklinického výskumu MEDIPAR, LF UPJŠ - Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Lekárska fakulta

ABSTRACT

The objective of this study was to detect members of the Enterobacteriaceae family, considered technologically undesirable bacteria, in twenty-four cheese samples, and to evaluate the susceptibility of the recovered isolates to selected antibiotics using two interpretative standards, EUCAST (2023) and CLSI (2023). Cheese samples (150 g) were collected after packaging at production facilities and transported under refrigerated conditions (4 °C) to the laboratory of the University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice for microbiological examination. Standard microbiological methods combined with PCR analysis were used for sample processing. Subsequently, thirty-three isolates were identified by MALDI-TOF MS. Enterobacteriaceae were detected in 33.33% of all analysed cheeses (n = 8). The highest proportion of resistant isolates was observed for cefoxitin according to EUCAST criteria and for ampicillin according to CLSI criteria. Resistance to cefoxitin reached 76.47% under EUCAST interpretation, whereas CLSI criteria indicated 41.76% resistance. Lower resistance rates were observed for ampicillin (64.71% according to both systems) and cefazolin (50.0%), although cefazolin susceptibility could only be interpreted using CLSI criteria. The greatest discrepancy between the two systems was recorded for ofloxacin: no resistant isolates were identified according to CLSI, while EUCAST criteria classified 55.88% of isolates as resistant. These findings highlight the occurrence of Enterobacteriaceae in cheese and demonstrate substantial differences in antimicrobial susceptibility interpretation depending on the applied evaluation system. For the future research is important to put the attention not only onto the detection of microbiological quality of milk and final milk products including cheeses but also onto the detection of susceptibility of the recovered isolates to selected antibiotics used both in veterinary and human medicine.

Key words: cheese, Enterobacteriaceae, antibiotic resistance, EUCAST, CLSI

ÚVOD

Mlieko predstavuje významnú komoditu vo výžive ľudí, pretože obsahuje všetky výživové faktory dôležité pre rozvoj nášho organizmu. Mlieko je prvá potravina, ktorú človek vo forme materského mlieka prijíma od svojej matky a cieľom súčasnej medicíny je čo najdlhšie podporovať dojčenie. Neskôr, keď sa prechádza na príkrmy a zmiešanú stravu, mlieko a mliečne výrobky aj naďalej sú dôležitou súčasťou jedálneho lístka človeka.

Surové mlieko je vzácnou surovinou určenou pre spracovanie v mliekarskom priemysle. Ako surovina určená na ďalšie spracovanie pre výživu ľudí musí spĺňať platné legislatívne požiadavky, tak na zdravie zvierat, hygienické podmienky chovu, získavanie a primárne ošetrenie mlieka v prvovýrobe a spracovateľskom priemysle, ako aj na stanovené kvalitatívne kritéria na surové mlieko (nariadenie EP a Rady č. 852/2004, 853/2004). Preto sledovanie mikrobiologickej kvality mlieka a finálnych výrobkov vrátane syrov predstavuje významnú súčasť každodennej práce mliekarského priemyslu. S možným výskytom mikroorganizmov v mlieku a produktoch môže súvisieť aj ďalšia dôležitá otázka z hľadiska bezpečnosti a zdravia ľudí, a tou je stále viac globálne rezonujúca otázka antimikrobiálnej rezistencie (AMR).

Je všeobecne známe, že ECDC a WHO už v roku 2022 uviedlo, že antimikrobiálna rezistencia je jednou z top desiatich globálnych hrozieb verejného zdravia, ktorým ľudstvo v súčasnosti čelí. Problémom je, že antibiotiká prechádzajú do životného prostredia rôznymi cestami, a to nielen exkrementami (moč, féces) vylučovanými počas liečby a stanovenej ochrannej lehoty použitých antibiotík pri liečbe ľudí a zvierat, ale aj odpadovými vodami pri výrobe antibiotík, nesprávnym používaním a ich likvidáciou atď. Do pozornosti sa dostáva aj stále častý predpis antibiotík pacientom tak v humánnej ako aj veterinárnej medicíne. Problémom sa stáva aj vylučovanie rezíduí antibiotík po ich požití mliekom, mäsom a ďalšími produktami živočíšneho pôvodu v dôsledku liečby a po jej ukončení počas stanovenej ochrannej lehoty u potravinových zvierat (Anwar et al. 2020; Wang et al. 2020; ECDC 2019; EC 2017a, EC 2017b; Cabello et al. 2016; Larsson 2014).

Európska legislatíva stanovuje maximálny celkový počet mikroorganizmov pri 30 °C na hodnotu 100 000 KTJ v 1 ml mlieka, pričom sa výsledok vyjadruje ako kĺzavý geometrický priemer za posledné dva mesiace pri odbere najmenej dvoch vzoriek za mesiac. Práve v tomto celkovom počte mikroorganizmov možno izolovať a identifikovať celú škálu rôznych skupín mikroorganizmov, ktoré by sa mohli podieľať na vzniku chýb finálnych výrobkov, resp. nepriaznivo ovplyvniť zdravotný stav konzumentov. Zavedenie pasterizácie mlieka minimalizuje toto nebezpečenstvo, ale ako z mnohých vedeckých literárnych údajov vyplýva, niektoré mikroorganizmy možno detegovať aj vo finálnych výrobkoch. Jednu takúto skupinu predstavujú aj zástupcovia čeľade Enterobacteriaceae a schopnosť niektorých ich zástupcov

produkovať širokospektrálne beta-laktamázy, čo najviac znepokojuje vedeckú komunitu (Tekiner a Özpınar 2016).

Cieľom tejto práce bola detekcia zástupcov čeľade Enterobacteriaceae ako skupiny technologicky nežiaducich baktérií v syroch vyrobených remeselným spôsobom a u identifikovaných izolátov zistiť citlivosť na vybrané antibiotiká podľa dvoch systémov: EUCAST a CLSI.

MATERIÁL A METODIKA

Celkovo bolo odobratých 24 vzoriek syrov vyrobených z pasterizovaného mlieka remeselným spôsobom v syrárňach na Slovensku. Syry boli odobraté po ich zabalení v prevádzke o hmotnosti do 150 g na jeden syr a prepravené pri teplote 4 °C bez pridania konzervačných látok do laboratória na Univerzite veterinárneho lekárstva a farmácie v Košiciach na analýzu. Po prevoze boli odobraté vzorky ihneď spracované podľa STN ISO 6887-5. Použili sme selektívny agar Violet Red Bile Glucose (VRBG) (Oxoid, Veľká Británia) a inkubáciu platní pri teplote 37 °C po dobu 24 h. Z každého riedenia boli náhodne vybrané typické kolónie, ktoré boli následne prečistené na Brain Heart Infusion agar (Merck, Nemecko), čím sa získali bakteriálne kultúry na identifikáciu a ďalšie testovanie. Do ďalšej identifikácie boli izoláty skladované v Brain Heart Infusion bujóne (Merck, Nemecko) s glycerolom pri teplote -18 °C.

DNA bola extrahovaná z 52 kmeňov podľa Heina et al. (2005). PCR reakcia bola použitá na identifikáciu zástupcov čeľade Enterobacteriaceae podľa Ke et al. (1999).
Po PCR identifikácii bolo 43 izolátov inokulovaných na krvný agar Columbia (Merck, Darmstadt, Nemecko) na prípravu na vyšetrenie MALDI-TOF MS a inkubovaných pri teplote 37 °C počas 24 hodín. Jednotlivé vzorky boli pripravené extrakčným postupom s použitím etanolu a kyseliny mravčej. Kolónie boli následne použité na identifikáciu pomocou MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Billerica, MA, USA).

Identifikované izoláty čeľade Enterobacteriaceae boli následne testované na citlivosť na antibiotiká pomocou diskovej difúznej metódy (DDM) podľa postupu opísaného v dokumente CLSI. Testovaných bolo desať antibiotík: ampicilín (AMP, 10 µg), cefoxitín (FOX, 30 µg), ceftizoxím (ZOX, 30 µg), cefazolín (CZ, 30 µg), kanamycín (K, 30 µg), streptomycín (S, 10 µg), tetracyklín (TE, 30 µg), gentamicín (CN, 10 µg), ofloxacín (OFX, 5 µg) a chloramfenikol (C, 30 µg). Ako referenčný kmeň bola použitá *Escherichia coli* ATCC 25922. Výsledky boli vyhodnotené nezávisle podľa dvoch systémov, a to podľa EUCAST a CLSI. Disky použité na testovanie citlivosti boli vyrobené spoločnosťou HIMEDIA (Bombaj, India). Priemery

inhibičnej zóny boli zaznamenané v milimetroch (mm) a interpretované ako citlivé, intermediárne citlivé alebo rezistentné (Tabuľka č. 1).

Tabuľka č. 1, Vybrané kritéria pre diskový difúzny test (mm) podľa CLSI a EUCAST pre zástupcov radu Enterobacterales

Antibiotikum (disk µg)	Inhibičná zóna v mm podľa CLSI			Inhibičná zóna v mm podľa EUCAST		
	R	I	C	R	I	C
Ampicilín (10)	≤ 13	14-16	≥ 17	< 14	-	≥ 14
Cefoxitín (30)	≤ 14	15-17	≥ 18	< 19	-	≥ 19
Ceftizoxím (30)	≤ 21	22-24	≥ 25	-	-	-
Cefazolín (30)	≤14	-	≥ 15	-	-	-
Kanamycín (30)	≤ 13	14-17	≥ 18	-	-	-
Streptomycín (10)	≤ 11	12-14	≥ 15	-	-	-
Tetracyklín (30)	≤ 11	12-14	≥ 15	-	-	-
Gentamicín (10)	≤ 12	13-14	≥ 15	< 14	-	≥ 17
Ofloxacín (5)	≤ 12	13-15	≥ 16	< 22	-	≥ 24
Chloramfenikol (30)	≤ 12	13-17	≥ 18	< 17	-	≥ 17

R – rezistencia; I – intermediárna citlivosť; C – citlivosť; vlastná tabuľka

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vo vyšetrovaných vzorkách syrov (24) boli enterobaktérie prítomné v ôsmich (33,33 %) odobratých vzorkách.

Z každej zo vzoriek, ktoré vykazovali prítomnosť enterobaktérií boli odobraté suspektné kolónie v počte šesť až sedem na genotypovú identifikáciu pomocou metódy PCR na úrovni čeľade Enterobacteriaceae (n = 52). Do ďalšieho skúmania boli zaradené iba izoláty, ktoré spĺňali kritéria pozitívneho výsledku genotypovej identifikácie na úrovni čeľade a súčasne ich výsledok MALDI-TOF MS identifikácie zaradil do niektorého z rodov čeľade Enterobacteriaceae. Celkovo bolo týmto spôsobom identifikovaných z vyrobených syrov 34 izolátov, z toho 12 izolátov zo všetkých identifikovaných patrilo do rodu *Enterobacter* (35,29 %). Nasledovali zástupcovia rodu *Raoultella (23,53 %), Lelliottia (17,65 %), Citrobacter (8,82 %), Klebsiella (5,88 %)*a *Buttiauxella (2,94 %)*. Izoláty identifikované ako *Escherichia* spp., ktoré môžu mať spojitosť so skorým durením syrov, ako technologickým a kvalitatívnym problémom, boli zaznamenané v 5, 88 % (n = 2).

Výsledky testovania citlivosti izolátov enterobaktérií na vybrané antibiotiká boli hodnotené osobitne podľa kritérií CLSI (2023) a EUCAST (2023) z dôvodu odlišností medzi

nimi. Hodnoty priemerov inhibičných zón, ktoré sú stanovené podľa kritérií CLSI a EUCAST, môžu následne ovplyvniť vyhodnotenie izolátov ako citlivé na antibiotiká alebo rezistentné voči nim. CLSI ponúka ako možnosť vyhodnotiť intermediárnu citlivosť, zatiaľ čo EUCAST nie. Podľa kritérií CLSI bolo možné vyhodnotiť citlivosť na všetkých desať zvolených antibiotík a to: ceftizoxím (ZOX), cefoxitín (FOX), ampicilín (AMP), kanamycín (K), cefazolín (CZ), ofloxacín (OFX), streptomycín (S), gentamicín (CN), chloramfenikol (C) a tetracyklín (TE). Podľa kritérií EUCAST bolo možné vyhodnotiť šesť z desiatich antibiotík a to: cefoxitín (FOX), ampicilín (AMP), ofloxacín (OFX), gentamicín (CN) a chloramfenikol (C). Najvyššie percentuálne zastúpenie rezistentných izolátov enterobaktérii bolo zistené voči antibiotiku cefoxitín a to v 76,47 % podľa kritérií systému EUCAST, zatiaľ čo podľa kritérií CLSI bolo rezistentných 41,76 % skúmaných izolátov. O niečo nižšiu rezistenciu manifestovali izoláty rezistentné voči ampicilínu podľa systému EUCAST a CLSI zhodne v 64,71 %. Táto zhoda bola spôsobená veľmi podobnými kritériami stanovenými pre ampicilín podľa oboch systémov. Najväčší rozdiel medzi vyhodnotením podľa CLSI a EUCAST bol pri ofloxacíne.

Zatiaľ čo podľa CLSI boli všetky skúmané izoláty vyhodnotené ako citlivé na toto antibiotikum, pri hodnotení podľa EUCAST bola rezistencia zaznamená v 55,88 % prípadov. Hodnotenie citlivosti izolátov na antibiotikum chloramfenikol ukázalo zhodne podľa oboch systémov, že všetky testované izoláty vykazovali citlivosť na toto antibiotikum.

Rezistencia voči trom alebo viacerým antibiotikám bola vyhodnotená u identifikovaných zástupcov čeľade Enterobacteriaceae na základe kritérií CLSI (2023) a EUCAST (2023) oddelene. Podľa CLSI bolo celkovo z 34 skúmaných izolátov vyhodnotených ako rezistentných voči trom alebo viacerým antibiotikám 18 izolátov, čo predstavuje 52,94 %. Izolátov bez zaznamenanej rezistencie voči antibiotikám bolo podľa hodnotenia CLSI sedem a podľa EUCAST o jeden menej. Štyri izoláty enterobaktérií hodnotených podľa kritérií CLSI vykazovali rezistenciu voči piatim antibiotikám súčasne.

V našej práci boli všetky odobraté vzorky syrov vyrobené z mlieka tepelne ošetreného pasterizáciou, čo minimalizuje riziko prítomnosti patogénnych baktérií a aj nežiaducich baktérií v procese spracovania mlieka a výroby syrov. Na druhej strane sa tepelným ošetrením ovplyvňuje aj časť prirodzene sa vyskytujúcej mikrobioty, ktorá by mohla účinne potláčať rast nežiaducich baktérií v procese zrenia syrov. Ako sa ukázalo, enterobaktérie boli zistené v niektorých vzorkách odobratých z vyrobených a zabalených syrov.

Z výsledkov našej práce vyplýva, že v ôsmich vzorkách syrov (33,33 %) boli po ich vyzretí detegovaní zástupcovia čeľade Enterobacteriaceae. Podobné výsledky uvádza štúdia z Turecka, kedy ernterobaktérie boli detegované v celom procese výroby. Proces pasterizácie

znížil celkovú mikrobiálnu záťaž, ale vzorky syreniny a syrov boli kontaminované zástupcami čeľade Enterobacteriaceae (Tepeli a Zorba 2018).

Surové mlieko ako vstupná surovina ovplyvňuje svojou prirodzenou mikrobiotou mikrobiotu vyrobených syrov, a ako uvádza Kim et al. (2021) dominantné skupiny baktérií v surovom mlieku sú baktérie mliečneho kvasenia a zástupcovia čeľade Enterobacteriaceae. *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ornithinolytica* a *E. coli* tvorili dominantné druhy v syroch vyrobených zo surového mlieka v prvých fázach ich zrenia (Mladenović et al. 2018 a, b). Trmčić et al. (2016) skúmali 47 syrov vyrobených zo surového mlieka s pH nižším ako 5,0 a prítomnosť koliformných baktérií bola iba vo dvoch vzorkách. Prítomnosť enterobaktérií vo finálnych výrobkoch môže ovplyvniť nedostatočná hygiena zamestnancov Mladenović et al. (2021).

Ako je všeobecne známe, antimikrobiálna rezistencia u izolátov enterobaktérií v surovinách živočíšneho pôvodu môže byť úzko spätá s používaním antibiotík v rámci terapeutických zásahov na farmách pri liečbe mastitíd u dojníc. Hleba et al. (2011) skúmali citlivosť zástupcov z čeľade Enterobacteriaceae na vybrané antibiotiká v mlieku a v syroch podľa kritérií EUCAST odobratých na farmách na Slovensku. Najvyššia rezistencia bola zaznamenaná voči ampicilínu ako u enterobaktérií získaných z mlieka (57,14 %), tak aj zo syrov (84 %). V porovnaní s našimi výsledkami bola v prípade vzoriek syrov zaznamenaná nižšia rezistencia. Podobné výsledky boli týmito autormi u enterobaktérií aj ampicilíne (Hleba a Kačaniová, 2015). Výrostková et al. (2021) skúmali rezistenciu v syroch vyrobených zo surového mlieka a okrem iných antibiotík vyhodnocovali aj rezistenciu voči chloramfenikolu a kanamycínu, ktorá bola zhodne zistená u 8,20 % izolátov. To bolo v porovnaní s vyhodnotením rezistencie voči kanamycínu v našej práci nižšie, aj napriek tomu, že cieľom skúmania v našom prípade boli syry vyrobené z pasterizovaného mlieka.

Multirezistencia je často spojená s *Escherichia coli* a *Salmonella enterica*, ktoré patria medzi patogény nachádzajúce sa v potravinách (Mladenović et al. 2021), u *Klebsiella* spp. vo vzorkách surového mlieka (Chauhan et al. 2013). Multirezistentné baktérie ako sú *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp. a *Klebsiella* spp. boli tiež opísane v práci Fakruddina et al. (2014) v rôznych vzorkách potravín zahŕňajúcich aj detské sušené mlieka. Pri našom skúmaní rezistencie voči trom a viacerým antibiotikám boli zistené rozdiely medzi oboma systémami, čo je však ťažko hodnotiteľné, pretože podľa kritérií EUCAST bolo možne vyhodnotiť celkovo päť antibiotík. Pri detailnejšej analýze izolátov sa zistilo, že najväčšie zastúpenie izolátov rezistentných voči trom a viacerým antibiotikám podľa oboch systémov bolo patriacich do rodov *Enterobacter* a *Raoultella*.

ZÁVER

Z výsledkov našej práce vyplýva, že celkovo bol zaznamenaný najvyšší počet izolátov čeľade Enterobacteriaceae zo syrov vyrobených remeselným spôsobom rezistentných voči cefoxitínu podľa kritérií EUCAST (76,47 %) a voči ampicilínu podľa kritérií CLSI (41,76 %.) O niečo nižšiu rezistenciu vykazovali izoláty rezistentné voči ampicilínu 64,71 % (podľa oboch systémov) a cefazolínu (50,0 %), aj keď táto rezistencia mohla byť vyhodnotená iba podľa systému CLSI. Podľa CLSI neboli zistené rezistentné izoláty voči ofloxacínu, pri hodnotení podľa EUCAST bola rezistencia zaznamená v 55,88 % prípadov. Z uvedeného vyplýva, že problematike kvality a bezpečnosti mlieka a mliečnych výrobkov je aj naďalej potrebné venovať veľkú pozornosť, nakoľko táto komodita predstavuje významnú súčasť zdravého jedálneho lístka človeka od narodenia až po dovŕšenie seniorského veku. Je preto dôležité venovať pozornosť nielen detekcii mikrobiologickej kvality mlieka a finálnych mliečnych výrobkov vrátane syrov, ale aj detekcii rezistencie získaných izolátov na vybrané antibiotiká používaných tak vo veterinárnej ako aj humánnej medicíne.

Bolo by vhodné zjednotiť hodnotiace kritériá v systémoch EUCAST a CLSI, pretože nesprávna interpretácia výsledkov týkajúcich sa antibiotickej rezistencie získaných izolátov mikroorganizmov môže spôsobiť nedostatočnú liečbu u pacientov a ďalšie ekonomické problémy.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená projektom VEGA 1/0325/26.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Anwar, M. et al. Improper disposal of unused antibiotics: an often overlooked driver of antimicrobial resistance. In *Expert Rev. Antiinfect Ther.* ISSN 1744-8336, 2020, vol. 28, p. 375-84.
2. Brucker Daltonics. MALDI Biotyper 2.0. Software for Microorganism Identification and Classification User Manual; Bruker Scientific LLC: Billerica, MA, USA, 2008.
3. Cabello, F. C. et al. Aquaculture as yet another environmental gateway to the development and globalisation of antimicrobial resistance. In *Lancet Infect. Dis.* ISSN 1473-3099, 2016 vol. 16, p. 127-133.
4. CLSI document M100–S33. In Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Thirty-third Informational Supplement; Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, USA, 2023.

5. EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC). Antimicrobial consumption. Annual epidemiological report for 2021 [online]. Stockholm: ECDC; 2022a. DOI: <https://ww w.ecdc.europa.eu/en/publications- data/ surveillance-antimicrobial-consumption-europe-2021>.
6. EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC). Surveillance and disease data for antimicrobial resistance [online]. Stockholm: ECDC; 2022c. DOI: <https://www.ecdc.europa.eu/ en/antimicrobial-resistance/surveillance-and-disease-data>.
7. EUROPEAN COMMISSION (EC). A European One Health Action Plan against Antimicrobial Resistance (AMR), COM/2017/339. Communication from the European Commission to the Council and the European Parliament. Brussels: European Commission; 2017a. DOI:< https://eurlex.europa.eu/legalcontent/EN/TXT/?uri=celex%3A52017DC0339 13>.
8. EUROPEAN COMMISSION (EC). EU Guidelines for the prudent use of antimicrobials in human health, C/2017/4326. Commission notice. Brussels: European Commission; 2017b. DOI: https://eurlex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:52017XC0701(01) >.
9. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST Clinical Breakpoint Table. 2023.
10. European Committee On Antimicrobial Susceptibility Testing. Eucast Clinical Breakpoint Table. 2023. DOI: https: <www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_14.0_Breakpoint_Tables.pdf>.
11. Fakruddin, M.D. et al. Antimicrobial resistance and virulence factors of Enterobacteriaceae isolated from food samples of Bangladesh. In *Int J Microbiol Immunol Res.* ISSN 1348-0421, 2014, vol.3, p.12-18.
12. Hein, I.et al. Quantification of Staphylococcus aureus in unpasteurised bovine and caprine milk by real-time PCR. In *Res. Microbiol.* ISSN 0923-2508, 2005, vol. 156, p. 554-563.
13. Hleba, I. A Kačaniová, M. *Antibiotická rezistencia čeľade Enterobacteriaceae vo vzťahu k potravinám.* 1.vydanie v Nitre: Slovenská poľnohospodárska univerzita,2015. 93 s. ISBN 978-80-552-1408-5.
14. Hleba, L. et al. Antibiotic resistance of Enterobacteriaceae genera and *Salmonella* spp., *Salmonella enterica* ser. typhimurium and enteritidis isolated from milk, cheese and other dairy products from conventional farm in Slovakia. In *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences.* ISSN 1338-5178, 2011, vol. 1, p. 1-20.

15. Chauhan, S. et al. Determination of prevalence and antibacterial activity of ESBL (Extended Spectrum Beta-lactamases) producing *Klebsiella* species isolated from raw milk of Doon Valley in India. In Int J Pharm Biol Sci. ISSN 2230-7605, 2013, vol. 4, p. 417-423.
16. Ke, D. et al. Development of a PCR assay for rapid detection of enterococci. In *J. Clin. Microbiol.* ISSN 0095-1137, 1999, vol. 37, 3497-3503.
17. Kim, J.M. et al. Nucleic acid lateral flow assay for simultaneous detection of hygiene indicator bacteria. In *Anal Bioanal Chem.* ISSN 1618-2642, 2021,vol. 413, p. 5003-5011.
18. Larsson, D. G. J. Pollution from drug manufacturing: review and perspectives. In Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. ISSN 1471-2970, 2014, vol. 19, p. 369-375.
19. Martineau, F. et al. Species-specific and ubiquitous DNA-based assays for rapid identification of *Staphylococcus epidermidis*. In *J. Clin. Microbiol.* ISSN 0095-1137, 1996, vol. 34, 2888-2893.
20. Mladenović, K. G., et al. Enterobacteriaceae in food safety with an emphasis on raw milk and meat. In *Applied Microbiology and Biotechnology* ISSN 1432-0614, 2021, vol. 105, no. 23, p. 8615-8627.
21. Mladenović, K. G., et al. *Escherichia* coli identifcation and isolation from traditional cheese produced in Southeastern Serbia. In *J Food Safety*. ISSN 1745-4565, 2018b, vol. 38, p. 1-6.
22. Mladenović, K. G., et al. The efects of environmental factors on planktonic growth and biofilm formation of *Serratia odorifera* and *Serratia marcescens* isolated from traditionally made cheese. In Acta Aliment. ISSN 0139-3006, 2018a, vol.47, p. 370-378.
23. Nariadenie Európskeho Parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 z 29.apríla 2004, ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu. In Úradný vestník Európskej únie, L 139, 30.4.2004, p. 1-78.
24. Nariadenie Komisie (ES) č. 2073/2005 z 15. novembra 2005, o mikrobiologických kritériách pre potraviny. In Úradný vestník Európskej únie, L 338, 22.12.2005, p. 1-26.
25. Resendiz-Nava, C.N. et al. A Comprehensive Evaluation of Enterobacteriaceae Primer Sets for Analysis of Host-Associated Microbiota. In *Pathogens.* 2022, vol. 11, no. 17. DOI: https://www.mdpi.com/2076-0817/11/1/17
26. STN EN ISO 6887-5 Mikrobiológia potravín a krmív. Úprava analytických vzoriek, príprava základnej suspenzie a desaťnásobných riedení na mikrobiologické skúšanie. Časť 5: Špecifické pokyny na úpravu mlieka a mliečnych výrobkov (ISO 6887-5: 2010).

27. Tepeli, S. Ö. et al. Frequency of extended-spectrum β-lactamase (ESBL)– and AmpC β-lactamase–producing Enterobacteriaceae in a cheese production process In *Journal of Dairy Science.* ISSN 1525-3198, 2018, vol. 101, 2906-2914.
28. Trmčić, A. et al. Coliform detection in cheese is associated with specifc cheese characteristics, but no association was found with pathogen detection. In *J Dairy Sci.* ISSN 0022-0302, 2016, vol. 99, p. 6105-6120.
29. Výrostková, J. et al. Antimicrobial resistance of bacterial isolates from sheep and goat cheeses in eastern Slovakia. In *Polish Journal of Veterinary Sciences.* ISSN 1505-1773, 2021, vol. 24, no. 1, p. 13-22.
30. Wang, J. et al. Occurrence and fate of antibiotics, antibiotic resistant genes (ARGs) and antibiotic resistant bacteria (ARB) in municipal wastewater treatment plant: an overview. In Sci. Total. Environ. 2020, vol. 744. DOI: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969720345265?via%3Dihub>. ISSN 1879-1026.
31. World Health Organization (WHO). Antimicrobial resistance [online]. Geneva, WHO, 2022, DOI: https://www.who.int/news-room/ fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance.

Kontaktná adresa: Dudriková Eva, doc. MVDr. PhD., Department of Food Hygiene and Technology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic. E-mail: eva.dudrikova@uvlf.sk

AFLATOXÍN M1 VO VYBRANÝCH VZORKÁCH MLIEKA NA SLOVENSKU
AFLATOXIN M1 IN SELECTED MILK SAMPLES FROM SLOVAKIA

Ďurka Ervín[1], Kolarič Lukáš[1], Vavro Matúš[2], Staruch Ladislav[1]

[1] Ústav potravinárstva a výživy, Oddelenie potravinárskej technológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

[2] Stredná zdravotnícka škola, Záhradnícka 44, 821 08 Bratislava

ABSTRACT

Aflatoxin M1 (AFM1) is an important mycotoxin contaminant of milk and a relevant indicator of feed contamination by aflatoxin B1. The aim of this study was to evaluate the occurrence of AFM1 in selected milk samples from Slovakia. The samples were analysed after defatting and immunoaffinity clean-up using HPLC-FLD. AFM1 was detected in part of the analysed samples, mainly in raw cow's milk, while several samples were negative. In most positive samples, the detected levels were relatively low; however, isolated findings exceeded the maximum level established by European legislation, indicating a potential food safety risk. The obtained results confirm that AFM1 may occur sporadically in milk and highlight the importance of regular monitoring of both milk and animal feed.

Key words: aflatoxin M1, milk, HPLC-FLD, food safety, mycotoxins

ÚVOD

Aflatoxíny predstavujú významnú skupinu mykotoxínov produkovaných najmä mikroskopickými hubami rodu Aspergillus. V mlieku a mliečnych produktoch má z potravinárskeho hľadiska osobitný význam aflatoxín M1 (AFM1), ktorý vzniká hydroxyláciou aflatoxínu B1 po príjme kontaminovaného krmiva laktujúcimi zvieratami a následne sa vylučuje do mlieka (Kolarič et al., 2024; Turna a Wu, 2021).

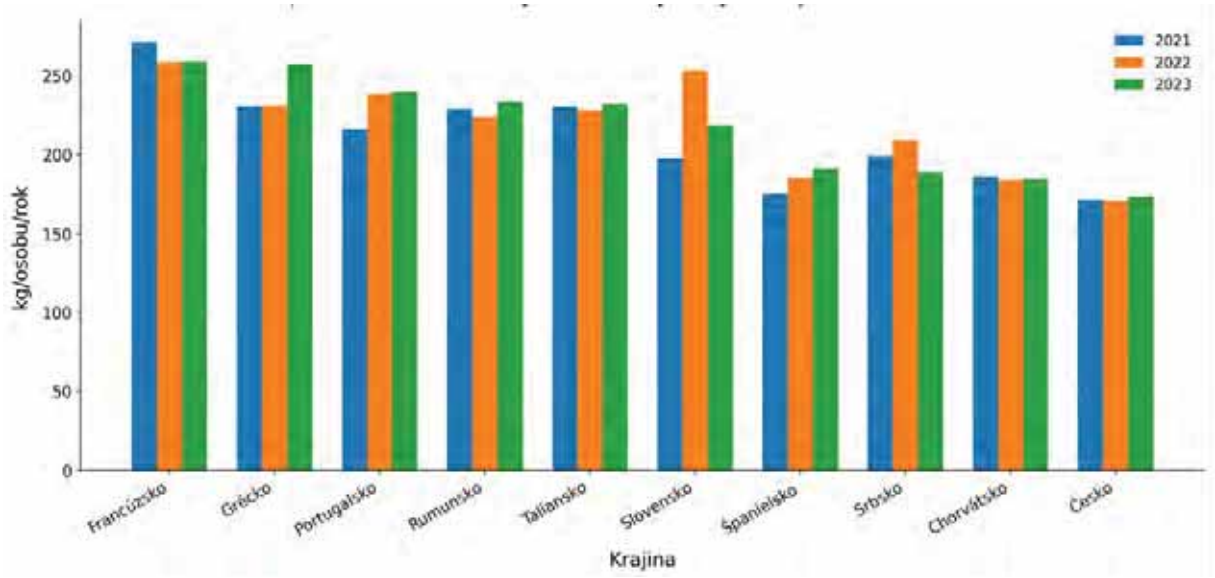
AFM1 je toxická zlúčenina a zároveň relatívne stabilný kontaminant, ktorý môže pretrvávať aj počas technologického spracovania mlieka. Z hľadiska ochrany verejného zdravia je dôležitý najmä preto, že mlieko patrí medzi bežne konzumované potraviny vrátane skupín obyvateľstva s vyššou citlivosťou, ako sú deti a mladiství (Campagnollo et al., 2016; Pipoyan et al., 2024).

Súčasná európska legislatíva ustanovuje maximálnu hladinu AFM1 v mlieku na úrovni 0,050 µg/kg, t. j. 50 ng/kg (Európska komisia, 2023). Výskyt AFM1 v mlieku úzko súvisí s kontamináciou krmív aflatoxínom B1, pričom miera carry-over je ovplyvnená najmä príjmom

kontaminovaného krmiva, úžitkovosťou zvierat a ďalšími zootechnickými a fyziologickými faktormi (Walte et al., 2022; Zentai et al., 2023).

Význam monitorovania AFM1 v mlieku zdôrazňuje aj skutočnosť, že mlieko patrí medzi významné zložky výživy a jeho spotreba je vo viacerých európskych krajinách vysoká. Vo vybraných štátoch sa disponibilita mlieka na obyvateľa v roku 2023 pohybovala približne od 185 do 259 kg/os./rok, čo poukazuje na potrebu dôslednej kontroly jeho zdravotnej bezpečnosti, keďže aj nízka kontaminácia môže pri pravidelnej konzumácii predstavovať relevantné riziko pre spotrebiteľa (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2025).

Obrázok č. 1. Spotreba mlieka na obyvateľa vo vybraných krajinách (2021–2023)



Zdroj: vlastné spracovanie podľa Food and Agriculture Organization of the United Nations (2025) – processed by Our World in Data. Yearly per capita supply of milk – excluding butter.

Cieľom práce bolo stanoviť koncentráciu AFM1 vo vybraných vzorkách mlieka odobratých na Slovensku v roku 2025 pomocou imunoafinitnej extrakcie a HPLC-FLD analýzy a zhodnotiť zistené nálezy z pohľadu potravinovej bezpečnosti.

MATERIÁL A METODIKA

Na stanovenie koncentrácie aflatoxínu M1 bolo analyzovaných 25 vzoriek mlieka. Súbor tvorilo 18 vzoriek surového kravského mlieka z rôznych fariem na východnom Slovensku, 5 vzoriek surového kravského mlieka z fariem na západnom Slovensku, 1 vzorka surového kozieho mlieka z domácej farmy na západnom Slovensku a 1 vzorka materského mlieka. Vzorky boli získané a analyzované v priebehu roka 2025.

Analytický postup pozostával z odtučnenia vzorky, imunoafinitnej extrakcie AFM1 a chromatografického stanovenia pomocou HPLC-FLD. Odstránenie tuku sa uskutočnilo centrifugáciou pri 3000 rpm počas 20 min. Po odtučnení sa z každej vzorky odobralo 30 ml. Extrakcia AFM1 bola realizovaná pomocou imunoafinitných kolón za nasledovných podmienok: nástrek vzorky 30 ml, premývanie 20 ml destilovanej vody a elúcia analytu zmesou 1,25 ml acetonitril:metanol (3:2) + 1,25 ml H2O.

Podmienky HPLC-FLD stanovenia boli nasledovné: mobilná fáza acetonitril a deionizovaná voda v objemovom pomere 20:80; stacionárna fáza Zorbax-C18 (2,1 × 150 mm; 5,0 µm) s ochrannou predkolónou Zorbax SB-C18 (4,6 × 12,5 mm; 5,0 µm); objemový prietok mobilnej fázy 0,7 ml/min; objem nástreku 100 µl; čas jednej analýzy 7 min; elučný čas AFM1 4,9 min; exitačná vlnová dĺžka 360 nm a emisná vlnová dĺžka 420 nm.

Validácia metódy bola uskutočnená podľa práce Kolariča a Šimka (2023), ktorí pre HPLC-FLD stanovenie AFM1 v mlieku a mliečnych výrobkoch potvrdili vhodnosť postupu s využitím imunoafinitného čistenia.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V rámci štúdie bolo analyzovaných 25 vzoriek mlieka, z toho 18 vzoriek surového kravského mlieka z fariem na východnom Slovensku, 5 vzoriek surového kravského mlieka z fariem na západnom Slovensku, 1 vzorka surového kozieho mlieka a 1 vzorka materského mlieka. AFM1 bol zistený v 6 vzorkách, zatiaľ čo v 19 vzorkách nebol detegovaný. Pozitívne nálezy boli zaznamenané v piatich vzorkách surového kravského mlieka z východného Slovenska a v jednej vzorke surového kozieho mlieka. Vzorky kravského mlieka zo západného Slovenska ani vzorka materského mlieka neobsahovali detegovateľné množstvo AFM1. Zistené koncentrácie sa pohybovali od 13,2 do 526,2 ng/kg. Hodnoty 57,3 ng/kg a 526,2 ng/kg prekročili maximálnu hladinu 50 ng/kg stanovenú pre AFM1 v surovom a tepelne ošetrenom mlieku v Európskej únii (Európska komisia, 2023).

Tabuľka č. 1. Obsah aflatoxínu M1 v analyzovaných vzorkách mlieka

Číslo vzorky	Obsah AFM1 (ng/kg)
1	17,5 ±0,0
2	ND
3	ND
4	15,1 ±0,0
5	ND
6	13,2 ±0,0
7	ND
8	ND

Pokračovanie tabulky č.1:

9	57,3 ±0,0
10	ND
11	ND
12	ND
13	ND
14	ND
15	ND
16	ND
17	29,2 ±0,0
18	ND
19	ND
20	ND
21	ND
22	ND
23	ND
24	**526,2 ±0,0**
25	ND

Vzorky 1 – 18: farmy na východnom Slovensku; vzorky 19 – 23: farmy na západnom Slovensku; vzorka 24: kozie mlieko; vzorka 25: materské mlieko. ND – nedetegované.

Z hľadiska rozdelenia pozitívnych nálezov možno konštatovať, že najvyšší podiel kontaminovaných vzoriek bol zaznamenaný pri surovom kravskom mlieku z východného Slovenska, kde bol AFM1 zistený v 5 z 18 vzoriek. Naopak, vo vzorkách surového kravského mlieka zo západného Slovenska nebol AFM1 zistený ani v jednom prípade. Osobitne výrazný bol nález vo vzorke surového kozieho mlieka, v ktorej bola stanovená koncentrácia 526,2 ng/kg. Táto hodnota niekoľkonásobne presiahla legislatívny limit EÚ a predstavovala najvyššiu zistenú koncentráciu v celom analyzovanom súbore (Európska komisia, 2023).

Výskyt AFM1 v mlieku úzko súvisí s kontamináciou krmiva aflatoxínom B1, pričom jeho prítomnosť v mlieku môže byť ovplyvnená klimatickými podmienkami, kvalitou skladovania krmív, sezónnosťou aj regionálnymi rozdielmi v manažmente chovu. Európske monitoringové štúdie publikované v rokoch 2021 až 2025 potvrdzujú, že výskyt AFM1 v mlieku v Európe zostáva heterogénny a výrazne závisí od regiónu, typu mlieka, sezóny a systému kontroly (Roila et al., 2021; Topi et al., 2022; Buzás et al., 2023; Ferrari et al., 2023; Bilandžić et al., 2025; Krstović et al., 2025).

Na lepšie zhodnotenie našich výsledkov je vhodné porovnať ich s novšími európskymi monitoringovými štúdiami publikovanými v rokoch 2021 až 2025.

Tabuľka č. 2. Prehľad európskych štúdií o výskyte AFM1 v mlieku

Krajina (Zdroj)	Typ mlieka	Obdobie / počet vzoriek (n)	Hlavné zistenia AFM1	Vzťah k limitu EÚ 50 ng/kg
Taliansko (stredné) (ROILA et al., 2021)	surové kravské mlieko	2014–2020 (n = 3151)	71,3 % pozitívnych; <0,005 až 0,146 µg/kg	v priemere 0,86 % nevyhovujúcich vzoriek
Albánsko (TOPI et al., 2022)	pasterizované a UHT kravské mlieko	2019–2020 (n = 119)	52,10 % pozitívnych; priemer 0,022 µg/kg; max. 0,217 µg/kg	5,88 % vzoriek nad limitom
Maďarsko (BUZÁS et al., 2023)	surové kravské mlieko	2021–2022 (n = 278)	68,7 % pozitívnych; 5,0 až 173 ng/L; priemer pozitívnych 30,7 ng/L	9,4 % vzoriek nad limitom
Taliansko (severné) (FERRARI et al., 2023)	surové kravské mlieko	2013–2021 (n = 95 882)	ročné priemery 14,4 až 15,1 ng/L; 0,4 % v pásme 40–50 ng/L	0,7 % vzoriek nad limitom
Chorvátsko (BILANDŽIĆ et al., 2025)	surové kravské mlieko	2022–2024 (n = 1951)	celkový priemer 19,2 ng/kg; maximum 1250 ng/kg	v priemere 5,67 % vzoriek nad limitom
Srbsko (KRSTOVIĆ et al., 2025)	surové kravské mlieko	2021–2025 (n = 907)	70,1 % kontaminovaných; ročné priemery 86,40 až 263,05 ng/kg	ročné priemery presiahli limit EÚ

Poznámka: V tabuľke sú ponechané pôvodné jednotky uvádzané v jednotlivých štúdiách (ng/L, ng/kg alebo µg/kg).

Vo vybraných štúdiách sa podiel vzoriek nad limitom Európskej únie pohyboval od 0,7 % v severnom Taliansku po 9,4 % v surovom kravskom mlieku v Maďarsku a 5,88 % v mlieku z maloobchodnej siete v Albánsku. V chorvátskom trojročnom monitoringu surového kravského mlieka predstavoval priemerný podiel vzoriek nad limitom 5,67 %, pričom

maximálna zistená koncentrácia dosiahla 1250 ng/kg. V Srbsku bola kontaminácia zistená v 70,1 % vzoriek a priemerné ročné koncentrácie AFM1 sa pohybovali od 86,40 do 263,05 ng/kg, teda nad legislatívnym limitom (Roila et al., 2021; Topi et al., 2022; Buzás et al., 2023; Ferrari et al., 2023; Bilandžić et al., 2025; Krstović et al., 2025).

Koncentrácie AFM1 zistené v pozitívnych vzorkách surového kravského mlieka v našom súbore (13,2 až 57,3 ng/kg) zodpovedajú nižším až stredným hladinám kontaminácie pozorovaným v novších štúdiách z Maďarska a Talianska. Na druhej strane koncentrácia 526,2 ng/kg zistená vo vzorke kozieho mlieka predstavuje výrazne zvýšený nález, ktorý prevyšuje maximá uvádzané v maďarskej, albánskej aj stredotalianskej štúdii, hoci zostáva nižší ako maximum zaznamenané v chorvátskom monitoringu. Výsledky preto potvrdzujú, že aj pri prevažne sporadickom výskyte kontaminácie sa môžu objaviť jednotlivé vzorky s výrazne zvýšenou koncentráciou AFM1.

Talianske práce zároveň ukazujú, že dôsledné self-control plány a cielené manažmentové opatrenia v mliečnej technológii dokážu významne znižovať výskyt AFM1 a udržiavať nízky podiel nevyhovujúcich vzoriek. V súlade s 20-ročným prehľadom stredomorských krajín to potvrdzuje, že AFM1 zostáva v Európe aktuálnym problémom, no jeho úroveň môže byť výrazne ovplyvnená kvalitou krmív a organizáciou monitoringu (Giacometti et al., 2023; Ferrari et al., 2023; Malissiova et al., 2024).

ZÁVER

Práca potvrdila výskyt aflatoxínu M1 vo vybraných vzorkách mlieka analyzovaných na Slovensku v roku 2025. AFM1 bol detegovaný v 24,0 % analyzovaných vzoriek, pričom koncentrácie v pozitívnych nálezoch sa pohybovali od 13,2 do 526,2 ng/kg.

Maximálna hladina AFM1 podľa legislatívy Európskej únie bola prekročená v jednej vzorke surového kravského mlieka a v analyzovanej vzorke kozieho mlieka. Získané výsledky zdôrazňujú potrebu pravidelného monitoringu AFM1 v mlieku a zároveň kontroly kontaminácie krmív aflatoxínom B1 ako základného preventívneho opatrenia.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-22-0102.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BILANDŽIĆ, N.; VARGA, I.; ČALOPEK, B.; et al. Occurrence of aflatoxin M1 over three years in raw milk from Croatia: exposure assessment and risk characterization in

consumers of different ages and genders. Foods, 2025, 14(13), 2396. DOI: 10.3390/foods14132396.

2. BUZÁS, H.; SZABÓ-SÁRVÁRI, L. C.; SZABÓ, K.; et al. Aflatoxin M1 detection in raw milk and drinking milk in Hungary by ELISA - A one-year survey. Journal of Food Composition and Analysis, 2023, 121, 105368. DOI: 10.1016/j.jfca.2023.105368.
3. CAMPAGNOLLO, F. B.; GANEV, K. C.; KHANEGHAH, A. M.; et al. The occurrence and effect of unit operations for dairy products processing on the fate of aflatoxin M1: A review. Food Control, 2016, 68, 310-329. DOI: 10.1016/j.foodcont.2016.04.007.
4. EURÓPSKA KOMISIA. Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on maximum levels for certain contaminants in food. Official Journal of the European Union [online], 2023. Dostupné na internete: <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2023/915/oj>.
5. FERRARI, L.; RIZZI, N.; GRANDI, E.; et al. Compliance between food and feed safety: Eight-year survey (2013-2021) of aflatoxin M1 in raw milk and aflatoxin B1 in feed in northern Italy. Toxins, 2023, 15(3), 168. DOI: 10.3390/toxins15030168.
6. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Yearly per capita supply of milk - excluding butter [dataset]. Processed by Our World in Data, 2025. Dostupné na internete: <https://ourworldindata.org/grapher/per-capita-milk-consumption>.
7. GIACOMETTI, F.; TOMASELLO, F.; SAVINI, F.; et al. Impact of the implementation of tailored management strategies to reduce the occurrence of aflatoxin M1 in milk-supply chain in Italy. Food Control, 2023, 149, 109720. DOI: 10.1016/j.foodcont.2023.109720.
8. KOLARIČ, L.; MINAROVIČOVÁ, L.; LAUKOVÁ, M.; et al. Elimination of aflatoxin M1 from milk: Current status, and potential outline of applicable mitigation procedures. Trends in Food Science & Technology, 2024, 150, 104603. DOI: 10.1016/j.tifs.2024.104603.
9. KOLARIČ, L.; ŠIMKO, P. Development and validation of HPLC-FLD method for aflatoxin M1 determination in milk and dairy products. Acta Chimica Slovaca, 2023, 16(1), 99-108. DOI: 10.2478/acs-2023-0010.
10. KRSTOVIĆ, S.; JAKŠIĆ, S.; MILJANIĆ, J.; et al. Annual and seasonal variations in aflatoxin M1 in milk: Updated health risk assessment in Serbia. Toxins, 2025, 17(11), 544. DOI: 10.3390/toxins17110544.
11. MALISSIOVA, E.; TSINOPOULOU, G.; GEROVASILEIOU, E. S.; et al. A 20-Year Data Review on the Occurrence of Aflatoxin M1 in Milk and Dairy Products in

Mediterranean Countries - Current Situation and Exposure Risks. Dairy, 2024, 5(3), 491-514. DOI: 10.3390/dairy5030038.

12. PIPOYAN, D.; HOVHANNISYAN, A.; BEGLARYAN, M.; et al. Risk Assessment of AFM1 in Raw Milk and Dairy Products Produced in Armenia, a Caucasus Region Country: A Pilot Study. Foods, 2024, 13(10), 1518. DOI: 10.3390/foods13101518.
13. ROILA, R.; BRANCIARI, R.; VERDINI, E.; et al. A study of the occurrence of aflatoxin M1 in milk supply chain over a seven-year period (2014-2020): Human exposure assessment and risk characterization in the population of central Italy. Foods, 2021, 10(7), 1529. DOI: 10.3390/foods10071529.
14. TOPI, D.; SPAHIU, J.; REXHEPI, A.; et al. Two-year survey of aflatoxin M1 in milk marketed in Albania, and human exposure assessment. Food Control, 2022, 136, 108831. DOI: 10.1016/j.foodcont.2022.108831.
15. TURNA, N. S.; WU, F. Aflatoxin M1 in milk: A global occurrence, intake, & exposure assessment. Trends in Food Science & Technology, 2021, 110, 183-192. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.01.093.
16. WALTE, H.-G.; KNAPPSTEIN, K.; MAUL, R.; et al. Re-evaluation of aflatoxin M1 transfer into milk of high-yielding cows considering ration composition. Journal of Animal and Feed Sciences, 2022, 31(4), 343-351. DOI: 10.22358/jafs/151045/2022.
17. ZENTAI, A.; JÓŹWIAK, Á.; BLAHUŠOVÁ, A.; et al. Carry-Over of Aflatoxin B1 from Feed to Cow Milk - A Review. Toxins, 2023, 15(3), 195. DOI: 10.3390/toxins15030195.

Kontaktná adresa: Ervín Ďurka, Ústav potravinárstva a výživy, Oddelenie potravinárskej technológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava. E-mail: ervin.durka@stuba.sk

Z FARMY NA STÔL: VÝZNAM GIARDIÓZY U HOSPODÁRSKYCH ZVIERAT

FROM FARM TO FORK: THE IMPORTANCE OF GIARDIASIS IN LIVESTOCK

Fedorková Barbora[1], Schreiberová Andrea[1], Dudriková Eva[2], Štrkolcová Gabriela[1]

[1]Katedra epizootológie, parazitológie a ochrany verejného zdravia, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

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

ABSTRACT

Giardia duodenalis is a gastrointestinal pathogen with worldwide distribution and zoonotic potential. It is an important waterborne and foodborne pathogen, but its prevalence in livestock has not been sufficiently studied despite the fact that these animals represent an important reservoir of *Giardia* and thus pose a risk to the health of people working with animals as well as consumers. In this study, we focused on the occurrence of giardiasis in livestock. The prevalence in calves was 25.6 %. *Giardia* cysts were also detected in lambs from two different farms. In these samples, amplification and sequencing of the *gdh* locus were successful, and the presence of *G. duodenalis* assemblage E was molecularly confirmed. This assemblage was confirmed to cause human giardiasis and thus represent a risk to public health. In addition to its zoonotic importance, giardiasis may negatively affect livestock productivity, manifesting as reduced weight gain and impaired growth in calves and lambs, potentially leading to decreased production efficiency and economic losses.

Key words: *Giardia duodenalis*, food-borne, assemblage, sheep, livestock

ÚVOD

Giardia duodenalis (syn. *G. lambia, G. intestinalis*) je protozoárny patogén s celosvetovým výskytom. Patrí medzi jednu z najčastejších príčin parazitárnych hnačiek u zvierat a ľudí (Adam 2021). Tento patogén je etiologickým agensom giardiózy - infekčného gastrointestinálneho ochorenia, ktoré postihuje široké spektrum hostiteľov všetkých vekových kategórií. Giardióza predstavuje riziko pre verejné zdravie nakoľko sa jedná o zoonotické ochorenie s vysokou prevalenciou a celosvetovým výskytom (Feng a Xiao 2011).

Na základe molekulárnych metód a genotypizácie bolo pre tento druh identifikovaných 8 asembláží označovaných A až H. Tie sa od seba líšia okruhom hostiteľov. Za hlavné humánne

patogény v rámci druhového komplexu sa považujú asembláže A a B, ktoré nie sú hostiteľsky špecifické a potvrdené boli aj u rôznych iných cicavcov. Pre prežúvavce a iné hospodárske zvieratá je typická asembláž E (Xiao a Feng 2017), pričom napriek predpokladanej hostiteľskej špecificite boli opísané prípady giardiózy u ľudí vyvolané touto asemblážou (Abdel-Moein a Saeed 2016; Zahedi a kol. 2017).

G. duodenalis sa šíri oro-fekálnou cestou, priamym kontaktom s infikovaným jedincom, ale významnými zdrojmi infekcie sú voda a potraviny kontaminované cystami rodu *Giardia*. Jednoduchý priamy vývinový cyklus, široké spektrum hostiteľov, nízka infekčná dávka (10 cýst) a environmentálne stabilné cysty uľahčujú šírenie tohto patogénu (Ryan a kol. 2019). *G. duodenalis* môže do potravinového reťazca vstúpiť už v prvovýrobe prostredníctvom kontaminovanej vody alebo pôdy. Hlavný zdroj nákazy pre ľudí predstavuje predovšetkým čerstvé ovocie a zelenina kontaminované infekčnými štádiami (FAO/WHO 2014). Prítomnosť infekčných cýst bola potvrdená aj v rôznych iných potravinách ako napríklad mliečne výrobky, mäso a spracované potraviny (konzervy lososa, šaláty, sendviče) (Ryan a kol. 2019). Ku kontaminácii plodín infekčnými cystami môže dochádzať pri používaní organických hnojív, predovšetkým maštaľného hnoja, pri pasení dobytka v blízkosti úrodnej pôdy, ktorý môže byť rezervoárom *G. duodenlais* a iných patogénov alebo pri zavlažovaní pôdy vodou z neoverených zdrojov, vrátane jej použitia na pesticídne postreky. V živočíšnej produkcii je rizikom fekálna kontaminácia pri spracovaní jatočného tela, taktiež pri nedostatočnej hygiene mliečnej žľazy pred dojením sa môže surové mlieko kontaminovať cystami giardií (Smith a kol. 2007).

Giardióza je hnačkovité ochorenie, ktoré vyvoláva enteritídy, malabsorpciu a maldigesciu. U jahniat a teliat negatívne ovplyvňuje ich vývoj, vedie k zníženej konverzii krmiva, zníženým prírastkom a klesá jatočná výťažnosť (Jacobson a kol. 2016; Santin 2020). Klinické ochorenie sa pozoruje predovšetkým u mladých jedincov, ale môže sa vyskytovať aj v asymptomatických formách. Priebeh giardiózy môže byť ovplyvnený aj v závislosti od asembláže, ktorá infekciu vyvolala (Benhassine a kol. 2020). Najvyššia prevalencia tohto ochorenia je u mladých jedincov (Wang a kol 2016; Geng a kol. 2023).

MATERIÁL A METODIKA

43 vzoriek trusu teliat vo veku do 1 mesiaca a zmesné vzorky trusu jahniat a oviec z 5 fariem na východnom Slovensku sme mikroskopicky vyšetrili na prítomnosť cýst rodu *Giardia* koncentračnou metódou za použitia flotačného roztoku podľa Fausta (33% roztok $ZnSO_4$, špecifická hmotnosť 1,18) (Garcia a Bruckner 1997).

Z mikroskopicky pozitívnych vzoriek sme izolovali DNA pomocou súpravy *Quick*- DNA Fecal/Soil Microbe Miniprep Kit (ZymoResearch, USA) podľa pokynov výrobcu. Izolovanú DNA sme použili ako templát pre nested PCR zameranú na amplifikáciu génu glutamátdehydrogenázy (*gdh*) podľa publikovaného protokolu Cacciò a kol. (2008). V primárnej reakcii sme použili primery Gdh1 (5´-T TCCGTRTYCAGTACAACTC-3´) a Gdh2 (5´-ACCTCGTTCTGRGTGGCGCA-3´). V sekundárnej reakcii sme použili set primerov Gdh3 (5´-ATGACY GAGCTYCAGAGGCACGT-3´) a Gdh4 (5´-GTGGCGCARGGCATGATGCA-3´). Obidve PCR reakcie prebiehali za rovnakých podmienok: úvodná denaturácia 2 minúty pri 94°C, nasledovalo 35 cyklov (94 °C 30 s, 50 °C 30 s a 72 °C 1 minútu) a finálna elongácia 7 minút pri 72 °C. PCR produkty s veľkosťou 530 bp sme analyzovali elektroforézou na 1,5 % agarózovom géli a vizualizovali pomocou UV žiarenia. Pozitívne amplikóny zo sekundárnej PCR reakcie izolátov z jahniat sme zaslali na purifikáciu a sekvenovanie do laboratória Microsynth (Viedeň, Rakúsko).

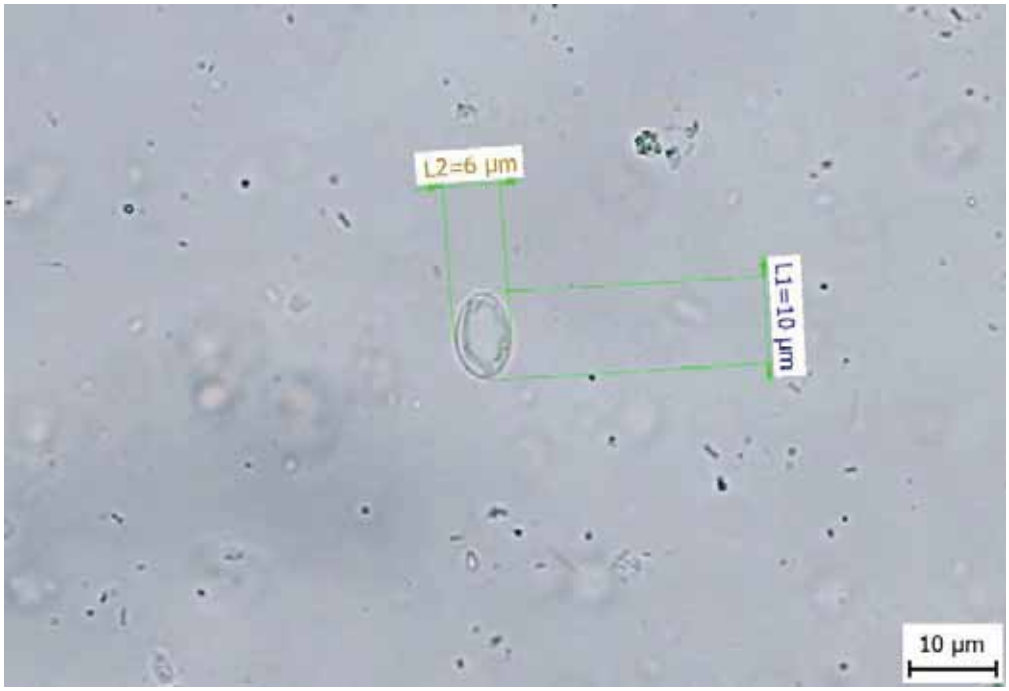
.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Zo 43 vzoriek trusu teliat z jednej farmy boli u 11 zvierat prítomné cysty giardií (25,6 %), z čoho len v 3 vzorkách bola úspešná amplifikácia fragmentu génu *gdh*. Úspešnosť molekulárnej detekcie môže byť ovplyvnená kvalitou extrahovanej DNA, prítomnosťou fekálnych inhibítorov ako sú žlč, polysacharidy a polymerázové enzýmy (Safitri a kol. 2026). Vzhľadom na vysokú heterozygotnosť *G. duodenalis* môžu pri amplifikácii len jedného lokusu vznikať falošne negatívne výsledky (Shamsi a kol. 2025).

Vo vzorkách z bahníc a jariek sa mikroskopicky nepotvrdila prítomnosť giardií, avšak v truse jahniat z dvoch fariem boli koprologicky detegované cysty rodu *Giardia*. Molekulárnymi metódami sa potvrdila *Giardia duodenlais* asembláž E, ktorá sa v tejto hostiteľskej skupine vyskytuje najčastejšie (Geng a kol. 2023). Porovnaním získaných sekvencií so sekvenciami uloženými v databáze GenBank databáze pomocou BLAST analýzy sme zistili vysokú podobnosť s izolátmi z dobytka z Turecka (Sequence ID: MN447713) (Onder a kol. 2020). Na farmách s potvrdeným výskytom giardiózy bolo u niektorých jedincov pozorované zaostávanie v raste. Na jednej z nich sa u jahniat vyskytovali aj hnačky. V tomto chove sa koprologickým vyšetrením potvrdila prítomnosť cýst rodu *Giardia* aj u jedného z pastierskych psov. Výskyt *G. duodenalis* v chovoch môže súvisieť s vekovou štruktúrou stáda, spôsobom chovu, zdravotným stavom zvierat, prítomnosťou iných patogénov ako napríklad *Cryptosporidium* spp. a prítomnosťou iných druhov zvierat, ktoré môžu predstavovať potenciálny prameň nákazy (Wang a kol 2016).

Obrázok č.1: Cysta *Giardia duodenals*, 400-násobné zväčšenie



Giardióza patrí medzi bežné, avšak často zanedbávané ochorenie hospodárskych zvierat aj napriek tomu, že ide o zoonotické ochorenie prenosné potravinami. Jeho prevalencia u dobytka v Európe je 35,1 % (Mateusa a kol. 2023). U farmových zvierat prevláda asembláž E, ale evidované sú aj infekcie asemblážami A a B (Zajaczkowski a kol. 2021; Geng a kol. 2023). Všetky tieto asembláže sú schopné vyvolať infekcie u človeka a teda predstavujú zoonotické riziko (Fantinatti a kol. 2016).

Počas akútnej infekcie môžu predovšetkým mladé jedince vylučovať veľké množstvá cýst (10^7) za deň, čo spolu s dlhodobým vylučovaním infekčných cýst po prvotnej infekcii robia z dobytka významný rezervoár zoonotického patogénu *G. duodenalis* a jeden z hlavných zdrojov kontaminácie prostredia infekčnými cystami (Budu-Amoako a kol. 2011; Mateusa a kol. 2023; Bulumulla a kol. 2025).

Kontaminácia potravín cystami giardií môže prebehnúť rôznymi spôsobmi na rôznej úrovni výroby. (Budu-Amoako a kol. 2011). Hlavnými zdrojmi kontaminácie plodov a potravín sú voda používaná na zavlažovanie, hnojivá, povrchový odtok z okolitých fariem a osoby manipulujúce s potravinami (Adam a kol. 2016). Je dôležité stanoviť kritické kontrolné body a dodržiavať osvedčené poľnohospodárske postupy, zamedziť odtoku živočíšneho odpadu, zamedziť prístup hospodárskym, domácim a divo žijúcim zvieratám na úrodnú pôdu, dbať na dodržiavanie hygieny osôb manipulujúcich s potravinami a používanie upravenej vody na zavlažovanie. Infekčné štádiá môžu v chladnom a vlhkom prostredí prežívať aj niekoľko

mesiacov, čo prispieva k šíreniu tohto patogénu. Tieto parazity sú labilné pri vyšších teplotách preto sa riziko infekcie výrazne znižuje pri tepelnej úprave potravín (Siwila 2023).

Ochorenia vyvolané potravinami prenosnými protozoárnymi patogénmi sú bežné, ale nie sú dostatočne evidované nakoľko nie je zaužívaný dostatočný monitoring a nepodliehajú hláseniu vo väčšine krajín. Epidemiologické štúdie sú nevyhnutné pre dohľadanie potencionálnych zdrojov nákazy a identifikáciu rizikových faktorov (Budu-Amoako a kol. 2011). Surveillance parazitárnych ochorení je komplikovaný dlhšou inkubačnou dobou a častým subklinickým priebehom. Väčšina týchto ochorení nepodlieha hláseniu, takže ich skutočná prevalencia môže byť vyššia. *Giardia* je klasifikovaná ako parazit s globálnym významom (FAO/WHO 2014). Má schopnosť vyvolať lokálne epidémie viacerými cestami prenosu. Najčastejšie hlásené ohniská sú spájané s prenosom prostredníctvom vody kontaminovanej infekčnými cystami (Adam a kol. 2016).

ZÁVER

Prevalencia *G. duodenalis* u hospodárskych zvierat nie je dostatočne preskúmaná. Pre lepšie pochopenie epidemiológie *G. duodenalis* a kvôli jeho vysokej genetickej diverzite je nevyhnutné sa zamerať na multilokusové sekvenovanie za využitia génov *tpi*, *gdh* a *bg*. Okrem veterinárneho významu má tento patogén aj zoonotický potenciál (Wang a kol. 2016) a tým môže predstavovať riziko pre ľudí pracujúcich s hospodárskymi zvieratami, živočíšnymi výrobkami ako aj pre konzumenta.

POĎAKOVANIE

Tento výskum bol financovaný projektom KEGA 007UVLF-4/2024.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ADAM, E. A., et al. Giardiasis outbreaks in the United States, 1971–2011. *Epidemiology & Infection*, 2016, 144.13: 2790-2801.
2. ADAM, Rodney D. *Giardia duodenalis*: biology and pathogenesis. *Clinical microbiology reviews*, 2021, 34.4: e00024-19.
3. BENHASSINE, Soumaya, et al. Occurrence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* in lambs in Djelfa, the central steppe of Algeria. *Parasitology research*, 2020, 119.9: 2965-2973.
4. BULUMULLA, Sugandika, et al. Update on transmission of zoonotic *Giardia* in cattle. *Trends in parasitology*, 2025, 41.3: 210-221.

5. BUDU-AMOAKO, Ebo, et al. Foodborne illness associated with *Cryptosporidium* and *Giardia* from livestock. *Journal of food protection*, 2011, 74.11: 1944-1955.
6. CACCIO, Simone Mario, et al. Multilocus genotyping of *Giardia duodenalis* reveals striking differences between assemblages A and B. *International journal for parasitology*, 2008, 38.13: 1523-1531.
7. FANTINATTI, Maria, et al. Identification of *Giardia lamblia* assemblage E in humans points to a new anthropozoonotic cycle. *The Journal of infectious diseases*, 2016, 214.8: 1256-1259.
8. FAO/WHO [Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization]. 2014. Multicriteria-based ranking for risk management of food-borne parasites. Microbiological Risk Assessment Series No. 23. Rome. 302pp
9. FENG, Yaoyu; XIAO, Lihua. Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clinical microbiology reviews*, 2011, 24.1: 110-140.
10. GARCIA LS, BRUCKNER DA. Collection, Preservation, and Shipment of Fecal Specimens. In: Garcia LS, Bruckner DA (eds) *Diagnostic medical Parasitology*, 3rd edn. ASM Press, Washington D. C., 1997, pp 593–607
11. GENG, Hong-Li, et al. Meta-analysis of the prevalence of *Giardia duodenalis* in sheep and goats in China. *Microbial Pathogenesis*, 2023, 179: 106097.
12. JACOBSON, Caroline, et al. Greater intensity and frequency of *Cryptosporidium* and *Giardia* oocyst shedding beyond the neonatal period is associated with reductions in growth, carcase weight and dressing efficiency in sheep. *Veterinary Parasitology*, 2016, 228: 42-51.
13. MATEUSA, Maira, et al. *Giardia duodenalis* Styles, 1902 prevalence in cattle (*Bos taurus Linnaeus*, 1758) in Europe: a systematic review. *Microorganisms*, 2023, 11.2: 309.
14. ONDER, Zuhal, et al. Molecular prevalence and genotyping of *Giardia duodenalis* in cattle in Central Anatolia Region of Turkey. *Parasitology Research*, 2020, 119.9: 2927-2934.
15. RYAN, Una, et al. *Giardia*: an under-reported foodborne parasite. *International Journal for Parasitology*, 2019, 49.1: 1-11.
16. SAFITRI, Nabila Aulia, et al. Application of 18S rRNA Gene-Based and β-Giardin Molecular Markers for Early Detection of *Giardia duodenalis* Infection.
17. SANTIN, Monica. *Cryptosporidium* and *Giardia* in ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 2020, 36.1: 223-238.
18. SHAMSI, Laya, et al. Diagnostic accuracy of various genetic markers (tpi, gdh, and bg) for prevalence and genotyping of *Giardia duodenalis* in human samples: A comparative global systematic review and meta-analysis. *Acta Parasitologica*, 2025, 70.4: 161.

19. SIWILA, Joyce. The triple Food-borne protozoan parasites: *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis, cyclospora cayetanensis*—Hope in transmission reduction. *Current Clinical Microbiology Reports*, 2023, 10.3: 99-107.
20. WANG, Haiyan, et al. Prevalence and genotyping of *Giardia duodenalis* isolated from sheep in Henan Province, central China. *Infection, Genetics and Evolution*, 2016, 39: 330-335.
21. ZAHEDI, Alireza; FIELD, Daniel; RYAN, Una. Molecular typing of *Giardia duodenalis* in humans in Queensland–first report of Assemblage E. *Parasitology*, 2017, 144.9: 1154-1161.
22. ZAJACZKOWSKI, Patricia, et al. The controversies surrounding *Giardia intestinalis* assemblages A and B. *Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases*, 2021, 1: 100055.

Kontaktná adresa: Gabriela Štrkolcová, Department of epizootology, parasitology and protection of One health, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic. E-mail: gabriela.strkolcova@uvlf.sk

ARÓNIA A REPA CVIKOVÁ AKO ZDROJE BIOLOGICKY CENNÝCH LÁTOK PRE BEZODPADOVÉ VYUŽITIE DO POTRAVÍN PRE OSOBITNÉ SKUPINY ĽUDÍ

ARONIA AND BEETROOT AS SOURCES OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES FOR WASTE-FREE FOOD APPLICATION FOR SPECIAL GROUPS OF PEOPLE

Fikselová Martina [1], Kunová Simona [1], Letková Paulína [1], Mendelová Andrea [1], Zeleňáková Lucia [1], Lukáčová Stanislava [1], Zajac Peter [1], Fraňo Ľuboš [2]

[1]*FBP SPU Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 01, Nitra*

[2]*ALS SK Kirejevská 1678, 97901 Rimavská Sobota*

ABSTRACT

In this work, the addition of plant-based by-products (PBPs) made from aronia and beetroot processing, into the gluten-free crispbreads in their 5 % addition was performed. Firstly, PBPs were tested for the content of dry matter, nitrogen substances, total phenols and dietary fiber. Subsequently, the developed gluten-free products were analyzed for texturometric properties also regarding with their storage under common conditions during 140 days. The content of nitrogenous substances by the Kjeldahl method was determined to be 6.7% (beetroot) and 6.6 % in aronia per the dry matter content. Regarding the content of total phenolic substances (TPC) by the Folin - Ciocalteu method and fiber (by enzymatic-gravimetric) content, TPC was detected to be high in aronia (3278.9 ± 13.5 mg GAE/100 g), followed by beetroot 538.7± 13.64 mg GAE/100 g. The fiber content detected was found to be the highest in aronia (57.0 ± 3.7 g/100 g) again, while in the beetroot 31.90 ± 1.56 g/100 g. Texture analysis showed thee hardness decrease of the crispbreads with the PBP addition compared to the control sample. During their storage, further decrease in hardness was observed, while a slight increase in hardness was monitored in the control sample.

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

ÚVOD

Vedľajšie výrobné zvyšky (VVZ) rastlinného pôvodu sa v súčasnosti používajú ako krmivo pre zvieratá, do pôdy alebo ako surovina na výrobu bioplynu. Približne 30 % zeleniny končí počas spracovania ako vedľajšie produkty (Lehto et al., 2025). Produkcia potravinového odpadu zahŕňa celý životný cyklus potravín: od prvovýroby cez spracovanie, maloobchod a spotrebu v domácnostiach. Domácnosti produkujú 42 % potravinového odpadu, 39 % strát vzniká v potravinárskom priemysle, 14 % v sektore stravovacích služieb a zvyšných 5 % v

maloobchode a distribúcii. Koncepty priemyselnej ekológie a obehového hospodárstva navrhujú „potravinársky odpad“ ako surovinu pre nové produkty a aplikácie. Množstvo potravinárskeho odpadu produkovaného potravinárskym priemyslom okrem toho, že predstavuje stratu cenných surovín vyvoláva aj problémy s jeho hospodárením, a to z ekonomického aj environmentálneho hľadiska (Mirabella et al., 2014).

Ovocné výlisky sú vedľajšie produkty spracovateľského priemyslu, ktoré sa vo veľkých množstvách získavajú najmä pri výrobe štiav, a preto je ich opätovné využitie vhodným spôsobom ako minimalizovať vplyv na životné prostredie ich transformáciou na rôzne produkty s pridanou hodnotou. Vzhľadom na bioaktívny potenciál bobuľových výliskov boli na porovnanie obsahu polyfenolov, antioxidačnej aktivity a prebiotickej kapacity extraktov skúmané napr. malinové, jahodové, ríbezľové a aróniové výlisky. Štúdia Petrov Ivanković et al. (2024) navrhuje, že by sa mohli zhodnotiť extrakciou fytochemikálií, ktoré sú dobrými antioxidantami a novými prebiotikami (Petrov Ivanković et al., 2024).

Existuje tiež množstvo návrhov týkajúcich sa ich využitia do potravín, v krmivách, farmaceutických a kozmetických výrobkoch, biosorbentoch, pesticídoch, enzýmoch, farbivách a ďalších výrobkoch. Pri využívaní vedľajších produktov je potrebné zohľadniť environmentálne, bezpečnostné a ekonomické aspekty (Lehto et al., 2025).

Cieľom práce bola analýza aróniových a cviklových výliskov (VVZ) po ich komerčnom spracovaní a ich následné otestovanie pre produkciu bezgluténových pekárskych produktov (knäckebrotov) s max. 5 % prídavkom VVZ. Analyzovať ich z hľadiska obsahu sušiny, bielkovín, celkových polyfenolov, vlákniny a vyvinuté bezgluténové výrobky z hľadiska texturometrických vlastností aj vzhľadom na ich uskladnenie za bežných podmienok.

MATERIÁL A METÓDY

Materiál

Cviklové a aróniové výlisky boli získané od komerčných výrobcov, vysušené a pomleté na prášok na laboratórnom mlynčeku.

Pekárske výrobky s 5 % prídavkom VVZ sa pripravili ako vzorky bezgluténových knäckebrotov – 2 modelové vzorky s 5 % prídavkom VVZ: cviklové, aróniové a kontrolná vzorka bez prídavku VVZ. Na výrobu knäckebrotov sme použili kukuričnú múku, slnečnicové, ľanové a sezamové semienka, VVZ, 100 % šťavy podľa tab. 1 (voda v kontrolnej vzorke), slnečnicový olej a soľ (tab.1). Cviklová a aróniová šťava boli získané lisovaním čerstvých plodov.

Kukuričná múka, slnečnicové, ľanové, sézamové semienka, soľ sa zmiešali a pridali sa VVZ – v množstve 5 % . Pridal sa olej a zohriata šťava, prípadne voda (na 50 °C). Cesto sme

dôkladne premiešali a vložili do stolného vyvaľovača cesta. Vzniknuté cesto malo hrúbku 2,5 mm. V ďalšom kroku sme vykrojili štvorce o veľkosti 4 x 4 cm. Knäckebroty sa piekli pri teplote 190 °C počas 8 minút. Následne po vypečení boli vyvinuté výrobky uzatvorené do štandardných celofánových vreciek.

Tab. 1 Zoznam vyvinutých výrobkov

Kontrolná vzorka (A)	bez prídavku	voda
Cviklové výrobky (B)	5 % cviklové výlisky	100 % cviklová šťava
Aróniové výrobky (C)	5 % aróniové výlisky	100 % aróniová šťava

VVZ sa analyzovali na obsah sušiny, vlákniny, celkových polyfenolov, dusíkatých látok. Knäckebroty boli podrobené textúrometrickému stanoveniu po upečení a zároveň po skladovaní za bežných podmienok pri izbovej teplote, počas 140 dní.

Metodika

Stanovenie obsahu sušiny vo vedľajších výrobných zvyškoch (VVZ)

Vo VVZ sme stanovovali obsah sušiny, pomocou sušiacej váhy KERN DAB 100 – 3 (KERN & SOHN GmbH, Balingen, Germany). Navážili sme 2,0 g VVZ a nechali vysušiť pri teplote 110 °C do konštantnej hmotnosti.

Stanovenie obsahu dusíkatých látok vo VVZ Kjeldahlovou metódou

Do kadičiek sme navážili 0,2 – 0,3 g VVZ pomocou analytických váh Sartorius TE214S-0CE . Vzorky sa zaliali 100 ml destilovanej vody a temperovali vo vodnom kúpeli pri 60 °C počas 30 minút. Následne sme ku vzorke pridali 25 ml roztoku sírnu meďnatého (Barstein I) a 25 ml roztoku hydroxidu sodného (Barstein II) Obsah kadičky sme prefiltrovali cez bezdusíkatý filter. Zrazenina na filtri sa premyla horúcou destilovanou vodou a nechala vysušiť pri laboratórnej teplote. Vysušenú zrazeninu sme vložili do mineralizačnej trubice s prídavkom 5 ml koncentrovanej kyseliny sírovej a katalyzátorom 1000 Kjeltabs Auto s obsahom 1,5 g síranu didraselného a 7,5 mg selénu. Vzorka sa mineralizovala pri teplote 420 °C počas 100 minút. K vychladeným vzorkám sme pridali 15 ml deionizovanej vody a vzorky sme destilovali v zariadení KjeltecTM 8200 Auto Distillation Unit s prídavkom acidobázických indikátorov. Vzorky po destilácii sme následne titrovali odmerným roztokom kyseliny chlorovodíkovej s koncentráciou 0,1 $mol \cdot dm^{-3}$. Pri titrácii sme odčítali spotrebu odmerného roztoku kyseliny chlorovodíkovej pre každú vzorku do vzniku farebnej zmeny. Získané

výsledky analýzy sme následne prepočítali na obsah dusíkatých látok (prepočítavací koeficient pre VVZ 6,25).

Stanovenie celkovej potravinovej vlákniny

Celková potravinová vláknina bola stanovená enzymaticko-gravimetrickou metódou. Vzorka sa podrobila pôsobeniu termostabilnej α- amylázy, proteinázy a amyloglukozidázy, aby sa odstránil škrob a bielkoviny. Po zrážaní etylalkoholom sa zmes prefiltrovala, zvyšok na filtri sa premyl, vysušil a zvážil. Gravimetricky zistené množstvo celkovej potravinovej vlákniny sa koriguje o zvyškové bielkovinové látky, popoloviny a slepý pokus.

Stanovenie celkového obsahu polyfenolov (TPC)

Celkový obsah polyfenolov vo výliskoch bol stanovený Folin – Ciocalteu metódou. Táto metóda je založená na reakcii Folin – Ciocalteu činidla s polyfenolmi za vzniku modrého komplexu. Intenzita modrej farby je priamo úmerná obsahu polyfenolov. Stanovenie sa realizovalo spektrofotometricky (pri vlnovej dĺžke 765 nm). Ako štandard sa použila kyselina galová a výsledky sú vyjadrené ako ekvivalent kyseliny galovej (GAE).

Texturometrické stanovenie

Textúra výrobkov bola vyhodnotená pomocou textúrometra TA.XT Plus (Stable Micro Systems, UK) vybaveného Kramerovou 5-lopatkovou sondou (HDP/KS5). Meranie bolo vykonané v kompresnom režime, pri ktorom bola sonda zatláčaná do pripravenej vzorky až do jej deštrukcie. Ako záťaž bol použitý 50 kg silomer. Zariadenie počas testu zaznamenávalo kompresnú silu ako integrál sily v čase, vyjadrenú v $N \cdot s^{-1}$. Výsledok predstavuje silu v kompresii potrebnú na zlomenie vzorky.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Príprava kvalitného bezlepkového chleba zostáva výzvou s rastúcim dopytom v dôsledku rastúceho počtu jedincov s intoleranciou na glutén, ktorí dodržiavajú bezlepkovú diétu. Rastie tak dopyt po nových druhoch výrobkov s lepšou chuťou a zdravším zložením (Santos et al., 2021). Pre osoby trpiace celiakiou alebo inými poruchami súvisiacimi s gluténom je dostatočný príjem bielkovín zvlášť dôležitý, keďže veľmi často trpia nedostatkom týchto nutrientov v strave.

Na základe našich výsledkov boli zistené dusíkaté látky prepočítané na obsah sušiny nasledovné: v aróniových VVZ 6,6 %, cviklových VVZ 6,7 %, čo naznačuje že VVZ sú stále zaujímavým zdrojom proteínov, napr. pre výživu celiatikov či športovcov.

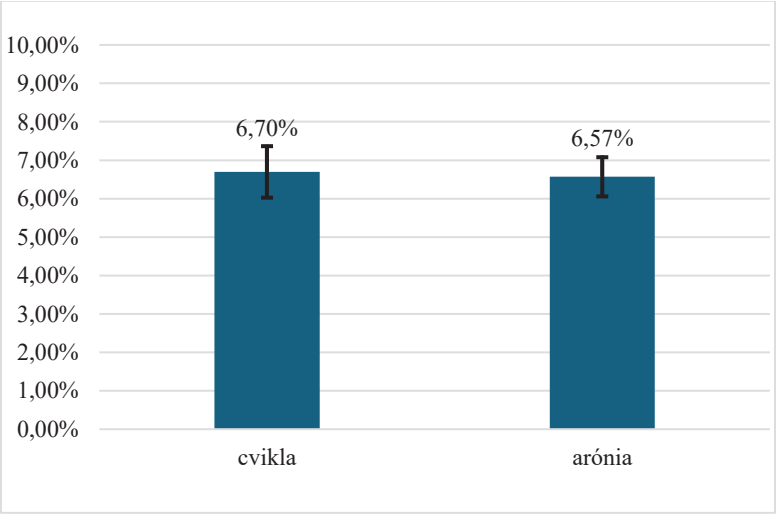
Ovocné výlisky, najmä z ríbezlí, arónie, malín, hrozna či jabĺk, môžu byť cennou druhotnou surovinou s vysokým nutričným a funkčným potenciálom. Obsahujú značné množstvo vlákniny, minerálnych látok, bielkovín a prírodných farbív. Prášky z ovocných výliskov

vykazovali priaznivé technologické vlastnosti vrátane vysokej schopnosti viazať vodu a napučiavania, čo podporuje ich použitie ako prírodných zahusťovadiel, stabilizátorov alebo látok zlepšujúcich textúru. Ich intenzívne prirodzené sfarbenie tiež ponúka potenciál na nahradenie syntetických farbív v potravinárskych a kozmetických prípravkoch. Celkovo sa ovocné výlisky javia ako sľubná zložka pre vývoj produktov podporujúcich zdravie a udržateľný vývoj produktov (Blicharz-Kania et al., 2025) a najmä v bezgluténových výrobkoch by mohli prispievať k chýbajúcej technoloogickej funkcii lepku.

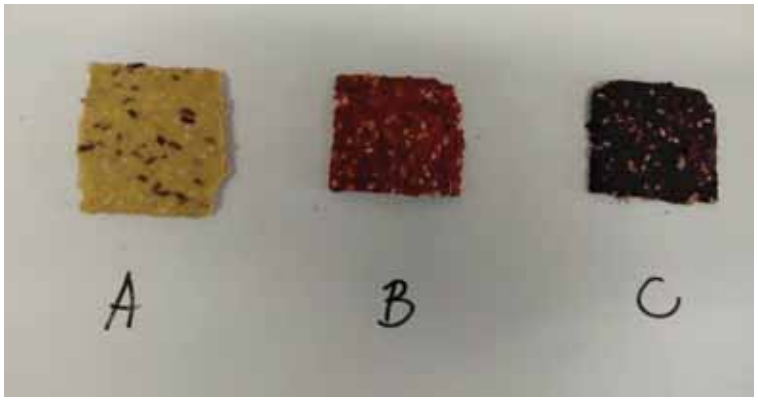
Repný „odpad“ je bohatý najmä na fenolické látky a antioxidanty (Abdo et al., 2020). Repná šťava, šupky a výlisky prekračujú denné odporúčania pre príjem železa, ktoré pôsobí pri malnutrícii a anémii. Stonky podobne vykazovali vysokú antioxidačnú aktivitu vďaka vysokému obsahu fenolických zlúčenín, čo podporuje myšlienku využívania vedľajších produktov z červenej repy ako dobrého zdroja nových potravinárskych prísad, potravinových doplnkov a formulácie nových funkčných potravín. V našom prípade najvyššie obsahy TPC boli zistené pri aróniových výliskoch v obsahu 3278,85 ± 13,52 mg GAE/100 g, tieto značne prevyšovali TPC v cviklových výliskoch (538,70 ± 13,64 mg GAE/100 g).

Aróniové výlisky tiež preukázali vysoký obsah vlákniny (57,00 ± 3,68 g/100 g), nižší obsah vlákniny bol nameraný pri cviklových výliskoch (31,90 ± 1,56 g/100 g). Vzhľadom na dostatočný príjem vlákniny pre dospelých (25 g/deň) môžu najmä bobuľové výlisky pri relatívne nízkom dávkovaní významne prispieť k zlepšeniu vlákninového profilu potravín (Lukáčová et al., 2026). Výlisky napr. z ríbezlí, vynikali vysokým obsahom bielkovín a vlákniny v kombinácii s nízkym obsahom sacharidov a sú tak odporúčané pre metabolicky senzitívnych spotrebiteľov (Blicharz-Kania et al., 2025).

.

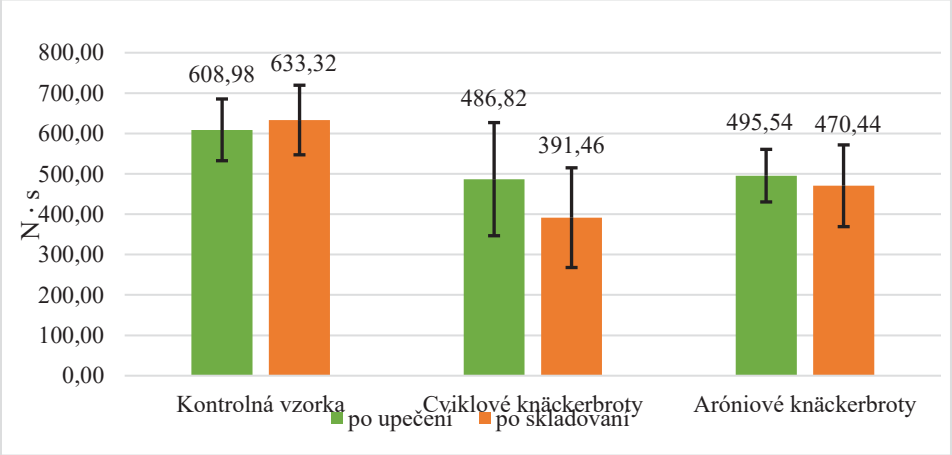


Graf 1 Obsah dusíkatých látok vo VVZ prepočítaní na obsah sušiny (%)



Obrázok 1 Vzorky bezgluténových knäckebrotov s prídavkom VVZ (A-kontrolná, B-cviklová, C-aróniová)

VVZ môžu byť tak zaujímavou surovinou nielen pri výrobe bezgluténových výrobkov, kde môžu prispievať k zlepšovaniu nutričného profilu, ale aj pre skupiny spotrebiteľov, ako sú diabetici, pre ktorých predstavujú cenný zdroj vlákniny a polyfenolov, ktoré môžu podporiť napr. reguláciu glykémie a pre športovcov, kde môžu prispieť k zvýšeniu príjmu polyfenolov a bielkovín podporujúcich regeneráciu a výkonnosť.



Graf 2 Výsledky texturometrického vyhodnotenia knäckebrotov ($N \cdot s^{-1}$)

Lámavosť vyvinutých bezgluténových knäckebrotov bola vyjadrená ako sila potrebná na kompresiu výrobkov ($N \cdot s^{-1}$). Najvyššia hodnota sily potrebnej na kompresiu výrobkov, bola zistená pri kontrolnej (608,98 ± 76,46 $N \cdot s^{-1}$) vzorke. Pridaním VVZ do výrobkov nastalo zvýšenie krehkosti knäckebrotov – na kompresiu vzoriek bol potrebný menší impulz sily v porovnaní s kontrolnou vzorkou. Poradie vzoriek od najtvrdšej po najmäkšiu po upečení bolo nasledovné: kontrolná vzorka > aróniové knäckebroty > cviklové knäckebroty.

Výrobky s prídavkom VVZ po skladovaní preukázali nižšie hodnoty potrebnej sily pri kompresii v porovnaní s meraniami hneď po upečení (graf 2) a súčasne v porovnaní

s kontrolnou vzorkou. Matrica výrobkov sa počas skladovania jemne zmäkčila. Poradie vzoriek od najtvrdšej po najmäkšiu po skladovaní zostalo nezmenené.

Do ovocných a zeleninových vzoriek boli pridané výlisky a šťavy, ktoré obsahujú jednoduché sacharidy a polysacharidy s vysokou hydrofilnosťou. Tieto látky sú schopné viazať vodu, čím prispievajú k zmäkčeniu štruktúry výrobkov. Kontrolná vzorka obsahovala ako pridanú tekutinu iba vodu, ktorá významne neprispieva k viazaniu vlhkosti ani k modifikácii štruktúry, a preto tieto vzorky vykazovali vyššiu tvrdosť. Pridanie výliskov a štiav tak prispelo k zmäkčeniu knäckebrotov v porovnaní s kontrolnou vzorkou.

Podobné výsledky boli pozorované aj v štúdiách s bezgluténovými pekárenskými výrobkami, kde pridanie VVZ viedlo k zvýšeniu objemu a vlhkosti výrobku a k tvorbe jemnejšej a vzdušnejšej bunkovej štruktúry striedky (Djeghim et al., 2021).

V štúdii s cviklovými výliskami ich pridanie viedlo k zvýšeniu obsahu vlhkosti výrobku, vďaka schopnosti výliskov viazať vodu (Abdo et al., 2021).

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. Prídavok VVZ z arónie a cvikly v našom prípade pozitívne ovplyvnil výživovú hodnotu ale i textúru výrobkov, bola potrebná nižšia sila na kompresiu vzorky, čo môžeme hodnotiť pozitívne. Počas skladovania nastalo pri vzorkách s prídavkom VVZ ďalšie mierne zmäkčenie štruktúry.

Prínosom tejto práce pre priemysel ako aj pre spotrebiteľov je navrhnutie obohatených výrobkov pre osobité kategórie ľudí, napr. ktorí sú odkázaní na bezgluténovú diétu a zároveň prispieť k bezodpadovému spracovaniu potravín.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená projektom VEGA č. 1/0454/25.

Poďakovanie patrí spoločnosti K.B.Real, s.r.o. Giraltovce a Ústavu zahradníctva FZKI SPU za ochotu a spoluprácu pri bezplatnom poskytnutí vzoriek arónie.

Ďalej akreditovanému skúšobnému laboratóriu ALS SK, za pomoc a spoluprácu pri uskutočnení vybraných analýz rastlinných matríc.

ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

1. ABDO, E. – EL-SOHAIMY, S. – SHALTOUT, O. – ABDALLA, A. – ZEITOUN, A. 2020. Nutritional evaluation of beetroots (Beta vulgaris L.) and its potential application in a functional beverage. In *Plants* [online], vol. 9, no. 12, pp. 1752. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.3390/plants9121752.
2. BLICHARZ-KANIA, A. – PECYNA, A. – ZDYBEL, B. – ANDREJKO, D. 2025. Physicochemical, functional and nutritional characteristics of various types of fruit pomace. In *Processes* [online], vol. 13, no. 10, pp. 3182. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.3390/pr13103182
3. DJEGHIM, F. – BOUREKOUA, H. – RÓŻYŁO, R. – BIEŃCZAK, A. – TANAŚ, W. – ZIDOUNE, M. N. 2021. Effect of by-products from selected fruits and vegetables on gluten-free dough rheology and bread properties. In *Applied Sciences* [online], vol. 11, no. 10, pp. 4605. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.3390/app11104605 >
4. LEHTO, M. – KYMÄLÄINEN, H.-R. – KAHALA, M. M. – JÄRVENPÄÄ, E. P. 2025. Valorization of carrot, cabbage, and red beet by-products – A review. In *Agricultural and Food Science* [online], vol. 34, no. 4, pp. 302–322. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.23986/afsci.161586
5. MIRABELLA, N. – CASTELLANI, V. – SALA, S. 2014. Current options for the valorization of food manufacturing waste: a review. In *Journal of Cleaner Production* [online], vol. 65, pp. 28–41. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.10.051
6. PETROV IVANKOVIĆ, A. – ĆOROVIĆ, M. – MILIVOJEVIĆ, A. – SIMOVIĆ, M. – BANJANAC, K. – VELJKOVIĆ, M. – BEZBRADICA, D. 2024. Berries pomace valorization: From waste to potent antioxidants and emerging skin prebiotics. In *International Journal of Fruit Science* [online], vol. 24, no. 1, pp. 85–101. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1080/15538362.2024.2322743
7. 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>
8. LUKÁČOVÁ, D.- FRAŇO, Ľ.- FIKSELOVÁ, M. 2026. Vedľajšie výrobné zvyšky rastlinného pôvodu ako biologicky cenné zdroje pre špeciálne potravinárske aplikácie. In *Bezpečnosť a kvalita potravín*. 1. vyd. 374 s. ISBN 978-80-8266-106-7. Nitra : Garmond, 2026, s. 312-317.

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

POPS V BRYNDZI PÔVODOM ZO SLOVENSKA.

POPS IN BRYNDZA SHEEP CHEESE ORIGINATING FROM SLOVAKIA.

[1]Gago František*, [1]Stachová Sejáková Zuzana,[1]Čonka Kamil, [1]Drobná Beáta

[1] NRC pre dioxíny a príbuzné zlúčeniny, Ústav laboratórnej medicíny, Lekárska fakulta, Slovenská Zdravotnícka Univerzita, Limbová 12, 833 03 Bratislava, Slovenská republika

ABSTRACT

During January – March 2026, we collected bryndza sheep cheese originating from Slovakia. They were analysed for polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs), and polychlorinated biphenyls (PCBs). The samples were from different small and large-scale farmers/dairy producers. Some samples were collected in the grocery store, and some were from small farm shop. 15 samples were processed, from different regions of Slovakia. WHO-TEQ_{2005} values were calculated from the measured results. Even when we compare small farmers and large dairy farms, none of the sample of bryndza sheep cheese from Slovak farms exceeds the maximum and action values set by the European Commission for this commodity.

Key words: PCDDs, PCDFs, dl-PCBs, bryndza sheep cheese

ÚVOD

Polychlórované dibenzo-p-dioxíny (PCDD), polychlórované dibenzo-furány (PCDF) a polychlórované bifenyly (PCB) patria medzi perzistentné organické polutanty (POPs). V životnom prostredí sa vyskytujú vo zvýšenej miere v dôsledku ľudskej činnosti a dlhodobo pretrvávajú kvôli svojej odolnosti voči biodegradácii[1,2,3]. Pre svoju výraznú schopnosť bioakumulácie sa dostávajú až na vrchol potravinového reťazca[4, 5].

PCDD a PCDF vznikajú najmä nedokonalým spaľovaním 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 do roku 1984. Používali sa o.i. ako stabilizátory náterov, chladiace a dielektrické kvapaliny a teplonosné médiá. V životnom prostredí sa dodnes nachádzajú staré záťaže, ktoré sú predstavujú zdroj kontaminácie hospodárskych zvierat. PCB sa transportujú v životnom prostredí a bioakumulujú sa v potravinovom reťazci[6, 7]. Účinky PCB na zdravie človeka sa týkajú najmä nervového, endokrinného, reprodukčného a imunitného systému[8].

Bryndza je tradičný fermentovaný mliečny výrobok vyrábaný prevažne z ovčieho mlieka, prípadne zo zmesi ovčieho a kravského mlieka. Vzhľadom na svoj živočíšny pôvod a obsah tuku patrí medzi potraviny, v ktorých môže dochádzať k akumulácii lipofilných POPs. Z tohto dôvodu predstavuje vhodnú matricu na monitorovanie prítomnosti látok ako PCB a PCDD/F v potravinovom reťazci.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky sa po prijatí skladovali v mrazničke pri cca -18°C.

Z bryndze sa izoloval tuk modifikovanou metódou Schmid-Bondzynski-Ratzlaff. 15-20g vzorky sa varilo v 50ml 36%HCl, vo vodnom kúpeli, kým sa vzorka nerozpustila. Po vychladnutí sa pridalo 50ml EtOH a nechalo postáť cca 30 min. Následne sa vzorka extrahovala jemným miešaním v oddeľovacom lieviku 3x 60ml zmesi Hex:DCM (4:1). Spojený extrakt sa premyl 50ml H_2O a vysušil cez bezvodý Na_2SO_4. Tuk sa vysušil a k alikvotnej časti lipidov izolovaných zo vzoriek bryndze 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 kolón s aktívnym uhlím. K prečisteným extraktom boli pred analýzou pridané známe množstvá 13C12-označených dávkovacích štandardov PCDD/F a PCB na výpočet výťažnosti 13C12-označených extrakčných štandardov. So sadou vzoriek bol spracovaný slepý pokus.

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; Trace GC Ultra, Thermo, Nemecko; DFS, Thermo, 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 z bryndze, 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 13,50%, pre dl-

PCB 15,03% a pre PCDD/F + dl-PCB 13,70%. Jednotlivé výsledky, ktoré boli nižšie ako medza stanovenia (LOD) boli počítané s hodnotou LOD "horná medza" (uperbound), na výpočet TEQ. Pre jednotlivé vzorky sa vypočítali TEQ a porovnávali sa medzi sebou vzorky zakúpené v malých farmárskych obchodoch a z reťazcov. Komodita mliečne výrobky nad 2% tuku, kde patrí aj bryndza má podľa európskych smerníc určené svoje akčné limity a maximálne limity (Tab. 1.). 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 (drobný producenti).

Z nameraných výsledkov pre jednotlivé produkty je vidno, že v porovnaní s limitmi pre jednotlivé skupiny zlúčenín sa neprekročili maximálne a ani akčné limity (Tab. 2.). Pri jednotlivých vzorkách vidno variovanie hodnôt o rád menšie ako sú akčné limity.

Tabuľka č. 1: Porovnanie maximálnych a akčných limitov pre jednotlivé tipy zlúčenín v mlieku a mliečnych výrobkoch, s obsahom tuku ≥ 2%, stanovených legislatívou. (https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02023R0915-20240425)

Raw milk and dairy products,including butter fat, ≥ 2% fat (status valid from 2023)	**Dioxins and Furans (sum of PCDD/Fs): WHO-PCDD/F-TEQ**	**Sum of dioxins and dioxin-like PCBs (sum of PCDD/Fs and DL-PCBs): WHO-PCDD/F-PCB-TEQ**	**Sum of dioxin-like PCBs (DL-PCBs): WHO-PCB-TEQ**	**Non-dioxin-like PCBs (IND-PCB)**
Maximum values	2,0 pg/g fat	4,0 pg/g fat	---	40 ng/g fat
Action levels	1,75 pg/g fat	---	2,00 pg/g fat	---

Tabuľka č. 2: Hodnoty TEQ jednotlivých skupín zlúčenín pre vzorky bryndze.

				WHO_{2005}-TEQ (pg/g tuku)			
bryndza	**značka**	**pôvod**	**tip**	**∑PCDD/F**	**∑PCDD/Fs and DL-PCBs**	**∑DL-PCB**	**∑IND PCB (ng/g)**
B-1	Jozef Badánik-BADAS, Salaš Krajinka	Černová	100% ovčia	0,296	0,417	0,120	2,262
B-2	Salaš Pružina	Pružina	100% ovčia	0,141	0,245	0,103	1,274
B-3	Liptovská bryndza	Liptov	50% ovčia	0,192	0,397	0,205	1,974
B-4	Zvolenská Slatina v drevenej dyhe	Zvolenská Slatina	50% ovčia	0,146	0,182	0,035	1,754
B-5	bryndziareň Turčanske Teplice	Turčanske Teplice	50% ovčia	0,178	0,362	0,184	2,577
B-6	bryndziareň Turčanske Teplice	Turčanske Teplice	100% ovčia	0,309	0,471	0,163	1,269
B-7	Chute Slovenska, Billa v drevenej dyhe, syráreň Havran	Senica	60% ovčia	0,308	0,446	0,138	1,324

Pokračovanie tabuľky č. 2

B-8	Klúkňavská mliekareň OOD	Klúkňava	50% ovčia	0,156	0,340	0,184	1,204
B-9	Pilos, výr. Nika	Považská Bystrica	51% ovčia	0,249	0,394	0,144	1,311
B-10	Agrofarma Červený Kameň	Červený Kameň	50% ovčia	1,313	1,504	0,191	1,388
B-11	Gemerské ovečky, BioEn, s.r.o.	Včelince okr.Rimavská Sobota	100% ovčia	0,157	0,283	0,126	1,149
B12	salaš	Zvolenská slatina	100% ovčia	0,339	0,496	0,157	1,421
B13	salaš	Turčianske Teplice	100% ovčia	0,374	0,415	0,042	1,413
B14	salaš Poniky- Môlča	Poniky- Môlča	100% ovčia	0,165	0,544	0,380	1,517
B15	Bryndza Tesco	Červený kameň	50% ovčia	0,139	0,415	0,276	1,832

ZÁVER

Z údajov o kontaminácii jednotlivých vzoriek bryndze PCDD/F, DL-PCB a NDL-PCB je zrejmá dôležitosť pravidelných monitoringov na Slovensku na udržanie vysokej čistoty štandardných komerčných, ale i lokálnych produktov. Bryndza patrí k obľúbeným lokálnym produktom z ovčieho mlieka a na Slovensku sa nachádzajú aj oblasti z väčším rizikom produkcie mliečnych výrobkov, ktoré treba ešte overiť, lebo by moli prekračovať maximálne alebo akčné limity kontaminácie PCDD, PCDF a PCB.

POĎAKOVANIE

NRC Diox ďakuje Výskumnému ústavu mliekarenskému , Ing. Martinovi Tomáškovi PhD. za možnosť konzultácie pri danej problematike.

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

Kontaktná adresa: Gago František, NRC pre dioxíny a príbuzné zlúčeniny, Ústav laboratórnej medicíny, Lekárska fakulta, Slovenská Zdravotnícka Univerzita, Limbová 12, 833 03 Bratislava, Slovenská republika, E-mail: frantisek.gago@szu.sk

ANTIMIKROBIÁLNA REZISTENCIA U KOAGULÁZA NEGATÍVNYCH STAFYLOKOKOV V EXKREMENTOCH HOVÄDZIEHO DOBYTKA

ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN COAGULASE-NEGATIVE STAPHYLOCOCCI IN CATTLE EXCREMENTS

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

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

ABSTRACT

The prevalence of antimicrobial resistance in staphylococci in cattle farms represents a growing threat to animal health, food safety, and public health. *S. aureus* and CoNS are the main causes of subclinical mastitis in dairy cows. Antimicrobials are most commonly used in dairy farming for intramammary treatment of clinical mastitis and dry cow therapy. The aim of our study was to isolate and identify CoNS from excrement samples of cattle farms and to determine their phenotypic antimicrobial resistance profile. The most common CoNS species isolated from cattle excrement were *S. equorum, S. xylosus,* and *S. sciuri*. There was a recorded increase in resistance to ampicillin (73.7%), trimethoprim (61%), oxacillin (59%), and rifampicin (43%). Almost 80% of isolates were identified as MRCoNS, and 5 isolates were multidrug-resistant CoNS. Monitoring antimicrobial resistance in clinical, veterinary, and environmental samples is necessary to inform risk assessment within the "One Health" framework.

Key words: CoNS**,** antimicrobial resistance, staphylococci, cattle farm, excrements

ÚVOD

Stafylokoky predstavujú rôznorodú skupinu baktérií, ktoré sú súčasťou normálnej mikroflóry zdravých jedincov a bežne sa vyskytujú aj v rôznom prostredí chovu zvierat. Tieto patogény sú spojené s mastitídou u dojníc, kožnými infekciami a infekciami rán zvierat a na ľudí sa môžu prenášať kontaktom alebo kontaminovanými potravinami (MATOS et al. 2024).

V EU je zakázané používanie antimikrobiálnych látok (AMR) na podporu rastu zvierat, je obmedzené profylaktické použitie AMR vo výnimočných prípady a ich metafylaktické použitie je povolené len pod prísnym veterinárnym dohľadom (ELBEHIRY a MARZOUK, 2025).

AMR sa v chove dojníc najčastejšie používajú na intramamárnu liečbu klinickej mastitídy a terapiu suchých kráv. Beta-laktámy, makrolidy a linkozamidy sú najbežnejšie používanými AMR prvej voľby v chove dojníc, čo výrazne vplýva na ich klinickú účinnosť a výskyt rezistencie u baktérií na tieto AMR (Fergestad et al., 2021).

S. aureus a *S. chromogenes* sú hlavnými príčinami subklinickej mastitídy u dojníc, ale aj u jalovíc a prvorodičiek (VANDERHAEGHEN et al., 2014; ABEBE and BAKALA, 2022).

Kontaminácia životného prostredia poľnohospodárskou činnosťou zdôrazňuje úlohu chovov hospodárskych zvierat ako zdrojov AMR baktérií do prostredia (IBEKWE et al., 2023).

Koaguláza-negatívne stafylokoky (CoNS), ako aj *S. aureus* predstavujú rastúce hrozby pre zdravie zvierat, bezpečnosť potravín a verejné zdravie kvôli ich vyvíjajúcim sa profilom AMR alebo multirezistencie. Vzhľadom na rastúci význam stafylokokov v oblasti zdravia zvierat, bezpečnosti potravín a verejného zdravia je potrebný komplexný a integrovaný prístup One Health (ELBEHIRY a MARZOUK, 2025).

MATERIÁL A METODIKA

Počas uplynulého roka boli realizované štyri odbery vzoriek exkrementov z prostredia chovu hovädzieho dobytka. Na izoláciu stafylokokov boli použité selektívnych médiách (modifikovaný HiCrome^{TM} Staph agar) inkubované pri 37°C počas 24 hodín. Následne bola vykonaná identifikácia získaných izolátov pomocou biochemických skúšok. Fenotypová antimikrobiálna citlivosť bola testovaná u 61 izolátov CoNS pomocou mikrodilučnej kolorimetrickej metódy podľa Gattringera et al. (2002), pomocou komerčnej diagnostickej súpravy (Bel-Miditech). Interpretácia výsledkov MIC a hodnotenie mechanizmov rezistencie bolo vykonané podľa klinických hraničných hodnôt opísaných v EUCAST (verzia 14.0; 2024).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Najčastejšími druhmi CoNS izolovanými v exkrementoch v chove hovädzieho dobytka boli *S. equorum*, *S. xylosus a S. sciuri* (všetky nad 20%). Najvyššie percento rezistencie bolo zaznamenané počas zimného obdobia a najnižšie v jari. Celoročne tu bola zvýšená rezistencia na ampicilín (73.7%), oxacilín (59%), rifampicín (43%), ale aj na trimetoprim (61%), čo súvisí s jednostrannou liečbou v chove hovädzieho dobytka.

CoNS izolované z exkrementov zvierat vykazovali na 80% mechanizmus rezistencie na meticilín (MRCoNS) a 5% rezistenciu na penicilíny. Mechanizmy rezistencie MLSB a aminoglykozidová rezistencia sa vyskytovali len zriedka (6-8%). V letnom období boli identifikované 4 multirezistentné (MDR) izoláty *S. xylosus*.

Tabuľka č. 1 MICxG a percento rezistencie u CoNS izolovaných z exkrementov hovädzieho dobytka

	MIC xG (mg/L)	% rezistencie	Break point (mg/L)
ampicilín	6.06	73.77	>0,25
ampicilín + sulbaktám	2.09	0.00	>16
piperacilín + tazobaktám	1.27	1.30	>8
oxacilín	7.56	59.74	>0,25
gentamicín	0.94	6.49	>2
ciprofloxacín	0.47	3.90	>2
moxifloxacín	0.34	15.58	>0,25
erytromycín	1.12	10.39	>1
clindamycín	0.40	7.79	>0,25
linezolid	0.36	0.00	>4
rifampicín	2.00	42.86	>0,065
vankomycín	0.56	1.30	>4
teikoplanín	1.09	1.30	>4
tetracyklín	1.96	24.68	>1
tigecyklín	0.19	7.79	>0,5
chloramfenikol	4.56	3.90	>8
trimetoprim	17.45	61.04	>4
trimetoprim + sulfónamid	1.53	5.19	>4
nitrofurantoín	7.06	1.30	>64

Tabuľka č. 2 Mechanizmus rezistencie u CoNS z exkrementov hovädzieho dobytka

	Počet	% rezistencie
Rezistencia na penicilíny	3	4.92
mecA	0	0
MRCoNS	49	80.33
Aminogl,ikozidova rezistencia PH(2'')-AC(6')	4	6.56
Conštitutívna MLSB	5	8.2
Inducibilná MLSB	0	0
Multirezistencia	5	8.2

Používanie antimikrobiálnych látok v živočíšnej výrobe vyvíja intenzívny selektívny tlak. Profylaktické a metafylaktické používanie antibiotík na farmách s vysokou hustotou chovu podporuje rast kmeňov MDR.

Postupy v živočíšnej výrobe, ako je aplikácia neošetreného hnoja na pôdu, vypúšťanie odpadových vôd a opätovné použitie kontaminovanej podstielky, uľahčujú uvoľňovanie rezistentných stafylokokov a šírenie génov rezistencie horizontálnym transportom do okolitých ekosystémov. K expozícii ľudí dochádza priamym kontaktom (farmári, veterinári), nepriamo prostredníctvom kontaminovaných živočíšnych produktov a z environmentálnych rezervoárov. Patogenita je podnecovaná mobilnými genetickými prvkami, génmi virulencie a determinantmi antimikrobiálnej rezistencie (AMR). Obojsmerný prenos a environmentálna amplifikácia génov rezistencie zdôrazňujú potrebu integrovaného dohľadu v rámci iniciatívy One Health (XU, C. et al. 2022)

Zložky životného prostredia – povrchovej vody, vzduchu a pôdy po aplikácii hnoja – predstavujú kritické, ale nedostatočne monitorované environmentálne rezervoáre génov AMR pochádzajúcich zo systémov živočíšnej výroby (FAO, 2024).

ZÁVER

Naše výsledky zdôrazňujú potrebu racionálneho používania antimikrobiálnych látok, najmä v rámci liečby mastitíd v chove dojníc a pri ich zasúšaní. Je tiež dôležité prísne dodržiavanie ochrany chovov, hygienických opatrení a zavedenia systematického monitorovania antimikrobiálnej rezistencie u CoNS. Kontrola AMR je nutná v klinických, veterinárnych a environmentálnych rozhraniach a na informovanie o hodnotení rizika v rámci stratégie „Jedno zdravie“.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola zrealizovaná vďaka podpore projektu APVV-23-0488 a KEGA 009UVLF-4/2025.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ABEBE, B.; BAKALA, S. Prevalance: Bovine mastitis and its predisposing factors in and around Holeta Town, Oromia, Ethiopia. Int. J. Vet. Sci. Res. 2022, 8, 151–159.
2. ELBEHIRY, A., & MARZOUK, E. Staphylococci in Livestock: Molecular Epidemiology, Antimicrobial Resistance, and Translational Strategies for One Health Protection. Veterinary sciences, 2025, 12(8), 757.
3. EUCAST. Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters, verzia 14.0. 2024.

4. FAO. Tackling Antimicrobial Resistance in Food and Agriculture. 2024, https://openknowledge.fao.org/items/7979649d-47f7-448c-95ac-b1ca00adcfd9
5. FERGESTAD M. et al., Antimicrobial resistance and virulence characteristics in 3 collections of staphylococci from bovine milk samples. Journal of Dairy Science, 2021; 104, 10250-10267
6. 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.
7. IBEKWE, A.M. et al. Potential reservoirs of antimicrobial resistance in livestock waste and treated wastewater that can be disseminated to agricultural land. Sci. Total Environ. 2023, 872, 162194.
8. 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.
9. VANDERHAEGHEN, W. et al. Invited review: Effect, persistence, and virulence of coagulase-negative Staphylococcus species associated with ruminant udder health. J. Dairy Sci. 2014, 97, 5275–5293.
10. XU, C. et al. A review of current bacterial resistance to antibiotics in food animals. Front. Microbiol. 2022, 13, 822689.

Kontaktná adresa: Gabriela Gregová, 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

ANTIBAKTERIÁLNA A ANTIBIOFILMOVÁ AKTIVITA ÉTERICKÝCH OLEJOV VOČI STAFYLOKOKOM IZOLOVANÝM Z MLIEKA DOJNÍC

ANTIBACTERIAL AND ANTIBIOFILM ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS AGAINST STAPHYLOCOCCI ISOLATED FROM DAIRY COW MILK

Hajdučková Vanda[1], Hudecová Patrícia[1], Király Ján[1], Hisirová Simona[1], Pilipčinec Emil[1], Teleky Jana[2]

[1]Katedra mikrobiológie a imunológie,

[2]Katedra morfologických disciplín

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

ABSTRACT

Antibiotics are the first line of drugs used in the treatment of mastitis. However, their use is limited by the formation of residues that affect animal production and also pose an environmental risk. From the total number of milk samples collected from dairy cows with subclinical mastitis (n=29), 46 isolates of coagulase-negative staphylococci (CoNS) were identified by culture, microscopy and biochemical methods. All CoNS isolates were tested for biofilm formation using a modified method according to O´Toole (1999). Strong biofilm producers were selected from the CoNS isolates and antibiotic resistance was confirmed in 5 isolates, for which the antibacterial and antibiofilm activity of EO from tea tree and oregano was tested. Oregano essential oil showed a stronger antibiofilm and antibacterial effect, while biofilm inhibition was observed even at very low concentrations (0.0001 %). The obtained results indicate the potential for the use of essential oils as alternative or complementary antimicrobial agents in the prevention and treatment of mastitis, especially in connection with the increasing antibiotic resistance in the field of veterinary medicine.

Key words: mastitis, dairy cow, staphylococci, essential oils

ÚVOD

Mastitída patrí medzi najčastejšie ochorenia dojníc, predstavuje významný problém z hľadiska veterinárnej praxe a celosvetovo sa podieľa na vysokých ekonomických stratách. Ide o zápalové ochorenie mliečnej žľazy prebiehajúce v klinickej a subklinickej forme, ktoré vedie k poklesu produkcie a kvality mlieka a zhoršeniu zdravotného stavu zvierat (Girma a Tamir 2022). Subklinická mastitída predstavuje pretrvávajúcu infekciu mliečnej žľazy, ktorá

neprejavuje viditeľné klinické príznaky ani zmeny v mlieku. Hlavným ukazovateľom tejto formy zápalu je zvýšený počet somatických buniek, ktorý signalizuje aktiváciu imunitnej odpovede na prítomnú infekciu (Wang et al. 2024).

K významným pôvodcom subklinickej mastitídy patria stafylokoky, najmä *S. aureus*, ale aj koaguláza-negatívne stafylokoky (CoNS), napríklad *S. haemolyticus*, *S. xylosus* a *S. epidermidis*. Tieto mikroorganizmy disponujú viacerými faktormi virulencie, ktoré im umožňujú adherenciu na epitelové bunky, invazivitu, produkciu toxínov a enzýmov, ako aj tvorbu biofilmu. Tieto faktory sú často spojené so zvýšenou antibiotickou rezistenciou, čo predstavuje ďalší problém pri liečbe a kontrolovaní infekcie v chovoch (Abril et al. 2022).

Nadmerné a často neuvážené používanie antibiotík v živočíšnej výrobe prispieva k selekcii rezistentných kmeňov baktérií, čo komplikuje liečbu mastitíd, znižuje jej úspešnosť a rizikom vzniku rezistencie ohrozuje verejné zdravie (Ajose et al. 2022). V posledných rokoch sa čoraz väčšia pozornosť venuje prírodným látkam ako sú éterické oleje (EO), rastlinné polyfenoly, laktoferín, probiotiká, nanomateriály vrátane strieborných a zlatých nanočastíc. Tieto látky vykazujú antibakteriálne, protizápalové a antibiofilmové účinky. Ich výhodou je odlišný mechanizmus účinku, ktorý znižuje riziko vzniku rezistencie, ako aj možnosť synergického pôsobenia s konvenčnými antimikrobiálnymi látkami (Sun et al 2025).

MATERIÁL A METODIKA

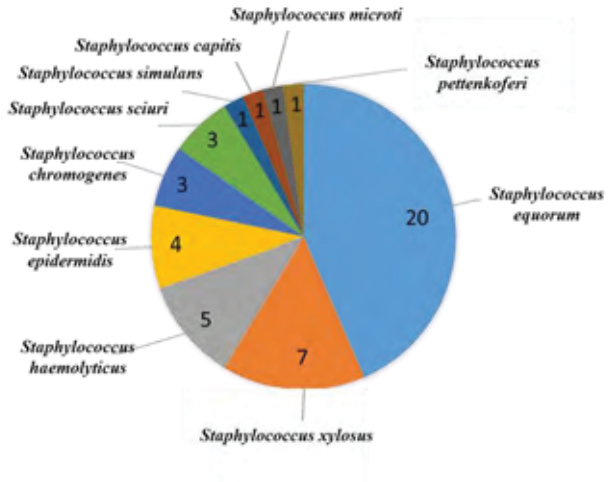
Vzorky mlieka pochádzali od dojníc so subklinickou formou mastitídy a boli vyšetrené kultivačne na vopred pripravené kultivačné médiá určené na izoláciu stafylokokov – Baird-Parker agar a Manitol slaný agar a kultivované 24 hodín pri 37 °C. Všetky stafylokoky boli identifikované mikroskopicky a biochemicky základnými biochemickými testami (kataláza, oxidáza, koaguláza) a využitím komerčnej biochemickej súpravy STAPHYtest 24 určenej na druhovú identifikáciu stafylokokov. U všetkých identifikovaných CoNS bola testovaná schopnosť tvorby biofilmu modifikovanou metódou podľa O´Toole (1999). Mikrotitračné platničky s bakteriálnou suspenziou pripravenou vo fyziologickom roztoku a modifikovaným BHI médiom (37 g BHI, 20 g NaCl, 10 g glukózy/l) boli inkubované 24 hodín pri 37 °C. Po odstránení nenaviazaných buniek bol biofilm ofarbený 0,1 % roztokom kryštálovej violete. Následne bolo farbivo rozpustené 30 % kyselinou octovou a absorbancia bola meraná použitím prístroja SYNERGY READER 2 (BioTek, Merck, SRN) pri 550 nm. Schopnosť produkcie biofilmu bola vyhodnotená podľa Stepanović et al. (2007), ako negatívna kontrola bol použitý *S. epidermidis* CCM 4418. U všetkých identifikovaných izolátov CoNS, ktorí boli silnými producentami biofilmu a bola u nich potvrdená rezistencia, bola testovaná antibakteriálna a antibiofilmová aktivita EO z pamajoránu a čajovníka spektofotometrickou

mikrotitračnou metódou podľa O´Toole (1999). Bakteriálne suspenzie v modifikovanom BHI médiu spolu s nariedenými EO v rozsahu 1 – 0,0001 % boli inkubované 24 hodín pri 37 °C. Antibakteriálna aktivita EO bola hodnotená meraním absorsorbanie pri 600nm, antibiofilmová aktivita EO pri 550 nm. Dosiahnuté výsledky boli vyhodnotené pomocou štatistického programu Prism 8.3.0 použitím jednosmernej ANOVA – Dunettov test.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Celkový počet odobratých vzoriek mlieka od dojníc s pozitívnym NK testom bol 29. Kultivačne, mikroskopicky a biochemicky boli identifikované CoNS (n = 46) (Graf č. 1).

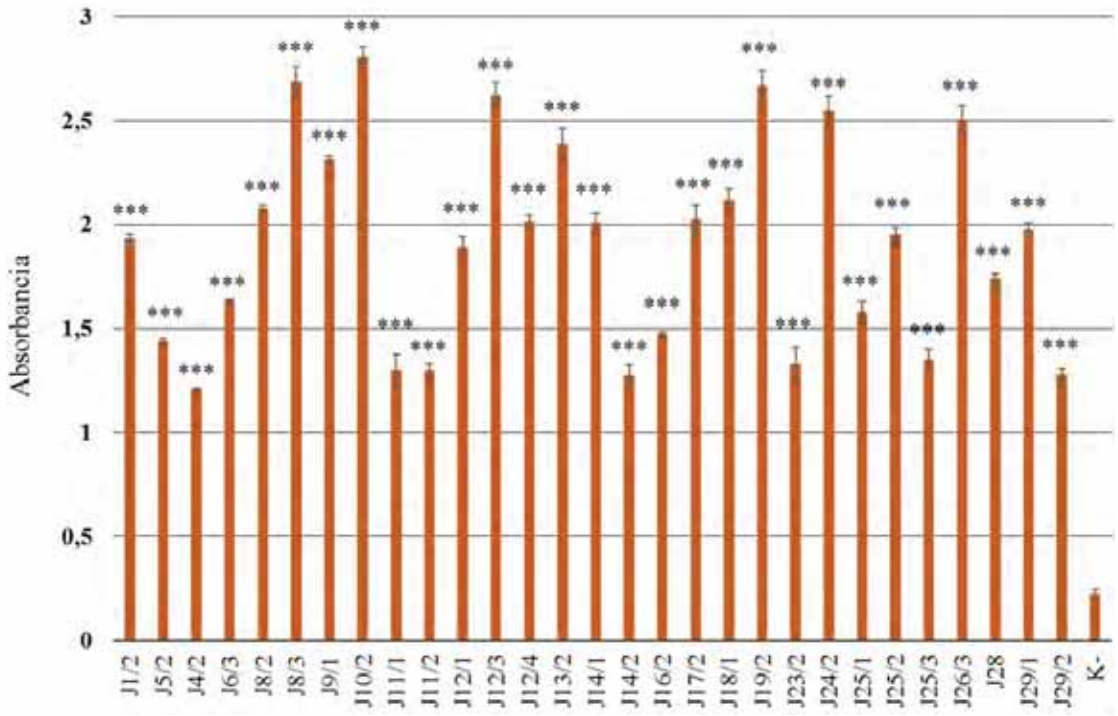
Graf č. 1, Druhové zastúpenie CoNS z mlieka dojníc



CoNS sú prirodzenou súčasťou mikrobioty kože a slizníc, no za určitých podmienok môžu kolonizovať mliečnu žľazu a spôsobiť intramamárnu infekciu vo forme subklinickej mastitídy (Taponen at al. 2017). Štúdia realizovaná v Indii na 237 vzorkách mlieka kráv a bizónov ukázala, že CoNS tvorili až 64 % stafylokokových izolátov, pričom boli identifikované druhy ako *S. simulans, S. capitis, S. cohnii, S. chromogenes, S. haemolyticus, S. sciuri* a *S. xylosus* (Bhavana a Chaitanya 2022). Naše výsledky sú s týmito zisteniami v súlade, keďže v analyzovaných 29 vzorkách mlieka dojníc so subklinickou mastitídou sme identifikovali 10 druhov CoNS. Dôležitým faktorom patogenity stafylokokov je aj schopnosť tvorby biofilmu, ktorá zvyšuje odolnosť baktérií voči antibiotikám a umožňuje im unikať imunitnej odpovedi hostiteľa. De Buck et al. (2021) vo svojej práci uvádza, že 60 – 80 % izolátov je schopných tvoriť biofilm. Iné práce uvádzajú odlišné výsledky, napríklad 96,7 % biofilm-produkujúcich CoNS (ZHU et al. 2026) alebo približne 31,3 % izolátov (Simojoki et al. 2012), čo môže súvisieť s použitými metodikami a kultivačnými médiami. U všetkých identifikovaných CoNS bola testovaná schopnosť tvorby biofilmu. Intenzita biofilmu bola

stanovená spektrofotometricky na základe hodnôt absorbancie meraných pri vlnovej dĺžke 550 nm. Na základe optickej denzity boli kmene klasifikované podľa kritérií Stepanović et al. (2007) na neproducenti (OD ≤ ODc), slabí producenti (ODc < OD ≤ 2×ODc), stredne silní producenti (2×ODc < OD ≤ 4×ODc) a silní producenti biofilmu (4×ODc < OD). Ako kontrola (K) bol použitý kmeň *Staphylococcus epidermidis* CCM 4418, ktorého ODc bola stanovená na hodnotu 0,28833. Na základe posúdenia hodnôt absorbancie zo 46 izolátov CoNS bolo 29 vyhodnotených ako silné producenty biofilmu.

Graf č. 2, Biofilmová aktivita CoNS



*** p < 0,001

K- *Staphylococcus epidermidis* CCM 4418

U 5 izolátov CoNS – *S. equorum* 11/1, *S. equorum* 16/2, *S. xylosus* 25/2, *S. sciuri* 25/3 a *S. chromogenes* 29/1, bola potvrdená aj multirezistencia na antibiotiká. Antibakteriálna a antibiofilmová aktivita EO z pamajoránu a čajovníka bola testovaná u 5 izolátov CoNS, ktorí boli vyhodnotení ako silní producenti biofilmu a rezistentní na antibiotiká. Čajovníkový EO (TTO) vykazoval antibakteriálnu aktivitu pri koncentrácii 0,001 % voči izolátom *S. sciuri* 25/3 a *S. equorum* 16/2, pri koncentrácii 0,01 % aj voči izolátom *S. xylosus* 25/2 a *S. chromogenes* 29/1 a voči izolátu *S. equorum* 11/1 bol TTO účinný až pri koncentrácii 1 %. Pamajoránový EO (OEO) vykazoval antibakteriálnu aktivitu voči všetkým testovaným izolátom už pri koncentrácii 0,01 %. Voči izolátu *S. sciuri* 25/3 bol účinný aj pri koncentrácii 0,001 %.

Najvyššia antibakteriálna aktivita bola zaznamenaná pri izoláte *S. equorum* 16/2, a to pri koncentrácii 0,0001 %. TTO olej vykazoval antibiofilmovú aktivitu voči izolátu *S. equorum* 11/1 už pri koncentrácii 0,0001 %. U ostatných testovaných izolátov sa antibiofilmový účinok prejavil pri koncentrácii 0,001 %, s výnimkou izolátu *S. chromogenes* 29/1, pri ktorom bola antibiofilmová aktivita zaznamenaná až pri koncentrácii 0,01 %. OEO vykazoval najlepšie výsledky pri testovaní antibiofilmovej aktivity, kde u štyroch izolátov vykazoval účinnosť už v koncentrácii 0,0001 %. U *S. chromogenes* 29/1, kde bol účinný vo vyššej koncentrácii 0,001 %. Medzi perspektívne bioaktívne látky patria najmä EO, ktorých antimikrobiálny účinok je podmienený prítomnosťou terpenických zlúčenín, avšak účinnosť EO sa môže líšiť v závislosti od ich chemického zloženia. Napríklad porovnávacia štúdia od De Almeida et al. (2024) ukázala najvýraznejší inhibičný účinok škoricového oleja (MIC = 0,052 – 0,178 mg/ml), zatiaľ čo oregano (MIC = 0,718 – 4,784 mg/ml) a klinček (MIC = 0,037 – 1,995 mg/ml) tiež vykazovali výraznú antimikrobiálnu aktivitu, ktorá sa zvyšovala ich vzájomnou kombináciou.

ZÁVER

Mastitída patrí medzi najvýznamnejšie infekčné ochorenia v chove dojníc a jej terapia je v súčasnosti komplikovaná najmä narastajúcou antibiotickou rezistenciou a tvorbou bakteriálneho biofilmu, ktorý zvyšuje odolnosť baktérií voči antimikrobiálnym látkam. Z tohto dôvodu je hľadanie alternatívnych alebo doplnkových antimikrobiálnych látok mimoriadne aktuálne. V rámci práce bolo analyzovaných 29 vzoriek mlieka, z ktorých bolo identifikovaných 10 druhov CoNS. Výsledky potvrdili, že tieto mikroorganizmy predstavujú významnú skupinu patogénov podieľajúcich sa na vzniku mastitíd. Viaceré izoláty vykazovali schopnosť tvorby biofilmu, pričom niektoré boli klasifikované ako silní producenti biofilmu. U časti izolátov bola zároveň zaznamenaná rezistencia voči meticilínu, čo poukazuje na potenciálne riziko z hľadiska liečby infekcií. Testovanie antibakteriálnej a antibiofilmovej aktivity EO preukázalo inhibičný účinok oboch sledovaných látok. OEO vykazoval vo všeobecnosti výraznejší antibakteriálny aj antibiofilmový účinok v porovnaní s TTO. Získané výsledky naznačujú, že EO, najmä pamajoránový olej, by mohli predstavovať perspektívny doplnok pri kontrole bakteriálnych infekcií spojených s mastitídou dojníc. Napriek tomu je potrebné zdôrazniť, že účinnosť pozorovaná v podmienkach *in vitro* nemusí úplne zodpovedať podmienkam *in vivo*. Z toho dôvodu budú potrebné ďalšie výskumy zamerané na rozšírenie vedeckých poznatkov, overenie účinnosti a bezpečnosti EO v praktických podmienkach chovu hospodárskych zvierat.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená projektom APVV-23-0488 a KEGA 018UVLF-4/2025.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ABRIL, A. G. et al. *Staphylococcus aureus* exotoxins and their detection in the dairy industry and mastitis. In: *Toxins (Basel)* [online]. 2020, roč. 12, č. 9, 537 [cit. 2025-09-22]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32825515/>. ISSN 2072-6651.
2. AJOSE, D. J. et al. Combating Bovine Mastitis in the Dairy Sector in an Era of Antimicrobial Resistance: Ethno-veterinary Medicinal Option as a Viable Alternative Approach. In: *Frontiers in Veterinary Science.* [online]. 2022, vol. 9, art. no. 800322 [cit. 2025-10-04]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.800322 >. ISSN 2297-1769.
3. BHAVANA, R. N. - R. K. CHAITANYA. Identification of coagulase negative staphylococcal species from bovine mastitis in India. In: *Iranian Journal of Veterinary Research* [online]. 2022, vol. 23, no. 4, s. 279–284 [cit. 2026-02-20]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36874184/>. ISSN 1728-1997.
4. DE ALMEIDA, J. M. et al. Antimicrobial action of oregano, thyme, clove, cinnamon and black pepper essential oils free and encapsulated against foodborne pathogens. In *Food Control* [online]. 2023, roč. 144, article 109356 [cit. 2026-03-05]. Dostupné na internete: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713522005497>. ISSN 0956-7135.
5. DE BUCK, J. et al. Non-aureus Staphylococci and Bovine Udder Health: Current Understanding and Knowledge Gaps. In *Frontiers in Veterinary Science* [online]. 2021, vol. 8, article 658031 [cit. 2026-02-20]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33937379/>. ISSN 2297-1769.
6. GIRMA, A. - TAMIR, D. Prevalence of Bovine Mastitis and Its Associated Risk Factors among Dairy Cows in Ethiopia during 2005–2022: A Systematic Review and Meta-Analysis. In *Veterinary Medicine International* [online]. 2022, vol. 2022, art. no. 7775197, [cit. 2025-10-04]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36164492/>. ISSN 2042-7670.
7. O'TOOLE, G. A. et al. Genetic approaches to study of biofilms. Methods Enzymol., 1999, vol. 310, s. 91–109, doi: 10.1016/s0076-6879(99)10008-9.
8. SIMOJOKI, H. et al. Is the biofilm formation and slime producing ability of coagulase-negative staphylococci associated with the persistence and severity of intramammary infection? In *Veterinary Microbiology* [online]. 2012, roč. 158, č. 3–4, s. 344–352 [cit.

2026-03-07]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22424866/>. ISSN 0378-1135.

9. STEPANOVIĆ, S. et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. In *APMIS* [online]. 2007, roč. 115, č. 8, s. 891–899 [cit. 2026-03-06]. Dostupné na internete: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17696944/. ISSN 1600-0463.
10. SUN, J. et al. Research progress on bioactive peptides from animal sources: A comprehensive review. In *Food Chemistry* [online]. 2025, article 145006 [cit. 2026-02-13]. Dostupné na internete: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814625022575>. ISSN 0308-8146.
11. SUN, Z. et al. Nano-golden adjuvant-polymersomes empower tumor photothermal-immunotherapy. In *Journal of Controlled Release* [online]. 2025, vol. 385, article 113976 [cit. 2026-02-20]. Dostupné na internete: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168365925005978?via=ihub>. ISSN 0168-3659.
12. TAPONEN, S. et al. Factors associated with intramammary infection in dairy cows caused by coagulase-negative staphylococci, *Staphylococcus aureus, Streptococcus uberis, Streptococcus dysgalactiae, Corynebacterium bovis,* or *Escherichia coli*. In *Journal of Dairy Science* [online]. 2017, vol. 100, no. 1, s. 493–503 [cit. 2026-02-20]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28341052/>. ISSN 0022-0302.
13. WANG, M., YANG, N., LATERRIÈRE, M., GAGNÉ, D., OMONIJO, F., IBEAGHAAWEMU,E. Multi-omics integration identifies regulatory factors underlying bovin subclinical mastitis. In *Journal of Animal Science and Biotechnology* [online]. 2024,vol. 15, 46 [cit. 2026-02-21].Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1186/s40104 024-00996-8>. ISSN 2049-1891.
14. ZHU, S. et al. Pathogenesis of bovine mastitis and influence of the gut microbiota: a review. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2026. [cit. 2026-02-11]. (print), ISSN 1520-5118 (online). Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/41616125/>. ISSN 0021-856.

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@UVLF.SK

VYUŽITÍ ELEKTROFORÉZY KE STANOVENÍ HMYZU V POTRAVINÁCH

APPLICATION OF ELECTROPHORESIS FOR THE DETECTION OF INSECTS IN FOOD

Havlová Lenka, Javůrková Zdeňka, Pospiech Matej, Bartlová Marie, Dobeš Jan, 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

In the European Union, the addition of insect-derived proteins to food products is strictly regulated, which requires reliable methods for their identification. These analytical approaches are essential for allergen detection, risk management, and ensuring food safety and proper labelling. Electrophoretic methods represent an important group of analytical tools for the detection, characterization, and authentication of insects in food products. While DNA-based approaches (PCR and its variants) dominate in accurate species identification, electrophoretic techniques (SDS-PAGE, 2D-PAGE) enable the generation of protein fingerprints and the detection of allergenic components such as tropomyosin or IgE-binding proteins. Immunochemical methods (Western blot, ELISA) further expand the possibilities for assessing the allergenic potential of insect-derived products. Capillary electrophoresis is a promising but still less commonly used method for the detailed analysis of biomarkers and metabolites. The combination of electrophoretic and molecular biological methods provides the most reliable strategy for ensuring the quality, authenticity, and safety of insect-based foods. Among the most recent and advanced approaches is the coupling of electrophoresis with mass spectrometry (SDS-PAGE/LC-MS/MS), which enables in-depth proteomic analysis and more accurate species identification.

Key words: edible insects, allergens, SDS-PAGE

ÚVOD

Jedlý hmyz v posledních letech přitahuje rostoucí pozornost jako udržitelný alternativní zdroj bílkovin s potenciálem přispět k zajištění výživy rostoucí světové populace. Se zvyšující se poptávkou po udržitelných a výživných potravinách se popularita hmyzu jako potraviny pomalu zvyšuje i v Evropě, což vede k nárůstu produktů z hmyzu na evropském trhu (Carriço-Sá et al., 2025; Karnaneedi et al., 2024).

V Evropské unii je hmyz považován podle nařízení č. 2015/2283 za nové potraviny, to znamená, že jejich uvádění na trh podléhá přísným právním předpisům (Grundy et al., 2024; Zdeňková et al., 2025). Kromě potravinářského využití je hmyz považován také za perspektivní alternativu krmiv pro hospodářská zvířata. Mezi jeho hlavní benefity patří efektivní produkce, rychlý růst a nízké nároky na prostor a zdroje (Fuso et al., 2024).

Výrobky na bázi hmyzu lze připravovat různými způsoby, například pražením, sušením, mletím na mouku nebo izolací vybraných složek, jako jsou bílkoviny či tuky, které se pak přidávají do potravin (Zdeňková et al., 2025). V současné době lze do potravin využít schválené druhy jedlého hmyzu mezi které patří: moučný červ (*Tenebrio molitor*), saranče stěhovavé (*Locusta migratoria*), cvrček domácí (*Acheta domesticus*) a potemník stájový (*Alphitobius diaperinus*) (Carriço-Sá et al., 2025).

I přesto, že je jedlý hmyz obecně považován za bezpečnou potravinu, může představovat zdravotní riziko, a to nejen z hlediska alergenů, ale také potenciální přítomnosti patogenů a toxinů (Carriço-Sá et al., 2025; Karnaneedi et al., 2024; Zdeňková et al., 2025). Hlavním alergenem hmyzu je tropomyosin a arginin kináza. Tropomyosin vykazuje významnou křížovou reaktivitu s alergeny korýšů. Současné studie však naznačují přítomnost dalších, dosud nedostatečně charakterizovaných alergenů, k jejichž potvrzení jsou však zapotřebí klinické studie (Carriço-Sá et al., 2025; Grundy et al., 2024; Karnaneedi et al., 2024).

Studie Ma et al. (2023) uvádí, že míra alergenicity tropomyosinu pravděpodobně závisí na homologii aminokyselinových sekvencí mezi jeho izoformami u různých druhů hmyzu, stejně jako na množství alergen-specifického IgE, cestě expozice a dávce alergenu. Autoři dále zdůrazňují potřebu dalších studií zaměřených na epitopy a sekundární strukturu hmyzích proteinů, které by umožnily lépe objasnit jejich vztah k alergenicitě (Ma et al., 2023).

Standardní přístup k separaci a identifikaci alergenních proteinů hmyzu představují elektroforetické metody, zejména SDS-PAGE (elektroforéza v polyakrylamidovém gelu v přítomnosti dodecylsíranu sodného) v kombinaci s imunoblottingem. Tyto metody lze rovněž využít pro hodnocení imunologické reaktivity (Carriço-Sá et al., 2025; Karnaneedi et al., 2024; Tuzimski & Petruczynik, 2021). K identifikaci hmyzích druhů v potravinách z hlediska autenticity lze využít také molekulárně-biologické metody, jako je polymerázové řetězové reakce (PCR) a sekvenování DNA, které umožňují přesnou detekci druhů a sledování genetické rozmanitosti (Meisinger et al., 2025; Zdeňková et al., 2025). Další možností identifikace proteinů hmyzu je pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS) nebo imunochemická metoda ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) (Meisinger et al., 2025; Werner et al., 2007).

Cílem této rešerše bylo shrnout aktuální poznatky o metodách využívaných k detekci a identifikaci hmyzu v potravinách se zaměřením na elektroforetické metody, a následně je porovnat s dalšími přístupy používanými ke stanovení přítomnosti hmyzu.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Analýza alergenů je klíčová pro zvolení správné diagnostiky, léčby a také pro prevenci alergií. Specifické a citlivé analytické metody umožňující přesnou identifikaci a kvantifikaci alergenních složek. Proto představují důležité nástroje pro posuzování a kontrolu rizik, zejména v potravinářském průmyslu, kde jsou klíčové pro správné označování a bezpečnost potravin. Stanovení potravinových alergenů je založeno na detekci bílkovin nebo nukleových kyselin. Mezi techniky založené na detekci bílkovin patří imunoblotting, enzymová imunoanalýza (ELISA) a chromatografie, nejčastěji v kombinaci s MS (hmotnostní spektrometrií) nebo MS/MS. Zatímco PCR je technika založená na stanovení nukleových kyselin (Tuzimski & Petruczynik, 2021). Přehled metod používaných ke stanovení jedlého hmyzu v potravinách je uveden v Tabulce č. 1.

Tabulka č. 1 Přehled metod využívaných ke stanovení jedlého hmyzu v potravinách

Metoda	Druh hmyzu	Marker	Reference
SDS-PAGE + imunobloting	*T. molitor*, *A. diaperinus*, *A. domesticus, L. migratoria*	reaktivita s IgE	Carriço-Sá et al. (2025)
SDS-PAGE + imunobloting/ LC-MS/MS	*A. domesticus* *H. illucens*	tropomyosin	Karnaneedi et al. (2024)
SDS-PAGE + MS proteomika	*H. illucens, A. diaperinus*	druhově specifický protein	Leni et al. (2020)
nano-HPLC HR-MS / LC-MS/MS	*A. domesticus*, *T. molitor*, *L. migratoria*, *A. diaperinus*, *G. sigillatus, H. illucens*	proteomické markery	Meisinger et al. (2025)
2D-PAGE (proteomika)	*hmyzí proteomy (např. komáři)*	proteinový fingerprint (pI + MW)*	Singh et al. (2024); Rabilloud & Lelong (2021)
PCR-HRM + DNA barcoding	*T. molitor*, *A. diaperinus*, *A. domesticus, L. migratoria*	DNA melting profile	Wildbacher et al. (2025)
Real-time PCR	*T. molitor, L. migratoria, A. domestica*	druhově specifická DNA	Köppel et al. (2019)
kapilární elektroforéza (cITP-CZE-COND)	*28 druhů hmyzu (různé taxony)*	glukosamin (chitin)	Kvasnička et al. (2023); Ma et al. (2023)
ELISA	*Crustaceans* (zkřížená reaktivita relevantní pro hmyz – švábi)	tropomyosin	Werner et al. (2007)

Metoda	Druh hmyzu	Marker	Reference
Mikroskopie + histochemické metody	*T. molitor*, *A. diaperinus*, *H. illucens*,*G. assimilis*	morfologické znaky kutikuly	(Veys & Baeten, 2018)

**Vysvětlivky: pI (izoelectric point) – izoelektrický bod; MW (molecular weight) – molekulová hmotnost*

Elektroforetické metody používané k průkazu hmyzu v potravinách

Studie Carriço-Sá et al. (2025) byla zaměřena na izolaci bílkovin ze čtyř druhů hmyzu schválených Evropskou unií (*Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, *Acheta domesticus* a *Locusta migratoria*) a na vyhodnocení jejich potenciální reaktivity s imunoglobulinem E (IgE) v sérech pacientů alergických na korýše. V rámci studie bylo aplikováno 16 protokolů extrakce proteinů, z nichž nejvyšší účinnost při izolaci IgE-reaktivních proteinů prokázal jednoduchý a rychlý extrakční protokol s Tris-HCl + SDS pufrem. Většina takto získaných proteinů vykazovala IgE-reaktivitu se séry pacientů alergických na korýše. Jejich schopnost vázat IgE byla přičítána hlavně konformačním epitopům, přičemž denaturace proteinů zvyšovala přístupnost epitopů a/nebo odhalovala lineární epitopy. IgE-reaktivita byla po extrakci následně hodnocena pomocí SDS-PAGE a imunoblottingu (Carriço-Sá et al., 2025).

Karnaneedi et al. (2024) ve své práci extrahoval pomocí pěti různých extrakčních pufrů proteiny z různých druhů potravin s obsahem cvrčka (*Acheta domesticus*) a bráněnky (*Hermetia illucens*). Extrakty byly následně analyzovány metodou SDS-PAGE a imunoblotováním s použitím specifických protilátek a séra pacientů alergických na korýše. Vazby IgE protilátky byly analyzovány hmotnostní spektrometrií, stejně jako kompletní profil alergenů všech extraktů. Nejúčinnější při extrakci hmyzích alergenů byly pufry na bázi močoviny. Mezi krevetami a hmyzem byla prokázána zkřížená reaktivita zejména u tropomyosinu, což naznačuje jejich podobnost. U obou druhů byly také identifikovány další specifické alergeny: hemocyaninu, vitellogeninu, HSP20, apolipophorinu-III a protein vázající chitin (Karnaneedi et al., 2024).

Cílem studie Jepson et al. (2024) bylo izolovat a charakterizovat proteiny z devíti druhů jedlého hmyzu z hlediska obsahu bílkovin a molekulové hmotnosti metodou SDS-PAGE. U cvrčka domácího byla zkoumána funkční charakteristika (pěnivost a emulgace) proteinu extrahovaného ze supernatantu ve srovnání s komerčním syrovátkovým proteinem a izolátem hrachového proteinu. Obsah bílkovin u červů rodu *Sphingomya* a žlutých moučných červů byl významně vyšší než u jiných druhů hmyzu (mravenci, létající termiti) (Jepson et al., 2024).

He et al. (2021) zkoumali vliv tepelného ošetření, enzymatické hydrolýzy a kyselých i zásaditých úprav na molekulární vlastnosti, strukturu a alergenicitu proteinového extraktu z kukel bource morušového. Alergenicita byla hodnocena měřením uvolňování histaminu

z lidských bazofilů, stanovením IgE vazebné kapacity pomocí ELISA a Western blotu, zatímco integrita proteinů byla sledována pomocí SDS-PAGE a spektroskopických metod. Výsledky ukázaly, že zahřátí na teplotu 60 °C a vyšší vedlo ke změnám sekundární a terciární struktury proteinů a ke snížení jejich alergenicity. Autoři zároveň zdůrazňují potřebu dalšího výzkumu zaměřeného na konformační a lineární epitopy pro lepší pochopení mechanismů snižování alergenicity (He et al., 2021).

Nejčastěji používanou technikou ke studiu exprese proteinů u komárů je 2D gelová elektroforéza, což je vícestupňový proces, který umožňuje rozlišit neporušené proteiny s podobnou molekulovou hmotností. Je také užitečná k oddělení posttranslačně modifikovaných proteinů, které nelze rozlišit pomocí proteomické analýzy typu shotgun. Cílem této studie byla optimalizace a účinná separace proteinů u komárů a některých dalších druhů hmyzu za účelem identifikace imunogenních proteinů relevantních pro výzkum onemocnění přenášených vektory. Optimalizovaný 2D protokol zlepšuje rozlišení a analýzu komplexních proteomických dat, která jsou u komárů velmi obtížně analyzovatelná, zlepšuje rozpustnost, rozlišení a vizualizaci proteinů, což usnadňuje srovnávací analýzu exprese proteinů (Singh et al., 2024). Dvourozměrná gelová elektroforéza sehrála klíčovou roli ve vývoji proteomiky a díky svým jedinečným vlastnostem zůstává stále velmi cenným nástrojem, zejména v případech, kdy je třeba provést mnohočetná kvantitativní srovnání vzorků, a to i u rozsáhlých sérií vzorků. Kvantitativní proteomika využívající dvourozměrné gely je však kriticky závislá na výkonu metod detekce proteinů používaných po elektroforetické separaci (Rabilloud a Lelong, 2021).

Elektroforetická metoda cITP-CZE-COND (on-line spojená kapilární izotachofóza s kapilární zónovou elektroforézou s konduktometrickou detekcí) pro stanovení obsahu chitinu v hmyzu je založená na analýze glukosaminu po kyselé hydrolýze vzorku a následné separaci v kationtovém režimu a detekci konduktometrem. Metoda vykazuje dobrou linearitu, přesnost, opakovatelnost a nízkou mez detekce, přičemž výhodou je jednoduchá příprava vzorku, vysoká citlivost a nízké náklady, což potvrzuje její vhodnost pro analýzu chitinu v hmyzu (Kvasnička et al., 2023).

Další metody používané k průkazu hmyzu v potravinách

Metody polymerázové řetězové reakce (PCR) a sekvenování DNA jsou vhodné pro přesnou identifikaci druhů, detekci (ne)označených kontaminantů a monitorování genetické rozmanitosti (Zdeňková et al., 2025). Köppel et al. (2019) vyvinuli multiplexní metodu real-time PCR pro detekci hmyzí DNA, a to jak obecně, tak pro tři konkrétní schválené druhy.

Výkonnost této metody byla ověřena validací, včetně dat z jiných laboratoří. Výsledky potvrzují, že metoda je vhodná pro daný účel (Köppel et al., 2019).

Cílem další studie bylo vyvinout metodu založenou na DNA barcoding a analýze křivek tání s vysokým rozlišením (HRM) pro identifikaci čtyř druhů jedlého hmyzu schválených v EU v potravinách. Původní primery umožnily jejich rozlišení, ale nedokázaly jednoznačně odlišit některé druhy od nepovoleného hmyzu. Tento problém byl vyřešen návrhem specifických primerů, které umožnily přesnější identifikaci díky odlišným křivkám tání. Výsledný PCR-HRM test (metoda PCR kombinovaná s následnou analýzou křivek tání s vysokým rozlišením) je efektivní nástroj pro ověřování pravosti jedlého hmyzu v potravinách (Wildbacher et al., 2025).

V další studii byl identifikován svalový protein tropomyosin v krevetách pomocí kvantitativní metody ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). Tato metoda využívá polyklonální králičí protilátky. ELISA test byl schopen kvantifikovat tropomyosin v různých potravinových matricích s detekčním limitem 1 µg/g a do určité míry vykazoval zkříženou reakci se švábý (Werner et al., 2007).

V další práci byl použit peptidomický přístup k určení peptidových biomarkerů pro moučného červa malého a bráněnku. Pomocí LC-MS/MS byly identifikovány tři druhově specifické peptidové biomarkery. Oba druhy hmyzu byly smíchány s rybím standardním krmivem v různých koncentracích, aby se vyhodnotila proveditelnost jejich použití, jako markerů v komplexních matricích. Detekce markerových peptidů byla potvrzena až do 1% obsahu hmyzu. Zde uvedené údaje představují potenciální použití přístupu založeného na peptidových markerech k identifikaci a kvantifikaci hmyzích složek (Leni et al., 2020).

Omezená dostupnost druhově specifických proteomických databází představuje významnou překážku pro přesnou identifikaci bílkovin v potravinářských výrobcích na bázi hmyzu, což má význam z hlediska nejen autenticity a bezpečnosti potravin, ale také z hlediska alergenního potenciálu. V rámci této studie byl vyvinut proteomický pracovní postup založený na homologii, aby byl vyřešen nedostatek komplexních sekvenčních dat pro jedlé druhy hmyzu a prozkoumán jejich alergenní potenciál. Metoda nanoflow tandemové hmotnostní spektrometrie (nano-HPLC HR-MS) si klade za cíl být obecně použitelná pro dosud málo prozkoumané druhy. U šesti zkoumaných druhů hmyzu (*Acheta domesticus*, *Locusta migratoria*, *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, *Gryllodes sigillatus* a *Hermetia illucens)* bylo identifikováno 1079 až 1893 proteinů, čímž se zvýšil počet známých proteinů až 24krát (Meisinger et al., 2025).

Další využitelná metoda k průkazu hmyzu je mikroskopie, kde jako spolehlivé identifikační znaky byly určeny morfologické struktury kutikuly (např. senzily, tracheoly)

spolu se vzory svalových vláken, které umožňují potvrdit hmyzí původ částic. Tyto znaky mohou sloužit i pro taxonomické zařazení (Veys & Baeten, 2018).

ZÁVĚR

Výsledky literární rešerše ukazují, že pro detekci a identifikaci hmyzu v potravinách jsou nejčastěji využívány proteinové, molekulárně-biologické a imunochemické metody, přičemž významné postavení zaujímají elektroforetické techniky. Elektroforetické metody používané pro analýzu hmyzu v potravinách se liší především cílovým analytem a účelem. K separaci a charakterizaci proteinů se využívá metoda SDS-PAGE a 2D-PAGE, která umožňuje vytvoření proteinových profilů (fingerprinting) a ve spojení s imunoblottingem i detekci alergenů (např. IgE-vazebných proteinů). Zatímco DNA elektroforéza (na agarózovém gelu, kapilární elektroforéza) se využívá k analýze produktů PCR a potvrzení druhové identity hmyzu. Kapilární elektroforéza (např. cITP-CZE-COND) se uplatňuje spíše v analytice nízkomolekulárních látek, kde poskytuje vysoce citlivé a selektivní stanovení složek hmyzu.

Z novějších a pokročilejších přístupů se uplatňuje především kombinace elektroforézy s hmotnostní spektrometrií (SDS-PAGE/LC-MS/MS), která umožňuje detailní proteomickou analýzu a přesnější identifikaci druhů.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce vznikla za podpory projektu Veterinární univerzity Brno ITA/Tremlová/2026 „Technologie pro udržitelnou výrobu potravin a mechanismy ochrany zdraví před alergenními složkami potravin“.

POUŽITÁ LITERATURA

1. CARRIÇO-SÁ, B., TEIXEIRA, C. S. S., VILLA, C., MENDES, E., FERREIRA, I. M. P. L. V. O., MAFRA, I., COSTA, J. (2025). Protein extraction from edible insects: Implications for IgE-binding capacity. *Food Chemistry*, *468*(December 2024). https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.142453
2. FUSO, A., LENI, G., PRANDI, B., LOLLI, V., CALIGIANI, A. (2024). Novel foods/feeds and novel frauds: The case of edible insects. *Trends in Food Science and Technology*, *147*(November 2023), 104457. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104457
3. GRUNDY, H., ROMERO, M. R., BROWN, L. C., PARKER, M. (2024). Review of Methods for the Detection of Allergens in Novel Food Alternative Proteins. *FSA Research and Evidence*, 1–122. https://doi.org/10.46756/001c.125903

4. HE, W., LI, S., HE, K., SUN, F., MU, L., LI, Q., YI, J., HE, Z., LIU, Z., WU, X. (2021). Identification of potential allergens in larva, pupa, moth, silk, slough and feces of domestic silkworm (Bombyx mori). *Food Chemistry*, *362*(December 2020), 130231. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130231
5. JEPSON, L. M., DANIEL, R., NYAMBAYO, I., MUNIALO, C. D. (2024). The isolation and characterisation of protein from nine edible insect species. *Journal of Food Science and Technology*, *61*(10), 1998–2007. https://doi.org/10.1007/s13197-024-05975-5
6. KARNANEEDI, S., JOHNSTON, E. B., BOSE, U., JUHÁSZ, A., BROADBENT, J. A., RUETHERS, T., JERRY, E. M., KAMATH, S. D., LIMVIPHUVADH, V., STOCKWELL, S., BYRNE, K., CLARKE, D., COLGRAVE, M. L., MAURER-STROH, S., LOPATA, A. L. (2024). The Allergen Profile of Two Edible Insect Species—Acheta domesticus and Hermetia illucens. *Molecular Nutrition and Food Research*, *68*(16), 1–14. https://doi.org/10.1002/mnfr.202300811
7. KÖPPEL, R., SCHUM, R., HABERMACHER, M., SESTER, C., PILLER, L. E., MEISSNER, S., PIETSCH, K. (2019). Multiplex real-time PCR for the detection of insect DNA and determination of contents of Tenebrio molitor, Locusta migratoria and Achaeta domestica in food. *European Food Research and Technology*, *245*(3), 559–567. https://doi.org/10.1007/s00217-018-03225-5
8. KVASNIČKA, F., KOUŘIMSKÁ, L., BLEHA, R., ŠKVOROVÁ, P., KULMA, M., RAJCHL, A. (2023). Electrophoretic determination of chitin in insects. *Journal of Chromatography A*, *1695*. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2023.463952
9. LENI, G., PRANDI, B., VARANI, M., FACCINI, A., CALIGIANI, A., SFORZA, S. (2020). Peptide fingerprinting of Hermetia illucens and Alphitobius diaperinus: Identification of insect species-specific marker peptides for authentication in food and feed. *Food Chemistry*, *320*(March), 126681. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126681
10. MA, Z., MONDOR, M., GOYCOOLEA VALENCIA, F., HERNÁNDEZ-ÁLVAREZ, A. J. (2023). Current state of insect proteins: extraction technologies, bioactive peptides and allergenicity of edible insect proteins. *Food and Function*, *14*(18), 8129–8156. https://doi.org/10.1039/d3fo02865h
11. MEISINGER, T., PLANATSCHER, H., BRAEUNING, A., LADENBURGER, E. M., STOLL, D., GARINO, C., BROLL, H., POETZ, O. (2025). Proteomic insights into novel food insects: Homology-based proteome characterization and allergenicity considerations for EU-regulated insect species. *Food Control*, *177*(February), 111441. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2025.111441

12. RABILLOUD, T., LELONG, C. (2021). The Whereabouts of 2D Gels in Quantitative Proteomics. *Methods in Molecular Biology*, *2228*, 41–51. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1024-4_4
13. SINGH, H., JAKHAR, R., KIRAR, M., SEHRAWAT, N. (2024). A systematic evaluation of sample preparation and 2-D gel electrophoresis protocol for mosquito proteomic profiling. *MethodsX*, *12*(March), 102677. https://doi.org/10.1016/j.mex.2024.102677
14. TUZIMSKI, T., PETRUCZYNIK, A. (2021). Review of new trends in the analysis of allergenic residues in foods and cosmetic products. *Journal of AOAC International*, *103*(4), 997–1028. https://doi.org/10.1093/JAOACINT/QSAA015
15. VEYS, P., BAETEN, V. (2018). Protocol for the isolation of processed animal proteins from insects in feed and their identification by microscopy. *Food Control*, *92*(March), 496–504. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.05.028
16. WERNER, M. T., FAESTE, C. K., EGAAS, E. (2007). Quantitative sandwich ELISA for the determination of tropomyosin from crustaceans in foods. *Journal of agricultural and food chemistry*, *55*(20), 8025–8032. https://doi.org/10.1021/jf070806j
17. WILDBACHER, M., ANDRONACHE, J., PÜHRINGER, K., DOBROVOLNY, S., HOCHEGGER, R., CICHNA-MARKL, M. (2025). Authentication of EU-Authorized Edible Insect Species in Food Products by DNA Barcoding and High-Resolution Melting (HRM) Analysis. *Foods*, *14*(5), 1–16. https://doi.org/10.3390/foods14050751
18. ZDEŇKOVÁ, K., ČERMÁKOVÁ, E., VEJL, P., ČERMÁKOVÁ, A., VAŠEK, J. (2025). Analytical Methods for the Identification of Edible and Feed Insects: Focus on DNA-Based Techniques. *Foods*, *14*(11), 1–17. https://doi.org/10.3390/foods14112002

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 PRODUKCIE EFLUXNÝCH PÚMP U STAFYLOKOKOV IZOLOVANÝCH Z MLIEKA DOJNÍC A DOJACÍCH ZARIADENÍ

COMPARISON OF EFFLUX PUMP PRODUCTION IN STAPHYLOCOCCI ISOLATED FROM MILK OF DAIRY COWS AND MILKING EQUIPMENT

Hisirová Simona, Hajdučková Vanda, Király Ján, Hudecová Patrícia, Koščová Jana

Katedra mikrobiológie a imunológie,

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

ABSTRACT

Mastitis significantly impacts dairy farming, causing losses in milk production and animal welfare. This study compares efflux pump (EP) production in coagulase-negative staphylococci (CoNS) isolated from milk of dairy cows with subclinical mastitis and from milking equipment surfaces. We analyzed and identified 79 CoNS isolates (46 from milk and 33 from milking equipment) using cultivation, microscopy, biochemical tests, and MALDI-TOF MS. We determined EP production using the phenotypic Ethidium-bromide Cartwheel method and evaluated fluorescence intensity by measuring emission under UV light in ImageJ. Results show a significantly higher proportion of EP producers in milk isolates (78%) than in milking equipment isolates (48%), as confirmed by χ^2 analysis ($p < 0.01$). *Staphylococcus equorum* and *Staphylococcus epidermidis* emerged as the strongest EP producers. These findings indicate EP production is a key mechanism for staphylococcal adaptation and virulence in the mammary gland environment.

Key words: *Staphylococcus,* diary cow, milking equipment, subclinical mastitis, efflux pumps

ÚVOD

Mastitída patrí medzi najčastejšie ochorenia dojníc a z veterinárneho hľadiska predstavuje významný problém, ktorý spôsobuje celosvetovo značné ekonomické straty. Ide o zápal mliečnej žľazy, ktorý sa môže vyskytovať v klinickej aj subklinickej forme. Toto ochorenie vedie k zníženiu produkcie a zhoršeniu kvality mlieka, ako aj k celkovému zhoršeniu zdravotného stavu zvierat (Park et al. 2022). Subklinická mastitída je charakterizovaná pretrvávajúcou infekciou mliečnej žľazy bez viditeľných klinických príznakov alebo zjavnej zmeny vzhľadu mlieka. Hlavným indikátorom tejto formy zápalu je zvýšený počet somatických buniek, ktorý odráža aktiváciu imunitnej odpovede organizmu na prebiehajúcu infekciu (Khelili et al. 2025).

Zástupcovia rodu *Staphylococcus* patria k významným bakteriálnym pôvodcom subklinickej mastitídy. Ide najmä o koaguláza-pozitívny (CoPS) *S. aureus* (Tong et al. 2025). Významnú rolu však v súčasnosti zohrávajú koaguláza-negatívne stafylokoky (CoNS), ako napríklad *S. epidermidis*, *S. haemolyticus, S. equorum* a *S. xylosus*. (Algharib et al. 2024). Disponujú faktormi virulencie, ktoré im umožňujú infikovať mliečnu žľazu aj dojacie zariadenie adherenciou na povrchy, invazivitou, produkciou látok s enzymatickou alebo toxínovou povahou (Shahzad et al. 2024).

Hlavným spôsobom liečby mastitíd je antibiotická terapia, ktorá zahŕňa najmä betalaktámové antibiotiká, tetracyklíny a gentamicín aplikované intramamárne, intramuskulárne alebo intravenózne. Nadmerné používanie antibiotík v chovoch však vedie okrem očakávaných problémov (prítomnosť rezíduí v mlieku, poškodenie mliečnej žľazy, pokles produkcie mlieka a pod.) aj k mikrobiálnej rezistencii (Cheng a Han 2020). Jedným z významných mechanizmov rezistencie stafylokokov je produkcia efluxných púmp (EP). Sú to transportné proteíny lokalizované v cytoplazmatickej membráne, ktoré sa podieľajú na vylučovaní toxických látok do vonkajšieho prostredia. S antibiotickou rezistenciou sú asociované rodiny ABC, MATE a MFS (Dančová et al. 2025).

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky mlieka pochádzali z mlieka a dojacích zariadení od dojníc so subklinickou formou mastitídy. Vyšetreniu boli podrobené zmiešané vzorky mlieka s pozitívnym výsledkom NK testu a zmiešané vzorky sterov zo 4 násadcov dojacieho zariadenia odobraté sterilne pred dojením. Následne boli všetky vzorky kultivačne vyšetrené na selektívnych médiách určených na izoláciu stafylokokov, konkrétne na Baird-Parker agare a Manitol-slanom agare. Kultivácia prebiehala počas 24 hodín pri teplote 37 °C. Izolované kolónie boli následne identifikované mikroskopicky a biochemicky pomocou základných biochemických testov, ako sú katalázový, oxidázový a koagulázový test. Na druhovú identifikáciu stafylokokov bola použitá komerčná biochemická súprava STAPHYtest 24. Presnejšia druhová identifikácia izolátov bola potvrdená metódou MALDI-TOF MS, ktorá umožňuje rýchlu identifikáciu mikroorganizmov na základe analýzy ich proteínového spektra..

Produkcia EP bola stanovená fenotypovou Ethidium-bromide Cartwheel metódou na Mueller-Hinton agare s koncentráciou etídium-bromidu 2,5 mg/l (Martins et al. 2013). Po 24-hodinovej kultivácii pri 37 °C boli Petriho misky pozorované pod UV svetlom v prístroji UV-Reader Quantum system v programe VisionCapt. Na základe intenzity emitovaného svetla, ktorá bola hodnotená v programe ImageJ, boli izoláty klasifikované ako slabé, stredne silné, silné producenty EP a neproducenty EP.

Na štatistické vyhodnotenie vzťahu medzi pôvodom a produkciou EP bol použitý chí-kvadrátový test nezávislosti, vypočítaný podľa vzorca:

$$\chi^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

kde *O* predstavuje pozorované a *E* očakávané frekvencie. Očakávané hodnoty boli vypočítané podľa vzťahu:

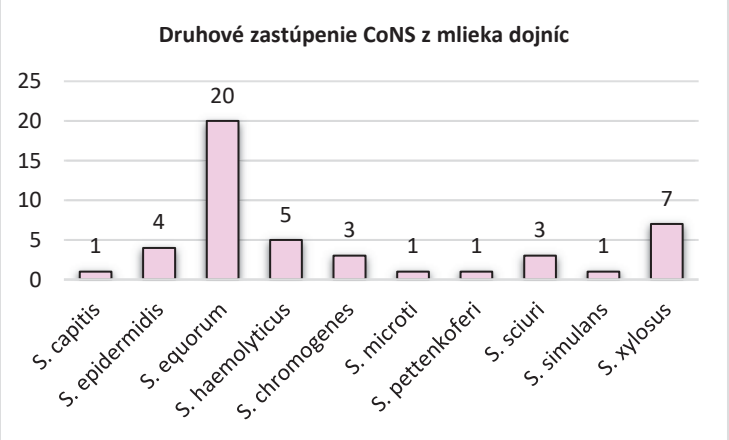
$$E = \sum \frac{(riadkový\ súčet\ x\ stĺpcový\ súčet)}{celkový\ súčet}$$

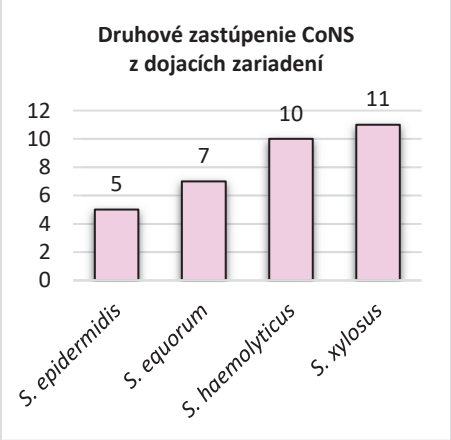
Na zabezpečenie vhodnosti testu boli v prípade nízkych početností jednotlivé kategórie intenzity produkcie zlúčené do dvoch skupín (producenty vs. neproducenty, resp. silné producenty vs. ostatné). Výsledky boli interpretované na hladine významnosti α = 0,05 (významné) a α = 0,01 (vysoko významné). Okrem induktívnej štatistiky bola vykonaná aj deskriptívna analýza, zameraná na porovnanie intenzity produkcie efluxných púmp medzi jednotlivými druhmi stafylokokov bez ohľadu na pôvod izolátu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Celkovo bolo odobratých 29 vzoriek mlieka, ktoré mali pozitívny NK test. Z týchto vzoriek bolo identifikovaných 46 izolátov CoNS, a to kultivačnými metódami, mikroskopiou a biochemickými testami. Potvrdenie druhu bolo uskutočnené metódou MALDI-TOF MS a jeho výsledky sú uvedené v Grafe č.1.

Graf č. 1 a Graf č.2, Druhové zastúpenie CoNS z mlieka dojníc a z dojacích zariadení.



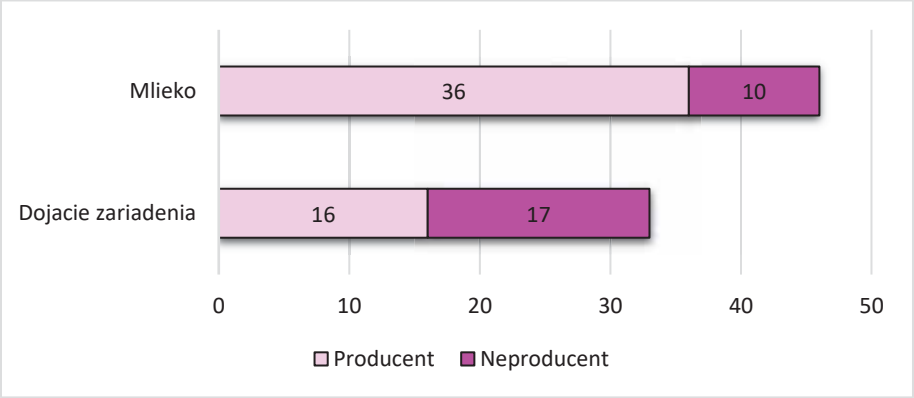


CoNS sú bežnou súčasťou mikrobioty kože a slizníc, avšak za vhodných podmienok môžu preniknúť do mliečnej žľazy a zapríčiniť intramamárne infekcie, ktoré sa často prejavujú ako subklinická mastitída (Taponen at al. 2017). De Visscher et al. (2024) vo svojej štúdii zistili, že CoNS sa nachádzajú až v 90 % vzoriek mlieka. V rámci inej štúdie zas boli vo vzorkách mlieka identifikované viaceré druhy CoNS, ako napríklad *S. simulans, S. capitis, S. cohnii, S.*

chromogenes, S. haemolyticus, S. sciuri a *S. xylosus* (Bhavana a Chaitanya 2022). Tieto zistenia korešpondujú aj s našimi výsledkami, keďže v súbore 29 vzoriek mlieka pochádzajúcich od dojníc so subklinickou mastitídou sme zaznamenali vysoké zastúpenie CoNS a prítomnosť až ich 10 rôznych druhov. Výskyt rovnakých druhov stafylokokov v mlieku aj na povrchu násadcov dojacích zariadení poukazuje na možnú epidemiologickú súvislosť medzi kontamináciou a prenosom počas dojenia, čo vo svojej práci konštatuje aj De Visscher et al. (2014).

Efluxné pumpy sú dôležitým faktorom virulencie a rezistencie stafylokokov, keďže sa podieľajú na ochrane bakteriálnych buniek pred toxickými látkami z prostredia. Vo vzorkách mlieka (n = 46) bolo pozorovaných až 36 producentov EP (78 %), kdežto vo vzorkách odobratých z dojacích zariadení (n = 33) bol pozorovaný nižší percentuálny podiel producetov EP, a to 48 % (16 izolátov) (Graf č.3). Zhodnotením vzťahu medzi pôvodom izolátov a schopnosťou produkcie EP bol χ^2 testom nezávislosti preukázaný štatisticky vysoko významný vzťah ($p < 0,01$). Izoláty CoNS z mlieka majú signifikantne vyššiu schopnosť produkovať EP ako izoláty CoNS získané z dojacích zariadení. Štúdie v oblasti detekcie EP u CoNS v mlieku alebo dojacích zariadeniach sú veľmi obmedzené, keďže táto problematika patrí k pomerne novým oblastiam výskumu. Külahci a Çitak (2025) identifikovali EP s vysokým zastúpením u stafylokokov vo vzorkách mlieka, čo potvrdzuje, že ide o ich pomerne bežný adaptačný mechanizmus.

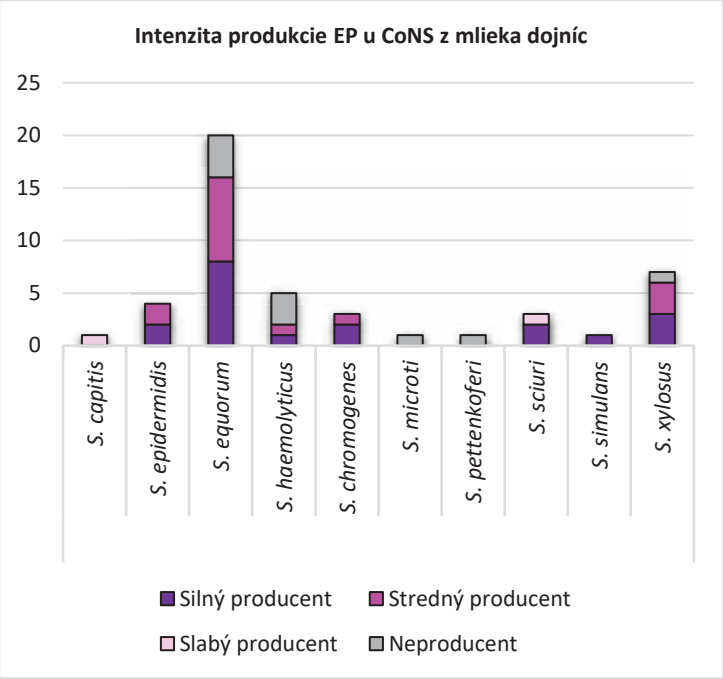
Graf č. 3, Porovnanie zastúpenia CoNS producentov EP z mlieka dojníc a z dojacích zariadení.

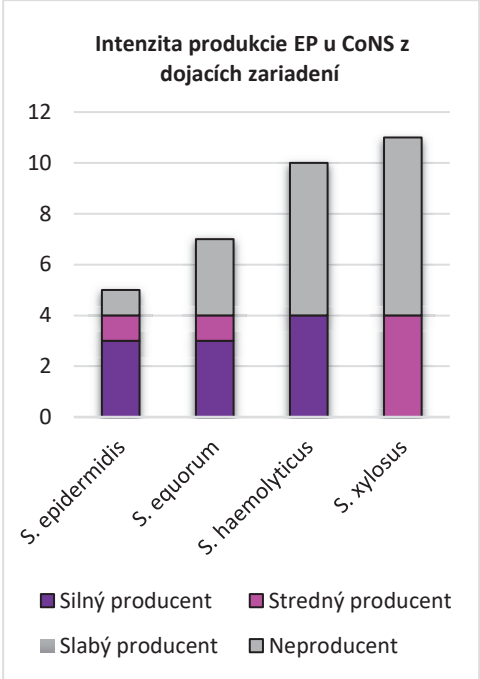


Okrem celkového porovnania produkcie EP bol sledovaný aj rozdiel v intenzite ich produkcie (Graf č. 4 a Graf č. 5). Zhodnotením vzťahu medzi pôvodom izolátov a intenzitou produkcie EP bol χ^2 testom nezávislosti preukázaný štatisticky vysoko významný vzťah ($p < 0,01$). Izoláty CoNS z mlieka majú signifikantne vyššiu schopnosť produkovať silné producenty EP ako izoláty CoNS získané z dojacích zariadení. Melo et al. (2014) však vo svojej štúdii zistili, že izoláty z mlieka a z environmentu môžu hostiť odlišne adaptované populácie

baktérií, čo súhlasí s rozdielom v zastúpení producentov EP, ktorý sme zaznamenali v našej štúdii.

Graf č. 4 a Graf č.5, Intenzita produkcie EP u CoNS z mlieka dojníc a z dojacích zariadení.





Pri hodnotení jednotlivých druhov CoNS boli pozorované výrazné rozdiely v intenzite produkcie. Medzi štatisticky významnými producentmi dominoval *Staphylococcus equorum*, u ktorého bolo identifikovaných najviac izolátov zaradených k silným a stredným producentom EP (74 %), prípadne aj *Staphylococcus epidermidis* (89 %). Stredne silná produkcia EP bola sledovaná najmä u *Staphylococcus xylosus* (39 %), zatiaľ čo medzi slabými producentmi a neproducentmi EP boli v najvyššej miere zastúpené izoláty *Staphylococcus haemolyticus* (60 %) a *Staphylococcus xylosus* (44 %). Ostatné izoláty netvorili počtom štatisticky významnú vzorku pre zaradenie na základe intezity produkcie EP (Tabuľka č. 1). Tieto výsledky naznačujú, že intenzita produkcie EP je ovplyvnená nielen pôvodom izolátu, ale aj druhovou príslušnosťou, pričom kombinácia týchto faktorov môže zohrávať významnú úlohu v adaptácii a virulencii CoNS. Ako bolo popísané vyššie, produkcia EP u CoNS izolovaných z mlieka a/alebo dojacích zariadení zatiaľ nebola v štúdiách popísaná, keďže k najrozsiahlejšie študovaným stafylokokom s efluxnou aktivitou patrí *S. aureus,* prípadne stafylokoky izolované z humánnych vzoriek. V niektorých štúdiách sa však pomocou molekulárnych metód podarilo identifikovať klinické izoláty rôzneho pôvodu produkujúce EP: Jeong et al. (2017) potvrdili prítomnosť EP u *S. equorum* a Chovanová et al. (2015) u *S. epidermidis.* Correa et al. (2008) preukázali prítomnosť EP aj u *S. haemolyticus*. Napriek odlišnému pôvodu spomínaných

izolátov tieto údaje demonštrujú, že efluxné pumpy predstavujú integrálnu súčasť výbavy CoNS, čo naznačuje ich potenciálne významnú úlohu pri prežívaní patogénov aj v špecifickom prostredí mliečnych fariem.

Tabuľka č.1, Intenzita produkcie EP u jednotlivých druhov CoNS.

	Slabý producent EP	Stredne silný producent EP	Silný producent EP	Neproducent EP
S. capitis	1	0	0	0
S. epidermidis	0	3	5	1
S. equorum	0	9	11	7
S. haemolyticus	0	1	5	9
S. chromogenes	0	1	2	0
S. microti	0	0	0	1
S. pettenkoferi	0	0	0	1
S. sciuri	1	0	2	0
S. simulans	0	0	1	0
S. xylosus	0	7	3	8

ZÁVER

Výsledky predkladanej štúdie prinášajú dôležité poznatky o rozšírení EP ako významného faktora virulencie a mechanizmu rezistencie u stafylokokov v prostredí mliečnych fariem. Bol preukázaný štatisticky vysoko významný rozdiel ($p < 0,01$) v produkcii EP medzi izolátmi z mlieka a z dojacích zariadení, pričom baktérie priamo infikujúce mliečnu žľazu vykazujú signifikantne vyššiu aktivitu týchto transportných proteínov. V izolátoch z mlieka dominovali silné producenty EP, pričom najvyššia miera produkcie bola zaznamenaná u druhov *S. equorum* a *S. epidermidis*, zatiaľ čo *S. haemolyticus* bol najčastejšie identifikovaný ako neproducent. Z hľadiska prevencie je pozitívnym zistením signifikantne nižší výskyt producentov EP v prostredí dojacích zariadení (48 %) v porovnaní s mliekom (78 %). Tento rozdiel, spolu s nižšou intenzitou produkcie u environmentálnych izolátov, naznačuje, že dojacie zariadenia v sledovanom chove nemusia predstavovať primárny rezervoár kmeňov s vysokým adaptačným a virulentným potenciálom. To môže v praxi znamenať nižšie riziko sekundárnej kontaminácie mliečnej žľazy vysoko odolnými patogénmi z externého prostredia. Záverom možno konštatovať, že schopnosť produkovať EP je u CoNS determinovaná nielen druhovou príslušnosťou, ale v značnej miere aj prostredím, z ktorého pochádzajú. Vyššia miera ich produkcie u patogénov vyvolávajúcich subklinickú mastitídu predstavuje riziko pre efektivitu antibiotickej liečby a podčiarkuje potrebu monitorovania tohto typu rezistencie v chovoch dojníc.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená projektom APVV-23-0488 a KEGA 018UVLF-4/2025.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ALGHARIB, Samah Attia, et al. Basic concepts, recent advances, and future perspectives in the diagnosis of bovine mastitis. *Journal of veterinary science*, 2024, 25.1: e18.
2. BHAVANA, R. N.; CHAITANYA, R. K. Identification of coagulase negative staphylococcal species from bovine mastitis in India. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 2022, 23.4: 358.
3. CORREA, J. E., et al. First report of qacG, qacH and qacJ genes in Staphylococcus haemolyticus human clinical isolates. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 2008, 62.5: 956-960.
4. DANČOVÁ, Nikola, et al. Characterization and Antimicrobial Resistance Profiles of Biofilm Forming Strains of Staphylococcus aureus Isolated from Skin Lesions. *Microorganisms*, 2025, 13.11: 2449.
5. DE VISSCHER, Anneleen, et al. Coagulase-negative Staphylococcus species in bulk milk: Prevalence, distribution, and associated subgroup-and species-specific risk factors. *Journal of Dairy Science*, 2017, 100.1: 629-642.
6. CHENG, Wei Nee; HAN, Sung Gu. Bovine mastitis: Risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments—A review. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 2020, 33.11: 1699.
7. CHOVANOVÁ, R., et al. The inhibition the Tet (K) efflux pump of tetracycline resistant Staphylococcus epidermidis by essential oils from three Salvia species. *Letters in applied microbiology*, 2015, 61.1: 58-62.
8. JEONG, Do-Won, et al. Genomic insights into the virulence and salt tolerance of Staphylococcus equorum. *Scientific reports*, 2017, 7.1: 5383.
9. KHELILI, Ahmed, et al. Characterization and Antimicrobial Resistance of Bacteria Causing Subclinical Mastitis in Dairy Cows in the Upper Cheliff Region, Northern Algeria. *Antibiotics*, 2025, 14.12: 1190.
10. KÜLAHCI, M. BURCU; ÇITAK, Sumru. Efflux pump-associated antimicrobial resistance genes in Staphylococcus spp. from dairy and meat samples. *Turkish Journal of Biology*, 2025, 49.7: 825-834.
11. MARTINS, Marta, et al. A simple method for assessment of MDR bacteria for over-expressed efflux pumps. *The open microbiology journal*, 2013, 7: 72.

12. MELO, Poliana de Castro, et al. NaOCl effect on biofilm produced by Staphylococcus aureus isolated from the milking environment and mastitis infected cows. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 2014, 34.2: 109-113.
13. PARK, Soyoun, et al. A longitudinal census of the bacterial community in raw milk correlated with Staphylococcus aureus clinical mastitis infections in dairy cattle. *Animal Microbiome*, 2022, 4.1: 59.
14. SHAHZAD, Muhammad Armaghan, et al. Virulence and resistance profiling of Staphylococcus aureus isolated from subclinical bovine mastitis in the Pakistani Pothohar region. *Scientific Reports*, 2024, 14.1: 14569.
15. TAPONEN, Suvi, et al. Factors associated with intramammary infection in dairy cows caused by coagulase-negative staphylococci, Staphylococcus aureus, Streptococcus uberis, Streptococcus dysgalactiae, Corynebacterium bovis, or Escherichia coli. *Journal of dairy science*, 2017, 100.1: 493-503.
16. TONG, Xiaofang, et al. Virulence of bacteria causing mastitis in dairy cows: A literature review. *Microorganisms*, 2025, 13.1: 167.

Kontaktná adresa: Hisirová Simona, Department of Microbiology and Immunology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic. E-mail: simona.hisirova@student.uvlf.sk

ANALÝZA CEREULIDU V POTRAVINÁCH POMOCOU HMOTNOSTNÉHO SPEKTROMETRA S TROJITÝM KVADRUPÓLOM

ANALYSIS OF CEREULIDE IN FOOD USING A TRIPLE QUADRUPOLE MASS SPECTROMETER

Hodoši Richard. and Application team at Shimadzu Scientific Instruments

ABSTRACT

Bacillus cereus is a Gram-positive spore-forming bacterium associated with foodborne illness. Emetic type illness is caused by cereulide, a toxin that can be detected directly by LC-MS/MS. The aim of this work was to develop a simple pretreatment procedure and an LC-MS/MS method for determination of cereulide in fried rice. Frozen and pulverized fried rice was extracted with methanol, cleaned up by solid-phase extraction, eluted with acetonitrile, filtered through a PTFE filter and analyzed using an LCMS-8060RX triple quadrupole mass spectrometer coupled to a Nexera X3 UHPLC system. The method showed good linearity over the calibration range of 0.005-50 µg/L with $R^2 > 0.999$. In a fried-rice recovery test at 10 ng/g, a recovery of 110.1 % was obtained. The procedure enables direct and rapid analysis of cereulide in the tested food matrix and provides a time-efficient alternative to cell-based vacuolation testing.

Key words: Bacillus cereus, cereulide, fried rice, LC-MS/MS, triple quadrupole mass spectrometer

ÚVOD

Bacillus cereus je Gram-pozitívna sporulujúca tyčinka, ktorá sa bežne vyskytuje v rôznych poľnohospodárskych produktoch a môže kontaminovať potraviny, najmä varenú alebo vyprážanú ryžu, cestoviny, zeleninu a mliečne výrobky. B. cereus spôsobuje dva typy alimentárnych ochorení: hnačkový a emetický. Emetický typ je spôsobený cereulidom, cyklickým depsipeptidovým toxínom produkovaným touto baktériou.

Na detekciu cereulidu sa tradične uvádza stanovenie vakuolizačnej degenerácie buniek HEp-2 a PCR. Tieto prístupy však môžu vyžadovať niekoľkodňovú kultiváciu buniek alebo nemusia priamo potvrdiť produkciu samotného cereulidu. Z tohto dôvodu rastie potreba rýchlych analytických metód, ktoré umožňujú priame stanovenie cereulidu pomocou LC-MS/MS.

MATERIÁL A METODIKA

Cieľom práce bolo pripraviť postup predúpravy vzorky a analytickú metódu na stanovenie cereulidu vo vyprážanej ryži s použitím UHPLC-MS/MS. Postup predúpravy bol navrhnutý podľa správy Kumamoto Prefectural Institute of Public-Health and Environmental Science. Jeden gram zmrazenej a rozomletej vyprážanej ryže sa zmiešal s 10 mL metanolu, päť minút sa pretrepával a po centrifugácii pri 3 000 rpm počas piatich minút sa supernatant odobral dekantáciou. Zvyšok sa opätovne extrahoval 5 mL metanolu, znovu sa pretrepával a centrifugoval za rovnakých podmienok. Spojený extrakt sa upravil metanolom na konečný objem 15 mL.

Na odstránenie lipidových zložiek z extraktu sa použilo SPE čistenie na patróne InertSep HLB FF, 200 mg/20 mL. Patróna bola kondicionovaná 10 mL 75 % metanolu. Extrakt z vyprážanej ryže sa následne nechal prejsť cez SPE patrónu a analyt sa eluoval 10 mL acetonitrilu. Zachytený eluát bol pred LC-MS/MS analýzou prefiltrovaný cez PTFE filter.

Meranie sa uskutočnilo na hmotnostnom spektrometri s trojitým kvadrupólom LCMS-8060RX v spojení s UHPLC systémom Nexera X3. Separácia prebiehala na kolóne Shim-pack Scepter C18-120, 50 mm × 2,1 mm I.D., 1,9 µm. Mobilná fáza A bola 10 mM mravčan amónny s 0,1 % kyselinou mravčou vo vode, mobilná fáza B bol acetonitril. Gradient mobilnej fázy B bol 80 % až 95 % v čase 6-10 min a návrat na 80 % v čase 10,01-15 min. Prietok bol 0,4 mL/min, teplota kolóny 40 °C a injekčný objem 3 µL. MS analýza prebiehala v pozitívnom ESI režime s MRM prechodom m/z 1170,70 > 357,30.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Kalibračná krivka cereulidu vykázala dobrú linearitu v rozsahu 0,005-50 µg/L s hodnotou $R^2 > 0,999$. Stanovenie cereulidu bolo následne vykonané na zmrazenej vyprážanej ryži. V recovery teste bola použitá vzorka vyprážanej ryže bez cereulidu, do ktorej bol pridaný štandard cereulidu tak, aby výsledná koncentrácia zodpovedala 10 ng/g.

Po extrakcii a SPE čistení bola vzorka analyzovaná systémom LCMS-8060RX. Získaná výťažnosť bola 110,1 %, teda v akceptovanom rozsahu 80-120 %. Výsledky naznačujú, že kombinácia jednoduchej extrakcie, SPE čistenia a LC-MS/MS detekcie umožňuje priame stanovenie cereulidu v matrici vyprážanej ryže. V porovnaní s HEp-2 testom vakuolizácie je postup časovo menej náročný, keďže nevyžaduje viacdňovú kultiváciu buniek.

ZÁVER

Cieľom práce bolo vyvinúť a overiť rýchly LC-MS/MS postup na stanovenie cereulidu vo vyprážanej ryži s využitím jednoduchej predúpravy vzorky. Analýza bola realizovaná na

UHPLC systéme Nexera X3 v spojení s trojitým kvadrupólovým hmotnostným spektrometrom LCMS-8060RX. V optimalizovaných podmienkach bola dosiahnutá lineárna kalibrácia v rozsahu 0,005–50 µg/L s koeficientom determinácie $R^2 > 0,999$. Pri obohatení vzorky na úrovni 10 ng/g bola dosiahnutá výťažnosť 110,1 %. Navrhnutý postup umožňuje priamu a časovo efektívnu kvantifikáciu cereulidu v testovanej potravinovej matrici a predstavuje alternatívu k časovo náročnejším postupom založeným na bunkových testoch.

POĎAKOVANIE

Autori sú zamestnancami spoločnosti Shimadzu Corporation. Produkty a aplikácie uvedené v práci sú určené na výskumné účely, nie na diagnostické postupy.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. MASQUELIER, Julien et al. Validation of a Targeted LC-MS/MS Method for Cereulide and Application in Food and Faeces. In Toxins. 2023, 16(1), 13.
2. U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Bacteriological Analytical Manual Chapter 14: Bacillus cereus. 2020.
3. YAGI, Kazuma et al. Development of rapid analytical method for cereulide by LC-MS/MS. In Annual Report of Kumamoto Prefectural Institute of Public-Health and Environmental Science. 2021, No. 51.

Kontaktná adresa: Richard Hodoši, SHIMADZU SLOVAKIA, organizačná zložka, Röntgenova 28, 851 01 Bratislava, Slovenská republika. E-mail: richard.hodosi@shimadzu.sk

BUDÚCNOSŤ, KTORÁ CHUTÍ POVEDOME: VEDA ZA TÝM, AKO VYTVORIŤ RASTLINNÉ ALTERNATÍVY ROVNAKO DOBRÉ AKO ORIGINÁL.

GIVING THE FUTURE A FAMILIAR TASTE: THE SCIENCE BEHIND MAKING PLANT-BASED ALTERNATIVES AS GOOD AS THE ORIGINAL.

Hodoši Richard [1], Mayser Jan Peter [2]

[1] SHIMADZU SLOVAKIA, organizačná zložka, Röntgenova 28, 851 01 Bratislava, Slovenská republika

[2] Shimadzu Europa GmbH, Albert-Hahn-Straße 6-10, D-47269 Duisburg, Germany

ABSTRACT

Plant-based alternatives to animal-derived foods must combine familiar sensory properties with reliable quality and safety control. This contribution summarizes analytical approaches applied to plant-based meat alternatives and extends the concept to plant-based milk alternatives. For plant-based meat, SPME-GC-MS/MS, HPLC/LC-MS, texture testing and LC-MS/MS allergen analysis are discussed. For plant-based milk alternatives, DART-MS lipid fingerprinting, UHPLC-MS/MS mycotoxin analysis and FT-NIR/PLS composition screening are included as relevant analytical examples. The reviewed methods demonstrate how instrumental analysis can support product development, authentication, contaminant control and consumer-oriented quality assessment.

Key words: plant-based alternatives; GC-MS/MS; LC-MS/MS; DART-MS; food safety

ÚVOD

Rastlinné alternatívy mäsa a mlieka patria medzi rýchlo sa rozvíjajúce potravinové kategórie. Ich úspech však nestojí iba na environmentálnom alebo etickom argumente. Spotrebiteľ očakáva, že nový výrobok bude podobný ako známy živočíšny produkt: bude mať prijateľnú vôňu, chuť, textúru, výživový profil a jasne kontrolované riziká [1].

Pri rastlinných alternatívach mäsa (PBM) sú najdôležitejšie najmä aróma, neprchavé chuťové prekurzory, textúra a alergény. Pri rastlinných mliečnych alternatívach (PBMA) sa hodnotenie zameriava na lipidový profil, výskyt mykotoxínov a základné nutričné zloženie.

Cieľom príspevku je zosumarizovať metódy použité v článku a vybraných aplikáciách a poukázať na ich možné využitie pri hodnotení rastlinných alternatív mäsa aj rastlinných mliečnych alternatív

MATERIÁL A METÓDY

Pre rastlinné alternatívy mäsa boli použité aplikačné postupy zamerané na porovnanie rastlinnej alternatívy mäsa s organickým hovädzím mäsom, najmä z hľadiska prchavých aromatických látok, aminokyselinového zloženia, profilu primárnych metabolitov a textúrnych parametrov [1, 2]. Hodnotenie potravinových alergénov vychádzalo z cielených LC-MS/MS metodík založených na sledovaní peptidových markerov po enzymatickom štiepení proteínov [3, 4]. Pre rastlinné mliečne alternatívy boli zahrnuté postupy relevantné pre hodnotenie lipidového profilu, základného nutričného zloženia a výskytu mykotoxínov [5–7].

Pri rastlinných alternatívach mäsa boli hodnotené vzorky rastlinnej alternatívy mäsa a organického hovädzieho mäsa. Porovnanie bolo zamerané na prchavé aromatické látky, aminokyselinové zloženie, profil primárnych metabolitov, textúrne parametre a prítomnosť potravinových alergénov [1–4].

Profil prchavých a semiprchavých látok bol stanovený pomocou headspace SPME Arrow extrakcie počas 10 minút s následnou GC-MS/MS analýzou na systéme Shimadzu GCMS-TQ8050NX v kombinácii s AOC-6000. Tento postup umožnil porovnať chromatografické profily senzoricky významných zlúčenín medzi rastlinnou alternatívou mäsa a referenčnou vzorkou hovädzieho mäsa [1, 2].

Doplnkové chemické a fyzikálne parametre boli hodnotené metódami HPLC, LC-MS a mechanického testovania. Aminokyselinové zloženie bolo stanovené HPLC metódou s OPA derivatizáciou, primárne metabolity boli analyzované pomocou LC-MS a textúrne vlastnosti boli posudzované meraním mechanických parametrov súvisiacich s konzistenciou, pevnosťou a štruktúrou výrobku [1, 2].

Analýza alergénov bola založená na cielenom LC-MS/MS proteomickom prístupe. Vzorky boli podrobené extrakcii proteínov a enzymatickému štiepeniu, po ktorom nasledovalo sledovanie špecifických peptidových markerov pomocou MRM prechodov. Tento typ metodiky je vhodný pre komplexné potravinové matrice, keďže umožňuje súčasné hodnotenie viacerých alergénových zdrojov v jednej analytickej sekvencii [3, 4].

V časti venovanej rastlinným mliečnym alternatívam boli zahrnuté metodiky relevantné pre hodnotenie lipidového profilu, základného nutričného zloženia a bezpečnosti výrobkov. Lipidový profil bol hodnotený pomocou DART-MS, pričom aplikačný postup zahŕňal aj analýzu sójového mlieka ako modelovej rastlinnej nápojovej matrice [5].

Na stanovenie základných nutričných parametrov bola zahrnutá FT-NIR spektroskopia s chemometrickým spracovaním dát. Aplikačný postup opisuje kvantitatívne stanovenie proteínov, celkového tuku a sacharidov v mlieku pomocou PLS kalibrácie. Pri rastlinných

mliečnych alternatívach je tento prístup použiteľný ako analytický koncept, vyžaduje však matricovo špecifickú kalibráciu a validáciu [6].

Bezpečnostný aspekt rastlinných mliečnych alternatív bol doplnený o UHPLC-MS/MS metodiku na stanovenie mykotoxínov s využitím QuEChERS prípravy vzorky a následnú UHPLC-MS/MS analýzu 31 mykotoxínov v rôznych typoch rastlinných mliečnych alternatív, čo je relevantné najmä pre výrobky pripravené zo sóje, obilnín a orechov [7].

VÝSLEDKY

GC-MS/MS profilovanie prchavých látok ukázalo, že rastlinná alternatíva mäsa môže s organickým hovädzím mäsom zdieľať významnú časť pachovo aktívnych zlúčenín. Zároveň však zostávajú rozdiely v intenzite a zastúpení jednotlivých látok, ktoré súvisia s odlišným zložením rastlinných surovín, lipidovej frakcie a prekurzorov tepelne indukovaných reakcií. HPLC a LC-MS analýzy dopĺňajú tento profil o informácie o aminokyselinách a neprchavých metabolitoch, zatiaľ čo textúrne merania umožňujú hodnotiť mechanické vlastnosti výrobku, najmä pevnosť, konzistenciu a štruktúru [1, 2].

Pri analýze rastlinných mliečnych alternatív sa dôraz kladie najmä na zloženie, autenticitu a bezpečnosť. DART-MS analýza umožnila rýchle rozlíšenie rastlinných a živočíšnych tukových matríc na základe rozdielov v profiloch triacylglycerolov a diacylglycerolov, pričom samotná analýza jednej vzorky trvala približne 10 sekúnd [5]. FT-NIR spektroskopia v kombinácii s PLS kalibráciou predstavuje rýchly analytický koncept pre hodnotenie základného nutričného zloženia, najmä obsahu proteínov, tukov a sacharidov; pri aplikácii na rastlinné mliečne alternatívy by však vyžadovala samostatnú matricovo špecifickú kalibráciu [6]. UHPLC-MS/MS metodika s QuEChERS prípravou vzorky zároveň poukazuje na význam viacnásobného monitorovania mykotoxínov v rastlinných mliečnych alternatívach, najmä pri výrobkoch pripravených zo sóje, obilnín a orechov [7].

DISKUSIA

Rastlinné alternatívy mäsa a mlieka spája podobná technologická výzva: spotrebiteľ očakáva senzoricky známy výrobok, hoci jeho chemické zloženie a surovinový základ sú odlišné od tradičného živočíšneho produktu. Z analytického hľadiska preto nestačí sledovať iba jeden parameter. Pri vývoji aj kontrole kvality je potrebné kombinovať metódy zamerané na senzorické vlastnosti, nutričné zloženie a bezpečnosť výrobku.

GC-MS/MS profilovanie prchavých látok je vhodné najmä pri hodnotení arómy a senzorickej podobnosti rastlinných alternatív mäsa s referenčnými živočíšnymi produktmi. LC-

MS/MS poskytuje vyššiu selektivitu pri sledovaní peptidových markerov alergénov a nízkokoncentračných kontaminantov. DART-MS môže byť užitočný ako rýchly skríningový nástroj pri hodnotení lipidového profilu, zatiaľ čo FT-NIR spektroskopia s chemometrickým spracovaním dát predstavuje potenciálne rýchlu metódu pre rutinnú kontrolu základného zloženia [1–7].

Z praktického hľadiska je dôležité rozlišovať medzi priamo overenou aplikáciou a prenositeľným analytickým konceptom. Napríklad FT-NIR/PLS aplikácia pre kravské mlieko demonštruje vhodnosť rýchlej spektroskopickej kontroly zloženia, ale pri rastlinných mliečnych alternatívach by nebolo správne automaticky predpokladať rovnakú výkonnosť metódy bez novej kalibrácie a validácie. Rozdielne zloženie proteínovej, sacharidovej a lipidovej frakcie môže významne ovplyvniť odozvu metódy. Analytická technika teda môže byť vhodná ako princíp, ale až validácia rozhoduje o jej použiteľnosti pre konkrétnu matricu a konkrétny účel [6].

ZÁVER

Analytické hodnotenie rastlinných alternatív mäsa a rastlinných mliečnych alternatív si vyžaduje viacmetódový prístup. Pri rastlinných alternatívach mäsa je kľúčové sledovať najmä arómu, aminokyselinové a metabolitové zloženie, textúru a prítomnosť alergénov. Pri rastlinných mliečnych alternatívach sa k týmto otázkam pridáva hodnotenie lipidového profilu, základného nutričného zloženia a kontaminantov, najmä mykotoxínov. Kombinácia GC-MS/MS, LC-MS/MS, DART-MS, FT-NIR/chemometrie a fyzikálneho testovania tak predstavuje praktický analytický rámec využiteľný pri vývoji, optimalizácii a kontrole kvality rastlinných alternatív živočíšnych potravín.

POĎAKOVANIE

Príspevok bol pripravený na základe článku publikovaného v Secrets of Science Magazine 02/2025, verejne dostupných aplikačných materiálov Shimadzu a vybraných vedeckých publikácií k rastlinným mliečnym alternatívam. Text je autorsky prepracovaný do formy odborného príspevku.

LITERATÚRA

1. MAYSER, J. P. Giving the future a familiar taste: The science behind making plant-based meats (PBMs) as good as the original. In: Secrets of Science Magazine. 2025, 02/2025, s. 24-29.

2. SHIMADZU CORPORATION. Evaluation of the Deliciousness of Meat Alternatives. Application Book C10G-E090A, 2021. Dostupné na internete: https://www.shimadzu.com/an/sites/shimadzu.com.an/files/pim/pim_document_file/brochures/14158/c10G-e090.pdf
3. SHIMADZU CORPORATION. Analysis of Allergen Proteins in Food Sample using LC-MS/MS. AOAC 2025 poster T031. Dostupné na internete: https://www.shimadzu.com/an/sites/shimadzu.com.an/files/pim/pim_document_file/applications/posters/25642/aoac-2025-t031.pdf
4. OGURA, T.; CLIFFORD, R.; OPPERMANN, U. Simultaneous Detection of 13 Allergens in Thermally Processed Food Using Targeted LC-MS/MS Approach. Journal of AOAC International, 2019, 102(5), 1316-1329. DOI: 10.1093/jaoac/102.5.1316.
5. SAKAKURA, M.; SHIOTA, T.; WATANABE, J. Method development of high throughput lipid analysis in foods by direct analysis in real time mass spectrometer (DART-MS). ASMS 2016 poster ThP 002. Dostupné na internete: https://www.shimadzu.com/an/sites/shimadzu.com.an/files/pim/pim_document_file/applications/posters/12010/jpo116062.pdf
6. DICK, F.; SCHUSTER, M.; SCHNEIDEMANN-BOSTELMANN, S.; ASAM, S.; RYCHLIK, M. Development of a high-throughput UHPLC-MS/MS multi-method for the analysis of mycotoxins in plant-based milk alternatives as the basis for risk assessment. Frontiers in Nutrition, 2026, 12:1709925. DOI: 10.3389/fnut.2025.1709925.
7. SHIMADZU ASIA PACIFIC. Quantitative Determination of Protein, Total Fat, and Carbohydrate Contents in Milk by FT-NIR Spectroscopy Method. Application News AD-0087. Dostupné na internete: https://www.shimadzu.com/an/sites/shimadzu.com.an/files/pim/pim_document_file/applications/application_note/10442/apa215020.pdf

Kontaktná adresa: Richard Hodoši, SHIMADZU SLOVAKIA, organizačná zložka, Röntgenova 28, 851 01 Bratislava. E-mail: sk@shimadzu.sk

VPLYV SEZÓNNOSTI A VEKU BAHNÍC NA KVALITU PRODUKOVANÉHO MLIEKA A VÝSKYT MASTITÍD

THE INFLUENCE OF SEASONALITY AND THE AGE OF EWES ON THE QUALITY OF PRODUCED MILK AND THE OCCURRENCE OF MASTITIS

Hoppejová Tamara, Zigo František, Kubišová Zuzana, Récky Andrej, Farkašová Zuzana, Lacková Zuzana

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

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of farming system, seasonality, and ewe age on milk yield, milk quality, and mastitis incidence. The study evaluated the effects of seasonality and ewe age on milk quality and mastitis occurrence in a flock of 198 ewes of the Lacaune and East Friesian breeds. A total of 21 ewes at different stages of lactation were included in the monitoring. The highest incidence of mastitis was recorded at the beginning of lactation after lamb weaning. In terms of milk production and quality, ewes up to the fourth lactation proved to be the most suitable. With increasing age, the somatic cell count and the incidence of subclinical mastitis increased, which negatively affects the processing properties of milk, especially in cheese production.

K**ey words:** ewes, breeding system, grazing, mastitis

ÚVOD

Chov oviec patrí medzi tradičné odvetvia poľnohospodárstva na Slovensku a tvorí významnú súčasť kultúrneho dedičstva. V podmienkach stredného Slovenska sa realizuje najmä extenzívnym a polo-intenzívnym spôsobom chovu, pričom v reprodukcii sa využíva sezónne aj mimosezónne pripúšťanie, individuálne pripúšťanie alebo inseminácia (Makovický a Margetín, 2017).

Produkcia a kvalita ovčieho mlieka sú ovplyvnené viacerými faktormi, najmä výživou, štádiom laktácie, vekom bahníc a zdravotným stavom vemena. Nedostatok živín môže viesť k poklesu produkcie mlieka, pričom pastva predstavuje prirodzený zdroj kvalitných živín (Dudríková a Výrostková, 2024).

Ovčie mlieko patrí medzi nutrične najhodnotnejšie druhy mlieka. V porovnaní s kravským a kozím mliekom obsahuje viac sušiny, bielkovín a tuku, čo ho predurčuje najmä na výrobu syrov (Herian, 2024)

V posledných desaťročiach dochádza k poklesu stavov oviec na Slovensku, napriek tomu zostáva produkcia ovčieho mlieka významná z hľadiska potravinovej bezpečnosti a ekonomiky chovu. Mastitídy patria medzi najzávažnejšie ochorenia oviec, keďže znižujú kvalitu mlieka a spôsobujú ekonomické straty (Levkut a kol., 2011).

MATERIÁL A METODIKA

Experimentálna štúdia

Do pozorovania boli vybraté bahnice, ktoré boli následne rozdelené do štyroch skupín. Živočíšna výroba na farme je zameraná na spracovanie ovčieho mlieka do tradičných salašníckych výrobkov, a preto je dôležité poznať kvalitu mlieka z dôvodu zabezpečenia zdravotnej nezávadnosti čerstvých potravín. Pre tento účel bola vyhodnotená dojná sezóna 2024 v polointenzívnom chove dojných plemien oviec v obci Valaská neďaleko Brezna. Zároveň bol monitorovaný výskyt mastitíd a najvýznamnejších pôvodcov tohto ekonomicky závažného ochorenia s cieľom čo najviac eliminovať jeho výskyt.

Hodnotenie zdravia bahníc pred odberom vzoriek mlieka

Pred odberom mlieka boli všetky bahnice podrobené klinickému vyšetreniu vemena, ktoré zahŕňalo aspekciu a palpáciu so zameraním na tvar, symetriu, konzistenciu, bolestivosť, teplotu a prítomnosť patologických zmien. Súčasne sa vykonalo senzorické hodnotenie mlieka a NK-test z oboch polovíc vemena samostatne ako základné vyšetrenie zdravotného stavu mliečnej žľazy (Tančin a Mihina, 2003).

Pri pozitívnom výsledku NK-testu boli odobraté vzorky mlieka zo zdravej aj postihnutej polovice vemena na bakteriologické vyšetrenie a stanovenie počtu somatických buniek. Počet somatických buniek bol analyzovaný pomocou prístroja Lactoscan SCC. Na kultiváciu pôvodcov mastitídy boli použité platne MicroMast a doplnkové vyšetrenie testom ClearMilk.

Vzorky mlieka boli odoberané asepticky do sterilných 30 ml skúmaviek, transportované pri teplote 4 °C a spracované do 12 hodín v laboratóriu Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach. Základné zloženie mlieka bolo stanovené pomocou ultrazvukového analyzátora Lactoscan MCCW.

Vyhodnotenie vzoriek mlieka

Analýza zložiek mlieka

Kvalitatívne ukazovatele mlieka, konkrétne obsah tuku, bielkovín, laktózy a beztukovej sušiny (BTS), boli stanovené pomocou ultrazvukového analyzátora Lactoscan podľa odporúčaného pracovného postupu výrobcu a v súlade s internou metodikou.

Kultivácia vzoriek na patogény

Odobraté zmesné vzorky surového mlieka z každého odberu boli kultivované na platniach s krvným agarom s baraními erytrocytmi pri teplote 37 °C a vyhodnotené boli po 24 hodinách. Suspektné kolónie boli naočkované na selektívne agary pre ďalšiu identifikáciu pôvodcov mastitíd. Hodnotená bola tvorba hemolýzy a pigmentu. Jednotlivé druhy boli identifikované prostredníctvom biochemických testov STAPHYtest 24, STREPTOtest 24 alebo ENTEROtest 24 a následne vyhodnotené pomocou programu TNW ProAuto 7.0 (Erba-Lachema, Brno, ČR), pričom pravdepodobnosť správnej identifikácie presahovala 90 %.

Štatistické spracovanie

Získané údaje boli spracované v programoch MS Excel a GraphPad Prism. Vypočítané boli priemery a smerodajné odchýlky. Rozdiely medzi skupinami boli hodnotené pomocou ANOVA a Tukeyho testu pri hladine významnosti $p < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vyhodnotenie vplyvu veku a počtu laktácií na dojivosť a zdravotný stav bahníc

Mikrobiologické výsledky počas sezóny 2024

Počas celej dojnej sezóny 2024 bolo pri každom odbere vyšetrených 198 bahníc. Pri prvom odbere (7.4.2024) bol pozitívny NK-test zistený u 6 bahníc, pričom klinická mastitída sa prejavila u 4 zvierat. Hlavným izolovaným patogénom bol *Staphylococcus aureus*.

Pri druhom odbere (24.5.2024) sa klinické mastitídy nevyskytli. Pozitívny NK-test bol zaznamenaný u 6 bahníc, pričom kultivačne bol zistený *Staphylococcus chromogenes*. U starších bahníc boli zaznamenané vyššie hodnoty PSB.

Pri treťom odbere (18.7.2024) bol zaznamenaný najvyšší výskyt mastitíd (5 prípadov), pričom opätovne dominoval *S. aureus*. Pri ťažkých prípadoch došlo k vyradeniu zvierat z chovu.

Pri štvrtom odbere (23.9.2024) sa klinické mastitídy nevyskytli, avšak ku koncu laktácie bol zistený vyšší počet pozitívnych NK-testov (13). Vzorky boli pozitívne najmä na *S. chromogenes* a v jednom prípade na *E. coli*.

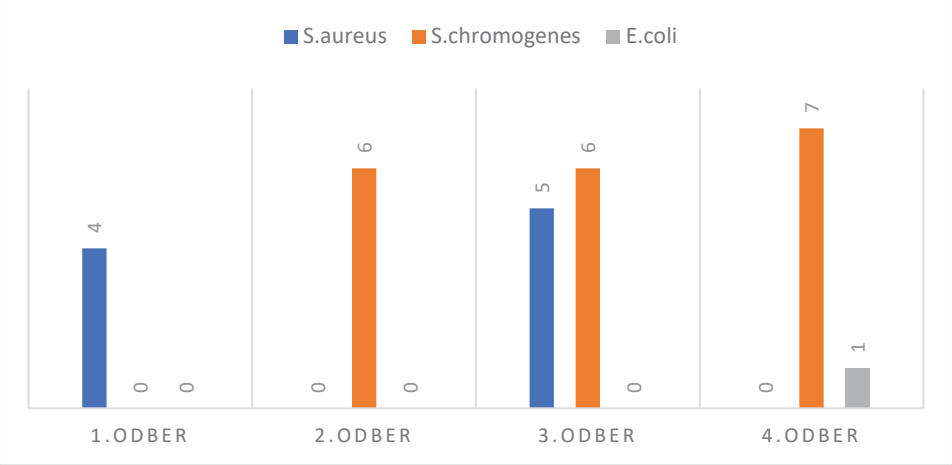
Celkovo bolo počas sezóny zaznamenaných 10 prípadov mastitídy (približne 5 % stáda). Dominantným patogénom bol *Staphylococcus aureus* a terapia bola úspešná u 7 z 10 postihnutých bahníc.

Tabuľka 1: Klinické a mikrobilogické vyšetrenia

ODBER	DÁTUM	KLINICKY POZITÍVNE (KS)	NK-TEST POZITÍVNE (KS)	S. AUREUS	S.CHROMO - GENES	E. COLI
1	7.4.2024	4	6	4	0	0
2	24.5.2024	0	6	0	6	0
3	18.7.2024	5	6	5	6	0
4	23.9.2024	0	13	0	7	1

Zdroj: Vlastná tabuľka

Graf č. 1. Porovnanie odberov - výskyt patogénov



Zdroj: vlastný graf

Kvalitatívne vyšetrenie vzoriek mlieka od individuálnych bahníc

Cieľom bolo zhodnotiť vplyv veku bahníc a štádia laktácie na kvalitu ovčieho mlieka. Hodnotený bol obsah tuku, bielkovín, laktózy a počet somatických buniek (PSB). Bahnice boli rozdelené do štyroch skupín podľa počtu laktácií: 1., 2., 4. a ≥ 5. laktácia. Najstabilnejšie hodnoty a nižší PSB dosahovali bahnice v 1. a 2. laktácii. Najlepšie výsledky boli zistené u bahníc v 4. laktácii, ktoré dosiahli najvyšší obsah tuku (6,43 %), bielkovín (4,52 %) a laktózy (5,72 %). U najstarších bahníc (≥ 5. laktácia) bol zaznamenaný vyšší obsah tuku, nižší obsah bielkovín a zvýšený PSB, čo môže negatívne ovplyvniť spracovateľské vlastnosti mlieka.

Tabuľka 2: Porovnanie priemerných analyzovaných komponentov mlieka

	Prvá kategória	Druhá kategória	Tretia kategória	Štvrtá kategória
Tuk (%)	5,58	5,85	6,43	6,12
BLK (%)	4,25	4,23	4,52	4,01
LAC (%)	5,15	5,22	5,72	5,41
PSB.10^3	232,6	183,5	1179	531

Zdroj: Vlastná tabuľka

Výsledky potvrdili významný vplyv sezóny, štádia laktácie a veku bahníc na kvalitu mlieka a výskyt mastitíd v polo-intenzívnom chove. Najvyšší výskyt klinických mastitíd bol zaznamenaný na začiatku laktácie po odstave jahniat, pričom dominantným patogénom bol *Staphylococcus aureus*, čo potvrdzujú aj iné štúdie (Bergonier a kol., 2003).

Pri druhom odbere sa klinické mastitídy nevyskytli, avšak boli zistené subklinické zmeny spojené s výskytom *S. chromogenes* (Fthenakis, 1994). V letnom období sa výskyt mastitíd opäť zvýšil, pravdepodobne v dôsledku vyšších teplôt a zhoršených hygienických podmienok počas pastvy (Contreras a kol., 2007). Na konci laktácie boli zaznamenané pozitívne NK-testy bez klinických príznakov, čo mohlo súvisieť s fyziologickým zvýšením počtu somatických buniek (Berthelot a kol., 2006).

So zvyšujúcim sa vekom bahníc narastal počet somatických buniek aj výskyt subklinických mastitíd, pričom najvyššie hodnoty boli zistené u bahníc v piatej a vyššej laktácii (Paape a kol., 2007).

ZÁVER

Šúdia potvrdila významný vplyv sezónnosti a veku bahníc na kvalitu mlieka a výskyt mastitíd. Najrizikovejším obdobím pre vznik klinických mastitíd bol začiatok laktácie po odstave jahniat, pričom dominantným patogénom bol *Staphylococcus aureus*. So zvyšujúcim sa vekom bahníc narastal počet somatických buniek aj výskyt mastitíd. Najvhodnejšie pre produkciu kvalitného mlieka sa ukázali bahnice v štvrtej laktácii.

Získané výsledky poukazujú na potrebu vhodnej voľby plemena, systému chovu a efektívneho manažmentu stáda s cieľom udržať kvalitu mlieka a znížiť výskyt mastitíd v podmienkach chovného prostredia.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. **APVV-22-0457** a projektom **VEGA 1-0162-23**.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BERGONIER, D., DE CRÉMOUX, R., RUPP, R., LAGRIFFOUL, G., BERTHELOT, X. 2003. Mastitis of dairy small ruminants. *Veterinary Research*, 34(5), 689–716.
2. BERTHELOT, X., LAGRIFFOUL, G., CONCORDET, D., BARILLET, F., BERGONIER, D. 2006. Physiological and pathological factors influencing somatic cell counts in milk of dairy ewes. *Small Ruminant Research*, 62(1–2), 97–105.
3. CONTRERAS, A., SIERRA, D., SÁNCHEZ, A., CORRALES, J. C., MARCO, J., PAAPE, M. J., GONZALO, C. 2007. Mastitis in small ruminants. *Small Ruminant Research*, 68(1–2), 145–153.
4. DUDRÍKOVÁ, E., VÝROSTKOVÁ, J. 2024. Význam pastvy a výživy v produkcii ovčieho mlieka. In: *Aktuálne trendy v chove hospodárskych zvierat*. Košice: UVLF, 52–58.
5. FTHENAKIS, G. C. 1994. Prevalence and aetiology of subclinical mastitis in ewes of southern Greece. *Small Ruminant Research*, 13(3), 293–300.
6. HERIAN, K. 2024. Nutričná hodnota ovčieho mlieka a jeho využitie vo výrobe syrov. *Mlieko a zdravie*, 12(2), 15–19.
7. LEVKUT, M., ZIGO, F., ELEČKO, J., KOVÁČ, G. 2011. Mastitídy oviec a ich význam v chovateľskej praxi. *Veterinární medicína*, 56(4), 201–208.
8. MAKOVICKÝ, P., MARGETÍN, M. 2017. Chov oviec na Slovensku – súčasný stav a perspektívy. Nitra: NPPC-VÚŽV. 112 s.
9. PAAPE, M. J., WIGGANS, G. R., BANNERMAN, D. D., THOMAS, D. L., SANDERS, A. H., CONTRERAS, A., MORONI, P., MILLER, R. H. 2007. Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. *Small Ruminant Research*, 68(1–2), 114–125.
10. TANČIN, V. a MIHINA, Š., 2003. Technika a fyziológia získavania ovčieho mlieka. In Najnovšie poznatky genetického hodnotenia, výživy a technológie v chove oviec. Nitra: VÚŽV. s. 47–54. ISBN 80-88872-28-6.

Kontaktná adresa: Ing. Tamara Hoppejová, Department of Animal Nutrition and Husbandry, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic. E-mail: tamara.hoppejova@student.uvlf.sk

TESTOVANIE SCHOPNOSTI ÉTERICKÝCH OLEJOV INHIBOVAŤ PRODUKCIU EFLUXNÝCH PÚMP

TESTING THE ABILITY OF ESSENTIAL OILS TO INHIBIT THE PRODUCTION OF EFFLUX PUMPS

Hudecová Patrícia, Hajdučková Vanda, Hisirová Simona, Király Ján, Koščová Jana

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

ABSTRACT

Aeromonas spp. and *Yersinia ruckeri* represent a significant problem in aquaculture, as they cause high fish mortality and significant economic losses. In the past, their occurrence was often addressed by excessive and incorrect use of antibiotics, which contributed to the development of antimicrobial resistance. One of the bacterial mechanisms affecting resistance is the activity of efflux pumps, which decrease activity of antimicrobials. Therefore, in our work, we focused on the ability to produce efflux pumps in the obtained isolates from rainbow trout. The aim was to test the inhibitory effect of oregano and thyme EOs on the formation of efflux pumps. The results confirmed the activity of efflux pumps in all obtained *Y. ruckeri* isolates and two *A. salmonicida* subsp. *masoucida* isolates, while the positive inhibitory effect of both EOs on the activity of efflux pumps at their subinhibitory concentrations was confirmed.

Key words: oregano essential oil, thyme essential oil, *Yersinia ruckeri*, *Aeromonas* spp.

ÚVOD

Medzi významné bakteriálne patogény spôsobujúce vysokú mortalitu a ekonomické straty v chove rýb patria zástupcovia rodu *Aeromonas* a *Yersinia ruckeri* (Maldonado-Miranda a kol. 2022). Ich výskyt sa v minulosti riešil najmä profylaktickým a terapeutickým podávaním antibiotík (ATB), ktoré sa ešte pred sprísnením pravidiel často podávali bez dôkladnej diagnostiky a neraz v nedostatočných dávkach. Takýto spôsob používania výrazne podporil vznik a šírenie antimikrobiálnej rezistencie a ovplyvnil jej súčasný stav (Mohammed a kol. 2025). Zvýšenú odolnosť baktérií voči antimikrobiálnym látkam podporujú aj faktory súvisiace s ich virulenciou ako schopnosť produkovať efluxné pumpy, ktoré aktívne transportujú ATB z bakteriálnej bunky von, čím znižujú ich vnútrobunkovú koncentráciu a účinnosť (Huang a kol. 2022). Práve inhibícia efluxných púmp sa preto javí ako perspektívny prístup k zvýšeniu účinnosti ATB a vzhľadom na rastúcu antimikrobiálnu rezistenciu je potrebné hľadať

alternatívy na zníženie ich používania, medzi ktoré patria aj éterické oleje (EO). EO sú charakterizované ako sekundárne metabolity rastlín, vyznačujúce sa významnou antibakteriálnou, antivírusovou alebo antibiofilmovou aktivitou, pričom niektoré štúdie poukazujú na ich schopnosť inhibovať aktivitu efluxných púmp (de Sousa a kol. 2023).

MATERIÁL A METODIKA

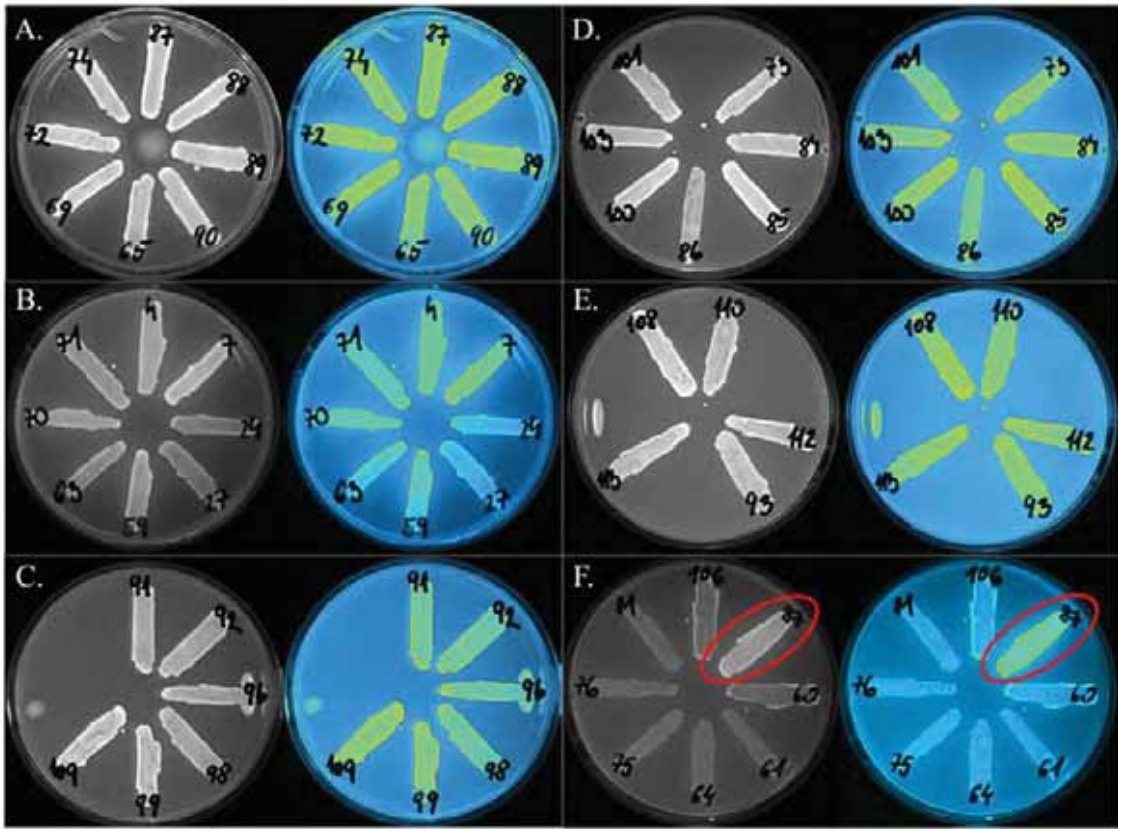
Z črevných obsahov pstruha dúhového (*Oncorhynchus mykiss*) boli izolované rybie bakteriálne patogény pomocou kultivačných, biochemických a molekulárnych metód. Zo získaných izolátov bola testovaná schopnosť produkcie efluxných púmp fenotypovou metódou opísanou podľa Martins a kol. (2011) s miernymi modifikáciami. Použité boli živné pôdy Mueller-Hinton agar (MHA) (Oxoid, Spojené kráľovstvo) obohatené o 2,5 mg/l etídiumbromidu (EtBr). Naočkované kultivačné média boli inkubované pri teplote 22 °C po dobu 24 hodín. Schopnosť produkcie efluxných púmp bola vykonaná pomocou systému UV-Reader Quantum (Vilber Lourmat, Francúzsko) a analyzovaná pomocou zobrazovacieho systému VisionCapt (Vilber Lourmat, Francúzsko). U potvrdených izolátov s pozitívnou produkciou efluxných púmp bola testovaná schopnosť komerčne získaného oreganového a tymiánového EO (Calendula a.s., Slovenská republika) inhibovať ich tvorbu. Inhibičná schopnosť bola hodnotená pomocou MHA obohatenom o 2,5 mg/l EtBr podľa metódy Martins a kol. (2011) s miernymi zmenami. V skratke, k 1 ml bakteriálnej suspenzie, s jej konečnou koncentráciu 1,5 × 10^8 KTJ/ml, boli pridané príslušné EO v koncentráciách ½ MIC a ¼ MIC. Pripravené bakteriálne suspenzie s EO boli nanesené na povrch obohateného živného média pomocou sterilných vatových tampónov v časových intervaloch 15, 30 a 45 minút od začatia kultivácie. Inkubácia prebehla pri teplote 22 °C po dobu 24 hodín. Pozitívnu kontrolu predstavovala *Y. ruckeri* CCM 8467 bez EO, ako referenčný kmeň neschopný produkovať efluxné pumpy. V poslednom kroku bola detekcia schopnosti potlačiť produkciu efluxných púmp hodnotená pomocou systému UV-Reader Quantum a VisionCapt.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Zo 108 vzoriek črevných obsahov pstruhov dúhových boli identifikované *A. salmonicida* subsp. *masoucida* (n = 20), *A. hydrophila* (n = 5), *A. sobria* (n = 5), *A. veronii* (n = 4) a *Y. ruckeri* (n = 7). Zo všetkých získaných izolátov len 9 vykazovalo schopnosť produkcie efluxných púmp a to *Y. ruckeri* (n = 7) a *A. salmonicida* subsp. *masoucida* (n = 2), čo sa prejavilou negatívnou fluorescenčnou aktivitou, čiže aktívnym vylúčením EtBr z bakteriálnej bunky (Obrázok č. 1). Prvé štúdie popisujúce schopnosť aeromonád produkovať efluxné pumpy už boli popísané, zatiaľ kým pre *Y. ruckeri* sú efluxné pumpy a ich úlohy menej preskúmané

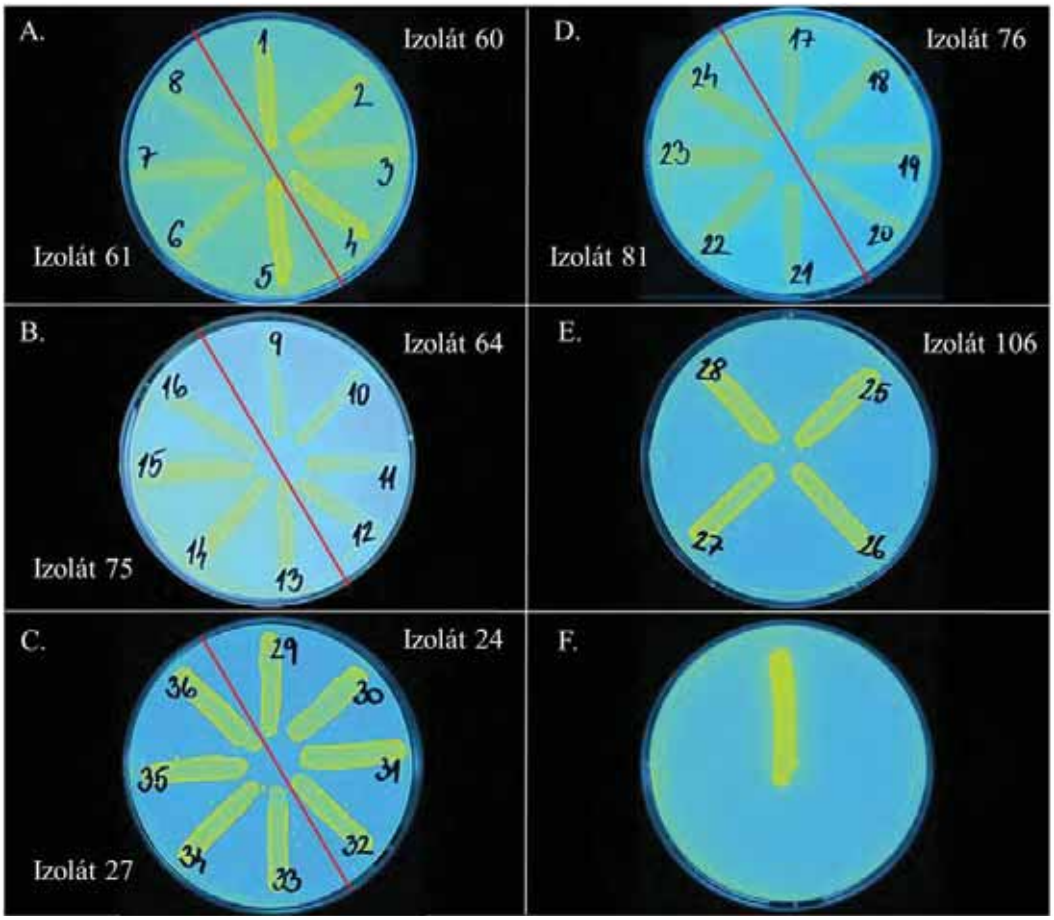
(Neil a kol. 2024. Wrobel a kol 2019, Yang a kol. 2024). Schopnosť oreganového a tymiánového EO inhibovať tvorbu efluxných púmp bola testovaná na izolátoch s potvrdenou pozitívnou produkciou. Získané výsledky potvrdzujú schopnosť oboch olejov inhibovať efluxné pumpy v subinhibičných koncentráciach (½ MIC a ¼ MIC), kedy silnejšia intenzita fluorescencie súvisí s výraznejšou inhibíciou efluxných púmp (Obrázok č. 2). Naše výsledky potvrdzujú viaceré práce popisujúce inhibičný účinok šalviového, tymiánového alebo muškátového EO u *Pseudomonas aeruginosa* (Haripriyan a kol. 2025), *Staphylococcus epidermidis* (Chovanová a kol. 2015) alebo *S. aureus* (OO a kol 2021).

Obrázok č. 1, Produkcia efluxných púmp u jednotlivých izolátov získaných zo pstruhov dúhových



Legenda: Fluorescenčné snímky zobrazujúce schopnosť produkcie efluxných púmp izolátov (A.) *A. veronii* (87, 88, 89, 90) a *A. hydrophila* (65, 69, 72, 74); (B., C.) *A. salmonicida* subsp. *masoucida*; (D.) *A. salmonicida* subsp. *masoucida* (73, 84, 85, 86, 100, 103) a *A. hydrophila* (101); (E.) *A. sobria* a (F.) *Y. ruckeri*. Číslo 87 v červenom krúžku predstavuje referenčný kmeň *Y. ruckeri* CCM 8467.

Obrázok č. 2, Detekcia schopnosti EO inhibovať tvorbu efluxných púmp



Legenda: Fluorescenčné zobrazenie izolátov *Y. ruckeri* (A., B., D., E) a *A. salmonicida* subsp. *masoucida* (C.) pri účinku ½ MIC oreganového EO (1, 8, 11, 14, 19, 22, 27, 31 a 34), ¼ MIC oreganového EO (2, 7, 12, 13, 20, 21, 28, 32 a 33) a pri účinku ½ MIC tymiánovému EO (4, 5, 9, 16, 17, 24, 25, 29 a 36) a ¼ MIC tymiánového EO (3, 6, 10, 15, 18, 23, 26, 30 a 35).

ZÁVER

Zvýšená antimikrobiálna rezistencia dnes predstavuje vážnu hrozbu pre zdravie ľudí aj zvierat. V našej práci sme spolu testovali 41 bakteriálnych izolátov patriacich do rodu *Aeromonas* alebo *Y. ruckeri*, pričom u deviatich z nich bola potvrdená produkcia efluxných púmp ako jedného z mechanizmov podieľajúcich sa na rozvoji rezistencie. Získané výsledky taktiež potvrdili významný inhibičný účinok tymiánového a oreganového EO na aktivitu púmp, vďaka čomu môžu prispieť k spomaleniu šírenia antimikrobiálnej rezistencie.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená projektom APVV-24-0348.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. CHOVANOVÁ, R. a kol. The inhibition the Tet (K) efflux pump of tetracycline resistant *Staphylococcus epidermidis* by essential oils from three *Salvia* species. In *Letters in applied microbiology*. 2015, vol. 61, n. 1, p. 58-62.
2. DE SOUSA, D. P. a kol. Essential oils: Chemistry and pharmacological activities. In *Biomolecules*. ISSN 2218273X, 2023, vol. 13, n. 7, p. 1144.
3. HARIPRIYAN, J. a kol. Essential oils modulate virulence phenotypes in a multidrug-resistant pyomelanogenic *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. In *Scientific Reports*. 2025, vol. 15, n. 1, p. 3738.
4. HUANG, Lulu, et al. Bacterial multidrug efflux pumps at the frontline of antimicrobial resistance: an overview. In *Antibiotics*. 2022, vol. 11, n. 4 p. 520.
5. MALDONADO-MIRANDA, J. J. a kol. Summary of economic losses due to bacterial pathogens in aquaculture industry. In *Bacterial fish diseases*. ISBN 978-0-323-85624-9, Academic Press, 2022, p. 399-417.
6. MARTINS, M. a kol. Identification of efflux pump-mediated multidrug-resistant bacteria by the ethidium bromide-agar cartwheel method. In *In vivo*. 2011, vol. 25, p. 171–178.
7. MOHAMMED, E. A. H., a kol. Antibiotic Resistance in Aquaculture: Challenges, Trends Analysis, and Alternative Approaches. In *Antibiotics*. 2025, vol. 14, n.6, p. 598.
8. NEIL, B. a kol. Antimicrobial resistance in aeromonads and new therapies targeting quorum sensing. In *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2024, vol. 108, n. 1, p. 205.
9. OO, T. a kol. Inhibition of bacterial efflux pumps by crude extracts and essential oil from *Myristica fragrans* Houtt.(nutmeg) seeds against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. In *Molecules*. 2021, vol. 26, n. 15, p. 4662.
10. WROBEL, A. – LEO, J. C. – LINKE, D. Overcoming fish defences: the virulence factors of Yersinia ruckeri. In *Genes*. 2019, vol. 10, n. 9, p. 700.
11. YANG, Y. a kol. *Yersinia ruckeri* infection and enteric redmouth disease among endangered Chinese sturgeons, China, 2022. In *Emerging Infectious Diseases*. 2024, vol. 30, n. 6, p. 1125.

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

VPLYV ENKAPSULOVANÉHO AUTOCHTÓNNEHO PROBIOTICKÉHO KMEŇA NA IMUNITNÚ ODPOVEĎ SPROSTREDKOVANÚ TNF-α U PSTRUHOV DÚHOVÝCH INFIKOVANÝCH *AEROMONAS SALMONICIDA*

IMPACT OF AN ENCAPSULATED AUTOCHTHONOUS PROBIOTIC STRAIN ON THE TNF-α MEDIATED IMMUNE RESPONSE IN RAINBOW TROUT INFECTED 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 investigated the effect of an encapsulated autochthonous probiotic strain, *Lactiplantibacillus plantarum* R2 Biocenol™ CCM 8674, on the TNF-α-mediated immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) experimentally infected with *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*. Fish were fed a probiotic-supplemented diet for 11 weeks prior to infection. Gene expression of the pro-inflammatory cytokine TNF-α was analyzed in selected tissues using quantitative PCR. The results demonstrated a down-regulation of TNF-α expression in the probiotic group compared to the control, particularly in the early phase following infection. Significant differences were observed in the head kidney, distal intestine, and gills, indicating attenuation of the inflammatory response. Tissue-specific variations in gene expression were also detected. These findings suggest that probiotic supplementation may modulate immune responses and reduce excessive inflammation in infected fish, highlighting its potential as an alternative strategy to antibiotics in aquaculture.

Key words: rainbow trout, probiotics, tnf-α, immunomodulation

ÚVOD

V rámci riešenia nedostatku potravín a podpory hospodárskeho rozvoja je akvakultúra jedným z najrýchlejšie rastúcim odvetvím za posledné desaťročia. Toto zahusťovanie chovov však vedie vo väčšine prípadov k znečisteniu a zhoršeniu kvality vody, ktorá je pre zdravie rýb kľúčová s čím súvisí aj následný častejší výskyt ochorení (Yuan et al. 2023; Yılmaz et al. 2022). *Aeromonas salmonicida* patrí medzi nepohyblivé aeromonády napadájuce predovšetkým lososovité ryby žijúce v studenej vode (Pradhan et al. 2023). Spôsobuje vysokú úmrtnosť najmä u lososov atlantických (*Salmo salar*) a pstruhov dúhových (*Oncorhynchus mykiss*). *A.salmonicida* subsp. *salmonicida* je pôvodcom furunkulózy spôsobujúcej kožné vredy a furunkuly u rýb, čo zväčša vedie k negatívnym ekonomickým dopadom v danej akvakultúre (Rostang et al. 2025). Nesprávne používanie antimikrobiálnych látok na liečbu ochorení je vo svete aktuálne hrozbou číslo jeden. Dôsledkom je prítomnosť reziduí antibiotík v rybách a nárast antimikrobiálnej rezistencie, ktorý spôsobuje ťažkosti pri liečbe bežných bakteriálnych chorení nielen v akvakultúre (Zeballos Gross et al. 2021). Práve z tohto dôvodu je nevyhnutné zvážiť v prípade prevencie a terapie niektorých ochorení iné alternatívy, akými sú napríklad bakteriofágy, probiotiká, prebiotiká či fytoterapeutiká (Bondad-Reantaso et al. 2023).

MATERIÁL A METODIKA

Prvá fáza experimentu bola realizovaná na Katedre zoológie, rybárstva, hydrobiológie a včelárstva Mendelovej univerzity v Brne. Pred začiatkom pokusu prebehla dvojtýždňová adaptačná perióda rýb, po ktorej boli jedince rozdelené do kontrolnej (CTRL) a probiotickej skupiny (PROBIO). V skupine PROBIO bolo aplikované kontinuálne podávanie probiotického krmiva, pričom zvolený režim vychádzal z výsledkov predchádzajúceho neinfekčného experimentu. Každá experimentálna nádrž bola vybavená samostatným biofiltračným systémom (Nexus 310 Evolution Aqua) a zabezpečenou kontinuálnou aeráciou. Fotoperióda bola nastavená na 14 hodín svetla a 10 hodín tmy. Kŕmenie prebiehalo dvakrát denne, pričom denná kŕmna dávka predstavovala 2 % telesnej hmotnosti rýb. Probiotická skupina prijímala počas 11 týždňov krmivo pripravené podľa Chomová et al. (2023) s finálnou koncentráciou probiotík 10^9 kolónii tvoriacich jednotiek (KTJ)/g. Ako základ bolo použité komerčné krmivo EFICO Enviro 921 (3 mm; BioMar, Dánsko), upravené prídavkom Aerosilu® 200 (Evonik Industries AG, Nemecko) a 10 % disperzie rozpustného kukuričného škrobu (Starch 1500®, Colorcon Ltd., USA) do ktorej bol inkorporovaný kmeň *Lactobacillus plantarum* R2 Biocenol™ CCM 8674 (nová nomenklatúra *Lactiplantibacillus plantarum*). Kontrolná skupina prijímala identické krmivo bez prídavku probiotickej kultúry. Po siedmich týždňoch suplementácie boli ryby (priemerná hmotnosť 292 ± 6,51 g) premiestnené do akreditovaného

zariadenia na Fakulte veterinárnej hygieny a ekológie Univerzity veterinárneho lekárstva v Brne. Následne bola realizovaná experimentálna infekcia klinickým izolátom *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* (č. 89409), získaným z infikovaného pstruha dúhového. Infekcia prebiehala formou 30-minútovej expozície v bakteriálnej suspenzii s koncentráciou $7{,}33 \times 10^5$ KTJ/ml. Po expozícii boli ryby rozdelené do nádrží s objemom 1000 l pri hustote 50 jedincov na nádrž. Prítomnosť patogéna bola verifikovaná mikrobiologickým vyšetrením na selektívnom médiu Aeromonas agar (HiMedia, India). Odbery biologického materiálu (žiabre, slezina, distálne črevo, koža a hlavová oblička) na analýzu génovej expresie boli realizované v 8. a 10. týždni experimentu. Izolácia RNA bola uskutočnená pomocou kitu Omega E-Z Total RNA Kit (Omega Bio-tek, USA). Koncentrácia a kvalita RNA boli stanovené spektrofotometricky (Nanodrop 8000, Thermo Scientific, USA). Reverzná transkripcia na cDNA bola realizovaná použitím Quantitect Reverse Transcription Kit (Qiagen, Nemecko). Kvantitatívna PCR (qPCR) bola vykonaná na zariadení BioRad CFX96 Touch (BioRad, USA) v celkovom objeme 10 µl, pričom reakčná zmes obsahovala 5 µl iQ™ SYBR® Green Supermix, 0,5 µl forward a 0,5 µl reverse primerov (10 µM/µl) a 4 µl cDNA (10 ng/µl). Relatívna génová expresia bola stanovená metódou 2^−ΔΔCT. Výsledky sú prezentované ako priemer ± štandardná odchýlka. Štatistická analýza bola vykonaná nepárovým t-testom v programe GraphPad Prism.

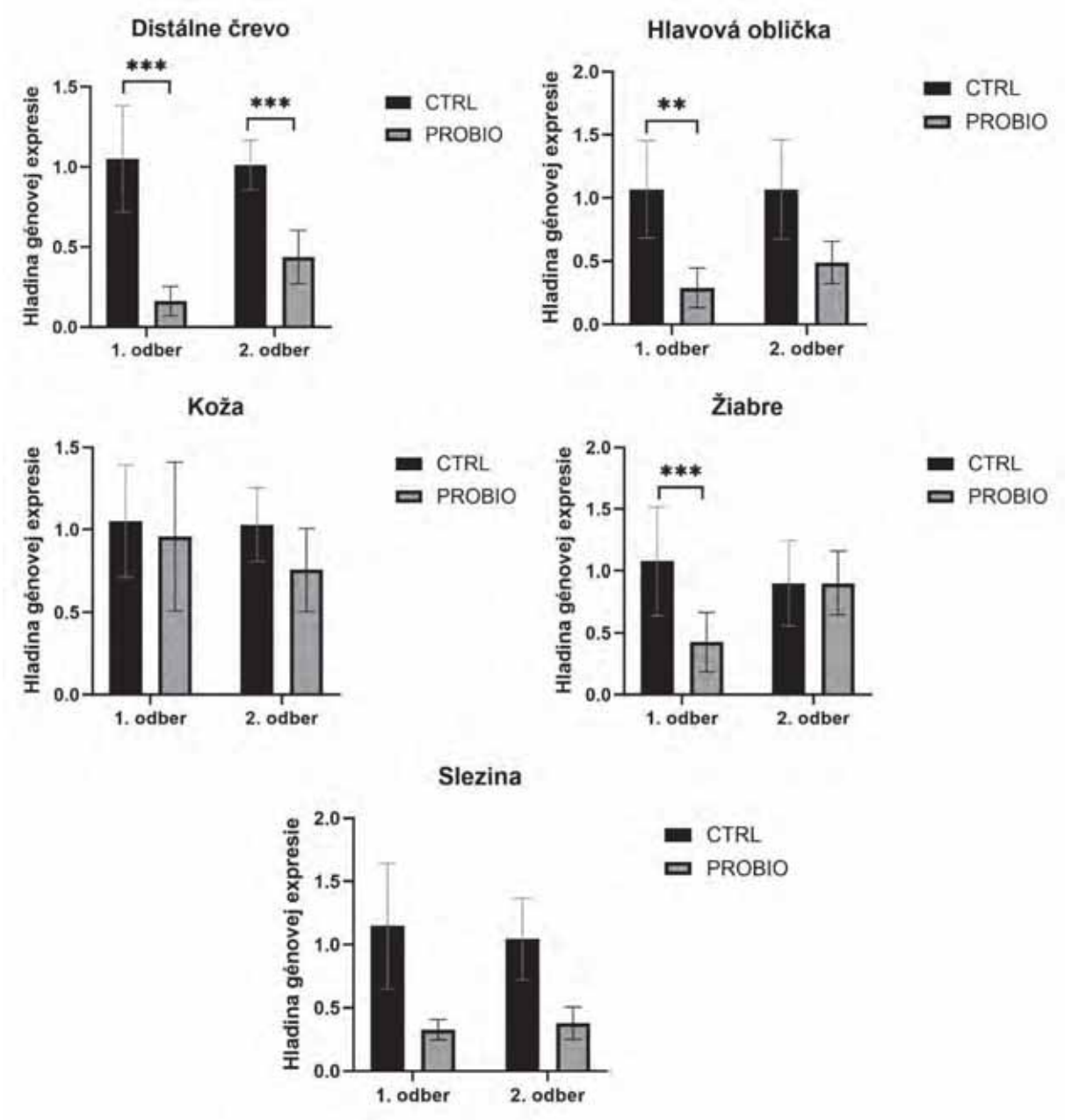
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Súčasné poznatky poukazujú na to, že aplikácia probiotík vedie k stimulácii buniek nešpecifickej (vrodenej) imunity, predovšetkým monocytov/makrofágov, neutrofilov a prirodzených zabíjačských buniek (Yousefi et al. 2019). Aktivácia týchto imunitných mechanizmov je u rýb spojená so zlepšením rastových parametrov a zároveň so zníženou náchylnosťou na infekčné agens (Hasan a Banerjee, 2020; Mazziotta et al. 2023). Zároveň bolo preukázané, že probiotiká môžu ovplyvňovať génovú expresiu interleukínov a ďalších faktorov zapojených do imunitnej odpovede, pričom rozsah tejto modulácie je tkanivovo špecifický (Dang et al. 2022; El-Kady et al. 2022).

Na hodnotenie zápalovej reakcie po infekcii u rýb bola zvolená kvantifikácia génovej expresie pre typický prozápalový cytokín TNF-α. Výsledky odhalili výraznú down-reguláciu skúmaného prozápalového cytokínu v takmer všetkých analyzovaných tkanivách v probiotickej skupine v porovnaní s kontrolnou. V prvom odbere bol zaznamenaný signifikantný pokles transkripčných hladín *tnf-α* v hlave obličky, distálnom čreve a žiabroch (Obrázok č.), čo naznačuje tlmenie zápalovej reakcie po infekcii, keďže tieto molekuly sú

považované za silne prozápalové (Sakai, Hikima, Kono 2021). Zníženie týchto hladín bolo pozorované aj v slezine a na koži, avšak bez štatistickej významnosti. V druhom odbere bola signifikancia zaevidovaná len v distálnom čreve, čo môže byť spôsobené faktom, že slizničná imunita funguje nezávisle od celkovej imunitnej odpovede (Liu *et al.* 2023). Výsledky teda naznačujú tlmenie silnej zápalovej reakcie v probiotickej skupine po infekcii.

Obrázok č. 1, Relatívna génová expresia *tnf-α* v rôznych orgánoch



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

ZÁVER

Predložená štúdia poukazuje na význam probiotickej suplementácie ako potenciálneho nástroja modulácie imunitnej odpovede u pstruha dúhového počas experimentálnej infekcie Aeromonas salmonicida. Získané výsledky naznačujú, že kontinuálne podávanie autochtónneho probiotického kmeňa Lactiplantibacillus plantarum R2 Biocenol™ CCM 8674 vedie k potlačeniu expresie prozápalového cytokínu TNF-α vo viacerých analyzovaných tkanivách. Tento efekt bol najvýraznejší v skoršej fáze po infekcii, čo môže indikovať schopnosť probiotík zmierňovať nadmernú zápalovú odpoveď a prispievať k udržiavaniu imunitnej homeostázy. Pozorované rozdiely medzi jednotlivými tkanivami zároveň poukazujú na komplexnosť a tkanivovú špecificitu imunitnej regulácie u rýb. Výsledky podporujú hypotézu, že probiotiká môžu zohrávať významnú úlohu nielen v prevencii ochorení, ale aj v optimalizácii priebehu imunitnej odpovede počas infekcie. Z praktického hľadiska predstavuje využitie probiotík perspektívnu alternatívu k antibiotickej terapii v akvakultúre, s potenciálom znížiť riziko vzniku antimikrobiálnej rezistencie. Na úplné objasnenie mechanizmov ich účinku je však potrebný ďalší výskum zameraný na širšie spektrum imunitných markerov a dlhodobé efekty ich aplikácie.

POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla v rámci riešenia projektu podporovaného Agentúrou pre podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-19-0234 a APVV-24-0348.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Bondad-Reantaso, M.G. et al. Review of alternatives to antibiotic use in aquaculture. *Rev Aquac*. 2023, 15(4):1421-1451. https://doi.org/10.1111/raq.12786
2. Dang, Y. et al. Effects of probiotics on growth, the toll-like receptor mediated immune response and susceptibility to *Aeromonas salmonicida* infection in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, *Aquaculture,* 2022, 561(73668), https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738668
3. El-kady, A.A. et al. The effects of some commercial probiotics as water additive on water quality, fish performance, blood biochemical parameters, expression of growth and immune-related genes, and histology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Aquaculture,* 2022, 546(737249), https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737249
4. Hasan, K.N., Banerjee, G. Recent studies on probiotics as beneficial mediator in aquaculture: a review, *J. Basic Appl. Zool.* 2020, 81(53), https://doi.org/10.1186/s41936-020-00190-y

5. 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*. 2023, 10(1196884), https://doi.org/10.3389/FVETS.2023.1196884/BIBTEX
6. Liu, S. et al. Gastric immune homeostasis imbalance: An important factor in the development of gastric mucosal diseases, *Pharmacotherapy,* 2023, 161(114338), https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114338
7. Mazziotta, CH. et al. Probiotics mechanism of action on immune cells and beneficial effects on human health, *Cells,* 2023, 12(1):184, https://doi.org/10.3390/cells12010184
8. Pradhan, S.K. et al. Isolation of *Aeromonas salmonicida* subspecies *salmonicida* from aquaculture environment in India: Polyphasic identification, virulence characterization, and antibiotic susceptibility. *Microb. Pathog*. 2023, 179(106100). https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106100
9. Rostang, A et al. Susceptibility of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* bacteria from French farmed trout to antibiotics commonly used in fish farming, and attempt to set epidemiological cut-off values. *Front. Microbiol*. 2025, 16:1532748. https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1532748
10. Sakai, M., Hikima, J., Kono, T. Fish cytokines: current research and applications, *Fish. Sci.,* 2021, 87, https://doi.org/10.1007/s12562-020-01476-4
11. Yılmaz, S. et al. An extensive review on the use of feed additives against fish diseases and improvement of health status of fish in turkish aquaculture sector. *Aquac. Stud.* **2022**, 22, https://doi.org /10.4194/AQUAST710
12. Yousefi, B. *et al.* Probiotics importance and their immunomodulatory properties, *J. Cell. Physiol.* 2019, 234(6), https://doi.org/10.1002/jcp.27559
13. Yuan, X. et al. A review of antibiotics, antibiotic resistant bacteria, and resistance genes in aquaculture: Occurrence, contamination, and transmission. *Toxics*. 2023, 11(5):420. https://doi.org/10.3390/toxics11050420
14. Zeballos-Gross, D. et al. The role of gulls as reservoirs of antibiotic resistance in aquatic environments: A scoping review. *Front. Microbiol*. 2021, 12:703886. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.703886

Kontaktná adresa: Chomová Natália, Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika. E-mail: natalia.chomova@uvlf.sk

SKRYTÝ POTENCIÁL PEČEŇOVCA DUBOVÉHO (*FISTULINA HEPATICA*): VOĽNÉ AMINOKYSELINY A BIOGÉNNE AMÍNY V NETRADIČNEJ JEDLEJ HUBE

HIDDEN POTENTIAL OF BEEFSTEAK FUNGUS (*FISTULINA HEPATICA*): FREE AMINO ACIDS AND BIOGENIC AMINES IN AN UNCONVENTIONAL EDIBLE MUSHROOM

Jakabová Silvia, Árvay Július, Šnirc Marek, Grófová Magdaléna, Golian Jozef

Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra, Slovenská republika

ABSTRACT

Free essential and non-essential amino acids, their derivatives, and biogenic amines were analysed in samples of oak bracket fungus. Among essential amino acids, arginine (0.548 mg/g DW) was dominant, while other essential amino acids were detected at lower concentrations. Among non-essential amino acids, glutamic acid (3.824 mg/g DW) was markedly predominant, followed by alanine (0.753 mg/g DW) and GABA (0.644 mg/g DW), whereas other compounds were present in lower amounts. Among biogenic amines, spermidine (1409.6 mg/kg DW) was the dominant compound, with putrescine (300.3 mg/kg DW) and 2-phenylethylamine (265.4 mg/kg DW) also showing notable levels. Other biogenic amines were detected as well, but at lower concentrations. The results indicate the predominance of glutamic acid among amino acids and spermidine among biogenic amines, with an overall dominance of polyamines over biogenic amines with potential toxicological significance.

Key words: *Fistulina hepatica*, free amino acids; biogenic amines; chemical composition

ÚVOD

Pečeňovec dubový (*Fistulina hepatica*) je jedlá huba z triedy *Basidiomycota*, ktorá je vďaka svojmu mäsitému vzhľadu, šťavnatosti a oranžovo-červenej až vínovo-červenej farbe plodníc známa pod názvom „beefsteak fungus“ (mäsový hríb) (Bito et al., 2022; Koseki et al., 2022). Pre svoju textúru pripomínajúcu surové mäso sa v minulosti často tepelne upravoval a konzumoval ako jeho náhrada (Bito et al., 2022; Ribeiro et al., 2007). Napriek jeho vysokej spotrebe v určitých regiónoch a gastronomickej hodnote sú informácie o jeho presnom nutričnom zložení a farmaceutickom potenciáli v porovnaní s komerčne pestovanými druhmi stále pomerne vzácne (Bito et al., 2022; Saldanha et al., 2025).

Z hľadiska nutričného zloženia predstavuje *F. hepatica* cenný zdroj živín s nízkym obsahom tuku a vysokým podielom vody (Palazzolo et al., 2011). Plodnice obsahujú významné množstvo minerálnych látok, pričom najzastúpenejším prvkom je draslík, ktorého koncentrácia je výrazne vyššia než v iných bežne konzumovaných potravinách (Palazzolo et al., 2011; Álvarez-Puig et al., 2025). Okrem draslíka sú plodnice bohaté aj na horčík, sodík a fosfor (Palazzolo et al., 2011). V rámci vitamínov bol zistený významný obsah vitamínu B12, niacínu, kyseliny pantoténovej a biotínu (Palazzolo et al., 2011). Hoci staršie štúdie uvádzali vysoký obsah kyseliny askorbovej (vitamín C), moderné analýzy objasnili, že huba v skutočnosti neobsahuje pravý vitamín C, ale jeho funkčné analógy – 6-deoxyaskorbát a erytroaskorbát (Koseki et al., 2022). Profil mastných kyselín je tvorený najmä nenasýtenými kyselinami, predovšetkým kyselinou olejovou a linolovou (Palazzolo et al., 2011; Saldanha et al., 2025).

Najvýznamnejšie metabolity, ktoré určujú chuťový profil a bioaktívny potenciál huby, zahŕňajú široké spektrum organických a fenolových kyselín. Typická kyslá chuť plodníc je spôsobená vysokou koncentráciou kyseliny jablčnej, ktorá dominuje organickému profilu, doplnená o kyselinu citrónovú, fumarovú, šťaveľovú a chinovú (Ribeiro et al., 2007; Saldanha et al., 2025). Spomedzi fenolových zlúčenín, ktoré zodpovedajú za antioxidačnú a antimikrobiálnu aktivitu, boli identifikované kyseliny elagová (považovaná za hlavnú fenolovú zložku), galová, kávová, p-kumarová, protokatechová a škoricová, ako aj flavonoidy kvercetín a hyperozid (Ribeiro et al., 2007; Ildiz et al., 2026; Saldanha et al., 2025).

Okrem nízkomolekulárnych látok má *F. hepatica* aj zaujímavý makromolekulárny potenciál. Plodnice obsahujú približne 7 % rozpustnej vlákniny, ktorá vykazuje schopnosť viazať žlčové kyseliny a spomaľovať difúziu glukózy, čo naznačuje potenciál huby pri prevencii hypercholesterolémie a stabilizácii hladiny krvného cukru u ľudí (Bito et al., 2022). Exopolysacharidy získané z tekutej kultúry tohto druhu navyše preukázali významné antiproliferatívne účinky na bunky potkanieho gliómu, čo otvára možnosti pre klinické využitie v protinádorovej terapii (Can et al., 2022). Celková bioaktivita huby, zahŕňajúca aj antibiotické vlastnosti a schopnosť regulovať peroxidáciu lipidov, podčiarkuje jej význam ako funkčnej potraviny s vysokou pridanou hodnotou (Bito et al., 2022; Fedotov, 2020; Ildiz et al., 2026). Cieľom príspevku bolo charakterizovať uvedený druh z hľadiska profilu voľných aminokyselín a biogénnych amínov, tým rozšíriť informácie o uvedené dve skupiny bioaktívnych látok.

MATERIÁL A METODIKA

Analyzovali sa plodnice divorastúcej huby *F. hepatica* z troch lokalít z lesa s prevahou dubových porastov v okrese Nitra, ktoré boli nájdené v septembri 2025. Plodnice boli

nakrájané, zamrazené a lyofilizované pri teplote -50°C. Vzorky boli následne homogenizované do práškovej podoby a spracované postupmi pre analýzu aminokyselín a biogénnych amínov.

Voľné aminokyseliny sa extrahovali zo 100 mg homogenizovanej vzorky do vodnej fázy s prídavkom pufru. Do supernatantu sa pridalo zrážacie činidlo a po odstredení sa extrakt vzorky prefiltroval cez filtračné vialky a analyzoval na aminokyselinovom analyzátore Aracus Clasic (Membrapure, Berlín, Nemecko). Pre vyhodnotenie chromatografických záznamov bol využitý softvér Clarity.

Biogénne amíny sa analyzovali na HPLC-DAD prístroji (Agilent 1260 Infinity II, Agilent Technologies, USA). Vzorky boli pripravené úvodnou extrakciou supernatantu v 0,1 molárnej HCl, následne sa 1 ml supernatantu alkalizoval prídavkom 20% Na_2CO_3, derivatizoval prídavkom 1 ml acetónového roztoku danzylchloridu (5 mg/ml) s dobou inkubácie 60 min pri teplote 40°C. Deriváty biogénnych amínov sa extrahovali v systéme kvapalina-kvapalina prídavkom 2 ml heptánu a odobratá nepolárna fáza sa odparila v HPLC vialkách pomocou. Dusíka. Vzorky sa rekonštruovali s 0,5 ml acetonitrilu a analyzovali sa.
Výsledky analýzy sme hodnotili popisnou štatistikou s použitím MS Excel.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pečeňovec dubový nepatrí medzi notoricky známe huby a informácie o bioaktívnych látkach v ňom obsiahnutých sú značne obmedzené. Na obrázku č. 1 je nález plodnice pečeňovca dubového na kmeni duba zimného v pohorí Tríbeč (A) a priečny rez plodnicou (B).





Obrázok č. 1, Pečeňovec dubový (*Fistulina hepatica*) (foto: Árvay, 2025)

Voľné esenciálne a neesenciálne aminokyseliny a ich deriváty uvádza tabuľka 1. Z esenciálnych aminokyselín bola na poloesenciálna aminokyselina arginín s najvyšším priemerným obsahom 0,548 mg/g SH najvýraznejšie dominujúca nad ostatnými aminokyselinami. Nasleduje leucín (0,205 mg/g SH), zatiaľ čo lyzín a fenylalanín (obe 0,137 mg/g SH) vykazujú rovnaké zastúpenie. Ďalej nasledujú treonín (0,116 mg/g SH) a valín (0,115 mg/g SH) s veľmi podobnými hodnotami. Nižšie koncentrácie boli zistené pre izoleucín (0,082 mg/g SH) a najnižší obsah mal histidín (0,059 mg/g SH). Z neesenciálnych aminokyselín je dominantnou zlúčeninou kyselina glutámová (3,824 mg/g SH), ktorá výrazne prevyšuje ostatné analyzované látky. Nasledujú alanín (0,753 mg/g SH) a GABA (0,644 mg/g SH). Stredné zastúpenie majú fosfoserín (0,387 mg/g SH) a serín (0,319 mg/g SH), pričom mierne nižšie hodnoty vykazuje β-alanín (0,208 mg/g SH). Nižšie koncentrácie boli zaznamenané pri cystíne (0,135 mg/g SH), cystationíne (0,129 mg/g SH) a prolíne (0,108 mg/g SH). Najnižšie zastúpenie vykazujú 1-metylhistidín (0,079 mg/g SH), 3-metylhistidín (0,055 mg/g SH), ornitín (0,049 mg/g SH) a glycín (0,043 mg/g SH). Niektoré zlúčeniny (napr. GABA, ornitín) nie sú klasické aminokyseliny, ale metabolity alebo deriváty aminokyselín.

Huby obsahujú významné množstvá voľných aminokyselín, ktoré môžu byť dôležitými zlúčeninami prispievajúcimi k typickej chuti húb, nutričnej hodnote a výrazným antioxidačným vlastnostiam týchto voľne rastúcich jedlých húb (Sun et al., 2017). Rai et al. (2007) stanovili obsah voľných aminokyselín vo *F. hepatica* v množstve 14.9±3.45 g, čo je viac ako v našom prieskume, kde sme stanovili 10,4 g/kg voľných aminokyselín v sušine. Dvadsať voľných aminokyselín (kyselina asparágová, kyselina glutámová, asparagín, glutamín, serín, treonín, glycín, alanín, valín, prolín, arginín, izoleucín, leucín, tryptofán, fenylalanín, cysteín, ornitín,

lyzín, histidín a tyrozín) bolo stanovených v štúdii (Ribeiro et al., 2008). Autori uvádzajú, že druhy *B. edulis* a *T. equestre* sa ukázali ako nutrične najhodnotnejšie, zatiaľ čo *F. hepatica* vykazovala najnižšiu nutričnú hodnotu. Jednotlivé druhy vykazovali odlišné profily voľných aminokyselín. Kvantifikácia identifikovaných zlúčenín ukázala, že vo všeobecnosti bol alanín dominantnou aminokyselinou, avšak v našom prieskume bol alanín na druhom mieste. Výsledky naznačujú, že analyzované druhy húb obsahujú stredné množstvá aminokyselín, ktoré môžu byť z nutričného hľadiska významné, keďže tieto zlúčeniny sú nevyhnutné pre ľudské zdravie (Ribeiro et al., 2008).

Tabuľka č. 1, Priemerné obsahy biogénnych amínov a voľných aminokyselín v plodniciach pečeňovca dubového

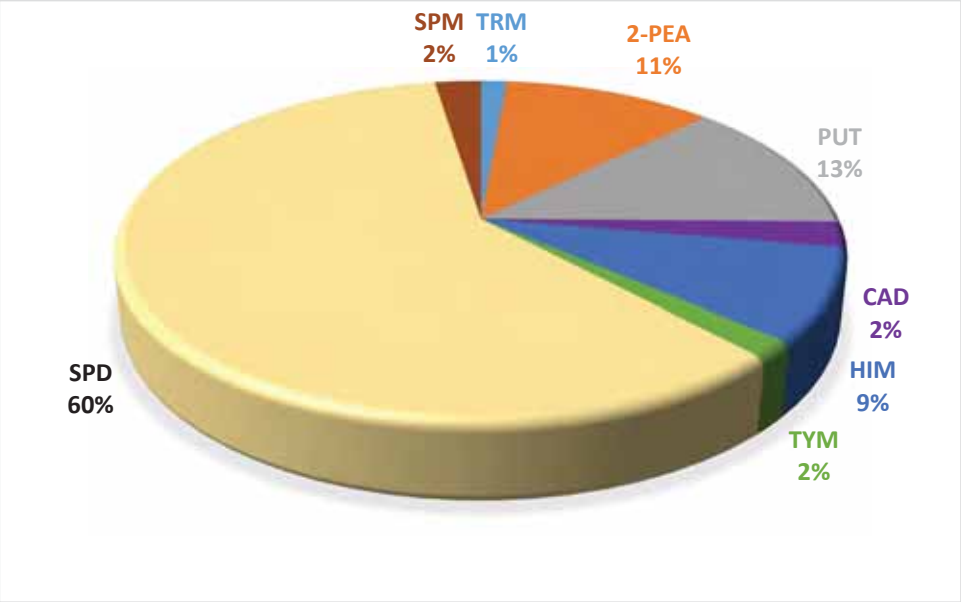
Biogénne amíny (mg/kg SH)							
Tryptamín	2-fenyletylamín	Putrescín	Kadaverín	Histamín	Tyramín	Spermidín	Spermín
32,8 ± 0,9	265,4 ± 5,4	300,3 ± 16,4	57,6 ± 0,4	206,8 ± 0,5	38,9 ± 0,3	1409,6 ± 0,8	57,9 ± 0,2

Voľné esenciálne aminokyseliny (mg/g SH)							
Histidín	Izoleucín	Leucín	Lyzín	Fenylalanín	Treonín	Valín	Arginín*
0,059±0,003	0,082±0,028	0,205±0,037	0,137±0,017	0,137±0,005	0,116±0,004	0,115±0,005	0,548±0,019

Voľné neesenciálne aminokyseliny a ich deriváty (mg/g SH)						
Alanín	β-alanín	Cystín	Cystationín	Kyselina glutámová	Glycín	GABA
0,753±0,034	0,208±0,016	0,135±0,026	0,129±0,030	3,824±0,102	0,043±0,001	0,644±0,014
1-metylhistidín	3-metylhistidín	Ornitín	Prolín	Serín	Fosfoserín	
0,079±0,002	0,055±0,019	0,049±0,035	0,108±0,012	0,319±0,010	0,387±0,016	

Poznámka: * - semiesenciálna aminokyselina; GABA - kyselina gama-aminomaslová; SH – sušina

Z biogénnych amínov dominuje v pečeňovci dubovom polyamín spermidín (1409,6 mg/kg SH), ktorý výrazne prevyšuje všetky ostatné amíny. Nasleduje putrescín (300,3 mg/kg SH) a 2-fenyletylamín (265,4 mg/kg SH). Stredné zastúpenie vykazuje histamín (206,8 mg/kg SH). Nižšie koncentrácie boli zaznamenané pri spermíne (57,9 mg/kg SH) a kadaveríne (57,6 mg/kg SH). Najnižšie obsahy mali tyramín (38,9 mg/kg SH) a tryptamín (32,8 mg/kg SH). Celkovo teda prevažujú polyamíny nad biogénnymi amínmi s potenciálne toxikologickým významom.



Obrázok č. 2, Percentuálne zastúpenie biogénnych amínov a polyamínov v pečeňovci dubovom

ZÁVER

Profil pečeňovca dubového je charakteristický vysokým obsahom polyamínov, najmä spermidínu, ktoré môžu zohrávať významné biologické funkcie. Z aminokyselín dominuje kyselina glutámová, zatiaľ čo spomedzi esenciálnych aminokyselín vyniká predovšetkým arginín. Celkovo ide o druh s výraznou prevahou neesenciálnych aminokyselín v profile voľných aminokyselín a ich derivátov nad esenciálnymi aminokyselinami. Dominancia kyseliny glutámovej sa môže priaznivo podieľať aj na senzorických vlastnostiach pečeňovca, pričom pečeňovec dubový predstavuje zaujímavé spestrenie jedálnička s charakteristickým profilom analyzovaných látok prispievajúcich k nutričnej hodnote tohto druhu.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená výskumnými projektmi APVV-22-0402 a VEGA 1/0307/25.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ÁLVAREZ-PUIG, C. et al. Wild edible fungi in the Catalan linguistic area: A scoping review linking nutritional value to ethnomycology. In *Foods*. 2025, vol. 14, no. 16, p. 2897.
2. BITO, T. et al. Preparation and characterization of soluble dietary fiber from the fruiting bodies of beefsteak fungus *Fistulina hepatica*. In *Mushroom Science and Biotechnology*. 2022, vol. 30, no. 1, p. 34–37.

3. FEDOTOV, O. V. Phenolic substances as regulators of the intensity of lipid peroxidation processes of the strains *Pleurotus eryngii*, *Fistulina hepatica* and *Agrocybe cylindracea*. In *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2020, vol. 11, no. 2.
4. ILDIZ, E. – YÜRÜMEZ CANPOLAT, E. Phenolic-rich wild edible macrofungi: Antimicrobial activity and antioxidant potential. In *Molecules*. 2026, vol. 31, no. 6, p. 978.
5. KOSEKI, K. et al. Fruiting bodies of *Fistulina hepatica* lack ascorbic acid but contain ascorbic acid analogs (6-deoxyascorbate and erythroascorbate). In *Mushroom Science and Biotechnology*. 2022, vol. 30, no. 2, p. 85–88.
6. PALAZZOLO, E. – GARGANO, M. L. – VENTURELLA, G. The nutritional composition of selected wild edible mushrooms from Sicily (southern Italy). In *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2012, vol. 63, no. 1, p. 79–83.
7. RAI, M. – MANDAL, S. C. – ACHARYA, K. A proximate composition of *Fistulina hepatica*, an endemic mushroom of the Darjeeling hills. 2007.
8. RIBEIRO, B. et al. Comparative study on free amino acid composition of wild edible mushroom species. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008, vol. 56, no. 22, p. 10973–10979.
9. RIBEIRO, B. et al. Phenolic compounds, organic acids profiles and antioxidative properties of beefsteak fungus (*Fistulina hepatica*). In *Food and Chemical Toxicology*. 2007, vol. 45, no. 10, p. 1805–1813.
10. SALDANHA, A. et al. Chromatographic and chemometric characterization of the two wild edible mushrooms *Fistulina hepatica* and *Clitocybe nuda*: Insights into nutritional, phenolic, and antioxidant profiles. In *Separations*. 2025, vol. 12, no. 8, p. 204.
11. SUN, L. et al. Comparison of free total amino acid compositions and their functional classifications in 13 wild edible mushrooms. In *Molecules*. 2017, vol. 22, no. 3, p. 350.
12. THU, Z. M. et al. Bioactive phytochemical constituents of wild edible mushrooms from Southeast Asia. In *Molecules*. 2020, vol. 25, no. 8, p. 1972.

Kontaktná adresa: Jakabová Silvia, PaedDr., PhD., Institute of Food Sciences, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra, Slovak Republic. E-mail: silvia.jakabova@uniag.sk

MĚŘENÍ BARVY SUŠENÉHO OVOCE

DRIED FRUIT COLOR MEASUREMENT

Javůrková Zdeňka[1], Budská Pavlína[1], Ježek František [2], Pospiech Matej [1], Bartlová Marie[1], Tremlová Bohuslava[1]

[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]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

Fruit is an important component of human nutrition. Due to its high-water content, it is highly susceptible to spoilage and is therefore often preserved by drying. Colour is a key quality indicator of dried fruit, and in this study, it was evaluated using two methods - spectrophotometric measurement and digital image analysis. Four samples of dried fruit were analysed, with 100 measurements taken for each sample in the RGB or CIE Lab* colour space, including the calculation of the colour difference ΔE. Digital image analysis generally produced higher values of lightness and colour saturation compared with the spectrophotometer, with the largest differences observed for apricots containing SO_2. The results show that image analysis can be a suitable alternative to spectrophotometric measurement, especially in the case of non-homogeneous samples.

Key words: colorimetry, image analysis, CIE L*a*b*, spectrophotometric evaluation

ÚVOD

Významnou složkou výživy člověka je ovoce. Čerstvé ovoce je díky svému složení velmi náchylné ke kažení. Zpracování ovoce konzervačními metodami je klíčové pro omezení procesů kažení a zajištění dostupnosti ovocných produktů po celý rok (Rejman et al., 2021). Mezi nejstarší metody konzervace potravin, a tedy i ovoce, řadíme sušení, jehož principem je odstranění vody z potraviny, vedoucí k omezení mikrobiálních, enzymatických a chemických procesů způsobujících kažení (Fellows, 2022). Nejrozšířenější metodou je sušení na slunci nebo sušení horkým vzduchem. To může vést k zhoršení jeho kvality. Nevýhody těchto technologií vedly k vývoji nových metod sušení, jako jsou lyofilizace, vakuové sušení či mikrovlnné sušení (Radojčin et al., 2021).

Jedním z klíčových kvalitativních znaků je barva, která významně ovlivňuje vnímání produktu spotřebitelem, zejména hodnocení čerstvosti a kvality (Tran et al., 2024). Barva je velmi citlivý parametr z hlediska vlivu metod sušení, jak uvádí ve své studii Krokida et al. (2007). Z tohoto důvodu se provádí hodnocení vlivu metod sušení. V praxi se používají instrumentální metody hodnocení. Jednou z metod je kolorimetrie (Boruczkowska, 2025). Dále se můžeme setkat s využitím metody analýzy obrazu (Wu and Sun, 2013).

Cílem studie bylo měření barevných vlastností vybraných vzorků sušeného ovoce pomocí dvou metod, spektrofotometrického měření a analýzy obrazu a porovnat výsledky získané těmito metodami.

MATERIÁL A METODIKA

Pro měření byly použity 4 vzorky sušeného ovoce, které byly zakoupeny v maloobchodní síti. Konkrétně se jednalo sušené meruňky s a bez SO_2 a banány sušené konvenční metodou a lyofilizací.

Barva vzorků sušeného ovoce byla stanovena pomocí stolního spektrofotometru CM-5 (Konica Minolta, JPN). Pro potřebu analýzy obrazu byly vzorky nasnímány na bílém matném podkladu pomocí digitálního fotoaparátu Canon EOS 600D (JPN). Snímky byly pořizovány za konstantních podmínek a stejného nastavení fotoaparátu. Pořízené snímky byly následně analyzovány pomocí softwaru NIS-Elements (Laboratory Imaging, CZE). U obou metod bylo pro každý vzorek provedeno 100 měření.

Pro porovnání získaných výsledků byl použit parametr ΔE, která slouží k vyjádření celkového rozdílu mezi dvěma barvami v prostoru CIE L*a*b*. Tento parametr umožňuje objektivně posoudit míru shody mezi jednotlivými metodami měření. Pro lepší vizuální interpretaci výsledků byla vytvořena barevná kolečka reprezentující průměrné hodnoty barevných parametrů (RGB) získaných oběma metodami měření. Tato kolečka slouží k názornému porovnání změřených barevných charakteristik mezi metodami a jsou doplněna o fotografii analyzovaného vzorku. Barevná kolečka byla vytvořena v programu Microsoft PowerPoint. Spektrofotometr měří parametry L*a*b, program NIS Elements RGB, z tohoto důvodu bylo pro hodnocení nezbytné provést převody na vhodné parametry. Byla využita připravená převodní tabulka dostupná na stránkách https://ccc.orgfree.com/. Tento postup umožnil efektivní zpracování dat a jejich následné statistické vyhodnocení. Získané výsledky byly statisticky vyhodnoceny v programu Unistat 6.0 (Unistat Ltd, UK).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Výsledky měření vzorků pro obě metody uvádí tabulka č. 1.

U vzorku sušených meruněk s přídavkem SO_2 byl mezi výsledky získanými testovanými metodami prokázán ve všech případech statisticky významný rozdíl.

Průměrné hodnoty barevných parametrů u vzorku sušených meruněk bez přídavku SO_2 stanovené pomocí spektrofotometru odpovídají vzorku s nižší intenzitou červené i žluté složky. Digitální analýzou obrazu byly změřeny vyšší hodnoty zejména u parametrů a* a b*.

Průměrné hodnoty u vzorku lyofilizovaného banánu stanovené pomocí spektrofotometru odpovídaly světlému vzorku s výraznou žlutou složkou a nízkou intenzitou červeného odstínu. Metodou analýzy obrazu byly zjištěny vyšší hodnoty světlosti a žluté složky. Na základě těchto výsledků lze konstatovat, že digitální metoda hodnotí vzorek jako světlejší a barevně sytější ve srovnání se spektrofotometrickým měřením.

Naměřené hodnoty u sušeného banánu stanovené pomocí spektrofotometru stejně jako u lyofilizovaného banánu odpovídají středně světlému vzorku s výraznou žlutou složkou a mírnou přítomností červeného odstínu. Obdobně jako u předchozího vzorku byly metodou analýzy obrazu zjištěny výrazně vyšší hodnoty světlosti i žluté složky.

Tabulka č. 1, Srovnání naměřených hodnot pomocí obou metod (průměr±SD)

Parametr	Sušené meruňky s SO_2		Sušené meruňky bez SO_2		Lyofilizovaný banán		Sušený banán	
	Minolta	NIS	Minolta	NIS	Minolta	NIS	Minolta	NIS
L*	37,34±2,60^{a}	55,75±3,29^{a}	24,13±1,87	24,74±2,71	74,94±4,68^{i}	85,14±1,74^{i}	63,44±5,87^{o}	81,92±1,42^{o}
a*	11,97±2,13^{b}	34,70±2,85^{b}	4,40±1,49^{g}	15,57±3,57^{g}	3,77±1,21^{j}	2,62±0,86^{j}	6,07±1,49^{p}	4,91±1,13^{p}
b*	25,93±1,89^{c}	48,74±3,82^{c}	6,93±2,91	11,10±3,25	27,04±3,11^{k}	31,45±4,27^{k}	34,39±3,77^{q}	45,07±2,53^{q}
R	117,35±6,66^{d}	204,65±8,21^{d}	67,71±7,04	85,23±11,82	208,85±12,41^{l}	238,47±2,78^{l}	183,20±15,85^{r}	238,82±2,77^{r}
G	79,89±6,68^{e}	107,00±10,36^{e}	54,86±3,59^{h}	49,25±3,85^{h}	180,81±13,03^{m}	209,28±5,53^{m}	148,45±15,90^{s}	198,33±4,60^{s}
B	45,69±5,49^{f}	47,07±3,20^{f}	46,72±2,73	42,27±2,32	133,88±13,59n	151,84±12,38n	91,37±10,92^{t}	117,28±6,44^{t}
ΔE00	21,52±3,21		10,03±1,83		7,62±2,99		14,71±5,14	

Vysvětlivky: malá písmena v horním indexu u hodnoty znamenají statisticky významný rozdíl ($P \leq 0,05$) mezi metodami

Pro porovnání barevných parametrů získaných pomocí spektrofotometrického měření a digitální analýzy obrazu byla u všech vzorků stanovena barevná diference ΔE, která umožňuje kvantifikovat rozdíl ve vnímání barvy lidským okem a je běžně využívána pro porovnání výsledků různých metod měření (Pathare et al., 2013). Nízké hodnoty ΔE (přibližně do 2–3) odpovídají velmi malým rozdílům, které jsou lidským okem obtížně postřehnutelné, zatímco vyšší hodnoty představují zřetelné až velmi výrazné barevné odchylky (Wu and Sun, 2013).

Obrázek č. 1, Barva sušeného ovoce získaná pomocí spektrofotometru a metodou analýzy obrazu



Vysvětlivky: Minolta – stolní spektrofotometr, NIS – program pro analýzu obrazu

Námi zjištěné vysoké hodnoty ΔE poukazují na velmi nízkou shodu mezi metodami. Tento rozdíl může souviset nejen s odlišným principem měření, ale také s tím, že digitální analýza obrazu hodnotí větší plochu vzorku, zatímco spektrofotometr měří pouze omezenou oblast. U nehomogenních vzorků, tak může metoda analýzy obrazu lépe zachytit celkovou barevnou variabilitu vzorku (obrázek č. 1). K obdobným závěrům ve své studii došli Tomasevic et al. (2019), kteří porovnávali metody při hodnocení barvy masných výrobků a také Milovanovic et al. (2021) při hodnocení barevných charakteristik vajec.

ZÁVĚR

Získané výsledky poukazují, že mezi použitými metodami existují rozdíly v hodnocení barevných parametrů. Digitální analýza obrazu ve většině případů vykazovala vyšší hodnoty světlosti (L*) i barevné sytosti (a*, b*) ve srovnání se spektrofotometrickým měřením. Nejvyšší rozdíl mezi metodami byl zaznamenán u sušených meruněk s SO_2.

Metoda analýzy obrazu může být spolehlivou a v některých případech i vhodnější alternativou ke klasickému měření barvy pomocí spektrofotometru. Spektrofotometr poskytuje přesná a standardizovaná měření, které jsou ale ovlivněny nehomogenitou vzorku. Naproti tomu analýza obrazu dokáže zachytit barvu komplexněji a jejich výsledky se často lépe shodují se senzorickým vnímáním.

PODĚKOVÁNÍ

Tento výzkum byl finančně podpořen z Institucionální podpory na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumných organizací přiděleného Ústavu hygieny a technologie potravin rostlinného původu, Fakultě veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzitě Brno.

POUŽITÁ LITERATURA

1. BORUCZKOWSKA, H., BORUCZKOWSKI, T., BRONKOWSKA, M., PRAJZNER, M., RYTEL, E. Comparison of colour measurement methods in the food industry. In *Processes*, 2025, vol. 13, no. 5, p. 1268. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/pr13051268
2. FELLOWS, PJ. *Food processing technology: principles and practice*. Woodhead publishing, 2022. ISBN 978-0-323-98431-7
3. PATHARE, P. B., OPARA, U. L., AL-SAID, F. A. J. Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: A review. In *Food and bioprocess technology*, 2013, vol. 6, no. 1, pp. 36-60. Dostupné na: https://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9
4. RADOJČIN, M., PAVKOV, I., BURSAĆ KOVAČEVIĆ, D., PUTNIK, P., WIKTOR, A., STAMENKOVIĆ, Z., KEŠELJ, K., GERE, A. Effect of selected drying methods and emerging drying intensification technologies on the quality of dried fruit: A review. In Processes, 2021. vol. 9, no. 1, p. 132. Dostupná na: https://doi.org/10.3390/pr9010132
5. REJMAN, K., GÓRSKA-WARSEWICZ, H., KACZOROWSKA, J., LASKOWSKI, W. Nutritional significance of fruit and fruit products in the average polish diet. In *Nutrients*, 2021, vol. 13, no. 6, p. 2079. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/nu13062079
6. TRAN, X., ANTILLE, N., DEVEZEAUX DE LAVERGNE, M., MOCCAND, C., LABBE, D. Impact of visual cues on consumers' freshness perception of prepared vegetables. In *Foods*, 2024, vol. 13, no. 20, p. 3342. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/foods13203342
7. KROKIDA, M. K., MAROULIS, Z. B., SARAVACOS, G. D. The effect of the method of drying on the colour of dehydrated products. In *International Journal of Food Science & Technology*, 2021, vol. 36, no. 1, pp. 53-59. Dostupné na: https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2001.00426.x
8. MILOVANOVIC, B., TOMOVIC, V., DJEKIC, I., SOLOWIEJ, B. G., LORENZO, J. M., BARBA, F. J., TOMASEVIC, I. Color assessment of the eggs using computer vision system and Minolta colorimeter. In *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2021, vol. 15, no. 6, pp. 5097-5112. Dostupné na: https://doi.org/10.1007/s11694-021-01085-4
9. TOMASEVIC, I., TOMOVIC, V., MILOVANOVIC, B., LORENZO, J., ĐORĐEVIĆ, V., KARABASIL, N., & DJEKIC, I. Comparison of a computer vision system vs. traditional colorimeter for color evaluation of meat products with various physical properties. In *Meat*

science, 2019, vol. 148, pp. 5-12. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.09.015

10. WU, D. SUN, DW. Colour measurements by computer vision for food quality control – A review. In Trends in Food Science & Technology, 2013, vol. 29, no. 1, pp. 5-20. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.08.004

Kontaktní adresa: Javůrková Zdeňka, Department of Plant Origin Food Science, Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology, University of Veterinary Sciences Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Czech Republic, E-mail: javurkovaz@vfu.cz

VÝSKYT PRODUCENTOV OCHRATOXÍNU A V KORENÍ MAJORÁN

OCCURRENCE OF OCHRATOXIN A PRODUCERS IN MARJORAM SPICE

Jevinová Pavlina, Pipová Monika, Pivka Soňa, Regecová Ivana, Koréneková Beáta

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

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the occurrence of *Aspergillus* species with potential ability to produce ochratoxin A in marjoram spice samples available on the retail market of the Slovak Republic. Seven marjoram samples were analyzed, from which a total of 105 morphologically distinct isolates were obtained. These isolates were subsequently identified at the genus and species level based on macroscopic, microscopic, and molecular characteristics. Isolates showing characteristics of the genus *Aspergillus* were analyzed by PCR and sequencing of PCR products. The ability to produce ochratoxin A was assessed by detection of the *otanps*PN gene using qPCR and confirmed by thin-layer chromatography (TLC). Based on the obtained results, 47 isolates belonging to three *Aspergillus* species were identified: *Aspergillus niger* (42 isolates), *Aspergillus carbonarius* (3 isolates), and *Aspergillus tubingensis* (2 isolates). The presence of the *otanps*PN gene was confirmed in 45 isolates, while ochratoxin A production was detected in 44 isolates by TLC. The highest prevalence was observed for *A. niger*, in which the gene was confirmed in 41 isolates and toxin production in 40 isolates. All *A. carbonarius* isolates were positive in both qPCR and TLC analyses. The results indicate the presence of ochratoxigenic *Aspergillus* species in the analyzed marjoram samples and confirm the potential risk of contamination of this commodity with ochratoxin A. These findings emphasize the need for regular monitoring of spices and the implementation of preventive measures during processing and storage.

Key words: marjoram, *Aspergillus*, ochratoxin A, qPCR, TLC, filamentous fungi.

ÚVOD

Koreniny predstavujú významnú súčasť ľudskej výživy, keďže sa bežne využívajú na dochucovanie potravín, predlžovanie ich trvanlivosti a zlepšovanie senzorických vlastností. Vzhľadom na svoj rastlinný pôvod, spôsob pestovania, zberu, sušenia, spracovania a skladovania však patria medzi komodity náchylné na mikrobiálnu kontamináciu, predovšetkým mikroskopickými vláknitými hubami. Riziko mykologickej kontaminácie je spájane hlavne

s výskytom toxinogénnych druhov, producentov toxických látok nazývaných ako mykotoxíny. Mykotoxíny sú sekundárne metabolity mikroskopických húb s toxickými, mutagénnymi, teratogénnymi alebo karcinogénnymi účinkami (DIMIĆ a kol. 2008). Jedným z najvýznamnejších mykotoxínov je ochratoxín A (OTA), ktorý je produkovaný najmä niektorými druhmi rodu *Aspergillus* a *Penicillium*. Tento toxín je spájaný predovšetkým s nefrotoxickými, imunotoxickými a potenciálne karcinogénnymi účinkami na ľudský organizmus (EFSA, 2020).

Majorán (*Origanum majorana* L.) patrí medzi obľúbené aromatické koreniny využívané v domácnostiach aj potravinárskom priemysle (Hruška, 2015). Sušené listy majoránu obsahujú cenné silice a biologicky aktívne látky, avšak počas sušenia a skladovania môžu byť vystavené podmienkam podporujúcim rast mikroskopických vláknitých húb. Z tohto dôvodu je monitorovanie mykobioty majoránu a identifikácia potenciálne toxigénnych druhov dôležitou súčasťou hodnotenia jeho zdravotnej bezpečnosti.

V posledných rokoch sa pri identifikácii mikroskopických húb čoraz častejšie kombinujú klasické kultivačné a morfologické metódy s molekulárno-biologickými postupmi, ako je polymerázová reťazová reakcia (PCR), sekvenovanie DNA či real-time PCR. Tieto metódy umožňujú presnejšiu druhovú identifikáciu izolátov a zároveň detekciu génov zodpovedných za biosyntézu mykotoxínov (Rodríguezom a kol., 2011; Cabañes a Bragulat, 2018; Regecová a kol. 2020).

MATERIÁL A METODIKA

Mikrobiologickému vyšetreniu so zameraním na stanovenie ochratoxín A produkujúcich mikroskopických vláknitých húb sme podrobili 7 vzoriek korenia majorán kúpených v obchodnej sieti SR. Pri stanovení mykobioty vo vzorkách korenia majorán sme postupovali podľa pokynov STN ISO 21527/1 a 2. Makroskopický odlišné kolónie mikroskopických vláknitých húb izolovaných z jednotlivých vzoriek sme preočkovali bodovou metódou na povrch agarového média s kvasnicovým extraktom (YES); agarového média s peptónom, sladovým extraktom a dextrózou (MEA); Czapekovho agarového média s kvasnicovým extraktom (CYA) a 25 % glycerolnitrátového agarového média (G25N; Hi-Media, India). Inkubácia prebiehala 7 dní pri teplote 25 °C (YES, MEA, CYA) a pri 5 °C (CYA a G25N). Pri hodnotení makroskopických znakov sme sa zamerali na rýchlosť rastu kolónií, ich farbu, textúru, zvlnenie a prítomnosť exsudátov a pigmentov. Mikromorfologické štruktúry v preparátoch zafarbených laktofenolom s bavlníkovou modrou boli merané a dokumentované pomocou optického mikroskopu B-290TB a softvéru Optika Vision Lite 2.13 (OPTIKA® Microscopes, Taliansko). Pri vyhodnocovaní makroskopický a mikroskopických znakov sme

postupovali podľa autorov Pitt a Hocking (2009). Izoláty vykazujúce typické makroskopické a mikroskopické znaky rodu *Aspergillus* sme podrobili genetickej typizácii metódou PCR (Regecová a kol., 2020) s následnou sekvenáciou. Amplifikácia oblasti ITS1–5.8S–ITS2 ribozomálnej DNA (rDNA), charakterizovanej nízkym intraspecifickým polymorfizmom a vysokou interspecifickou variabilitou, sa uskutočnila s použitím primerov ITS1 a ITS4. Amplikóny boli sekvenované Sangerovou metódou. Následne sa porovnávala homológia získaných sekvencií so sekvenciami dostupnými v databáze GenBank–EMBL pomocou programu BLAST (softvérový balík NCBI).

Schopnosť izolátov produkovať ochratoxín A bola stanovená detekciou génu kódujúceho jeho produkciu a preukázaním jeho prítomnosti v agarovom médiu. Stanovenie prítomnosti génu kódujúceho tvorbu ochratoxínu A (OTA) izolátov mikroskopických vláknitých húb sme realizovali real-time PCR metódou. Na analýzu sme použili špecifické primery navrhnuté Rodríguezom a kol.. (2011) *F-npstr* GCCGCCCTCTGTCATTCCAAG a *R-npstr* GCCATCTCCAAACTCAAGCGTG. U identifikovaných druhov rodu *Aspergillus* bola produkcia ochratoxínu A na fenotypovej úrovni potvrdená tenkovrstvovou chromatografiou (TLC) podľa autorov Labuda a Tančinová (2006).

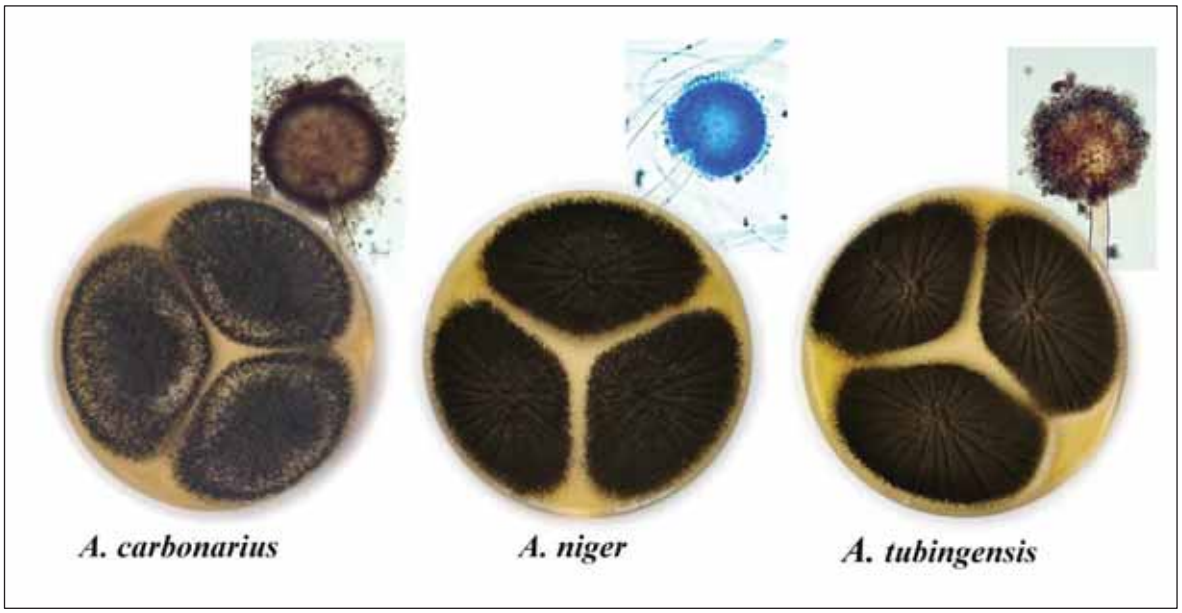
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Celkovo bolo z testovaných vzoriek korenia majoránu získaných 105 morfologicky odlišných izolátov mikroskopických vláknitých húb. Na základe analýzy makroskopických a mikroskopických znakov (obrázok č.1), ako aj výsledkov sekvenovania PCR produktov bolo identifikovaných 47 izolátov patriacich k trom druhom rodu *Aspergillus* s potenciálnou schopnosťou produkovať ochratoxín A (Tabuľka č.1).

Tabuľka č. 1, Počet izolátov produkujúcich ochratoxín A

Druh	Počet izolátov	qPCR	TLC
Aspergillus carbonarius	3	3	3
Aspergillus niger	42	41	40
Aspergillus tubingensis	2	1	1

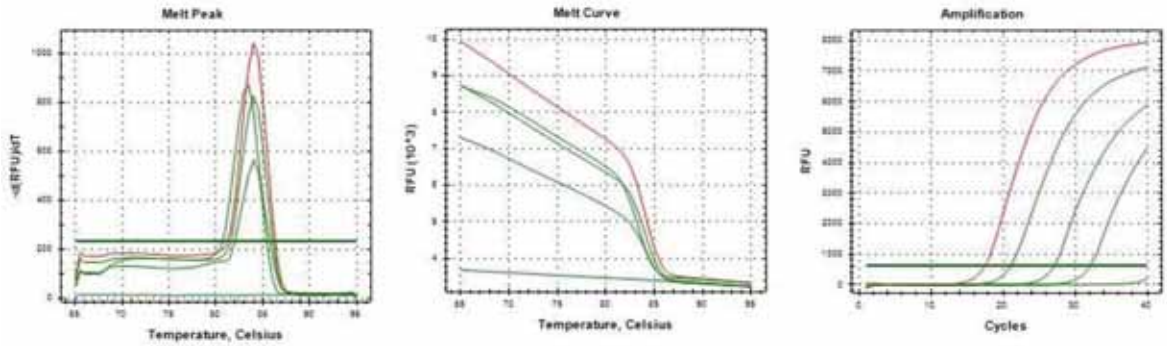
Obrázok č. 1, Makroskopický a mikroskopický obraz identifikovaných izolátov



Získané výsledky potvrdili, že korenie majorán môže predstavovať vhodný substrát pre kolonizáciu mikroskopickými vláknitými hubami rodu *Aspergillus*, vrátane druhov schopných produkovať ochratoxín A. Prítomnosť 47 izolátov patriacich k trom druhom rodu *Aspergillus* s toxigénnym potenciálom naznačuje, že sušené rastlinné produkty môžu byť významným zdrojom expozície týmto mykotoxínom, najmä pri nevhodných podmienkach spracovania a skladovania.

Prítomnosť génu *otanpsPN,* súvisiaceho s biosyntézou ochratoxínu A, bola metódou qPCR (Obrázok č. 2) potvrdená u 45 izolátov, zatiaľ čo samotná produkcia ochratoxínu A bola metódou tenkovrstvovej chromatografie (TLC) potvrdená u 44 izolátov.

Obrázok č. 2, Výsledky qPCR analýzy na prítomnosť otanpsPN génu



Sprava: Píky teploty topenia (Tm); Krivky teploty topenia; Amplifikačné cykly (Cq); červená – pozítívna kontrola, zelená – testované izoláty

Najvyššie zastúpenie medzi identifikovanými izolátmi mal druh *Aspergillus niger* (42 izolátov), z ktorých u 41 bola potvrdená prítomnosť génu *otanps*PN a u 40 bola preukázaná produkcia ochratoxínu A metódou TLC. Druh *A. carbonarius* bol identifikovaný v troch prípadoch, pričom u všetkých izolátov bola potvrdená prítomnosť génu *otanps*PN aj produkcia ochratoxínu A. Druh *A. tubingensis* bol zastúpený dvoma izolátmi, z ktorých jeden bol pozitívny na prítomnosť génu *otanps*PN a zároveň sme potvrdili produkciu ochratoxínu A. Dominantné zastúpenie druhu *Aspergillus niger* v tejto práci korešponduje s novšími publikáciami, podľa ktorých patrí tento druh medzi najčastejšie izolované zástupce rodu *Aspergillus* v koreninách, sušených bylinách a ďalších rastlinných produktoch (Frisvad a kol., 2018).

Skutočnosť, že prítomnosť génu *otanps*PN bola potvrdená u 45 izolátov, zatiaľ čo produkcia ochratoxínu A bola metódou TLC preukázaná u 44 izolátov, poukazuje na rozdiel medzi genetickým predpokladom produkcie toxínu a jeho reálnou produkciou v kultivačných podmienkach. Nie všetky izoláty nesúce biosyntetické gény musia za daných podmienok aktívne produkovať toxín, keďže syntéza sekundárnych metabolitov je významne ovplyvnená teplotou, aktivitou vody, dostupnosťou živín a stresovými faktormi prostredia (Perrone a kol., 2012; Aasa a kol., 2026).

Druh *Aspergillus carbonarius*, hoci bol zastúpený len tromi izolátmi, vykazoval 100 % pozitivitu pri qPCR aj TLC analýze. Tento druh je dlhodobo považovaný za významného producenta ochratoxínu A v potravinových komoditách. Naopak, pri druhu *A. tubingensis* bola pozitivita potvrdená len u jedného z dvoch izolátov, čo môže súvisieť s vnútrodruhovou variabilitou alebo rozdielnou expresiou génov zapojených do biosyntézy OTA. Súčasné poznatky uvádzajú, že toxigénny potenciál druhov sekcie *Nigri* je druhovo aj kmeňovo variabilný (Frisvad a kol., 2018).

Z praktického hľadiska výsledky poukazujú na potrebu systematickej kontroly kvality korenín uvádzaných na trh. Ku kontaminácii ochratoxigénnymi hubami môže dôjsť počas pestovania, zberu, sušenia, transportu aj skladovania, pričom rozhodujúcu úlohu zohráva najmä vlhkosť suroviny a podmienky skladovania. Viaceré štúdie potvrdili, že nevhodné pozberové podmienky významne zvyšujú riziko rastu mikromycét a následnej produkcie mykotoxínov (Pickova a kol., 2020).

ZÁVER

Výsledky štúdie potvrdili prítomnosť mikroskopických vláknitých húb rodu Aspergillus vo vzorkách korenia majoránu dostupného v obchodnej sieti SR. Zo 105 analyzovaných morfologicky odlišných izolátov bolo identifikovaných 47 izolátov patriacich k 3 druhom s

potenciálnou schopnosťou produkovať ochratoxín A, pričom dominantne bol zastúpený druh *Aspergillus niger*. Molekulárnou analýzou bola u 45 izolátov potvrdená prítomnosť génu *otanpsPN*, súvisiaceho s biosyntézou ochratoxínu A, a produkcia tohto mykotoxínu bola metódou TLC preukázaná u 44 izolátov. Získané výsledky poukazujú na reálne riziko kontaminácie korenia majoránu ochratoxínom A, ktoré môže predstavovať zdravotné riziko pre spotrebiteľa. Napriek tomu, že koreniny sa konzumujú v relatívne malých množstvách, ich dlhodobá a opakovaná konzumácia môže prispievať ku kumulatívnej expozícii ochratoxínu A. Z tohto dôvodu je potrebné venovať tejto komodite zvýšenú pozornosť z pohľadu bezpečnosti potravín a realizovať ďalšie štúdie zamerané na kvantifikáciu obsahu OTA v komerčných produktoch, ako aj na identifikáciu hlavných rizikových faktorov ich kontaminácie.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená projektom KEGA č. 009UVLF-4/2026.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AASA, A. O. et al. Microbial and enzymatic biodegradation of aflatoxins and ochratoxins: mechanisms, applications, and emerging innovations. In *Archives of Microbiology*. ISSN 0302-8933, 2026, 208, 144.
2. CABAÑES, F. J. – BRAGULAT, M. R. Black aspergilli and ochratoxin A-producing species in foods. In *Current opinion in food science*, *23*, pp. 1-10.
3. CERVINI, C. et al. Interacting climate change factors (CO2 and temperature cycles) effects on growth, secondary metabolite gene expression and phenotypic ochratoxin A production by Aspergillus carbonarius strains on a grape-based matrix. In *Fungal biology*. ISSN 1878-6146, 2021,125, 2, pp. 115-122.
4. DIMIĆ, G.R. et al. *Mycopopulation of spices,* In *Acta Periodica Technologica*, ISSN 2406-095X, 2008, 39, pp.1-9.
5. EFSA. Risk assessment of ochratoxin A in food. EFSA Journal, 2020, 18, 5, 6113.
6. FRISVAD, J. C. et al. Black aspergilli and ochratoxin A-producing species in foods. In *Current Opinion in Food Science*. ISSN 2214-8000, 2018, 23, pp. 1-10.
7. HRUŠKA, B. *Ako sa liečiť rastlinami*. Praha : Ottovo nakladatelství, s.r.o., 2015. 454 s. ISBN 978-80-7451-474-6.
8. LABUDA, R. – TANČINOVÁ, D. Fungi recovered from slovakian poultry feed mixtures and their toxinogenity. In *Ann Agric Environ Med*. ISSN 1232-1966, 2006, 13, p. 193-200.
9. PERRONE, G. et al. Biodiversity of black aspergilli and OTA risk. In *Food Additives & Contaminants*. ISSN 2214-7993, 2012, 29, pp. 1–10.

10. PICKOVA, D. et al. A Review on Mycotoxins and Microfungi in Spices in the Light of the Last Five Years. In *Toxins.* ISSN 2072-6651, 2020, 12, 789.
11. PITT, J. I. – HOCKING, A. D.: *Fungi and Food Spoilage.* Springer New York, NY, 2009, 388 pp. ISBN 978-0-387-92207-2.
12. REGECOVÁ, I. et al. Quality and mycobiota composition of stored eggs. In *Italian Journal of Food Science*. ISSN 1120-1770, 2020, 32, pp. 540-561.
13. RODRÍGUES A. et al. Quantification of ochratoxin A-producing molds in food products by SYBR Green and TaqMan real-time PCR methods. In *International Journal of Food Microbiology*. ISSN 1879-3460, 2011, 149, 1, pp. 226-235.
14. STN EN ISO 21527-1/01 Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu kvasiniek a plesní. Časť 1: Metóda počítania kolónií vo výrobkoch s aktivitou vody väčšou ako 0,95 (ISO 21527-1: 2008).
15. STN EN ISO 21527-2/01 Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu kvasiniek a plesní. Časť 1: Metóda počítania kolónií vo výrobkoch s aktivitou vody menšou ako 0,95 alebo rovnajúcou sa 0,95 (ISO 21527-2: 2008).

Kontaktná adresa: Jevinová Pavlina, 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

MONITORING ORGANICKÉHO ZNEČIŠTĚNÍ BĚHEM SANITAČNÍ PROCEDURY V OBOHACENÝCH KLECOVÝCH SYSTÉMECH NOSNIC

MONITORING OF ORGANIC CONTAMINATION DURING THE SANITATION PROCEDURE IN ENRICHED CAGE SYSTEMS FOR LAYING HENS

Kaluža Michal [1], Macháček Miroslav [1], Kabrhel Vojtěch [2]

[1]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

[2]ADDICOO GROUP s.r.o. Bohdíkovská 2438/7, 787 01 Šumperk, Česká republika

ABSTRACT

The aim of this partial study was to evaluate the level of organic contamination during the sanitation procedure in laying hen housing with enriched cage systems and to assess the effectiveness of individual sanitation steps using rapid detection methods. Monitoring was conducted in two houses, and total organic contamination was assessed using luminometry (LUM; ATP, RLU/100 cm²), while residual particles were evaluated using mobile flow cytometry (MFC; residual particles/100 cm²). Comparison of the methods revealed a variable correlation between LUM and MFC ($r < 0.3$ to > 0.7), which was not statistically significant ($p > 0.05$), reflecting their different detection principles. Luminometry measures total organic matter containing ATP based on bioluminescence, whereas MFC detects non-living organic matter as well as inorganic particles based on impedance. Before sanitation, high levels of organic contamination were recorded with no statistically significant differences between houses ($p > 0.05$), with values of 6.48–6.83 log RLU (floor), 6.18–6.43 log RLU (wall), and 6.11–6.58 log RLU (feeder). MFC showed the highest contamination on floors (up to 7.99 log), significantly higher than on walls and feeders ($p < 0.05$), with differences between houses confirmed only for floors ($p = 0.0100$). During the sanitation process, LUM showed a significant reduction after detergent application ($p < 0.05$), while subsequent disinfection steps did not result in further significant decreases ($p > 0.05$). The overall sanitation effect assessed by LUM was low and did not exceed 19.54%. MFC results indicated a dynamic pattern of residual contamination without a statistically significant decreasing trend ($p > 0.05$). The highest values were recorded after mechanical cleaning (up to 8.52 log), indicating

redistribution of contaminants during cleaning. Overall, residual contamination decreased only on floors (up to 22.15%), while it increased on walls and feeders (up to 13.38%). The study demonstrates insufficient effectiveness of the sanitation procedure, primarily due to inadequate mechanical cleaning. At the same time, it confirms the practical applicability of LUM and MFC as rapid tools for identifying critical points in the sanitation process. The results highlight the need to improve hygiene practices and ensure strict adherence to sanitation protocols in laying hen production systems.

Key words: rapid detection methods, ATP, residual contamination, biosecurity, sanitation efficiency

ÚVOD

Dobrá úroveň hygieny prostředí je klíčová pro zdraví, welfare, ale také produkční užitkovost nosnic. Z dat Českého statistického úřadu vyplývá, že v roce 2025 bylo v České republice chováno 5 056 185 ks nosnic pro produkci konzumních vajec (ČSÚ, 2025). Stavy chovaných nosnic jsou v posledních letech (2021 – 2025) dle dostupných údajů stabilní (hodnota mediánu: 5 056 185 ks). V průběhu poslední dekády se počty chovaných nosnic mírně zvýšily, a to o 11,65 % (oproti roku 2016). Produkce konzumních vajec se v roce 2025 pohybovala na úrovni 1 614 847 tisíc kusů vajec, což je nejvíce od roku 2021 (1 735 143 tisíc kusů), a o 22,94 % více ve srovnání s rokem 2016. Nosnice tímto představují významné odvětví živočišné výroby v České republice, které přispívá k soběstačnosti v produkci vajec pohybující se kolem 80 % (ÚED et al., 2026).

Komerční chovy nosnic jsou v EU v současnosti vystaveny celé řadě výzev, které determinují jejich další rozvoj, konkurenceschopnost a udržitelnost produkce. Klíčový problém představuje pro chov a produkci drůbeže napříč Evropou cirkulující problém aviární influenzy, který je spjatý zejména s podzimní migrací volně žijících ptáků. V roce 2025 bylo v EU v chovech drůbeže detekováno celkem 727 ohnisek HPAI (SVS, 2026), zatímco v České republice se jednalo o 11 ohnisek v komerčních chovech drůbeže a jedno ohnisko na drůbežích jatkách (Siksta a Závada, 2026). Ze současné studie zpracovávané Evropským úřadem pro bezpečnost potravin (dále jen EFSA) vyplývá, že v období od 29. listopadu 2025 do 27. února 2026 bylo detekováno 289 ohnisek HPAI u drůbeže v 18 zemích Evropy. Nejvíce ohnisek bylo potvrzeno v Polsku (59) a v Německu (51). S výjimkou jednoho ohniska, které nebylo ověřeno, byly všechny spjaty se subtypem H5N1 (EFSA, 2026). Vedle ptačí chřipky jsou u drůbeže komplexně problémem i salmonelóza nebo kampylobakterióza, které mohou ohrozit spotřebitele (Borilova a Steinhauserova 2006; Myšková a Karpíšková 2017).

Dalším aspektem ovlivňujícím chov i produkci nosnic jsou zvyšující se požadavky na welfare a plánované legislativní změny v technologii chovu nosnic. Kampaň („End the Cage Age“), která byla zahájena v roce 2018, shromážděním 1,4 milionu podpisů přispěla k podpoře zákazu klecového chovu v EU. Evropská komise na toto zareagovala iniciativou na postupné ukončení klecového chovu v EU (European Commission, 2021), která může znatelně ovlivnit samotné odvětví chovu nosnic. V České republice bylo přistoupeno k zákazu obohacených klecových systémů novelou zákona č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, a to v roce 2020, kdy tento zákaz bude platit od 1. 1. 2027 (SVS, 2021). Současné klecové systémy jsou nahrazovány v konvenčních podmínkách chovy na podestýlce nebo voliérami, které budou v ČR tvořit majoritní technologii chovu nosnic od příštího roku. Výsledkem může být krátkodobý pokles soběstačnosti v produkci vajec až o 20 % (ČMDÚ, 2026). Z aktuálních dat (k 31.1.2026) je patrné, že poskytují kapacitu pro 60,75 % nosnic ve srovnání s volným výběhem (1,51 %) a ekochovy (0,63 %). Zbývající kapacitu zajišťují končící technologie obohacených klecí. Blokhuis et al. (2007) uvádějí, že alternativní systémy zahrnující podestýlkové chovy, voliéry, volný chov i ekochovy mohou mít potenciál pro zajištění odpovídajícího welfare, který však naráží často na úroveň managementu daných farem.

Dobré životní podmínky pro nosnice stejně jako zdravotní nezávadnost a kvalita získaných konzumních vajec jsou podmíněny vždy odpovědným přístupem k samotným zvířatům v chovech, což zahrnuje poskytnutí kvalitní krmné dávky a vody, zabezpečení veterinární péče (preventivní programy zahrnující vakcinační protokoly) a komplexní postupy pro udržení hygieny prostředí (Souillard et al., 2024). Nutné je tak vyzdvihnout, že pouhá změna technologie ustájení není zaručenou cestou ke splnění vyšších standardů welfare a kvality a bezpečnosti živočišné produkce.

Vyšší koncetrace zvířat v konvenčních chovech představují významné epizootologické riziko. Nároky na dobrou úroveň managementu a zootechnickou a zoohygienickou praxi jsou tak vysoké. Skrze stabilní riziko šíření aviární influenzy a další alimentárních patogenů do chovů drůbeže je klíčová dobrá úroveň biosekurity v chovech (Verzhykhovsky a Nedosekov, 2024). Pro zajištění hygieny prostředí je nutné provádět taková opatření, která eliminují nebo alespoň minimalizují riziko vniku patogenů do chovů a brání tak mikrobiální únavě stájí (Mallioris et al., 2023). Důležitým nástrojem jsou zde sanitační programy prováděné po ukončení každého turnusu, které zahrnují vyklizení hal a mechanickou očistu, aplikaci detergentu, zpravidla dvoufázovou dezinfekci a odpočinutí stáje (Maertens et al., 2018). Cílem sanitace je mechanické odstranění organické kontaminace a dále dezinfekce na již očištěných plochách, která umožní eliminaci potenciálních přítomných infekčních agens. Sanitační program si klade za cíl rovněž předejít možnému šíření zdrojů infekce mezi jednotlivými turnusy.

Chybné provedení některých kroků, především aplikace detergentu, může vést k perzistenci organických nečistot a biofilmů, které představují významné riziko z hlediska přežívání patogenních mikroorganismů. V přechodném období je rizikovou fází i zahájení turnusu, které je spojeno s růstem organické i mikrobiální kontaminace, což může mít za následek úhyny zvířat v hejnu (Fossum et al., 2009). Expozice salmonelou je v tomto období spjata s vysokou mírou střevní kolonizace a patogeneze (Gast et al., 2020). Opatření v přechodovém období mezi turnusy jsou tak pro zdraví a welfare nosnic na farmách klíčová (Campbell et al., 2019).

Nároky na provedení sanitace se mohou lišit v závislosti na technologii odchovu samotných nosnic. Dostupné studie uvádějí, že podestýlkové chovy nosnic jsou ve srovnání s obohacenými klecemi vystaveny vyšší mikrobiální zátěži prostředí (Jones et al., 2015), což přináší i vyšší riziko prevalence patogenních mikroorganismů jako je kampylobakter, *E. coli* nebo salmonela, a vyšší míru kontaminace produkovaných vajec (Englmaierová et al., 2014; Casalino et al., 2022). Biosekuritě na farmách nosnic v souvislosti s majoritním zastoupením této technologie od roku 2027 v České republice bude tak nutné věnovat zvýšenou pozornost.

Riziko přítomné kontaminace vyžaduje nejen důsledné provádění úkonů sanitačního programu, ale také vyžaduje nástroje pro rutinní hodnocení hygieny prostředí. Monitoringem jednotlivých kroků sanitace lze odhalit možné nedostatky v sanitačních postupech pracovníků a stanovit kritická místa kontaminace (Chancy et al., 2023).

Využití rychlých detekčních metod v rámci monitoringu hygieny prostředí v terénních podmínkách má v rámci správné chovatelské praxe stále větší význam. V chovech drůbeže nachází uplatnění luminometrie, která umožňuje posoudit organické znečištění obsahující ATP (Luyckx et al., 2015). Pro přímou mikrobiální detekci v terénních podmínkách lze využít mobilní průtokový cytometr. Na trhu je k dispozici mobilní průtokový cytometr CytoQuant od společnosti Romer Labs Division Holding GmbH, který je primárně určen do prostředí potravinářských a jatečných provozů (Romer Labs, 2022). Přístroj kromě kvantifikace bakterií umožňuje i detekci reziduí, které jsou organického a anorganického původu. Nespornou výhodou oproti luminometrii je nízká interference s dezinfekčními prostředky. Možnosti využití tohoto přístroje pro monitoring hygieny prostředí zvířat nejen v oblasti čistících a dezinfekčních postupů jsou aktuálně předmětem úzké spolupráce výrobce přístroje CytoQuant® (Romer Labs Division Holding GmbH, O.K. SERVIS BioPro, s.r.o), pracovníků Veterinární univerzity Brno a firmy ADDICOO GROUP s.r.o.

Dostupné terénní detekční metody by měly být součástí rutinní kontroly pro možné odhalení nedostatků v hygienickém profilu farmy. V případě zjištění organické kontaminace má význam provést hlubší analýzu s využitím plotnových metod detekce, které zůstávají zlatým standardem pro následné mikrobiologické vyšetření (Luyckx et al., 2015).

Cílem této dílčí studie bylo zhodnit míru organického znečištění na farmě nosnic s technologií obohacených klecí. Sledován byl průběh sanitační procedury s využitím rychlých detekčních přístrojů. V závěru byla zhodnocena účinnost sanitační procedury na reziduální organickou kontaminaci na halách.

MATERIÁL A METODIKA

Vlastní monitoring úrovně organického znečištění prostředí byl realizován v komerčním chovu nosnic s technologií obohacených klecí. Pro účely této práce byly sledovány 2 haly o kapacitě 90 tisíc kusů (hala A a B).

Monitoring na farmě nosnic

V obohacených klecových systémech pro nosnice je na farmě uplatňována následující sanitační procedura po ukončení turnusu. Vzorky byly odebírány ve vybraných krocích po provedení čistících a dezinfekčních úkonů v klecových systémech (tabulka č. 1).

Tabulka č. 1: Plán odběru vzorků na hale nosnic

Průběh sanitační procedury		Odběr vzorků	Termín odběru
Po vyskladnění zvířat	**BC**	✓	0. den
Po mechanické očistě (tlakové mytí), T = 1,5 hod.	**AC**	✓	0. den
Po čištění s použitím detergentu T = 0 hod	**C-DT**	✓	25. den
Po mokré dezinfekci, T = 3 hod	**AWD**	✓	25. den
Po dezinfekci fogem, T = 3 hod	**AFD**	✓	40. den

Odběr vzorků byl prováděn v obohacených klecích na 3 typech povrchů: podlaha (sběrný pás pod klecí), stěna a krmítko. Na každém typu povrchu bylo odebráno 6 vzorků při každé fázi odběru.

Míra organického znečištění byla sledována s využitím rychlých detekčních přístrojů na principu průtokové cytometrie a luminometrie:

- Mobilní průtokový cytometr Cytoquant (Romer Labs Division Holding GmbH)
- Luminometr NovaLUM II (Charm Sciences, Inc.)

Podmínky odběru vzorků

Vlastní odběr vzorků byl na hale nosnic prováděn jedním pracovníkem, který postupoval dle stanovené metodiky odběru rychlých detekčních přístrojů. Odebírány byly stěry z definované plochy (10 x 10 cm), a to nejprve vodorovně a následně svisle první stranou tampónu. Poté byl vzorek stírán diagonálně z jednoho rohu do druhého rohu druhou stranou tampónu.

Podmínky průtokové cytometrie

Pro měření byl využit mobilní průtokový cytometr (dále také MFC) – Cytoquant (Romer Labs 2022a), který umožňuje vedle stanovení živých buněk (intact cells) také stanovení reziduí (other particles). Stěry z prostředí byly odebrány z plochy 100 cm^2 tampónem a následně vloženy do zkumavky se speciálním vodivým roztokem (Swab Kit). Po promíchání byly zkumavky vloženy do přístroje, ve kterém dojde k nasátí vyšetřovaného vzorku skrze dno do kolony (cely) průtokového cytometru, kde následně proběhne vlastní odečet buněk a částic procházejících kolonou. V této práci byly sledovány MFC reziduální částice (other particles), které mohou být i organického původu. Výsledné hodnoty byly přepočteny na počet reziduí/100 cm^2.

Podmínky luminometrie

Pro měření byl zvolen luminometr novaLUM II (Charm Sciences, Inc.) Luminometr (dále také LUM) byl použit pro měření celkového ATP. Použity byly vzorkovnice pro stěrovou metodu PocketSwab Plus ATP Test. Po odběru byly vzorky v odběrovkách smíseny s činidlem (dle metodiky výrobce) a změřeny LUM. Získané výsledky byly vyjádřeny v RLU/100 cm^2.

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 rovnoměrná a nerovnoměrná distribuce). U všech výsledků byla pro logaritmické vyjádření provedena úprava dat s přičtením 1 pro vyloučení nulových hodnot. Stanoveny byly základní popisné charakteristiky (průměr, medián a směrodatná odchylka), které byly využity pro shrnutí výsledků.

Sledována byla závislost naměřených hodnot LUM a MFC s využitím Pearsonova (rP) nebo Spearmanova korelačního koeficientu (rSp) v případě 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).

Sledován byl rozdíl v míře organické kontaminace na vybraných místech s využitím LUM (stanovení RLU) a MFC (stanovení reziduí). Pro zhodnocení rozdílu mezi místy byla použita jednofaktorová analýza rozptylu (normální rozdělení dat) nebo neparametrický Kruskal–Wallis test (nenormální rozdělení dat). Pro sledování rozdílu v míře organické kontaminace mezi halami (A a B) byl využit Welchův t-test (normální rozdělení dat) nebo Mann-Whitney U test (nenormální rozdělení dat).

Posouzena byla organická kontaminace s využitím LUM a MFC během jednotlivých kroků sanitační procedury. Pro stanovení rozdílu mezi jednotlivými kroky sanitační procedury byl využit neparametrický Kruskal-Wallisův test a dále jako post hoc test Dunnův test (data s nerovnoměrnou distribucí).

Sledován byl trend poklesu míry organické kontaminace dle výsledků LUM a MFC. Pro stanovení míry poklesu během jednotlivých kroků sanitační procedury byl zvolen Spearmanův korelační koeficient (rSp).

Posouzena byla míra organické kontaminace s využitím LUM a MFC před zahájením sanitační procedury (BS) a dále po jejím ukončení (AS). Pro srovnání byl použit studentův t-test (normální rozdělení) nebo Wilcoxonův test (nerovnoměrná distribuce).

Pro posouzení míry poklesu organické kontaminace byla sledována sanitační účinnost v %. Pro výpočet byl použit následující vzorec:

$$\textbf{Sanitation efficiency}\ (\%) = \frac{\mathrm{BS} - \mathrm{AS}}{\mathrm{BS}}\ \mathrm{X}\ 100$$

Vysvětlivky BS – Before sanitation; AS – After sanitation

V této studii byla použita hladina významnosti $p < 0,05$ (statisticky významný rozdíl) a $p < 0,01$ (statisticky vysoce významný rozdíl).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Monitoring hygieny prostředí je standardem v potravinářském průmyslu, kde představuje jeden z dílčích nástrojů k zajištění bezpečnosti a kvality potravin (Mildenhall a Rankin, 2020). Hygiena prostředí však představuje významný faktor i v chovech zvířat, kde ovlivňuje zdravotní stav a welfare chovaných nosnic a také bezpečnost získaných konzumních vajec.

Dobré životní podmínky zvířat spolu s absencí onemocnění jsou pak předpokladem pro odpovídající užitkovost nosnic na halách (Riber et al. 2017). Klíčovým nástrojem v biosekurity farem je aplikace turnusového systému s pravidelnými úkony mechanické a chemické očisty stáje. Aby vlastní sanace hal byla provedena správně a prostředí bylo připraveno na další turnus

zvířat, je nutné dodržet několik kroků, které zahrnují vyklizení hal, mechanickou očistu, dezinfekci a odpočinutí stáje (Faivre 2023).

V rámci této dílčí studie byla sledována úroveň organické kontaminace na halách nosnic s s technologií obohacených klecí. Monitoring čistoty prostředí byl zaměřen na přechodné období spjaté se sanitační procedurou na farmách. Měření bylo realizováno s využitím rychlých detekčních metod, a to na principu luminometrie a mobilní průtokové cytometrie. Po posouzení detekčního spektra těchto přístrojů a možnosti interpretace výsledků bylo přistoupeno k zhodnocení naměřených dat v průběhu sanitační procedury s využitím obou přístrojů. V závěru byl posouzen vliv celé sanitační procedury na dosaženou úroveň čistoty v obohacených klecích a shrnuta vhodná opatření.

Rychlé detekční metody pro monitoring organické kontaminace

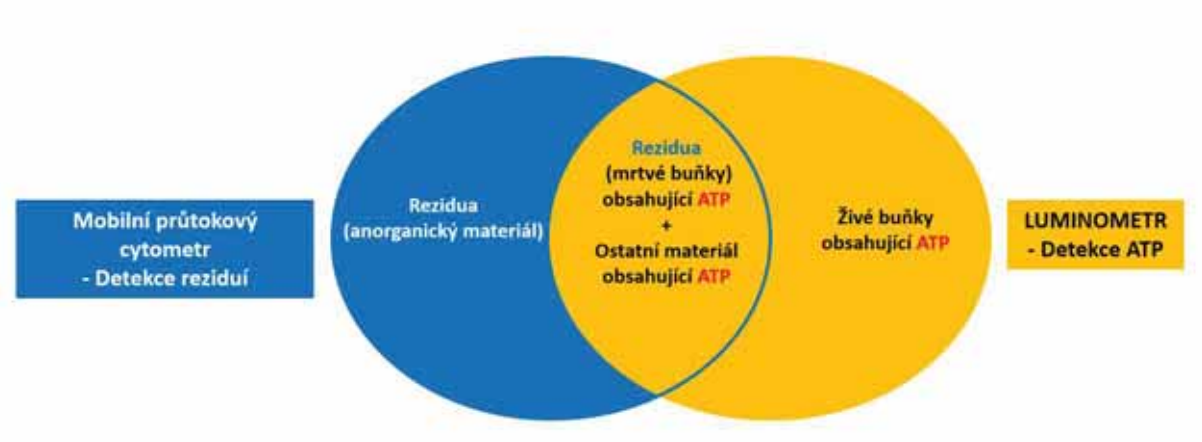
Volba vhodné metody pro monitoring hygieny v chovech zvířat by měla reflektovat vlastní podmínky prostředí, ve kterém bude měření prováděno. Variabilita technologie chovu zvířat, rozdílné postupy uplatňované při čištění a dezinfekci a také široké spektrum povrchů a používaných materiálů představují faktory, které společně s mírou kontaminace a spektrem přítomných nečistot mohou ovlivnit schopnost přístrojů znečištění detekovat, jak uvádějí Turner et al. (2010).

Kontaminaci prostředí tvoří anorganické a organické složky přítomné ve vodě, v krmivu nebo ve vlastní technologii ustájení. Anorganická kontaminace zahrnuje zejména minerální částice a soli, ale také mohou být její součástí kovy, zbytky hnojiv, dezinfekčních přípravků nebo pesticidů. Ve formě prachových částic může být nosičem a také médiem i pro organickou kontaminaci. Organickou kontaminaci můžeme rozdělit na kontaminaci rostlinného původu (zbytky krmiv, podestýlky), živočišného původu (výkaly, moč, biologické tekutiny, odumřelé buňky a tkáně) a dále mikrobiálního původu, kde řadíme vlastní mikroorganismy a jimi tvořený biofilm (Lu et al. 2025).

Pro monitoring organického znečištění na halách nosnic s technologii obohacených klecí byl využit LUM, který umožňuje stanovení celkového organického znečištění obsahujícího ATP a dále MFC, který umožňuje stanovit přítomnost živých buněk (intact cells) a neživých částic (Charm Sciences, Inc. 2026; Romer Labs, 2022b).

Vlastní použití přístrojů v terénu vyžaduje správnou interpretaci získaných výsledků, a to s ohledem na princip samotného měření a charakter detekovaného znečištění. Graf č. 1 znázorňuje schéma spektra nečistot, které zachycují námi aplikované rychlé detekční metody.

Graf č. 1: Spektrum kontaminace detekované LUM a MFC



LUM založená na bioluminiscenčním měření ATP (adenosintrifosfát) poskytuje informaci o celkové organické kontaminaci, a to bez ohledu na její původ. 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 a Rankin, 2020). Některé studie uvádějí, že vysoké hodnoty KTJ korelují s vysokými hodnotami RLU. Přítomnost organického znečištění pak znamená i vyšší riziko mikroorganismů na površích (Aycicek et al., 2006; Bakke, 2022). Z posouzení spektra detekovaného LUM je však zřejmé, že výsledky měření ATP nejsou přímým obrazem míry mikrobiálního znečištění (Heinemann et al., 2021b). Hodnoty RLU mohou odrážet přítomnost neporušených mikroorganismů, ale i mrtvých buněk a dalšího organického materiálu v prostředí (Johnson et al., 2024; Makovska et al., 2025). Korelace výsledků LUM se závěry mikrobiální kultivace je tak výrazně podmíněna mírou kontaminace povrchu v odebraném vzorku. Výsledky měření LUM by proto primárně měly být brány jako výsledky, které zhodnocují míru organické kontaminace, nikoliv kontaminace čistě mikrobiální, jak potvrzují i Bakke a Suzuki (2018). Nutné je také uvést, že zjišťované korelace s bakteriální kultivací v dostupných studiích tak nemohou být důvodem pro možnou náhradu tradiční kultivace za LUM jak uvádějí i Johnson et al. (2024).

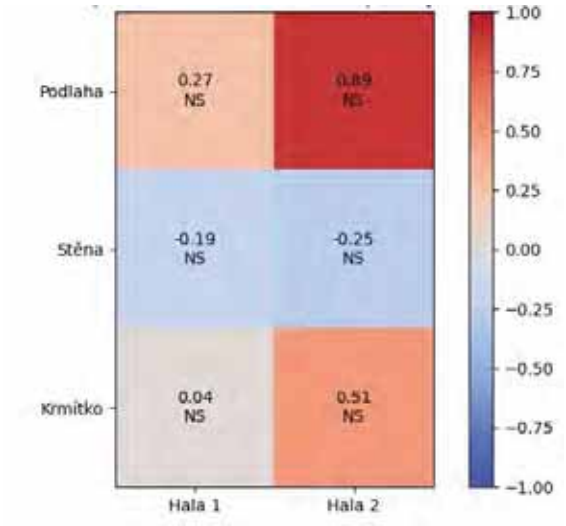
MFC umožňuje stanovit přítomnost živých buněk (intact cells) a neživých částic, které definuje jako rezidua (Romer Labs, 2022b). Tato rezidua (ostatní částice) byly v této práci sledovány. K rozlišení živých (neporušených bakterií) a neživých částic dochází na základě jejich vodivosti při průchodu detekční celou. Živé bakterie mají při nízkém proudu charakter nevodivých částic oproti ostatním reziduálním částicím. Jedná se tedy o detekci částic, které mohou být organického původu, ale rovněž z jisté části i anorganického v závislosti na míře

kontaminace daného prostředí. Je zde tak rozdíl oproti LUM, kdy rezidua detekovaná MFC nikdy neodráží přítomnost živých mikroorganismů.

Nutné je dále uvést, že MFC zachycuje z organického materiálu kromě živých buněk veškerý organický materiál obsahující ATP, čímž se prolíná s detekční citlivostí LUM. Množství přítomného organického materiálu pak ovlivňuje i sílu detekované korelace mezi metodami. Na rozdíl od LUM je však MFC schopen zachytit i anorganické částice.

Obě metody byly ověřeny pro použití monitoringu organického znečištění v terénních podmínkách. Rozdílný princip měření je předpokladem i rozdílné distribuce výsledků, což dokládá graf č. 2.

Graf č. 2: Heat mapa korelací mezi výsledky LUM a MFC při terénním měření



Pozn.: ** ($p < 0,01$); * ($p < 0,05$), NS ($p > 0,05$)

V grafu č. 2 je uvedena heatmapa znázorňující korelaci naměřených hodnot LUM a MFC na sledovaných místech obou hal. Z výsledků je patrné, že napříč sledovanými místy v obou halách byla zjištěná rozdílná závislost od nepřímé zanedbatelné (<0,3) po přímo vysokou (>0,7) závislost mezi výsledky LUM a MFC, která však v žádném z případů nebyla statisticky potvrzena ($p > 0,05$).

Znalost spektra detekovaných nečistot byla pro další monitoring přístroji zásadní. Klíčovým bodem pro zhodnocení sanitační účinnosti bylo i posouzení, zda jsou přístroje schopné v podmínkách farem prakticky měřit. Z dostupných dat naměřených oběma přístroji je zřejmé, že navzdory vysoké kontaminaci nečistotami na površích, lze tyto metody určené primárně do potravinářských provozů použít. Dále byl již posouzen průběh sanitační procedury na halách s obohacenými klecovými systémy chovu s využitím luminometru a mobilního průtokového cytometru.

Monitoring průběhu sanitační procedury s využitím luminometrie

Pro posouzení organického znečištění na halách A a B byl využit LUM (luminometr novaLUM II, Charm Sciences, Inc.). Nejprve byla zhodnocena míra celkové organické kontaminace před zahájením sanitační procedury (BS). Po ukončení turnusu dochází k vyskladnění celé haly drůbeže. Dle velikosti hejna je tento proces prováděn v rámci jednoho či více dnů. V technologii obohacených klecí může docházet k demontáži vybraných prvků klece. Odstraněny jsou z klecí zbytky krmiva. Před zahájením vlastní sanitace stáje je nutné provést i zhodnocení vlastní konstrukce, povrchů a používané technologie. Klíčovým krokem je vyčištění sběrných pásů pod klecemi, které by v dalších krocích mohly snadno rekontaminovat prostor klecí. Důležité je stanovit i další klíčová místa, kde může být čištění i dezinfekce obtížnější a tím zabránit zachování nevyčištěných zón (Borges a Moreira, 2023). Tento přístup je zásadní, protože nevyčištěné nebo nedezinfikované plochy mohou být rizikem nákazy zvířat v novém turnusu, což by mohlo negativně ovlivnit konverzi krmiva, dále zvýšit úhyny a způsobit tak ekonomické ztráty chovateli.

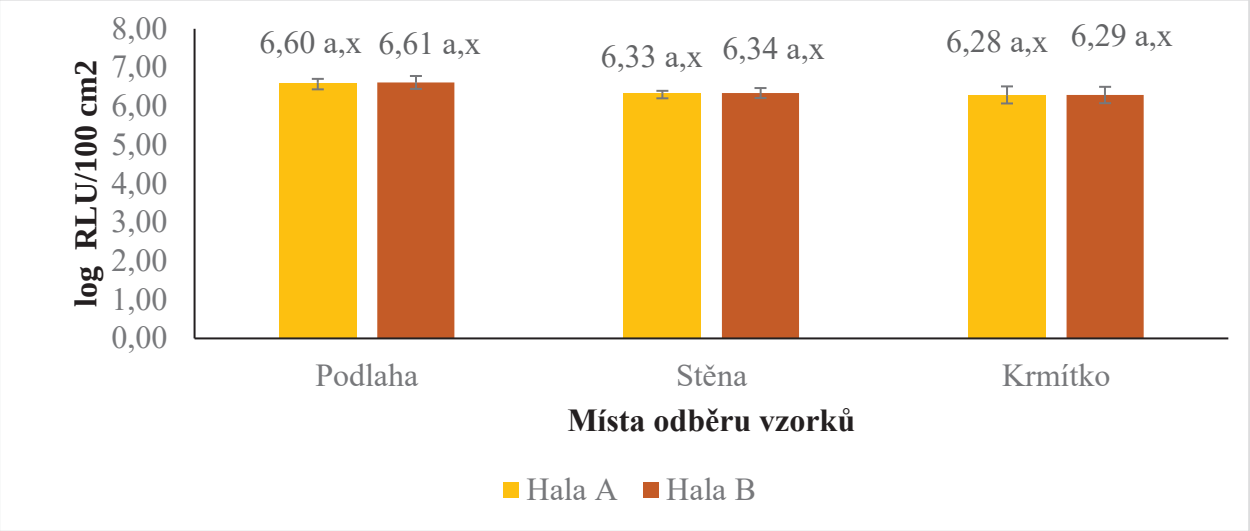
Díky procesu vyskladnění lze přistoupit k použití dezinfekčních látek a jejich koncentrací, které se běžně během turnusu použít nedají, a to skrze svou toxicitu vůči zvířatům. Dalším krokem je odstranění veškeré podestýlky a zbytků krmiv. Mobilní vybavení, které zahrnuje krmítka, napáječky nebo prvky enrichmentu, je možné v této fázi také odmontovat.

Výsledky organické kontaminace v log RLU v obohacených klecích na vybraných místech odběru před sanitací jsou uvedeny v grafu č. 3.

Výsledky poukazují na skutečnost, že monitoring na vybraných halách s technologií obohacených klecí neodhalil v případě ani jedné z hal statisticky významné rozdíly v míře celkového organického znečištění sledovaných míst ($p > 0,05$). Posouzeny byly dále rozdíly v míře kontaminace v závislosti na sledované hale. Z grafu č. 3 je dále patrné, že míra organického znečištění byla na sledovaných halách srovnatelná ($p > 0,05$), a to v případě všech míst odběru vzorků (podlaha, stěna, krmítko). Na obou halách se míra organického znečištění před zahájením sanitace pohybovala v rozmezí 6,48–6,83 log (podlaha), 6,18–6,43 log RLU (stěna) a 6,11–6,58 log RLU (krmítko).

Zjištěné vysoké hodnoty v log RLU poukazují na množství organických nečistot, které mohou na površích ulpívat v případě, že je očista provedena nedostatečně. Příčinu lze hledat ve členitosti a poréznosti materiálu, ale také efektivitě samotné mechanické očisty. Výsledkem je pak obtížnější odstranění přítomných biofilmů (Heyndrickx et al., 2002).

Graf č. 3: Míra celkové organické kontaminace měřená LUM na vybraných místech před sanitací (BS)



a-c Hodnoty v log pro různá místě odběru v jednotlivých halách s různými indexy se statisticky významně liší ($p < 0,05$)
x-y Hodnoty v log pro halu A a B na jednotlivých místech s různými indexy se statisticky významně liší ($p < 0,05$)

Posouzeny byly dále jednotlivé kroky sanitační procedury za účelem zhodnocení míry celkové organické kontaminace v ATP (RLU) na sledovaných místech v obohacených klecových systémech (tabulka č. 2).

Výsledky ukázaly, že míra celkové organické kontaminace měřená LUM se v průběhu jednotlivých kroků sanitační procedury lišila. V případě všech sledovaných míst byla zaznamenána nejvyšší míra celkové organické kontaminace po vyskladnění, případně po procesu mechanického čištění. Mechanické čištění spočívá v suchém a mokrém procesu čištění. Pro oplach vodou se využívá vysokotlakých čističů pro zvýšení účinnosti. Zpravidla se aplikuje i detergent, který lépe uvolňuje ulpívající nečistoty.

Krok mechanické očisty je klíčový, protože by měl zajistit, že následně aplikovaná dezinfekční látka přijde do kontaktu se samotným ošetřovaným povrchem. Skrze dobře provedenou mechanickou očistu lze odstranit více než 99 % mikroorganismů v daném prostředí. Neadekvátně provedená mechanická očista zvyšuje riziko následné reakce dezinfekční látky s organickou kontaminací, což snižuje její účinnost.

Tabulka č. 2: Míra celkové organické kontaminace měřená LUM ve vybraných krocích sanitační procedury

Kroky sanitační procedury	Podlaha		Stěna		Krmítko	
	Log RLU/ 100 cm^2					
	A	B	A	B	A	B
Vyskladnění	6,60 ^{a}	6,61 ^{a}	6,33 ^{a}	6,34 ^{a}	6,28 ^{a}	6,29 ^{a}
Mechanická očista	6,46 ^{a}	6,46 ^{ab}	6,35 ^{a}	6,35 ^{a}	6,47 ^{a}	6,47 ^{a}
Použití detergentu	5,99 ^{ab}	**5,79** ^{b}	**5,62** ^{b}	**5,57** ^{b}	5,39 ^{ab}	5,58 ^{ab}
Mokrá dezinfekce	5,87 ^{b}	6,61 ^{a}	5,54 ^{b}	5,74 ^{b}	5,11 ^{b}	5,51 ^{ab}
Fog	5,38 ^{b}	5,66 ^{b}	**5,81** ^{b}	**5,74** ^{b}	**5,05** ^{b}	**5,21** ^{b}

^{a,b} Hodnoty v log pro stejné místo odběru s různými indexy u jednotlivých kroků sanitační procedury pro halu A a B se statisticky významně liší ($p < 0,05$)

V této dílčí studii je z výsledků měření organického znečištění LUM patrný vliv aplikace detergentu, který na sledovaných místech vedl ke snížení míry celkového organického znečištění. Statisticky potvrzena byla tato skutečnost v případě stěny na obou halách a dále v případě podlahy na hale B ($p < 0,05$).

Další kroky sanitační procedury spjaté s dvoustupňovou dezinfekcí však ukazují, že nemají na pokles míry celkového organického znečištění vliv ($p > 0,05$).

V případě, že je tedy provedena nedostatečně mechanická očista a aplikace detergentu, čistící efekt v sanitační proceduře je nedostatečný, což se projeví sníženou dezinfekční účinnností na samotných površích. Přítomná organická hmota je živným médiem pro mikrorganismy, které mohou být navíc vrstvou nečistot i chráněny vůči účinkům dezinfekce.

Vlastní průběh míry celkové organické kontaminace povrchů během sanitační procedury byl dále zhodnocen s využitím korelačního koeficientu. Sledován byl trend na jednotlivých místech odběru. Ukázalo se, že statisticky významný pokles míry organického znečištění v průběhu sanitační procedury byl potvrzen v případě haly A na podlaze ($Rp = -0,9813$, $p = 0,0031$) a na krmítku ($Rp = -0,9040$, $p = 0,0352$). Na stěnách v hale A a dále na všech sledovaných místech v hale B statisticky významný pokles potvrzen nebyl ($p > 0,05$).

Monitoring sanitační procedury s využitím luminometrie poukázal na klíčovou fázi, a to použití detergentu, který na vybraných plochách může společně se suchou mechanickou očistou snížit přítomnost organických nečistot. Správně provedená mechanická očista je důležitým krokem pro efektivitu následné dezinfekce a pro eliminaci významných infekčních agens u drůbeže jako

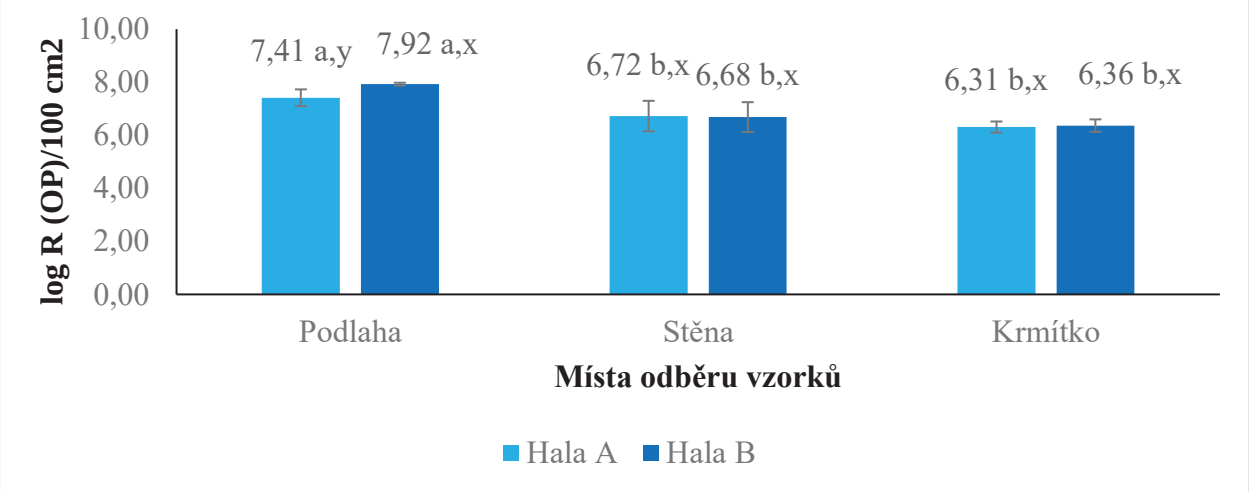
jsou salmonely nebo kampylobakterie (Sevilla-Navarro et al., 2024). Předem vyčištěné povrchy jsou tak pro účinnost sanitace nezbytné.

Měření luminometrem může být podmíněno účinkem dezinfekčních prostředků a také teploty, které mohou ovlivnit bioluminiscenční reakci (Turner et al., 2010). Vysoké hodnoty ATP zjištěné luminometrem se tak v praxi potvrzují detekcí mikrobiální kontaminace kultivačními metodami. V souvislosti s principem měření je nutné zmínit výhodu LUM, kterou je rychlost stanovení (výsledky k dispozici řádově v jednotkách sekund). Dále jsou zmíněny výsledky monitoringu měření s využitím MFC.

Monitoring průběhu sanitační procedury s využitím mobilního průtokového cytometru

Míra organického znečištění hal byla dále zhodnocena s využitím MFC (Cytoquant, Romer Labs Division Holding GmbH). Sledována byla přítomnost reziduálních částic, což jsou částice, které jsou nejen organického, ale i anorganického původu. Na rozdíl od LUM stanovené organické částice jsou vždy rezidua mrtvých buněk. Výsledky monitoringu před zahájením sanitace jsou uvedeny v grafu č. 4.

Graf č. 4: Míra organické kontaminace měřená MFC na vybraných místech před sanitací (BS)



a-c Hodnoty v log pro různá místě odběru v jednotlivých halách s různými indexy se statisticky významně liší ($p < 0,05$)

x-y Hodnoty v log pro halu A a B na jednotlivých místech s různými indexy se statisticky významně liší ($p < 0,05$)

Výsledky monitoringu reziduálních částic na obou halách poukázaly na rozdíly v míře kontaminace na vybraných místech. V případě haly A i B byla nejvíce kontaminovaným místem podlaha, a to statisticky vysoce významně ve srovnání se stěnou (hala A: p = 0,0230; hala B: 0,0273) a krmítkem (hala A: p = 0,0006; hala B: 0,0033). Míra reziduálních částic se na podlahách pohybovala v rozmezí 7,03 – 7,72 log (hala A) a v rozmezí 7,86 – 7,99 log (hala

B). Rozdíl mezi halami v míře kontaminace podlah byl potvrzen i statisticky (p=0,0100). Rozdíly v míře kontaminace mezi halami v případě stěn a krmítek prokázány nebyly (p>0,05). V případě obou hal dále nebyly zjištěny rozdíly v míře kontaminace mezi stěnou a krmítkem (p >0,05). V případě stěn se pohybovala pro obě haly v rozmezí 6,00 – 7,24 log, u krmítek byla míra reziduálních částic v rozmezí 6,06 – 6,53 log.

Posouzen byl dále průběh sanitační procedury, kdy byly odebírány vzorky ve vybraných krocích sanitace za účelem zhodnocení míry reziduální kontaminace na sledovaných místech v obohacených klecových systémech (tabulka č. 3).

Tabulka č. 3: Míra reziduální kontaminace měřená MFC ve vybraných krocích sanitační procedury

Kroky sanitační procedury	Podlaha		Stěna		Krmítko	
	Log reziduí (Other Particles)/ 100 cm^2					
	A	B	A	B	A	B
Vyskladnění	7,41 ^{ab}	7,92 ^{ab}	6,72 ^{ab}	6,68 ^{ab}	6,31 ^{b}	6,36 ^{b}
Mechanická očista	**8,46** ^{a}	**8,46** ^{a}	6,39 ^{b}	6,37 ^{b}	**8,02** ^{a}	**8,05** ^{a}
Použití detergentu	6,63 ^{bc}	6,74 ^{bc}	6,72 ^{ab}	6,33 ^{b}	6,50 ^{ab}	6,47 ^{b}
Mokrá dezinfekce	6,30 ^{c}	7,54 ^{abc}	6,45 ^{b}	6,73 ^{ab}	6,43 ^{b}	6,96 ^{ab}
Fog	6,69 ^{b}	6,17 ^{c}	**7,24** ^{a}	**7,58** ^{a}	6,79 ^{a}	7,17 ^{ab}

^{a,b} Hodnoty v log pro stejné místo odběru s různými indexy u jednotlivých kroků sanitační procedury pro halu A a B se statisticky významně liší ($p < 0,05$)

Výsledky ukázaly, že míra reziduální kontaminace se v množství detekovaných reziduí přístrojem MFC v průběhu jednotlivých kroků sanitační procedury lišila. V případě podlah byla nejvyšší po mechanické očistě, a to na obou halách shodně (8,41 – 8,52 log). V případě stěny byla nejvyšší míra reziduální kontaminace po provedení fogu (hala A: 7,18 – 7,28 log; hala B: 7,33 – 7,85 log). Na krmítcích byla nejvyšší míra reziduální kontaminace po mechanické očistě (shodně obě haly: 7,57 – 8,49 log).

V souvislosti s dynamickým průběhem míry reziduální kontaminace při jednotlivých krocích sanitační procedury byl dále posouzen trend míry reziduální kontaminace v průběhu sanitace. Výsledky ukázaly, že na žádném ze sledovaných míst v případě obou hal nebyl potvrzen statisticky významný pokles (p > 0,05) míry reziduální kontaminace měřené MFC (podlaha: rP = -0,7648; -0,7816; stěna: rP = 0,5151; -0,6770 ; krmítko: rP= -0,1411; 0,1257;).

Monitoring s využitím MFC poukázal i na možnost záchytu anorganických částic na rozdíl od LUM. Z výsledků je patrné, že reziduální částice nebyly efektivně sanitační kroky odbourány, což poukazuje na vysokou přítomnost nejen organických, ale i anorganických nečistot, které na površích zůstávaly až do ukončení sanitace.

Shrnutí účinnosti sanitace provedené v chovu a možná doporučení

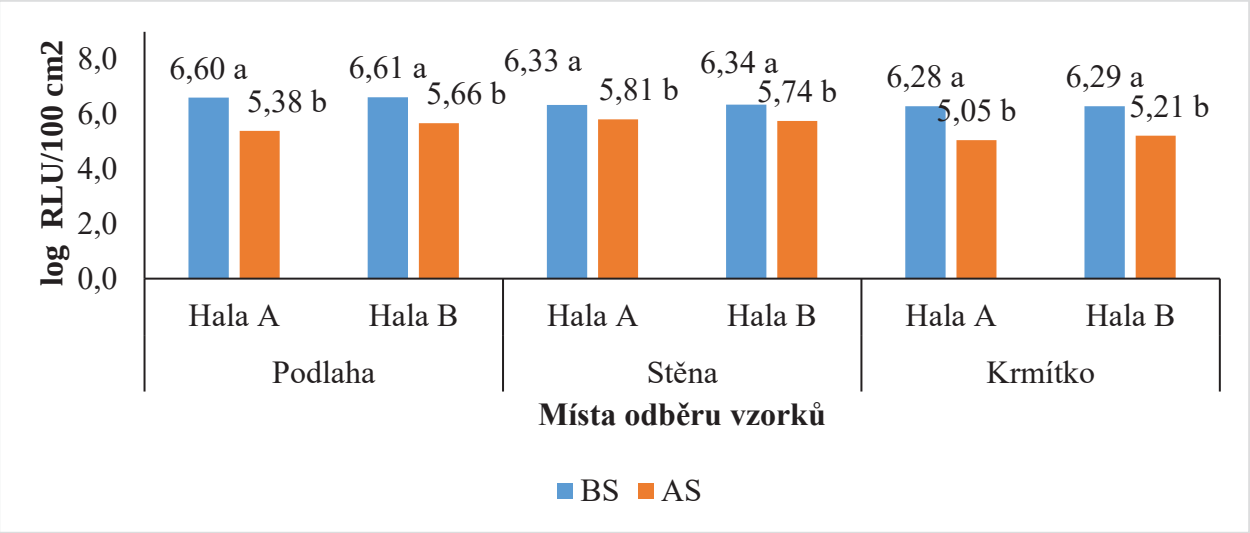
Úroveň hygieny prostředí na farmách může být odlišná v závislosti na managementu chovu, úrovni biosekurity a používané technologii. Výsledkem může být různé mikrobiální složení, které je nutné čištěním a dezinfekcí odstranit.

Pro posouzení sanitační účinnosti na halách nosnic s technologií obohacených klecí byly využity výsledky měření obou aplikovaných rychlých detekčních metod. Dosaženými výsledky je cílem zhodnotit vliv provedené sanitace na míru snížení celkového organického znečištění (ATP) a reziduální kontaminace (rezidua). Výsledky pro účinek sanitační procedury na celkovou organickou kontaminaci (ATP) jsou uvedeny v grafu č. 5 a pro reziduální kontaminaci v grafu č. 6.

Nejprve byly zhodnoceny výsledky účinnosti sanitace s využitím LUM. Z výsledků grafu č. 5 je patrné, že na obou halách a sledovaných místech v obohacených klecích byl potvrzen statisticky významný pokles míry celkové organické kontaminace ($p < 0,05$). Zhodnocení míry kontaminace po sanitaci však potvrdilo, že sanitace vysoký čistící účinek neměla. Nejvyšší čistící účinek byl potvrzen v případě krmítka, a to na hale A (19,54 %) a hale B (17,10 %). V případě podlah byl na hale A sanitační účinek 18,44 %, v případě haly B byl sanitační účinek pouze 14,38 %. Nejnižší čistící účinek byl potvrzen na stěnách (hala A: 8,24 %; hala B: 9,41 %). Příčinou nízké účinnosti může být nedostatečná mechanická očista, což potvrdily i výše uvedené výsledky, kdy pouze v případě stěny na obou halách a podlahy na hale B byl potvrzen pokles vlivem použitého detergentu. Použití detergentu je pro uvolnění nečistot z povrchů klíčové (Hancox et al., 2013). Chybně aplikovaná pěna s detergentem může snížit jeho působení a tím i omezit účinek mechanické očisty před aplikací dezinfekce.

V případě LUM je nutné brát v úvahu i možnou interferenci při vlastním měření v případě přítomnosti reziduí dezinfekčních prostředků (Møretrø et al., 2019).

Graf č. 5: Účinek sanitační procedury na celkovou organickou kontaminaci na sledovaných halách



a-b Hodnoty v log pro různá místě odběru haly A a B s různými indexy pro odběr před sanitací (BS) a po sanitaci (AS) se statisticky významně liší ($p < 0,05$)

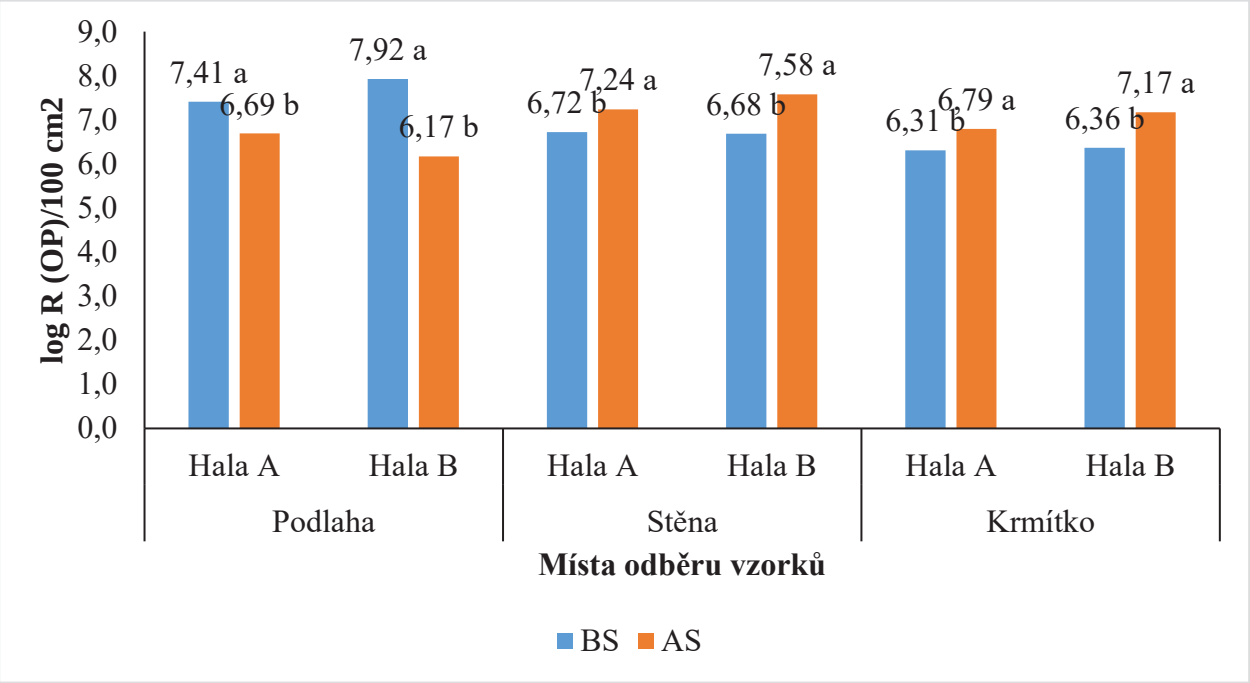
Dále byl sledován sanitační účinek na snížení míry reziduální kontaminace, která představuje organické, ale i anorganické složky kontaminace (graf č. 6).

Výsledky zhodnocení sanitační účinnosti s MFC ukázaly, že na všech sledovaných místech obou hal byla zaznamenána změna v reziduální kontaminaci jako výsledek sanitační procedury ($p>0,05$). Nutné je však uvést, že pouze v případě podlahy měla sanitační procedura vliv na snížení reziduální kontaminace.

V případě haly A byl pokles reziduální kontaminace měřené MFC o 9,77 %, v případě haly B o 22,15 %. Na stěnách i krmítkách došlo naopak ke zvýšení míry reziduální kontaminace, což poukazuje na opětovnou rekontaminaci těchto ploch anorganickými i organickými nečistotami. V případě stěny byl nárůst o 7,67 % (hala A) a o 13,38 % (hala B). Na krmítcích byl nárůst o 7,69 % (hala A) a o 12,73 % (hala B).

Schopnost MFC detekovat i anorganické částice umožňuje posoudit míru zůstávajících nečistot na technologii komplexně. Výsledky MFC potvrzují závěry luminometrického zhodnocení organického znečištění, kdy se ukázalo, že mechanická očista nebyla na sledovaných místech efektivně provedena. Výsledky MFC následně poukazují i na skutečnost, že v technologii hrozí rekontaminace ploch, a to i anorganickým materiálem, který v hale cirkuluje ve formě prachu a při úkonech tlakového čištění se rozstřikuje na detekované povrchy. Jako klíčový problém se ukázaly sběrné pásy na trus, které nebyly během sanitace účinně ani na jedné z hal očištěny, což ke kontraminaci v klecích významně přispělo.

Graf č. 6: Účinek sanitační procedury na reziduální kontaminaci na sledovaných halách



a-b Hodnoty v log pro různá místě odběru haly A a B s různými indexy pro odběr před sanitací (BS) a po sanitaci (AS) se statisticky významně liší ($p < 0,05$)

Vhodná opatření na farmách

Správný postup při mechanické očistě a následný účinek dezinfekce může přispět k dobrému zdraví drůbeže, což je zásadní pro bezpečnost potravin, ale také významné pro welfare chovaných zvířat (Gosling, 2018).

Lidský faktor je pro sanitaci klíčovým faktorem. Pohyb personálu i techniky může přispět k rekontaminaci v době, kdy je prováděna sanitační procedura a dále před samotným naskladněním zvířat (Marin et al., 2011). Nutné je ze strany personálu dodržovat sanitační řády a využívat hygienické bariéry, které riziko rekontaminace omezí.

Při mechanické očistě je důležitým krokem vedle suchého čištění i použití tlakového mytí v kombinaci s detergentem, který sníží povrchové napětí a lépe uvolní nečistoty. Měli by být upřednostňovány detergenty s pěnotvornou složkou s odpovídajícími vlastnostmi. Nutné je správné nastavení generátoru a pěnového nástavce. Pěna umožňuje prodloužit expozici čistícího prostředku s ošetřovaným povrchem. To je žádoucí zejména na vertikálních a hůře dostupných površích. Požadavky na vhodné vlastnosti pěny jsou následující:

- Stabilita pěny (obvykle 10–20 minut)
- Rovnoměrné pokrytí ošetřovaného povrchu
- Nenarušuje ošetřovaný povrch
- Kompatibilita s dezinfekčními prostředky

Pěnování může přispět ke zvýšení účinnosti mechanického čištění, a tím může zajistit i celkovou účinnost následné dezinfekce. Mechanickou očistou lze dosáhnout výrazného snížení přítomných mikroorganismů (Atterbury et al., 2020). Důležitým krokem je i vlastní dezinfekce. Aplikace postřikem zajišťuje lepší průnik dezinfekčních látek do hůře přístupných ploch. Druhým stupněm dezinfekce je pak fogování. Je nutné připravit správnou koncentraci a dodržovat vhodnou dobu expozice. Po ukončení sanace následuje odpočinutí stáje po jejím vysušení, které je standardně nejméně 10 dní.

Vlastní sanitace by měla být ověřována kontrolou její účinnosti, a to monitoringem organického znečištění, které může být doplněno o kultivační vyšetření. Přítomné nedostatky v proceduře jsou důvodem pro revizi prováděné mechanické očisty a dezinfekce a aktualizaci sanitačního plánu nebo přeškolení personálu, který sanitaci zajišťuje.

ZÁVĚR

Rostoucí zájem veřejnosti o kvalitní živočišné produkty, jejich původ a podmínky chovu zvyšuje význam sledování hygieny prostředí na farmách. Monitoring organického znečištění v chovech nosnic s technologiemi obohacených klecí byl realizován pomocí luminometrie a mobilní průtokové cytometrie. Zhodnoceno bylo spektrum detekovaných nečistot a vztah mezi výsledky obou metod. Odlišný princip měření, kdy luminometrie stanovuje veškerou organickou hmotu obsahující ATP, zatímco MFC detekuje pouze neživou organickou hmotu a dále anorganické částice, potvrdil absenci statisticky významné korelace mezi metodami.

Obě metody prokázaly vysokou úroveň kontaminace před zahájením sanitace. V průběhu sanitačních kroků se ukázalo, že provedená mechanická očista nebyla dostatečně účinná. Aplikace detergentu vedla ke snížení organického znečištění pouze na stěnách klecí v obou halách a na podlaze v hale B. Klíčovým zdrojem kontaminace byl sběrný pás, který nebyl během sanitace účinně očištěn.

Nedostatečný efekt provedené mechanické očisty je patrný i na celkovém účinku samotné sanitační procedury, která na sledovaných místech nepřesáhla při posouzení zbytkové celkové organické kontaminace (měření luminometrem) 20 %. V případě posouzení reziduální kontaminace (měření mobilním průtokovým cytometrem) byla 22 %. Nízká účinnost sanitace je podmíněna ulpívajícími nečistotami na površích, které již dezinfekcí odstranit nelze. Výsledkem je pak přítomnost reziduí organických nečistot, snadný růst mikroorganismů a riziko infekce zvířat v dalších turnusech. Celkové zhodnocení poukázalo na nedostatky v provádění sanitace na dané farmě, které si vyžadují nápravu, vyšší důraz na hygienickou praxi a dodržování sanitačního programu.

Z praktického hlediska lze obě metody považovat za vhodné nástroje pro rychlý screening povrchové kontaminace. Luminometrie je vhodná pro rychlou orientační kontrolu přítomného organického znečištění, kdy představuje test k určení čistoty povrchů. Mobilní průtokový cytometr a jím detekovaná rezidua jsou obrazem detailnějšího zhodnocení míry kontaminace povrchů nejen organickým, ale i anorganickým materiálem. Monitoring hygieny na farmách by měl být vždy na holistickém přístupu, kdy dostupné rychlé detekční metody poskytují dílčí nástroj k celkovému zhodnocení. Nenahrazují však tradiční kultivační metody.

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bychom rádi poděkovali:
O.K. SERVIS BioPro, s.r.o.: technická podpora a konzultace dosažených výsledků při měření přístrojem CytoQuant (Romer Labs Division Holding GmbH)
Tato práce byla financovaná grantem ITA VETUNI 2026ITA21 (Projekt Interní tvůrčí agentury Veterinární univerzity Brno č. 2026ITA21).

POUŽITÁ LITERATURA

1. ATTERBURY, R.J. et al. An improved cleaning system to reduce microbial contamination of poultry transport crates in the United Kingdom. In *Journal of Applied Microbiology* 2020, vol. 128, pp. 1776–1784.
2. AYCICEK, H. et al. Comparison of results of ATP bioluminescence and traditional hygiene swabbing methods for the determination of surface cleanliness at a hospital kitchen. In *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2006, vol. 209, pp. 203–206.
3. BAKKE, M.A comprehensive analysis of ATP tests: Practical use and recent progress in the total adenylate test for the effective monitoring of hygiene. In *Journal of Food Protection* 2022, vol. 85, pp. 1079–1095.
4. 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, pp. 729–737.
5. BLOKHUIS, H.J. et al. The LayWel project: welfare implications of changes in production systems for laying hens. In *World's Poultry Science Journal* 2007, vol. 63, pp. 101–114.
6. BORGES, G.A.O. et al. Aspectos do manejo sanitário abordado no intervalo entre lotes de aves de corte - breve revisão de literatura. In *Revista Agrária Acadêmica* 2023, vol. 6, pp. 27–36.

7. BORILOVA, G. et al. Incidence and antimicrobial resistance of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli in broiler flocks in the Czech Republic [online]. 2006 [cit. 2026.06.03.] Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/238108186_Incidence_and_antimicrobial_resistance_of_Campylobacter_jejuni_and_Campylobacter_coli_in_broiler_flocks_in_the_Czech_Republic#fullTextFileContent
8. CAMPBELL, D.L.M. et al. A review of environmental enrichment for laying hens during rearing in relation to their behavioral and physiological development. In *Poultry Science* 2019, vol. 98, pp. 9–28.
9. CASALINO, G. et al. Prevalence and antimicrobial resistance of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli from laying hens housed in different rearing systems. In *Animals* 2022, vol. 12.
10. ČMDÚ. *České drůbežářství prochází zásadní změnou ve způsobu produkce!* [online]. 2026. [cit. 2026.06.03.] Dostupné z: https://www.ospzv-aso.cz/obsah/71/ceske-drubezarstvi-prochazi-zasadni-zmenou-ve-zpusobu-produk/337442.
11. ČSÚ. *Stavy drůbeže, produkce konzumních vajec a jatečné drůbeže*. [online]. 2025. [cit. 2026.27.03.] Dostupné z: https://vdb.czso.cz/vdbvo2/faces/index.jsf?page=vystup-objekt&z=T&f=TABULKA&skupId=2178&katalog=30840&pvo=ZEMDDRUBEZ01&pvo=ZEMDDRUBEZ01
12. EFSA. *Avian influenza overview December 2025–February 2026*. [online]. 2026. [cit. 2026.28.03.]. Dostupné z: doi:10.2903/j.efsa.2026.10015.
13. ENGLMAIEROVÁ, M. et al. Effects of laying hens housing system on laying performance, egg quality characteristics, and egg microbial contamination. In *Czech Journal of Animal Science* 2014, vol. 59.
14. EUROPEAN COMMISSION. End the Cage Age. *In European Commission Communication from the Commission on the European Citizens' Initiative (ECI)* [online]. 2021. [cit. 2026.30.03.]. Dostupné z: https://food.ec.europa.eu/animals/animal-welfare/eci/eci-end-cage-age_en
15. FAIVRE, Q. Cleaning and disinfection of poultry house: a key step in poultry farm biosecurity. *Novocenter*. [online]. 2023. [cit. 2026.30.03.]. Dostupné z: https://novocenter.novogen-layers.com/experts-articles/cleaning-and-disinfection-of-poultry-house-a-key-step-in-poultry-farm-biosecurity/
16. FOSSUM, O. et al. Causes of mortality in laying hens in different housing systems in 2001 to 2004. In *Acta Veterinaria Scandinavica* 2009, vol. 51.

17. GAST, R.K. et al. Research note: Horizontal transmission and internal organ colonization by Salmonella Enteritidis and Salmonella Kentucky in experimentally infected laying hens in indoor cage-free housing. In *Poultry Science* 2020, vol. 99, pp. 6071–6074.
18. GOSLING, R.A review of cleaning and disinfection studies in farming environments. In *Livestock* 2018, vol. 23, pp. 232–237.
19. HANCOX, L.R. et al. Inclusion of detergent in a cleaning regime and effect on microbial load in livestock housing. In *The Veterinary Record* 2013.
20. HEINEMANN, C. et al. Hygiene management in newborn individually housed dairy calves focusing on housing and feeding practices. In *Journal of Animal Science* 2021, vol. 99.
21. HEYNDRICKX, M. et al. Routes for salmonella contamination of poultry meat: epidemiological study from hatchery to slaughterhouse. In *Epidemiology & Infection* 2002, vol. 129, pp. 253–265.
22. HINKLE, D.E. et al. Applied statistics for the behavioral sciences. Boston 2003.
23. CHANCY, A. et al. Standardization and validation of ATP luminometry as a diagnostic tool to assess cleanliness of feeding equipment in preweaning calves. In *Journal of Dairy Science* 2023, vol. 106, pp. 6263–6274.
24. CHARM SCIENCES, INC. NovaLUM II X System. [online]. 2026. [cit.2026.30.03.]. Dostupné z: https://www.charm.com/products/equipment/luminometers/novalum-ii-atp-detection-system/
25. 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.
26. JONES, D. R. et al. Microbiological impact of three commercial laying hen housing systems. In *Poultry Science* 2015, vol. 94, pp. 544–551.
27. LU, H. et al. Microbial aerosols in livestock farming environment: A threat that cannot be ignored. In *Veterinary Sciences* 2025.
28. 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, pp. 740–749.
29. MAERTENS, H. et al. Evaluation of the hygienogram scores obtained after cleaning and disinfection of poultry houses in Flanders. In *Poultry Science* 2018, vol. 97, pp. 620–627.
30. MAKOVSKA, I. et al. Methods for assessing efficacy of cleaning and disinfection in livestock farms: a narrative review. In *Frontiers in Veterinary Science* 2025.
31. MALLIORIS, P. et al. Biosecurity and antimicrobial use in broiler farms across nine European countries. In *Epidemiology & Infection* 2023, vol. 151.

32. MARIN, C. et al. Sources of Salmonella contamination during broiler production in Eastern Spain. In *Preventive Veterinary Medicine* 2011, vol. 98, pp. 39–45.
33. MILDENHALL, K. B.; RANKIN, S. A. Implications of adenylate metabolism in hygiene assessment: A review. In *Journal of Food Protection* 2020, vol. 83, pp. 1619–1631.
34. MØRETRØ, T. et al. Evaluation of ATP bioluminescence-based methods for hygienic assessment in fish industry. In *Journal of Applied Microbiology* 2019, vol. 127, pp. 186–195.
35. MYŠKOVÁ, P.; KARPÍŠKOVÁ, R. Prevalence and characteristics of Salmonella in retail poultry and pork meat in the Czech Republic during 2013–2014. In *Czech Journal of Food Sciences* 2017, vol. 35, pp. 106–112.
36. RIBER, A. B. et al. Environmental enrichment for broiler breeders: An undeveloped field. In *Frontiers in Veterinary Science* 2017, vol. 4.
37. ROMER LABS. *Introducing CytoQuant*. [online]. 2022a. [cit.2026.10.03.]. 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
38. ROMER LABS. Revolution or Mere Evolution? Flow Cytometry and Verification of Cleaning and Disinfection in Food Manufacturing Facilities. [online]. 2022b. [cit.2026.10.03.]. Dostupné z: https://www.romerlabs.com/en/library/knowledge/detail/revolution-or-mere-evolution
39. SEVILLA-NAVARRO, S. et al. Fighting Salmonella Infantis: bacteriophage-driven cleaning and disinfection strategies for broiler farms. In *Frontiers in Microbiology* 2024.
40. SIKSTA, H., et al. *Nákazová situace v Evropě a v ČR v období 8. - 31. 12. 2025*. [online]. 2026 [cit.2026.10.03.].Dostupné z: https://vetkom.cz/zpravy/svs/case:detailPdf/ itemId:525488/cgId:15623
41. SOUILLARD, R. et al. Biosecurity implementation on large-scale poultry farms in Europe: A qualitative interview study with farmers. In *Preventive Veterinary Medicine* 2024, vol. 224.
42. SVS. *Jaké hlavní změny přináší novela zákona na ochranu zvířat pro chovatele hospodářských zvířat, šelem či lidoopů?*. [online]. 2021. [cit.2026.10.03.].Dostupné z: https://www.svscr.cz/jake-hlavni-zmeny-prinasi-novela-zakona-na-ochranu-zvirat-pro-chovatele-hospodarskych-zvirat-selem-ci-lidoopu/
43. SVS. *Výskyt ptačí chřipky v Evropě a ve světě 2025*. [online]. 2026. [cit.2026.10.03.]. Dostupné z: https://www.svscr.cz/zdravi-zvirat/ptaci-chripka-influenza-drubeze/vyskyt-ptaci-chripky-v-evrope-a-ve-svete-2025/

44. 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, pp. 190–195.
45. ÚED et al. *Bilance spotřeby a výroby vajec*. [online]. 2026. [cit.2026.10.03.]. Dostupné z: https://ipodpora.odbory.info/dms/soubory/index?file=Bilance%20spotreby%20a%20vyroby%20vajec_20260330070542.pdf
46. VERZHYKHOVSKY, O.; NEDOSEKOV, V. Key aspects of biosafety in modern animal husbandry. In *Ukrainian Journal of Veterinary Sciences* 2024, vol. 3, pp. 41–54.

Kontaktní adresa: Michal Kaluža, 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

TESTOVANIE ÚČINKU RASTLINNÝCH EXTRAKTOV VOČI KOAGULÁZA-NEGATÍVNYM STAFYLOKOKOM

TESTING THE ACTIVITY OF PLANT EXTRACTS AGAINST COAGULASE-NEGATIVE STAPHYLOCOCCI

Király Ján[1], Hajdučková Vanda[1], Hudecová Patrícia[1], Pilipčinec Emil[1], Teleky Jana[2]

[1]Katedra mikrobiológie a imunológie, [2]Katedra morfologických disciplín

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

ABSTRACT

Mastitis in dairy cows is a significant health and economic problem in livestock farming. Staphylococci are among the common causative agents of this disease. These microorganisms are able to form a biofilm, which increases their virulence and contributes to higher resistance to antimicrobial agents. Of the total number of milk samples collected from dairy cows with subclinical mastitis (n=29), 46 isolates of coagulase-negative staphylococci (CoNS) were identified by culture, microscopy and biochemical methods. For all CoNS isolates, the ability to form biofilm was tested using a modified method according to O' Toole (1999). Strong biofilm producers were selected from the CoNS isolates and antibiotic resistance was confirmed in 5 isolates, for which the antibacterial and antibiofilm activity of plant extracts from rhubarb root (*Rhei radix*) and licorice root (*Liquiritiae radix*) was tested by the spectrophotometric microtiter method according to O' Toole (1999). Antibacterial activity against CoNS was confirmed in both extracts at a concentration of 0.25 %. The antibiofilm activity of the licorice root extract was at concentrations of 0.5 – 0.06 % and that of the rhubarb root extract at concentrations of 0.5 – 0.125 %.

Key words: mastitis, coagulase-negative staphylococci, biofilm, plant extracts

ÚVOD

Zápal mliečnej žľazy je multifaktoriálne ochorenie, ale jeho primárnou príčinou býva infekcia spôsobená patogénom. Dojnice trpiace klinickou alebo subklinickou formou mastitídy produkujú mlieko zníženej kvality, čo ovplyvňuje aj ľudí ako jeho konzumentov. Medzi pôvodcov klinických aj subklinických mastitíd patria stafylokoky, najmä *S. aureus,* ale aj koaguláza-negatívne stafylokoky (CoNS), napríklad *S. haemolyticus*, *S. xylosus* a *S. epidermidis* (Cheng a Han 2020). Tieto mikroorganizmy disponujú viacerými faktormi

virulencie, ktoré im umožňujú adherenciu na epitelové bunky, invazivitu, produkciu toxínov a enzýmov, ako aj tvorbu biofilmu. Tieto faktory sú často so spojené zvýšenou antibiotickou rezistenciou, čo predstavuje ďalší problém pri liečbe a kontrolovaní infekcie v chovoch (Abril et al. 2022).

Schopnosť tvorby biofilmu u baktérií je významný faktor virulencie. Biofilm je definovaný ako koherentná skupina bakteriálnych buniek zabudovaných v biopolymérnej matrici, ktorá v porovnaní s planktonickými bunkami vykazuje zvýšenú toleranciu voči antimikrobiálnym látkam a zároveň odoláva obranným mechanizmom hostiteľa. Predpokladá sa, že biofilm predstavuje prirodzený spôsob rastu baktérií. Infekcie spojené s biofilmom sú často ťažko eradikovateľné, keďže prítomnosť baktérií v biofilme im poskytuje ochranu pred nepriaznivými faktormi prostredia, antibiotikami a imunitnou odpoveďou hostiteľa (Pedersen et al. 2021).

Nadmerné a často neuvážené používanie antibiotík v živočíšnej výrobe prispieva k selekcii rezistentných kmeňov baktérií, čo komplikuje liečbu mastitíd, znižuje jej úspešnosť a rizikom vzniku rezistencie ohrozuje verejné zdravie (Ajose et al. 2022). Preto je potrebné hľadať alternatívne spôsoby liečby stafylokokových infekcií, ako napríklad použitie rastlinných extraktov alebo éterických olejov (EO). V rastlinách sa prirodzene vyskytuje množstvo rôznych polyfenolov rozdelených do jednotlivých skupín na základe ich štruktúry. Okrem antibakteriálnej a antibiofilmovej aktivity vykazujú aj aktivitu antioxidačnú, antimutagénnu, či antikarcinogénnu (Süli a kol. 2014).

MATERIÁL A METODIKA

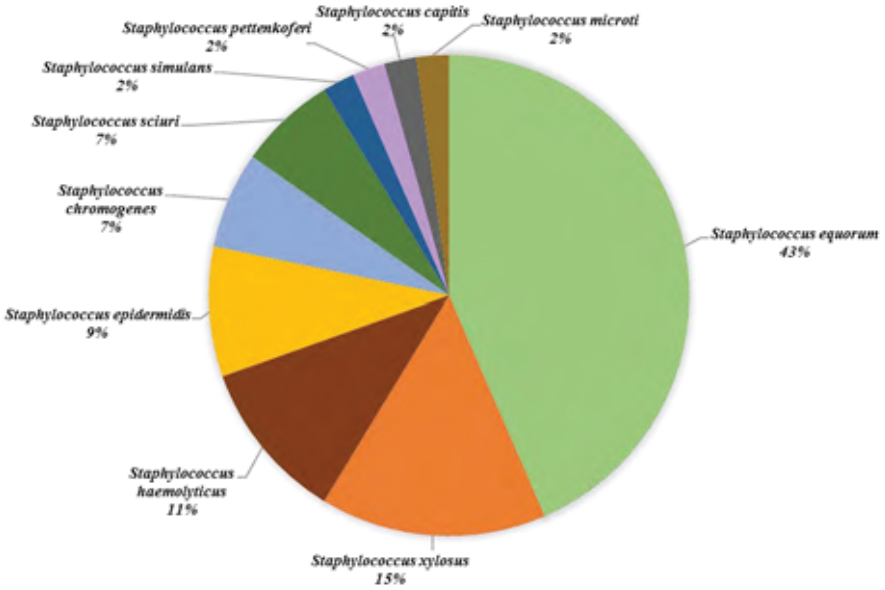
Všetky vzorky mlieka boli odoberané do zmesnej vzorky po predchádzajúcom vyšetrení NK testom, ktorý je jednou z najdôležitejších metód na posúdenie kvality mlieka a detekciu zápalových procesov u dojníc. Tento test slúži na kvantifikáciu somatických buniek, ktorých počet sa zvyšuje pri infekčných alebo zápalových ochoreniach, ako je mastitída. Vzorky mlieka s pozitívnym NK testom boli naočkované na vopred pripravené kultivačné médiá určené na izoláciu stafylokokov – Baird-Parker agar a Manitol slaný agar a kultivované 24 hodín pri 37 °C. Všetky stafylokoky boli identifikované mikroskopicky a biochemicky základnými biochemickými testami (kataláza, oxidáza, koaguláza) a využitím komerčnej biochemickej súpravy STAPHYtest 24 určenej na druhovú identifikáciu stafylokokov. U všetkých identifikovaných CoNS bola testovaná schopnosť tvorby biofilmu modifikovanou metódou podľa O' Toole (1999). Do každej jamky mikrotitračnej platničky bolo pridaných 100 µl bakteriálnej suspenzie vo fyziologickom roztoku a 100 µl modifikovaného BHI média (37 g BHI, 20 g NaCl, 10 g glukózy/l). Po 24 hodinovej inkubácii pri 37 °C bol obsah jamiek odsatý

a do každej jamky bolo pridaných 200 µl 0,1 % roztoku kryštálovej violete. Následne bolo farbivo rozpustené 30 % kyselinou octovou a absorbancia bola meraná použitím prístroja SYNERGY READER 2 (BioTek, Merck, SRN) pri 550 nm. Schopnosť produkcie biofilmu bola vyhodnotená podľa Stepanović et al. (2007), ako negatívna kontrola bol použitý *S. epidermidis* CCM 4418. U všetkých identifikovaných izolátov CoNS, ktorí boli silnými producentami biofilmu a bola u nich potvrdená rezistencia, bola testovaná antibakteriálna a antibiofilmová aktivita rastlinných extraktov – koreň rebarbory (*Rhei radix*) a koreň sladkého drievka (*Liquiritiae radix*) spektofotometrickou mikrotitračnou metódou podľa O´Toole (1999). Rastlinné extrakty nariedené v modifikovanom BHI bujóne v koncentrácii 0,06 %, 0,125 %, 0,25 % a 0,5% boli inkubované s bakteriálnou suspenziou testovaných CoNS 24 hodín pri 37 °C. Antibakteriálna aktivita rastlinných extraktov bola hodnotená meraním absorsorbanie pri 600 nm, antibiofilmová aktivita pri 550 nm. Dosiahnuté výsledky boli vyhodnotené pomocou štatistického programu Prism 8.3.0 použitím jednosmernej ANOVA – Dunettov test.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Celkový počet odobratých vzoriek mlieka od dojníc so subklinickou formou mastitídy bol 29. Kultivačne, mikroskopicky a biochemicky boli identifikované CoNS (n = 46) (Graf č. 1).

Graf č. 1, Druhové zastúpenie CoNS z mlieka dojníc



Koaguláza-negatívne stafylokoky (CoNS) patria medzi významné oportúnne patogény podieľajúce sa na vzniku mnohých infekcií ľudí a zvierat. Výskumy dokazujú, že sú často krát priamo zodpovedné za vznik a priebeh ťažko eradikovateľných ochorení. Pri výskyte

u hospodárskych zvierat môžu byť príčinou značných ekonomických strát v poľnohospodárstve a hrozbou pre potravinovú bezpečnosť. Medzi najčastejšie izolované druhy CoNS pri mastitídach sú *S. epidermidis* , *S. haemolyticus, S. saprophyticus* , *S. capitis* a *S. warneri, S. chromogenes, S. xylosus* (Argemi et al. 2019). V našej práci z 29 analyzovaných vzoriek mlieka od dojníc so subklinickou formou mastitídy bolo identifikovaných celkovo 46 izolátov CoNS, pričom najviac zastúpeným druhom bol *S. equorum* (n = 20). Dôležitým faktorom patogenity stafylokokov je aj schopnosť tvorby biofilmu, ktorá zvyšuje odolnosť baktérií voči antibiotikám a umožňuje im unikať imunitnej odpovedi hostiteľa. De Buck et al. (2021) vo svojej práci uvádza, že 60 – 80 % izolátov je schopných tvoriť biofilm. Iné práce uvádzajú odlišné výsledky, napríklad 96,7 % biofilm-produkujúcich CoNS (ZHU et al. 2026) alebo približne 31,3 % izolátov (Simojoki et al. 2012), čo môže súvisieť s použitými metodikami a kultivačnými médiami. U všetkých 46 identifikovaných izolátov CoNS bola testovaná schopnosť tvorby biofilmu. Intenzita biofilmu bola stanovená spektrofotometricky na základe hodnôt absorbancie meraných pri vlnovej dĺžke 550 nm. Na základe optickej denzity boli kmene klasifikované podľa kritérií Stepanović et al. (2007) (Tabuľka č. 1). Na základe posúdenia hodnôt absorbancie zo 46 izolátov CoNS bolo 29 vyhodnotených ako silní producenti biofilmu (Graf č. 2).

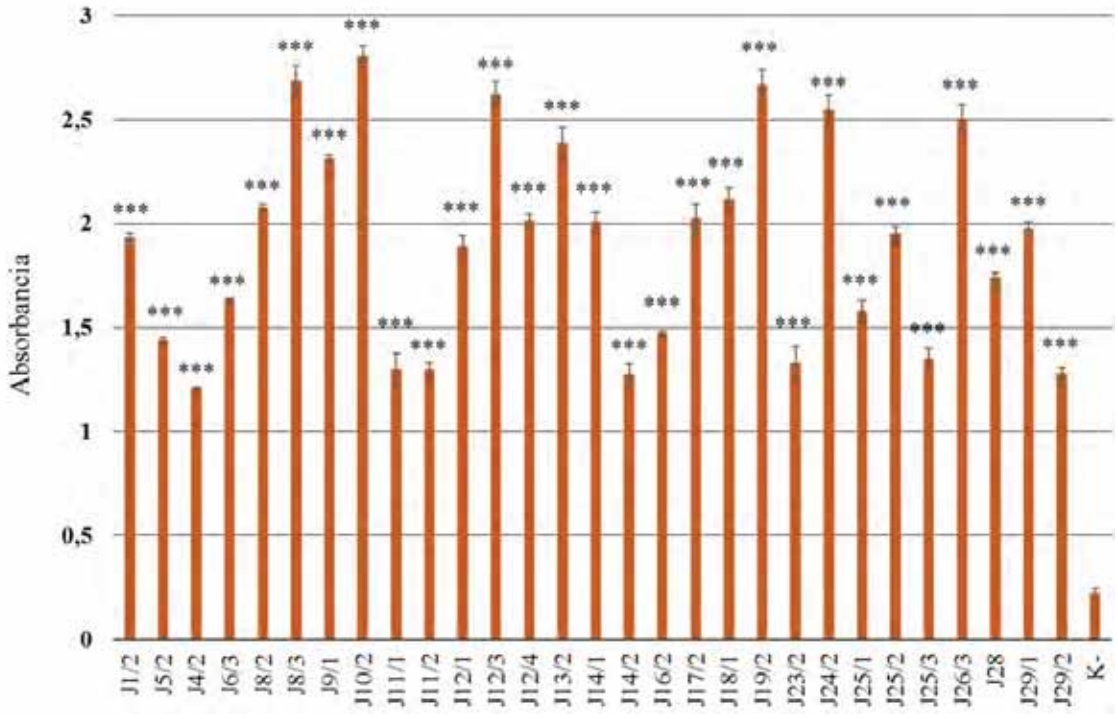
U 5 izolátov CoNS – *S. equorum* 11/1, *S. equorum* 16/2, *S. xylosus* 25/2, *S. sciuri* 25/3 a *S. chromogenes* 29/1, bola potvrdená aj multirezistencia na antibiotiká. Antibakteriálna a antibiofilmová aktivita rastlinných extraktov – koreň rebarbory a koreň sladkého drievka bola testovaná u 5 izolátov CoNS, ktorí boli vyhodnotení ako silní producenti biofilmu a rezistentní na antibiotiká. Na základe vykonaných meraní bolo zistené, že extrakt z koreňa sladkého drievka vykazoval signifikantnú antibakteriálnu aktivitu voči všetkým testovaným izolátom stafylokokov pri koncentrácii 0,25 % a bola potvrdená jeho antibiofilmová aktivita voči všetkým testovaným izolátom CoNS vo všetkých testovaných koncentráciách v rozmedzí 0,5 - 0,06 %. Rastlinný extrakt z koreňa rebarbory vykazoval antibakteriálnu aktivitu tiež pri koncentrácii 0,25 %, avšak pri nižších koncentráciách (0,125 % a nižšie) nebola pozorovaná žiadna antibakteriálna aktivita voči testovaným CoNS. Antibiofilmovú aktivitu vykazoval voči všetkým testovaným izolátom CoNS pri koncentráciách 0,5 – 0,125 %, pričom pri nižších koncentráciách nebol pozorovaná inhibícia tvorby biofilmu. Extrakt zo sladkého drievka obsahujúci glabridín, polyfenolový flavonoid s preukázanou terapeutickou účinnosťou, preukázal *in vitro* účinok proti multirezistentným izolátom *S. aureus* indukovaním oxidačného stresu (Singh et al., 2015). Podobne, extrakt z rebarbory vykazoval inhibičný efekt na rast stafylokokových kmeňov, pričom jeho účinnosť sa zvyšovala s koncentráciou extraktu a bola výraznejšia voči Gram-pozitívnym baktériám, pričom inhibičný účinok sa pohyboval od 15 do

95 % v závislosti od koncentrácie extraktu a druhu baktérie. Najnovšie štúdie ukazujú, že polyfenolické extrakty môžu pôsobiť synergicky s antibiotikami, čo zvyšuje ich účinnosť voči rezistentným kmeňom a minimalizuje riziko vzniku rezistencie (Mazzantini et al. 2024). Yuan et al. (2022) preukázali, že viaceré extrakty tradičných čínskych liečivých rastlín dokázali signifikantne inhibovať tvorbu biofilmu u kmeňa *S. aureus*. Podobne Rafey et al. (2021) uvádzajú približne 45 % inhibíciu biofilmu pri použití extraktu zo sladkého drievka, pričom kombinácia s inými rastlinnými extraktmi viedla k ešte vyššej inhibícii, pravdepodobne v dôsledku synergického pôsobenia bioaktívnych zlúčenín.

Tabuľka č. 1, Hodnotenie tvorby biofilmu

TVORBA BIOFILMU	HODNOTA OPTICKEJ DENZITY
netvoriace biofilm	< 0,28833
slabo tvoriace biofilm	0,28834 − 0,57666
stredne tvoriace biofilm	0,57667 − 1,15332
silne tvoriace biofilm	> 1,15333

Graf č. 2, Biofilmová aktivita CoNS



*** $p < 0,001$

K- *Staphylococcus epidermidis* CCM 4418

ZÁVER

Stafylokoky predstavujú významných pôvodcov mastitíd dojníc. Ich patogenita je často spojená so schopnosťou tvoriť biofilm, ktorý zvyšuje aj ich odolnosť voči antimikrobiálnym látkam a hostiteľskej imunitnej odpovedi. Vzhľadom na narastajúci problém antibiotickej rezistencie je potrebné hľadať nové alternatívne alebo doplnkové terapeutické stratégie, medzi ktoré patria aj prírodné bioaktívne látky rastlinného pôvodu. Práca bola zameraná na izoláciu a identifikáciu CoNS z mlieka dojníc zo subklinickou formou mastitídy a zároveň bola hodnotená ich schopnosť tvoriť biofilm. Z celkového počtu 46 bolo 29 izolátov vyhodnotených za silných producentov biofilmu. Tento fakt potvrdzuje význam biofilmu ako jedného z hlavných faktorov virulencie stafylokokov podieľajúcich sa na perzistencii infekcie v mliečnej žľaze. Antibakteriálna a antibiofilmová aktivita rastlinných extraktov z *Liquiritiae radix* a *Rhei radix* bola testovaná u 5 izolátov, ktoré boli silnými producentmi biofilmu a rezistentné na antibiotiká. Obidva testované extrakty vykazovali antibakteriálnu aktivitu už pri relatívne nízkych koncentráciách. Okrem toho bol pozorovaný aj ich inhibičný účinok na tvorbu biofilmu CoNS, čo naznačuje ich potenciálne využitie pri kontrole infekcií asociovaných s tvorbou biofilmu. Získané výsledky poukazujú na to, že polyfenolové zlúčeniny rastlinného pôvodu môžu predstavovať perspektívnu alternatívu alebo doplnok ku konvenčnej antibiotickej liečbe. Ich schopnosť inhibovať rast baktérií a zároveň ovplyvňovať tvorbu biofilmu môže prispieť k efektívnejšej kontrole stafylokokových infekcií, vrátane mastitíd u dojníc.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená projektom APVV-23-0488 a KEGA 018UVLF-4/2025.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ABRIL, A. G. et al. *Staphylococcus aureus* exotoxins and their detection in the dairy industry and mastitis. In: *Toxins (Basel)* [online]. 2020, roč. 12, č. 9, 537 [cit. 2025-09-22]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32825515/>. ISSN 2072-6651.
2. AJOSE, D. J. et al. Combating Bovine Mastitis in the Dairy Sector in an Era of Antimicrobial Resistance: Ethno-veterinary Medicinal Option as a Viable Alternative Approach. In: *Frontiers in Veterinary Science.* [online]. 2022, vol. 9, art. no. 800322 [cit. 2025-10-04]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.800322 >. ISSN 2297-1769.
3. ARGEMI, X. – HANSMANN, Y. – PROLA, K. – PRÉVOST, G., 2019. Coagulase-Negative Staphylococci Pathogenomics. *In: International Journal of Molecular Sciences*

[online]. Roč. 20, č. 5 (2019), s. 1215. [cit. 12. 3. 2025]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.3390/ijms20051215>.

4. CHENG, W. N. – HAN, S. G. Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments − A review. In *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* [online]. ISSN 1976-5517, 2020, vol. 33, no. 11 [cit. 2025-11-21]. Dostupné na internete: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7649072/?utm.
5. DE BUCK, J. et al. Non-aureus Staphylococci and Bovine Udder Health: Current Understanding and Knowledge Gaps. In *Frontiers in Veterinary Science* [online]. 2021, vol. 8, article 658031 [cit. 2026-02-20]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33937379/>. ISSN 2297-1769.
6. MAZZANTINI, D. et al. A polyphenol-rich extract from Olea europaea L. leaves affects the growth, biofilm formation, and virulence of *Staphylococcus aureus*. In *Frontiers in Microbiology* [online]. 2024, 15, 1415400 [cit. 2026-01-16]. Dostupné na internete: https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2024.1415400/full.
7. PEDERSEN, R. R. et al. Biofilm Research in Bovine Mastitis. In Frontiers in Veterinary Science [online]. ISSN 2297-1769, 2021, vol. 8, art. 656810 [cit. 2025-11-21]. Dostupné na internete: https://www.frontiersin.org/journals/veterinaryscience/articles/10.3389/fvets.2021.656810/full.
8. RAFEY, H. A. et al. Assessment of antibiofilm and antibacterial potential of *Glycyrrhiza glabra* against drug-resistant *Staphylococcus aureus*. In *Main Group Chemistry* [online]. 2021, 20(4), 557–563 [cit. 2026-01-16]. Dostupné na internete: https://content.iospress.com/articles/main-group-chemistry/mgc210086.
9. O'TOOLE, G. A. et al. Genetic approaches to study of biofilms. Methods Enzymol., 1999, vol. 310, s. 91–109, doi: 10.1016/s0076-6879(99)10008-9.
10. SIMOJOKI, H. et al. Is the biofilm formation and slime producing ability of coagulase-negative staphylococci associated with the persistence and severity of intramammary infection? In *Veterinary Microbiology* [online]. 2012, roč. 158, č. 3–4, s. 344–352 [cit. 2026-03-07]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22424866/>. ISSN 0378-1135.
11. SINGH, V., A. PAL a M. P. DAROKAR. A polyphenolic flavonoid glabridin: Oxidative stress response in multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. In *Free Radical Biology and Medicine* [online]. 2015, 87, 48–57 [cit. 2026-01-16]. Dostupné na internete: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26095112/.

12. STEPANOVIĆ, S. et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. In *APMIS* [online]. 2007, roč. 115, č. 8, s. 891–899 [cit. 2026-03-06]. Dostupné na internete: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17696944/. ISSN 1600-0463.
13. SÜLI, J. et al. *Polyfenolové látky v potravinách.* [online]. 2014, roč. 17, č. 3, s. 162 – 170, [cit. 2022.09.15.]. Dostupné na internete: <https://www.researchgate.net/publication/267032901_Polyphenolic_compounds_in_foods >.
14. YUAN, L. et al. Effects of Chinese herbal extracts on biofilm formation of *Staphylococcus aureus.* In *Natural Product Research and Development* [online]. 2022, vol. 34, no. 8 [cit. 2026-01-16]. Dostupné na internete: https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20220477359.
15. ZHU, S. et al. Pathogenesis of bovine mastitis and influence of the gut microbiota: a review. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2026. [cit. 2026-02-11]. (print), ISSN 1520-5118 (online). Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/41616125/>. ISSN 0021-856.

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 *LIMOSILACTOBACILLUS REUTERI* CCM 9425 NA IMUNITNÉ MARKERY V *EX VIVO* CEKÁLNOM MODELI HYDINY

EFFECT OF *LIMOSILACTOBACILLUS REUTERI* CCM 9425 ON IMMUNE MARKERS IN AN *EX VIVO* POULTRY CECAL MODEL

Kiššová Zuzana[1], Karaffová Viera[1], Vinclérová Veronika [1], Tóthová Csilla [2]

[1]Katedra morfologických disciplín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

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

ABSTRACT

Probiotic bacteria are widely recognized for their beneficial effects on host health, particularly through the modulation of intestinal immunity. In this study, we evaluated the immunomodulatory potential of selected probiotic strains following their simultaneous application in an experimental model based on cecal explants. Gene expression analysis of key pro-inflammatory cytokines (IL-15, IL-1β, IL-8, and IL-18) revealed no evidence of excessive inflammatory activation. Notably, among the monitored markers, only interleukin-15 (IL-15) was significantly upregulated in both the probiotic treated group ($p < 0.01$) and the probiotic pre-treatment group ($p < 0.01$). This immunological profile suggests that the tested probiotic strains are capable of modulating the host immune response in a balanced manner without inducing undesirable pro-inflammatory pathways. The selective induction of IL-15 may contribute to the activation of innate immune mechanisms while preserving tissue integrity. Such controlled immune modulation is particularly important in the gastrointestinal environment, where excessive inflammation can compromise barrier function and tissue homeostasis. Furthermore, the observed response indicates a potential role of probiotics in maintaining intestinal homeostasis and supporting the structural and functional integrity of the gut barrier. In contrast, the infection group, in which intestinal inflammation was induced by a pathogenic strain of *Salmonella* Enteritidis, showed a significant upregulation of IL-8 ($p < 0.001$) and IL-1β ($p < 0.05$). Overall, these findings highlight the potential of probiotic strains as promising candidates for the modulation of intestinal immunity and the prevention of gastrointestinal disorders, particularly as alternatives to antibiotic-based strategies.

Keywords: *Salmonella* Enteritidis; probiotics; cecal explants; gut immunity; cytokines;

ÚVOD

Probiotické bakteriálne kmene sú široko známe svojimi priaznivými účinkami na zdravie ľudí aj zvierat. Množstvo štúdií poukazuje na význam baktérií mliečneho kvasenia (LAB) nielen pre črevné prostredie a trávenie, ale aj pre celkový stav organizmu vrátane imunity, správania či nervového systému (Geeta a kol., 2021). Ich význam je obzvlášť aktuálny v období hroziacej post-antibiotickej éry, keď by používanie antimikrobiálnej liečby malo byť striktne obmedzené na nevyhnutné prípady. V praxi však často dochádza k nadmernému a neodôvodnenému používaniu antibiotík, a to nielen v chovoch hospodárskych zvierat, ale aj v humánnej medicíne, čo prispieva k šíreniu antimikrobiálnej rezistencie (Ho a kol., 2025). Probiotiká a ďalšie prírodné látky tak predstavujú perspektívnu stratégiu na podporu črevného zdravia a imunitného systému. Súčasne rastie dôraz na ochranu experimentálnych zvierat v dôsledku sprísňovania legislatívy a zvyšujúceho sa spoločenského povedomia (Doke a Dhawale, 2025). Napriek tomu sa štúdium zoonotických patogénov hydiny stále často opiera o myšie *in vivo* modely alebo heterológne *in vitro* systémy, ktoré vykazujú zásadné obmedzenia vyplývajúce z druhovo-špecifického charakteru hostiteľ–patogén interakcií (Ghiselli a kol., 2021). Replikačná schopnosť a infekčnosť mnohých mikroorganizmov je totiž úzko viazaná na konkrétneho hostiteľa, čo znižuje relevanciu získaných výsledkov. Výskum gastrointestinálneho traktu hydiny je navyše limitovaný nedostatkom vhodných bunkových modelov, pričom dostupné epitelové línie nedokážu reprodukovať komplexnú bunkovú heterogenitu ani plnú funkčnosť črevného tkaniva (Nash a Vervelde, 2022). Z tohto dôvodu sa v súčasnosti intenzívne vyvíjajú alternatívne experimentálne prístupy, najmä *ex vivo* a pokročilé *in vitro* modely, ktoré umožňujú lepšie napodobniť fyziologické podmienky *in vivo* a poskytujú relevantnejšie výsledky pri štúdiu črevného zdravia, imunity a interakcií medzi hostiteľom a mikroorganizmami (Ghiselli a kol., 2021). V predloženej práci sme sa zamerali na izoláciu a experimentálne využitie slepého čreva hydiny (cékum) na štúdium imunomodulačného potenciálu probiotického kmeňa *Limosilactobacillus reuteri* CCM 9425 v kombinácií s *Limosilactobacillus reuteri* B2/6. Naše predchádzajúce štúdie preukázali dobrú reprodukovateľnosť a využiteľnosť ileálneho explantového modelu odvodeného z čreva hydiny (Kiššová a kol., 2025; 2026). Cékum predstavuje vysoko špecializovanú časť tráviaceho traktu s významnou úlohou v mikrobiálnej fermentácii, imunitných procesoch a resorpcii vody.

MATERIÁL A METODIKA

Izolácia cekálnych explantových kultúr: Izolácia vzoriek prebiehala podľa postupu opísaného v našej predošlej štúdii Kiššová a kol. (2026). V skratke, hydina plemena Ross 308 bola humánne usmrtená dekapitáciou po predchádzajúcej anestézii oxidom uhličitým (CO_2). Po

otvorení célomovej dutiny bola odobratá cekálna časť čreva. Na získanie črevných explantov z céka sa použili opakovane použiteľné bioptické ihly s piestami. Kultivácia baktérií: Probiotické kmene *Limosilactobacillus reuteri* CCM 9425 a *Limosilactobacillus reuteri* B2/6 (PP) boli izolované z črevného obsahu zdravých bažantov na Katedre mikrobiológie a imunológie (UVLF v Košiciach, Slovensko). Kmene boli kultivované v de Man Rogosa Sharpe (MRS) bujóne (Merck) pri teplote 37 °C cez noc (staticky). *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). Experimentálna schéma: Návrh priebehu experimentu a rozdelenie jednotlivých experimentálnych skupín je znázornené v Tabuľke č. 1.

Tabuľka č. 1, Experimentálna schéma ošetrenia cekálnych explantov

Experimentálna skupina	Typ ošetrenia cekálnych explantov	Prídavok Gentamicínu 100 ug/mL/1h	Skratka
Kontrola	Bez ošetrenia	✓	-
Probiotická skupina	Simultánna aplikácia *L. reuteri* CCM 9425 v koncentrácií 5 x 10^7 CFU/ml a *L. reuteri* B2/6 v koncentrácií 5 x 10^7 CFU/ml (2 h; 37°C)	✓	PP
Infekčná skupina	Infekcia SE 10^7 CFU/ml (2 h; 37°C)	✓	S
Pred-ošetrenie	Pred-ošetrenie simultánnou aplikáciou *L. reuteri* CCM 9425 v koncentrácií 5 x 10^7 CFU/ml a *L. reuteri* B2/6 v koncentrácií 5 x 10^7 CFU/ml (2 h; 37°C) a následná infekcia Infekcia SE 10^7 CFU/ml (2 h; 37°C)	✓	PP+S

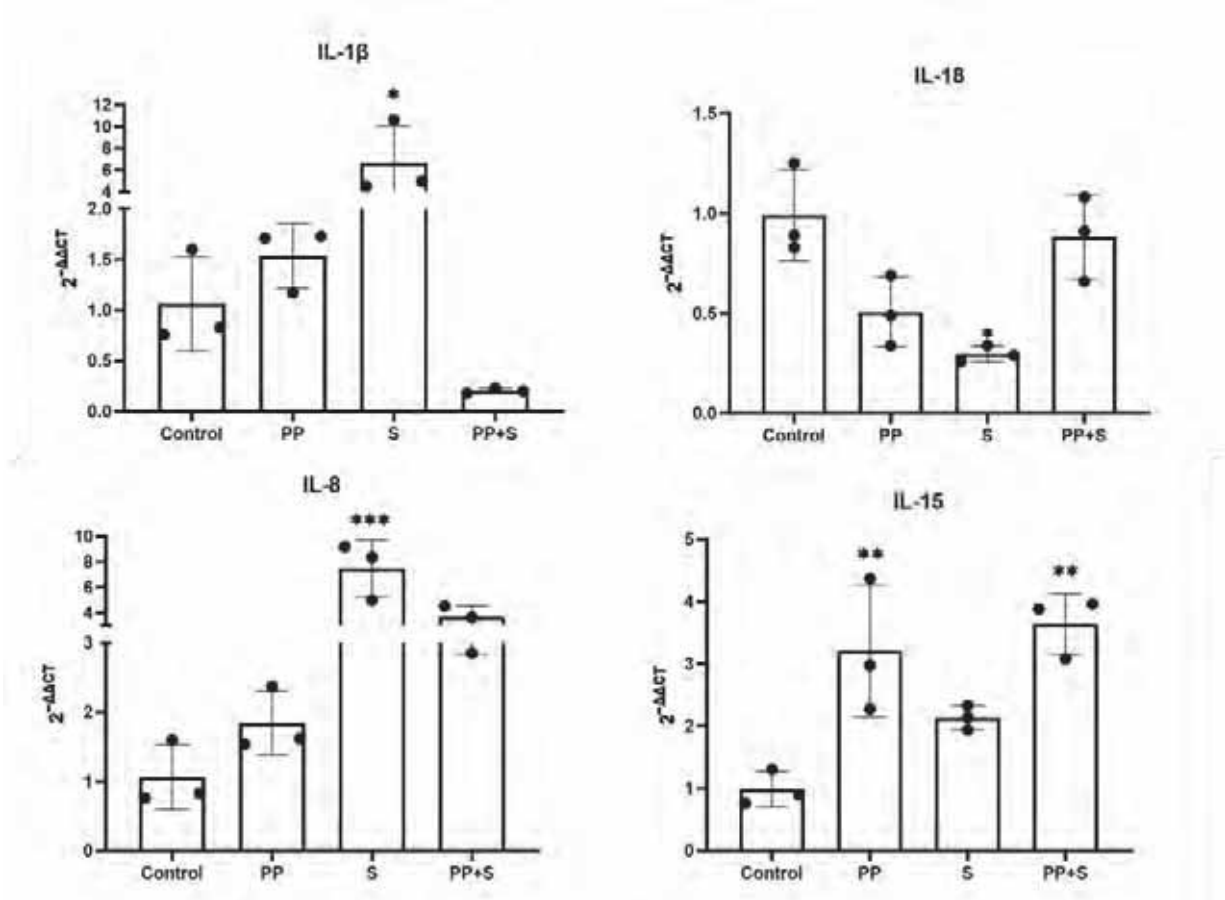
Tabuľka opisuje typy ošetrenia v jednotlivých experimentálnych skupinách.

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).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Cieľom predloženej štúdie bolo zhodnotiť imunomodulačný potenciál simultánne aplikovaných kmeňov LAB a ich perspektívny protektívny účinok pri použitej modelovej infekcii s patogénom *Salmonella* Enteritidis na *ex vivo* modeli cekálnych explantov hydiny. Hlavným zistením bolo, že aplikácia probiotík, či už samostatne alebo vo forme pred-ošetrenia, neviedla k zvýšeniu expresie sledovaných prozápalových cytokínov (IL-1β, IL-18 a IL-8). Naopak, signifikantná up-regulácia bola zaznamenaná pri mRNA kódujúceho cytokín IL-15 a to v probiotickej skupine ($p < 0,01$) aj v skupine pred-ošetrenie ($p < 0,01$) v porovnaní s kontrolnou skupinou (Obr. 1).

Obrázok č. 1, Génová expresia



Výsledky sú vyjadrené ako priemer ± SD (n=6). Štatistická významnosť rozdielov bola vyhodnotená pomocou Dunnettovho viacnásobného porovnávacieho testu. Výsledky sa významne líšili v porovnaní s kontrolnou skupinou zvierat v hladinách štatistickej významnosti ($p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).*

Absencia zvýšenej expresie konvenčných prozápalových cytokínov naznačuje, že použitá kombinácia LAB neindukuje nadmernú zápalovú odpoveď v črevnom tkanive. Tento aspekt je mimoriadne dôležitý, keďže nekontrolovaný zápal môže viesť k poškodeniu epitelu a

narušeniu črevnej bariéry (Almansour a kol., 2025). Podobné výsledky boli opísané aj v predchádzajúcich štúdiách, kde probiotické baktérie, najmä kmene rodu *Limosilactobacillus reuteri,* vykazovali schopnosť modulovať imunitnú odpoveď bez indukcie silnej prozápalovej signalizácie (Hoang a kol., 2018; Lou a kol., 2023). Naopak, zaujímavým zistením je signifikantná up-regulácia IL-15 v skupinách ošetrených probiotikami. IL-15 zohráva kľúčovú úlohu v aktivácii a proliferácii NK buniek a pamäťových $CD8^+$ T lymfocytov a je dôležitý pre skoré fázy mukóznej imunity (Baughan a kol., 2025).

Zvýšená expresia IL-15 môže indikovať, že probiotická aplikácia nevyvoláva zápal, ale skôr „pripravuje“ imunitný systém na efektívnejšiu odpoveď voči patogénom. Tento efekt je v súlade s konceptom tzv. imunologického „primingu“, pri ktorom dochádza k zvýšeniu pripravenosti hostiteľa bez poškodenia tkaniva (Baughan a kol., 2025). V kontexte infekcie *Salmonella* je obzvlášť významné, že ani v pred-ošetrovanej experimentálnej skupine nedošlo k zvýšeniu expresie génov kújúcich cytokíny IL-1β, IL-18 a IL-8. Tieto cytokíny sú typicky spojené s aktiváciou inflamazómu a náborom neutrofilov počas bakteriálnej infekcie (Sahoo a kol., 2011). Naše výsledky preto naznačujú, že pred-ošetrenie s LAB môže tlmiť nadmernú zápalovú odpoveď vyvolanú patogénom. Tento efekt môže byť sprostredkovaný viacerými mechanizmami, ako je kompetitívna exklúzia patogénu, inhibícia jeho adherencie alebo modulácia signalizačných dráh hostiteľa.

V infekčnej skupine, kde bol zápal čreva indukovaný patogénnym kmeňom *S.* Enteritidis bola zaznamenaná zvýšená expresia génov kódujúcich IL-8 ($p < 0,001$) a IL-1β ($p < 0,05$). Prozápalový účinok *Salmonella spp.* bol v minulosti skúmaný našou výskumnou skupinou, kde živý kmeň *S. typhimurium* CCM 7205 dokázal stimulovať zápal v *in vitro* kultúre buniek (Kiššová a kol., 2022).

Z metodologického hľadiska predstavuje model cekálnych explantov vhodný *ex vivo* systém, ktorý zachováva komplexnú architektúru črevného tkaniva vrátane epitelu a rezidentných buniek, čím poskytuje fyziologicky relevantnejšie výsledky v porovnaní s konvenčnými *in vitro* modelmi. Vzhľadom na jeho komplexnú mikrobiotu a dominantné mechanizmy imunitnej tolerancie je však otázne, či je vhodným modelom na štúdium skorých interakcií medzi hostiteľom a patogénom.

ZÁVER

Súhrnne možno konštatovať, že simultánna aplikácia testovaných probiotických kmeňov vykazuje imunomodulačný potenciál charakterizovaný absenciou nadmernej zápalovej odpovede a selektívnou indukciou cytokínu IL-15. Naše zistenia naznačujú, že probiotiká dokážu jemne modulovať imunitnú odpoveď bez vyvolania nežiaducej prozápalovej reakcie.

Zároveň takto nastavená imunitná odpoveď prispieva k udržiavaniu črevnej homeostázy a podpore integrity črevného prostredia.

POĎAKOVANIE

Táto výskumná práca vznikla s podporou Agentúry na podporu výskumu a vývoja pod číslom SK-HU-24-0006 (50 %) a Vedeckej grantovej agentúry pod číslom VEGA 1/0010/26 (50 %).

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ALMANSOUR, N. et al. Gut microbiota: a promising new target in immune tolerance. In *Front. Immunol.* 2025,16:1607388. doi:10.3389/fimmu.2025.1607388
2. BAUGHAN, S. L., et al. Perspective: IL-15 cytokine-armored NK cells as ready-to-use immunotherapy for diverse malignancies: therapeutic potential and toxicity risks. In *Front. Immunol.* 2025, 16:1704404. doi:10.3389/fimmu.2025.1704404
3. DOKE, S. K. a DHAWALE S. C. Alternatives to animal testing: A review. In *Saudi Pharmaceutical Journal.* 2025, 23(3), 223-229. doi: 10.1016/j.jsps.2013.11.002
4. GEETA, A.S.Y. et al. Probiotic attributes of Lactobacillus fermentum NKN51 isolated from yak cottage cheese and the impact of its feeding on growth, immunity, caecal microbiology and jejunal histology in the starter phase of broiler birds. In *Indian. J. Anim. Res.* 2021, 55 (4), 451456. doi: 10.18805/ijar.B-3970
5. GHISELLI, F., et al. *In vitro* and *ex vivo* gut barrier models of farm animals: benefits and limitations. In *Front. Vet. Sci.* 2021, 23 (8), 723387. https://doi.org/10.3389/fvets.2021.723387
6. HO, C. et al. Antimicrobial resistance: a concise update. In *The Lancet Microbe*, 2024; 6. doi: 10.1016/j.lanmic.2024.07.010
7. HOANG, T. K., et al. Protective effect of Lactobacillus reuteri DSM 17938 against experimental necrotizing enterocolitis is mediated by Toll-like receptor 2. In *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2018, 315(2):G231–G40. doi:10.1152/ajpgi.00084.2017
8. KIŠŠOVÁ, Z., et al. Dynamics of viability and apoptotic regulation in chicken ileal explant culture. In *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2026, Mar 14. doi: 10.1007/s11626-026-01173-z
9. 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

10. 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
11. LOU, Z., et al. *Limosilactobacillus reuteri* in immunomodulation: molecular mechanisms and potential applications. In *Front Immunol.* 2023, Aug 9;14:1228754. doi:10.3389/fimmu.2023.1228754
12. NASH, T. a VERVELDE, L. Advances, challenges and future applications of avian intestinal in vitro models. In *Avian Pathol*. 2022, 51 (4), 317–329. doi: 10.1080/03079457.2022.2084363
13. SAHOO, M., et al. Role of the inflammasome, IL-1β, and IL-18 in bacterial infections. In *Scientific World Journal.* 2011, 11:2037-50. doi:10.1100/2011/212680

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

ANTIBAKTERIÁLNA AKTIVITA VYBRANÝCH ÉTERICKÝCH OLEJOV VOČI BAKTÉRIÁM ASOCIOVANÝM S *APIS MELLIFERA*

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SELECTED ESSENTIAL OILS AGAINST BACTERIA ASSOCIATED WITH *APIS MELLIFERA*

Kollár Moskáľová Lenka, Hudecová Patrícia, Ratvaj Marek, Mudroňová Dagmar

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

ABSTRACT

In our study, we focused on testing the antibacterial activity of eight commercially available essential oils (EOs) against strains of the pathogen causing american foulbrood (*Paenibacillus larvae*) as well as autochthonous beneficial lactic acid bacteria strains (*Levilactobacillus bervis* B50 Biocenol™ (CCM 8618) and *Apilactobacillus kunkeei*) of the honeybee. The antibacterial effect was determined using a qualitative disk-diffusion method and quantitative minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) assays. During our testing, we confirmed a significant effect of oregano and thyme essential oils across the entire tested concentration range against both reference strains of *P. larvae*, against *L. brevis* B50 from 2.0 µl/ml to 0.015 µl/ml and against *A. kunkeei* V18 from 2.0 µl/ml to 0.125 µl/ml. Based on our findings, we can conclude that the results indicate a beneficial effect of the essential oils, as the concentrations that inhibit beneficial lactic acid bacteria strains are lower than or equal to the concentrations required to suppress the growth of *P. larvae*, as expressed by the MIC and MBC values.

Key words: *Apis mellifera*, essential oils, *Paenibacillus larvae*, beneficial lactic acid bacteria strains

ÚVOD

Éterické oleje (EO) sú prchavé aromatické zlúčeniny získavané z rastlín, zložené prevažne z terpénov, terpenoidov a fenylpropanoidov. Tieto látky boli tradične používané najmä v ľudovej medicíne, pričom v súčasnosti sa čoraz častejšie uplatňujú aj vo veterinárnej medicíne vďaka svojim antibakteriálnym, antimykotickým, protizápalovým, antioxidačným a antiparazitárnym vlastnostiam (Ebani a Mancianti, 2020; Sivamaruthi a kol., 2024). Vo veterinárnej praxi sa využívajú EO najmä ako alternatívne alebo doplnkové terapie v manažmente infekcií, najmä tých, ktoré sú spôsobené kmeňmi odolnými voči antibiotikám, a

na zníženie rezíduí antibiotík v živočíšnych produktoch a životnom prostredí (Ebani a Mancianti, 2020; Lupia a kol., 2024). Ich použitie zahŕňa liečbu bakteriálnych a plesňových infekcií, aromaterapiu pri fyzických a behaviorálnych problémoch u spoločenských zvierat, kŕmne doplnky na podporu rastu a zdravia hospodárskych zvierat (Shetty G. a Acharya, 2023; Shetty G., 2024; Cui a kol., 2024). Vo včelárskej praxi, kde Európska únia zakazuje používanie antibiotík a sulfonamidov na liečbu alebo prevenciu infekčných ochorení včiel, sú EO vyhľadávané najmä vďaka svojim preukázaným antimikrobiálnym, antibakteriálnym, antifungálnym a antiparazitárnym vlastnostiam, ktoré prispievajú k znižovaniu množstva patogénov vo včelstvách, čím sa javia ako sľubná prírodná alternatíva antibiotík (Bankova a kol., 2014; Porrini a kol., 2016; Ansari a kol., 2017; Jack a Ellis, 2021; Martin Ewert a kol., 2023; Caren a kol., 2025). Taktiež pri použití správnej koncentrácie a dávky zvoleného EO sú ich rezíduá vo včelích produktoch nízke, rýchlo sa znižujú v dôsledku ich volatility a nepredstavujú riziko pre spotrebiteľa (Bonvehí a kol., 2015). EO vykazujú antibakteriálne účinky predovšetkým narušením bunkových membrán baktérií, čo vedie k zvýšenej priepustnosti, úniku intracelulárneho obsahu a nakoniec k smrti buniek ako aj narušením prenosu elektrónov, inhibície ATP, ovplyvňovaním genetického materiálu v bunke (Maurya a kol., 2021; Guimarães a kol., 2019). Cieľom našej práce bolo testovanie rôznych druhov EO a ich antibakteriálna aktivita voči vybraným bakteriálnym kmeňom asociovaných s včelou medonosnou pomocou diskovo-difúznej metódy, stanovením minimálnej inhibičnej (MIC) a minimálnej baktericídnej koncentrácie (MBC).

MATERIÁL A METODIKA

Na experiment boli použité prospešné bakteriálne kmene mliečneho kvasenia *Levilactobacillus brevis* B50 Biocenol™ (CCM 8618) a *Apilactobacillus kunkeei* V18, ktoré boli vyizolované z tráviaceho traktu včely medonosnej *(Apis mellifera)* na pracovisku Katedry mikrobiológie a imunológie UVLF a kmene *Paenibacilus larvae* (CCM 4483 a 4486) pochádzajúce z českej zbierky mikroorganizmov Masarykovej univerzity v Brne.

Antibakteriálny účinok ôsmich komerčných EO (Calendula a.s., Slovenská republika) na kmene spôsobujúce mor včelieho plodu ako aj autochtóne prospešné bakteriálne kmene mliečneho kvasenia, bol stanovený kvalitatívnou diskovo-difúznou metódou a kvantitatívnou minimálnou inhibičnou (MIC) a minimálnou baktericídnou koncentráciou (MBC) EO. Testovaný bol oreganový (*Origanum vulgare* L.), tymiánový (*Thymus vulgaris* L.), čajovníkový (*Melaleuca alternifolia*), eukalyptový (*Eucalyptus globulus* LABILL.), kosodrevinový (*Pini mungo* L.), mätový (*Mentha piperita* L.), rozmarínový (*Rosmarinus officinalis* L.) a borovicový EO (*Pinus silvestris* L.). Na vykonanie diskovo-difúznej metódy

boli bakteriálne inokulá upravené na koncentráciu 1,5 x 10^8 KTJ/ml a naočkované na MRS agar (HiMedia, Mumbai, India) a MYPGP agar (Mueller -Hinton bujón 10 g, kvasnicový extrakt 15 g, glukóza 2 g, K2HPO4 3 g, sodium pyruvát 1 g na 1l destilovanej vody; pH 7,2) v objeme 100 µl. Následne boli na povrch pôdy pridané sterilné papierové disky s priemerom 6 mm (Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA), na ktoré bolo aplikovaných 10 µl koncentrovaného EO. Antibakteriálna aktivita bola hodnotená po 24 hodinách kultivácie pri 37 °C (*P.larvae*) a 48 hodinovej anaeróbnej kultivácii (*L. bervis* a *A. kunkeei*) za požitia vyvíjačov anaeróbneho prostredia (AnaeroGen™ 2.5L, Thermo Scientific™, Waltham, MA, USA) na základe merania priemeru inhibičných zón. MIC sa stanovovala v 96-jamkových mikrotitračných platničkách použitím bakteriálnej suspenzie upravenej na koncentráciu 3,0 × 10^8 KTJ/ml a následným zmiešaním s nariedeným EO v koncentračnom rozsahu od 2 µl/ml do 0,0078 µl/ml v pomere 1 : 1. Po inkubácii trvajúcej 24 hodín pri 37 °C bola hodnota MIC určená ako najnižšia koncentrácia, pri ktorej nebol pozorovaný viditeľný rast baktérií, teda bez prítomnosti zákalu v jamke. Pre stanovenie MBC boli jednotlivé alikvóty subkultivované na MRS agar (HiMedia, Mumbai, India) a MYPGP agar (Mueller -Hinton bujón 10 g, kvasnicový extrakt 15 g, glukóza 2 g, K2HPO4 3 g, sodium pyruvát 1 g na 1l destilovanej vody;, pH 7,2) a vyhodnotené ako najnižšie riedenie, ktoré nevykazovalo rast baktérií. Antibakteriálna aktivita bola analyzovaná pomocou štatistického softvéru GraphPad Prism 8.3.0, pričom bola použitá jednosmerná ANOVA spolu s Dunettovým testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Antibakteriálna aktivita EO bola hodnotená pomocou diskovo-difúznej métody, meraním zóny inhibície v milimetroch. Najsilnejší účinok bol pozorovaný u tymiánového a oreganového EO, zatiaľ čo eukalyptový a kosodrevinový EO vykazovali najmenšie zóny inhibície. Podľa práce Rota a kol. (2008), je možné EO klasifikovať na EO bez antibakteriálnej aktivity (zóna inhibície < 12 mm), stredne silné (zóna inhibície < 20 – 12 mm) a so silnou inhibičnou aktivitou (zóna inhibície je ≥ 20 mm). Na základe danej klasifikácie je tymiánový a oreganový EO klasifikovaný ako olej so silnou antibakteriálnou aktivitou, mätový a čajovníkový EO so stredne silnou aktivitou, rozmarínový EO so stredne silným až bez účinku a eukalyptový, kosodrevinový a borovicový bez inhibičného účinku. Jednotlivé hodnoty z diskovo-difúznej metódy sú uvedené v Tabuľke č. 1.

Tabuľka č. 1. Stanovenie antibakteriálnej aktivitou pomocou diskovo-difúznej metódy v mm

Éterický olej	*Paenibacillus larvae* CCM4483	*Paenibacillus larvae* CCM4486	*Lactobacillus brevis* B50	*Apilactobacillus kunkeei* V18
Tymiánový	51,3 ± 0,15	48,0 ± 0,2	33,7 ± 0,15	38,3 ± 0,21
Oreganový	48,3 ± 0,06	45,3 ± 0,25	35,7 ± 0,12	40,7 ± 0,06
Čajovníkový	14,3 ± 0,15	27,0 ± 0,26	10,3 ± 0,05	9,3 ± 0,06
Mätový	18,0 ± 0,3	17,0 ± 0,2	12,7 ± 0,06	15,3 ± 0,06
Eukalyptový	11,3 ± 0,06	11,7 ± 0,12	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Kosodrevinový	10,3 ± 0,06	11,7 ± 0,15	0,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0
Borovicový	11,0 ± 0,1	11,3 ± 0,06	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Rozmarínový	15,0 ± 0,3	22,0 ± 0,26	0,0 ± 0,0	10,3 ± 0,06

Oreganový a tymiánový EO boli vybrané pre stanovenie MIC a MBC pre ich najsilnejší antibakteriálny účinok. Nižšie hodnoty boli zaznamenané pre tymiánový EO, pričom MIC sa pohybovala v rozsahu od 0,015 µl/ml do 1,0 µl/ml a MBC od 0,03 µl/ml do 2,0 µl/ml (Tabuľka č. 2). Pre oreganový EO boli zaznamenané MIC hodnoty od 0,06 µl/ml do 1,0 µl/ml a MBC od 0,125 µl/ml do 2,0 µl/ml (Tabuľka č. 2). Štatistická analýza nám potvrdila signifikantný účinok oreganového a tymiánového EO v celom koncentračnom rozsahu voči obidvom referenčným kmeňom *P. larvae*, voči *L. brevis* B50 od 2,0 µl/ml do 0,015 µl/ml a voči *A. kunkeei* V18 od 2,0 µl/ml do 0,125 µl/ml (***$p < 0,001$). Výsledky boli vyhodnocované voči kontrole, ktorá predstavovala čistú bakteriálnu suspenziu bez prídavku EO.

Tabuľka č. 2, MIC a MBC hodnoty tymiánového a oreganového EO

Bakteriálny zástupca	Tymiánový EO		Oreganový EO	
	MIC	MBC	MIC	MBC
***Paenibacillus larvae* CCM 4483**	0,015 µl/ml	0,03 µl/ml	0,06 µl/ml	0,125 µl/ml
***Paenibacillus larvae* CCM 4486**	0,015 µl/ml	0,03 µl/ml	0,06 µl/ml	0,125 µl/ml
***Levilactobacillus brevis* B50**	0,125 µl/ml	0,25 µl/ml	0,25 µl/ml	0,5 µl/ml
***Apilactobacillus kunkeei* V18**	1,0 µl/ml	2,0 µl/ml	1,0 µl/ml	2,0 µl/ml

ZÁVER

Získané výsledky možno považovať za priaznivé, keďže koncentrácie potrebné na inhibíciu prospešných bakteriálnych kmeňov mliečneho kvasenia sú (*L.bervis, A. kunkeei*) vyššie než koncentrácie účinné pre potlačenie rastu *P. larvae*, ktorý predstavuje pôvodcu moru včelieho plodu, vyjadrené hodnotami MIC a MBC.

POĎAKOVANIE

Publikácia vznikla za finančnej podpory IGA UVLF 07/2025 *„In vitro črevný model ako nástroj skúmania vplyvu látok naturálneho pôvodu u Oncorhynchus mykiss a Apis mellifera“* a VEGA 1/0533/26.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ANSARI, M.J. a kol. In vitro evaluation of the effects of some plant essential oils on Ascosphaera apis, the causative agent of Chalkbrood disease. In Saudi Journal of Biological Sciences [online]. 2017, roč. 24, č. 5, s. 1001–1006. ISSN 1319562X. Dostupné na: doi:10.1016/j.sjbs.2016.04.016
2. BANKOVA, V. a kol. Propolis volatile compounds: Chemical diversity and biological activity: A review. In Chemistry Central Journal [online]. 2014, roč. 8, č. 1, s. 1–8. ISSN 1752153X. Dostupné na: doi:10.1186/1752-153X-8-28
3. CAREN, J. a kol. Risk Assessment of Effects of Essential Oils on Honey Bees (Apis mellifera L.). In Insects [online]. 2025, roč. 16, č. 3. ISSN 20754450. Dostupné na: doi:10.3390/insects16030303
4. CUI, H. a kol. Oregano Essential Oil in Livestock and Veterinary Medicine. In Animals [online]. 2024, roč. 14, č. 11, s. 1–13. ISSN 20762615. Dostupné na: doi:10.3390/ani14111532
5. EBANI, V.V. a kol. Use of essential oils in veterinary medicine to combat bacterial and fungal infections. In Veterinary Sciences [online]. 2020, roč. 7, č. 4, s. 1–35. ISSN 23067381. Dostupné na: doi:10.3390/vetsci7040193
6. GUIMARÃES, A.C. a kol. Antibacterial activity of terpenes and terpenoids present in essential oils. In Molecules [online]. 2019, roč. 24, č. 13, s. 1–12. ISSN 14203049. Dostupné na: doi:10.3390/molecules24132471
7. JACK, C.J. a kol. Integrated Pest Management Control of Varroa destructor (Acari: Varroidae), the Most Damaging Pest of (Apis mellifera L. (Hymenoptera: Apidae)) Colonies. In Journal of Insect Science [online]. 2021, roč. 21, č. 5. ISSN 15362442. Dostupné na: doi:10.1093/jisesa/ieab058

8. LUPIA, C. a kol. Use of Essential Oils to Counteract the Phenomena of Antimicrobial Resistance in Livestock Species. In Antibiotics [online]. 2024, roč. 13, č. 2. ISSN 20796382. Dostupné na: doi:10.3390/antibiotics13020163
9. MARTIN EWERT, A. a kol. Effects of ingested essential oils and propolis extracts on honey bee (Hymenoptera: Apidae) health and gut microbiota. In Journal of Insect Science [online]. 2023, roč. 23, č. 6. ISSN 15362442. Dostupné na: doi:10.1093/jisesa/iead087
10. MAURYA, A. a kol. 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 [online]. 2021, roč. 12, č. November, s. 1–17. ISSN 1664302X. Dostupné na: doi:10.3389/fmicb.2021.751062
11. PORRINI, C. a kol. The status of honey bee health in Italy: Results from the nationwide bee monitoring network. In PLoS ONE [online]. 2016, roč. 11, č. 5, s. 1–22. ISSN 19326203. Dostupné na: doi:10.1371/journal.pone.0155411
12. ROTA, M.C. a kol. Antimicrobial activity and chemical composition of Thymus vulgaris, Thymus zygis and Thymus hyemalis essential oils. In Food Control [online]. 2008, roč. 19, č. 7, s. 681–687. ISSN 09567135. Dostupné na: doi:10.1016/j.foodcont.2007.07.007
13. SERRA BONVEHÍ, J.; VENTURA COLL, F.; RUIZ MARTÍNEZ, J.A. Residues of essential oils in honey after treatments to control Varroa destructor. In Journal of Essential Oil Research [online]. 2016, roč. 28, č. 1, s. 22–28. ISSN 10412905. Dostupné na: doi:10.1080/10412905.2015.1076741
14. SHETTY G., R. a kol. Potential Use of Essential Oils in Veterinary Industry: a Review. In International Journal on Biological Sciences [online]. 2023, roč. 14, č. 01, s. 24–27. Dostupné na: doi:10.53390/ijbs.2023.14104
15. SHETTY G., R. Prospective Utilization of Essential Oils As a Valuable Veterinary Medicine: a Review. In International Journal on Agricultural Sciences [online]. 2024, roč. 15, č. 01, s. 15–18. Dostupné na: doi:10.53390/ijas.2024.15102
16. SIVAMARUTHI, B.S. a kol. Composition, Bioactivities, Microbiome, Safety Concerns, and Impact of Essential Oils on the Health Status of Domestic Animals. In Applied sciences [online]. 2024, roč. 14. Dostupné na: doi:https://doi.org/10.3390/ app14166882 Academic

Kontaktná adresa: Kollár Moskáľová Lenka, Department of Microbiology and Immunology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic. E-mail: lenka.kollar-moskalova@student.uvlf.sk

SOUČASNÝ STAV SVĚTOVÉHO A EVROPSKÉHO MLÉKÁRENSTVÍ.

CURRENT STATE OF THE WORLD AND EUROPEAN DAIRY SECTOR

Ing. Jiří Kopáček, CSc.
Českomoravský svaz mlékárenský z.s.

ABSTRACT

The paper describes the current state of the global and European dairy industry. The global dairy industry recovered and transformed in 2024. Milk production approached the significant milestone of 1 trillion kg, which clearly reflects and confirms the resilience of the entire dairy industry, but at the same time the ambitions of its further development. The current growth is driven mainly by rapid developments in Asia and Africa, where local innovation and growing demand are changing the current global patterns. Traditional exporters are adapting to the new reality, while new emerging producers are paving the way to self-sufficiency. Consumption is accelerating, especially for high-protein products, and the ability of the industry to respond to changing consumer preferences is more important than ever. Based on available data from 2025, predictions of the medium-term outlook for 2026 are outlined, which began with falling prices of raw materials and commodities, but also with a number of uncertainties influenced mainly by current geopolitical conflicts.

Světová výroba mléka

Po významném zpomalení výroby mléka v roce 2022 způsobené zejména nárůstem nákladových vstupů, nabrala světová produkce mléka znovu na obrátkách. V roce 2023 vzrostla o + 1,9 % a v roce 2024 o + 2,2 % na 983 milionů tun. Meziroční nárůst tak byl 21 milionů tun. Pro rok 2025 se očekává, že světová produkce mléka prolomí objem 1 000 milionů tun.

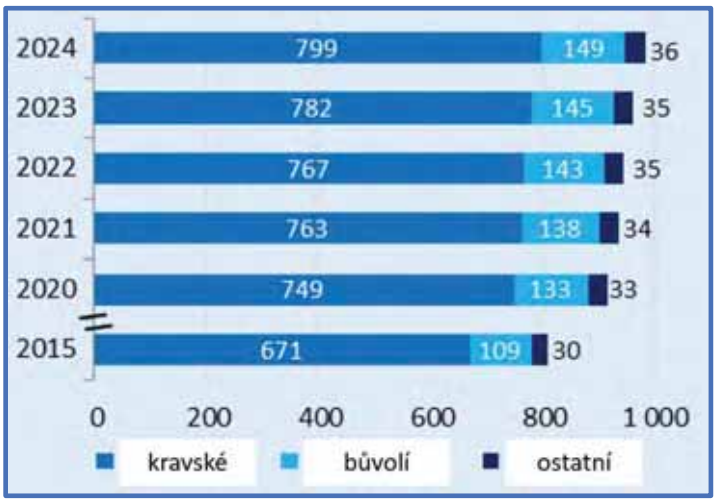
Asie a Afrika zaznamenávají silný růst mléčné produkce podpořený rostoucí poptávkou, ale také příznivými cenami mléka, zatímco tradiční mlékařské regiony (Evropa, Severní Amerika, Oceánie) zůstaly pod průměrnou světovou mírou růstu.

Kravské mléko tvoří 81 % světové produkce (799 milionů tun v roce 2024). Růst jeho výroby oproti období předchozích třech let zrychlil a odpovídal tempu růstu výroby buvolího mléka (+2,2 %).

Více než dvě třetiny nárůstu produkce kravského mléka pocházely z Asie, kde byl meziroční růst mírně pod dlouhodobým trendem (+4,1 %), zatímco Afrika zaznamenala dokonce nejrychlejší meziroční nárůst (+5,7 %). Růst mléčné produkce v Severní Americe byl

strukturálně pod celosvětovým průměrem (CAGR 2015–2024: 2,0 %). V EU-27 se výroba kravského mléka zvýšila mírně, pouze o + 0,6 %, což zde odpovídá dlouhodobému trendu. Nový Zéland pokračoval v oživení, které začalo již v roce 2023. Jižní Amerika zvýšila produkci mléka v roce 2024 o téměř + 1,5 %.

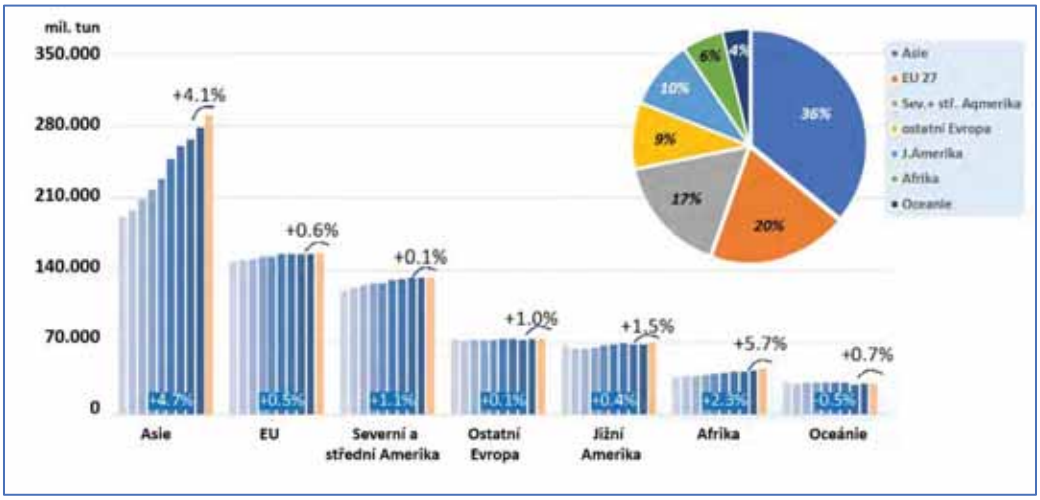
Obr. 1: Světová výroba mléka podle druhu dojených zvířat (v mil.t)



Tab. 1: Světová výroba mléka 2023-2024 podle druhů (v mil. tun)

	Výroba 2023	Výroba 2024	Růst 2024/2023	CAGR 2024/2015
Kravské	782	799	+ 2,2 %	+ 2,0 %
Bůvolí	145	149	+ 2,2 %	+ 3,5 %
Ostatní	35	35,6	+ 1,7 %	+ 1,9 %
Kozí	20,9	21,5	+ 2,9 %	+ 2,7 %
Ovčí	9,9	9,9	- 0,3 %	+ 0,4 %
Jiná	4,1	4,2	+ 0,4 %	+ 1,3 %
CELKEM	**962**	**983**	**+ 2,2 %**	**+ 2,2 %**

Obr. 2: Vývoj produkce kravského mléka v jednotlivých kontinentech



Z obr.2 je zřejmé, že hnací silou světového růstu výroby mléka je asijský kontinent. Naopak oblasti rozvinutých ekonomik, tedy Evropa a severní a střední Amerika zažívají dlouhodobou stagnaci.

Kravské mléko

V tabulce č. 2 je dokumentováno pořadí největších světových výrobců mléka.

Tab. 2: Výroba kravského mléka podle zemí (v mil. tun)

TOP 20 světových výrobců za r. 2024	2024 (mil. t)	Index 2023/2024
EU 27	**156,5**	**+ 0,6 %**
Německo	33,9	- 0,3 %
Francie	24,2	- 2,6 %
Polsko	16,1	+ 1,1 %
Nizozemí	14,4	- 2,3 %
Itálie	13,3	+ 1,9 %
Indie (B)	**136,1**	**+ 7,1 %**
USA	**102,5**	**- 0.2 %**
Čína	**40,8**	**-2,8 %**
Brazílie	**37,7**	**+ 3,4 %**
Rusko	**33,8**	**+ 0,8 %**
Pákistán (C)	**21,7**	**+ 3.8 %**
Nový Zéland	**21,6**	**+ 1,3 %**

Turecko	**21,0**	**+ 5,4 %**
Velká Británie	**15,7**	**+ 1,1 %**
Mexiko	**14,0**	**+ 1,7 %**
Bangladéš	**13,5**	**+ 6,9 %**
Uzbekistán	**12,4**	**+ 4,0 %**
Argentina	**10,9**	**- 6,5 %**
Kanada	**10,6**	**+ 0,8 %**
Bělorusko	**8,7**	**+ 5,1 %**
Austrálie (D)	**8,6**	**-0,7 %**
Kolumbie	**7,9**	**+ 8,7 %**
Irán	**7,7**	**0,0 %**
Japonsko	**7,4**	**+ 0,8 %**

Světová produkce kravského mléka v roce 2024 dosáhla celkového objemu 799 mil. tun a zvýšila se meziročně o 17 mil. tun. Je to především tím, že výroba kravského mléka rostla rychleji než v minulých letech. Naopak produkce buvolího mléka, tedy druhé významná kategorie, rostla v posledních pěti letech pomaleji.

Podstatná část nárustu kravského mléka pocházela z Asie, a to 11,5 milionu tun, a to proto, že v tomto regionu byla poptávka po mléce a mléčných výrobcích v posledních letech celosvětově nejvýraznější. Průměrná roční míra růstu v Asii v období let 2015 až 2024 je ve srovnání s ostatními regiony zdaleka nejvyšší (+ 4,7 %).

Pozoruhodné také je, že v relativním vyjádření byla Afrika v roce 2024 nejrychleji rostoucím regionem (+ 5,7 %).

Všechny ostatní produkční oblasti světa zaznamenaly naopak podprůměrný růst, nikde nebyl pozorován pokles, i když v některých jednotlivých zemích výroba mléka klesla.

V Asii hraje klíčovou roli v růstu produkce mléka největší světový producent, a to Indie, která se v roce 2024 podílela téměř 79 % na nárůstu objemu mléka v Asii. Tento silný růst je způsoben jednak vysokou produktivitou a stále implementovanými podpůrnými vládními programy na posílení rostoucí poptávky v zemi charakterizované trvale rostoucí populací. Silný strukturální nárůst výroby kravského mléka v Asii byl zaznamenán také v Pákistánu (+3,8 %) a Bangladéši (+6,9 %). Naproti tomu ve stejném roce došlo v sousední Číně k významnému poklesu produkce kravského mléka (-2,8 %), které bylo přičítáno slabší poptávce, nadměrné nabídce mléka, klesajícím cenám mléka a rovněž klesající důvěře spotřebitelů, což dokonce vedlo ke snižování stavu mléčného skotu.

Produkce kravského mléka v EU-27 se po třech letech stagnace mírně zvýšila (+0,6 %), čímž se vyrovnala dlouhodobému růstu od roku 2015. Trendy v produkci mléka se ale v jednotlivých unijních zemích lišily. Výroba mléka vzrostla v Polsku (+ 4,0 %), v Itálii (+ 1,9 %) a také ve Francii (+ 1,1 %), ale klesla například v Belgii (-0,8 %), Německu (-0,3 %) a Nizozemsku (-2,3 %): Poklesy byly způsobeny zejména propuknutím katarální horečky ovcí, která se rozšířila i do chovů skotu. Důležitou roli v některých zemích EU, jako je Nizozemsko a Irsko, sehrála také implementovaná environmentální opatření.

V USA došlo rovněž v roce 2024 ke snížení mléčné produkce, a to o - 0,2 %, čímž pokračovala stagnace z předchozích dvou let. Zde se na této skutečnosti projevilo další onemocnění dojnic, a vypuknutí ptačí chřipky, které vedlo ke snížení dojivosti postižených krav. Naproti tomu vzrostla mírně výroba mléka v Kanadě (+0,8 %) a Mexiku (+1,7 %).

V Oceánii pokračoval vzestupný trend mléčné produkce započatý již v roce 2023. V roce 2024 stoupla meziročně výroba mléka o dalších + 1,3 %, což bylo ovlivněno příznivými pastevními podmínkami a rostoucími cenami mléka. Naproti tomu Austrálie kvůli suchému počasí a nízkým cenám vykázala pokles (-0,7 %).

Jižní Amerika má dlouhodobě svou vlastní vnitřní rovnováhu, přičemž častá ekonomická nestabilita v některých zemích omezuje potenciál nabídky i poptávky v regionu. Produkce mléka v Jižní Americe v roce 2024 vzrostla o +1,5 %. Silný růst zaznamenala Brazílie (+3,4 %), Chile (+2,8 %) a Kolumbie (+8,7 %), zatímco silné exportující země vykázaly v důsledku nepříznivých povětrnostních podmínek a ekonomických problémů tentokrát propad: Argentina (-6,5 %) a Uruguay (-3,5 %).

Bůvolí a ostatní nebovinní mléka

Druhou nejvýznamnější mléčnou kategorií je bůvolí mléko, kde v období let 2015 až 2024 byla vykázána průměrná meziroční míra růstu +3,5 %. Přesto se růst výroby buvolího mléka již druhý rok snižuje a v roce 2024 byl nárůst pouze +2,2 % oproti předchozímu roku a celosvětově bylo vyprodukováno 149 milionů tun. Buvolí mléko již nepřevyšuje růst kravského mléka, což má od roku 2022 za následek stabilní vysoký podíl na celkové světové produkci mléka, a sice 15 %. Růst v Indii (+2,1 %) byl výrazně pod dlouhodobým průměrným růstem (+3,8 %). Pákistán zaznamenal nárůst o +3,0 %. Dalšími významnými zeměmi produkujícími buvolí mléko jsou Bangladéš, Čína, Egypt a Nepál.

Výroba nebovinních mlék se rozvíjí pomalejším tempem než kravské mléko. Celkově se jejich objem v roce 2024 zvýšil o +1,7 %. V současnosti roste výroba především kozího mléka. I když mají největší stáda koz především Asie a Afrika, profesionální produkce a zpracování kozího mléka je vlastně hlavně v EU a Oceánii. Naopak světová výroba ovčího mléka v posledních letech stagnuje na necelých 10 milionech tun a v roce 2024 navíc mírně klesla o - 0,3 %.

Zpracování mléka

Po mírném poklesu v roce 2022 dosáhly celosvětové dodávky mléka ke zpracování do mlékárenského průmyslu v roce 2024 nové rekordní úrovně 467 milionů tun.

Průmyslově se nyní zpracovává pouze 58,4 % z celkové světové výroby kravského mléka. Z celkových dodávek bylo použito 23 % mléka na výrobu másla a máselného oleje, 22 % na výrobu sýrů a celkem 9 % na výrobu sušených mlék. Zbývající objem, tedy 46 %, šel na výrobu všech ostatních čerstvých mléčných výrobků.

S vyššími dodávkami mléka v roce 2024 se tedy zvýšila celková produkce mléčných výrobků, ale trendy růstu u jednotlivých výrobkových skupin se odchýlily od předchozích let. Zpracovatelé zvýšili produkci kondenzovaných mlék (+1,8 %), sýrů (+2,0 %), másla a máslového oleje (+2,0 %) a sušeného plnotučného mléka (+2,0 %), fermentovaných mléčných výrobků (+6,1 %), naopak došlo k poklesu výroby konzumních mlék (- 1,3 %) a sušeného odstředěného mléka (-2,3 %).

Konzumní mléka a čerstvé mléčné výrobky

Obr. 3: Světová výroba konzumních mlék



Celosvětová výroba konzumních mlék se v roce 2024 po předchozích dvou letech růstu snížila o -1,3 % na 125 milionů tun. Největší podíl na tom měl pokles spotřeby v Číně, kde se snížila dostupnost mléka z důvodů vyšší výroby sušeného plnotučného mléka. K poklesu došlo v roce 2024 také v EU-27 (-0,8 %), naopak v USA se po předchozím dlouhodobém poklesu produkce konzumních mlék oživila (+0,8 %). Výhledově se spíše očekává, že produkce v rozvinutých zemích bude i nadále klesat, zatímco v rozvojových zemích by měla postupně růst, aby uspokojila rostoucí domácí poptávku.

Opačná situace, než u konzumních mlék nastala v roce 2024 v případě fermentovaných mléčných výrobků, kde výroba celosvětově vzrostla o +6,1 %, čímž přerušila čtyřletý klesající trend, který byl způsoben zejména rostoucí poptávkou po vysoko proteinových produktech.

Máslo a jiné mléčné tuky

Obr. 4: Světová výroba másla a mléčných tuků

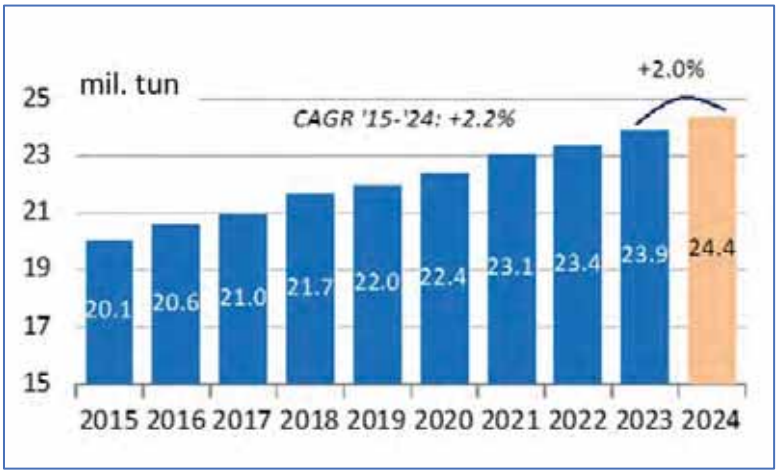


Produkce másla a máselného oleje v roce 2024 nadále rostla a dosáhla celkového objemu 13,5 milionu tun, což představuje meziroční růst o +2,0 %. Největším světovým producentem másla zůstává se 7 miliony tun Indie. Také největší světový vývozce másla Nový Zéland zvýšil v tomto roce výrobu o +1,2 %. Spojené státy zaznamenaly velmi výrazné zvýšení výroby (+5,9 %). Jinak tomu ale bylo v Evropské unii, kde byl v některých zemích pozorován růst a v jiných naopak pokles. Celková evropská produkce klesla v roce 2024 o -1,2 %.

Sýry

Celosvětová produkce sýrů se za rok 2024 odhaduje na přibližně 27 milionů tun (a to bez výroby tavených sýrů, aby se zabránilo dvojímu započítání). Přírodní sýry z kravského mléka vyrobené průmyslově tvoří z tohoto množství přibližně 90 %. Zbývající množství pak představují sýry z jiných druhů mlék (buvolí, kozí a ovčí) a také domácí a farmářské sýry, které se v národních statistikách bohužel neobjevují. V roce 2024 vzrostla celosvětová průmyslová výroba sýrů o +2,0 % na celkových 24,4 milionu tun, což je o něco méně, než činí průměrné meziroční tempo růstu od roku 2015 (+2,2 %).

Obr. 5: Světová průmyslová výroba sýrů z kravského mléka



V roce 2024 zvýšila produkci sýrů většina zemí. V Evropské unii došlo k navýšení výroby sýrů o +2,3 % na celkových téměř 10 milionů. Růst byl nejvýraznější v Polsku (+4,5 %), Dánsku (+4,3 %) a Německu (+3,1 %), zatímco u některých významných výrobců byl růst nižší: např. Francie (+1,6 %), Itálie (+0,8 %) a Španělsko (+0,7 %). Některé země zaznamenaly dokonce pokles produkce, například Irsko (-4,8 %) a Nizozemsko (-1,9 %), což bylo způsobeno především poklesem množství dostupného mléka.

Ve Spojených státech amerických, které jsou druhým největším světovým producentem, došlo lk navýšení výroby sýrů o +0,7 % na celkových 6,5 milionu tun. Na růstu výroby sýrů v USA se pozitivně odrazilo zejména rozšiřování a modernizace výrobních kapacit a také růst obsahových složek mléka.

Brazílie zaznamenala v roce 2024 velmi výrazný nárůst produkce sýrů, stejně tak Turecko. Vývoj výroby sýrů byl rovněž zajímavý v Rusku, kde došlo ke zvýšení o +6,6 %. V Oceánii vzrostla produkce sýrů na Novém Zélandu jen o necelé +1,0 %, zatímco v Austrálii byl růst výraznější (+5,5 %). Pokles výroby byl ale naopak zaznamenán v Argentině (-1,7 %) a také ve Spojeném království (-4,1 %).

Sušená mléka

Výroba sušeného plnotučného mléka (SPM) se v roce 2024 zotavila po poklesu v předchozím roce jako důsledek výrazného poklesu čínské výroby. Celosvětově bylo vyrobeno 4,6 milionů tun, ale meziroční zvýšení o +2,0 % bylo pod úrovní let 2017–2021. Vývoj výroby v jednotlivých zemích byl ovšem značně rozdílný. Například v Číně došlo ke zvýšení produkce o +15,5 %, a to i přes skutečnost snížené produkce syrového mléka. Také největší světový výrobce SPM Nový Zéland zvýšil výrobu o +1,1 % na 1,4 milionu tun.

U druhé komodity, sušeného odstředěného mléka (SOM), byl vývoj opačný. Kvůli neuspokojivému vývoji poptávky došlo celosvětově ke snížení produkce o -2,3 % na 5,0 milionu tun.

Konsolidace mlékárenského průmyslu

Pořadí největších světových mlékárenských společností se v roce 2024 ve srovnání s rokem 2023 změnilo pouze částečně, přičemž na žebříčku zůstalo všech předchozích 20 společností. Pohyby měn vůči USD byly v tomto roce pouze mírné a neměly tudíž významný dopad na konečné pořadí. Poměrně stabilní vůči USD bylo především EUR, zatímco ostatní měny vykázaly jen mírný pokles, a to o přibližně -2 % u čínského jüanu (CNY), novozélandského dolaru (NZD) a indické rupie (INR) a -3 % u kanadského dolaru (CAD) a mexického pesa (MXN).

K významnějším změnám ale pravděpodobně dojde za rok 2025, jelikož v Evropě byly nedávno oznámeny velké restrukturalizační projekty, jako jsou fúze společností FrislandCampina s Milcobel, Arla Foods s DMK a Meggle se společností Rücker. I nadále zůstal v roce 2024 nejsilnější mlékárenskou skupinou světa francouzský Lactalis s obratem téměř 33 miliard USD, což představuje nárůst o +3 % oproti roku 2023.

Tab. 3: Pořadí světových mlékárenských lídrů v letech 2022-2024

	Společnost	Země	2022	2023	2024	Růst v % 2023/2024
1	Lactalis	Francie	29,8	31,9	32,8	+ 3 %
2	DFA[(e)]	USA	24,5	21,7	23,0	+ 6 %
3	Yili	Čína	18,4	17,8	16,1	- 10 %
4	Arla Foods	Dánsko	14,5	14,8	14,9	+ 21%
5	Danone [(B, C)]	Francie	15,6	15,5	14,6	- 6 %
6	Friesland Campina	Nizozemí	14,8	14,1	14,0	- 1 %
7	Fonterra [(D)]	Nový Zéland	15.8	16,1	13,9	- 13 %
8	Saputo	Kanada	13,5	12,8	13,7	+ 7 %
9	Megniu	Čína	13.8	13,9	12,3	-12 %
10	Nestlé [(B)]	Švýcarsko	11.8	12,2	11,8	- 3 %
11	Unilever [(E)]	UK	8,3	8,6	9.0	+ 5 %
12	Savencia	Francie	6.9	7,3	7,7	+ 5 %
13	Amul [(F)]	Indie	6.9	7,2	7,7	+ 5 %

14	Schreiber [(e)]	USA	6.5	7,1	7,2	+ 1 %
15	Müller [(e)]	Německo	6,5	6,7	6,7	0 %
16	Sodiaal	Francie	6,6	6,1	6,4	+ 6 %
17	Agropur (G)	Kanada	5,8	6,3	6,2	- 0 %
18	Froneri International	V.Británie	5,3	5,7	6,0	+ 5 %
20	Lala	Mexiko	4.6	5,6	5,5	-1 %
18	DMK	Německo	5.8	5,9	5,5	-7 %

Poznámky:

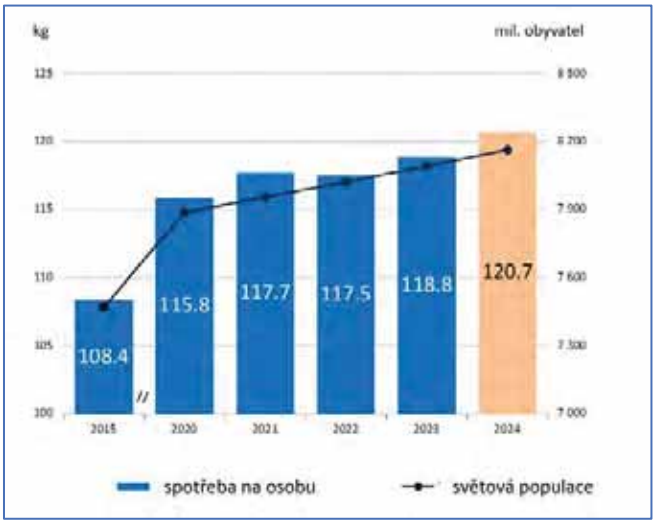
- modře podbarvené společnosti působí rovněž v českém mlékárenství
- A: PepsiCo a Mondelez nejsou zahrnuty; B: bez dětské výživy; C: včetně rostlinných náhražek; D: rok končí v červenci; E: pouze ice-cream; F: rok končí v březnu následujícího roku; G: rok končí v říjnu; e = odhady

Celosvětová spotřeba mléka a mléčných výrobků

Nejprve je nutné uvést, že vývoj, resp. růst spotřeby mléka a mléčných výrobků obvykle úzce souvisí s růstem světové populace. Ta se v roce 2024 meziročně zvýšila o 70 milionů (+0,9 %) a dosáhla téměř 8,2 miliardy lidí. Tempo světového populačního růstu nicméně za posledních pět let zpomalilo na 0,9 % ročně, ve srovnání s 1,1 % mezi lety 2015 a 2020. Je také potřeba poznamenat, že nejvyšší růst počtu obyvatel je soustředěn v regionech, ve kterých je dosavadní spotřeba mléčných výrobků na obyvatele stále poměrně nízká, zejména v Africe, ale také v Asii.

Vývoj spotřeby v roce 2024 překonal poprvé za tři roky růst celosvětové výroby mléka (ta byla +2,2 %) a dosáhl nejvyšší míry růstu od roku 2021, a sice +2,5 %. Globální spotřeba se za jediný rok zvýšila o více než 24 milionů tun (což například odpovídá roční produkci mléka na Novém Zélandu nebo ve Francii). Celkem tedy bylo zkonzumováno mléko a mléčné výrobky přepočtené na hodnotu mléčného ekvivalentu v objemu 985 milionu tun a stejně tak jako u globální mléčné produkce se očekává, že tento objem překročí v roce 2025 symbolickou hladinu 1.000 milionů tun. Dosažená vyšší míra růstu spotřeby oproti produkci mléka souvisela jednoznačně se snižujícími se zásobami mléčných výrobků v řadě zemí, zejména v Číně, ale rovněž tak v Evropské unii a ve Spojených státech amerických.

Obr. 6: Vývoj světové spotřeby mléka (v hodnotě ME)

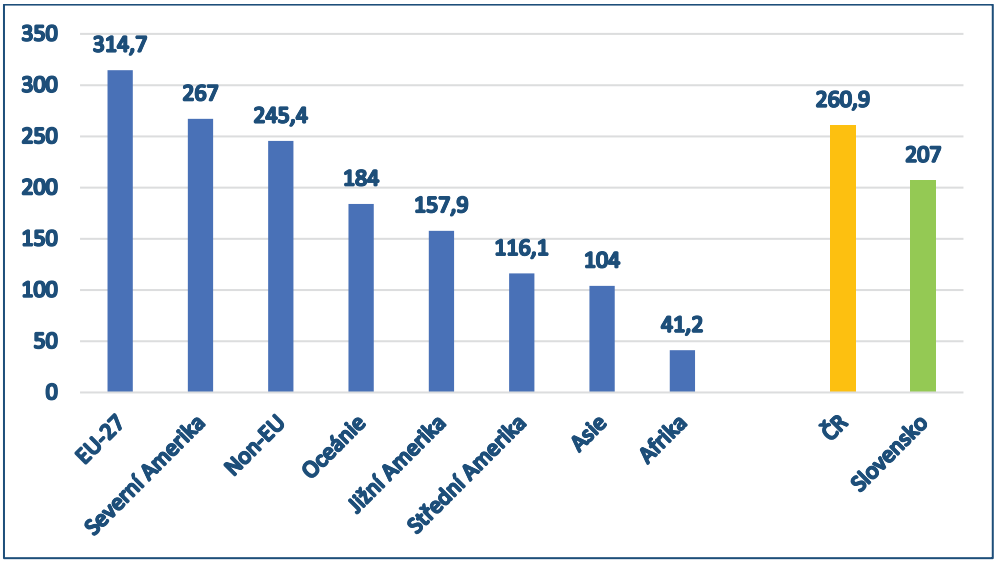


V letech 2022 až 2023 bezprostředně po vypuknutí války na Ukrajině byla poptávka po mléčných výrobcích omezena nabídkou, což sebou přineslo významný růst cen, a tedy i míry inflace. K opětovnému oživení začalo docházet až v závěru roku 2023.

Také v roce 2024 v návaznosti na mírné posilování HDP začalo docházet ke zlepšení koupěschopnosti s pozitivním dopadem na růst spotřeby (+2,4 %). Ceny se meziročně zvýšily o +18 %, což znamenalo opětovný převis poptávky nad nabídkou. Celosvětový růst cen mléčných výrobků však ukázal rozdíly mezi výrobky na bázi tuku, a naopak výrobků na bázi bílkovin. I když ceny některých nových proteinových výrobků vykazovaly dynamický růst, byly to právě výrobky bohaté na tuk, které nakonec táhly celkový růst spotřeby. V roce 2024 došlo ke snížení inflace na přibližně 3 %, což byla nejnižší míra od propuknutí ruské války na Ukrajině, a což znamenalo méně výrazný dopad na koupěschopnost.

Rozdíl ve spotřebě mléčných výrobků vyjádřených v hodnotě mléčného ekvivalentu byl v jednotlivých oblastech světa značně rozdílný:

Obr. 7: Světová spotřeba mléka v roce 2024 (v hodnotě ME)



Tab. 4: Míra soběstačnosti mléka podle kontinentů/regionů

Region	2015	2024
Asie	90 %	92 %
Evropa	111 %	110 %
EU 27	*115 %*	*115 %*
v tom ČR:	*131,6 %*	*143,6 %*
Non-EU	*100 %*	*101 %*
Severní Amerika	108 %	109 %
Jižní Amerika	101 %	101 %
Afrika	83 %	86 %
Střední Amerika	78 %	77 %
Oceánie	309 %	356 %

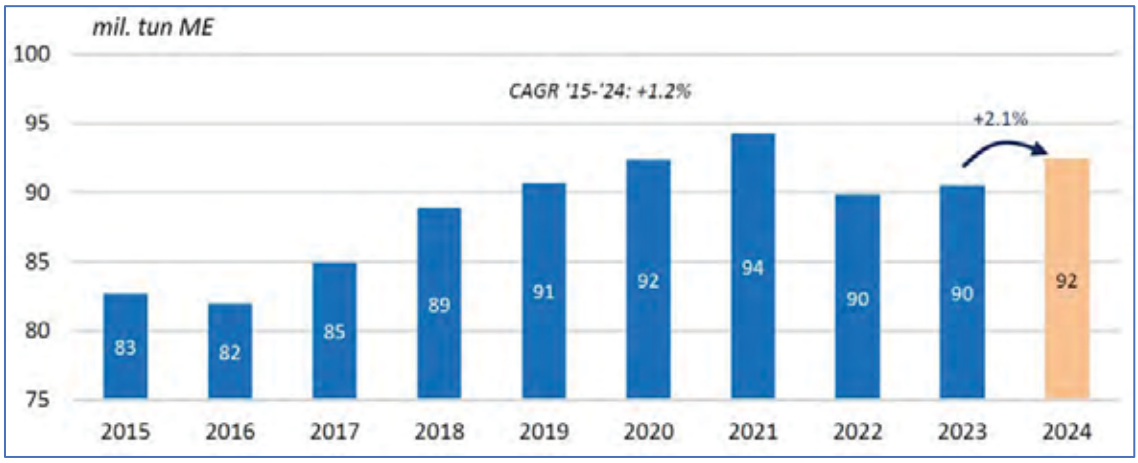
Vývoj mezinárodního obchodu s mlékem

Od roku 2022 tlumily cenové šoky související s válkou na Ukrajině a slabá čínská poptávka globální obchod s mléčnými výrobky, který v roce 2023 vzrostl pouze o +0,8 %. V roce 2024 se růst obchodu již zvýšil o +2,1 %, protože hlavní vývozci přesměrovali objemy od slabé čínské poptávky do jiných destinací. Vzrostl především světový obchod se sýry, máslem a máselným olejem. Vývoz sušeného plnotučného mléka vzrostl mírně o +0,4 %, zatímco objem obchodu se sušeným odstředěným mlékem se snížil o -1,5 %.

Status největšího světového vývozce mléčných výrobků s 27 % podílem a dominantním podílem ve vývozu sýrů, mléka a smetany si i nadále udržela Evropská unie. Druhý světový exportér Nový Zéland se na světovém obchodu podílel 22 % a zůstal lídrem v exportu sušeného plnotučného mléka a másla. Podíl USA dosáhl v roce 2024 15 %.

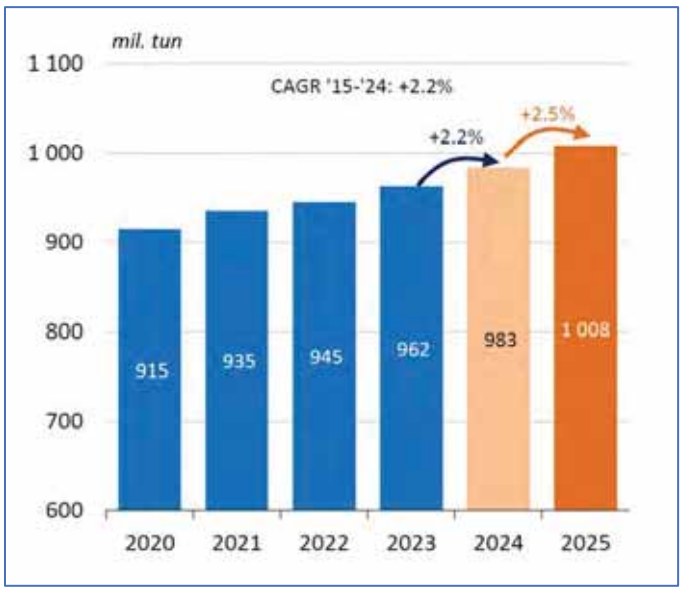
Vývoj světového obchodu mléka v období let 2015–2024 v hodnotě mléčného ekvivalentu znázorňuje obr. č 8.

Obr. 8: Vývoj světového obchodu mléka v letech 2015–2024 (v hodnotě ME)



Jaký výsledky lze očekávat za rok 2025

Obr. 9 : Očekávaný vývoj světové výroby mléka v roce 2025



Na základě dosavadních dostupných údajů o produkci mléka a s přihlédnutím k silnému a konzistentnímu růstu trvale pozorovanému v Indii a Pákistánu v posledních letech se odhaduje, že by se celosvětová produkce mléka v roce 2025 mohla zvýšit přibližně o +2,5 %, což je více než průměrná roční míra růstu (CAGR) za období 2015–2024 (+2,2 %).

Trh s mlékem byl v posledních letech řízen jednoznačně nabídkou. Neočekávaně vysoká produkce mléka posunuje trh s mlékem od poloviny roku 2025 z trhu prodávajícího na trh kupujícího. Prvovýrobci mléka reagují na vysoké marže, pokud produkci nebrání vnější

faktory, jako je sucho nebo různé choroby zvířat.- Poptávka se postupně přizpůsobuje nižším cenám.

Výrazně roste zejména obchod se sýry. Růst produkce zaznamenávají rovněž syrovátkové výrobky, a to díky současnému trendu proteinové stravy.

Nicméně vysoká rizika na trhu s mlékem panují v návaznosti na současný růst nákladů a zdražování logistiky po vypuknutí íránské války.

POUŽITÉ ZDROJE

1. Bulletin of the International Dairy Federation Nr. 537/2025: The World Dairy Situation 2025; (10/2025)
2. OECD/FAO (2024), OECD-FAO Agricultural Outlook 2025-2034, OECD Publishing, Paris, *www.oecd.org/en/publications/oecd-fao-agricultural-outlook-2025-2034_601276cd-en.html*
3. Osobní poznámky z IDW World Dairy Summit, Santiago de Chile (10/2025)

Kontaktná adresa: Ing. Jiří Kopáček, CSc., Českomoravský svaz mlékárenský z.s., V Olšinách 2300/75, 100 00 Praha 10, Česká republika. E-mail: jkopacek@cheesespectrum.cz

VPLYV PRÍDAVKU NETRADIČNÝCH RASTLINNÝCH DRUHOV NA VLASTNOSTI ČERSTVÝCH SYROV

EFFECT OF THE ADDITION OF UNCONVENTIONAL PLANT SPECIES ON THE PROPERTIES OF FRESH CHEESES

Korčok Melina, Demianová Alžbeta, Jakubčinová Jana, Čeryová Natália, Jurášková Dominika, Lidiková Judita

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

ABSTRACT

The increasing demand for functional dairy products has led to growing interest in the use of A2A2 milk and plant-derived bioactive compounds. This study aimed to evaluate the effect of two forms of plant additives (extracts and herbs) on the textural and sensory properties of fresh cheese. Model cheese samples were prepared from A2A2 milk and fortified with plant materials derived from *Solanum nigrum* L., *Scorzonera hispanica* L., and *Brassica napus* subsp. *napobrassica* L. Texture analysis showed that the addition of dried plant materials significantly increased cheese hardness, resulting in a firmer and less homogeneous structure. In contrast, samples fortified with plant extracts exhibited textural properties comparable to the control sample. Sensory evaluation using a 9-point hedonic scale revealed that cheeses containing extracts maintained similar acceptability to the control, whereas those with dried plant materials received significantly lower scores across most evaluated attributes. Pearson correlation analysis demonstrated strong positive relationships among sensory attributes and negative correlations between hardness and sensory parameters. The findings indicate that the form of plant additive plays a crucial role in determining product quality. Plant extracts appear to be a more suitable fortification strategy, as they preserve both textural and sensory characteristics of fresh cheese.

Key words: fresh cheese, plant-based fortification, bioactive compounds, texture properties, sensory attributes, consumer acceptance

ÚVOD

Mliečny sektor zaznamenáva v súčasnosti dynamický rozvoj, pričom rastúci dopyt po inovatívnych a nutrične hodnotných potravinách vedie k rozširovaniu portfólia mliečnych výrobkov (Żbik et al. 2024). V súčasnosti sa do popredia dostáva diferenciácia mlieka podľa

variantov β-kazeínu, pričom zvýšený záujem je venovaný najmä mlieku typu A2A2. Tento typ mlieka sa vyznačuje odlišnými technologickými vlastnosťami v porovnaní s A1A1 mliekom a naznačuje sa aj jeho potenciálne priaznivejší vplyv na zdravie, najmä u citlivých skupín populácie. Rozdiel spočíva v aminokyselinovom zložení β-kazeínu. Prítomnosť prolínu namiesto histidínu na pozícii 67 môže viesť k nižšiemu uvoľňovaniu β-kazomorfínu-7 počas trávenia. Tento mechanizmus môže súvisieť s miernejším výskytom gastrointestinálnych ťažkostí. Mlieko typu A2A2 sa preto javí ako perspektívna alternatíva, najmä pre spotrebiteľov, ktorí netrpia alergiou ani laktózovou intoleranciou, no napriek tomu po konzumácii bežného mlieka pociťujú tráviace ťažkosti (Manuelian et al. 2025; Żbik et al. 2024; Fernández-Rico et al. 2022).

Prírodné antioxidanty a bioaktívne zlúčeniny zohrávajú významnú úlohu pri podpore fyziologických funkcií organizmu a prevencii chronických ochorení, pričom ich inkorporácia do potravinových matríc predstavuje efektívny spôsob zvýšenia ich nutričnej hodnoty a zdravotného potenciálu. Mliečne výrobky, vrátane čerstvých syrov, poskytujú vhodné matrice pre fortifikáciu týmito zlúčeninami (Ali et al. 2021). Čerstvé syry predstavujú významný segment mliečnych výrobkov, charakteristický vysokou nutričnou hodnotou a relatívne jednoduchou technológiou výroby. Ich popularita medzi spotrebiteľmi je zároveň podmienená jemným chuťovým profilom a príjemnou textúrou. Tieto vlastnosti ich predurčujú na využitie pri vývoji inovatívnych produktov, najmä funkčných potravín a výrobkov s pridanou hodnotou (Borche et al. 2026; Borges et al. 2024).

Vývoj funkčných potravín obohatených o prírodné zdroje biologicky aktívnych látok, ako aj využitie mlieka s odlišným variantom β-kazeínu, ako je A2A2 mlieko, je úzko spätý s mierou ich akceptácie spotrebiteľmi. Úspech takýchto produktov na trhu nie je determinovaný výlučne ich nutričnými či fyziologickými benefitmi, ale vo veľkej miere závisí od ich senzorickej kvality. Senzorické atribúty, predstavujú kľúčové faktory ovplyvňujúce spotrebiteľské preferencie, vnímanie kvality a ochotu k opakovanej konzumácii. Z tohto dôvodu je nevyhnutné pri vývoji inovatívnych mliečnych výrobkov zabezpečiť rovnováhu medzi funkčnými vlastnosťami a senzorickou prijateľnosťou, ktorá zásadne determinuje ich úspešnú implementáciu na trhu (Manuelian et al. 2025; Baker et al. 2022).

Cieľom tejto štúdie bolo analyzovať vplyv dvoch foriem aplikácie rastlinných prídavkov (extrakty a sušené vňate) na senzorické a texturálne vlastnosti čerstvého syra. Uvedené vlastnosti predstavujú dôležité faktory determinujúce spotrebiteľskú akceptovateľnosť funkčných potravín. Súčasne boli analyzované vzťahy medzi texturálnymi parametrami (pevnosť) a senzorickými atribútmi s cieľom identifikovať ich vzájomné interakcie a ich vplyv na komplexné senzorické vnímanie produktu.

MATERIÁL A METODIKA

Príprava rastlinných prídavkov vo forme extraktov a vňatí

Experiment zahŕňal využitie vňatí ľuľka čierneho (*Solanum nigrum* L.), čierneho koreňa (*Scorzonera hispanica* L.) a kapusty repkovej kvakovej (*Brassica napus* subsp. *napobrassica* L.). Vňate boli pred aplikáciou sušené v laboratórnej sušičke pri teplote 35 °C počas 3 dní a následne použité buď priamo v sušenej forme, alebo na prípravu extraktov.

Extrakty boli pripravené podľa autorov Ngoc et al. (2019) s úpravami. Na extrakciu bolo použitých 2,5 g sušenej vňate, ktorá bola prenesená do Erlenmeyerovej banky a zaliata 250 mL prevarenej destilovanej vody. Zmes bola počas extrakcie miešaná a následne ponechaná na lúhovanie po dobu 10 minút. Po ukončení extrakcie bola zmes prefiltrovaná cez filtračný papier na odstránenie pevných častíc. Následne bol extrakt filtrovaný cez membránový filter s veľkosťou pórov 0,22 µM.

Príprava vzoriek modelových syrov

Vzorky syrov boli pripravené podľa postupu Jurášková et al. (2024) z pasterizovaného A2A2 kravského mlieka (65 °C/30 min). Do jednotlivých dávok mlieka boli samostatne pridané vňate (1 g/100 mL) alebo bylinné extrakty (1 mL/100 mL), následne soľ (NaCl, 8 g/L), $CaCl_2$ (0,2 g/L) a syridlo podľa pokynov výrobcu. Po pasterizácii bola teplota mlieka znížená a udržiavaná na 30–32 °C počas 45 minút do zrazenia. Po narezaní syreniny bola oddelená srvátka a syrenina bola prenesená do perforovaných foriem na ďalšie odtekanie. Syry boli skladované pri 4 °C. Prehľad experimentálnych skupín pripravených vzoriek čerstvých syrov je uvedený v Tabuľke 1.

Tabuľka č. 1, Prehľad pripravených vzoriek čerstvých syrov

Kód	Použitá plodina	Forma prídavku
FC-C	-	-
ĽČ-E	Ľuľok čierny (*Solanum nigrum* L.)	Extrakt
ČK-E	Čierny koreň (*Scorzonera hispanica* L.)	Extrakt
K-E	Kapusta repková kvaková (*Brassica napus* subsp. *napobrassica* L.)	Extrakt
ĽČ-B	Ľuľok čierny (*Solanum nigrum* L.)	Sušená vňať
ČK-B	Čierny koreň (*Scorzonera hispanica* L.)	Sušená vňať
K-B	Kapusta repková kvaková (*Brassica napus* subsp. *napobrassica* L.)	Sušená vňať

Analýza texturálnych vlastností

Na hodnotenie textúry bol použitý penetračný test, pri ktorom bola pevnosť definovaná ako maximálna sila zaznamenaná počas penetrácie sondy do vzorky syra (Pădureţ 2025). Analýza texturálnych vlastností vzoriek syrov bola vykonaná pomocou texturometra TA.XT.plus (Stable Micro Systems, Surrey, UK). Bola použitá cylindrická sonda typu 5 mm Ø Cylinder Probe z nehrdzavejúcej ocele. Merania prebiehali pri hĺbke penetrácie 10 mm a rýchlosti pohybu sondy 1 mm/s. Každá vzorka bola analyzovaná v troch opakovaniach.

Senzorická analýza

Senzorického hodnotenia sa zúčastnilo 17 hodnotiteľov (10 žien a 7 mužov) s priemerným vekom 41 ± 13 rokov. Na hodnotenie bola použitá 9-bodová hedonická stupnica (Peryam a Girardot 1952) v rozsahu od 1 – „veľmi sa mi nepáči“ po 9 – „veľmi sa mi páči“. Pričom boli hodnotené atribúty ako je vzhľad, farba, vôňa, chuť, textúra, dochuť a celkový dojem.

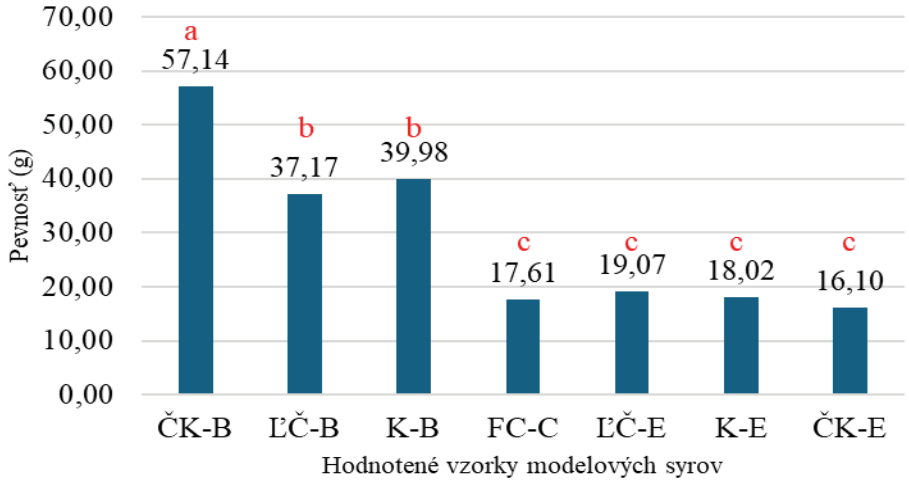
Štatistické spracovanie výsledkov

Vyhodnotenie výsledkov bolo realizované v softvéri XLSTAT (Addinsoft, 2024, New York, NY, USA). Rozdiely medzi vzorkami boli posúdené pomocou analýzy rozptylu (ANOVA) s Duncanovým testom a metódou REGWQ. Dáta zo senzorického hodnotenia (9-bodová hedonická škála) boli spracované v programe RedJade Sensory Software. Vzťahy medzi fyzikálnymi parametrami a senzorickými vlastnosťami boli posúdené pomocou Pearsonovej korelácie (R Core Team, 2021). Všetky štatistické analýzy boli vykonané pri hladine významnosti $p \leq 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Analýza texturálnych vlastností

Boli identifikované štatisticky významné rozdiely v pevnosti modelových syrov v závislosti od formy aplikácie rastlinných materiálov (Graf 1). Najvyššie hodnoty boli zaznamenané pri vzorkách s prídavkom sušených vňatí, pričom štatisticky najvyššiu pevnosť dosiahla vzorka ČK-B (57,140 g), nasledovaná vzorkami K-B (39,983 g) a ĽČ-B (37,170 g). Naopak, vzorky fortifikované extraktmi (ĽČ-E, K-E, ČK-E) vykazovali výrazne nižšie hodnoty pevnosti, ktoré boli porovnateľné s kontrolnou vzorkou (FC-C). Najnižšia pevnosť bola zaznamenaná pri vzorke ČK-E (16,103 g), pričom medzi týmito vzorkami neboli pozorované významné rozdiely.

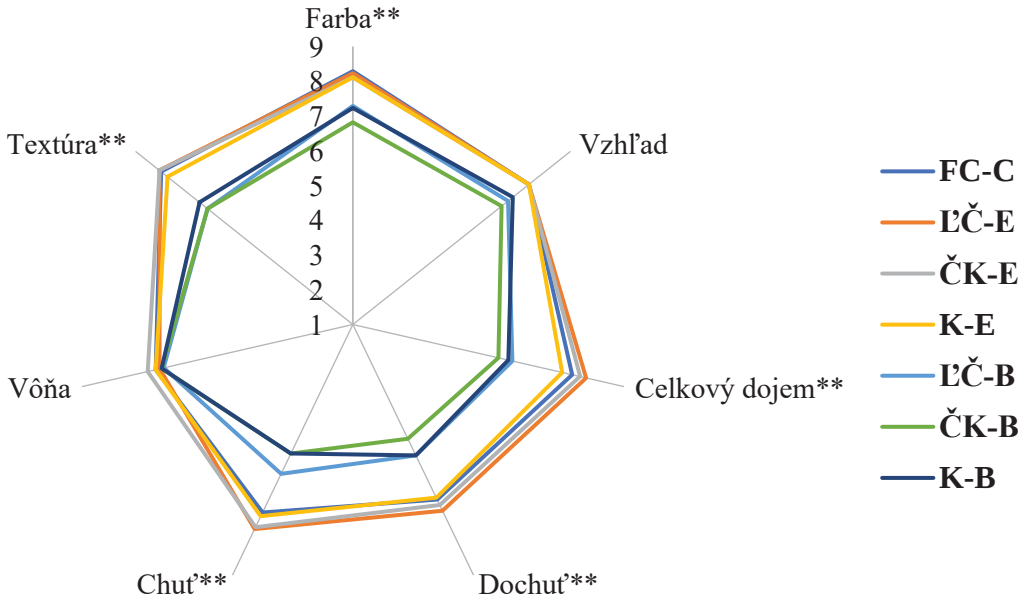


Graf č. 1, Analýza texturálnych vlastností modelových syrov

Uvedené výsledky naznačujú, že prídavok sušených vňatí vedie k signifikantnému zvýšeniu pevnosti a teda k tvorbe tuhšej štruktúry produktu, zatiaľ čo aplikácia extraktov nemá výrazný vplyv na texturálne vlastnosti v porovnaní s kontrolnou vzorkou. Podobné výsledky uvádza aj Al Tamimi (2024), ktorý poukazuje na to, že prídavok rastlinných extraktov nemá negatívny vplyv na základné kvalitatívne parametre mliečnych výrobkov, ako sú obsah vody, bielkovín či tukov, a zároveň môže prispieť k predĺženiu ich trvanlivosti. V štúdii autorov Pluta-Kubica et al. (2024) zameranej na vlastnosti mäkkého syra z ovčieho mlieka, bolo po prídavku listov medvedieho cesnaku (sušených pri 40 °C približne 40 h na obsah vlhkosti ~10 %) pozorované zvýšenie tvrdosti produktu. Podľa autorov bol tento efekt pravdepodobne spôsobený nižším obsahom vody vo vzorkách, pričom ostatné texturálne parametre neboli signifikantne ovplyvnené. Salehi (2021) uvádza, že práškové formy rastlinných prídavkov majú v porovnaní s inými formami menej výrazný vplyv na texturálne vlastnosti, čo poukazuje na význam formy aplikácie rastlinného materiálu pri ovplyvňovaní textúry produktu.

Senzorické hodnotenie modelových syrov

Výsledky senzorického hodnotenia poukázali na výrazný vplyv formy aplikácie rastlinných zložiek na kvalitu finálnych produktov z hľadiska spotrebiteľskej preferencie (Graf 2). Vzorky fortifikované rastlinnými extraktmi nevykazovali vo väčšine hodnotených atribútov štatisticky významné rozdiely v porovnaní s kontrolnou vzorkou ($p \geq 0,05$). Naopak, vzorky s prídavkom sušených vňatí použitých plodín boli konzistentne hodnotené nižším bodovým skóre, pričom tento pokles bol štatisticky významný ($p \leq 0,05$) najmä pri atribútoch farba, chuť, textúra, dochuť a celkový dojem. Celkovo možno konštatovať, že kontrolná vzorka a vzorky s aplikáciou rastlinných extraktov dosiahli vyššiu mieru senzorickej akceptovateľnosti (celkový dojem 7,18 – 7,88 bodu).



Graf č. 2, Výsledky senzorického hodnotenia modelových syrov

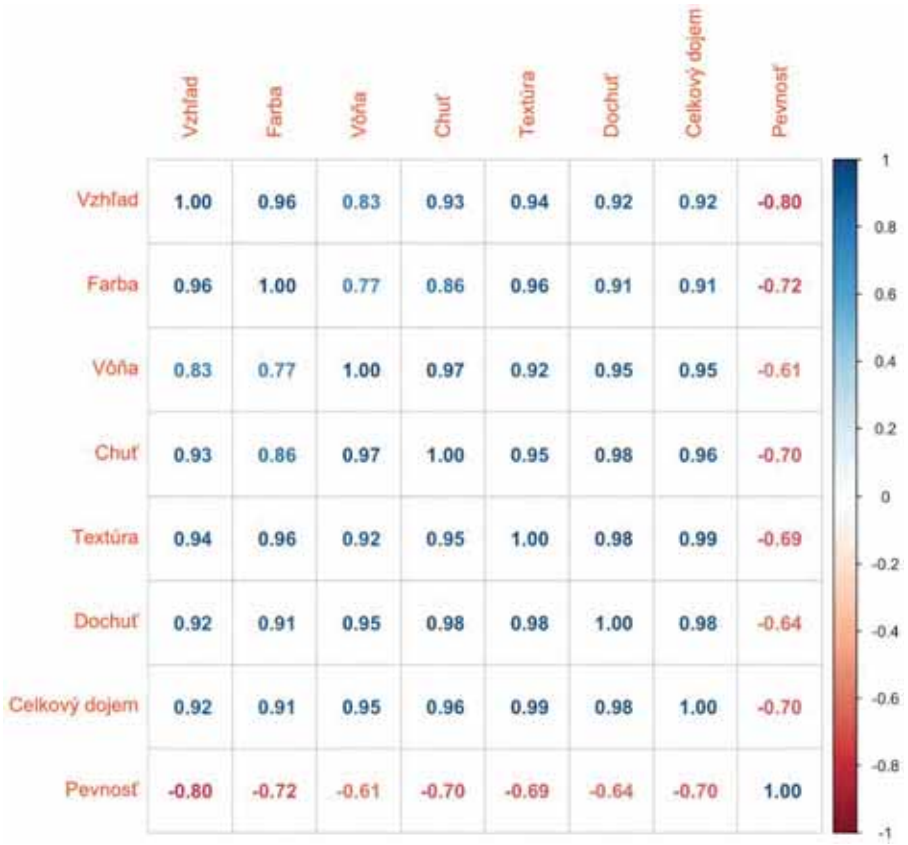
Uvedené výsledky naznačujú, že aplikácia rastlinných extraktov predstavuje vhodnú stratégiu fortifikácie bez negatívneho ovplyvnenia senzorického profilu, zatiaľ čo prídavok sušených vňatí vedie k zníženiu senzorickej akceptovateľnosti. Podľa El-Sayed et al. (2025) výber vhodnej formy aplikácie rastlinných zložiek (napr. šťavy, prášky, extrakty alebo mikroenkapsulované formy) má kľúčovú úlohu pri ovplyvňovaní funkčných vlastností a spotrebiteľského vnímania funkčných mliečnych výrobkov. Štúdie naznačujú, že aj napriek nutričným benefitom fortifikácie mliečnych výrobkov zohrávajú senzorické vlastnosti kľúčovú úlohu pri výbere produktov, keďže spotrebitelia uprednostňujú chuť a celkový senzorický profil výrobku (Kandyliari et al. 2021).

Korelačná analýza texturálnych a senzorických vlastností

Textúra patrí medzi kľúčové kvalitatívne parametre potravín a je daná ich štrukturálnymi, mechanickými a povrchovými vlastnosťami vnímanými senzoricky (Yerlikaya et al. 2020). Pearsonova korelačná analýza poukázala na vzťahy medzi texturálnym parametrom (pevnosť) a senzorickými vlastnosťami hodnotených vzoriek (Graf 3). Medzi jednotlivými senzorickými atribútmi boli identifikované silné pozitívne korelácie (r = 0,77–0,99), čo poukazuje na ich významnú úlohu pri determinovaní spotrebiteľskej akceptovateľnosti výrobku. V kontraste s tým bola medzi pevnosťou a všetkými senzorickými atribútmi zaznamenaná negatívna korelácia (r = -0,61 až -0,80). Najvýraznejšie negatívne korelačné vzťahy boli zaznamenané medzi pevnosťou a vzhľadom, ako aj medzi pevnosťou a farbou, chuťou, senzoricky hodnotenou textúrou a celkovým dojmom. Tento trend možno

vysvetliť tým, že zvýšená pevnosť vzoriek bola spojená najmä s prídavkom sušených vňatí. Podobné korelačné vzťahy medzi inštrumentálne stanovenými texturálnymi vlastnosťami a senzorickými deskriptormi uvádzajú aj Hutchings et al. (2024) ktorých štúdia bola zameraná na charakterizáciu rozdielov v textúre medzi mliečnymi syrmi a ich rastlinnými analógmi.

Na základe uvedených výsledkov môžeme konštatovať, že zvyšujúca sa pevnosť negatívne ovplyvňuje senzorické vnímanie produktu. Pričom, vzorky s tuhšou štruktúrou boli hodnotiteľmi vnímané ako menej prijateľné, čo poukazuje na význam optimalizácie texturálnych vlastností pri vývoji fortifikovaných syrov.



Graf č. 3, Korelačná mapa texturálnych a senzorických vlastností čerstvých syrov

ZÁVER

Na základe získaných výsledkov možno konštatovať, že forma aplikácie rastlinných materiálov významne ovplyvňuje texturálne a senzorické vlastnosti čerstvých syrov pripravených z A2A2 mlieka. Prídavok sušených vňatí viedol k štatisticky významnému zvýšeniu pevnosti a tvorbe tuhšej, menej homogénnej štruktúry, čo sa prejavilo poklesom senzorickej akceptovateľnosti. Naopak, aplikácia rastlinných extraktov sa ukázala ako vhodnejšia stratégia fortifikácie, keďže neovplyvnila texturálne ani senzorické vlastnosti v porovnaní s kontrolnou vzorkou na štatisticky významnej úrovni. Korelačná analýza potvrdila negatívny vzťah medzi pevnosťou a senzorickými atribútmi, čo zdôrazňuje význam optimalizácie textúry pri vývoji funkčných mliečnych výrobkov. Výsledky zároveň poukazujú

na potrebu zohľadnenia nielen nutričného prínosu, ale aj formy rastlinných prídavkov a ich vplyvu na senzorický profil navrhovaných výrobkov. Z hľadiska spotrebiteľskej prijateľnosti navrhovaného výrobku by sa budúci výskum mal zamerať na optimalizáciu spracovania rastlinných zdrojov biologicky účinných látok, najmä ich úpravu do jemnej práškovej formy, s cieľom zlepšiť ich disperziu v mliečnej matrici a minimalizovať negatívny vplyv na senzorické vlastnosti.

POĎAKOVANIE

Táto štúdia bola podporená Vedeckou grantovou agentúrou MŠVVaM SR a SAV na základe zmluvy č. 1/0071/25 „Netradičné rastlinné zdroje biologicky účinných látok s možnosťou aplikácie v potravinárskych výrobkoch“.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AL TAMIMI, A. The economic indicators of digitalization technologies in the agricultural production, food industry and marketing sectors – a review. In *University of Thi-Qar Journal of Agricultural Research* [online]. 2024, roč. 13, č. 1, s. 222–233. ISSN 2708-9339. Dostupné na internete: https://doi.org/10.54174/utjagr.v13i1.323.
2. ALI, M. A. et al. Functional dairy products as a source of bioactive peptides and probiotics: current trends and future prospectives. In *Journal of Food Science and Technology*. ISSN 0975-8402, 2021, vol. 59, no. 4, p. 1263–1279.
3. BAKER, M. T. et al. Consumer acceptance toward functional foods: a scoping review. In *International Journal of Environmental Research and Public Health* [online]. 2022, vol. 19, no. 3 [cit. 2025-04-12]. ISSN 1660-4601. Dostupné na internete: https://doi.org/10.3390/ijerph19031217.
4. BORGES, D. M. et al. Dried algae as potential functional ingredient in fresh cheese. In *Food Bioengineering* [online]. 2024, vol. 3, no. 1, p. 65–72 [cit. 2026-04-14]. ISSN 2770-2081. Dostupné na internete: https://doi.org/10.1002/fbe2.12077.
5. BORCHE, M. et al. Traditional technology of fresh cheese production with added spices as a functional value-added dairy product. In *International Journal of Research and Review* [online]. 2026, vol. 13 [cit. 2026-04-14]. ISSN 2454-2237. Dostupné na internete: https://doi.org/10.52403/ijrr.20260341.
6. EL-SAYED, S. M. et al. Innovative dairy-based products featuring vegetables: a complementary technique with promising perspectives. In *Journal of Food Measurement and Characterization* [online]. 2025, vol. 19, no. 11, p. 8165–8181 [cit. 2026-04-17]. ISSN 2193-4134. Dostupné na internete: https://doi.org/10.1007/s11694-025-03570-6.

7. FERNÁNDEZ-RICO, S. et al. A2 milk: new perspectives for food technology and human health. In *Foods* [online]. 2022, vol. 11, no. 16 [cit. 2026-04-14]. ISSN 2304-8158. Dostupné na internete: https://doi.org/10.3390/foods11162387.
8. HUTCHINGS, S. et al. Dairy versus non-dairy cheese texture: sensory and instrumental contrasts. In *Journal of Texture Studies* [online]. 2024, vol. 55, no. 4 [cit. 2026-04-17]. ISSN 1745-4603. Dostupné na internete: https://doi.org/10.1111/jtxs.12863.
9. JURÁŠKOVÁ, D. et al. Exopolysaccharide (EPS) produced by *Leuconostoc mesenteroides* SJC113: characterization of functional and technological properties and application in fat-free cheese. In *Macromol* [online]. 2024, vol. 4, no. 3, p. 680–696 [cit. 2026-04-16]. ISSN 2673-6209. Dostupné na internete: https://doi.org/10.3390/macromol4030040.
10. KANDYLIARI, A. et al. An epidemiological study report on the antioxidant and phenolic content of selected Mediterranean functional foods and consumer behavior. In *Applied Sciences* [online]. 2021, vol. 11, no. 17, p. 7818 [cit. 2026-04-17]. ISSN 2076-3417. Dostupné na internete: https://doi.org/10.3390/app11177818.
11. MANUELIAN, C. L. et al. Is there a potential market for A2 milk? Consumer perception of dairy production and consumption. In *Foods* [online]. 2025, vol. 14, no. 15 [cit. 2026-04-14]. ISSN 2304-8158. Dostupné na internete: https://doi.org/10.3390/foods14152567.
12. NGOC, P. C. et al. Optimizing water-based extraction of bioactive principles of hawthorn. In *Molecules* [online]. 2019, vol. 24, no. 23, p. 4420 [cit. 2026-04-16]. ISSN 1420-3049. Dostupné na internete: https://doi.org/10.3390/molecules24234420.
13. PĂDUREŢ, S. Textural evaluation of milk products: instrumental techniques, parameters, and challenges. In *Dairy* [online]. 2025, vol. 6, no. 5 [cit. 2026-04-16]. ISSN 2624-862X. Dostupné na internete: https://doi.org/10.3390/dairy6050058.
14. PERYAM, D. R. – GIRARDOT, N. F. Advanced taste-test method. In *Food Engineering* [online]. 1952, vol. 24, no. 58 [cit. 2024-12-17]. Dostupné na internete: https://www.researchgate.net/publication/313672863_Advanced_taste-test_method.
15. PLUTA-KUBICA, A. et al. Sensory quality, volatile compounds, and physical properties of sheep's milk cheese with herbs (*Allium ursinum* L.). In *Molecules* [online]. 2024, vol. 29, no. 24, p. 5999 [cit. 2026-04-17]. ISSN 1420-3049. Dostupné na internete: https://doi.org/10.3390/molecules29245999.
16. SALEHI, F. Rheological and physicochemical properties of vegetable juices and concentrates: a review. In *Journal of Food Processing and Preservation* [online]. 2021, vol. 45, no. 4, p. e15326 [cit. 2026-04-17]. ISSN 1745-4549. Dostupné na internete: https://doi.org/10.1111/jfpp.15326.

17. YERLIKAYA, O. et al. The influence of plant addition on physicochemical and sensory properties of mozzarella cheese. In *Mljekarstvo* [online]. 2020, vol. 70, no. 4, p. 300–312 [cit. 2026-04-17]. ISSN 1846-4025. Dostupné na internete: https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2020.0408.
18. ŻBIK, K. et al. Trends and opportunities in the dairy industry: A2 milk and processing methods. In *Applied Sciences* [online]. 2024, vol. 14, no. 15 [cit. 2026-04-14]. ISSN 2076-3417. Dostupné na internete: https://doi.org/10.3390/app14156513.

Kontaktná adresa: Korčok Melina, Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika. E-mail: melina.korcok@uniag.sk

RASTLINY A FYTOZLÚČENINY AKO PRÍRODNÉ KOKCIDIOSTATIKÁ

PLANTS AND PHYTOCOMPOUNDS AS NATURAL COCCIDIOSTATS

Kožárová Ivona, Koréneková Beáta

Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

The presence of coccidiostat residues in food of animal origin is a problem that may affect the health of consumers. Several scientific studies provide evidence of the potential of some plants to positively influence poultry health parameters and to mitigate the harmful effects of the most important protozoal infection in poultry, coccidiosis. This work provides an overview of green and flowering plants and plant phytocompounds whose prophylactic/therapeutic potential in the fight against coccidiosis in poultry has been scientifically verified.

Key words: coccidiosis, plants, treatment, solution

ÚVOD

Kokcidióza je vysoko nákazlivé črevné ochorenie zvierat spôsobené parazitickými prvokmi rodu *Eimeria* s nesmiernym ekonomickým dopadom predovšetkým na rentabilitu chovu hydiny. Výskyt kokcidiózy nielenže narúša integritu čriev hydiny, ale zvyšuje jej náchylnosť na ochorenie, čím predstavuje vážnu hrozbu pre celkové zdravie a produktivitu chovu hydiny (Chen a kol., 2025).

Stratégie boja proti kokcidióze sú postavené na preventívnej aplikácii kokcidiostatík podávaných ako kŕmne doplnkové látky v krmive alebo vakcinácii živými virulentnými kmeňmi kokcídií alebo živými atenuovanými líniami kokcídií rodu *Eimeria*. Hoci je táto stratégia cenovo efektívna a úspešná, prítomnosť rezistencie na lieky a verejný dopyt po mäse bez rezíduí, resp. možné poškodenie čriev po vakcinácii a zvýšenie nákladov na chov podporili vývoj alternatívnych stratégií kontroly kokcidiózy hydiny (Muthamilselvan a kol., 2016).

Alternatívnu stratégiu kontroly kokcidiózy hydiny predstavujú rastliny a fytozlúčeniny. Aromatické rastliny, bylinky a koreniny sa od pradávna používali v ľudovom liečiteľstve. Dopyt po ich využití neutícha, pretože sú prírodné, ekologické a všeobecne uznávané ako bezpečné produkty s potenciálom stať sa látkami novej generácie pre výživu a zdravie zvierat a ľudí (Christaki a kol., 2012).

RASTLINY AKO PRÍRODNÉ KOKCIDIOSTATIKÁ

Rastliny, najmä liečivé rastliny, vďaka svojim antioxidačným, protizápalovým a imunomodulačným vlastnostiam si v ostatnom období získavajú pozornosť vedcov aj ako prírodné alternatívy kokcidiostatík. Mnohé štúdie preukázali, že niektoré rastliny predchádzajú a kontrolujú rozvoj a progresiu kokcidiózy najmä priamym brzdením životného cyklu *Eimeria* spp. alebo nepriamo posilnením imunity hostiteľa, udržiavaním zdravia čriev, obnovou črevnej sliznice, udržiavaním mikrobiálnej homeostázy a vyrovnávaním oxidačného a antioxidačného stavu (Han a kol. 2022, Nahed a kol., 2022, Hascoët a kol., 2025, Chen a kol., 2025).

Ako prírodné kokcidiostatiká bolo doposiaľ testovaných niekoľko desiatok zelených a kvitnúcich rastlín. Prehľad mechanizmu účinku niektorých z nich je prezentovaný v Tabuľke č. 1.

Tabuľka č. 1, Prehľad rastlín s kokcidiostatickým účinkom

Druh rastliny	Spôsob použitia*	*Eimeria* spp.	Účinok
Sophora Flavescens Žltý jerlín	Odvar	*E. tenella*	WG ↑, OC ↓, BD ↓, LS ↓, M ↓
Sinomenium acutum Mesiačikovec ostrolistý	Odvar	*E. tenella*	WG ↑, OC ↓, BD ↓, LS ↓, M ↓
Quisqualis indica Jasmín červený	Odvar	*E. tenella*	WG ↑, M ↓
Pulsatilla koreana Poniklec kórejský	Odvar	*E. tenella*	WG ↑ and LS ↓
Ulmus macrocarpa Brest veľkoplodý	Odvar	*E. tenella*	LS ↓
Artemisia asiatica Palina azijská	Odvar	*E. tenella*	WG ↑ and LS ↓
Gleditsia japonica Gledíčia japonská	Odvar	*E. tenella*	LS ↓
Solanum nigrum Ľulok čierny	Odvar	*E. tenella*	WG ↑, FC ↑
Mentha arvensi)s Mäta roľná	Odvar	*E. tenella*	WG ↑, FC ↑
Moringa indica	Odvar	*E. tenella*	WG ↑, FC ↑
Melia azedarach Zederah hladký	Odvar	*E. tenella*	WG ↑, LS ↓
Melia azedarach Zederah hladký	Čerstvá šťava	*Eimeria* spp.	OC ↓
Piper nigrum Piepor čierny	Etanolový extrakt	*Eimeria* spp.	OC ↓
Urtica dioica Príhľava dvojdomá	Etanolový extrakt	*Eimeria* spp.	OC ↓
Lepidium sativum Žerucha siata	Etanolový extrakt	*Eimeria* spp.	OC ↓, LS ↓, M ↓, WG ↑
Musa paradisiaca Banánovník rajský	Metanolový extrakt	*E. tenella*	OC ↓ PCV ↑
Foeniculum vulgare Fenikel obyčajný	Prášok z mletých listov	*E. tenella*	OC ↓, LS ↓, M ↓, WG ↑, BD ↓
Morinda lucida	Prášok z mletých listov	*Eimeria* spp.	WG ↑, OC ↓
Moringa stenopetala	Prášok z mletých listov	*E. tenella*	OC ↓, LS ↓, WG ↑

Druh rastliny	Spôsob použitia∗	*Eimeria* spp.	Účinok
Galla rhois	Mletý prášok	*E. tenella*	OC ↓, LS ↓, M ↓, WG ↑
Moringa oleifera Moringa olejodarná	Acetónový extrakt z listov	*Eimeria* spp.	WG ↑, OC ↓
Tulbaghia violacea Cesnaková tráva	Acetónový extrakt	*E. tenella*	OC ↓, LS ↓, FC ↑
Vitis vinifera Vinič hroznorodý	Acetónový extrakt	*E. tenella*	OC ↓, LS ↓, FC ↑
Artemisia afra Palina africká	Acetónový extrakt	*E. tenella*	OC ↓, LS ↓, FC ↑
Origanum spp. Oregáno (Pamajorán)	Esenciálny olej	*Eimeria* spp.	OC ↓, LS ↓, M ↓, WG ↑
Laurus nobilis Vavrín pravý	Esenciálny olej	*Eimeria* spp.	OC ↓, LS ↓, M ↓, WG ↑
Lavandula stocheas Levandula korunkatá	Esenciálny olej	*Eimeria* spp.	OC ↓, LS ↓, M ↓, WG ↑

WG: prírastok telesnej hmotnosti; OC: počet oocýst; FC: spotreba krmiva; M: mortalita; BD: krvavá hnačka; LS: skóre lézií; ↑: zlepšenie/nárast/vyššie; ↓: zníženie/nižšie; PCV: objem zhustených erytrocytov; ∗: na testy boli použité celé rastliny a/alebo nadzemné časti rastlín, pokiaľ nie je uvedené inak

Zdroj: Muthamilselvan a kol., 2016

FYTOZLÚČENINY AKO PRÍRODNÉ KOKCIDIOSTATIKÁ

Početné štúdie rovnako preukázali, že rôzne rastliny obsahujú širokú škálu účinných látok, ktoré potláčajú kokcidiózu prostredníctvom intervencie do vývojových štádií životného cyklu *Eimeria* spp. u hydiny. Podrobnosti o účinných fytozlúčeninách prítomných v rastlinách a ich mechanizme účinku sú prezentované v Tabuľke č. 2.

Tabuľka č. 2, Fytozlúčeniny pôsobiace na životný cyklus *Eimeria* spp.

Fytozlúčenina	Rastlina	Mechanizmus účinku	*Eimeria* spp.
Artemisinín	*Artemisia annua* Palina ročná	Inhibícia tvorby steny oocýst a sporulácie prostredníctvom oxidačného stresu	*E. tenella, E. acervulina, E. maxima*
Tanín	*Pinus radiata* Borovica paprsčitá	Inhibícia sporulácie oocýst	*E. tenella, E. acervulina, E. maxima*
Alicín	*Allium sativum* Cesnak kuchynský	Inhibícia sporozoitov	*E. tenella*
Polyacetylén	*Bidens pilosa* Dvojzub chlpatý	Inhibícia sporozoitov, modulácia imunity	*E. tenella*
Berberín	*Berberis lyceum* Dráč lycijský	Inhibícia sporozoitov oxidačným stresom	*E. tenella*
n-3 mastné kyseliny	*Linum usitatissimum* Ľan siaty	Oxidačný stres	*E. tenella*
Flavonoid	*Ageratum conyzoides* Agerát hnidákovitý	Oxidačný stres	*E. tenella*
Vernosid	*Vernonia amygdalina*	Oxidačný stres	*E. tenella*
Papaín	1. *Carica papaya* 2. Papája melónová	Rozklad sporozoitov v slepom čreve	*E. tenella*

Fytozlúčenina	Rastlina	Mechanizmus účinku	*Eimeria* spp.
Betaín	*Origanum vulgare* Pamajorán obyčajný	Deštrukcia sporozoitov	*E. tenella, E. acervulina, E. maxima*
Saponín	*Morinda citrifolia* Morinda citrusolistá *Mikania cordifolia* *Magnolia arborea*	Deštrukcia oocýst a parazitov	*E. tenella*
Kurkumín	*Curcuma longa* Kurkuma pravá	Inhibícia sporozoitov, modulácia imunity	*E. tenella, E. maxima*
Selén	3. *Camellia sinensis* 4. Čajovník čínsky	Inhibícia sporulácie	*E. tenella, E. acervulina, E. maxima*

Zdroj: Muthamilselvan a kol., 2016

Ako je uvedené v oboch vyššie prezentovaných tabuľkách, rastliny, ich rastlinné extrakty, esenciálne oleje a fytozlúčeniny preukázali potenciál kontroly kokcidiózy moduláciou imunity, znížením úmrtnosti kurčiat, znížením vylučovania oocýst trusom, inhibíciou alebo deštrukciou oocýst a sporozoitov kokcídií, podporou regenerácie črevnej sliznice, či zlepšením pomeru konverzie krmiva a prírastku telesnej hmotnosti.

Kokcidiostatický účinok rastlín a ich fytozlúčenín naďalej zostáva predmetom riešenia mnohých experimentálnych štúdií. Doposiaľ nie je detailne a jednoznačne potvrdené, ktoré rastliny a ich zložky majú inhibičné, resp. kokcidiocídne účinky. Vzhľadom na rozdiely v druhoch rastlín, geografickej polohe, čase zberu a metódach extrakcie sa aktívne zložky týchto rastlinných produktov môžu navzájom líšiť (Chen a kol., 2025). Je aj napriek tomu zrejmé. že rastliny a ich fytozlúčeniny ako bezpečné a cenovo dostupné prírodné produkty môžu byť reálnou alternatívou v prevencii a liečbe kokcidiózy hydiny.

ZÁVER

Používanie rastlín a fytozlúčenín pre ich antimikrobiálne, antioxidačné a antiparazitické účinky siaha stáročia dozadu, ale ich potenciálny kokcidiostatický účinok vzhľadom na narastajúcu rezistenciu kokcídií voči chemickým a ionofórovým kokcidiostatikám ako aj požiadavku na obozretné používanie veterinárnych liekov v chove všetkých druhov potravinových zvierat je predmetom vedeckého skúmania ostatného obdobia. Fytoterapia je jednou z prírodných alternatív, ktorá sa považuje aj za atraktívny spôsob boja proti kokcidióze hydiny v súlade s predpismi uplatniteľnými na výrobu kvalitných a bezpečných živočíšnych produktov bez rizika z prítomnosti rezíduí kokcidiostatík. Výskum v oblasti alternatívnych látok pôsobiacich ako kokcidiostatiká zažíva v posledných rokoch prudký rozvoj a je potešiteľné, že prináša vízie moderného prístupu k ochrane zdravia zvierat a zdravia ľudí.

POĎAKOVANIE

Spracovanie príspevku bolo podporené projektom VEGA č. 1/0662/24.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Chen, P. et al. Plants, plant-derived compounds, probiotics, and postbiotics as green agents to fight against poultry coccidiosis: A review. In *Animal Research and One Health*, 2025, vol. 3, no. 3, p. 240-260.
2. Christaki, E. et al. Aromatic plants as a source of bioactive compounds. In *Agriculture*, vol. 2, no. 3, p. 228-243.
3. Han, M. et al. Anticoccidial activity of natural plants extracts mixture against *Eimeria tenella*: An *in vitro* and in *vivo* study. In *Frontiers in Veterinary Science*, 2022, no. 9, 1066543. doi.org/10.3389/fvets.2022.1066543
4. Hascoët, A. S. et al. Evaluation of the effectiveness of a phytogenic supplement (alkaloids and flavonoids) in the control of *Eimeria* spp. in experimentally challenged broiler chickens. In *Animals*, vol. 15, no. 6, 847. doi.org/10.3390/ani15060847
5. Muthamilselvan, T. et al. Herbal remedies for coccidiosis control: A review of plants, compounds, and anticoccidial actions. In *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016, no. 1, 2657981. doi: 10.1155/2016/2657981
6. Nahed, A. et al. Phytochemical control of poultry coccidiosis: a review. In *Poultry science*, 2022, vol. 101, no. 1, 101542. doi.org/10.1016/j.psj.2021.101542

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

AKO ÚDENIE MENÍ OŠTIEPOK? SENZORICKÁ ANALÝZA A PCA PRÍSTUP

HOW SMOKING INFLUENCES OŠTIEPOK CHEESE: A SENSORY AND PCA STUDY

Kročko Miroslav[1], Hanuska Adam [1], Sołowiej Bartosz [2], Nastaj Maciej [2], Szafrańska Jagoda Olimpia[2], Mesárošová Andrea[1], Jurčaga Lukáš[1]

[1]Ústav potravinárstva, Slovenská Poľnohospodárska Univerzita v Nitre, Trieda A. Hlinku 2 949 76 Nitra, Slovenská republika

[2]Zakład Technologii Mleczarstwa i Żywności Funkcjonalnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin, Rzeczpospolita Polska

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of smoking on the sensory properties of traditional sheep milk cheese (oštiepok). Smoked and unsmoked samples obtained from producers in Slovakia and Poland were assessed by a trained panel using a 5-point scale for six sensory attributes. Statistical analysis included descriptive statistics, paired t-test, and principal component analysis (PCA). The results showed that smoking significantly affected only aroma ($p = 0.0059$), with higher scores observed for smoked samples. No significant differences were found in appearance, texture, taste, scroop, or saltiness. PCA analysis explained 59.1% of total variability and revealed that aroma and taste were the main factors differentiating smoked and unsmoked cheeses. Overall, smoking primarily enhances the aromatic profile of oštiepok without significantly altering its structural or basic sensory characteristics. These findings contribute to a better understanding of the role of traditional processing methods in shaping the sensory quality of sheep milk cheeses.

Key words: oštiepok, sheep cheese, smoking, sensory analysis, PCA

ÚVOD

Syr oštiepok sa vyznačuje svojím typickým tvarom, ktorý pripomína veľké vajce, šišku alebo elipsoid s dekoratívnym vzorom. Po údení má na povrchu farbu od zlatožltej po zlatohnedú, zatiaľ čo vo vnútri je biely až maslovo žltý. Konzistencia je pevná, kompaktná a mierne lámavá, pričom pri reze sa môžu objaviť drobné trhliny a dutiny. Vôňa a chuť sú výrazné, príjemne syrové, mierne pikantné až kyslasté, so strednou slanosťou a typickou údenou arómou získanou počas procesu údenia. Výrobok nesmie vykazovať nadmernú kyslosť ani nežiaduce pachy a chute, ako sú kvasničné, lojové, mydlové, žlté, hnilobné, ostré, korenisté,

horké alebo iné cudzie tóny. Zloženie závisí od použitej suroviny a technologického postupu výroby; obsah sušiny musí byť minimálne 48 % hmotnosti a obsah tuku v sušine minimálne 38,0 % hmotnosti (Council of the European Union, 2008; Zajác et al., 2019).

Surové mlieko a mliečne výrobky sú dlhodobo považované za významný zdroj živín, a preto ich ľudia prirodzene konzumujú ako súčasť vyváženej stravy. Vybrané zložky mlieka a mliečnych výrobkov (bielkoviny, minerálne látky, vitamíny, lipidy a sacharidy) majú priaznivý vplyv na udržiavanie zdravia gastrointestinálneho traktu a imunitného systému (Tunick & Van Hekken, 2014). Ovčie mlieko obsahuje takmer dvojnásobné množstvo bielkovín v porovnaní s kozím a kravským mliekom. Tieto bielkoviny sa vyskytujú v rôznych molekulárnych formách a vyznačujú sa špecifickým aminokyselinovým zložením, vďaka ktorému majú vysokú nutričnú hodnotu, priaznivý vplyv na stráviteľnosť a dobrú tepelnú stabilitu (Claeys et al., 2014). Okrem toho ovčie mlieko obsahuje vyššie množstvá vápnika, horčíka, fosforu, mangánu, zinku a medi v porovnaní s kravským mliekom. Spomedzi mlieka prežúvavcov obsahuje tuk ovčieho mlieka jedny z najvyšších hladín konjugovanej kyseliny linolovej (CLA; približne 0,65 g/100 g mastných kyselín), ako aj významné množstvo kyseliny vakcénovej (VA), ktorá je jej fyziologickým prekurzorom (Park et al., 2006).

Údenie potravín nielen predlžuje ich trvanlivosť, ale zároveň zlepšuje ich chuťové vlastnosti. Preto možno predpokladať, že aplikácia údenia môže mať pozitívny vplyv na organoleptickú kvalitu ovčích syrov, ktorých chuť a vôňa nie sú pre niektorých spotrebiteľov pozitívne alebo celkovo prijateľné (Zachara et al., 2017).

V našej štúdii sme sa zamerali na senzorické porovnanie tradičného slovenského mliečneho výrobku – oštiepku, vyrobeného zo surového ovčieho mlieka. Sledovali sme zmeny v šiestich senzorických parametroch na základe úpravy syra – údený a neúdený syr ako aj koreláciu týchto zmien pomocou biplot analýzy kľúčových komponentov (PCA).

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky oštiepkov zo surového ovčieho mlieka

Vzorky oštiepkov vyrobených zo surového ovčieho mlieka boli získané od rôznych výrobcov pôsobiacich na území Slovenskej republiky a Poľskej republiky. Do experimentu boli zaradené údené aj neúdené varianty výrobkov. Pred samotnou analýzou boli vzorky skladované v chladiarenských podmienkach, aby sa minimalizovali zmeny ich senzorických vlastností.

Senzorická analýza

Senzorické hodnotenie vzoriek oštiepkov bolo realizované pomocou bodovej metódy s využitím päťbodovej hodnotiacej škály, kde jednotlivé atribúty boli hodnotené v rozsahu od

najnižšej po najvyššiu intenzitu alebo kvalitu. Hodnotenie zahŕňalo šesť senzorických parametrov: vzhľad a farbu, textúru, arómu, chuť, vnímanie vŕzgania a slanosť.

Senzorický panel pozostával z pätnástich trénovaných hodnotiteľov, ktorí mali predchádzajúce skúsenosti so senzorickým hodnotením mliečnych výrobkov. Hodnotenie prebiehalo za kontrolovaných podmienok, ktoré zabezpečovali minimalizáciu rušivých vplyvov prostredia a objektívnosť výsledkov. Každá vzorka bola hodnotená individuálne a anonymne, pričom hodnotitelia mali k dispozícii štandardizované hodnotiace formuláre.

Štatistická analýza

Získané údaje zo senzorickej analýzy boli štatisticky spracované pomocou základných deskriptívnych charakteristík (aritmetický priemer a štandardná odchýlka). Na posúdenie rozdielov medzi údenými a neúdenými vzorkami syra bol použitý párový t-test, pričom hladina štatistickej významnosti bola stanovená na $p < 0,05$. Na komplexnejšie zhodnotenie vzťahov medzi jednotlivými senzorickými atribútmi a identifikáciu rozdielov medzi vzorkami bola aplikovaná analýza hlavných komponentov – PCA biplot. Vzájomné vzťahy medzi jednotlivými senzorickými atribútmi boli ďalej hodnotené pomocou Pearsonovho korelačného koeficientu (r), ktorý umožnil kvantifikovať silu a smer lineárnych závislostí medzi premennými.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

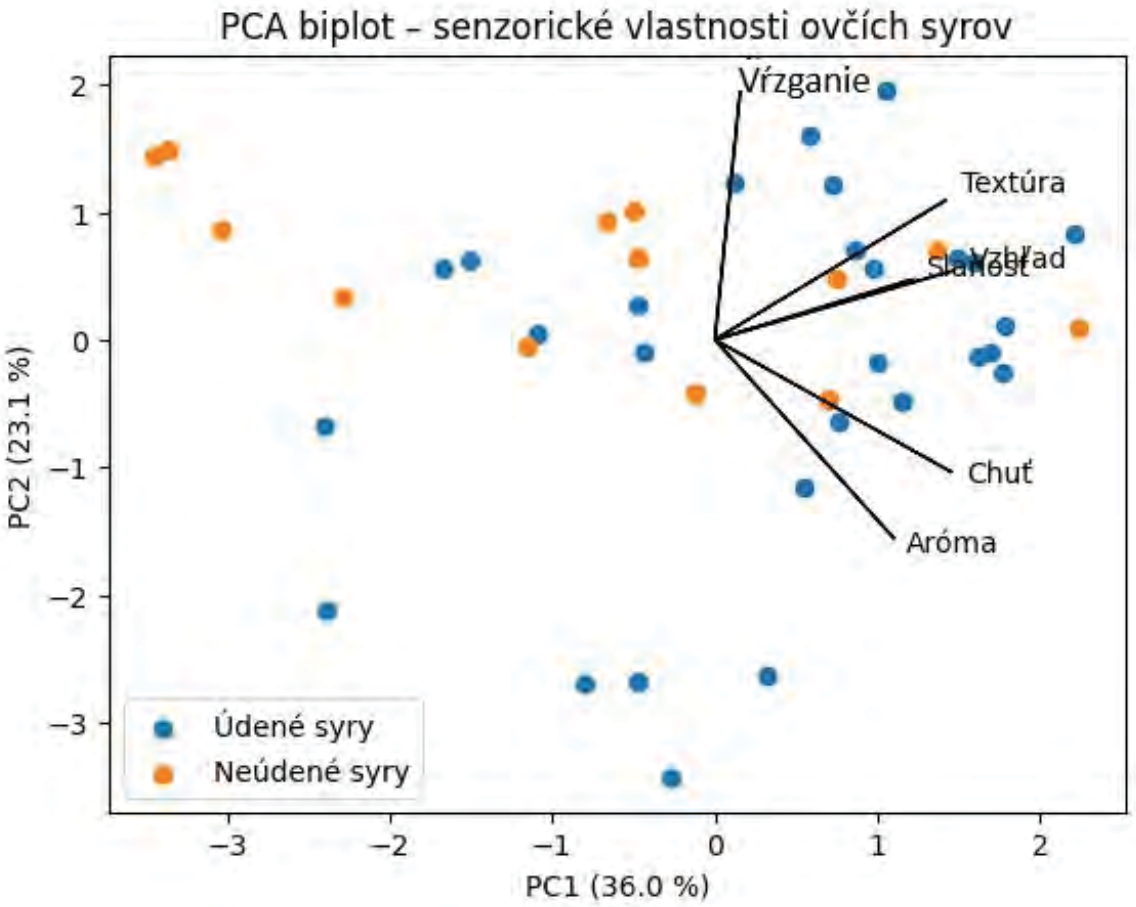
Výsledky senzorickej analýzy ovčích oštiepkov sú zobrazené v Tabuľke č. 1. Medzi údenými a neúdenými ovčími oštiepkami preukázal štatisticky významný rozdiel iba pri atribúte aróma ($p = 0,0059$), pričom údené syry dosiahli vyššie hodnoty. Pri ostatných senzorických parametroch sa štatisticky významné rozdiely nepotvrdili ($p > 0,05$), aj keď pri viacerých atribútoch bol pozorovaný trend vyšších hodnôt pri údených vzorkách.

Tabuľka č. 1. Výsledky senzorickej analýzy ovčích syrov ($\overline{x}$ ± SD)

Atribút	Údené	Neúdené	*p-value*
Vzhľad	4,18 ± 0,79	3,83 ± 0,79	0,17
Textúra	3,67 ± 1,12	3,67 ± 0,82	1,00
Aróma	**3,95 ± 0,85**	**3,20 ± 0,77**	**0,01**
Chuť	3,65 ± 0,54	3,27 ± 0,80	0,11
Vŕzganie	4,20 ± 1,35	4,60 ± 0,51	0,16
Slanosť	3,87 ± 1,11	3,40 ± 0,91	0,14

Filipczak-Fiutak et al. (2021) hodnotili údené a neúdené ovčie syry poľského pôvodu pomocou 5-bodovej škály, rovnako ako v našej štúdií. Autori potvrdili, že počas senzorického hodnotenia, jedna skupina syrov nezískala štatisticky významne lepšie hodnotenia ako druhá. Hodnotené parametre boli napr. farba, chuť, vôňa či vzhľad. Údenie ovplyvňuje celkové senzorické vlastnosti výrobkov, no najmä arómu. Prírodný dym obsahuje množstvo aromaticky aktívnych látok, najmä fenolické zlúčeniny, ktoré zohrávajú dôležitú úlohu počas údenia. Tieto látky majú typickú ostrú a tzv. „údenú“ vôňu a vďaka veľmi nízkym prahom vnímania (≤ 1 $ng.cm^{-3}$) významne ovplyvňujú senzorické vlastnosti údených výrobkov (Majcher & Jeleń, 2011). Autori Majcher et al. (2011) sledovali senzorické zmeny oštiepkov z ovčieho syra pri viacerých stupňoch údenia. Po údení došlo k výraznej zmene aromatického profilu syra. Pri syre údenom 1 deň začala dominovať výrazná údená a štipľavá aróma, ktorá sa ešte viac zvýraznila pri syre údenom 3 dni. Tento jav možno jednoducho vysvetliť zmenami v profile prchavých látok v dôsledku procesu údenia. Prítomnosť fenolických zlúčenín a furánov bola zodpovedná za údené a aromatické tóny evokujúce pečenie, zatiaľ čo štipľavý a maslovo kyselinový charakter bol spôsobený vyšším obsahom kyseliny octovej a maslovej.

Obrázok č. 1. Vizuálne zobrazenie PCA biplot analýzy



Pre detailnejšie zhodnotenie vzťahov medzi senzorickými atribútmi bol vytvorený PCA biplot, ktorý zobrazuje súčasne rozloženie vzoriek aj projekciu jednotlivých premenných. Prvé dve hlavné komponenty vysvetlili spolu 59,1 % variability (PC1 = 36,0 %, PC2 = 23,1 %).

Vektory premenných ukazujú, že atribúty vzhľad, textúra a slanosť sú orientované podobným smerom, čo naznačuje ich vzájomnú koreláciu. Atribúty aróma a chuť sú taktiež navzájom prepojené a prispievajú k diferenciácii vzoriek najmä pozdĺž druhej hlavnej komponenty. Naopak, atribút „vŕzganie“ je orientovaný v opačnom smere ako aróma, čo poukazuje na negatívny vzťah medzi týmito vlastnosťami. Rozdelenie vzoriek v priestore PCA naznačuje, že údené syry sú viac asociované s vyššou arómou a chuťou, zatiaľ čo neúdené syry vykazujú odlišný senzorický profil. Biplot tak potvrdzuje, že údenie ovplyvňuje predovšetkým aromaticko-chuťové vlastnosti syrov, zatiaľ čo ostatné atribúty majú menší diskriminačný význam.

ZÁVER

Získané výsledky poukazujú na to, že údenie ovčích oštiepkov ovplyvňuje predovšetkým ich aromatické vlastnosti. Štatisticky významný rozdiel medzi údenými a neúdenými vzorkami bol preukázaný iba pri atribúte aróma ($p = 0,0059$), pričom údené syry dosahovali vyššie hodnotenia. Ostatné senzorické parametre, ako vzhľad, textúra, chuť, vŕzganie a slanosť, neboli údením signifikantne ovplyvnené, hoci pri viacerých z nich bol pozorovaný trend vyšších hodnôt pri údených výrobkoch. Multivariačná analýza (PCA) potvrdila, že aróma a chuť predstavujú hlavné diskriminačné faktory medzi sledovanými skupinami. Naopak, atribút vŕzgania vykazoval opačný trend, čo naznačuje jeho odlišné senzorické vnímanie v porovnaní s aromatickými vlastnosťami.

Z praktického hľadiska možno konštatovať, že údenie predstavuje významný technologický zásah, ktorý zvyšuje senzorickú atraktivitu výrobku najmä prostredníctvom ovplyvnenia aromatického profilu, pričom základné texturálne a chuťové vlastnosti zostávajú relatívne stabilné. Tieto poznatky môžu byť využité pri optimalizácii výrobných postupov tradičných ovčích syrov a ich lepšom prispôsobení preferenciám spotrebiteľov.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Ministerstvom školstva, výskumu, vývoja a mládeže SR cez projekty Bilaterálna spolupráca SK-PL-23-0053 a KEGA 045SPU-4/2026.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION, COMMISSION REGULATION (EC) No 127/2008 of 13 February 2008 entering a designation in the register of protected designations of origin and protected geographical indications (Oscypek (PDO))
2. CLAEYS, W.L. et al. Consumption of raw or heated milk from different species: An evaluation of the nutritional and potential health benefits. In Food Control [online]. 2014. Vol. 42, s. 188–201. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.01.045>.
3. FILIPCZAK-FIUTAK, M. et al. Nutritional value and organoleptic assessment of traditionally smoked cheeses made from goat, sheep and cow's milk. In PLoS ONE [online]. 2021. Vol. 16, no. 7, s. e0254431. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254431>.
4. MAJCHER, M.A. et al. Changes in volatile, sensory and microbial profiles during preparation of smoked ewe cheese. In Journal of the Science of Food and Agriculture [online]. 2011. Vol. 91, no. 8, s. 1416–1423. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1002/jsfa.4326>.
5. MAJCHER, M.A. - JELEŃ, H.H. Key Odorants of Oscypek, a Traditional Polish Ewe's Milk Cheese. In Journal of Agricultural and Food Chemistry [online]. 2011. Vol. 59, no. 9, s. 4932–4937. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1021/jf2002602>.
6. PARK, Y.W. et al. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. In Small Ruminant Research [online]. 2006. Vol. 68, no. 1–2, s. 88–113. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.013>.
7. TUNICK, M.H. - VAN HEKKEN, D.L. Dairy Products and Health: Recent insights. In Journal of Agricultural and Food Chemistry [online]. 2014. Vol. 63, no. 43, s. 9381–9388. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1021/jf5042454>.
8. ZACHARA, A. et al. Contamination of smoked meat and fish products from Polish market with polycyclic aromatic hydrocarbons. In Food Control [online]. 2017. Vol. 80, s. 45–51. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.04.024>.
9. ZAJÁC, P. et al. Characteristics of textural and sensory properties of Oštiepok cheese. In Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences [online]. 2019. Vol. 13, no. 1, s. 116–130. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.5219/855>.

Kontaktná adresa: Jurčaga Lukáš, Department of Food Sciences, Slovak University of Agriculture in Nitra, Trieda A. Hlinku 2 949 76 Nitra, Slovak republic. E-mail: lukas.jurcaga@uniag.sk

MODULAČNÝ EFEKT HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA BACHOROVÉ PARAMETRE A KVALITU MLIEKA V CHOVE DOJNÍC

MODULATING EFFECT OF HUMIC SUBSTANCES ON RUMEN PARAMETERS AND MILK QUALITY IN DAIRY CATTLE BREEDING

Lacková Zuzana [1], Zigo František [1], Halás Šimon [1], Timkovičová Lacková Petra [1], Farkašová Zuzana [1], Ondrašovičová Silvia [2], Pikhtirová Alina [3]

[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]Department of Public Health, Medical Institute, Sumy State University, Sanatorna st., 31, Sumy, Ukraine

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the impact of humic substances (HS) on rumen fermentation, milk yield, and composition in dairy cows during the first 50 days of lactation. Sixty healthy pregnant Slovak Spotted cows in the late gestation stage were allocated into two groups (n = 30). The control group received a standard diet without HS, while the experimental group was supplemented with HS at a dose of 100 g/day per cow for 60 days antepartum and 8 days postpartum. The results demonstrated that HS supplementation significantly increased ruminal pH and the acetate-to-propionate ratio (3.46% vs 2.56%). On the 8th day postpartum, a decrease in ruminal ammonia concentrations was observed, followed by a reduction in milk urea levels. Furthermore, HS-treated cows showed an increase in milk protein and non-fat dry matter content, accompanied by a decrease in somatic cell count (SCC). The findings indicate that a daily dose of 100 g HS per cow has beneficial effects on stabilizing the ruminal environment and enhancing key indicators of fermentation and milk composition. Based on these results, humic substances can be considered a promising organic additive for dry and fresh cows within comprehensive herd health management programs.

Key words: dairy cows, rumen, milk, humic substances

ÚVOD

Peripartálne obdobie, zahŕňajúce približne tri týždne pred pôrodom a tri týždne po ňom, predstavuje kritickú fázu v životnom cykle dojníc. Toto obdobie je charakterizované

intenzívnymi fyziologickými, metabolickými a hormonálnymi zmenami spojenými s telením a nástupom laktácie. Dojnice v tomto čase čelia zníženému príjmu sušiny, negatívnej energetickej bilancii a fyziologickej imunosupresii. Deficity vznikajúce v tomto období môžu viesť k zhoršeniu kondície zvierat, čím priamo ohrozujú ekonomickú efektivitu chovu. V dôsledku uvedených zmien sú zvieratá náchylnejšie na metabolické poruchy, najmä acidózu a ketózu, ako aj na infekčné ochorenia, akými sú metritídy a mastitídy (Kasimanickam et al., 2024). Kľúčovú úlohu preto zohráva vyvážená výživa, ktorá musí v poslednom štádiu gravidity reflektovať rapídne rastúce nároky na energiu a proteíny. Adekvátny nutričný manažment je nevyhnutný pre udržanie homeostázy a podporu prirodzenej obranyschopnosti organizmu (Filipejová et al., 2011).

Zlepšenie imunologického statusu dojníc v peripartálnom období má priamy súvis so zdravím mliečnej žľazy a následnou kvalitou mlieka. Systematická podpora imunity v tomto štádiu prináša multisektorové benefity, od zvýšenej prosperity dojnice a životaschopnosti plodu až po produkciu bezpečných a kvalitných potravín pre spotrebiteľa (Perez-Hernandez et al., 2024).

MATERIÁL A METODIKA

Štúdia sa uskutočnila na farme v okrese Prešov (Slovensko) na 60 dojniciach slovenského strakatého dobytka. Vybrané zvieratá boli klinicky zdravé, s počtom somatických buniek (PSB) pod 200 000 a negatívnym CMT testom. V rámci protokolu zasušovania boli použité len uzatvárače cecekových kanálikov bez aplikácie antibiotík. Dojnice boli rozdelené do dvoch skupín (n = 30) a ustajnené v identických mikroklimatických podmienkach s voľným skupinovým ustajnením a s *ad libitum* prístupom k TMR a vode. Experimentálna skupina (HS) dostávala humínové látky (Humac Nature AFM) v dávke 100 g/kus/deň počas 60 dní pred pôrodom až do 8. dňa laktácie. Kontrolná skupina (C) dostávala identickú kŕmnu dávku bez suplementácie s HS. Monitorovanie parametrov fermentácie a kvality mlieka prebehlo u všetkých zvierat na 8. deň a 50. deň po pôrode (vrchol laktácie). U všetkých dojníc z oboch skupín sa na 8. a 50. deň laktácie uskutočnilo klinické a palpačné vyšetrenie vemena. Na detekciu subklinických a klinických foriem mastitíd bol použitý modifikovaný Kalifornský mastitídny test (CMT) (Tvarožková et al., 2025). Z každej štvrte vemena boli odobraté vzorky mlieka na identifikáciu bakteriálnych patogénov podľa štandardných postupov (Holko et al., 2019) a závažnosť nálezov bola klasifikovaná podľa smerníc National Mastitis Council (2001).

Odber vzoriek na analýzu fyzikálno-chemického zloženia mlieka prebehol v súlade s normou STN EN ISO 707. Vzorky bachorovej tekutiny pre analýzu boli odobraté 4–6 hodín po rannom kŕmení pomocou bachorovej sondy a konzervované tymolom. Vzorky bachorovej

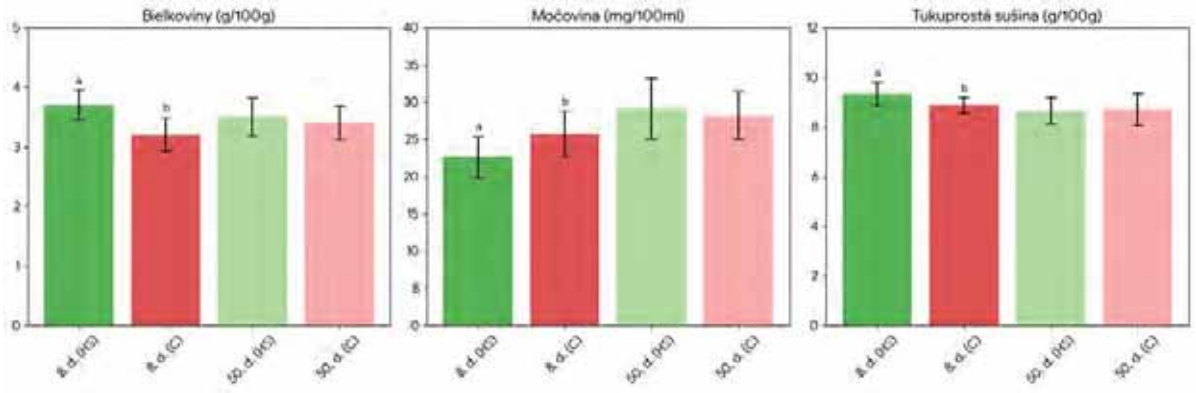
tekutiny boli precedené cez 4 vrstvy gázy, centrifugované 25 minút a zriedené v pomere 1:50. Prchavé mastné kyseliny (VFA) ako acetát (C2), propionát (C3) a butyrát (C4) v bachorovom obsahu boli stanovené v dvojkapilárnom izotachoforetickom analyzátore EA 100 (VILLA LABECO, Slovenská republika). Hodnota pH bachora bola meraná prenosným elektronickým pH metrom (JP SE-LECTA, Španielsko) a hladiny amoniaku (NH_3) vo vzorkách boli stanovené ako Kjeldahl-N pomocou analyzátora 2300 Kjeltec (Foss Tecator AB, Hoganas, Švédsko). Testovanie základných zložiek mlieka od sledovaných kráv, ako je obsah tuku, bielkovín, laktózy pomocou FTIR spektroskopie s použitím prístroja MilkoScan FT 6000 (Foss Analytical A/S, Hillerød, Dánsko) podľa Záhumenskej et al. (2024). Obsah močoviny (MU) v mlieku sa meral na prístroji CHEMSPEC (Bentley Instruments Inc.) podľa Pecka-Kiełb et al. (2016). Všetky merania sa vykonali dvakrát pre každú vzorku.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Podávanie humínových látok malo viaceré pozitívne zmeny v kvalitatívnych aj kvantitatívnych ukazovateľoch mlieka. V oboch sledovaných obdobiach (8. a 50. deň p.p.) vykazovala experimentálna skupina (HS) vyššiu produkciu mlieka v porovnaní s kontrolou (C). Na 8. deň p.p. bol rozdiel +1,8 kg a na 50. deň p.p. (vrchol laktácie) až +1,9 kg v prospech HS skupiny, hoci tieto rozdiely neboli štatisticky signifikantné. V skorom postpartálnom období (8. deň p.p.) sme zaznamenali štatisticky významný ($P < 0,05$) nárast obsahu bielkovín (3,70 g/100 g vs. 3,20 g/100 g) a beztukovej sušiny (9,33 g/100 g vs. 8,86 g/100 g). Na 50. deň sa hladiny vyrovnali, čo naznačuje najsilnejší stimulačný účinok HS práve v kritickom období po otelení. Na 8. deň p.p. mali dojnice v skupine HS signifikantne nižšiu hladinu močoviny (22,60 mg/100 ml) oproti kontrole (25,70 mg/100 ml). Tento výsledok poukazuje na lepšie využitie dusíkatých látok z kŕmnej dávky a nižšiu metabolickú záťaž pečene. Pri obsahu tuku, laktóze a celkovej sušine boli zaznamenané mierne zvýšené hodnoty v prospech HS skupiny, ktoré však nedosiahli hranicu štatistickej významnosti (Tabuľka 1; Graf 1).

Potučková a Kouřimska (2017) uvádzajú, že suplementácia HS v dávke 200 mg/kg v krmive laktujúcich kráv počas 3 mesiacov zvýšila obsah bielkovín a kazeínu v mlieku bez akéhokoľvek vplyvu na koncentrácie celkovej sušiny, beztukovej sušiny, laktózy alebo tuku. Podobné pozitívne účinky HS na produkciu mlieka a zložky mlieka sú uvedené v štúdiách Thomassena a Fausta (2000) a Islama et al. (2005).

Graf č 1, Porovnanie vplyvu HS na zloženie mlieka medzi skorým postpartálnym obdobím (8. deň laktácie) a vrcholom laktácie (50. deň laktácie)



Poznámka: *HS – experimentálna skupina (suplementácia 100 g Humac Nature AFM/deň); C – kontrolná skupina. Hodnoty v stĺpci označené rôznymi exponentmi ([a], [b]) sú štatisticky významne odlišné (P < 0,05).*

Tabuľka č. 1, Vplyv podávania HS na úžitkovosť a zloženie mlieka dojníc (n = 30)

Parameter	Skupina	8. deň p.p.	50. deň p.p
Denná úžitkovosť (kg)	HS	28,20 ± 3,10	34,80 ± 3,80
	C	26,40 ± 2,70	32,90 ± 3,50
Močovina (mg/100 ml)	HS	22,60 ± 2,80[a]	29,10 ± 4,10
	C	25,70 ± 3,10[b]	28,20 ± 3,20
Sušina (g/100 g)	HS	12,90 ± 0,75	12,45 ± 0,85
	C	12,67 ± 0,82	12,36 ± 0,74
Beztuková sušina (g/100 g)	HS	9,33 ± 0,47[a]	8,65 ± 0,54
	C	8,86 ± 0,32[b]	8,70 ± 0,65
Tuk (g/100 g)	HS	4,15 ± 0,42	3,84 ± 0,54
	C	4,00 ± 0,35	3,70 ± 0,57
Bielkoviny (g/100 g)	HS	3,70 ± 0,25[a]	3,50 ± 0,32
	C	3,20 ± 0,28[b]	3,40 ± 0,28
Laktóza (g/100 g)	HS	4,91 ± 0,29	4,82 ± 0,32
	C	4,84 ± 0,37	4,75 ± 0,30

Poznámka: *p.p. – post partum; HS – experimentálna skupina (suplementácia 100 g Humac Nature AFM/deň); C – kontrolná skupina. Hodnoty v stĺpci označené rôznymi exponentmi ([a], [b]) sú štatisticky významne odlišné (P < 0,05).*

Tabuľka č. 2, Parametre bachorového obsahu u sledovaných skupín dojníc

Parameter	Skupina	8. deň p.p.	50. deň p.p.
pH	HS	6,83 ± 0,10[a]	6,80 ± 0,20
	C	6,37 ± 0,40[b]	6,65 ± 0,15
NH_3-N (mg/100 ml)	HS	12,37 ± 1,70[a]	12,56 ± 1,40[a]
	C	15,77 ± 1,10[b]	16,15 ± 2,10[b]
Σ VFA (mmol/l)	HS	86,89 ± 7,50	85,23 ± 16,50
	C	104,69 ± 21,30	105,44 ± 19,00
Kyselina octová (C2, mmol/l)	HS	60,22 ± 6,40[a]	52,68 ± 10,10[a]
	C	64,88 ± 9,60[b]	65,53 ± 9,70[b]
Kyselina propiónová (C3, mmol/l)	HS	17,47 ± 1,70[a]	23,40 ± 6,20[a]
	C	27,44 ± 10,90[b]	28,02 ± 9,50[b]
Kyselina maslová (C4, mmol/l)	HS	9,21 ± 1,90	9,14 ± 2,30
	C	12,37 ± 3,20	11,89 ± 3,10
Pomer C2:C3	HS	3,46 ± 0,40[a]	3,10 ± 0,40[a]
	C	2,56 ± 0,60[b]	2,50 ± 0,60[b]

Poznámka: *p.p. – post partum; HS – experimentálna skupina (suplementácia 100 g Humac Nature AFM/deň); C – kontrolná skupina; NH_3-N – amoniakálny dusík; Σ VFA – suma prchavých mastných kyselín; C2 – kyselina octová; C3 – kyselina propiónová; C4 – kyselina maslová. Hodnoty v stĺpci označené rôznymi exponentmi ([a], [b]) sú štatisticky významne odlišné ($P < 0,05$).*

Analýza bachorovej tekutiny preukázala, že HS výrazne modifikujú fermentačné procesy. Suplementácia HS prispela k stabilizácii pH. Na 8. deň p.p. bolo pH v HS skupine významne vyššie (6,83) v porovnaní s kontrolou (6,37), čo pôsobí preventívne proti vzniku subklinickej acidózy. Tieto hodnoty sú však v optimálnom fyziologickom rozmedzí pre pH bachorovej tekutiny 5,5 – 7,5 (Filipejová et al., 2011). V oboch sledovaných dňoch (8. aj 50. p.p.) bola koncentrácia amoniaku v HS skupine preukazne nižšia ($P < 0,05$). To potvrdzuje schopnosť humínových látok viazať amoniak a podporovať jeho zabudovanie do mikrobiálneho proteínu, čo korešponduje s nižšou hladinou močoviny v mlieku. Zníženie koncentrácie NH3-N v našej štúdii naznačuje dobrú absorpčnú kapacitu humátu a zlepšenú účinnosť podielu kyseliny octovej a kyseliny propiónovej. Hoci celková suma VFA bola u HS skupiny nižšia, došlo k zásadnej zmene ich vzájomného pomeru. Koncentrácie kyseliny octovej (C2) a propiónovej (C3) boli v HS skupine signifikantne nižšie v oboch odberoch. Pomer C2:C3 bol

u HS skupiny preukazne vyšší (3,46 resp. 3,10) v porovnaní s kontrolou (2,56 resp. 2,50) (Tabuľka 2). Vyšší pomer C2:C3 je typický pre stabilnejšie prostredie v bachore a priaznivo ovplyvňuje tvorbu mliečneho tuku. Suteky et al. (2023) dosiahli vo svojej štúdii podobné výsledky a opisujú tlmivý účinok HS, ktorý prispieva k neutralizácii VFA a stabilizácii pH u prežúvavcov, čím sa znižuje riziko subakútnej ruminálnej acidózy, najmä pri vysoko koncentrovaných TMR.

Dosiahnuté výsledky naznačujú, že pozitívny vplyv HS na dojnice je založený na dvoch pilieroch, stabilizácii bachorového prostredia a zvýšení efektivity využitia živín. Zvýšenie pH v skorom postpartálnom období v skupine HS pravdepodobne súvisí s pufračnou schopnosťou humínových kyselín a ich vplyvom na mikroflóru. Nižšia hladina amoniaku v bachore spolu s nižšou koncentráciou močoviny v mlieku jasne dokazujú, že HS zlepšujú dusíkovú bilanciu zvieraťa (Zigo et al., 2020). To vedie k vyššej syntéze mliečnych bielkovín, čo sa potvrdilo signifikantným nárastom ich obsahu v mlieku na 8. deň laktácie. Zaujímavým zistením je nižšia koncentrácia celkových VFA v HS skupine pri súčasnom zvýšení dennej úžitkovosti. Tento jav si možno vysvetliť efektívnejším vstrebávaním živín cez bachorovú stenu alebo zmenou pasáže krmiva, kedy zviera dokáže z menšieho množstva metabolitov vyprodukovať viac mlieka vďaka lepšiemu celkovému zdraviu a nižšiemu oxidačnému stresu.

ZÁVER

Štúdia preukázala, že humínové látky pôsobia ako efektívny modulátor fermentačných procesov v bachore, kde stabilizujú pH a znižujú produkciu amoniaku. Nižšia koncentrácia amoniaku svedčí o jeho lepšom využití bachorovou mikroflórou, čo priamo podporuje syntézu mliečnych bielkovín a zvyšuje podiel beztukovej sušiny. Tento pozitívny metabolický posun potvrdila aj nižšia hladina močoviny v mlieku.

POĎAKOVANIE

Štúdia bola podporená projektom APVV-22-0457: Bezantibiotické prístupy kontroly mastitíd dojníc so zvýšením hygieny prostredia na produkčných farmách a projektom KEGA 003UVLF-4/2026: Zvýšenie vysokoškolského vzdelávania a praktických skúseností pre študentov veterinárneho zamerania z predmetov zootechnika a plemená a chov spoločenských zvierat.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. FILIPEJOVÁ, T. et al. Changes in milk composition as a result of metabolic disorders of dairy cows. *Potravinarstvo*. 2011, 5, s. 10–13.

2. HOLKO, I. et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility of udder pathogens iso-lated from dairy cows in Slovakia. *Journal of Dairy Research*. 2019, 86, p. 436–439.
3. ISLAM, K.M.S. – SCHUMACHER, A. – GROPP, J.M. Humic acid substances in animal agriculture. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2005, 4, 126–134
4. KASIMANICKAM, R. et al. From Infection to Infertility: Diagnostic, Therapeutic, and Molecular Perspectives on Postpartum Metritis and Endometritis in Dairy Cows. *Animals*. 2024, 15, p. 2641.
5. National Mastitis Council. National Mastitis Council Recommended Mastitis Control Program. Natl. Mastitis Counc. Ann. Mtg. Proc., Reno, NV, USA, 2001; Natl. Mastitis Counc., Inc.: Verona, WI, USA, 2001; 408 p.
6. PECKA-KIEŁB, E. et al. An effect of mammary gland infection caused by Streptococcus uberis on composition and physicochemical changes of cows' milk. *Polish Journal of Veterinary Science*. 2016, 19, p. 49–55.
7. PEREZ-HERNANDEZ, G. et al. Characterization of cellular heterogeneity in milk from healthy bovine mammary glands. *Animal Nutriomics*. 2024, 1, p. 122.
8. POTUČKOVÁ, M. – KOUŘIMSKÁ, L. Effect of humates in diet of dairy cows on the raw milk main components. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Science*. 2017, 11, p. 558–563.
9. STN EN ISO 707. Slovak Office of Standards, Metrology and Testing. Slovak Technical Standard — Milk and milk prod-ucts. Sampling instructions; SUTN: Bratislava, Slovakia, 2011.
10. SUTEKY, T. – DWATMADJI, D. – SOETRISNO, E. The Potential Used of Humic Substance As Natural Organic Additives For Ru-minants: A Review. *Journal Sain Peternakan Indonesia*. 2023, 18, p. 64–70.
11. THOMASSEN, B.P.H. – FAUST, R.H. The use of a processed humic acid product as a feed supplement in dairy production in the Netherlands. In The world grows organic international scientific conference; Basle, 2000; 339. Dostupné na internete: https://share.google/lkH7tMxVlAhi07olh
12. TVAROŽKOVÁ, K. et al. V. Occurrence of mastitis pathogens and their antibiotic resistance in dairy cows in Slovakia. *Journal of Dairy Research*. 2025, 19, p. 1–4.
13. ZÁHUMENSKÁ, J. et al. Influence of different milking methods on milk quality based on somatic cell count and basic composition. *Annals of Agricultural Environmental Medicine*. 2024, 31, p. 215–221.

14. ZIGO, F. et al. Impact of humic acid as an organic additive on the milk parameters and occurrence of mastitis in dairy cows. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 2020, 14, p. 358–364.

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

MONITORING MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE V OBOHACENÝCH KLECOVÝCH SYSTÉMECH CHOVU NOSNIC

MICROBIAL CONTAMINATION MONITORING IN ENRYCHED CAGES FOR LAYERS

Macháček Miroslav[1], Kaluža Michal[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, Česká republika

ABSTRACT

Eggs are an important part of our diet. During egg production, they may be contaminated with bacteria such as *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.* and *E. coli*. To the significant factor influencing microbial contamination of eggs is the keeping of healthy laying hens. Hall sanitizing between cycles plays a significant role in keeping healthy laying hens. It is appropriate to use rapid detection methods to evaluate the sanitation effect. This option is offered by the mobile flow cytometer from Romer Labs company. The results obtained using a mobile flow cytometer showed that there was no statistically significant reduction in microbial contamination on selected surfaces in the keeping of laying hens in enriched cages (floor: rSp = -0.8767; wall: rSp = 0.1397; feeder: rSp = 0.3000; $p > 0.05$). Based on the results of microbiology cultivation, the devitalization of pathogenic bacteria of Salmonella spp. was confirmed.

Key words: Eggs, hygiene, disinfection, mobile flow cytometer

ÚVOD

Chov nosnic je významné zemědělské odvětví zaměřené na produkci konzumních vajec. Konzumní vejce jsou komodita, která je používaná ať už k přímému prodeji spotřebitelům, tak také například při výrobě pečiva, zákusků, majonéz a dalších potravin. Vejce bereme jako samozřejmou součást našeho jídelníčku a často si ani neuvědomujeme, kde všude se používají. V potravinářství se používají hlavně tepelně upravené vejce, ale v určitých typech potravin se používají vejce syrové. Právě konzumace syrových vajec je z hlediska rizika onemocnění nejvýznamnější. Vejce mohou být zdrojem původců alimentárních onemocnění, která se nejčastěji projevují ve formě průjmů. Mezi nejčastější mikroorganismy způsobující

kontaminaci vajec patří bakterie rodu *Salmonella spp. Campylobacter spp.*, *E. coli*, *Staphlyococus spp.* a *Bacilus spp.* (De Reu et al., 2007).

Vejce společně s masem patří mezi nejčastější zdroje infekce salmonelami u lidí. Ke kontaminaci vajec může dojít jak při jejich tvorbě ve vejcovodech, tak přes skořápku, která se může kontaminovat z různých povrchů (The European Union One Health 2018; Zoonoses Report, 2019). Mezi nejrizikovější a nejčastější místa kontaminace skořápky patří haly, kde se nosnice chovají. Další možné povrchy, ze kterých se může vaječná skořápky kontaminovat, jsou proložky sloužící k transportu a uchovávání vajec. Grijspeerdt (2001) ve své studii sledoval rychlost prorůstání salmonel z vnějšího prostředí až do žloutku. Během prvních 100 hodin se bakterie salmonely dostaly přes vaječnou skořápku a bílek. Do 200 hodin od kontaminace (dalších 100 hodin) došlo ke kontaminaci žloutku a přibližně po 400 hodinách od kontaminace (dalších 200 hodin) došlo ke kontaminaci celého obsahu vajíčka.

Mezi faktory mající vliv na chov zdravých nosnic a s tím spojenou produkci zdravotně nezávadných vajec patří:

- Technologie ustájení
- Vakcinace a monitoring zdraví
- Biosecurita
- Sanitace mezi turnusy

Technologie ustájení

Významný vliv na zdraví nosnic a na bakteriální kontaminaci vajec má technologie ustájení. V případě srovnání mikrobiální kontaminace vzduchu u nosnic chovaných na podestýlce a vzduchu nosnic chovaných v obohacených klecích byla mikrobiální kontaminace vzduchu v chovech nosnic v obohacených klecích 3,03 log KTJ/m^3 a v chovech nosnic chovaných na podestýlce 3,97 log KTJ/m^3, což je přibližně o 1 log více než v obohacených klecích (Quarles et al., 1970).

To že mikrobiální kontaminace prostředí ovlivňuje mikrobiální kontaminaci povrchu vajec potvrdili De Reu et al. (2005), kteří ve svém experimentu zjistili pozitivní korelaci ($r = 0,66$; $p < 0,001$) mezi mikrobiální kontaminací vzduchu anaerobními bakteriemi a mikrobiální kontaminací vaječných skořápek. Ve svém pokusu naměřili 4,4 log KTJ/m^3 aerobních mikroorganismů ve vzduchu u chovu nosnic v obohacených klecích a 5,3 log KTJ/m^3 mikroorganismů ve vzduchu u nosnic chovaných ve voliérách. Smith et al. (2000) ale upozorňují, že kontaminace skořápky je také ovlivněna vlhkostí vzduchu, jelikož ve stájích s vyšší vlhkosti vzduchu na skořápce ulpí větší množství mikroorganismů.

Vliv mikrobiální kontaminace prostředí na kontaminaci povrchu vajec ve voliérových a v klecových systémech (obohacených a neobohacených) také sledovali Jones et al. (2016). Ti se ve své studii zaměřili na bakterie rodu *Salmonella spp.* a *Campylobacter spp.*., kdy prováděli stěry z různých povrchů stájové technologie a z povrchů skořápky vajec.

V případě sledování vlivu kontaminace povrchů stájí salmonelami na kontaminaci skořápky vajec salmonelami Jones et al. (2016) potvrdili, že ve stájích s větší kontaminací vzduchu je větší kontaminace skořápky vajec. Dále potvrdili větší mikrobiální kontaminaci vzduchu salmonelami ve voliérových chovech ve srovnání s klecovými chovy.

V případě sledování závislosti kontaminace povrchů stájí na kontaminaci povrchů skořápky vajec campylobacterem, ale zjistili vyšší mikrobiální kontaminaci povrchů stájové technologie campylobacterem v klecových systémech, než v systémech voliérových. Jestli ale sledovali následnou povrchovou kontaminaci vaječné skořápky, tak zjistili vyšší mikrobiální kontaminaci povrchu vajec z voliérových chovů, než v klecových chovech (Jones et al., 2016).

Vakcinace a monitoring zdraví

V současné době probíhá v chovech nosnic v České republice vakcinační program proti salmonele. V rámci vakcinace proti *S. Enteritidis, S. Typhimurium* a *S. Gallinarium* se používají živé vakcíny a proti *S. Enteritidis, S. Typhimurium* a *S. Infantis* inaktivované vakcíny. V chovech nosnic se dle plánu na snížení kontaminace chovů salmonelami pro rok 2026 doporučuje vakcinovat (tato vakcinace je dobrovolná) pouze proti *S. Enteritidis* (Seznam všech registrovaných vakcín proti salmonelóze drůbeže 2024).

Z důvodu zajištění zdravotní nezávadnosti vajec se v chovech nosnic také provádí monitoring na přítomnost salmonel. V rámci monitoringu se odebírají vzorky z uhynulých kadáverů, z trusu a také stěry z prostředí a stěry z přepravních krabic. Takto získané vzorky jsou vyšetřeny v národní referenční laboratoři, nebo v laboratoři některého ze Státních veterinárních ústavů. V případě pozitivního nálezu se provede odběr vzorku na jeho konfirmaci. Do potvrzení nebo vyvrácení nákazy se provádí opatření s cílem ochrany potravinového řetězce. V rámci opatření se vejce vyprodukované v této hale zařadí do kategorie B. Vejce z kategorie B mohou být použity k lidské spotřebě pouze ve výrobcích, a to po tepelném ošetření, čímž se zaručí devitalizace případných salmonel. Dále se zjišťuje, kudy se salmonely do chovu dostaly, kdy se vyšetřují například krmiva a napájecí voda. V případě potvrzení salmonel se provedou veškerá opatření s cílem ochrany lidského zdraví. Mezi tato opatření patří poražení nebo usmrcení drůbeže, bezpečná likvidace podestýlky a trusu a provedení důkladné dezinfekce hal (Příloha č. 2 Národní program pro tlumení výskytu salmonel v chovech nosnic (*Gallus gallus*) produkujících konzumní vejce).

Biosecurita

Mezi další opatření vedoucí k zajištění zdravotní nezávadnosti vajec patří dodržování přísné biosecurity. Právě průnik patogenů z vnějšího prostředí může představovat významné riziko zavlečení salmonel do chovu a s tím spojenou kontaminaci vajec. Patogeny se z vnějšího prostředí mohou do hal dostat pomocí volně žijících zvířat a hlodavců, v krmivu, nebo také člověkem.

Volně žijící zvířata a hlodavci

V rámci ochrany chovu před volně žijícími zvířaty je potřeba vybudovat důkladné oplocení okolo chovu a zabezpečit halu před průnikem zvířat dovnitř. Dále je nezbytné provádět pravidelnou deratizaci, jelikož hlodavci mohou být také zdrojem některých patogenů. Mezi významné patogeny šířené volně žijícími zvířaty a hlodavci patří salmonela, nebo virus aviární influenzy (Davies and Wray, 1997; Holder, 1993).

Krmivo

Dalším zdrojem patogenů může být kontaminované krmivo. Ke kontaminaci krmiva nejčastěji dochází během jeho skladování. Během skladování bývá krmivo nejčastěji kontaminováno trusem volně žijících zvířat a hlodavců. Proto je důležité důkladně zabezpečit skladovací prostory a provádět zde pravidelnou deratizaci (Holder, 1993, Davies and Wray, 1997, Jones, 2011).

Sanitace mezi turnusy

V rámci sanitace mezi turnusy musí dojít k odstranění veškerých patogenů, které se v chovu nachází, a také ke snížení celkové mikrobiální zátěže. Vzhledem k tomu, že snáškové období a s tím spojené období jednoho turnusu trvá přibližně 52 – 54 týdnů, dochází v halách určených k chovu nosnic k vysoké mikrobiální zátěži.

Sanitace v chovech nosnic je prováděna ve více krocích a to (Lohmann breeders, 2020):

1. Odstranění hrubých nečistot
2. Oplach povrchů
3. Odstranění biofilmu (pomocí detergentu)
4. Oschnutí
5. Dezinfekce

V rámci ochrany před vznikem rezistencí je také nutné pravidelně střídat účinné látky. Dle manuálu firmy Lohmann Breeders se doporučuje střídat účinné dezinfekční látky po každém provedení dezinfekce. Dezinfekční látky používané v chovech drůbeže včetně spektra mikro mikroorganismů, na které působí, jsou uvedené v tabulce č. 1.

Tabulka č. 1 Příklady dezinfekčních látek použitelné v chovech drůbeže (Lohmann breeders, 2020)

Desinfekční látka	Původce onemocnění				Rychlá inaktivace organickými nečistotami
	Plísně	Viry	Bakterie	Bakteriální spory	
Fenol	X	X			
Chlór		X	X	X	X
Iodofor	X	X	X		X
Formaldehyd	X	X	X	X	
Peroxid vodíku	X	X	X	X	

V rámci dezinfekce je také nutné zohlednit veškeré vnější vlivy, které mohou mít vliv na výsledný dezinfekční efekt. Mezi tyto vlivy patří koncentrace dezinfekčního přípravku, teplota, pH a přítomnosti organických nečistot (Pasanen et al., 1997, Maillard, 2005, Lohmann breeders, 2020).

Po provedené sanitaci je nutné provést kontrolu účinnosti dezinfekce. V rámci národního programu tlumení salmonel se v klecových chovech nosnic na vybraných površích (viz tabulka č. 2) provádí stěry 72 hodin po provedené sanitaci. Provedená dezinfekce je vyhodnocena jako účinná, jestliže je průměrné množství mikroorganismů ze všech (šesti) stěrovaných povrchů menší nebo rovno 500 000 KTJ/100 cm^2 ($X \leq 5 \times 10^5$ KTJ/ 100 cm^2) (Příloha č. 2 Národní program pro tlumení výskytu salmonel v chovech nosnic (Gallus gallus) produkujících konzumní vejce).

Tabulka č. 2 Místa odběrů vzorků dle národního programu tlumení salmonel (Příloha č. 2 Národní program pro tlumení výskytu salmonel v chovech nosnic (*Gallus gallus*) produkujících konzumní vejce)

Místo odběru	Obohacené klecové chovy	Voliérové chovy
Stěna uvnitř	X	X
Klecovina	X	X
Trusný pás	X	
Podlaha v uličce	X	X
Napáječka kolem ústí čtyř napáječek	X	X
Krmná linka přes celé krmítko odhadem	X	X
Vaječný pás	X	
Hřad		X
Hnízdo zástěna	X	

Manuál firmy Lohman Breeders uvádí požadovaný pokles mikrobiální kontaminace v chovech drůbeže v rámci jednotlivých kroků sanitace. Pokles mikrobiální kontaminace je uveden v tabulce č. 3. Na konci celého sanitačního procesu by dle manuálu firmy Lohman Breeders měla být kontaminace povrchů maximálně 100 KTJ/cm^2 (10^4 KTJ/100 cm^2) (Lohmann breeders, 2020).

Tabulka č. 3 Vliv sanitace na čistotu povrchů (Lohmann breeders, 2020)

Krok sanitace	CFU/cm2	CFU/ 100 cm2
	[log]	[log]
Po odstranění podestýlky	9	11
Po mechanické očistě	6	8
Po první dezinfekci	3	5
Po druhé dezinfekci	2	4

MATERIÁL A METODIKA

Monitoring hygieny prostředí byl realizován v komerčním chovu nosnic. V rámci pokusu byla sledována sanitační účinnost v halách s technologií obohacených klecí. Kapacita každé haly, ve které probíhalo stanovení účinnosti sanitace, byla 90 000 ks nosnic. Stěry byly prováděny z obohacených klecí umístěných v prostřední uličce a to tak, že byly vybrány klece na začátku, uprostřed a na konci uličky. Vzorky na stanovení mikrobiální kontaminace byly odebírány ze 3 různých povrchů (podlaha, stěna a krmítko). Z každého typu povrchu bylo v každém sledovaném kroku odebráno 6 vzorků. Z důvodu sledování průběhu sanitační účinnosti byly vzorky odebírány před úkonem, 90 minut po provedeném úkonu a 180 minut po provedeném úkonu.

Průběh sanitace

Vzorky byly odebírány v každém kroku sanitace. V případě použití detergentu a dezinfekce byla také sledována dynamika poklesu mikrobiální kontaminace. Odběr vzorků byl prováděn dle schématu:

1. Po vyskladnění nosnic
2. Po mechanické očistě (tlaková voda) T: 0 min → T: 90 min → T: 180 min
3. Po čištění s použitím detergentu
4. Po mokré dezinfekci T: 0 min → T: 90 min → T: 180 min
5. Po dezinfekci s využitím fogu T: 0 min → T: 90 min → T: 180 min

Odběr vzorků

Stanovení mikrobiální kontaminace povrchů bylo provedeno pomocí mobilního průtokového cytometru (MFC) a kultivační mikrobiologie. Vzorky byly odebírány z plochy 100 cm^2 (10 x 10 cm). Před stěrováním byl stěrový tampón navlhčen v transportním médiu a následně bylo prováděno stěrování ve 3 různých směrech (vodorovně, svisle a z jednoho rohu do rohu protějšího). Během stěrování bylo stěrovým tampónem otáčeno z důvodu setření maximálního množství mikroorganismů. Následně byl stěrový tampón vložen do měřící zkumavky (vyšetření pomocí MFC), nebo zalomen o hranu zkumavky s transportním médiem (vyšetření pro kultivační mikrobiologii).

Měření pomocí mobilního průtokového cytometru

Pro stanovení mikrobiální kontaminace prostředí přímo v chovu byl použit mobilní průtokový cytometr Cytoquant (Romer Labs 2022). Mobilní průtokový cytometr stanovuje jak živé buňky (intakt cells), tak neživé organické a anorganické nečistoty (other particles). Odebrané vzorky pro mobilní průtokový cytometr byly ihned po setření vytřepány do roztoku ve zkumavce a změřeny. Naměřená hodnota udávala počet živých částic (intact cells – IC) na 100 cm^2.

Měření pomocí kultivační mikrobiologie

Tampony se vzorky byly vloženy do zkumavky s transportním médiem a převezeny při chladničkové teplotě na vyšetření do mikrobiologické laboratoře Ústavu ochrany a welfare zvířat a veřejného veterinárního lékařství. V mikrobiologické laboratoři Ústavu ochrany a welfare zvířat a veřejného veterinárního lékařství byly vzorky do 24 hodin od odebrání inokulovány na petriho misky s agary pro kultivaci psychrofilních a mezofilních bakterií, *E. coli*, enterokoků a salmonel. V závislosti podle předpokládané kontaminace byly vzorky naředěny desítkovým ředěním a z takto předpřipravených koncentraci bylo následně inokulováno 0,2 nebo 0,5 ml vzorku na jednotlivé agary. V tabulce č. 4 jsou popsány podmínky kultivace jednotlivých skupin mikroorganismů.

Tabulka č. 4: Podmínky kultivace a identifikace jednotlivých typů kolonií

Stanovené mikroorganismy	Kultivační médium	Teplota a doba kultivace	Identifikace
CPM 22 °C	PCA (Plate count agar, M091)	22 °C, 72 h	všechny kolonie
CPM 36 °C	Krevní agar (Columbia agar + 5% beraní krev)	36 °C: 24 h	
E. coli	Endo agar, M029	36 °C: 24 h	růžovo-červené kolonie s kovovým leskem
	HiCrome agar, M1295I		modrozelené kolonie
enterokoky	Žluč eskulin agar, M972	36 °C: 24 h	kolonie způsobující šedé až černé zbarvení kultivačního média
salmonely	Deoxycholát citrátový agar, M065	36 °C: 24 h	bezbarvé kolonie s tmavým středem

Statistická analýza

Získaná data byla analyzována za použití statistického programu Unistat for Excel 6.5. (Unistat Ltd., GB). U naměřených dat byla posouzena normalita s využitím Shapiro-Wilkova a Kolmogorovův – Smirnova testu (zjištěna ve vybraných případech rovnoměrná a nerovnoměrná distribuce).

Z důvodu matematického výpočtu byla po převedení nulových hodnot na logaritmy přičtena hodnota 1.

V rámci pokusu byl sledován rozdíl mikrobiální kontaminace na vybraných místech pomocí MFC a mikrobiologických kultivačních metod (stanovení CPM při 36 °C a CPM při 22 °C). Pro stanovení rozdílu mezi místy byl využit neparametrický Kruskal-Wallisův test a dále jako post hoc test Dunnův test (data s nerovnoměrnou distribucí).

Dále byla porovnána kvantifikační schopnost MFC ve srovnání s mikrobiologickými kultivačními metodami. Pro srovnání obou metod byl využit nepárový t-test (rovnoměrná distribuce dat) nebo Mann-Whitney U-test (nerovnoměrná distribuce dat).

V rámci pokusu byla také posouzena mikrobiální kontaminace s využitím MFC během jednotlivých kroků sanitačního procesu. Pro stanovení rozdílu mezi jednotlivými kroky sanitačního procesu byl využit neparametrický Kruskal-Wallisův test a dále jako post hoc test Dunnův test (data s nerovnoměrnou distribucí).

Ze získaných výsledků byl na základě naměřených hodnot pomocí MFC sledován trend poklesu míry mikrobiální kontaminace. Pro stanovení míry poklesu během jednotlivých kroků sanitačního procesu byl zvolen Spearmanův korelační koeficient (rSp).

Dále byla z hodnot naměřených před zahájením sanitačního procesu (BS) a na konci celého sanitačního procesu (AS) pomocí MFC a pomocí kultivační mikrobiologie posouzena mikrobiální kontaminace povrchů v halových chovech nosnic Pro srovnání byl použit studentův t-test (normální rozdělení) nebo Wilcoxonův test (nerovnoměrná distribuce).

Pro posouzení míry poklesu mikrobiální kontaminace byla sledována účinnost sanitačního procesu v %. Pro výpočet byl použit následující vzorec:

$$\textbf{Sanitation efficiency}\ (\%) = \frac{\mathrm{BS} - \mathrm{AS}}{\mathrm{BS}}\ \mathrm{X}\ 100$$

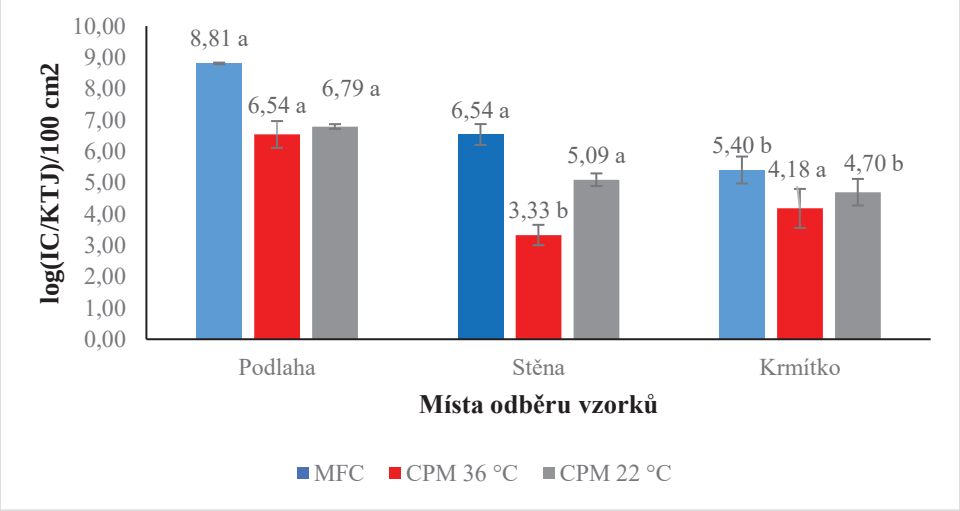
Vysvětlivky BS – Before sanitation; AS – After sanitation

V této studii byla použita hladina významnosti $p < 0,05$ (statisticky významný rozdíl) a $p < 0,01$ (statisticky vysoce významný rozdíl).

VÝSLEDKY A DISKUZE

V rámci sanitace byla zhodnocena mikrobiální kontaminace v chovu nosnic v obohacených klecových systémech před zahájením sanitačního procesu (BS). Mikrobiální kontaminace byla hodnocena pomocí mobilního průtokového cytometru (MFC) a pomocí kultivační mikrobiologie. Míra mikrobiální kontaminace jednotlivých povrchů před sanitací je zobrazena v grafu č. 1.

Graf č. 7 Míra mikrobiální kontaminace jednotlivých povrchů před sanitací (BS)



[a,b] Hodnoty v log pro různá místa odběru u jednotlivých použitých metod monitoringu s různými indexy se statisticky významně liší ($p < 0,05$)

Z výsledků je zřejmé, že v případě srovnání počáteční mikrobiální kontaminace na začátku pokusu pomocí mobilního průtokového cytometru byly nejvíce kontaminovány podlahy a nejméně byla kontaminována krmítka ($p = 0,0003$). Mezi mírou kontaminace podlah a stěn nebyly potvrzeny statisticky významné rozdíly ($p > 0,05$). V případě stanovení mikrobiální kontaminace prostředí pomocí kultivačních mikrobiologických metod byly nejméně kontaminovány mezofilními mikroorganismy (kultivace na krevním agaru při 36°C) povrchy stěn ($p = 0,0003$). Psychrofilními mikroorganismy (kultivace na PCA agaru při 22°C) byly nejvíce kontaminovány podlahy a nejméně krmítka ($p = 0,0015$).

Dále byly zjišťovány možnosti kvantifikace mikrobiální kontaminace povrchů ve stájích pomocí MFC (IC) ve srovnání s kultivačními metodami (KTJ). U MFC byly na jednotlivých površích naměřeny vyšší hodnoty živých částic log IC ($p < 0,01$) než mezofilních bakterií naměřených pomocí mikrobiální kultivace log KTJ (kultivace na krevním agaru při 36°C). Hodnoty IC byly na stěně vyšší o 3,21 log, na podlaze o 2,27 log, a v krmítku o 1,23 log.

V případě porovnávání počtu psychrofilních mikroorganismů naměřených pomocí kultivace (počet KTJ narostlých na PCA agaru při 22°C) a počtu živých částic naměřených pomocí mobilního průtokového cytometru (IC) byly hodnoty naměřené pomocí mobilního průtokového cytometru opět statisticky významně vyšší ($p < 0,001$). Hodnoty IC byly na podlaze vyšší o 2,02 log, na stěně o 1,44 log a na krmítku o 0,71 log.

V případě vzájemného srovnání bez rozdílu typu povrchu byly hodnoty získané MFC (IC) ve srovnání s kultivační mikrobiologií (KTJ) vyšší o 1,23 – 3,21 log u mezofilních bakterií (rostoucí při 36 °C) a o 0,71 – 2,02 psychrofilních bakterií (rostoucí při 22 °C). Tyto rozdíly byly statisticky vysoce významné ($p = 0,0009$).

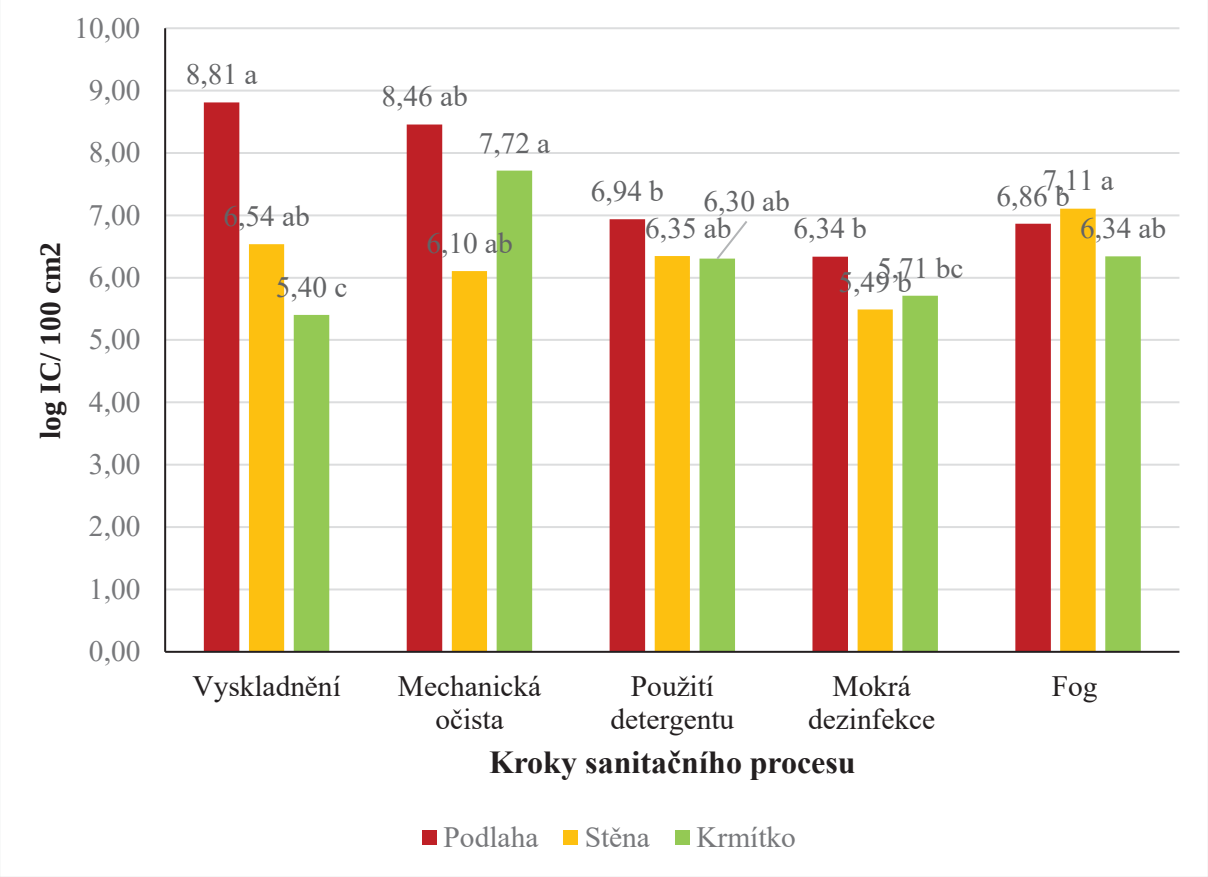
Naměření vyšších hodnot pomocí MFC než u kultivační mikrobiologie je způsobené kultivací pouze určité skupiny mikroorganismů například podle teploty růstu, požadavků na kyslík, případně speciálních požadavků na živiny. Rozdíly mezi naměřenými hodnotami MFC a psychrofilními a mezofilními bakteriemi se ale mohou lišit podle převládající mikroflóry na daném povrchu, jelikož MFC měří celé spektrum mikroorganismů a plotnové kultivační metody stanovují pouze určitou skupinu mikroorganismů.

MFC také není schopen změřit veškeré živé buňky, ale jejich množství je vyšší než u kultivační mikrobiologie. Z technického hlediska je současný MFC firmy Romer (Romer Labs, 2022) schopný počítat pouze mikroorganismy o velikosti 0,5 – 10,0 µm. Mezi mikroorganismy, které MFC firmy Romer Labs není schopen počítat, patří mykaoplazmové bakterie (velikost buněk přibližně 0,3 µm), mykobakterie (velikost buněk přibližně 10 µm), leptospiry (velikost buněk přibližně 12 µm) a klostridie (velikost buněk přibližně 18 µm) (Pelczar et al., 2007, Aryal 2015). Dále MFC není schopen počítat buňky eukaryotické. Přesto je MFC schopen počítat

většinu mikroorganismů vyskytujících se na jatkách, nebo významné původce alimentárních onemocnění (enterobakterie, salmonely, campylobactery, *E-coli* a pseudomonády). I přes zmíněné nedostatky má MFC z důvodu možnosti počítání většiny významných mikroorganismů v hodnocení hygieny prostředí své uplatnění.

V rámci pokusu také byly porovnávány jednotlivé kroky sanitace pomocí MFC v chovu ihned po provedené sanitaci. Dynamika poklesu mikroorganismů v rámci jednotlivých kroků sanitace změřená pomocí MFC na jednotlivých površích je uvedena v grafu č. 2.

Graf č. 8 Monitoring sanitační procedury na vybraných místech s využitím MFC



a,b,c Hodnoty v log pro různá místa odběru u kroků sanitačního procesu s různými indexy se statisticky významně liší ($p < 0,05$)

Z naměřených výsledků je patrné, že ke statisticky významnému poklesu mikrobiální kontaminace po vyskladnění a po použití detergentu došlo pouze u podlahy ($p = 0,0251$). Další kroky sanitace jako mokrá dezinfekce a dezinfekce pomocí fogu již neprokázali statisticky významný pokles mikrobiální kontaminace ($p > 0,005$). Tento významný rozdíl může být způsoben odstraněním velkého množství mikroorganismů obsažených v biofilmu před použitím detergentu a po jeho použití (Lohmann breeders, 2020). Následnou dezinfekcí již

nebyl prokázaný statisticky významný dezinfekční efekt. Toto může být způsobeno nižší mikrobiální kontaminací před jednotlivými kroky dezinfekce (mokrá a fog). Přesto je dezinfekce nezbytný krok sanitace vedoucí k zajištění asanace hal. Dezinfekcí se totiž devitalizují patogenní mikroorganismy, které se v prostředí mohou vyskytovat. Právě odstranění biofilmu pomocí detergentu má významný vliv na výsledný dezinfekční účinek, jelikož biofilm snižuje účinek dezinfekčního přípravku a může vést k mikrobiální rezistenci mikroorganismů. Mobilní průtokový cytometr firmy Romer Labs také umožňuje stanovení organických nečistot (biofilmu) a proto je vhodné tyto hodnoty v jednotlivých krocích sanitačního procesu vzájemně porovnávat.

U stěny nebyl zaznamenán pokles míry celkové mikrobiální kontaminace. Po fogaci byla zjištěna vyšší míra kontaminace stěn, něž po provedené mokré dezinfekci ($p = 0,0008$).

Lepší dezinfekční účinek na stěně po mokré dezinfekci mohl být způsoben stečením (mechanické odstranění) případného biofilmu. Tato mechanická složka již v případě použití fogu chybí. Přesto je v rámci dezinfekce důležité použít prvně mokrou dezinfekci a následně fog, aby mokrou dezinfekcí došlo ke snížení mikrobiální kontaminace a k odstranění případného biofilmu. Na takto čistém povrchu může dezinfekce ve formě fogu účinkovat lépe.

V případě stanovení mikrobiální kontaminace pomocí MFC na krmítkách byla nejvyšší míra celkové mikrobiální kontaminace zaznamenána po mechanické očistě. Mikrobiální kontaminace po mechanické očistě ve srovnání s mikrobiální kontaminací po vyskladnění byla statisticky významně vyšší ($p = 0,0001$). Následné provedení dezinfekce ve dvou fázích způsobilo snížení celkové míry mikrobiální kontaminace. Toto snížení ale nebylo statisticky průkazné.

Nárůst mikrobiální kontaminace po mechanické očistě bývá způsoben odmočením přischlých organických nečistot včetně mikroorganismů. Toto zvýšení poukazuje na správně provedenou mechanickou očistu, ale pro další kroky je nutné, aby organické nečistoty na površích opět nezaschly. Přítomnost organických nečistot totiž může mít negativní vliv na účinnost dezinfekčního přípravku.

Z naměřených výsledků byl také posouzen trend míry celkové mikrobiální kontaminace s využitím MFC. Z naměřených výsledků nebyl potvrzen statisticky významný pokles mikrobiální kontaminace na jednotlivých površích (podlaha: $rSp = -0,8767$; stěna: $rSp = 0,1397$; krmítko: $rSp = 0,3000$; $p > 0,05$). Toto může být způsobeno výskytem přirozené mikroflóry ve vzduchu, jelikož haly nosnic nejsou hermeticky uzavřené a v halách v rámci sanitace nedochází ke sterilizaci prosotředí. Přesto je důležité, aby se na konci provedené sanitace v halách nevyskytovali patogenní mikroorganismy. Pro správné zhodnocení

sanitačního procesu je proto vhodné sledovat jednotlivé kroky a chápat význam těchto kroků a jejich vliv na asanaci stájí.

Dále byla na stěrovaných místech v hale nosnic zhodnocena účinnost jednotlivých kroků sanitace pomocí MFC a pomocí mikrobiální kultivace (tabulka č. 5).

Tabulka č. 5: Zhodnocení účinnosti sanitační procedury na vybraných místech s využitím MFC a plotnových metod

Sledované parametry	Podlaha		Stěna		Krmítko	
	Log (IC/KTJ)					
	BS	AS	BS	AS	BS	AS
Celková mikrobiální kontaminace	8,81 [a]	6,86 [b]	6,54 [a]	7,11 [a]	5,40 [b]	6,34 [a]
CPM 36 °C	6,54 [a]	1,33 [b]	3,33 [a]	2,29 [a]	4,18 [a]	1,32 [b]
CPM 22 °C	6,79 [a]	2,17 [b]	5,09 [a]	2,82 [b]	4,70 [a]	1,19 [b]
E.coli	1,09 [a]	0 [b]	0	0	0	0
Salmonella spp.	3,62 [a]	0 [b]	0	0	2,19 [a]	0 [b]
Enterokoky	6,05 [a]	0,50 [b]	2,76 [a]	0,85 [a]	4,10 [a]	0 [b]

[a,b] Hodnoty v log pro stejné místo odběru s různými indexy u sledovaných parametrů pro BS a AS se statisticky významně liší ($p < 0,05$)

Z výsledků v tabulce č. 5 je patrné, že nejvyšší účinnost sanitace (100 %) byla zjištěna pouze u indikátorových mikroorganismů (*E. coli, Salmonella spp.*). Jejich úplná devitalizace je důležitá, jelikož to jsou původci významných alimentárních onemocnění.

V případě sledování celkové mikrobiální kontaminace pomocí MFC byla zjištěna nejvyšší účinnost sanitace u podlah (22,11 %) a nejnižší účinnost sanitace u stěn (8,73 %). Tento rozdíl sanitační účinnosti je způsoben expoziční dobou dezinfekčních přípravků, jelikož na podlaze zůstávají dezinfekční přípravky do jejich vyschnutí, kdežto na stěnách dochází k jejich stečení (Lohmann breeders, 2020).

U mezofilních mikroorganismů (rostoucích při 36 °C) byla nejvyšší účinnost sanitace také u podlah (79,73 %) a nejnižší účinnost sanitace u stěn (31,34 %). Tento rozdíl v účinnosti provedené sanitace byl také způsoben různou expoziční dobou dezinfekčního přípravku na podlaze (delší expoziční doba) a na stěně (kratší expoziční doba) (Lohmann breeders, 2020). Jestliže byl zhodnocen sanitační proces u psychrofilních mikroorganismů (rostoucí při 22 °C), tak nejvyšší účinek sanitace byl zaznamenán u krmítek (74,67 %) a nejnižší účinek sanitace byl

zaznamenán u stěn (44,36 %). Tento účinek sanitace může být způsoben jak expoziční dobou (na krmítkách zůstává dezinfekční přípravek do jejich vyschnutí, na stěnách dochází ke stečení dezinfekčního přípravku), tak také možným vyšším výskytem plísní v krmivu (rostoucí při 22 °C) a tím vyšší kontaminaci krmítek na začátku dezinfekce. Jak je ale zřejmé, množství psychrofilních mikroorganismů po celém sanitačním procesu je stejně nízké na všech typech sledovaných povrchů.

ZÁVĚR

Vejce jsou významná potravina, která má své nezastupitelné místo ve výživě lidí. Vzhledem ke způsobu jejich produkce a následnému využití, je zde riziko vzniku alimentárních onemocnění. Z tohoto důvodu je přísně sledována jak hygiena samotného chovu nosnic, tak skladování vajec a další manipulace s vejci v celém potravinovém řetězci.

Mezi nejvýznamnější mikrobiologické kontaminanty vajec patří bakterie rodu *Salmonella spp.* a *Campylobacter spp.*. Tyto bakterie se mohou do vajíčka dostat jak během tvorby vejce ve vejcovodu nosnic, tak průnikem přes skořápku. V rámci zajištění zdravotní nezávadnosti vajec je proto důležité chovat zdravá zvířata. Zdraví zvířat lze zajistit vhodnou technologií ustájení, vakcinací zvířat, monitoringem výskytu patogenů v prostředí, biosecuritou a sanitací mezi jednotlivými turnusy.

V rámci studie byl sledován dezinfekční efekt sanitace v chovech nosnic v obohacených klecích a význam jednotlivých kroků sanitace (mechanická očista – použití detergentu – mokrá dezinfekce – dezinfekce pomocí fogu). V rámci studie byl dezinfekční efekt sledován jak pomocí kultivační mikrobiologie, tak pomocí mobilního průtokového cytometru (MFC). Kultivační mikrobiologie je považována za zlatý standard stanovení mikrobiální kontaminace prostředí, ale vzhledem k časově náročnému zpracování vzorků (kultivace) je snahou najít metody, které by dovedli zhodnotit mikrobiální kontaminaci přímo v terénu. Právě takovouto rychlou alternativu nabízí mobilní průtokový cytometr firmy Romer Labs.

Z výsledků měření bylo zjištěno, že v případě srovnání hodnot naměřených mobilním průtokovým cytometrem a kultivační mikrobiologií neselektivních mikroorganismů (psychrofilních a mezofilních) vykazovali hodnoty mobilního průtokového cytometru vyšší hodnoty a to o 0,71 – 3,21 log v závislosti na místě odběru a sledované skupiny mikroorganismů. Tyto vyšší hodnoty jsou způsobeny specifickými požadavky na kultivaci jednotlivých skupin bakterií jako například na teplotu, živiny a atmosféru.

Dále byla sledována dynamika poklesu mikrobiální kontaminace na vybraných površích (podlaha, stěna, napáječka) v obohacených klecích v rámci jednotlivých kroků sanitace naměřených pomocí mobilního průtokového cytometru. Z naměřených hodnot byl potvrzen

statisticky vysoce významný pokles mikrobiální kontaminace (p = 0,0251) na podlahách před použitím detergentu a po použití detergentu. Následná dvoufázová dezinfekce (mokrá a fog) již statisticky významný pokles mikrobiální kontaminace nepotvrdil. Přesto je z pohledu celého sanitačního procesu důležité tyto jednotlivé kroky zachovat, kdy odstranění biofilmu zajistí vyšší účinnost dezinfekčního přípravku a s tím spojenou devitalizaci patogenů.

V případě celkového stanovení mikrobiální kontaminace prostředí pomocí mobilního průtokového cytometru ale nebyl zaznamenán statisticky významný pokles mikroorganismů na jednotlivých površích (podlaha: rSp = -0,8767; stěna: rSp = 0,1397; krmítko: rSp = 0,3000; p > 0,05). Z tohoto důvodu je důležité sledovat nejen kontaminaci povrchů na začátku a na konci sanitačního procesu, ale také dynamiku kontaminace v rámci jednotlivých kroků sanitace.

Z výsledků sledování sanitace v halovém chovu nosnic lze konstatovat, že mobilní průtoková cytometrie má své uplatnění v hodnocení sanitačního procesu. Je ale potřeba správně pochopit a interpretovat naměřené výsledky a v případě pochybností provést ověření pomocí kultivační mikrobiologie. Stanovení mikrobiální kontaminace pomocí kultivační mikrobiologie by také mělo být použito v případě podezření na výskyt patogenních mikroorganismů, jelikož mobilní průtokový cytometr slouží pouze ke stanovení celkového počtu mikroorganismů (IC) a ne ke stanovení jednotlivých typů mikroorganismů (například bakterie rodu *Salmonella spp.* *Campylobacter spp.* a *E. coli*).

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bychom rádi poděkovali:

Ing. Vojtěch Kabrhel (ADDICOO GROUP s.r.o., Sanitace potravinářských provozů a farem): spolupráce při monitoringu na farmě

O.K. SERVIS BioPro, s.r.o.: technická podpora a konzultace dosažených výsledků při měření přístrojem CytoQuant (Romer Labs Division Holding GmbH)

Tato práce byla financovaná grantem ITA VETUNI 2026ITA21 (Projekt Interní tvůrčí agentury Veterinární univerzity Brno č. 2026ITA21).

LITERATURA

1. ARYAL, SAGAR (2015). Different Size, Shape and Arrangement of Bacterial Cells. Microbiology Info.com. (www.microbiologyinfo.com)
2. DAVIES, R. H., WRAY, C. (1997). Distribution of salmonella contamination in ten animal feedmills. *Veterinary Microbiology, 57*(2–3), 159–169.
3. DE REU, K., GRIJSPEERDT, K., HEYNDRICKX, M., ZOONS, J., DE BAERE, K., UYTTENDAELE, M., DEBEVERE, J., HERMAN, L. (2005). Bacterial eggshell

contamination in conventional cages, furnished cages and aviary housing systems for laying hens. *British Poultry Science, 46*(2), 149–155.

4. DE REU, K., HEYNDRICKX, M., GRIJSPEERDT, K., RODENBURG, T., TUYTTENS, F., UYTENDAELE, M., ZOONS, J., DEBEVERE, J., HERMAN, L. (2007). Estimation of the vertical and horizontal bacterial infection of hen's table eggs. *World S Poultry Science Journal*, 64, 142–146.
5. GRIJSPEERDT, K. (2001). Modelling the penetration and growth of bacteria in eggs. *Food Control, 12*(1), 7–11.
6. HOLDER, T. (1993). Best management practices for Salmonellarisk reduction in broilers. In: Proceedings of the 97thAnnual Meeting of the United States Animal Health Association. pp. 486–504, Carter Printing, Richmond, Virginia.
7. JONES, F. (2011). A review of practical Salmonella control measures in animal feed. *The Journal of Applied Poultry Research, 20*(1), 102–113.
8. JONES, GUARD, J., GAST, R., BUHR, R., FEDORKA-CRAY, P., ABDO, Z., PLUMBLEE, J., BOURASSA, D., COX, N., RIGSBY, L., ROBISON, C., REGMI, P., KARCHER, D. (2016). Influence of commercial laying hen housing systems on the incidence and identification of Salmonella and Campylobacter. *Poultry Science, 95*(5), 1116–1124.
9. LOHMANN BREEDERS (2020). Hygiene and Biosecurity technical guide, (www.lohmann-breeders.com)
10. MAILLARD, J. (2005). Testing the effectiveness of disinfectants and sanitisers. In *Elsevier eBooks* (pp. 641–671).
11. PASANEN, P., KALLIOKOSKI, P., PASANEN, A. (1997). The effectiveness of some disinfectants and detergents against microbial activity. *Building and Environment, 32*(3), 281–287.
12. PELCZAR, JR M.; CHAN, E., KRIEG, N. (2007). Microbiology. (5th ed).
13. Příloha č. 2 Národní program pro tlumení výskytu salmonel v chovech nosnic (Gallus gallus) produkujících konzumní vejce, Státní veterinární správa (www.svscr.cz)
14. QUARLES, C., GENTRY, R., BRESSLER, G. (1970). Bacterial Contamination in Poultry Houses and its Relationship to Egg Hatchability. *Poultry Science, 49*(1), 60–66.
15. ROMER LABS (2022). Introducing CytoQuant. (www.romerlabs.com)
16. Seznam všech registrovaných vakcín proti salmonelóze drůbeže 2024, Státní veterinární správa (www.svscr.cz)

17. SMITH, A., ROSE, S., WELLS, R., PIRGOZLIEV, V. (2000). The effect of changing the excreta moisture of caged laying hens on the excreta and microbial contamination of their egg shells. British Poultry Science, 41(2), 168–173.
18. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. (2017). EFSA Journal, 15(12).

Kontaktní adresa: Macháček Miroslav, Ústav ochrany a welfare zvířat a veřejného veterinárního lékařství Veterinární univerzita Brno, Palackého třída 1, 612 42 Brno, Česká republika. E-mail: machacekm@vfu.cz

DYNAMIKA MYKOBIOTY SLADOVNÍCKEHO JAČMEŇA POČAS SLADOVANIA SO ZAMERANÍM NA ROD *FUSARIUM*

DYNAMICS OF MYCOBIOTA IN MALTING BARLEY DURING MALTING WITH A FOCUS ON THE GENUS *FUSARIUM*

Mašková Zuzana[1], Tančinová Dana[1], Barboráková Zuzana[1], Mrvová Monika[1], Solgajová Miriam[2], Dráb Štefan[3], Felšöciová Soňa[1]

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, [1]Ústav biotechnológie, [2]Ústav potravinárstva, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika; [3]Heineken Slovensko, a.s., Novozámocká 2, 947 01 Hurbanovo, Slovenská republika

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the dynamics of mycobiota associated with malting barley during individual stages of the malting process, with particular emphasis on the genus *Fusarium*. Four barley samples were analyzed before malting and after steeping, germination, and kilning. The endogenous mycobiota was determined using direct plating of surface-sterilized grains on selective media, followed by morphological identification of isolated fungi. A total of 3,884 fungal isolates belonging to 14 genera were identified. The most prevalent genera throughout all stages were *Alternaria* and *Fusarium*, which showed the highest frequency of occurrence and relative density. While *Alternaria* dominated in the initial stages, *Fusarium* became the most abundant genus during germination, indicating that malting conditions, particularly increased moisture and temperature, strongly promote its development. Although kilning led to a reduction in fungal abundance, *Fusarium* remained present, suggesting its resilience to technological processing. In total, 10 *Fusarium* species were identified, with variable species diversity across samples and malting stages. During germination, which represents a critical stage for fungal development, species such as *Fusarium tricinctum, Fusarium oxysporum, Fusarium semitectum*, and *Fusarium graminearum* reached the highest relative densities, indicating their strong adaptation to malting conditions. The results revealed dynamic shifts in species composition, with certain species becoming dominant under specific process conditions. These findings highlight the selective effect of malting on fungal communities. Overall, the study demonstrates that malting significantly influences the structure and dynamics of barley mycobiota, with important implications for the occurrence of *Fusarium* spp. and the associated risk of mycotoxin contamination.

Key words: malting barley, mycobiota, *Fusarium*, malting process, fungal dynamics

ÚVOD

Sladovnícky jačmeň predstavuje kľúčovú surovinu pre výrobu sladu a piva, pričom jeho kvalita zásadne ovplyvňuje priebeh technologického procesu aj vlastnosti finálneho produktu. Proces sladovania zahŕňa tri základné fázy – máčanie, klíčenie a sušenie (hvozdenie) – počas ktorých dochádza k významným fyzikálnym, biochemickým a mikrobiologickým zmenám v zrne. Okrem žiaducich enzymatických procesov však tieto podmienky ovplyvňujú aj mikroorganizmy prirodzene prítomné na povrchu a vnútri jačmenných zŕn, ktoré môžu mať pozitívny aj negatívny dopad na kvalitu sladu (Briggs, 1998; Narziss & Back, 2009).

Prirodzenou súčasťou mikrobioty obilnín sú mikroskopické vláknité huby, ktorých početnosť a zastúpenie závisí od podmienok pestovania, zberu a skladovania. Medzi najvýznamnejšie rody kontaminujúce jačmeň patria *Fusarium*, *Alternaria* a *Aspergillus* (Magan et al., 2003; Edwards, 2004). Z hľadiska bezpečnosti potravín má osobitný význam rod *Fusarium*, ktorého zástupcovia sú schopní kolonizovať obilniny už v poľných podmienkach a produkovať široké spektrum mykotoxínov, ako sú deoxynivalenol, zearalenón, či T-2 a HT-2 toxíny (Bottalico & Perrone, 2002; Pestka, 2010). Tieto látky môžu pretrvávať počas spracovania a predstavujú riziko pre zdravie spotrebiteľa aj technologickú kvalitu výrobkov.

Počas sladovania dochádza k dynamickým zmenám podmienok prostredia, najmä vlhkosti, teploty a dostupnosti živín, ktoré môžu významne ovplyvniť rast a prežívanie mikroskopických húb. Fáza máčania vedie k hydratácii zrna a môže podporiť aktiváciu mikrobiálnej populácie, pričom zároveň dochádza k čiastočnému odplavovaniu kontaminantov. Klíčenie predstavuje kritickú fázu z hľadiska mikrobiálneho rastu, keďže vysoká vlhkosť a mierne teploty vytvárajú priaznivé podmienky pre rozvoj mikromycét vrátane rodu *Fusarium* (Laitila et al., 2007). Naopak, sušenie vedie k zníženiu vodnej aktivity a môže redukovať životaschopnosť mikroorganizmov, avšak niektoré druhy húb a ich spóry sú schopné tieto podmienky prežiť (Dijksterhuis & Samson 2007).

Literárne údaje poukazujú na skutočnosť, že dynamika mikromycét počas sladovania nie je jednoznačná a závisí od viacerých faktorov, vrátane kvality vstupnej suroviny, technologických podmienok a prítomnosti konkurenčnej mikrocenózy. Niektoré štúdie uvádzajú pokles kontaminácie počas procesu, zatiaľ čo iné dokumentujú zvýšenie počtu kolónií alebo zmeny v druhovom spektre, najmä počas fázy klíčenia (Laitila et al., 2007; Van Nierop et al., 2006). Správanie rodu *Fusarium* počas sladovania tak zostáva predmetom ďalšieho výskumu.

Cieľom tejto práce je sledovať dynamiku mykobioty sladovníckeho jačmeňa počas jednotlivých fáz sladovania so zameraním na rod *Fusarium*.

MATERIÁL A METÓDY

V rámci experimentu bola sledovaná dynamika mykobioty sladovníckeho jačmeňa počas jednotlivých fáz sladovania. Analýza bola realizovaná na štyroch vzorkách sladovníckeho jačmeňa, ktoré boli hodnotené pred začiatkom procesu sladovania (I.) a následne po jednotlivých technologických krokoch, konkrétne po máčaní (II.), klíčení (III.) a sušení (IV.). Tento experimentálny dizajn umožnil posúdiť zmeny v zastúpení vláknitých mikroskopických húb so zameraním na rod *Fusarium* v priebehu celého procesu sladovania.

Analyzované vzorky jačmeňa

Vzorky sladovníckeho jačmeňa (*Hordeum vulgare*) pochádzali z územia Slovenskej republiky, Českej republiky a Maďarska. Základná charakteristika analyzovaných vzoriek je uvedená v Tabuľke 1. Odber vzoriek bol realizovaný pomocou sterilného náradia do papierových obalov. Do vykonania mykologických analýz boli vzorky uchovávané v chlade pri teplote 6–7 °C a relatívnej vlhkosti 57 %.

Tabuľka č. 1, Základná charakteristika mykologicky analyzovaných vzoriek zŕn sladovníckeho jačmeňa

Číslo vzorky	Odroda	Oblasť	Dlhodobá priemerná teplota (°C)	Dlhodobý priemerný úhrn zrážok (mm)	Typ pôdy
1	LG Tosca	Česká republika	8,6	642	aluviálna hnedozem
2	Overture	západné Slovensko	9,7	582	hnedozem
3	Malz	Maďarsko	9,6	545	lúčna pôda
4	Odysey	južné Slovensko	9,4	588	černozem

Priebeh mikrosladovania

Vzorky jačmeňa boli sladované vo výskumnom centre AgroBioTech v laboratóriu experimentálneho pivovaru v mikrosladovni od firmy Ravoz. Na sladovanie boli použité vzorky sladovníckeho jačmeňa s hmotnosťou 1000 g.

Proces máčania prebiehal v máčacom boxe počas dvoch dní. Prvý deň trvalo máčanie 5 hodín, po ktorom nasledovala vzdušná prestávka v trvaní 19 hodín. Druhý deň prebiehalo máčanie 4 hodiny, po ktorom nasledovala vzdušná prestávka v trvaní 17 hodín. Počas máčania

bolo poradie vzoriek v boxe pravidelne upravované s cieľom zabezpečiť homogenitu procesu. V jednotlivých vzorkách bol kontrolovaný stupeň domočenia, ktorý dosahoval 45,5 %, pričom v prípade potreby boli vzorky dokrápané vodou. Počas celého procesu bola teplota vody a vzduchu udržiavaná na úrovni 14 °C.

Proces klíčenia prebiehal v klíčiacom boxe pri teplote 14 °C počas 4 dní. Vzorky jačmeňa boli denne vážené na kontrolu stupňa domočenia. Na zabezpečenie rovnomerného priebehu klíčenia a zabránenie prerastaniu korienkov boli vzorky pravidelne prevzdušňované a ich poradie v boxe bolo denne upravované. Celkový čas máčania a klíčenia bol 144 hodín.

Hvozdenie prebiehalo na hvozde počas 22 hodín. Vzorky boli sušené pri postupne sa zvyšujúcej teplote s cieľom zachovať enzymatickú aktivitu. Najskôr prebehlo predsúšanie pri teplote 55 °C, následne bola teplota zvýšená na 80 °C, pričom táto doťahovacia teplota bola udržiavaná počas 4 hodín. Po ukončení tejto fázy bol slad odklíčkovaný, t. j. zbavený korienkov.

Stanovanie endogénnej mykocenózy vzoriek sladovníckého jačmeňa

Predmetom sledovania bola endogénna mykocenóza zŕn sladovníckeho jačmeňa so zameraním na výskyt zástupcov toxikologicky významného rodu *Fusarium*. Na jej stanovenie bola použitá metóda priameho ukladania povrchovo sterilizovaných zŕn na agarové živné médiá (Samson et al., 2002a).

Zo vzoriek jačmeňa boli vybrané nepoškodené zrná, ktoré boli povrchovo sterilizované počas 2 minút v 0,4 % roztoku Chloramínu T. Následne boli zrná trikrát prepláchnuté sterilnou destilovanou vodou a vysušené na sterilnom filtračnom papieri. Takto pripravené zrná boli ukladané na Petriho misky (priemer 150 mm) v počte 12–13 zŕn na misku. Na kultiváciu boli použité dve selektívne živné médiá: DRBC (agar s dichlóranom, bengálskou červenou a chloramfenikolom; Himedia) a DCPA (agar s dichlóranom, chloramfenikolom a peptónom; Samson et al., 2002b). Pre každú vzorku bolo na každom médiu analyzovaných celkovo 100 zŕn. Kultivácia prebiehala v tme pri teplote 25 ± 1 °C počas 5 až 7 dní.

Po ukončení kultivácie boli vyrastené mikromycéty vyhodnotené a identifikované na úrovni rodov na základe makroskopických a mikroskopických znakov s využitím štandardných identifikačných kľúčov (de Hoog et al., 2000; Pitt & Hocking, 1999; Samson et al., 2002a).

Pre druhovú identifikáciu zástupcov rodu *Fusarium* boli izoláty preočkované na identifikačné živné médiá SNA (syntetický nutričný agar) a PDA (zemiakovo-dextrózový agar) (Nirenberg, 1976; Pitt & Hocking, 2009). SNA médium bolo použité ako základné identifikačné médium, pričom na jeho povrch bol umiestnený sterilný filtračný papier (cca 2 × 2 cm) na podporu sporulácie a sledovanie tvorby pigmentov. PDA médium slúžilo na

diferenciáciu izolátov na základe pigmentácie kolónií. Kultivácia prebiehala 7 až 10 dní pri izbovej teplote za prirodzeného svetla. Identifikácia druhov rodu *Fusarium* bola realizovaná na základe morfologických znakov s využitím štandardných mykologických publikácií (Leslie & Summerell, 2006; Samson et al., 2002a; Burgess et al., 1988; Nelson et al., 1983). Mikroskopické preparáty boli pripravované v laktofenole, Melzerovom roztoku alebo v roztoku kyseliny mliečnej s bavlníkovou modrou (Tančinová et al., 2012). Pozorovania boli vykonané pomocou svetelných mikroskopov Olympus CX21FS1 a Olympus BX51TF vybaveného Nomarskiho diferenciálnym interferenčným kontrastom (DIC). Doplnkovo bolo využité aj mikroskopické pozorovanie rastu štruktúr *in vivo* priamo v Petriho miskách.

Vyhodnotenie výsledkov

Pri vyhodnocovaní výskytu vláknitých mikroskopických húb na rodovej a druhovej úrovni boli použité ukazovatele frekvencia výskytu (Fr) a relatívna denzita (RD). Frekvencia výskytu vyjadruje percentuálny podiel vzoriek, v ktorých bol daný rod alebo druh zaznamenaný aspoň raz (González et al., 1996). Relatívna denzita predstavuje percentuálny podiel izolátov daného rodu alebo druhu z celkového počtu získaných izolátov (Gautam et al., 2009). Uvedené ukazovatele boli vypočítané podľa nasledujúcich vzorcov:

$$Fr\ (\%) = (ns / N) \times 100,$$

$$RD\ (\%) = (ni / Ni) \times 100,$$

kde *ns* predstavuje počet vzoriek, v ktorých bol daný rod alebo druh detegovaný, *N* je celkový počet analyzovaných vzoriek, *ni* je počet izolátov daného rodu alebo druhu a *Ni* je celkový počet detegovaných izolátov.

Získané výsledky boli vyjadrené v percentách na rodovej a druhovej úrovni.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Mykobiota jačmenných zŕn v sledovaných štádiách sladovania

V štúdii sme sledovali dynamiku a diverzitu endogénnej mykobioty jačmenných zŕn počas hlavných fáz výroby jačmenného sladu. Mykologickej analýze boli podrobené štyri vzorky, z ktorých bolo na živných médiách DRBC a DCPA celkovo izolovaných 3884 izolátov mikroskopických vláknitých húb. Na základe makroskopických a mikroskopických znakov boli izoláty zaradené do 14 rodov: *Alternaria, Arthrinium, Aspergillus, Bipolaris, Cladosporium, Epicoccum, Fusarium, Lichtheimia, Mucor, Nigrospora, Penicillium, Rhizopus, Sordaria* a *Trichoderma*. Kolónie bez prítomnosti reprodukčných štruktúr boli klasifikované ako *Mycelium sterilium*. Prehľad nami izolovaných rodov a počet izolátov v jednotlivých fázach sladovania je uvedený v Tabuľke 2.

Tabuľka č. 2, Prehľad izolovaných rodov vláknitých mikromycét a počty izolátov zo zŕn jačmeňa v jednotlivých štádiách procesu výroby jačmenného sladu

Rod	1 - LG Tosca				2 - Overture				3 – Malz				4 – Odysey			
	Štádiá odberu vzoriek															
	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
Alternaria	98	118	133	78	102	137	161	28	58	85	66	13	154	123	181	24
Arthrinium	6	0	0	0	3	0	0	9	1	0	0	0	9	0	0	0
Aspergillus	40	7	2	8	16	14	0	11	23	6	0	0	24	11	1	9
Bipolaris	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cladosporium	10	4	14	7	1	11	0	0	2	3	0	0	19	0	0	2
Epicoccum	2	2	0	5	0	1	0	0	2	0	0	0	3	0	0	1
Fusarium	9	127	192	42	21	114	171	34	2	89	146	49	17	116	201	81
Lichtheimia	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
Mucor	1	0	37	16	1	0	9	25	1	6	65	44	0	1	9	12
M. sterilium	1	0	0	2	1	0	0	0	11	0	0	0	3	0	0	1
Nigrospora	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Penicillium	104	9	5	16	30	4	0	0	52	7	6	0	64	6	2	3
Rhizopus	10	0	0	3	12	0	9	0	9	4	0	0	4	0	0	0
Sordaria	1	0	0	0	1	0	0	4	0	0	0	3	0	0	0	0
Trichoderma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Spolu	283	267	383	177	188	281	357	111	163	200	283	110	297	257	394	133
	1110				937				756				1081			

Legenda: I. – nesladovaný jačmeň; II. – koniec máčania; III. – koniec klíčenia; IV. – koniec hvozdenia; *M. sterilium – Mycelium sterilium*

Určitú zhodu pozorujeme vo výsledkoch štúdie autorov Kocić-Tanackov et al. (2005), ktorí vo vzorkách jačmeňa detegovali rody *Phoma, Alternaria, Fusarium, Aspergillus, Cladosporium, Geotrichum, Scopulariopsis, Aureobasidium* a *Mucor*.

Z hľadiska početnosti dominovali rody *Alternaria* a *Fusarium*, nasledované rodmi *Penicillium*, *Mucor* a *Aspergillus*. Tieto výsledky sú v súlade s literatúrou, ktorá uvádza rody *Alternaria, Fusarium, Cladosporium* a *Aspergillus* ako najčastejších kolonizátorov jačmenných zŕn (Krasauskas, 2017; Castañares et al., 2021; Cao et al., 2022).

Primárna mykocenóza nesladovaného jačmeňa bola nižšia vo vzorkách odrôd Malz a Overture, zatiaľ čo vyššie hodnoty boli zaznamenané pri odrodách Odysey a LG Tosca. Počas ďalších fáz mikrosladovania došlo k výraznému nárastu počtu mikromycét najmä pri odrode

Overture, zatiaľ čo nižšie hodnoty si zachovala odroda Malz. Tieto rozdiely môžu súvisieť s genetickými vlastnosťami odrôd, ako aj s ich odolnosťou voči kolonizácii mikromycétami. Hoci moderné odrody jačmeňa sú šľachtené na vyššiu odolnosť voči hubovým patogénom, zostáva otázne, do akej miery tieto vlastnosti ovplyvňujú mikrobiálnu kolonizáciu počas technologického spracovania a či nemajú sekundárny vplyv na kvalitu alebo technologické vlastnosti zrna.

Frekvencia výskytu mikromycét

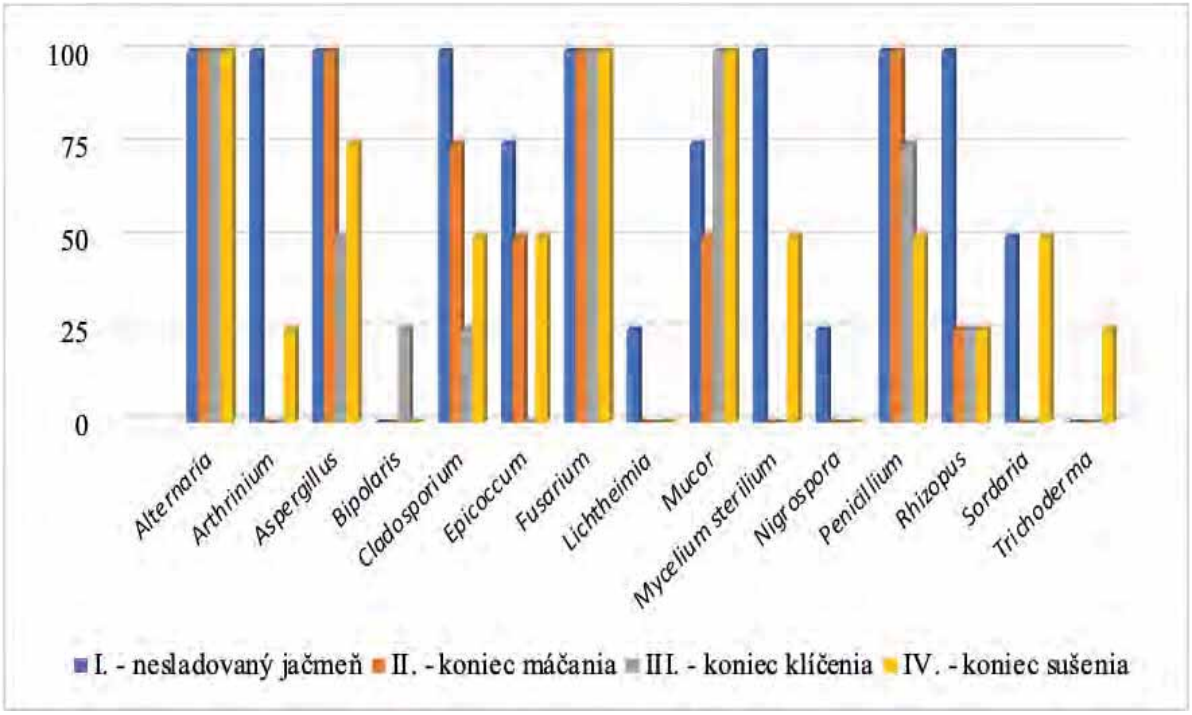
Z hľadiska frekvencie výskytu (Fr) patrili medzi najrozšírenejšie mikromycéty v nesladovaných jačmenných zrnách rody *Alternaria, Arthrinium, Aspergillus, Cladosporium, Fusarium, Penicillium* a *Rhizopus*, ktoré boli detegované vo všetkých analyzovaných vzorkách. Naopak, najnižšia frekvencia výskytu (25 %) bola zaznamenaná pri rodoch *Lichtheimia* a *Nigrospora*. Výsledky Fr mikromycét v našich vzorkách sú do istej miery porovnateľné s literárnymi údajmi, avšak poukazujú aj na významný vplyv geografických a klimatických podmienok. Medina et al. (2006), ktorí skúmali mykobiotu sladovníckeho jačmeňa v Španielsku, uvádzajú najvyššiu Fr pri rode *Alternaria* (93 %), nasledovanom rodmi *Aspergillus* (82,3 %) a *Penicillium* (57,8 %). Naopak, rod *Fusarium* bol detegovaný len v 27,8 % vzoriek. Podobne Castañares et al. (2021) uvádzajú dominanciu rodu *Alternaria* (100 %) v jačmeni z Argentíny, pričom rod *Fusarium* bol prítomný v 85 % vzoriek.

Počas fázy máčania sme zaznamenali najvyššiu frekvenciu výskytu (100 %) pri rodoch *Alternaria, Aspergillus, Fusarium* a *Penicillium*. Naopak, najnižšia frekvencia (25 %) bola pozorovaná pri rode *Rhizopus*. V porovnaní s nesladovaným jačmeňom neboli v tejto fáze detegované rody *Arthrinium, Lichtheimia, Nigrospora* a *Sordaria*, čo môže súvisieť s ich nižšou odolnosťou voči podmienkam máčania alebo s ich elimináciou počas hydratácie zrna.

Fáza klíčenia vytvorila priaznivé podmienky najmä pre rozvoj rodov *Alternaria, Fusarium* a *Mucor*, ktoré boli prítomné vo všetkých vzorkách. Naopak, najnižšia frekvencia výskytu bola zaznamenaná pri rodoch *Bipolaris, Cladosporium* a *Rhizopus*. V porovnaní s predchádzajúcou fázou nebol v tomto štádiu detegovaný rod *Epicoccum*, čo môže naznačovať jeho nižšiu adaptabilitu na podmienky klíčenia.

Po ukončení hvozdenia boli vo všetkých vzorkách prítomné rody *Alternaria, Fusarium* a *Mucor*, čo poukazuje na ich schopnosť prežívať aj podmienky zvýšenej teploty a zníženej vlhkosti. Najnižšia frekvencia výskytu (25 %) bola zaznamenaná pri rodoch *Arthrinium, Rhizopus* a *Trichoderma*. Rod *Bipolaris* nebol v tejto fáze detegovaný, čo naznačuje jeho citlivosť na podmienky hvozdenia. Komplexný prehľad frekvencie výskytu jednotlivých rodov mikroskopických vláknitých húb v sledovaných fázach sladovania je uvedený na Obrázku 1.

Obrázok č. 1, Frekvencia výskytu (%) izolovaných rodov vláknitých mikromycét zo zŕn jačmeňa pred a po jednotlivých štádiách procesu sladovania



Geißinger et al. (2017) uvádzajú, že vláknité mikromycéty rástli takmer na všetkých povrchovo sterilizovaných sladových zrnách. Na základe relatívnej frekvencie výskytu boli najčastejšie izolované rody *Alternaria, Aspergillus, Fusarium, Epicoccum, Drechslera, Mucor* a *Microdochium*. Okrem nich boli identifikované aj ďalšie rody, ako *Acremonium, Penicillium, Ascochyta, Botrytis, Ulocladium* a *Rhynchosporium*. Tieto výsledky sú v súlade s našimi zisteniami, kde dominovali najmä rody *Alternaria* a *Fusarium*, pričom spektrum izolovaných rodov bolo taktiež pomerne široké.

Problematike mykobioty jačmenných zŕn sa venovali aj Roháčik a Hudec (2007), ktorí poukázali na význam povrchovej sterilizácie pri hodnotení mikrobiálnej kontaminácie. Zatiaľ čo rod *Alternaria* bol frekventovaný na sterilizovaných aj nesterilizovaných zrnách, výskyt rodu *Aspergillus* bol výraznejší na nesterilizovaných zrnách. Tieto zistenia naznačujú, že časť mikrocenózy je viazaná najmä na povrch zrna, zatiaľ čo iné rody prenikajú do jeho vnútorných štruktúr.

Napriek vplyvu viacerých faktorov, ako sú pestovateľské podmienky, odroda jačmeňa, typ pôdy či podmienky skladovania, Kaur et al. (2015) identifikovali geografickú oblasť ako jeden z kľúčových determinantov štruktúry mikrobiálneho spoločenstva zŕn. Ich výsledky poukazujú na to, že jačmeň a slad z rôznych lokalít sú kolonizované odlišnými skupinami

mikroskopických húb, čo môže vysvetľovať aj rozdiely medzi našimi výsledkami a údajmi publikovanými inými autormi.

Relatívna denzita mikromycét

Okrem frekvencie výskytu (Fr) bola v práci hodnotená aj relatívna denzita (RD), ktorá vyjadruje mieru osídlenia vzoriek jednotlivými rodmi mikroskopických vláknitých húb. Vypočítané hodnoty RD (%) pre všetky sledované štádiá sladovania sú uvedené v Tabuľke 3. Medzi jednotlivými odrodami boli zistené len mierne rozdiely v zastúpení dominantných rodov.

Na základe získaných výsledkov možno konštatovať, že vo všetkých sledovaných štádiách sladovania dominovali rody poľných mikromycét *Alternaria* a *Fusarium*. V nesladovanom jačmeni sa s relatívne vysokou denzitou vyskytoval aj rod *Penicillium*, avšak v priebehu sladovania dochádzalo k postupnému poklesu jeho zastúpenia. Tento trend môže súvisieť so zmenami podmienok prostredia počas technologického procesu, najmä so zvýšenou vlhkosťou a následným tepelným zaťažením, ktoré selektívne ovplyvňujú jednotlivé skupiny mikromycét. Dominancia rodu *Alternaria* bola potvrdená aj v práci Gawrysiak-Witulska et al. (2008), ktorí zaznamenali jeho prítomnosť na povrchu všetkých analyzovaných zŕn jačmeňa bezprostredne po zbere aj po skladovaní. Tieto zistenia korešpondujú s našimi výsledkami, nakoľko rod *Alternaria* považujeme za najvýznamnejšieho kolonizátora v nesladovaného jačmeňa.

Na konci procesu máčania sa vo vzorkách jačmeňa s najvyššou priemernou RD naďalej vyskytoval rod *Alternaria*, avšak zvýšený obsah dostupnej vody v zrne výrazne podporil aj rozvoj rodu *Fusarium*. Súčasne došlo k zúženiu spektra izolovaných rodov z 12 v nesladovanom jačmeni na 8 v tejto fáze sladovania. Podobné trendy opisujú aj Kocić-Tanackov et al. (2005), ktorí sledovali zmeny mykobioty jačmenného zrna a máčacej vody počas procesu máčania. V jeho počiatočných fázach boli detegované rody *Alternaria, Cladosporium, Fusarium, Mucor* a *Phoma*, pričom v priebehu máčania dochádzalo k výrazným dynamickým zmenám v zastúpení jednotlivých taxónov. Autori poukazujú na to, že časť mikroorganizmov sa v úvodných fázach máčania vyplavuje do máčacej vody, čo vedie k poklesu celkového počtu mikromycét. Následne však, v dôsledku zvýšenej vlhkosti a priaznivých podmienok pre rast, môže dochádzať k opätovnému nárastu ich zastúpenia. Rod *Fusarium* bol v ich štúdii stabilne prítomný počas celého procesu, pričom jeho podiel sa v neskorších fázach mierne zvyšoval.

Tabuľka č. 3, Relatívna denzita (%) vyizolovaných rodov vláknitých mikromycét zo zŕn jačmeňa pred a po jednotlivých štádiách procesu sladovania

Rod	1 - LG Tosca				2 – Overture				3 – Malz				4 – Odysey			
	Štádiá odberu vzoriek															
	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
Alternaria	34,6	44,2	34,7	44,1	54,3	48,8	45,1	25,2	35,6	42,5	23,3	11,8	51,9	47,9	45,9	18,0
Arthrinium	2,1	0,0	0,0	0,0	1,6	0,0	0,0	8,1	0,6	0,0	0,0	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0
Aspergillus	14,1	2,6	0,5	4,5	8,5	5,0	0,0	9,9	14,1	3,0	0,0	0,0	8,1	4,3	0,3	6,8
Bipolaris	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Cladosporium	3,5	1,5	3,7	4,0	0,5	3,9	0,0	0,0	1,2	1,5	0,0	0,0	6,4	0,0	0,0	1,5
Epicoccum	0,7	0,7	0,0	2,8	0,0	0,4	0,0	0,0	1,2	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,8
Fusarium	3,2	47,6	50,1	23,7	11,2	40,6	47,9	30,6	1,2	44,5	51,6	44,5	5,7	45,1	51,0	60,9
Lichtheimia	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Mucor	0,4	0,0	9,7	9,0	0,5	0,0	2,5	22,5	0,6	3,0	23,0	40,0	0,0	0,4	2,3	9,0
M. sterilium	0,4	0,0	0,0	1,1	0,5	0,0	0,0	0,0	6,7	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,8
Nigrospora	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Penicillium	36,7	3,4	1,3	9,0	16,0	1,4	0,0	0,0	31,9	3,5	2,1	0,0	21,5	2,3	0,5	2,3
Rhizopus	3,5	0,0	0,0	1,7	6,4	0,0	2,5	0,0	5,5	2,0	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0
Sordaria	0,4	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	3,6	0,0	0,0	0,0	2,7	0,0	0,0	0,0	0,0
Trichoderma	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0

Legenda: I. – nesladovaný jačmeň; II. – koniec máčania; III. – koniec klíčenia; IV. – koniec hvozdenia; *M. sterilium* – *Mycelium sterilium*

Klíčenie predstavuje časovo najdlhšiu fázu sladovania, počas ktorej sú jačmenné zrná vystavené stabilnej teplote a vysokej vlhkosti, čo vytvára priaznivé podmienky pre rast mikromycét, najmä tých náročnejších na vyššiu aktivitu vody. Vo všetkých analyzovaných vzorkách sa na konci klíčenia najvyššou RD vyznačovali rody *Alternaria* a *Fusarium*. V porovnaní s predchádzajúcimi fázami však došlo k zmene dominancie, pričom najvyššiu priemernú RD dosiahol rod *Fusarium*, zatiaľ čo rod *Alternaria* vykazoval nižšie hodnoty. Mykotoxikogénne rody *Aspergillus* a *Penicillium* vykazovali v tejto fáze výrazný pokles oproti predchádzajúcim štádiám. Z hľadiska mikrobiálnych zmien je známe, že počas klíčenia prebiehajú v jačmennom zrne intenzívne metabolické procesy, vrátane degradácie rezervných sacharidov na jednoduché cukry, ktoré môžu podporovať rast mikromycét. Justé et al. (2011) uvádzajú, že zloženie mykobioty počas klíčenia je výrazne ovplyvnené technologickými podmienkami sladovania, pričom rozdiely medzi jednotlivými postupmi môžu viesť k odlišnej dynamike mikrobiálneho osídlenia.

Pri podlahovom type sladovania môže počas klíčenia dochádzať až k 13-násobnému nárastu počtu mikromycét, zatiaľ čo v saladinových boxoch môže naopak dochádzať k poklesu niektorých skupín húb o 20–70 %. V kontrolovaných podmienkach saladinových boxov sa zvyčajne znižuje najmä zastúpenie xerofilných skladovacích húb, ako sú rody *Aspergillus* a *Penicillium*. Napriek tomu boli v komerčných sladovniach pozorované aj zvýšené výskyty rodov *Cladosporium, Alternaria* a *Fusarium*, čo potvrdzuje význam technologických podmienok pri formovaní výslednej mykobioty sladu (Flannigan, 2003).

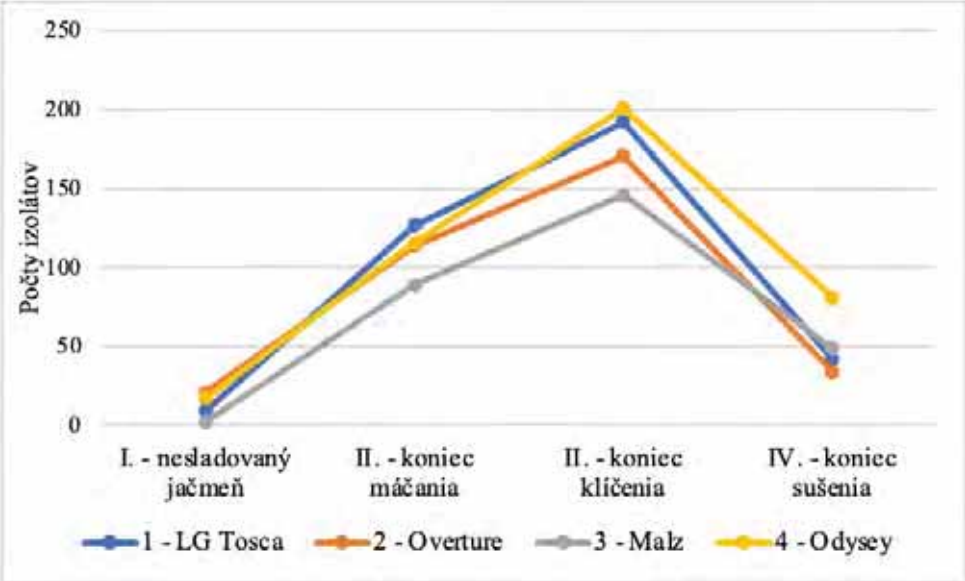
Z hľadiska vplyvu sušenia na vývoj mykobioty jačmenného sladu bolo vo finálnej fáze procesu opäť zaznamenané vysoké zastúpenie rodov *Fusarium* a *Alternaria*. Najvyššia priemerná RD bola zistená pri rode *Fusarium*, nasledovanom rodom *Alternaria*. V tejto fáze sa zároveň zvýšilo zastúpenie rodu *Mucor*, čo môže súvisieť s jeho schopnosťou tolerovať širšie spektrum podmienok vlhkosti a teploty. Celkovo sa po hvozdení spektrum izolovaných rodov mierne rozšírilo na 11, čo naznačuje, že finálna technologická fáza nevedie k úplnej eliminácii mikromycét, ale skôr k ich selekcii. Podobné výsledky uvádzajú aj Lu et al. (2022), ktorí okrem vláknitých mikromycét sledovali aj kvasinky v slade. V ich štúdii dominoval rod *Vishniacozyma* (0,72 – 22,89 %), nasledovaný rodmi *Filobasidium* (2,89 – 16,68 %) a *Sporobolomyces* (0,67 – 8,69 %). Tieto výsledky potvrdzujú, že mikrobiálne spoločenstvo sladu je komplexné a zahŕňa aj kvasinkové populácie, ktoré môžu prežívať aj finálne technologické kroky sladovania.

Výskyt Fusarium spp.

Rod *Fusarium* a jeho metabolity patria medzi najvýznamnejšie a najdiskutovanejšie faktory ovplyvňujúce kvalitu obilnín, najmä sladovníckeho jačmeňa a procesov sladovania. Rast a produkcia mykotoxínov druhmi rodu *Fusarium* sú primárne ovplyvňované environmentálnymi faktormi, predovšetkým teplotou a vodnou aktivitou (Strub et al., 2010), pričom významnú úlohu zohrávajú aj agronomické podmienky, ako aplikácia pesticídov či dusíkaté hnojenie (Nogueira et al., 2018). K produkcii mykotoxínov môže dochádzať aj počas samotného procesu sladovania, najmä v priebehu máčania a klíčenia (Wolf-Hall, 2007). Počas klíčenia, ktoré prebieha pri zvýšenej vlhkosti a miernej teplote, sa vytvárajú optimálne podmienky pre rozvoj *Fusarium* spp., čo potvrdzujú aj Váňová et al. (2004). V našej štúdii sa to prejavilo dosiahnutím najvyšších hodnôt relatívnej denzity práve v tejto fáze. Následné hvozdenie viedlo k poklesu počtu fuzárií, čo je v súlade s výsledkami Sarlin et al. (2005), ktorí uvádzajú, že najvyššie hodnoty kontaminácie sa vyskytujú v zelenom slade a následne dochádza k ich redukcii počas sušenia. V našom prípade však pokles nebol dostatočný na návrat

pod úroveň počiatočnej kontaminácie nesladovaného jačmeňa. Dynamika výskytu rodu *Fusarium* počas jednotlivých fáz sladovania je znázornená na Obrázku 2.

Obrázok č. 2, Frekvencia výskytu (%) izolovaných rodov vláknitých mikromycét zo zŕn jačmeňa pred a po jednotlivých štádiách procesu sladovania



V rámci analýzy bolo identifikovaných celkovo 10 druhov rodu *Fusarium* (*F. culmorum, F. graminearum, F. langsethiae, F. oxysporum, F. phyllophilum, F. poae, F. proliferatum, F. sambucinum, F. semitectum* a *F. sporotrichioides*), čo poukazuje na pomerne vysokú druhovú diverzitu tohto rodu v analyzovaných vzorkách jačmeňa. Druhová diverzita sa medzi jednotlivými vzorkami a fázami sladovania líšila. Vo všeobecnosti bolo možné pozorovať nárast počtu druhov po úvodných fázach sladovania, najmä po máčaní a klíčení, čo naznačuje aktiváciu a rozvoj latentnej infekcie v podmienkach zvýšenej vlhkosti. V niektorých vzorkách bola diverzita na začiatku procesu nízka a následne výrazne stúpla, zatiaľ čo v iných prípadoch bola druhová pestrosť relatívne vysoká už v nesladovanom jačmeni. Počas záverečnej fázy sladovania (hvozdenia) bol vo väčšine prípadov zaznamenaný mierny pokles druhovej diverzity, čo možno pripísať selekčnému účinku zvýšenej teploty a zníženej vlhkosti. Napriek tomu však nedošlo k úplnej eliminácii jednotlivých druhov, čo potvrdzuje schopnosť niektorých zástupcov rodu *Fusarium* prežívať aj nepriaznivejšie podmienky technologického spracovania. Rozdiely v druhovej diverzite medzi jednotlivými vzorkami naznačujú, že významnú úlohu zohrávajú aj faktory ako odroda jačmeňa, pestovateľská lokalita a počiatočný stupeň kontaminácie, ktoré ovplyvňujú zloženie mykobioty počas sladovania.

Pri hodnotení relatívnej denzity (RD) jednotlivých druhov rodu *Fusarium* boli medzi vzorkami a fázami sladovania pozorované výrazné rozdiely (Tabuľka 4). Vo všeobecnosti sa ukázalo, že dominantné postavenie mali len niektoré druhy, zatiaľ čo ostatné sa vyskytovali s nízkou RD. V priebehu sladovania sa prejavila tendencia postupnej selekcie druhov, pričom v jednotlivých vzorkách dochádzalo k striedaniu dominantných taxónov. V počiatočných štádiách sa v niektorých prípadoch vyskytovali druhy s vysokou RD, avšak pri nízkom počte izolátov, čo poukazuje skôr na ich náhodný alebo lokálny výskyt než na skutočnú dominanciu.

Počas máčania a najmä klíčenia sa ako významné ukázali druhy ako *F. tricinctum*, *F. oxysporum*, *F. semitectum* a *F. phyllophilum*, ktoré v niektorých vzorkách dosahovali vysoké hodnoty RD. Tieto druhy sú pravdepodobne lepšie adaptované na podmienky zvýšenej vlhkosti a aktívneho metabolizmu zrna. V záverečnej fáze sladovania sa ako dominantné presadzovali najmä druhy *F. oxysporum*, *F. phyllophilum* a *F. sambucinum*, čo naznačuje ich vyššiu toleranciu voči stresovým podmienkam, predovšetkým zvýšenej teplote a zníženej dostupnosti vody. Naopak, niektoré druhy dominujúce v skorších štádiách boli v tejto fáze potlačené. Výsledky zároveň poukazujú na výraznú variabilitu medzi jednotlivými vzorkami, čo naznačuje, že druhové zastúpenie rodu *Fusarium* je ovplyvnené nielen priebehom sladovania, ale aj počiatočnou kontamináciou a pôvodom jačmeňa.

Rod *Fusarium* patrí medzi najvýznamnejšie kontaminanty obilnín, pričom jeho význam spočíva najmä v schopnosti produkovať mykotoxíny ovplyvňujúce kvalitu sladu a finálnych produktov. Medzi najčastejšie druhy kontaminujúce jačmeň v Európe patrí *F. graminearum*, ako aj *F. culmorum* a *F. poae* (Nogueira et al., 2018). Mykotoxíny, ako napríklad zearalenón, môžu pretrvávať aj v sladových produktoch v dôsledku ich stability a rozpustnosti (Habschied et al., 2011).

Podmienky sladovania, najmä zvýšená vlhkosť a teplota počas máčania a klíčenia, podporujú rast *Fusarium* spp. a zároveň aj produkciu mykotoxínov. Oliveira et al. (2012) preukázali, že počas máčania dochádza k výraznému nárastu biomasy húb, pričom počas klíčenia sa kontaminácia môže zvýšiť až niekoľkonásobne. Zároveň poukazujú na dynamiku deoxynivalenolu (DON), ktorý sa síce počas máčania čiastočne vyplavuje, no v nasledujúcich fázach, najmä počas klíčenia a sušenia, dochádza k jeho opätovnej produkcii a akumulácii. Podobné výsledky uvádzajú aj Pascari et al. (2022), ktorí zaznamenali pokles DON počas máčania (o 75 – 85 %), nasledovaný jeho nárastom počas klíčenia. Sušenie pritom nemalo výrazný degradačný účinok na DON ani jeho deriváty.

Tabuľka č. 4, Relatívna denzita (%) identifikovaných druhov rodu *Fusarium* izolovaných zo zŕn jačmeňa pred a po jednotlivých štádiách procesu sladovania

Druh	1 - LG Tosca				2 – Overture				3 – Malz				4 – Odysey			
	Štádiá odberu vzoriek															
	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
F. culmorum	0,0	3,9	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
F. graminearum	0,0	15,0	0,0	0,0	47,6	0,9	15,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	11,8	38,7	24,9	16,0
F. langsethiae	0,0	2,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
F. oxysporum	0,0	27,6	40,1	78,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	13,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
F. phyllophilum	0,0	0,0	0,0	0,0	4,8	51,7	29,8	82,4	0,0	0,0	0,0	0,0	5,9	19,0	42,8	11,1
F. poae	0,0	0,0	0,0	0,0	9,5	7,9	0,0	0,0	100,0	4,5	11,0	8,2	70,5	11,2	10,4	19,8
F. proliferatum	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	0,0	0,0
F. sambucinum	0,0	0,0	0,0	0,0	4,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,9	30,2	14,9	53,1
F. semitectum	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	94,4	76,0	91,8	0,0	0,0	7,0	
F. sp.	0,0	0,0	0,0	0,0	4,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,9	0,0	0,0	0,0
F. sporotrichioides	0,0	0,0	0,0	0,0	9,5	32,5	32,2	14,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
F. tricinctum	100,0	50,3	59,4	21,4	19,0	7,0	22,2	2,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Legenda: I. – nesladovaný jačmeň; II. – koniec máčania; III. – koniec klíčenia; IV. – koniec hvozdenia

Naše výsledky poukazujú na výrazný nárast zastúpenia rodu *Fusarium*, najmä počas klíčenia, ako aj na jeho pretrvávanie aj po hvozdení. Uvedené skutočnosti naznačujú, že technologické podmienky sladovania predstavujú kritický faktor ovplyvňujúci dynamiku výskytu fuzárií, a tým nepriamo aj potenciálne riziko tvorby mykotoxínov.

ZÁVER

Predložená štúdia potvrdila výrazné zmeny v zložení mykobioty sladovníckeho jačmeňa počas jednotlivých fáz sladovania. Počas celého procesu boli dominantne zastúpené rody *Alternaria* a *Fusarium*, pričom najvýraznejšie zmeny boli pozorované v závislosti od technologickej fázy spracovania. Najširšia druhová diverzita rodu *Fusarium* bola zaznamenaná po fáze máčania, zatiaľ čo počas klíčenia došlo k výraznej dominancii niektorých druhov tohto rodu, čo poukazuje na ich selektívnu adaptáciu na podmienky zvýšenej vlhkosti a teploty. Hvozdenie síce viedlo k celkovému poklesu počtu izolátov, avšak úplná eliminácia fuzárií nebola dosiahnutá. Získané výsledky zdôrazňujú význam technologických podmienok sladovania ako kľúčového faktora ovplyvňujúceho dynamiku výskytu vláknitých mikroskopických húb v jačmeni a poukazujú na pretrvávanie potenciálne rizikových taxónov počas celého procesu výroby sladu.

POĎAKOVANIE

Táto štúdia vznikla s podporou projektu APVV-24-0266 – Udržateľné pestovanie jačmeňa a jeho kvalitatívne parametre na sladovnícke účely v meniacich sa klimatických podmienkach Slovenska.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BOTTALICO, A., PERRONE, G. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. In *European Journal of Plant Pathology,* 2002, vol. 108, no. 7, 611–624.
2. BRIGGS, D. E. *Malts and malting*. Springer : Great Britain, 1988. 816 p. ISBN 0412298007.
3. BURGESS, L. W., LIDDEL, C. M., SUMMERELL, B. A. *Laboratrory manual for Fusarium research*. Sydney : University of Sydney, 1988. 156 p. ISBN 0-949269-556-5.
4. CAO, D., LOU, Y., JIANG, X., ZHANG, D., LIU, J. Fungal diversity in barley under different storage conditions. In *Frontiers in Microbiology*, 2022, vol. 13, p.895975.
5. CASTAÑARES, E., CABRAL DA CRUZ, L., DINOLFO, M. I., ANDERSEN, B., STENGLEIN, S. A., PATRIARCA, A. *Alternaria* in malting barley: Characterization and distribution in relation with climatic conditions and barley cultivars. In *International Journal of Food Microbiology*, 2021, vol. 357, p.109367.
6. DE HOOG, G. S., GUARRO, J., GENÉ, J., FIGUERAS, M. J. *Atlas of clinical fungi*. Utrecht : Centraalbureau voor Schimmecultures, 2000. ISBN 90-70351-43-9.
7. DIJKSTERHUIS, J., SAMSON, R. A. *Food mycology: a multifaceted approach to fungi and food*. CRC Press : London, 2007. 428 p. ISBN 9780849398186.
8. EDWARDS, S. G. (2004). Influence of agricultural practices on *Fusarium* infection of cereals and subsequent contamination of grain by trichothecene mycotoxins. In *Toxicology Letters,* 2004, vol. 153, no. 1, p. 29–35.
9. FLANNIGAN, B. *The microbiota of barley and malt*. In Priest, Fergus G., Campbell, Iain. *Brewing Microbiology*. New York : Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2003. 405 p. ISBN: 978-1-4419-9250-5.
10. GAWRYSIAK-WITULSKA, M., WAWRZYNIAK, J., RYNIECKI, A., PERKOWSKI, J. Relationship of ergosterol content and fungal contamination and assessment of technological quality of malting barley preserved in a metal silo using the near-ambient method. In *Journal of Stored Products Research*, 2008, vol. 44, pp. 360-365.

11. GEIßINGER, C., HOFER, K., HABLER, K., HEß, M., H¨UCKELHOVEN, R., RICHLIK, M., BECKER, T., GASTL, M. *Fusarium* species on barley malt: Is visual assessment an appropriate tool for detection? In *Cereal Chemistry*, 2017, vol. 94, no. 4, pp. 659-669.
12. GONZÁLES, H. H. L., PACIN, A., RESNIK, S. L., MARTINEZ, E. J. Deoxynivalenol and contaminant mycoflor in freshly harvested Argentinian wheat in 1993. In *Mycopathologia*, 1996, vol. 135, no. 2, pp. 129–134. ISSN 0301-486X.
13. GUATAM, A. K., SHARMA, S., BHADAURIA, R. Detection of toxigenic fungi and mycotoxins in medicinally important powdered herbal drugs. In *The Internet Journal of Microbiology*, 2009, vol. 7, no. 2. ISSN 1937-8289.
14. HABSCHIED,K; ŠARKANJ, B.; KLAPEC, T. a KRSTANOVIĆ, V. Distribution of zearalenone in malted barley fractions dependent on *Fusarium graminearum* growing conditions. In *Food Chemistry*, 2011, vol. 129, no. 2, pp. 329-332.
15. JUSTÉ, A., MALFLIET, S., LENAERTS, M., COOMAN, L., AERTS, G., WILLEMS, K., LIEVENS, B. Microflora during malting of barley: Overview and impact on malt quality. In *Brewing Science*, 2011, vol. 64, no. 3, pp. 22-31.
16. KAUR, M., BOWMAN, J. P, STEWART, D. C., EVANS, D. E. 2015. The fungal community structure of barley malts from diverse geographical regions correlates with malt quality parameters. In *International Journal of Food Microbiology*, 2015, vol. 215, pp. 71-78.
17. KOCIĆ-TANACKOV, S. D., ŠKRINJAR, M. M., GRUJIĆ, O. S., PEJIN, J. D. Fungal growth during malting of barley. In *Acta Periodica Technologica*, 2005, vol. 36, pp. 51-60.
18. KRASAUSKAS, A. Fungi in malting barley grain and malt production. In *Biologija*, 2017, vol. 63, no. 3, pp. 283-288.
19. LAITILA, A., KOTAVIITA, E., PELTOLA, P., HOME, S., WILHELMSON, A. Indigenous microbial community of barley greatly influences grain germination and malt quality. In *Journal of the Institute of Brewing*, 2007, vol. 113, no. 1, pp. 9-20.
20. LESLIE, J. F., SUMMERELL, B. A. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing : Australia, 2006. 388 p. ISBN 978-0-8138-1919-8.
21. LU, Q., GUO, M.-Y., TIAN, J., LUO, J.-Y., YANG, M.-H. A comprehensive study on multi-mycotoxin screening, changes of mycotoxin residues and fungal community analysis from barley germination to malt. In *International Journal of Food Microbiology*, 2022, vol. 372, p.109678.

22. MAGAN, N., HOPE, R., CAIRNS, V., ALDRED, D. Post-harvest fungal ecology: Impact of fungal growth and mycotoxin accumulation in stored grain. In *European Journal of Plant Pathology*, 2003, vol. 109, no. 7, pp. 723–730.
23. MEDINA, Á., VALLE-ALGARRA, F. M., MATEO, R., GIMENO-ADELANTADO, J.V., MATEO, F. AND JIMÉNEZ, M., 2006. Survey of the mycobiota of Spanish malting barley and evaluation of the mycotoxin producing potential of species of *Alternaria*, *Aspergillus* and *Fusarium*. In *International Journal of Food Microbiology*, 2006, vol. 108, no. 2, pp.196-203.
24. NARZISS, L., BACK, W. *Die Bierbrauerei: Band 2 – Die Technologie der Würzebereitung* (8th ed.). John Wiley & Sons -VCH, 2009, 820 p. ISBN 978-3-527-62863-6.
25. NELSON, P. E., TOUSSOUN, T. A., MARASAS, W. F. O. *Fusarium species. An Illustrated Manual for Identification*. USA : The Pennsylvania State University, 1983, 193 p. ISBN 0-271-00349-9.
26. NIRENBERG, H. I. Untersuchngen über die morphologische und biologische Differenzierung in der *Fusarium*-sektion *Liseola*. In *Mitteilung aus der Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirschaft*, 1976, vol. 169, pp. 1-117.
27. NOGUEIRA, M. S., DECUNDO, J., MARTINEZ, M., DIEGUEZ, S. N., MOREYRA, F., MORENO, M. V., STENGLEIN, S. A. Natural Contamination with Mycotoxins Produced by *Fusarium graminearum* and *Fusarium poae* in Malting Barley in Argentina. In *Toxins*, 2018, vol. 10, no. 2, p.78.
28. OLIVEIRA, P. M., MAUCH, A., JACOB, F., WATERS, D. M., ARENDT, E. K. Fundamental study on the influence of *Fusarium* infection on quality and ultrastructure of barley malt. In *Interntional Journal of Food Microbiology*, 2012, vol. 156, no. 1, pp. 32-43.
29. PASCARI, X., MARIN, S., RAMOS A. J., SANCHIS, V. Relevant *Fusarium* mycotoxins in malt and beer. In *Foods*, 2022, vol. 11, no. 2, p.246.
30. PESTKA, J. J. (2010). Deoxynivalenol: mechanisms of action, human exposure, and toxicological relevance. In *Archives of toxicology*, 2010, vol. 84, no. 9, pp. 663-679.
31. PITT, J. I., HOCKING, A. D. *Fungi and food spoilage*. 2. vyd. Aspen publication : Maryland, 1999. ISBN ISBN 0-8342-1306-0.
32. PITT, J. I., HOCKING, A. D. *Fungi and Food spoilage*. 3. vyd. Springer : New York, 2009. 519 p. e-ISBN 978-0-378-92207-2.
33. ROHÁČIK, T., HUDEC, K. Fungal infection of malt barley kernels in Slovak Republic. In *Plant Protection Science*, 2007, vol. 43, no. 3, pp. 86-93.

34. SAMSON, R. A., HOEKSTRA, E. S.; FRISVAD, J. C., FILTENBORG, O. *Introduction to Food – and Airborne Fungi*. 6. vyd. Utrecht : Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2002a. 282 p. ISBN 90-70351-42-0.
35. SAMSON, R. A., HOEKSTRA, E. S., LUND, F., FILTENBORG, O., FRISVAD, J. C. *Methods for the detection, isolation and characterization of food-borne fungi*. In *Introduction to food- and airborne fungi* (Eds.: R. A. Samson, E. S. Hoekstra, J. C. Frisvad and O. Filtenborg). 6. vyd. Utrecht : Centraalbureau voor Schimmecultures, 2002b, pp. 283–297. ISBN 90-70351-42-0.
36. SARLIN, T., LAITILA, A., PEKKARINEN, A., HAIKARA, A. Effects of three *Fusarium* species on the quality of barley and malt. In *Journal of American Society of Brewing Chemists*, 2005, vol. 63, no. 2, pp. 43-49.
37. STRUB, C., POCANOZI, D., LEBRIHI, A., FOURNIER, R., MATHIEU, F. Influence of barley malting operating parameters on T-2 and HT-2 toxinogenesis of *Fusarium langsethiae*, a worrying contaminant of malting barley in Europe. In *Food Additives and Contaminants*, 2010, vol. 27, no. 9, pp. 1247-1252.
38. TANČINOVÁ, D., MAŠKOVÁ, Z., FELŠOCIOVÁ, S., DOVIČIČOVÁ, M., BARBORÁKOVÁ, Z. *Úvod do potravinárskej mykológie. Kľúč na identifikáciu potravinársky významných vláknitých mikroskopických húb*. Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2012, 286 p., ISBN 978-80-552-0753-7.
39. VAN NIEROP, S. N. E., RAUTENBACH, M., AXCELL, B. C., CANTRELL, I. C. The impact of microorganisms on barley and malt quality - a review. In *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 2006, vol. 64, no. 2, pp. 69-78.
40. VÁŇOVÁ, M., HAJŠLOVÁ, J., HAVLOVÁ, P., MATUŠINSKY, P., LANCOVÁ, K., SPITZEROVÁ, D. Effect of spring barley protection on the production of *Fusarium* spp. mycotoxins in grain and malt using fungicides in field trials. In *Plant, Soil and Environment*, 2004, vol. 50, no. 10, pp. 447-455.
41. WOLF-HALL C. E. Mold and mycotoxin problems encountered during malting and brewing. In *International Journal of Food Microbiology*, 2007, vol. 119, pp. 89-94.

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

VARIABILITA VOĽNÝCH AMINOKYSELÍN PO TEPELNÝCH ÚPRAVÁCH MÄSA MORSKEJ ŠŤUKY (*MERLUCCIUS HUBBSI*)

VARIABILITY OF FREE AMINO ACIDS AFTER HEAT TREATMENT OF SEA PIKE MEAT (*MERLUCCIUS HUBBSI*)

Mázor Matej, Golian Jozef, Ailer Lucia, Harangozo Luboš, Jakabová Silvia

Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda Andreja Hlinku 2 94976 Nitra

ABSTRAKT

This study evaluated the effect of different heat treatments (baking, sterilization, and sous-vide) on the profile of free amino acids in sea pike meat (*Merluccius hubbsi*). The concentrations of individual free amino acids were determined using high-performance liquid chromatography (HPLC). Taurine was identified as the dominant free amino acid in all analysed samples, while glycine, alanine, lysine, and anserine also showed notable abundance. One-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's post hoc test did not reveal statistically significant differences between treatments ($p > 0.05$). The results suggest that the applied technological treatments preserved a comparable chemical composition and did not significantly reduce the nutritional quality of sea pike meat. These findings indicate that baking, sterilization, and sous-vide processing can be applied without substantial negative effects on free amino acid composition.

Keywords: sea pike, free amino acids, thermal treatment, HPLC, ANOVA

ÚVOD

Morská šťuka je široko rozšírený druh morskej ryby v severovýchodnej časti Atlantického oceánu a Stredozemnom mori a má veľký komerčný a nutričný význam, najmä v Európe, kde je tento druh ryby vysoko cenený (Cipriani et al., 2025). Po ulovení sa niektoré čerstvé rybie produkty bez akýchkoľvek konzervačných metód prevážajú na veľkoobchodné trhy, vidiecke oblasti alebo verejné bazáre. Preprava rýb môže občas trvať dlhšie a tým sa môže ovplyvniť čerstvosť produktov. Okrem toho sa môžu pri izbovej teplote aplikovať procesy čistenia, pitvania, orezávania rybích hláv a filetovania. Všetky tieto faktory vedú k tomu, že produkty sa môžu časom kontaminovať a spotrebitelia môžu mať obavy, či sú produkty, ktoré kupujú, bezpečné na konzumáciu (Cetinkaya et al., 2024).

Aminokyseliny nie sú len stavebnými zložkami bielkovín, ale vyskytujú sa aj vo voľnej forme. Aminokyseliny, ktoré sa bežne vyskytujú v proteínoch, majú L-konfiguráciu. Z týchto

aminokyselín bol Asparagín prvýkrát objavený v špargli v roku 1806 a Treonín, ktorý bol najnovšie objavený, bol izolovaný z hydrolyzátu fibrínu v roku 1935. Väčšina z nich bola izolovaná z hydrolyzátov rôznych proteínov. Kyselina glutámová, ktorá bola prvýkrát získaná z hydrolyzátu pšeničného lepku v roku 1886, bola podľa Ikedu (1909) považovaná za najdôležitejšiu chuťovú zložku v riasach. Neskôr sa začala priemyselná výroba glutamanu sodného na jeho využitie ako ochucovadlo a zvýrazňovač chuti. Takmer všetky aminokyseliny vyvolávajú chuť. Väčšina hydrofóbnych L-aminokyselín má horkú chuť. Hydrofóbne D-aminokyseliny, ktoré vznikajú súčasne syntézou L-aminokyselín, však vyvolávajú silnú sladkú chuť. D-tryptofán, fenylalanín, histidín, tyrozín a leucín sú mnohonásobne sladšie ako sacharóza. Predpokladá sa, že silná sladká chuť vyvolaná týmito aminokyselinami je spôsobená schopnosťou týchto molekúl viazať sa na zmyslové receptory sladkej chuti (Teranishi et al., 1989).

V priebehu rokov sa na separáciu aminokyselín použilo veľké množstvo separačných metód, ako je iónoménová chromatografia, reverzná fázová chromatografia alebo kapilárna elektroforéza. Čo sa týka chromatografických metód, dnes sa používa vysokovýkonná kvapalinová chromatografia, alebo HPLC. Vysoká účinnosť je spôsobená veľkou plochou stacionárnej fázy a vysokým tlakom, preto sa niekedy nazýva vysokotlaková. V porovnaní s nízkotlakovou kvapalinovou chromatografiou je čas separácie výrazne skrátený (Fountolulakis a Lahm, 1998).

MATERIÁL A METODIKA

Príprava vzoriek

Na analýzu sme použili mrazenú vzorku morskej šťuky (*Merluccius Hubbsi*). Vzorka určená na analýzu bola hneď v deň dodania lyofilizovaná. Filety s úpravou varením boli nakrájané do centrifugačných skúmaviek, uzavreté a vo vodnom kúpeli varené pri teplote 50 °C po dobu 30 minút. Filety sterilizované pri teplote 120 °C boli v sterilizačnom zariadení spracované (autoklávovované) pri vyššom tlaku 60 minút. Vzorky boli umiestnené do centrifugačných skúmaviek, uzatvorené a vložené do sterilizátora, následne bol spustený celý proces sterilizácie. Vzorky ktoré boli upravené pečením boli po dobu 30 min tepelne ošetrené pri teplote 180 °C v uzavretých vreckách na pečenie. Následne boli všetky tepelne upravené vzorky lyofilizované.

Analýza obsahu voľných aminokyselín

Na analýzu obsahu voľných aminokyselín vo vzorkách sme použili analytický prístroj ARACUS classic (PMA GmbH Nemecko). Použitý prístroj využíva separačný proces založený na kolónovej kvapalinovej chromatografii (HPLC). Tento prístroj disponuje autosamplerom ktorý obsahuje štandardne dva zásobníky na vzorky, z ktorých do každého je možné umiestniť až 48 vialiek s rôznymi vzorkami (štandardne 1,5 ml). Tieto zásobníky sú chladené konvekciou. Extrakcia a injekčné podávanie vzoriek sa vykonáva pomocou internej dávkovacej jednotky.

Po chromatografickej separácii zmesi aminokyselín reagujú kvantitatívne s ninhydrínom pri teplotách medzi 100 a 130 °C. Ninhydrín tam reaguje s amínovou skupinou aminokyselín na Schiffovu bázu a zároveň eliminuje vodu. Po dekarboxylácii karboxylovej skupiny aminokyseliny a následnej eliminácii aminokyselinovej časti vzniká amino-ninhydrín. Táto sa dimerizuje s ninhydrínom na modré farbivo (Ruhemannovo purpurové). Táto intenzívna modrá farba sa dá vysvetliť mezomerizmom v spolupráci s vodíkovou väzbou v systéme konjugovaných dvojitých väzieb. Intenzita farby je koncentráciou farbiva, a teda koncentráciou aminokyseliny, ktorú treba stanoviť.

Do 15 ml skúmavky sme navážili 0,5 g vzorky do ktorej sme pridali 0,5 ml bufferu a 4 ml ultra čistej vody. Túto zmes sme zvortexovali a následne centrifugovali pri 6 000 otáčkach po dobu 5 minút. Následne sme odobrali 0,4 ml supernatantu do ependorfovej skúmavky, pridali 0,1 ml zrážacieho roztoku a znova zvortexovali. Zvortexovanú vzorku sme nechali 30 minút odležať v chladničke.

Odstáte vzorky sme centrifugovali pri 10 000 otáčkach po dobu 10 minút. 0,3 ml čistého roztoku sme prepipetovali do filtračnej vialky, spoločne s 0,2 ml bufferu a prefiltrovali ju. Všetky merania každej vzorky sme vykonali 3 krát, výsledky sme následne vyhodnotili, spriemerovali a určili smerodajnú odchýlku a následne ich štatisticky vyhodnotili.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Obsah voľných aminokyselín

Koncentrácie sledovaných zlúčenín sa pohybovali v relatívne širokom rozmedzí od približne 0,01 $mg.g^{-1}$ až po 4,17 $mg.g^{-1}$. Čerstvé vzorky vykazovali hodnoty od 0,01 $mg.g^{-1}$, pričom ornitín nebol prítomný. Maximálna hodnota v tejto skupine dosiahla 4,17 $mg.g^{-1}$ pri hydroxylyzíne, čo naznačuje prítomnosť výraznej variability medzi jednotlivými meraniami.

V prípade pečených vzoriek bola najnižšia nameraná hodnota 0,01 $mg.g^{-1}$ pre kyselinu asparágovú a maximálnou hodnotou 2,59 $mg.g^{-1}$ pri anseríne.

Sterilizované vzorky vykazovali najnižší obsah pri 3-metylhystidíne o hodnote 0,02 $mg.g^{-1}$, a maximálnu hodnotu 2,88 $mg.g^{-1}$ pri hydroxylizíne. Táto aminokyselina bola najviac zastúpená aj vo vzorkách upravených metódou *sous-vide*.

Medzi sledované voľné aminokyseliny, z ktorých sa tvoria biogénne amíny patri: tyrozín, fenylalanín, histidín, ornitín a lyzín. Obsah týchto aminokyselín sa pohyboval v rozmedzí 0,01 $mg.g^{-1}$ pre tyrozín až po 1,91 $mg.g^{-1}$ pre lyzín. Obsahy ostatných zlúčenín sa pohybovali v nižšom rozsahu, od 0,02 $mg.g^{-1}$ po 0,10 $mg.g^{-1}$. Obsah týchto zlúčenín sa pri tepelných úpravách výrazne nemenil. Podrobné výsledky so smerodajnými odchýlkami sú uvedené v tabuľke 1.

V predošlej štúdií sme taktiež sledovali zmenu obsahu voľných aminokyselín, z ktorých vznikajú biogénne amíny, sledovaných vo vzorkách mäsa zubáča veľkoústeho. Znova sme zistili prítomnosť: lyzínu, tyrozínu, fenylalanínu, histidínu a ornitínu. Tieto aminokyseliny boli prítomné vo všetkých vzorkách. Najviac zastúpenou z týchto aminokyselín bol histidín, s obsahom 0,12 $mg.g^{-1}$ čerstvej vzorke, a až 1,154 $mg.g^{-1}$ pri pečenej vzorke. Najmenej zastúpenou bol ornitín s najnižším obsahom 0,011 $mg.g^{-1}$ pri čerstvej vzorke a 0,36 $mg.g^{-1}$ pri vzorke pečenej (Mázor et al., 2026).

Limitujúcou aminokyselinou, v štúdií autorov ktorí skúmali profil aminokyselín v pstruhovi dúhovom, bol valín pri surových a pečených vzorkách. Izoleucín bol limitujúcou aminokyselinou vo vzorkách varených v mikrovlnnej rúre. Tento pokles môže negatívne ovplyvniť stráviteľnosť bielkovín a metabolické využitie (Garcia-Arias et al., 2003).

V štúdií autori zistili, že po tepelnom opracovaní bola chuť rýb ovplyvnená v rôznej miere a zmenilo sa zloženie profilu voľných aminokyselín a nukleotidov. Pri porovnaní úpravy na pare, varenia a teplovzdušného vyprážania, bola zmena vo vzorkách upravených parením najmenšia v porovnaní s čerstvou vzorkou. Neboli zaznamenané významné zmeny v esenciálnych aminokyselinách filiet tilapie upravených rôznymi metódami termického spracovania. Po varení sa voľné aminokyseliny a nukleotidy rozpustili vo vriacej vode, čo viedlo k významnému zníženiu celkového obsahu nukleotidov ($p < 0,05$). Teplovzdušné vyprážanie výrazne zvýšilo celkové množstvo voľných aminokyselín a nukleotidov v rybom mäse (Li et al., 2022).

Tabuľka 1 Obsah voľných aminokyselín vo vzorkách rýb

	Pečený		**Sterilizovaný**		***Sous vide***		**Čerstvý**	
	(mg.g^{-1})	**SD**	**(mg.g^{-1})**	**SD**	**(mg.g^{-1})**	**SD**	**(mg.g^{-1})**	**SD**
Fosfoserín	0,03	0,01	0,04	0,02	0,02	0,01	0,02	0,00
Taurín	1,55	0,01	2,07	0,65	1,45	0,02	1,67	0,01
Urea	0,21	0,03	0,18	0,07	0,10	0,01	0,23	0,03
Kyselina asparágová	0,01	0,00	0,01	0,00	0,03	0,01	0,02	0,00
Hydroxyprolín	0,06	0,00	0,13	0,00	0,08	0,00	0,07	0,00
Treonín	0,29	0,00	0,19	0,00	0,29	0,00	0,52	0,01
Serín	0,31	0,00	0,30	0,00	0,12	0,01	0,50	0,03
Kyselina glutámová	0,11	0,01	0,10	0,00	0,15	0,13	0,27	0,01
Sarkozín	0,09	0,03	0,12	0,06	0,15	0,13	0,15	0,16
Prolín	0,24	0,00	0,63	0,00	0,22	0,00	0,48	0,00
Glycín	0,77	0,00	1,03	0,41	0,58	0,01	0,78	0,01
Alanin	0,63	0,02	1,02	0,39	0,81	0,02	1,02	0,02
Valín	0,11	0,00	0,11	0,04	0,15	0,00	0,07	0,02
Cystín	0,02	0,01	0,02	0,00	0,02	0,03	0,01	0,02
Cystationín	0,05	0,00	0,38	0,25	0,00	0,00	0,16	0,05
Metionín	0,08	0,00	0,04	0,00	0,08	0,02	0,13	0,02
Izoleucín	0,05	0,00	0,07	0,03	0,10	0,01	0,09	0,02
Leucín	0,12	0,00	0,14	0,06	0,17	0,01	0,19	0,07
Tyrozín	0,05	0,00	0,05	0,02	0,05	0,01	0,02	0,02
Fenylalanín	0,04	0,00	0,04	0,02	0,04	0,00	0,02	0,02
b-Alanin	0,06	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Kyselina b-aminomaslová	0,04	0,00	0,11	0,08	0,15	0,02	0,11	0,01
Kyselina g-aminomaslová	0,02	0,00	0,05	0,04	0,00	0,00	0,05	0,01
Histidín	0,03	0,00	0,05	0,00	0,03	0,00	0,02	0,00
1-Metylhistidin	0,00	0,00	0,05	0,07	0,13	0,02	0,20	0,01
3-Metylhistidin	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00
Karnozín	0,05	0,00	0,08	0,02	0,00	0,00	0,10	0,09

Pokračovanie tabuľky 1

	Pečený		Sterilizovaný		*Sous vide*		Čerstvý	
	(mg.g^{-1})	SD	(mg.g^{-1})	SD	(mg.g^{-1})	SD	(mg.g^{-1})	SD
Anserín	2,59	0,02	1,71	2,20	0,02	0,02	0,09	0,00
Hydroxylyzín	0,01	0,00	2,88	4,07	3,06	0,03	4,17	0,02
Ornitín	0,05	0,02	0,05	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00
Lyzín	1,91	0,06	1,19	1,54	0,06	0,02	0,04	0,01
Amoniak	0,34	0,00	1,94	2,03	0,94	0,01	2,24	0,02
Etanolamín	0,11	0,01	0,43	0,45	0,40	0,00	0,41	0,00
Arginín	0,12	0,00	0,14	0,05	0,09	0,01	0,06	0,01

Štatistické vyhodnotenie výsledkov

Analýza pomocou Tukeyho testu nepreukázala štatisticky významné rozdiely medzi jednotlivými technologickými úpravami pri žiadnom z analyzovaných parametrov. Výsledky jednofaktorovej analýzy rozptylu (ANOVA) rovnako nepotvrdili významný vplyv spôsobu spracovania na obsah sledovaných zlúčenín, keďže pri všetkých analytoch boli hodnoty významnosti vyššie ako 0,05. To naznačuje, že čerstvá vzorka, *sous-vide*, pečenie aj sterilizácia v podmienkach experimentu viedli k porovnateľnému chemickému profilu vzoriek.

Výsledky teda naznačujú, že použité technologické postupy nespôsobili významné zmeny v analyzovanom profile vzoriek a zachovali porovnateľné chemické zloženie naprieč všetkými experimentálnymi skupinami.

Takýto istý trend potvrdili aj autori ktorí zistili, že v ich vzorkách tuniaka krídlatého neboli zaznamenané významné rozdiely ($P < 0,05$) medzi celkovým obsahom voľných aminokyselín v surových, varených alebo konzervovaných vzorkách. Ďalej zistili, že čím dlhšia je doba spracovania (pri rovnakej teplote), tým nižší je obsah voľných aminokyselín v produkte.

Rovnako, čím vyššia je spracovateľská teplota vedúca k rovnakej smrteľnej hodnote, tým nižší je pokles celkového obsahu voľných aminokyselín v produkte (Perez-Martin et al., 1988).

Výsledky Nurhana (2007) potvrdzujú, že bežné varenie a varenie v mikrovlnnej rúre filet pstruha dúhového nespôsobujú významné straty voľných aminokyselín.

ZÁVER

V našej práci sme posudzovali vplyv rôznych spôsobov tepelnej úpravy (pečenie, sterilizácia a *sous-vide*) na profil voľných aminokyselín v mäse morskej šťuky (*Merluccius hubbsi*). Výsledky preukázali, že tepelné spracovanie ovplyvnilo koncentrácie niektorých

individuálnych voľných aminokyselín, avšak celkový profil analyzovaných zlúčenín zostal medzi experimentálnymi skupinami porovnateľný. Dominantnou zložkou vo všetkých vzorkách bol taurín, pričom vysoké zastúpenie bolo zaznamenané aj pri anseríne, glycíne, alaníne a lyzíne. Hoci boli medzi čerstvými a tepelne upravenými vzorkami pozorované rozdiely v obsahu niektorých aminokyselín, štatistické analýzy (ANOVA, Tukeyho test) nepotvrdili významný vplyv technologického spracovania na sledované parametre ($p > 0,05$). Získané výsledky naznačujú, že mäso morskej šťuky si aj po tepelnom spracovaní zachováva stabilný profil voľných aminokyselín, čo je významné z pohľadu nutričnej hodnoty aj potenciálnych senzorických vlastností produktu. Súčasne výsledky potvrdzujú, že sledované technologické postupy môžu byť využité bez výrazného negatívneho dopadu na kvalitatívne parametre rybieho mäsa.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-22-0402

LITERATÚRA

1. CETINKAYA, T., BILDIK, F., ALTAY, F., CEYLAN, Z. 2023. Gelatine nanofibers with black elderberry, Au nanoparticles and SnO_2 as intelligent packaging layer used for monitoring freshness of Hake fish. *Food Chemistry*, *437*(Pt 1), 137843. https://doi.org/10.1016/j. foodchem.2023.137843
2. CIPRIANI, P., BAO, M., GIULIETTI, L., STORESUND, J. E., STABY, A., LEVSEN, A., 2025. Anisakid parasites (Nematoda: Anisakidae) in European hake (*Merluccius merluccius*) from Norwegian waters: considerations on food safety and host population ecology. *Food Control* vol. 171, 111097. https://doi.org/10.1016/j. foodcont.2024.11109
3. FOUNTOULAKIS, MICHAEL, LAHM, HANS-WERNER. 1998 Hydrolysis and amino acids composition analysis of proteins. *Journal of Chromatography* A. 1998, vol. 82 no. 2, pp. 109–134.
4. GARCIA-ARIAS, M. T., ALVAREZ-PONTES, E., GARCIA-LINARES, M. C., GARCIA FERNANDEZ, M. C. SANCHEZ-MUNIZ, F. J. 2003. Cooking-freezing reheating (CFR) of sardine (*Sardine pilhardus*) fillets. Effect of different cooking and reheating procedures on the proximate and fatty acid composition. *Food Chemistry*, vol. 83, pp. 349–356.
5. IKEDA K., New seasonings. Chem Senses 2002, 27:847–849. [Translation of *J Chem Soc* Jpn 1909, 30:820–836 10.1093/chemse/27.9.847

6. LI, R., SUN, Z., ZHAO, Y., LI, L., YANG, X., CHEN, S., WEI, Y., LI, C., WANG, Y. 2021. Effect of different thermal processing methods on water-soluble taste substances of tilapia fillets. *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 106, 104298. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021. 104298
7. MÁZOR, M., GOLIAN, J., AILER, L; HARANGOZO, L., JAKABOVA, S. 2026 Variabilita voľných aminokyselín po tepelných úpravách mäsa vybraných druhov rýb, In *Bezpečnosť a kvalita potravín. Zborník vedeckých prác*. Nitra, s. 257-261 ISBN: ISBN 978-80-8266-106-7
8. NURHAN, U. 2007. Change in proximate, amino acid and fatty acid contents in muscle tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after cooking. *International Journal of Food Science & Technology,* vol. 42 no. 9, pp.1087–1093. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01354.x
9. TERANISHI, ROY, BUTTERY, RON G., SHAHIDI, FEREIDOON. 1989. Role of Free Amino Acids and Peptides (Trends and Developments). Food Taste in ACS Symposium Series. In *Flavour Chemistry* Volume 388 10.1021/bk-1989-0388(), 158–174. doi:10.1021/bk-1989-0388.ch 013
10. PEREZ-MARTIN RICARDO I., FRANCO JOSE M., AUBOURG SANTIAGO, GALLARDO JOSE M. 1988. Changes in free amino acids content in albacore (*Thunnus alalunga*) muscle during thermal processing. doi:10.1007/bf01122644

Kontaktná adresa: Ing. Matej Mázor, Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda Andreja Hlinku 2 94976 Nitra, Slovensko. E-mail: xmazor@uniag.sk

VPLYV TECHNOLOGICKEJ ÚPRAVY NA OBSAH POLYFENOLOV V ČERNICIACH

INFLUENCE OF TECHNOLOGICAL TREATMENT ON THE CONTENT OF POLYPHENOLS IN BLACKBERRIES

Megyesy Eftimová Zuzana[1], Zahumenská Jana[1], Semjon Boris [1], Dudriková Eva[1]

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

ABSTRACT

Blackberries are a source of fiber, antioxidants (polyphenols) and vitamins that contribute to the protection of the body from oxidative stress. Currently, the importance of consuming fruits and vegetables is emphasized worldwide, especially since their reactive oxygen species require neutralization in the human body. Blackberries spoil quickly in their fresh state, so they are usually processed into various products to extend their shelf life and availability throughout the year. The main objective of the study was to determine how to influence: localities - "L" (Košice basin, Slovakia; L1 - sample 1, L2 - sample 2), sterilization process and storage (0-day, 1st, 3rd, 6th month) polyphenols in blackberry samples. The experiment was conducted at the Department of Hygiene, Technology and Food Safety at the Faculty of Food Science and Technology in Košice. 466.67 ± 27.33 mg GAE·L^{-1}) under optimal conditions up to 21°C, the lowest content of polyphenols was contained in the blackberry compote sample from location L1 in the 6th month of storage (1,593.33 ± 263.72 mg GAE·L^{-1}). The results show that the polyphenol content in blackberry compote was statistically significantly affected by location ($p < 0.05$) and storage time of samples ($p < 0.001$). It has been confirmed that sterilized blackberries (compote) are a rich source of polyphenols, and that regardless of the processing method, it is important to include blackberries in the daily diet for their protective and preventive effects against various diseases.

Keywords: quality, blackberries, compote, polyphenolic substances

ÚVOD

Rod ostružina (*Rubus* spp.), čeľaď *Rosaceae*, je veľmi premenlivým, s veľkým počtom druhov. Ostružina krovitá (*Rubus fruticosus* L.), (černica) je ker s poliehavou až plazivou stonkou s ostňami a čiernym oinovateným plodstvom. V ostatných rokoch výrazne vzrástla konzumácia plodov černíc, vďaka ich priaznivým účinkom na zdravie človeka (Schulz et al.,

2019; Eftimová et al., 2023). Bobuľové ovocie a zvlášť černice obsahujú vlákninu (celulóza, hemicelulóza, pektín), majú nízky obsah kalórií, veľmi nízky obsah tukov a vysoký obsah sacharidov, ako je glukóza a fruktóza. Organické kyseliny sú prítomné v nízkych koncentráciách a sú zodpovedné za chuť ovocia. Niektoré minerály, vitamíny a prítomnosť fenolových zlúčenín dávajú plodom z rodu *Rubus* status funkčných potravín (Battino et al., 2009; Skrovankova et al., 2015; Yilmaz, 2019). Ostružiny obsahujú tiež významné množstvo flavonolov, ktoré sa vyskytujú v glykozylovanej forme a nachádzajú sa výlučne v dužinatej časti plodu (Siriwoharn et al., 2004).

Pokiaľ ide o ich fenolické zloženie, mnohé štúdie uviedli, že tieto bobuľoviny obsahujú značné množstvo bezfarebných fenolov, vrátane kyseliny gálovej, kávovej, ferulovej, chlorogénovej a p-kumárovej, derivátov (+)-katechínu, myricetínu a kvercetínu, a farebných fenolov, najmä derivátov kyanidínu (s dôrazom na identifikáciu derivátov kyanidín-3-oglukozidu), ktorých zdraviu prospešné vlastnosti sú dobre definované (Pérez-Gallardo a kol., 2015).

Černice vďaka svojmu fytochemickému zloženiu majú rôzne zdravotné výhody a sú vhodné na prevenciu, podpornú liečbu metabolických porúch a chronických ochorení ako je rakovina, cukrovka, hypertenzia, kardiovaskulárne, gastrointestinálne ochorenia, ateroskleróza, starnutie, Parkinsonova a Alzheimerova choroba (Zia-Ul-Haq et al., 2014; Oszmiánski et al., 2015; Miller et al., 2019). Vďaka vysokému obsahu bioaktívnych zlúčenín sa často používajú na získanie funkčných zložiek potravín (Skrovankova et al., 2015). Antioxidačné vlastnosti a polyfenolové zloženie bobuľového ovocia sú ovplyvnené viacerými faktormi, ako je odroda, podmienky pestovania, prostredie, termín zberu, či spôsob skladovania a spracovania (Manganaris et al., 2014). Bobuľové ovocie, vrátane malín, černíc, čučoriedok, je obľúbené pre svoju chuť, jemnú textúru a zdravotné benefity, pričom má aj významnú ekonomickú hodnotu a patrí medzi najčastejšie konzumované druhy ovocia, či už v čerstvej alebo spracovanej forme (Skrovankova et al., 2015; Kumar et al., 2018).

Černice sa bežne konzumujú, nielen v čerstvej a mrazenej forme, ale aj ako technologický spracovane produkty, vrátane sušeného a konzervovaného ovocia, nápojov, džemov, sirupov, vína, čajov, dezertov a želé (Seeram et al., 2006). Spomedzi týchto produktov sú džemy a kompóty jedným z najobľúbenejších, vďaka svojej nízkej cene a celoročnej dostupnosti (Alves et al., 2009; Wojdylo et al., 2013). Ich výroba zvyčajne spočíva v kombinovaní plodov s cukrom a následnom varení. Polyfenoly, vrátane flavonoidov alebo antokyánov nie sú však v potravinovej matrici veľmi stabilné a počas tepelného spracovania a doby skladovania môže dochádzať k ich určitej degradácii v dôsledku rôznych faktorov, ako je teplota, pH, koncentrácia a štruktúra antokyánov, kyslíka, svetla a enzýmov. Tento rozklad

môže viesť k zmene farby, a tým aj k nižšej atraktivite produktu pre spotrebiteľov (Amaro et al., 2012; Poiana et al., 2013). Počas spracovania majú niektoré jednotkové operácie väčší vplyv na nutričný a technologický profil bobúľ, zatiaľ čo iné vo väčšej miere ovplyvňujú funkčné vlastnosti fytochemikálií (Patras et al., 2010). 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 (Turek a kol., 2015).

Cieľom experimentu je poskytnúť prehľad o tom, ako ovplyvňuje lokalita, spôsob spracovania a skladovanie obsah polyfenolových látok v černiciach. Technologický spôsob spracovania plodov černíc je z hľadiska zachovania bioaktívnych obsahových látok v produktoch nesmierne dôležitý, pretože konzumenti očakávajú, aby spĺňali kritériá pre polyfunkčné potraviny, ktoré poskytnú nutričné, ale aj zdravotné benefity.

MATERIÁL A METODIKA

V práci boli analyzované vzorky tepelne spracovaných černíc (kompótov) z dvoch lokalít (L1, L2) z okolia Košickej kotliny, v ktorých sa sledovala doba skladovateľnosti. Analýzy vzoriek boli vykonané na Katedre hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín na UVLF v Košiciach. Na prípravu extraktov sme použili ako rozpúšťadlo etanol. Príprava extraktov: približne 25 g černíc (kompót) bolo homogenizovaných mixérom (mixér ETA 0010) a následne extrahovaných v pomere 1:2 (25 g černíc; 50 ml rozpúšťadla), ktoré boli 24 hodín trepané na trepačke (LT3 Nedfrom s.r.o., ČR). Následne boli vzorky prefiltrované. Vo vzorkách sa stanovil celkových obsah polyfenolov pomocou Folin-Ciocalteuovho činidla v súlade so Singleton a Rossi (1999) pomocou spektrofotometra (T65 UV-Visible Spectrophotometer/UK). Výsledok sa vyjadrili ako ekvivalent kyseliny gálovej (R^2 = 0,9978). Každá vzorka bola analyzovaná trikrát.

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 lokality a vplyv doby skladovania vzoriek. Pre vyhodnotenie bola zvolená metóda 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

V našej štúdií sme sa zamerali na sledovanie polyfenolových látok v kompóte černíc z dvoch lokalít počas doby skladovania

Tabuľka č. 1, Vplyv skladovateľnosti na obsah celkových polyfenolov vo vzorkách černíc (priemer ± SD)

Dátum	Lokalita	Polyfenoly	TPC mg GAE·L^{-1}
1. deň	L1	0,10 ± 0,00^{b}	2 066,67 ± 37,24^{b}
1. mesiac	L1	0,10 ± 0,00^{b}	1 920,00 ± 17,89^{b}
3. mesiac	L1	0,09 ± 0,00^{bc}	1 863,33 ± 40,82^{bc}
6. mesiac	L1	0,08 ± 0,01^{d}	1 593,33 ± 263,72^{d}
1. deň	L2	0,08 ± 0,00^{cd}	1 633,33 ± 37,24^{cd}
1. mesiac	L2	0,09 ± 0,00^{bc}	1 846,67 ± 54,65^{bc}
3. mesiac	L2	0,08 ± 0,01^{d}	1 543,33 ± 260,28^{d}
6. mesiac	L2	0,12 ± 0,00^{a}	2 466,67 ± 27,33^{a}
Vplyv doby skladovania	*p*-hodnota	$p < 0,001$	$p < 0,001$
Vplyv lokality	*p*-hodnota	$p > 0,05$	$p > 0,05$

Priemery zdieľajúce zhodný horný index nie sú vzájomne štatistiky významné (Tukeyho test, $p < 0,05$). TPC - obsah celkových polyfenolov, GAE - ekvivalent kyseliny galovej

Na základe dosiahnutých výsledkov stanovenia celkového obsahu polyfenolov v experimentálnych vzorkách černíc sme zistili, že najvyšší celkový obsah polyfenolov vykazovala vzorka černíc z lokality L2 v 6. mesiaci skladovateľnosti kompótu (2 466,67 ± 27,33 mg GAE·L^{-1}) pri optimálnej teplote 21°C. Naproti tomu najnižší obsah celkových polyfenolov vykazovala vzorka černíc z lokality L1 v 6. mesiaci skladovateľnosti (1 593,33 ± 263,72mg GAE·L^{-1}). Pri porovnávaní nameraných hodnôt celkového obsahu polyfenolov v sledovaných vzorkách nemôžeme jednoznačne povedať, že dochádza k stratám na celkovom obsahu polyfenolov v dôsledku doby skladovateľnosti. K stratám obsahu polyfenolov vo vzorke 1 (L1) mohlo dôjsť aj v dôsledku nadmerného tepelného opracovania (nesprávne použitý čas pri sterilizácií), alebo v dôsledku toho, že prvotná surovina už bola prezretá a počas skladovania dochádzalo k následným stratám.

Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že na celkový obsah polyfenolov experimentálnych vzoriek černíc mala štatisticky významný vplyv doba skladovateľnosti ($p < 0,001$) a taktiež aj vplyv lokalita ($p < 0,05$). Fenolové zlúčeniny sú sekundárne metabolity rastlín, ktoré sú dôležitými determinantmi senzorickej a nutričnej kvality ovocia a zeleniny (Tomas-Barberan, Ferreres a Gil, 2000). Zloženie, obsah a distribúcia fenolových zlúčenín závisí od zrelosti ovocia, odrody ovocia, geografického pôvodu, ročného obdobia a podmienok skladovania po zbere. Fenolové zlúčeniny majú dôležité vlastnosti, ako sú antioxidačné, antikarcinogénne, antimikrobiálne, antialergické, antimutagénne a protizápalové, ako aj kľúčové účinky na farbu, arómu a chuť ovocia (Miletic et al., 2021). Čerstvé černice sú dostupné iba sezónne. Väčšina

černíc sa konzumuje v mrazenej alebo tepelne spracovanej forme. V spracovaných produktoch, ako sú konzervované produkty sa počas spracovania a skladovania z bobúľ do nálevu uvoľňuje značné množstvo polyfenolových antioxidantov (antokyánov) (Hager et al., 2008). V štúdii Brownmiller et al. (2009) sledovali vplyv skladovania spracovaných čučoriedok (konzervovanie v sirupe, vode, pyré a odšťavovanie) na antokyány a antioxidačnú aktivitu. Dospeli k záveru, že skladovanie je zodpovedné za významné straty prokyanidínov. Najmenej sa zachoval obsah v šťavách a najviac v bobuliach konzervovaných v sirupe a vode (Brownmiller et al., 2009). Habánova a Habán (2011) vo svojej štúdii sledovali zmeny niektorých ukazovateľov kvality vplyvom sterilizácie podľa tradičnej receptúry. Dospeli k záveru, že počas sterilizácie poklesla hodnota obsahu vitamínu C v černiciach zo 16,25 mg. 100 g^{-1}, obsah organických kyselín stúpol v kompóte o 0,225 mg. 100 g^{-1}. Autori Gancel et al. (2011) sledovali vplyv tepelných procesov na antokyány a antioxidačnú aktivitu. A dospeli k záveru, že tepelné procesy, najmä blanšírovanie, výrazne znižujú obsah antokyánov v černiciach. Konečné produkty vykazujú znížené hodnoty antokyánov kyanidín-3-glukozidu (o 52 %) a kyanidín-3-malonylglukozidu (o 64 %). Antokyány naďalej klesajú počas skladovania, najmä ak sú teploty vysoké (Gancel et al., 2011). Autori Hager et al. (2008) a Kolniak-Ostek et al. (2015) sledovali vplyv skladovania na spracované šťavy z bobuľového ovocia. Spracovanie štiav viedlo k najväčším stratám (~67 %) počas šiestich mesiacov skladovania, zatiaľ čo konzervované výrobky boli najmenej ovplyvnené spracovaním (straty 17,8 % a 10,5 %) pri konzervovaných vo vode a konzervovaných v sirupe. Tepelné spracovanie pyré viedlo k strate 27,4 % antokyánov. V konzervovaných výrobkoch sa značné množstvo antokyánov vylúhovalo z bobúľ do nálevu (medzi 21 % a 33 %) počas spracovania a skladovania (Hager et al., 2008; Kolniak-Ostek et al., 2015). Srivastava et al. (2007) študovali vplyv rôznych podmienok na extrakt z čučoriedok. Výsledky ukázali, že účinok skladovania bol menší ako vplyv tepelného spracovania. Okrem toho Castrejón et al. (2008) vykazovali zníženie obsahu celkových fenolov, antioxidantov a antokyanínov v čučoriedkach aj počas zrenia. Andersson et al. (2015) študovali vplyv doby a teploty skladovania na stabilitu celkových polyfenolov (TPC) v nápojoch pripravených s pyré z rakytníka, čím dospeli k záveru, že k najväčšiemu poklesu TPC došlo bezprostredne po výrobe a neskôr nebola pozorovaná žiadna významná zmena. V súlade so súčasnými výsledkami bolo zdokumentované, že obsah polyfenolov v plodoch černíc sa líšil v rôznych štádiách zrelosti a nachádza sa v nižších hladinách v zrelých plodoch ako v nezrelých alebo prezretých plodoch (Siriwoharn a kol., 2004; Koczka a kol., 2018). Podobne sa ukázalo, že v černiciach sa TPC významne znižoval s dozrievaním plodu zo zeleného do zrelého štádia (Wang a Lin, 2000).

Metódy spracovania, ktoré sa líšia počtom krokov spracovania, teplotou ohrevu a trvaním môžu výrazne ovplyvniť obsah antokyánov a antioxidačnú kapacitu bobuľového ovocia. Informácie o tom, ako rôzne metódy spracovania a dlhodobé skladovanie ovplyvňujú nutričnú hodnotu a kvalitu černíc sú obmedzené. Tieto informácie sú potrebné pre spotrebiteľov, ktorí chcú do svojej stravy zaradiť vyššie hladiny bioaktívnych zlúčenín, a pre spracovateľov, ktorí si želajú zachovať alebo prípadne zvýšiť hladiny bioaktívnych zlúčenín vo svojich výrobkoch.

ZÁVER

Černice sú bohatým zdrojom bioaktívnych látok, ktorých zloženie sa líši v závislosti od kultivaru a odrody, miesta pestovania a podmienok prostredia, výživy rastlín, štádia zrelosti a času zberu, ako aj následných podmienok skladovania alebo metód spracovania. V čerstvom stave ovocie podlieha rýchlo kazeniu, a preto sa zvyčajne spracováva na rôzne produkty, aby sa predĺžila jeho trvanlivosť a dostupnosť počas celého roka. Aby sa kompenzoval nedostatok čerstvého ovocia počas celého roka, bobule sa zvyčajne spracovávajú na kompót alebo džem. V závislosti od podmienok spracovania môže byť ovplyvnený nutričný a funkčný profil bobúľ. Literatúra naznačuje, že bez ohľadu na spôsob spracovania ponúka zaradenie černíc do dennej stravy pre ich ochranné a preventívne účinky proti rôznym chorobám. Predpokladá sa, že pravidelné konzumovanie polyfenolov v rastlinných matriciach podporuje tráviaci proces, ovplyvňuje kognitívne funkcie mozgu a preventívne vplýva na srdcové choroby, cukrovku II. typu a niektoré typy rakoviny.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená projektom KEGA 007UVLF-4/2024.

ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

1. Alves, L.R.; Battochio, J.R.; Cardoso, J.M.P.; De Melo, L.L.M.M.; Da Silva, V.S.; Siqueira, A.C.P.; Bolini, H.M.A. Time–intensity profile and internal preference mapping of strawberry jam. In *J. Sens. Stud.* 2008, 23, 125–135.
2. Amaro, L.F.; Soares, M.T.; Pinho, C.; Almeida, I.F.; Ferreira, I.M.P.L.V.O.; Pinho, O. Influence of Cultivar and Storage Conditions in Anthocyanin Content and Radical-Scavenging Activity of Strawberry Jams. In *World Acad. Sci. Eng. Technol.* 2012, 69, 118–122.
3. Andersson, S.C.; Ekholm, A.; Johansson, E.; Olsson, M.E.; Sjöholm, I.; Nyberg, L.; Nilsson, A.; Rumpunen, K. Effect of storage time and temperature on stability of bioactive

compounds in aseptically packed beverages prepared from rose hips and sea buckthorn berries. In *Agric. Food Sci*. 2015;24:273–288.

4. Battino, M.; Beekwilder, J.; Denoyes-Rothan, B.; Laimer, M.; McDougall, G.J.; Mezzetti, B. Bioactive Compounds in Berries Relevant to Human Health. In *Nutr. Rev.* 2009, 67, S145–S150.
5. Brownmiller, C.R.; Howard, L.R.; Prior, R.L. Processing and storage effects on procyanidin composition and concentration of processed blueberry products. In *J. Agric. Food Chem*. 2009, 57, 1896–1902.
6. Castrejón, A.D.R.; Eichholz, I.; Rohn, S.; Kroh, L.W.; Huyskens-Keil, S. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. In *Food Chem*. 2008,109:564–572.
7. Eftimová, J.; Megyesy Eftimová, Z. *Bioaktívne látky v Tokajských vínach a ich vplyv na zdravie.* 1. vyd. Košice: Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach. 2023,197 s. ISBN 978-80-8077-792-0.
8. Gancel, A.L.; Feneuil, A.; Acosta, O.; Pérez, A.M.; Vaillant, F. Impact of industrial processing and storage on major polyphenols and the antioxidant capacity of tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichus*). In *Food Res. Int.* 2011, 44, 2243–2251.
9. Habánová, M.; Habán, M. *Antioxidanty v rastlinných materiáloch z prírodných a agroekologických podmienok.* SPU : Nitra, 2011, 104 s.
10. Hager, T.J.; Howard, L.R.; Prior, R.L. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blackberry products. In J. *Agric. Food Chem.* 2008, 56, 689–695.
11. Koczka, N.; Stefanovits-B_anyaı, E.; Prokaj, E. Element composition, total phenolics and antioxidant activity of wild and cultivated blackberry (*Rubus fruticosus* L.) fruits and leaves during the harvest time. Not. Bot. Horti Agrobot. In *Cluj-Napoca*, 2018.
12. Kolniak-Ostek, J.; Kucharska, A.Z.; Sokół-Łętowska, A.; Fecka, I. Characterization of phenolic compounds of thorny and thornless blackberries. In *J. Agric. Food Chem.* 2015, 63, 3012–3021.
13. Kumar, S.; Baghel, M.; Yadav, A.; Kumar Dhakar, M. *Postharvest Biology and Technology of Berries*. In Postharvest Biology and Technology of Temperate Fruits; Springer: Cham, 2018; pp. 349–370.
14. Manganaris, G.A.; Goulas, V.; Vicente, A.R.; Terry, L.A. Berry antioxidants: Small fruits providing large benefits. In *J. Sci. Food Agr*. 2014, 94, 825–833.

15. Mileti_c, N.; Popovi_c, B.; Mitrovi_c, O.; Kandi_c, M. Phenolic content and antioxidant capacity of fruits of plum cv. 'Stanley' (*Prunus domestica* L.) as influenced by maturity stage and on-tree ripening. Aust. In J. Crop Sci. 2021, 6(4), 681–687.
16. Miller, K.; Feucht, W.; Schmid, M. Bioactive Compounds of Strawberry and Blueberry and Their Potential Health Effects Based on Human Intervention Studies: A Brief Overview. In *Nutrients* 2019, 11, 1510.
17. Oszmiánski, J.; Nowicka, P.; Teleszko, M.; Wojdyło, A.; Cebulak, T.; Oklejewicz, K. Analysis of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in Wild Blackberry Fruits. In *Int. J. Mol. Sci.* 2015, 16, 14540–14553.
18. Patras, A.; Brunton, N.P.; Donnell, C.O.; Tiwari, B.K. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. Trends Food Sci. Technol. 2010, 21, 3–11.
19. Pérez-Gallardo, A.; García-Almendárez, B.; Barbosa-Cánovas, G.; Pimentel-González, D.; Reyes-González, L.R.; Regalado, C. Effect of starch-beeswax coatings on quality parameters of blackberries (*Rubus spp*.). In *J. Food Sci. Technol.* 2015, 52(9), 5601–5610.
20. Poiana, M.A.; Munteanu, M.F.; Bordean, D.M.; Gligor, R.; Alexa, E. Assessing the effects of different pectins addition on color quality and antioxidant properties of blackberry jam. In *Chem. Cent. J.* 2013, 7, 121.
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. Singleton, V. L.; Rossi, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. In *American Journal of Enology and Viticulture*.1965, vol. 16, no. 3 p. 144-158.
23. Siriwoharn, T.; Wrolstad, R.E. Polyphenolic Composition of Marion and Evergreen Blackberries. In *J. Food Sci.* 2004, 69, FCT233–FCT240.
24. Siriwoharn, T.; Wrolstad, R.E.; Finn, Ch.E.; Pereira, C.B. Influence of cultivar, maturity, and sampling on blackberry (*Rubus L. hybrids*) anthocyanins, polyphenolics, and antioxidant properties. In *J. Agric. Food Chem.* 2004, 52(26), 8021–8030.
25. Skrovankova, S.; Sumczynski, D.; Mlcek, J.; Jurikova, T.; Sochor, J. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Different Types of Berries. In *Int. J. Mol. Sci.* 2015, 16, 24673–24706.
26. Srivastava, A.; Akoh, C.C.; Yi, W.; Fischer, J.; Krewer, G. Effect of Storage Conditions on the Biological Activity of Phenolic Compounds of Blueberry Extract Packed in Glass Bottles. In *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 2705–2713.

27. Tomas-Barberan, F. A., Ferreres, F. and Gil, M. I. *Antioxidant phenolic metabolites from fruits and vegetables and changes during storage and postharvest processing.* In A. Rahman (ed.), Bioactive Natural Products (Part D), 2000, pp. 739–795. Amsterdam: Elsevier Science.
28. 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.
29. Wang, S.Y.; Lin, H-S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. In *J. Agricult. Food Chem.* 2000, 48, 140–146.
30. Wojdylo, A.; Oszmianski, J.; Teleszko, M.; Sokol-Letowska, A. Composition and quantification of major polyphenolic compounds, antioxidant activity and colour properties of quince and mixed quince jams. In *Int. J. Food Sci. Nutr.* 2013, 64, 749–756.
31. Yilmaz, S. Effects of Dietary Blackberry Syrup Supplement on Growth Performance, Antioxidant, and Immunological Responses of Nile Tilapia. In *Fish Shellfish Immunol.* 2019, 84, 1125–1133.
32. Zia-Ul-Haq, M.; Riaz, M.; De Feo, V.; Jaafar, H.Z.E.; Moga, M. Rubus fruticosus L.: Constituents, Biological Activities and Health Related Uses. In *Molecules* 2014, 19, 10998–11029.

Kontaktná adresa: Megyesy Eftimová Zuzana, PhDr. Ing., PhD., Department of Food Hygiene and Technology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic. E-mail: zuzana.megyesy.eftim@uvlf.sk

FERMENTOVANÉ KRMIVO A JEHO VPLYV NA KVALITU MÄSA BROJLEROV

FERMENTED FEED AND ITS IMPACT ON THE QUALITY OF BROILER MEAT

Mesarčová Lýdia[1], Reitznerová Anna[1], Semjon Boris[1], Klempová Tatiana[2], Čertík Milan[2], Marcinčák Slavomír[1]

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

[2]Ústav biotechnológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, STU Bratislava, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

ABSTRACT

The potential of fermented feed lies in its ability to regulate intestinal microflora and support gut health, and its effect on the weight gain of broiler chickens has also been confirmed. Fermentation processes increase the bioavailability of nutrients, reduce antinutritional factors in the feed, and thus lead to the formation of beneficial metabolites, such as short-chain fatty acids, which significantly contribute to intestinal health. Low-fiber fungi or bacteria are used for fermentation, and the resulting product is immediately available for use in chicken feed. An advantage of using fermented feed in poultry nutrition is the ability to incorporate alternative crops and processing byproducts, such as oilseed meal, bran, bran, as well as fruit peels (e.g., grapes, coffee), which represent cheaper and more readily available feed sources compared to standard feed sources traditionally used for poultry fattening.

Key words: broiler, meat quality, fermentation, feed

ÚVOD

Hydinové mäso je celosvetovo najkonzumovateľnejším druhom mäsa a je tak kľúčovým zdrojom živočíšnych bielkovín. Chov hydiny je spojený s vysokými nákladmi na zabezpečovanie veľkých objemov krmív (až 70 % celkových nákladov na chov tvoria náklady na krmivo), preto kreativita hydinárov a výskumníkov v oblasti výživy hydiny vo väčšine krajín siaha po zdrojoch lokálnych a dostupných surovín, ktoré by sa dali využiť na rast a produkciu brojlerov.

Existujú viaceré možnosti zdrojov krmív využiteľných po fermentácii na výkrm hydiny. Jednou z možností sú alternatívne plodiny (Oguru et al. 2013) alebo vedľajšie produkty, ako sú mláto, otruby, šupky ovocia (Chu et al. 2017, Čertík a Klempová 2016), kávové výlisky (Ramadan et al. 2025), poľnohospodárske odpady a vedľajšie produkty (ryžové šupky, kôstky

višní, palmové jadrá, dužina manioku, repná alebo kukuričná múčka) (Ahmad et al. 2023) alebo výlisky olejnín (Ashayerizadeh et al. 2017), ktoré sú vedľajšími produktami výroby olejov. V porovnaní s hlavnými obilninami sú tieto alternatívy ekonomicky prijateľnejšie, avšak ich nevýhodou je nedostatočné množstvo bielkovín, veľké množstvo vlákniny a obsah antinutrientov, čo výrazne limituje ich použitie vo výžive hydiny (Li et al. 2014). Na úpravu obsahu nestráviteľnej vlákniny a redukciu antinutrientov a toxických látok v surovine používanej na výkrm brojlerov a zároveň za účelom zvyšovania obsahu celkových bielkovín sa využívajú fermentačné procesy (Chu et al. 2017).

FERMENTAČNÝ PROCES

Fermentácia sa definuje ako biotechnologický proces premeny zložitých organických látok na jednoduché zlúčeniny pôsobením enzýmov, ktoré sú produkované mikroorganizmami (baktérie, kvasinky, plesne) (Supriya et al. 2023). Fermentácia sa využíva na zvýšenie biologickej dostupnosti živín (Hotz a Gibson 2007) a spôsobuje degradáciu mnohých antinutričných faktorov (ANF) v surovine, napr. taníny, galakto-oligosacharidy, inhibítory trypsínu, lektíny, neškrobové polysacharidy a alergénne bielkoviny (glycín, ß-konglycín) (Egounlety a Aworh 2003). Veľkou výhodou fermentácie je, že obohacuje krmivo o probiotické mikroorganizmy (napr. *Lactobacillus sp*., *Bacillus sp.* alebo *Saccharomyces cerevisiae*) (Ashayerizadeh et al. 2017, Soumeh et al. 2019).

Vo všeobecnosti sa fermentácia delí na dva základné druhy podľa použitého substrátu:

- fermentácia na pevnej fáze (*SSF – solid state fermentation*) a
- fermentácia na tekutej fáze - submerzná fermentácia (*SmF – submerged fermentation*) (Supriya et al. 2023).

Fermentácia na pevnej fáze je špecifický proces, pri ktorom mikroorganizmy rastú na pevnom substráte za kontrolovaných podmienok, a zvyčajne je to anaeróbny proces a je ideálna pre sypké materiály, napr. otruby. Týmto spôsobom sa vyrába fermentované suché krmivo, ktoré sa môže pridávať do základných kŕmnych zmesí, ako sú celé zrná (Supriya et al. 2023). Pri tejto fermentačnej technike sa substráty spotrebúvajú veľmi pomaly a rovnomerne, takže ten istý substrát je možné používať počas dlhých fermentačných období. Táto technika teda umožňuje kontrolované uvoľňovanie živín. SSF je najvhodnejšia pre fermentačné techniky zahŕňajúce mikroskopické vláknité huby a mikroorganizmy, ktoré vyžadujú nižšiu vlhkosť. Nemôže sa však použiť vo fermentačných procesoch zahŕňajúcich organizmy, ktoré vyžadujú vysokú aktivitu vodu, ako sú napríklad baktérie (Babu a Satyanarayana 1996).

Fermentácia na tuhej fáze (SSF) je selektívnym prostredím pre mikroorganizmy tolerantné voči nižšej aktivite vody a schopné rásť na nerozpustných pevných substrátoch, ako sú agro-priemyselné odpady (otruby, kávové šupky). Najvýznamnejšiu skupinu tvoria mikroskopické vláknité huby (plesne) rodov *Aspergillus, Rhizopus, Trichoderma* a *Penicillium*. Ich morfologická výhoda spočíva v tvorbe mycélia, ktoré penetruje do pevnej matrice substrátu a produkuje extracelulárne enzýmy (celulázy, hemicelulázy, fytázy), ktoré degradujú komplexné polysacharidy a antinutričné látky. SSF verne kopíruje prirodzené prostredie týchto mikroskopických vláknitých húb, čo vedie k vyššej stabilite produkovaných produktov v porovnaní s tekutou kultiváciou (Thomas et al. 2013).

Submerzná fermentácia je proces, pri ktorom mikroorganizmy rastú v tekutom živnom médiu za neustáleho miešania a prevzdušňovania. Na rozdiel od fermentácie na tuhej fáze sú tu substráty (cukry, dusík, minerály) úplne rozpustené alebo suspendované vo vode v uzavretých bioreaktoroch. Proces prebieha tak, že sa sterilný tekutý substrát v tanku naočkuje vybranou kultúrou (napr. baktériami mliečneho kvasenia alebo kvasinkami). Keďže sú mikroorganizmy v priamom a neustálom kontakte so živinami, proces je veľmi rýchly a intenzívny. Kľúčovými faktormi sú kontrola pH, teploty a prísun kyslíka, čo umožňuje vysokú produkciu biomasy alebo enzýmov v krátkom čase. V kontexte výživy zvierat sa táto metóda často využíva na priemyselnú výrobu kŕmnych doplnkov, aminokyselín alebo probiotík, ktoré sa následne pridávajú do kŕmnych zmesí (Subramaniyam a Vimala 2012).

V submerznej fermentácii dominujú mikroorganizmy, ktoré vyžadujú vysokú aktivitu vody (a_w > 0,9) a sú schopné efektívne rásť v prostredí s nízkou viskozitou. Dominantné postavenie majú baktérie, najmä rody *Lactobacillus, Bacillus a Streptococcus*, ktoré v tekutom médiu rýchlo metabolizujú rozpustné sacharidy. Medzi kvasinkami je kľúčovým druhom *Saccharomyces cerevisiae*, využívaný pre svoju schopnosť rýchlej anaeróbnej fermentácie a vysokú produkciu biomasy bohatej na proteíny a vitamíny skupiny B. Vďaka rovnomernému rozptylu živín v tekutine sú tieto organizmy ideálne na priemyselnú produkciu aminokyselín a organických kyselín (Subramaniyam a Vimala 2012).

FERMENTÁCIA VO VÝŽIVE HYDINY

Fermentované krmivo sa vo výžive monogastrických zvierat (ošípaných) využíva už desiatky rokov (Canibe a Jensen 2012) a v súčasnosti rastie záujem o začlenenie takto upraveného krmiva aj do výživy brojlerových kurčiat na využitie jeho pozitívnych účinkov najmä na zdravotný stav gastro-intestinálneho traktu a produkčné parametre hydiny (Alshelmani et al., 2016, Zhang et al. 2016).

Využitie pšeničných otrúb vo výkrme brojlerov skúmali Chu et al. (2017), ktorí použili metódu fermentácie na tuhej fáze (SSF). Pomocou vláknitej huby *Trichoderma pseudokoningii* pripravili z pšeničných otrúb substrát bohatý na xylanázu, celulázu a redukujúce cukry. Nahradenie 10 % kukurice týmito fermentovanými otrubami viedlo k lepšej konverzii krmiva a nižšej spotrebe pri zachovaní prírastkov. Limitujúcim faktorom však zostáva nákladnosť procesu a absencia priemyselnej produkcie, keďže príprava prebiehala len v laboratóriu. Hoci huby rodu *Trichoderma* zefektívňujú využitie vlákniny a mierne zvyšujú podiel bielkovín, nedokážu syntetizovať ani modifikovať mastné kyseliny v krmive. Ďalšou alternatívou je fermentovaná „cassava pulp“ (vedľajší produkt spracovania tapioky), ktorú spomínajú Sugiharto (2019) či Khempaka et al. (2014). Využitím SSF fermentácie pomocou nižších vláknitých húb *Aspergillus oryzae* alebo *Penicillium spp*. dochádza k redukcii vlákniny (lignínu a hemicelulózy) a nárastu bielkovín. Takto upravená surovina môže v kŕmnych zmesiach pre brojlery nahradiť kukuricu až do úrovne 16 %.

Vplyv fermentovanej sójovej múčky na rast brojlerových kurčiat bol preskúmaný meta-anlýzou šestnástich dostupných štúdií od kolektívu autorov Irawan et al. (2022). Z výsledkov štúdie vyplynulo, že skrmovanie fermentovanej sójovej múčky malo pozitívny vplyv na konečnú telesnú hmotnosť brojlerov, a nahradenie nefermentovanej sójovej múčky fermentovaným ekvivalentom zlepšilo hmotnosť kurčiat. Avšak vplyv na priemerný denný prírastok, príjem krmiva a jeho konverziu záviseli predovšetkým od použitých mikrobiálnych kmeňov. Ako najlepšími mikroorganizmami a ich kombináciami sa javili *Aspergillus oryzae*, zmesi probiotík + proteáza bromelain, *Bacillus subtilis* a baktérie *Lactobacillus spp*., čo sa prejavilo na významnom zvýšení priemerných denných prírastkov a na zvýšenom príjme krmiva ADG ($p < 0,01$). Ashayerizadeh et al. (2017) sa zaoberali zefektívnením netradičných krmív prostredníctvom fermentácie a ich aplikáciou vo výžive hydiny. Vo svojom výskume využili fermentované vedľajšie produkty z repky olejnej, vznikajúce pri lisovaní oleja, pre výkrm kurčiat. Repkové výlisky predstavujú významný zdroj bielkovín (34 – 38 %) s priaznivým profilom aminokyselín (Xu et al. 2012). Z dôvodu vysokého obsahu proteínov by mohli byť vhodnou zložkou v kŕmnych dávkach pre brojlerové kurčatá. Repkové semená však obsahujú antinutričné látky, predovšetkým glukozinoláty a kyselinu fytovú, čo obmedzuje ich použitie vo výžive brojlerov bez predchádzajúcej úpravy. Procesom fermentácie s využitím *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus subtilis* a *Aspergillus niger* získali produkt s výrazne zníženým obsahom antinutričných látok, zvýšeným podielom bielkovín (40,33 %) a redukovaným množstvom vlákniny. Tieto fermentované repkové výlisky sa v kŕmnych zmesiach použili ako náhrada sójovej zložky v úrovni 50 alebo 100 %. Pre porovnanie sa v krmive použili nefermentované repkové výlisky ako náhrada sóje. Výsledky preukázali, že

kurčatá kŕmené zmesami s fermentovanými repkovými výliskami dosahovali lepšie prírastky a konverziu krmiva v porovnaní s tými, ktoré dostávali nefermentované repkové výlisky. Najlepšie výsledky v prírastkoch a spotrebe krmiva boli zaznamenané u kontrolnej skupiny a u skupiny s 50 % prídavkom fermentovaných repkových výliskov. Taktiež sa zistil výrazne nižší obsah cholesterolu, triglyceridov a LDL-cholesterolu v krvi kurčiat po skrmovaní fermentovaných repkových výliskov. Z výsledkov štúdie teda vyplynulo, že nahradenie 50 % sójovej zložky fermentovanými repkovými výliskami je využiteľným netradičným zdrojom vo výžive brojlerov, ktorý má pozitívny vplyv na zdravie kurčiat pri zachovaní rovnakých rastových parametrov.

Základnými surovinami na výrobu kŕmnych zmesí pre zvieratá sú v súčasnosti kukurica, pšenica a sójová múčka. So stúpajúcou intenzitou živočíšnej výroby sa ale s cieľom znižovať ekonomické náklady a environmentálnu záťaž začínajú do konvenčných krmív zahŕňať aj poľnohospodárske vedľajšie produkty a špecifické rastlinné alebo hmyzie bielkoviny. Tento prístup nielen znižuje výrobné náklady a zvyšuje ekonomickú efektívnosť, ale aj zmierňuje nadmernú závislosť od tradičných zdrojov krmív, čím sa zlepšuje udržateľnosť chovu zvierat (Martínez-Zamora et al. 2021, Zhao et al. 2024). Jedným z možných alternatívnych zdrojov použiteľných vo výžive brojlerov sú kávové výlisky/šupky (Shan et al. 2025) a kávová dužina (Srinual et al. 2026). Kávová dužina je vedľajší produkt spracovania kávy a obsahuje bioaktívne zlúčeniny s potenciálnou hodnotou vo výžive zvierat a ako fermentovaný produkt má potenciál a pozornosť ako potenciálna zložka krmív vďaka svojmu bohatému antioxidačnému profilu a prítomnosti ďalších bioaktívnych látok (Machado et al. 2023). V štúdii uskutočnenej autormi Srinual et al. (2026) na 500 kurčatách doplnok 1,0 g fermentovanej kávovej dužiny na jeden kilogram krmiva významne zvýšil konečnú telesnú hmotnosť kurčiat a priemerný denný prírastok a významne zlepšil konverzný pomer krmiva v porovnaní so základným krmivom ($p < 0,05$).

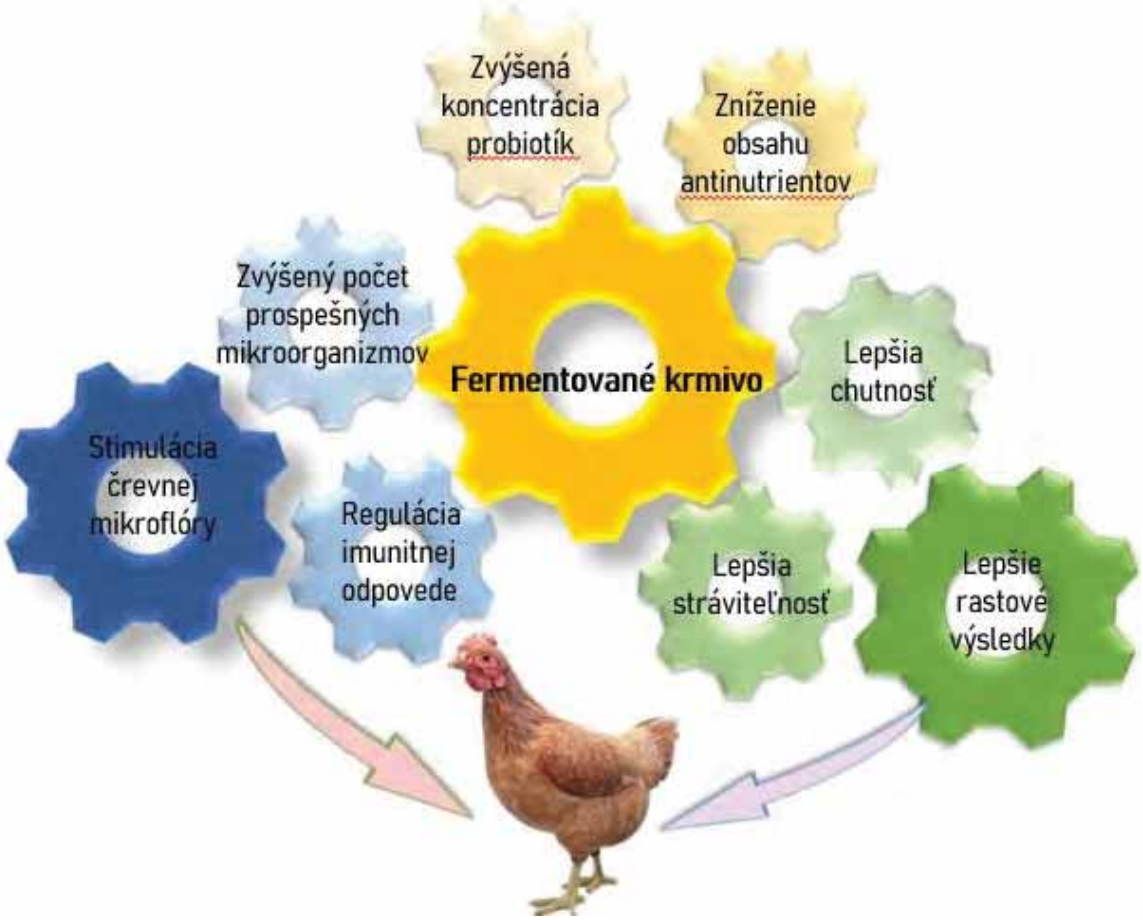
Výskum zameraný na fortifikáciu krmív pre kurčatá o polynenasýtené mastné kyseliny (PNMK) prostredníctvom pevnofázovej fermentácie (SSF) nižšími vláknitými hubami predstavuje v celosvetovom meradle marginálnu vedeckú oblasť. V tejto doméne participuje náš interdisciplinárny tím reprezentujúci Fakultu chemickej a potravinárskej technológie STU v Bratislave a Univerzitu veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach. Mechanizmus biosyntézy PNMK je determinovaný procesmi fermentácie na tuhej fáze s využitím špecifických kmeňov nižších húb (Bača et al. 2014, Kovalík et al. 2018). Ako substráty boli použité poľnohospodárske vedľajšie produkty (mláto, pšeničné a špaldové otruby), ktoré vplyvom fermentačnej aktivity rodov *Thamnidium, Cunninghamella, Mortierella* a *Umbelopsis* umožnili akumuláciu esenciálnych mastných kyselín, najmä kyseliny gama-linolénovej,

eikozapentaénovej a arachidónovej. Exponovaná hydina bola kŕmená nafermentovaným krmivom, ktoré v kŕmnej dávke čiastočne nahradili zložky komerčných kŕmnych zmesí (KKZ). Aktuálnym cieľom výskumu je optimalizácia produkcie plnohodnotného fermentovaného krmiva schopného úplnej náhrady KKZ, s ambíciou cielene zvýšiť depozíciu benefitných mastných kyselín v tukovom tkanive produkovaného mäsa (Marcinčák et al. 2019).

V jednom z prvých experimentov bol sledovaný účinok fermentovaného produktu pripraveného SSF pomocou nižšej vláknitej huby *Thamnidium elegans* (Bača et al. 2014). Ako substrát boli využité pšeničné otruby. *Thamnidium elegans* je producentom hlavne kyseliny gama-linolénovej, preto fermentovaný produkt bol obohatený hlavne o túto kyselinu. Fermentované krmivo v dávke 3 % bolo brojlerovým kurčatám podávané od 20. dňa výkrmu. O uvedené 3 % bola experimentálnej skupine znížená dávka KKZ. Z výsledkov vyplynulo, že fermentovaný produkt mal pozitívny účinok na rastové parametre kurčiat. Okrem nižšej spotreby krmiva mali brojlery vyššiu finálnu hmotnosť a lepšiu konverziu krmiva v porovnaní s kontrolnou skupinou.

Fermentáciou pomocou vhodných mikroskopických vláknitých húb je možné navyše vyrobiť produkt obohatený o polynenasýtené mastné kyseliny (GLA, EPA, DHA), ako aj dôležité hydrolytické enzýmy, mikrobiálne steroly, chitosan, koenzým Q, beta-glukány a pigmenty. Vďaka svojmu bohatému prínosu môže fermentácia využiť odpad na výrobu vysokohodnotného krmiva, ktoré ako zložka krmiva pre hydinu môže zlepšiť produkčné parametre a zdravotný stav. Využitie biotechnologických procesov môže priniesť nové postupy pri zhodnocovaní odpadu v potravinárskom priemysle na krmivárske účely (Marcinčák et al. 2025).

Fermentované krmivá často obsahujú vyššie hladiny prospešných mikroorganizmov, najmä mliečnych baktérií. Tieto baktérie môžu prispievať k zdravšiemu prostrediu čriev tým, že stimulujú a podporujú vyváženú imunitnú reakciu hostiteľa alebo vykazujú protizápalové vlastnosti (Obr. 1). Fermentované krmivá tiež ovplyvňujú morfológiu čriev, vrátane zvýšenej výšky klkov, čo svedčí o lepšom vstrebávaní živín a stimulácia produkcie mucínu (ochranného povlaku v črevách) môže prispievať k zdravšiemu výstelku čriev a ochrane pred patogénmi (Predescu et al. 2024). Fermentačné procesy krmív tiež prispievajú k chutnosti, čo vedie k zvýšenému príjmu krmiva a následne podpore rastovej výkonnosti (Predescu et al. 2024).



Obrázok č. 1, Vzájomná korelácia medzi črevnou mikroflórou a rastovými parametrami vplyvom fermentovaného krmiva u brojlerov (upravené podľa Predescu et al. 2024)

VPLYV NA KVALITU MÄSA BROJLEROV

Skrmovanie fermentovaného krmiva brojlerovými kurčatami prispieva k zlepšeniu kvality mäsa brojlerov. Kyselina stearová, palmitová, olejová a linolová predstavujú významnú časť mastných kyselín v hydinovom mäse, pričom ich podiel môže dosahovať približne 85–95 % celkového obsahu mastných kyselín. Toto zloženie sa mení v závislosti od druhu hydiny a zloženia krmiva, čo potvrdzujú viaceré štúdie (Araujo de Vizcarrondo et al. 1998, Zhang et al. 2026, Karimi-Dehkordi et al. 2024). Sun et al. (2022) uvádzajú, že pridanie 15 % fermentovaného krmiva výrazne znížilo obsah nasýtených mastných kyselín (SFA) a zvýšilo podiel mononenasýtených mastných kyselín (MUFA) v mäse brojlerov a zároveň obsah cholesterolu v prsnej svalovine brojlerov kŕmených fermentovaným krmivom bol výrazne nižší oproti kontrolnej skupine Nenasýtené mastné kyseliny zohrávajú dôležitú úlohu pri tvorbe senzorických vlastností svaloviny, preto zmeny v ich zastúpení v dôsledku podávania fermentovaného krmiva môžu potenciálne ovplyvniť chuť mäsa. Navyše, zavedenie 3% fermentovaného substrátu (fermentácia jednou baktériou alebo viacerými baktériami) mala

vplyv na zvýšenie jemnosti prsnej svaloviny a zníženie obsahu brušného tuku bez vplyvu na rastovú výkonnosť (Wang et al. 2026).

Kolektív autorov Gou et al. (2020) zistili, že podávanie fermentovaného krmiva zvyšuje antioxidačnú kapacitu mäsa, čo môže prispievať k jeho lepšej oxidačnej stabilite a kvalite počas skladovania. Zároveň došlo k zvýšeniu obsahu voľných aminokyselín, vrátane kyseliny glutámovej, ktorá zohráva významnú úlohu pri formovaní chuťového profilu mäsa.

ZÁVER

Fermentačné technológie vo výžive brojlerov sa ukazujú ako veľmi sľubný nástroj pre udržateľný hydinársky priemysel, pretože nielen vylepšujú kvalitu krmív, zvyšujú ich chutnosť a tým vplývajú napríklad na hmotnostné prírastky, ale tiež znižujú vplyvy na životné prostredie prostredníctvom využiteľnosti vedľajších produktov surovinovej výroby. Fermentačné produkty obsahujú probiotické zlúčeniny s priaznivými účinkami na zdravie mikrobiómu zvierat, podporujú reguláciiu imunitných odpovedí ako aj celkového zdravia brojlerov. Začlenenie fermentovaných krmív do výživových postupov v chove hydiny predstavuje kľúčový krok k dosiahnutiu udržateľnejšieho a efektívnejšieho systému chovu hydiny.

POĎAKOVANIE

Publikácia príspevku mohla byť realizovaná vďaka projektu **VEGA č. 1/0451/26** - Biotechnológie, ako spôsob zhodnocovania agro-odpadov na produkciu fermentovaných krmív vo výžive hydiny a efektívny nástroj k produkcií funkčných potravín s vysokým podielom bioaktívnych zložiek.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AHMAD, I. et al., 2023. Solid-state fermentation of agricultural by-products to enhance their nutritional value as animal feed. *Journal of Agriculture and Food Research*. 14, 100708. ISSN 2666-1543.
2. ARAUJO DE VIZCARRONDO, C. et al., 1998. Fatty acid composition of some Venezuelan marine and freshwater fish. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 48(3), 241–245.
3. ALSHELMANI, M. I. et al., 2016. Effect of feeding different levels of palm kernel cake fermented by Paenibacilluspolymyxa ATCC 842 on nutrient digestibility, intestinal morphology, and gut microflora in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*. 216, 216–224. ISSN 0377-8401.

4. ASHAYERIZADEH, A. et al., 2017. Fermented rapeseed meal is effective in controlling Salmonella enterica serovar Typhimurium infection and improving growth performance in broiler chicks. *Veterinary Microbiology*. 201, 93–102. ISSN 0378-1135.
5. ASHAYERIZADEH, A. et al., 2018. Effects of feeding fermented rapeseed meal on growth performance, gastrointestinal microflora population, blood metabolites, meat quality, and lipid metabolism in broiler chickens. *Livestock Science*. 216, 183–190.
6. BABU, K. R. a T. SATYANARAYANA, 1996. Production of Bacterial Enzymes by Solid State Fermentation. *Journal of Scientific and Industrial Research*. 55, 464–467. ISSN 0022-4456.
7. BAČA, M. et al., 2014. Effect of adding prefermented cereal product containing gamma-linolenic acid to broiler feed on production indicators and fatty acid profile of chicken breast. *Acta Veterinaria Brno*. 83(4), 379–384.
8. CANIBE, N. a B. B. JENSEN, 2012. Fermented liquid feed—Microbial and nutritional aspects and impact on enteric diseases in pigs. *Animal Feed Science and Technology*. 173(1–2), 17–40. ISSN 0377-8401.
9. ČERTÍK, M. a T. KLEMPOVÁ, 2016. Functional cereal-derived biomaterials enriched with lipophilic compounds prepared by fungal solid-state fermentations. *Materials Science Forum*. 851, 8–13.
10. CHU, Y. T. et al., 2017. Effects of Trichoderma fermented wheat bran on growth performance, intestinal morphology, and histological findings in broiler chickens. *Italian Journal of Animal Science*. 16(1), 82–92.
11. EGOUNLETY, M. a O. C. AWORH, 2003. Effect of soaking, dehulling, cooking and fermentation with Rhizopus oligosporus on the oligosaccharides, trypsin inhibitor, phytic acid and tannins of soybean. *Journal of Food Engineering*. 56(2-3), 249–254.
12. GOU, Z. et al., 2020. Effects of fermented feed on growth performance, meat quality, antioxidant capacity, and nitrogen metabolism of yellow-feathered broilers. *Poultry Science*. 99(5), 2616–2625. ISSN 0032-5791.
13. HOTZ, C. a R. S. GIBSON, 2007. Traditional food-processing and preparation practices to enhancing the bioavailability of micronutrients in plant-based diets. *The Journal of Nutrition*. 137(4), 1097–1100.
14. CHEVANE, A. et al., 2022. Effects of Fermenting the Plant Fraction of a Complete Feed on the Growth Performance, Nutrient Utilization, Antioxidant Functions, Meat Quality, and Intestinal Microbiota of Broilers. *Animals*. 12(20), 2870.
15. IRAWAN, A. et al., 2022. Fermented soybean meal as a feed ingredient in broiler diets: a meta-analysis. *Animal Bioscience*. 35(9), 1404–1421. ISSN 2765-0189.

16. KARIMI-DEHKORDI, S. et al., 2024. Effects of different dietary fat sources on growth performance, carcass traits, and meat quality of broiler chickens. *Poultry Science.* 103(2), 103215.
17. KHEMPAKA, S. et al., 2014. An evaluation of cassava pulp feedstuf fermented with A. oryzae on growth performance, nutrient digestability and carcass quality of broilers. *Journal of Poultry Science*. 51, 71–79.
18. KOVALÍK, P. et al., 2024. Effect of feeding of 5% prefermented cereal-based bioproduct enriched with γ-linolenic acid on production indicators, chemical composition, fatty acids profile and lipid oxidation of broiler meat. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*. 18, 293–305.
19. LI, Y., L. ZHAO a J. CHU, 2014. Changes in allergenic and antinutritional protein profiles of soybean meal during solid-state fermentation with Bacillus subtilis. *Food Science and Biotechnology*. 23(1), 175–182.
20. MACHADO, M. et al., 2023. Bioactive potential and chemical composition of coffee by-products: From pulp to silverskin. *Foods*. 12(12), 2354. ISSN 2304-8158.
21. MARCINČÁK, S. et al., 2025. Fermentované produkty a humínové látky vo výžive hydiny, nový prístup k produkcii bezpečných a funkčných potravín. In: *Hygiena Alimentorum XLV*. Košice: UVLF, s. 282.
22. MARCINČÁK, S., M. ČERTÍK a D. MARCINČÁKOVÁ, 2019. *Vplyv aditív prírodného pôvodu vo výžive brojlerov na kvalitu a bezpečnosť tukov produkovaného mäsa*. 1. vyd. Košice: UVLF. ISBN 978-80-8077-623-7.
23. MARTÍNEZ-ZAMORA, L. et al., 2021. Olive Tree Derivatives and Hydroxytyrosol: Their Potential Effects on Human Health and Its Use as Functional Ingredient in Meat. *Foods*. 10(11), 2611.
24. OGURU, M. et al., 2013. Feed intake, digestability, nitrogen utilization, ruminal condition, and blood metabolites in wethers fed ground bamboo pellets. *Animal Science Journal*. 84, 650–655.
25. PREDESCU, N. C. et al., 2024. Fermented Feed in Broiler Diets Reduces the Antinutritional Factors, Improves Productive Performances and Modulates Gut Microbiome—A Review. *Agriculture*. 14(10), 1752.
26. RAMADAN, F. et al., 2025. The Effect of Fermented Coffee Husk on The Growth Performance of Biromaru Kampung Chicken. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*. 20(2), 98–104.
27. SHAN, T.-W. et al., 2025. Effects of dietary coffee grounds on growth performance, meat quality, and intestinal health in broiler chickens. *Poultry Science*. 104(1), 104520.

28. SOUMEH, E. A. et al., 2019. Synergistic effects of fermented soybean meal and mannan-oligosaccharide on growth performance in broiler chickens. *Poultry Science*. 98(12), 6797–6807.
29. SRINUAL, O. et al., 2026. Effects of fermented coffee pulp on growth performance, nutrient digestibility, and intestinal morphology of broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*. 307, 116175.
30. SUBRAMANIYAM, R. a R. VIMALA, 2012. Solid State and Submerged Fermentation for the Production of Bioactive Substances: A Comparative Study. *International Journal of Science and Nature*. 3(3), 480–486.
31. SUGIHARTO, S., 2019. A Review on fungal fermented cassava pulp as a cheap alternative feedstuff in poultry ration. *Journal of World Poultry Research*. 9(1), 1–6.
32. SUPRIYA, R. et al., 2023. Application of fermentation technology in poultry feed for the sustainable poultry industry: A review. *Int. Journal of Vet. Sciences and Animal Husbandry*. 8(5S), 07–14.
33. THOMAS, L. et al., 2013. Current developments in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*. 81, 146–161.
34. WANG, X. et al., 2026. Effects of Lactiplantibacillus Plantarum fermented feed on meat quality and lipid metabolism of broilers. *Poultry Science*. 105(2), 106275.
35. XU, F. Z. et al., 2012. Effects of replacing soybean meal with fermented rapeseed meal on performance, serum biochemicl variables and intestinal morphology of broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 25, 1734–1741.
36. ZHANG, J. et al., 2016. Effect of fermented feed on intestinal morphology, immune status, carcass and growth performance of Emei Black chickens. *The FASEB Journal*. 30(S1), lb240.
37. ZHANG, J. et al., 2026. The role of fermented feed in modulating fatty acid profiles and lipid metabolism in poultry: a comprehensive review. *Animal Feed Science and Technology*. 308, 116204.
38. ZHAO, L. et al., 2024. Dietary effect of Dendrobium officinale leaves on chicken meat quality, fatty acid composition, and volatile compounds profile. *Food Chemistry: X*. 22, 101330.

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

VPLYV PRÍDAVKU SILVERSKINU NA FYZIKÁLNO-CHEMICKÉ A SENZORICKÉ VLASTNOSTI MÄKKÉHO MÄSOVÉHO VÝROBKU

EFFECT OF SILVERSKIN ADDITION ON THE PHYSICOCHEMICAL AND SENSORY PROPERTIES OF RAW COOKED MEAT PRODUCT

Mesárošová Andrea, Bobko Marek, Hviščová Soňa, Kročko Miroslav

Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. Andreja hlinku 2, 94901 Nitra

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the antioxidant potential of silverskin as a natural alternative to synthetic antioxidants in frankfurters and to monitor the effect of its application on quality parameters during 15 days of refrigerated storage. Within the experiment, four product variants were compared: control (K), control with the addition of ascorbic acid (Kc), an experimental group with silverskin extract (Se), and a group with silverskin powder (Sp). Parameters such as color (L*, a*, b*) and textural properties were evaluated, along with sensory analysis. The results of color measurements showed that the application of the powder form (Sp) led to a significant decrease in the L* parameter ($p < 0.05$) from the first day, while the other color parameters were only minimally affected. Texture analysis revealed a progressive increase in hardness and chewiness in all samples; however, the variant with silverskin extract (Se) exhibited significantly lower hardness compared to the control groups, while springiness and cohesiveness remained stable. Sensory evaluation confirmed that although all variants were acceptable at the beginning of storage, after 15 days the most pronounced deterioration of organoleptic properties was observed in the experimental group with silverskin powder (Sp). In contrast, the variant with silverskin extract (Se) maintained high sensory stability and a favorable textural profile, indicating its strong potential for application in the meat industry as a more suitable alternative to the powdered form of silverskin and synthetic antioxidants.

Key words: coffee silverskin, natural antioxidant, meat product

ÚVOD

Súčasný výskum v potravinárstve sa čoraz viac zameriava na náhradu syntetických prídavných látok prírodnými alternatívami, ktoré zároveň prispievajú k ochrane potravín a zvyšovaniu ich nutričnej hodnoty (Hadidi et al., 2022). Rastlinné extrakty bohaté na bioaktívne zlúčeniny, najmä polyfenoly, predstavujú jednu z hlavných alternatív k tradičným chemickým

konzervantom. Podľa odhadov Organizácie pre výživu a poľnohospodárstvo (FAO) dosahuje ročný objem poľnohospodárskych strát približne 1,6 gigaton, čo zodpovedá zhruba 27 % globálnej produkcie. Keďže eliminácia odpadu naráža na technologické limity, kľúčovou stratégiou udržateľnosti sa stáva sekundárne zhodnocovanie potravinárskych vedľajších produktov a ich reintegrácia do výrobného reťazca (Madadian et al., 2022). Vedľajšie produkty rastlinného pôvodu, ako sú šupky, semená či výlisky, sú pritom často koncentrovanejším zdrojom antioxidantov než samotné plody, čo z nich robí perspektívnu surovinu pre potravinárske aplikácie (Dhar et al., 2025).

Jedným z takýchto perspektívnych materiálov je silverskin (CSS), čo je tenká vrstva oddelená z kávového zrna počas praženia. Aktuálne štúdie uvádzajú, že CSS je bohatý na nerozpustnú dietetickú vlákninu a obsahuje významné množstvo bioaktívnych zlúčenín, ako sú kofeín a kyselina chlorogénová (Franca et al., 2024). CSS nachádza priame uplatnenie v potravinárskych receptúrach. V pekárstve sa využíva ako čiastočná náhrada múky, čím sa dosahuje vyšší podiel dietetickej vlákniny vo finálnom produkte (Mesárošová et al., 2025). Silverskin vykazuje významné technologické vlastnosti, predovšetkým vysokú schopnosť zadržiavať vodu, čo priamo podmieňuje texturálnu stabilitu a šťavnatosť finálnych produktov. V mäsových výrobkoch predstavuje CSS funkčnú alternatívu k syntetickým fosfátom, pričom jej inkorporácia zvyšuje väznosť vody o viac ako 80 % a redukuje straty pri varení pod hranicu 10 % (Zoccatelli a Ciulu, 2025). Popri technologických benefitoch CSS efektívne inhibuje oxidačné procesy lipidov a proteínov v mäsových výrobkoch, čím prispieva k predĺženiu ich trvanlivosti a zachovaniu senzorickej kvality. Fenolové zlúčeniny a melanoidíny obsiahnuté v silverskine zároveň zvyšujú antioxidačnú aktivitu výsledných výrobkov (Costa et., 2018; Borrelli et al., 2004).

Z pohľadu spotrebiteľskej akceptácie zohrávajú kľúčovú úlohu najmä farba a textúra finálneho produktu. Kľúčovým faktorom úspešnej aplikácie kávového silverskinu v mäsovom priemysle je presná optimalizácia jeho množstva, od ktorej priamo závisí spotrebiteľská prijateľnosť. Zatiaľ čo nižšie koncentrácie vnímajú panelisti pozitívne vďaka zlepšeniu oxidačnej stability a atraktívnemu tmavšiemu sfarbeniu, nadmerný prídavok už vedie k negatívnemu ovplyvneniu senzorického profilu. Podľa štúdie Özhamamci a Sayin (2025) môže príliš vysoký podiel tejto zložky spôsobiť nežiaducu horkosť a výrazné zmeny v textúre.

Cieľom tejto práce je preto vyhodnotiť vplyv prídavku silverksinu prášku a extraktu na farebnú stabilitu, texturálne vlastnosti a celkovú senzorickú akceptovateľnosť finálnych párkov.

MATERIÁL A METODIKA

V tejto štúdii boli mäkké mäsové výrobky pripravené z bravčového pleca a bravčového bôčika, ktoré boli získané z lokálneho mäsiarstva a kombinované v pomere 2:3. Ako prírodný antioxidant bol použitý silverskin pochádzajúci z druhu *Coffea arabica L.* z lokálnej pražiarne kávy, pričom bol aplikovaný v dvoch technologických formách – vo forme extraktu a prášku.

Výroba rastlinných extraktov

Extrakt zo silverskinu bol pripravený metódou podľa Shirahigue et al. (2010). Navážených 20 g mletého materiálu sa macerovalo v 100 ml 80 % etanolu pri laboratórnej teplote v tme za stáleho miešania (1050 ot./min). Po vákuovej filtrácii bol filtrát odparený dosucha na rotačnom vákuovom odparovači (65 °C, 150 ot./min). Získaný suchý filtrát bol doplnený destilovanou vodou na konečný objem 50 ml a uchovávaný pri 4 – 8 °C.

Výroba rastlinných práškov

Silverskin vo forme prášku bol pripravený pomocou homogenizátora Grindomix GM 200 (Retsch, Haan, Nemecko), pri ktorom bol materiál homogenizovaný počas 60 s pri 10 000 ot./min s cieľom dosiahnuť požadovanú jemnosť mletia. Následne boli homogenizované vzorka preosiate cez sito s veľkosťou ôk 1 mm, čím sa zabezpečila jednotná veľkosť častíc.

Výroba mäkkých mäsových výrobkov

Základnú surovinu na výrobu mäsových výrobkov tvorilo bravčové mäso, ktoré bolo spracované spolu s koreninami (muškátový oriešok, čierne korenie, mletá sladká a pálivá paprika), vodou a dusitanovou soliacou zmesou (0,3 % $NaNO_2$).

Pripravené mäsové výrobky boli údené a následne tepelne opracované tak, aby vnútorná teplota dosiahla 70 °C počas 10 minút. Bezprostredne po tepelnom ošetrení boli výrobky šokovo schladené, vysušené a zabalené do polyetylénových ZIP vreciek. Zabalené výrobky boli skladované v chladiarenských podmienkach pri teplote 4 °C počas 15 dní.

Pripravené mäsové dielo bolo rozdelené na 4 skupiny:

1. kontrolná skupina bez prídavku antioxidantov (K),
2. kontrolná skupina s prídavkom 0,5 $g.kg^{-1}$ kyseliny askorbovej (Kc),
3. experimentálna skupina s prídavkom 12,5 $ml.kg^{-1}$ extraktu zo silverskinu (Se),
4. experimentálna skupina s prídavkom 5 $g.kg^{-1}$ silverskinu vo forme prášku (Sp).

Analýza farby mäkkých mäsových výrobkov

Meranie farby bolo realizované pomocou spektrofotometra Konica Minolta CM2600d. Na analýzu bol použitý režim SCI (so zahrnutím zrkadlového odrazu), svetelný zdroj D65 a 10° štandardný pozorovateľ, pričom priemer meracieho otvoru bol 8 mm. Vzorky boli pred meraním narezané na plátky a farba bola hodnotená na reze po 30 minútach od expozície vzduchu (tzv. blooming). Získané hodnoty boli vyjadrené v farebnom priestore CIE L*, a*, b* (Mesárošová et al., 2024).

Analýza texturálneho profilu mäkkých mäsových výrobkov

Na hodnotenie texturálnych vlastností bola použitá metóda analýzy texturálneho profilu (TPA) pomocou texturometra TA.XTplus. Metóda TPA spočíva v aplikácii dvoch po sebe nasledujúcich deformačných (kompresných) cyklov na vzorku, medzi ktorými je zaradený krátky čas na jej zotavenie. V rámci testu bolo sledovaných päť parametrov: tvrdosť, pružnosť, súdržnosť, gumovitosť a žuvateľnosť. Pred samotnou analýzou boli vzorky zohriate a následne pripravené do tvaru valca s rozmermi 1,5 cm na výšku s priemerom 1,5 cm.

Senzorické hodnotenie mäkkých mäsových výrobkov

Senzorické hodnotenie 4 vzoriek párkov bolo realizované v senzorickom laboratóriu Fakulty biotechnológie a potravinárstva Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre. Senzorického hodnotenia sa zúčastnilo desať vyškolených hodnotiteľov s predchádzajúcimi skúsenosťami v oblasti senzorickej analýzy mäsových výrobkov. Vzorky párkov boli tepelne upravené (varením), nakrájané na približne 1 cm kúsky, servírované na papierových táckach a podávané simultánne. Medzi hodnotením mali hodnotitelia k dispozícii pečivo a pitnú vodu na neutralizáciu chuťových vnemov.

Na hodnotenie intenzity jednotlivých atribútov bola použitá 5-bodová intenzitná škála, kde jednotlivé body predstavovali nasledovné úrovne kvality: 1 – neprijateľné; 2 – relatívne uspokojivé; 3 – dobré; 4 – veľmi dobré; 5 – vynikajúce (Ghorbani et al., 2024).

Stanovenie farby, textúry a senzorické hodnotenie mäsových výrobkov sa uskutočnilo v 1. a 15. deň skladovania.

Štatistická analýza

Štatistická analýza údajov bola realizovaná pomocou jednofaktorovej analýzy rozptylu (ANOVA) v programe XLSTAT (Addisoft, Francúzsko, 2025). Vypočítanými parametrami boli aritmetický priemer a smerodajná odchýlka. Na posúdenie rozdielov medzi jednotlivými skupinami boli následne použité post-hoc testy: Tukey HSD test a Duncan viacnásobný

porovnávací test. Hladina štatistickej významnosti bola stanovená na $\alpha = 0,05$. Pri deskriptívnej senzorickej analýze bola použitá 5-bodová intenzitná škála a získané údaje boli štatisticky spracované pomocou analýzy rozptylu (ANOVA). Na identifikáciu štatisticky významných rozdielov medzi jednotlivými skupinami bol aplikovaný Duncanov test a metóda REGWQ.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Analýza farby mäkkých mäsových výrobkov

V Tabuľke č. 1 sú uvedené výsledky analýzy farby mäsových výrobkov po prídavku silverskinu. Merania v systéme CIE *L*a*b** preukázali, že prídavok silverskinu signifikantne ovplyvňuje vizuálny profil sledovaných skupín už od prvého dňa skladovania.

Najvýraznejšie zmeny nastali v parametri *L**, kde experimentálna skupina s práškom (Sp) vykazovala signifikantne najnižšiu svetlosť počas celej doby sledovania (1. deň: 66,86 ± 0,13; 15. deň: 67,26 ± 0,41). Tento pokles súvisí s prítomnosťou melanoidínov vznikajúcich počas praženia kávy (Portillo & Arévalo, 2022). V parametri *a** bola v 1. deň zaznamenaná stabilita s mierne vyššími hodnotami pri skupine s extraktom (Se) (11,85 ± 0,41). Po 15 dňoch u všetkých skupín poklesli hodnoty v parametri *a** v dôsledku oxidácie myoglobínu na metmyoglobín (Mancini & Hunt, 2005), pričom najnižšiu stabilitu vykazovala skupina Sp (9,85 ± 0,39). Hodnoty parametra *b** boli v 1. deň signifikantne nižšie pri skupine Se (17,72 ± 0,48), avšak v 15. deň skladovania neboli medzi skupinami zistené štatisticky významné rozdiely ($p > 0,05$) v parametri *b**.

Tabuľka č. 1, Analýza farby párkov počas 15 dní skladovania

	***L**(D65)**	***a**(D65)**	***b**(D65)**
	Deň 1		
K	$71,86 \pm 0,17^{a}$	$11,41 \pm 0,48^{ab}$	$18,68 \pm 0,97^{a}$
Kc	$71,01 \pm 0,91^{a}$	$11,58 \pm 0,59^{ab}$	$19,09 \pm 0,64^{a}$
Se	$68,94 \pm 0,69^{b}$	$11,85 \pm 0,41^{a}$	$17,72 \pm 0,48^{b}$
Sp	$66,86 \pm 0,13^{c}$	$11,16 \pm 0,11^{b}$	$18,63 \pm 0,33^{a}$
	Deň 15		
K	$70,49 \pm 0,56^{a}$	$10,55 \pm 0,40^{a}$	$18,12 \pm 0,45^{a}$
Kc	$70,03 \pm 0,66^{a}$	$10,31 \pm 0,67^{ab}$	$18,10 \pm 0,49^{a}$
Se	$70,04 \pm 0,58^{a}$	$10,14 \pm 0,54^{ab}$	$18,59 \pm 0,74^{a}$
Sp	$67,26 \pm 0,41^{b}$	$9,85 \pm 0,39^{b}$	$18,04 \pm 0,28^{a}$

Poznámka: K - kontrolná skupina bez prídavku antioxidantov; Kc - kontrolná skupina s prídavkom 0,5 $g.kg^{-1}$ kyseliny askorbovej; Se - experimentálna skupina s prídavkom 12,5 $ml.kg^{-1}$ extraktu zo silverskinu (Se); Sp - experimentálna skupina s prídavkom 5 $g.kg^{-1}$ silverskinu vo forme prášku.

Z výsledkov vyplýva, že silverskin, najmä vo forme prášku, pôsobí ako účinný modifikátor farby, ktorý stabilne znižuje svetlosť produktu.

Výsledky tejto práce sa zhodujú so štúdiou od Martuscelli et al. (2021), kde autori potvrdzujú trend poklesu parametra *L** po prídavku silverskinu do kuracích burgrov. V štúdii od Thangavelu et al. (2022) bol v zhode s našimi výsledkami zistený pokles hodnôt *L**. Zvýšenie prídavku silverskinu a jablkových výliskov do klobás spôsobilo taktiež pokles hodnoty *a** a hodnoty *b**.

Analýza texturálneho profilu

Tabuľka č. 2 zobrazuje zmeny texturálnych parametrov (tvrdosť, pružnosť, súdržnosť, gumovitosť a žuvateľnosť) počas 15-dňového skladovania jednotlivých experimentálnych skupín. Výsledky ukazujú, že počas skladovania došlo najmä k nárastu tvrdosti a žuvateľnosti vo väčšine skupín. Naopak, pružnosť a súdržnosť zostali relatívne stabilné bez výrazných zmien medzi skupinami.

Počas 15-dňového skladovania vykazovala tvrdosť všetkých skupín narastajúci trend, pričom najvyššie hodnoty dosiahli skupiny K (3271,51 ± 103,56 g) a Kc (3271,56 ± 139,22 g). Skupina Se si zachovala signifikantne najnižšiu tvrdosť počas celého obdobia (2627,82 ± 146,26 g; $p < 0,05$). Parametre pružnosť (0,80 - 0,89 mm) a súdržnosť (0,31 - 0,41) ostali štatisticky stabilné bez ohľadu na skupinu či dobu skladovania ($p > 0,05$).

V 1. deň vykazovala najnižšiu gumovitosť a žuvateľnosť skupina Se (651,20 ± 44,22 Nm, resp. 551,48 ± 53,69 N), zatiaľ čo maximálne hodnoty dosiahla skupina Sp (1066,56 ± 7,26 Nm, resp. 888,69 ± 41,93 N). V 15. deň sa rozdiely v gumovitosti medzi skupinami eliminovali ($p > 0,05$). Pri žuvateľnosti rozdiely pretrvali, pričom skupina K dosiahla signifikantne vyššie hodnoty v porovnaní so skupinami Kc a Sp.

Z výsledkov vyplýva, že 15-dňové skladovanie vedie k signifikantnému spevneniu textúry, prejavujúcemu sa najmä nárastom tvrdosti a žuvateľnosti, avšak neovplyvňuje výrazne elastické vlastnosti ani súdržnosť vzoriek.

Vo výsledkoch tejto práce sme zaznamenali pri skupine Sp nárast tvrdosti v 1. deň, čo je v zhode so štúdiou Özhamamci (2024). Tento jav autor pripisuje vysokej koncentrácii vlákniny v kávovom silverskine, ktorá funguje ako zložka ovplyvňujúca štruktúru. Autori Ballesteros et al. (2014) taktiež uvádzajú, že silverskin, bohatý na lignocelulózovú vlákninu, má vysokú schopnosť viazať vodu a olej, čo môže súvisieť so zvýšenou tvrdosťou v našich vzorkách. Podľa výsledkov štúdie **Nieto et al. (2024)** sa rozdiel v tvrdosti vzoriek medzi prídavkom práškovej formy a extraktu vysvetľuje absenciou pevných lignocelulózových častíc, ktoré sú typické pre práškovú formu. Extrakt v súlade s touto teóriou pôsobí skôr ako nosič

bioaktívnych látok a plastifikátor, ktorý podporuje jemnejšiu a šťavnatejšiu textúru výsledného produktu.

Tabuľka č. 2, Analýza texturálneho profilu párkov

	Tvrdosť (g)	Pružnosť (mm)	Súdržnosť (-)	Gumovitosť (Nm)	Žuvateľnosť (N)
			Deň 1		
K	2481,97 ± 186,30^{ab}	0,81 ± 0,04^{a}	0,38 ± 0,03^{a}	908,05 ± 48,12^{ab}	731,45 ± 38,82^{ab}
Kc	2757,06 ± 270,61^{ab}	0,85 ± 0,03^{a}	0,32 ± 0,05^{a}	858,68 ± 93,16^{ab}	732,00 ± 77,80^{ab}
Se	1954,85 ± 120,37^{b}	0,85 ± 0,03^{a}	0,34 ± 0,06^{a}	651,20 ± 44,22^{b}	551,48 ± 53,69^{b}
Sp	3185,08 ± 213,17^{a}	0,83 ± 0,04^{a}	0,34 ± 0,03^{a}	1066,56 ± 7,26^{a}	888,69 ± 41,93^{a}
			Deň 15		
K	3271,51 ± 103,56^{a}	0,89 ± 0,05^{a}	0,40 ± 0,01^{a}	1310,54 ± 51,72^{a}	1155,67 ± 50,21^{a}
Kc	3271,56 ± 139,22^{a}	0,85 ± 0,01^{a}	0,35 ± 0,05^{a}	1096,38 ± 35,45^{a}	882,43 ± 41,72^{b}
Se	2627,82 ± 146,26^{b}	0,83 ± 0,03^{a}	0,41 ± 0,03^{a}	1193,99 ± 38,17^{a}	992,94 ± 64,98^{ab}
Sp	3179,92 ± 100,30^{a}	0,80 ± 0,03^{a}	0,31 ± 0,04^{a}	1042,95 ± 24,75^{a}	831,24 ± 25,05^{b}

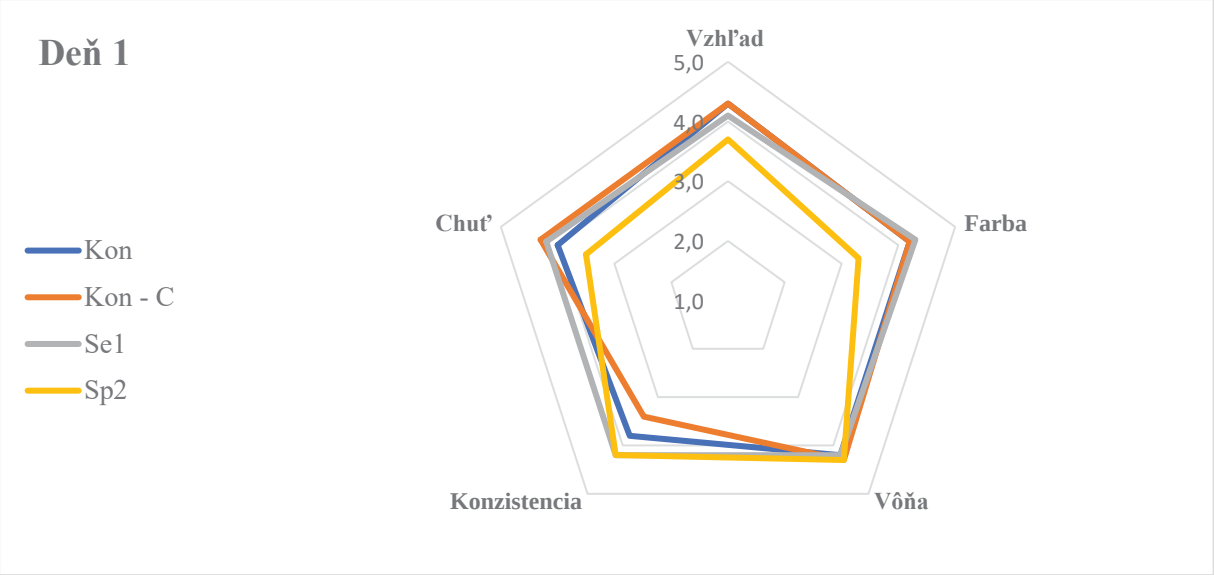
Poznámka: K - kontrolná skupina bez prídavku antioxidantov; Kc - kontrolná skupina s prídavkom 0,5 g/kg kyseliny askorbovej; Se - experimentálna skupina s prídavkom 12,5 ml/kg extraktu zo silverskinu (Se); Sp - experimentálna skupina s prídavkom 5 g/kg silverskinu vo forme prášku.

Senzorická hodnotenie mäkkých mäsových výrobkov

Senzorické hodnotenie mäsových výrobkov v 1. a 15. deň skladovania odhalilo významné rozdiely v závislosti od formy prídavku silverskinu (Obrázok č. 1 a Obrázok č. 2). Počiatočná akceptácia (deň 1) bola najvyššia v skupine Se, ktorá v parametroch konzistencie (4,2) a chute (4,2) dosiahla porovnateľné, resp. mierne vyššie hodnoty než kontrolná vzorka. Naopak, v experimentálnej skupine s prídavkom prášku (Sp) bolo zaznamenané už v prvý deň signifikantne nižšie skóre za farbu (3,3) a chuť (3,5), čo možno pripísať intenzívnej pigmentácii melanoidínov a prirodzenej horkosti silverskinu (Moreira et al., 2012). Pozitívnym

technologickým zistením však bolo, že obe formy prídavku (prášok aj extrakt) prispeli k zvýšeniu hodnotenia konzistencie (4,2) oproti kontrole (3,8).

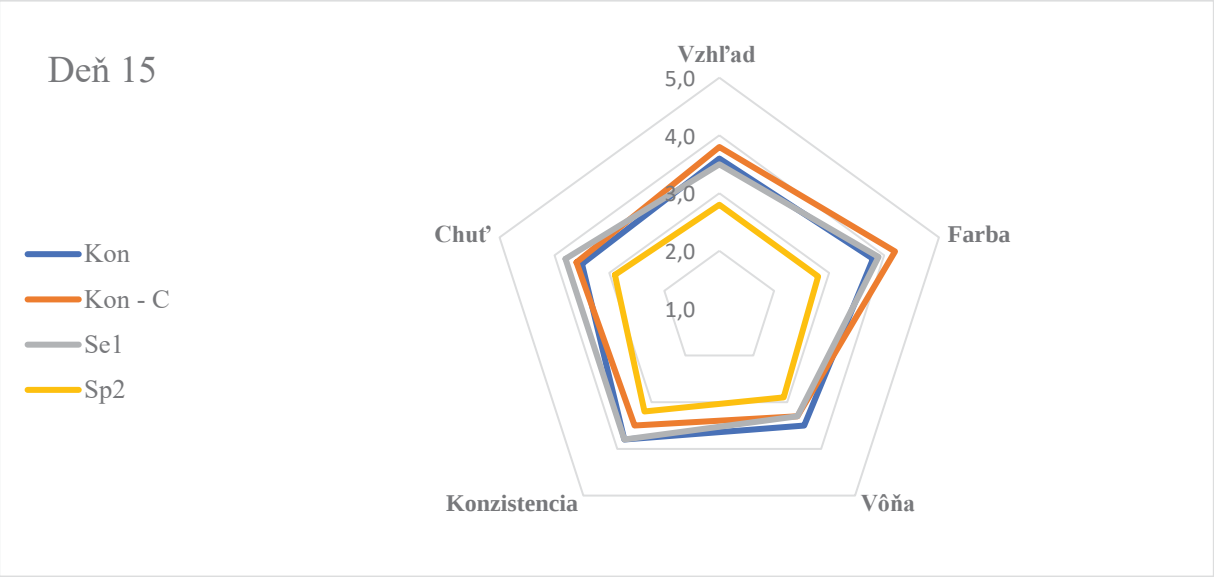
Obrázok č. 1, Senzorická hodnotenie po 1. dni skladovania



Poznámka: K - kontrolná skupina bez prídavku antioxidantov; Kc - kontrolná skupina s prídavkom 0,5 g/kg kyseliny askorbovej; Se - experimentálna skupina s prídavkom 12,5 ml/kg extraktu zo silverskinu (Se); Sp - experimentálna skupina s prídavkom 5 g/kg silverskinu vo forme prášku.

Počas 15-dňového skladovania došlo k očakávanému poklesu senzorickej kvality u všetkých vzoriek, no miera degradácie sa líšila. Experimentálna skupina Se vykazovala v 15. deň najvyššiu stabilitu chute (3,8) a konzistencie (3,8) zo všetkých sledovaných skupín. Tento jav naznačuje, že extrakt zo silverskinu účinne pôsobí ako antioxidant, ktorý maskuje nežiaduce pachy vznikajúce oxidáciou lipidov a pomáha udržiavať integritu výrobku počas skladovania. Naopak, senzorický profil experimentálnej skupiny Sp v 15. deň klesol vo väčšine parametrov pod hranicu 3,0 (vzhľad, farba a chuť dosiahli hodnoty 2,8 – 2,9), čo túto formu prídavku pri danej koncentrácii robí pre dlhodobé skladovanie menej prijateľnou.

Obrázok č. 2, Senzorická hodnotenie po 15. dňoch skladovania



Poznámka: K - kontrolná skupina bez prídavku antioxidantov; Kc - kontrolná skupina s prídavkom 0,5 g/kg kyseliny askorbovej; Se - experimentálna skupina s prídavkom 12,5 ml/kg extraktu zo silverskinu (Se); Sp - experimentálna skupina s prídavkom 5 g/kg silverskinu vo forme prášku.

Zistenia sú v súlade s literatúrou, kde v štúdií od Dauber et al. (2024) je uvedené, že kávový silverskin môže spôsobovať zmeny farby, textúry a miernu horkosť, avšak pri vhodnej forme a koncentrácii ostávajú produkty senzoricky akceptovateľné. Zároveň sa potvrdzuje, že použitie extraktu predstavuje vhodnejšiu alternatívu ako priamy prídavok prášku, keďže má menší negatívny dopad na chuť a textúru výrobkov. Özhamamci (2024) popísal vo svojej štúdii negatívny účinok na senzorické vlastnosti kuracích fašírok po prídavku silverskinu (nad 6%) ako náhrady tuku vlákninou. Pri 2 % prídavku silverskinu boli atribúty ako vôňa, farba, chuť akceptovateľné, pri prídavku nad 6 % však bodové hodnotenie daných atribútov klesalo.

ZÁVER

Výsledky štúdie potvrdili, že silverskin predstavuje perspektívnu prírodnú antioxidačnú a funkčnú zložku pre mäsový priemysel, pričom jeho účinok na finálny produkt je výrazne závislý od použitej technologickej formy. Prídavok silverskinu, najmä v práškovej forme (Sp), pôsobil ako významný modifikátor farby, keďže počas celého obdobia skladovania signifikantne znižoval parameter *L** výrobkov v dôsledku prítomnosti melanoidínov.

Z hľadiska texturálnych vlastností viedlo 15-dňové chladiarenské skladovanie k celkovému spevneniu štruktúry všetkých vzoriek párkov. Kým pružnosť a súdržnosť zostali počas skladovania relatívne stabilné, prídavok extraktu (Se) preukázateľne prispel k nižšej

tvrdosti výrobkov, čím podporil udržanie jemnejšej konzistencie v porovnaní s kontrolnými skupinami.

Z pohľadu senzorickej akceptovateľnosti sa ako vhodnejšia javila forma extraktu (Se), ktorá si zachovala vyššiu stabilitu chuti a konzistencie aj po 15 dňoch skladovania. Naopak, prášková forma (Sp) pri koncentrácii 5 $g.kg^{-1}$ vykazovala po skladovaní pokles senzorickej kvality, čo súviselo najmä s negatívnym ovplyvnením farby a chuti výrobku.

Celkovo možno konštatovať, že extrakt zo silverskinu efektívne spomaľuje senzorickú degradáciu a stabilizuje texturálny profil výrobkov, a preto sa javí ako vhodnejšia alternatíva pre aplikáciu v mäsových výrobkoch, konkrétne frankfurtských párkoch, v porovnaní s práškovou formou.

POĎAKOVANIE

Táto publikácia bola financovaná Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky, grant VEGA 1/0402/23 a grant KEGA 042SPU-4/2025.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BALLESTEROS, Lina F., José A. TEIXEIRA a Solange I. MUSSATTO. Chemical, Functional, and Structural Properties of Spent Coffee Grounds and Coffee Silverskin. *Food and Bioprocess Technology* [online]. 2014, roč. 7, č. 12, s. 3493–3503 [cit. 2026-04-16]. ISSN 1935-5149. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/s11947-014-1349-z
2. BORRELLI, Rosa Cinzia; ESPOSITO, Fabrizio; NAPOLITANO, Aurora; RITIENI, Alberto; FOGLIANO, Vincenzo. Characterization of a new potential functional ingredient: coffee silverskin [online]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004, roč. 52, č. 5, s. 1338–1343 [cit. 2026-04-16]. Dostupné z: https://doi.org/10.1021/jf034974x
3. COSTA, Anabela S. G., Rita C. ALVES, Ana F. VINHA, Elísio COSTA, Catarina S. G. COSTA, M. Antónia NUNES, Agostinho A. ALMEIDA, Alice SANTOS-SILVA a M. Beatriz P. P. OLIVEIRA. Nutritional, chemical and antioxidant/pro-oxidant profiles of silverskin, a coffee roasting by-product. *Food Chemistry* [online]. 2018, roč. 267, s. 28-35 [cit. 2026-04-16]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.106
4. DAUBER, Cecilia, Melissa ROMERO, Clarita CHAPARRO, Camila URETA, Clara FERRARI, Romina LANS, Lucía FRUGONI, María V. ECHEVERRY, Beatriz Sánchez CALVO, Andrés TROSTCHANSKY, Marcelo MIRABALLES, Adriana GÁMBARO a Ignacio VIEITEZ. Cookies Enriched with Coffee Silverskin Powder and Coffee Silverskin Ultrasound Extract to Enhance Fiber Content and Antioxidant Properties. *Applied Food*

Research [online]. 2024, roč. 4, č. 1 [cit. 2026-04-16]. ID 100373. ISSN 2772-5022. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.afres.2023.100373

5. DHAR, Payel, B. Jose Ravindra RAJ, Amayappanallur Kannan DASARATHY, Priyadarshi DAS, Sandeep SINGHE, Eshanthini PALANIVELU, Aashna SINHA, Ramya PUPPALA a Lema ABATE. Bioactive Compounds From Agri-Food By-Products: Advancements in Environmental Sustainability and Bioeconomic Progress. *Engineering Reports* [online]. 2025, roč. 8, č. 3, s. e70539 [cit. 2026-04-14]. ISSN 2577-8196. Dostupné z: https://doi.org/10.1002/eng2.70539
6. FRANCA, Adriana S., Emiliana P. BASÍLIO, Laís M. RESENDE, Camila A. FANTE a Leandro S. OLIVEIRA. Coffee Silverskin as a Potential Ingredient for Functional Foods: Recent Advances and a Case Study with Chocolate Cake. *Foods* [online]. 2024, roč. 13, č. 23, s. 3935 [cit. 2026-04-15]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/foods13233935
7. HADIDI, Milad, Jose C. ORELLANA-PALACIOS, Fatemeh AGHABABAEI, Diego J. GONZALEZ-SERRANO, Andres MORENO a Jose M. LORENZO. Plant by-product antioxidants: Control of protein-lipid oxidation in meat and meat products. *LWT* [online]. 2022, roč. 169, s. 114003 [cit. 2026-04-14]. ISSN 0023-6438. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114003
8. MADADIAN, Edris, Jamshid RAHIMI, Mina MOHEBBI a David S.A. SIMAKOV. Grape pomace as an energy source for the food industry: A thermochemical and kinetic analysis. *Food and Bioproducts Processing* [online]. 2022, roč. **132**, s. 104-116 [cit. 2026-04-13]. ISSN 0960-3085. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.fbp.2022.01.006
9. MANCINI, Richard A. a M. C., HUNT. Current research in meat color. *Meat Science* [online]. 2005, roč. 71, s. 100 – 121 [cit. 2026-04-13]. Dostupná na: doi:10.1016/j.meatsci.2005.03.003
10. MARTUSCELLI, Maria, Luigi ESPOSITO a Dino MASTROCOLA. The Role of Coffee Silver Skin against Oxidative Phenomena in Newly Formulated Chicken Meat Burgers after Cooking. In: *Foods* [online]. 2021, roč. 10, č. 8, s. 1833 [cit. 2026-04-13]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/foods10081833
11. MESÁROŠOVÁ, Andrea, Marek BOBKO, Lukáš JURČAGA, Alica BOBKOVÁ, Katarína POLÁKOVÁ, Alžbeta DEMIANOVÁ, Judita LIDIKOVÁ, Ondřej BUČKO, Andrea MENDELOVÁ a Tomáš TÓTH. Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) as natural antioxidant for the meat industry. *Czech Journal of Food Sciences* [online]. 2024, roč. **42**, č. 3, s. 184-191 [cit. 2026-04-14]. ISSN 1805-9317. Dostupné z: https://doi.org/10.17221/38/2024-CJFS

12. MESÁROŠOVÁ, Andrea, Lukáš JURČAGA, Alica BOBKOVÁ, Miroslav KROČKO, Alžbeta DEMIANOVÁ, Katarína POLÁKOVÁ, Judita LIDIKOVÁ, Andrea MENDELOVÁ, Terézia ŠVECOVÁ, Michal BALUCH a Marek BOBKO. Coffee Silverskin: nontraditional natural antioxidant for the meat industry. *Applied Food Research* [online]. 2025, roč. 5, č. 1, s. 101185 [cit. 2026-04-16]. ISSN 2772-5022. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.afres.2025.101185
13. MOREIRA, Ana S. P., Fernando M. NUNES, M. Rosário DOMINGUES a Manuel A. COIMBRA. Coffee melanoidins: structures, mechanisms of formation and potential health impacts. *Food & Function* [online]. 2012, roč. 3, č. 9, s. 903-915 [cit. 2026-04-16]. ISSN 2042-6496. Dostupné z: https://doi.org/10.1039/c2fo30048f
14. NIETO, Gema, Lorena MARTÍNEZ-ZAMORA, Rocío PEÑALVER, Fulgencio MARÍN-INIESTA, Amaury TABOADA-RODRÍGUEZ, Antonio LÓPEZ-GÓMEZ a Ginés Benito MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ. Applications of Plant Bioactive Compounds as Replacers of Synthetic Additives in the Food Industry. In: *Foods* [online]. 2024, roč. 13, č. 1, s. 47 [cit. 2026-04-15]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/foods13010047
15. ÖZHAMAMCI, İzzet. Coffee Silverskin as a Fat Replacer in Chicken Patty Formulation and Its Effect on Physicochemical, Textural, and Sensory Properties. In: *Applied Sciences* [online]. 2024, roč. 14, č. 15, s. 6442 [cit. 2026-04-12]. ISSN 2076-3417. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/app14156442
16. ÖZHAMAMCI, İzzet a Bilge SAYIN. Circular utilization of coffee silverskin in beef patties: Effects on technological, sensory, and safety attributes. *Food Bioscience* [online]. 2025, roč. 66, s. 107436 [cit. 2026-04-16]. ISSN 2212-4292. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.107436
17. PORTILLO, Ostilio R. a Ana C. ARÉVALO. Coffee's Melanoidins. A critical review of contemporary scientific literature. *Bionatura* [online]. 2022, roč. 7, č. 3, s. 1–10. Dostupné na: doi:10.21931/rb/2022.07.03.4
18. SHIRAHIGUE, Ligianne Din, Manuel PLATA-OVIEDO, Severino Matias DE ALENCAR, Marisa Aparecida Bismara Regitano D'ARCE, Thais Maria Ferreira DE SOUZA VIEIRA, Tatiana Luiza Cadorin OLDONI a Carmen J. CONTRERAS-CASTILLO. Wine industry residue as antioxidant in cooked chicken meat. *International Journal of Food Science and Technology* [online]. 2010, roč. 45, č. 5, s. 863–870 [cit. 2026-04-16]. ISSN 1365-2621. Dostupné z: https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02201.x
19. THANGAVELU, Karthikeyan Palanisamy, Brijesh TIWARI, Joseph P. KERRY, Ciara K. MCDONNELL a Carlos ÁLVAREZ. Potential of replacing phosphates with apple pomace and coffee silverskin in Irish breakfast sausages using a mixture design approach. *Meat*

Science [online]. 2022, roč. 185, s. 108722 [cit. 2026-04-16]. ISSN 0309-1740. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108722

20. ZOCCATELLI, Gianni a Marco CIULU. Perspectives on the use of coffee silverskin in food formulations. *Journal of Agriculture and Food Research* [online]. 2025, roč. 21, s. 101975 [cit. 2026-04-16]. ISSN 2666-1543. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.jafr.2025.101975

Kontaktná adresa: Mesárošová Andrea, Institute of Food Sciences, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic. E-mail: xmesarosova@uniag.sk

VPLYV HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA AKVAKULTÚRU PSTRUHA DÚHOVÉHO

THE IMPACT OF HUMIC SUBSTANCES ON RAINBOW TROUT AQUACULTURE

Mudroňová Dagmar[1], Ratvaj Marek[1], Chomová Natália[1], Popelka Peter[2], Sasáková Naďa[3], Kollár Moskáľová Lenka[1], Žitňan Rudolf[4]

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

[2]Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, 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, 041 81 Košice, Slovenská republika

[4]Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky, Slovenská republika

ABSTRACT

Humic substances (HS), as well as probiotic microorganisms, are increasingly used in aquaculture due to their beneficial effects on fish health and the aquatic environment. The aim of this study was to evaluate the effect of feeding a diet supplemented with HS and autochthonous trout probiotic strains *Lactiplantibacillus plantarum* (R2) and *Limosilactobacillus fermentum* (R3) on selected immune parameters and the gut microbiota of trout under real aquaculture conditions. The results showed that the application of feed enriched with HS and autochthonous trout-derived probiotic strains in rainbow trout positively influenced the composition of the gut microbiota, primarily by increasing microbial diversity compared to the control. The ability of *L. plantarum* R2 to colonize the intestinal mucosa of trout over the long term was also confirmed. An important finding was that feed containing HS and probiotics stimulates the immune response in trout only transiently, specifically within 3 days after the start of administration; subsequently, the immune system adapts, preventing unnecessary and energetically demanding immune stimulation. Based on these findings, as well as results obtained from monitoring production parameters, fish meat quality, and water quality, it can be concluded that the tested feed has potential for use in rainbow trout aquaculture.

Key words: humic substances, aquaculture, rainbow trout

ÚVOD

Akvakultúra je celosvetovo významným zdrojom živočíšnych proteínov, vitamínov, esenciálnych minerálov a nenasýtených mastných kyselín. Stúpajúci dopyt po rybách a neudržateľnosť ich získavania z prírodných zdrojov, teda z voľného rybolovu, vyžadujú zintenzívnenie chovu rýb v akvakultúrach (Shen et al. 2020). Tento postup však predstavuje mnohé výzvy, napríklad, zlepšenie podmienok chovu, welfare, kŕmnych systémov či kvality vody, boj s klimatickými zmenami, no najmä prevenciu a terapiu infekčných ochorení rýb (Asche et al. 2022). V akvakultúrach postihujú vodné živočíchy najčastejšie bakteriálne infekcie (54,9 %), nasledujú vírusové (22,6 %), parazitárne (19,4 %) a plesňové (3,1 %) ochorenia (Thiruvasagam a Nazir 2023). Naviac, vysoká koncentrácia rýb v akvakultúrach, častá manipulácia a problémy spojené s klimatickými zmenami, na ktoré sú vnútrozemské akvakultúry oveľa citlivejšie v porovnaní s morskými, sú významným zdrojom stresu pre ryby, s čím je spojené oslabenie obranyschopnosti organizmu a vyššia citlivosť na infekčné ochorenia (Panicz et al. 2022). Na liečbu týchto ochorení sú prevažne využívané antimikrobiálne látky, ktoré sa však často používajú aj za účelom zlepšenia rastu a produkčných parametrov (Pandey et al. 2019). Nadmerné využívanie antibiotík je kľúčovým faktorom pre rozvoj a šírenie antibiotickej rezistencie, ktorá môže byť transmitovaná nielen v rámci jedného živočíšneho druhu, ale aj medzidruhovo (Uluseker et al. 2021). Podľa štúdií, ktoré publikovali Preena et al. (2020) boli vodné systémy identifikované ako signifikantné oblasti s prevalentným výskytom génov rezistencie, a je tomu tak aj na Slovensku (Krahulcová et al. 2023). Používanie týchto látok však vedie aj k tvorbe antibiotických reziduí nielen v tkanivách živočíchov, ale negatívne ovplyvňuje aj životné prostredie a udržateľnosť vodných ekosystémov (Rasul a Majumdar 2017). V tomto kontexte je významná otázka produkcie zdravých a bezpečných potravín z rýb, a to nielen v spojitosti s obsahom reziduí antimikrobík, ale aj toxických kovov a ďalších xenobiotík (napr. pesticídov), ktoré sa kumulujú v svalovine z kontaminovaného vodného prostredia alebo z krmiva (Poopak et al. 2024). Pre komplexné ovplyvnenie ekosystému akvakultúry s pozitívnym vplyvom nielen na zdravie rýb a ostatných vodných živočíchov, ale aj na kvalitu potravín a vody so zámerom zabezpečiť dlhodobú environmentálnu udržateľnosť týchto systémov sa preto vyvíjajú nové, bezpečnejšie alternatívy, ako napríklad používanie prospešných alebo probiotických mikroorganizmov a rôznych látok naturálneho pôvodu, ktoré majú pozitívny vplyv na organizmus či životné prostredie a žiadne alebo minimálne negatívne účinky. Práve humínové látky (HL) sú v akvakultúre už dlhšie využívané, najmä na zlepšenie rastu vodných rastlín a zlepšenie kvality vody. HL sú však známe nielen svojimi detoxikačnými vlastnosťami, ale aj antimikrobiálnymi, antioxidačnými či imunomodulačnými (Mudroňová et al. 2020). Rovnako bol potvrdený pozitívny účinok po aplikácii probiotických baktérií, a to

najmä na rast, rozvoj a obranyschopnosť rýb (Rahayu et al. 2024). Preto cieľom tohto experimentu bolo otestovať vplyv kombinácie humínových látok a probiotických pstružích baktérií mliečneho kvasenia na akvakultúru pstruha dúhového. V rámci uvedeného experimentu bolo realizovaných množstvo analýz zameraných na sledovanie imunitnej odpovede pstruhov, vplyv krmiva na zloženie črevnej mikrobioty, produkčné parametre ako aj kvalitu mäsa rýb a kvalitu vody v chovných nádržiach. Z uvedených parametrov sú v tomto príspevku prezentované vybrané parametre imunitnej odpovede a črevnej mikrobioty.

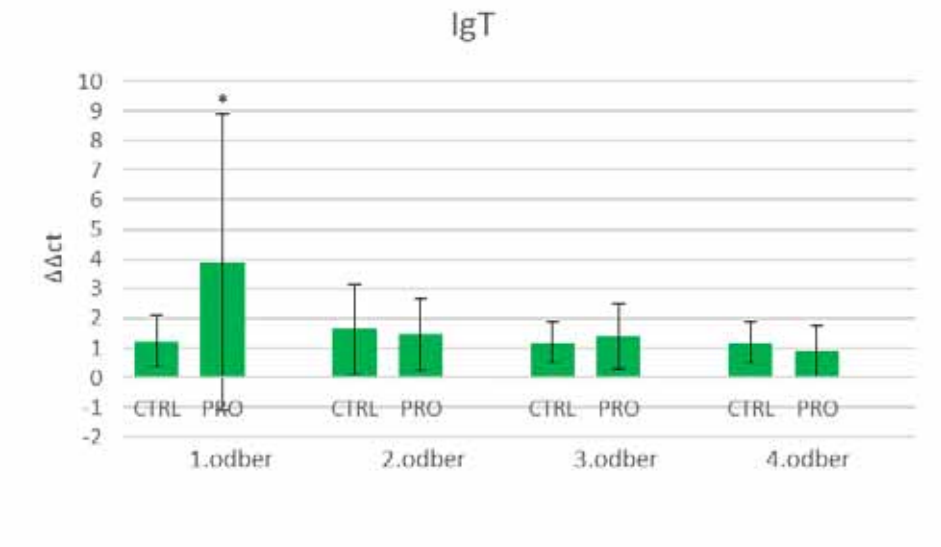
MATERIÁL A METODIKA

Pre účely experimentu boli komerčné pelety pre pstruhy (Biomar, Dánsko) obalené 0,6 % práškovej formy HL – Humac AFM (Humac s.r.o., Košice). Následne boli na takto obalené pelety nanesené probiotické baktérie, a to autochtónne pstružie kmene *Lactiplantibacillus plantarum* R2 a *Limosilactobacillus fermentum* R3. Oba kmene boli kultivované v MRS bujóne (Himedia, India) počas 18 h, pričom počty dosahovali približne 10^9 cfu/ml. Na nanesenie probiotickej vrstvy bola použitá takto pripravená živá probiotická bujónová kultúra. Pelety boli následne vysušené, tak aby vlhkosť bola nižšia ako 10 % a výsledné počty laktobacilov boli 10^8 cfu/g krmiva. Takto pripravené krmivo bolo podávané polročným pstruhom dúhovým (priemerná hmotnosť 5 g) v akvakultúre v rybárstve Požehy, Dubové s.r.o. počas 14 dní. Experiment bol realizovaný v dvoch chovných nádržiach, pričom do každej bolo nasadených viac ako 50000 jedincov. V kontrolnej nádrži ryby dostávali kontrolné krmivo bez prídavku HL a probiotík. Nultý odber vzoriek bol realizovaný pred začiatkom kŕmenia, ďalšie odbery na 3., 7., 14. a 24. deň od začiatku aplikácie krmiva. Z oboch nádrží bolo odoberaných približne 50 rýb, ako aj vzorky vody. Ryby boli odmerané a odvážené. Krv bola odoberaná zo srdca do heparínu a bola v nej stanovená úroveň fagocytárnej aktivity pomocou komerčného testu (IngoFlow test, Exbio, Praha) pre prietokovú cytometriu. Pri autopsii boli odoberané orgány (črevo, hlava obličky, slezina, koža, žiabre), v ktorých bola analyzovaná relatívna expresia génov pre imunologicky významné molekuly (prozápalové a protizápalové cytokíny, antimikrobiálne peptidy, imunoglobulíny a diferenciačné znaky lymfocytov). Zloženie črevnej mikrobioty bolo analyzované pomocou sekvenácie novej generácie (NGS). Výsledky boli štatisticky vyhodnotené v štatistickom programe GraphPad Prism10, kedy po otestovaní normality dát boli výsledky analyzované pomocou jednorozmernej analýzy rozptylu (ANOVA) s následným post-hoc Tukeyho testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V našom experimente sme použili HL, ktorá je vyrobená z leonarditu. Leonardit vznikol z pravekých rastlín v procese humifikácie (Ratanaprommanee et al. 2017). Použité probiotické kmene laktobacilov (*L. plantarum* R2 a *L. fermentum* R3) majú probiotický účinok overený v opakovaných experimentoch: v *in vitro* podmienkach (Fečkaninová et al. 2019) ako aj v *in vivo* experimentoch v akreditovaných experimentálnych zariadeniach (Nimalan et al. 2022 a 2023; Ratvaj et al. 2023; Chomová et al. 2025). Cieľom prezentovaného experimentu bolo overiť tieto výsledky priamo v rybochovnom zariadení v reálnych podmienkach akvakultúry.
V jednotlivých imunologicky významných orgánoch (črevo, hlava obličky, slezina, koža, žiabre) bola analyzovaná relatívna expresia génov pre prozápalové cytokíny (IL-1, TNF-α), protizápalový cytokín (TGF-β), chemokín (IL-8), koreceptory T lymfocytov (CD4 a CD8) a imunoglobulíny (IgM a IgT). Z množstva sledovaných parametrov najzaujímavejšie výsledky boli zaznamenané v čreve, kde aplikácia krmiva s obsahom HL a probiotík významne stimulovala génovú expresiu oboch sledovaných imunoglobulínov IgT aj IgM, a to 3 dni od začiatku aplikácie probiotík (1. odber), v nasledujúcich odberoch sa hodnoty v probiotickej a kontrolnej skupine líšili len minimálne (Graf 1). Výsledky získané pre IgT a IgM boli veľmi podobné.

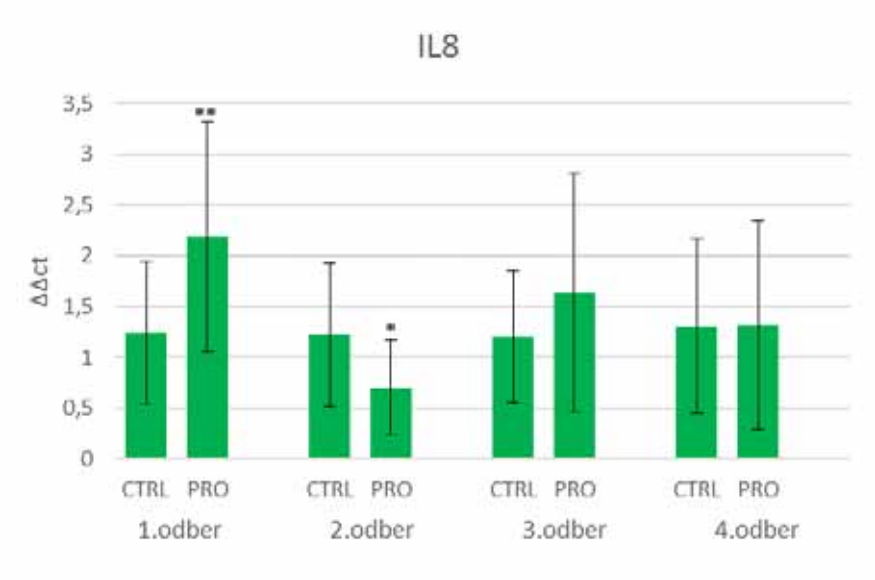
Graf č. 1, Vplyv aplikácie krmiva s obsahom HL a probiotík na relatívnu génovú expresiu IgT v čreve pstruhov dúhových chovaných vo farmových podmienkach (n=15).



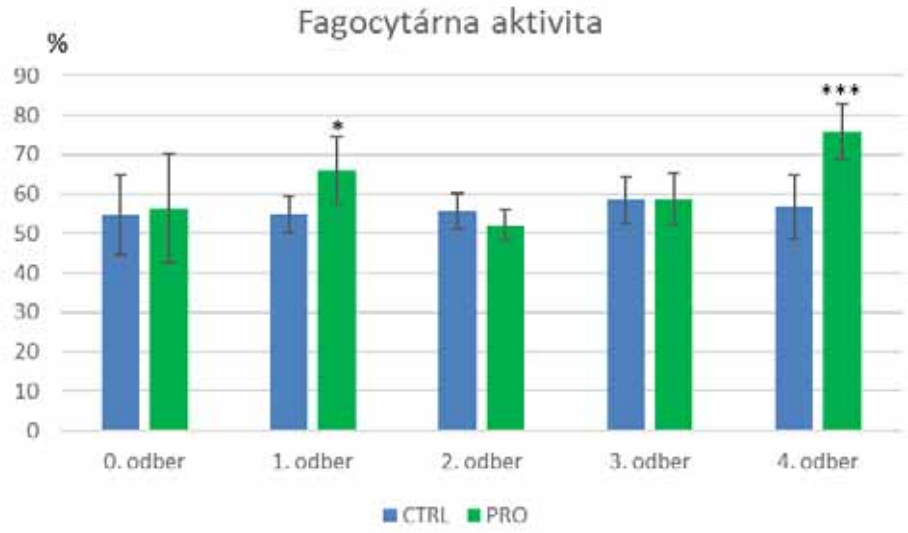
Taktiež sme v prvom odbere zaznamenali signifikantné zvýšenie génovej expresie pre chemokín IL-8 (Graf 2), ktorý riadi migráciu fagocytov a tento výsledok koreloval so zvýšenou fagocytárnou aktivitou v prvom odbere (Graf 3). Signifikantne vyššia fagocytárna aktivita vo 4. odbere (10 dní po ukončení aplikácie) zasa korelovala so zvýšenými expresiami génov pre

prozápalové cytokíny IL-1 a TNF-α. Keďže k tejto stimulácii došlo až 10 dní po ukončení skrmovania o HL a probiotiká obohateného krmiva, predpokladáme, že sa jednalo o externú stimuláciu, ktorá už nesúvisela s nami aplikovanými probiotikami. Stimulačný vplyv HL ako aj probiotík na fagocytárnu aktivitu bol potvrdený vo viacerých vedeckých štúdiách napríklad u prasiat, brojlerov či nosníc (Bujňák et al. 2023; Hudec et al. 2024; Mudroňová et al. 2021).

Graf č. 2, Vplyv aplikácie krmiva s obsahom HL a probiotík na relatívnu génovú expresiu IL-8 v čreve pstruhov dúhových chovaných vo farmových podmienkach (n=15).



Graf č. 3, Vplyv aplikácie krmiva obohateného o HL a probiotiká na fagocytárnu aktivitu v krvi pstruhov dúhových chovaných vo farmových podmienkach (n=6).

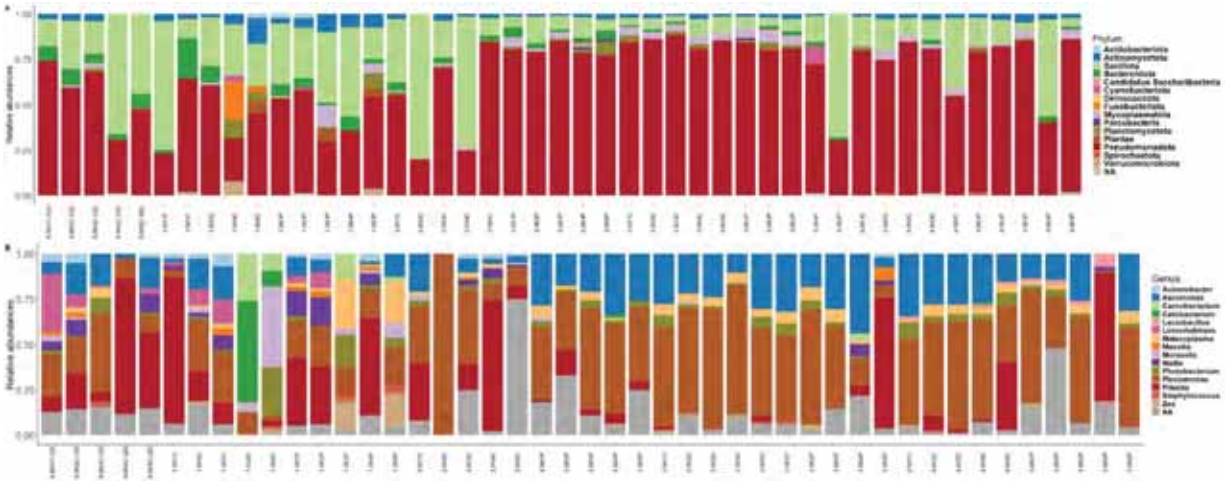


Analýza zloženia mikrobiómu čreva pstruhov pomocou NGS potvrdila dominanciu rodu *Lactiplantibacillus* v čreve pstruhov v experimentálnej skupine, dokonca aj 10 dní po ukončení aplikácie krmiva s obsahom HL a probiotík, čo potvrdzuje kolonizačnú schopnosť kmeňa *L.*

plantarum R2 aj vo farmových podmienkach. Podobné výsledky sme dosiahli v neinfekčnom experimente realizovanom v recirkulačnom systéme v podmienkach experimentálneho chovného zariadenia na Mendelovej univerzite v Brne (Ratvaj et al. 2023).

V treťom (14 dní od začiatku podávania obohateného krmiva) a štvrtom (10 dní po ukončení podávania obohateného krmiva) odbere bola v experimentálnej skupine zaznamenaná signifikantne vyššia mikrobiálna alfa-diverzita v porovnaní s kontrolnými rybami (signifikantne vyšší Shannon index a nižší Simpson index). Zaujímavým zistením bolo, že napriek nižším počtom koliformných a fekálnych mikroorganizmov vo vode v experimentálnej nádrži, NGS analýzou sme nezistili významné rozdiely v mikrobiálnom osídlení kože pstruhov v kontrolnej a experimentálnej skupine a relatívny výskyt mikrobiálnych kmeňov a rodov bol veľmi podobný (Graf 4).

Graf č. 4, Vplyv aplikácie krmiva s obsahom HL a probiotík na relatívny výskyt mikrobiálnych kmeňov a rodov na koži pstruhov v experimentálnej (P) a kontrolnej (C) skupine.



ZÁVER

Aplikácia krmiva obohateného o HL a autochtónne pstružie kmene probiotík pstruhom dúhovým v podmienkach akvakultúry pozitívne ovplyvnila zloženie črevnej mikrobioty, predovšetkým zvýšením mikrobiálnej diverzity v porovnaní s kontrolou. Potvrdila sa tiež schopnosť kmeňa *L. plantarum* R2 dlhodobo kolonizovať črevnú sliznicu pstruhov. Významným zistením bolo, že krmivo s obsahom Hl a probiotík stimuluje imunitnú odpoveď u pstruhov len krátkodobo, teda 3 dni po začiatku aplikácie, následne sa imunitný systém adaptuje a nedochádza k zbytočnej, energeticky náročnej, stimulácii imunity.

POĎAKOVANIE

Publikácia vznikla za finančnej podpory projektu APVV-24-0348.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ASCHE, F. et al. Aquaculture: Externalities and policy options. In *REEP*. 2022, 16(2). Dostupné na internete: https://www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1086/721055
2. BUJŇÁK, L. et al. The effect of dietary humic substances on cellular immunity and blood characteristics in piglets. In *Agriculture*. 2023, vol. 13, no. 3, art. no. 636, p. [1-12].
3. FEČKANINOVÁ, A. et al. Characterization of two novel lactic acid bacteria isolated from the intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) in Slovakia. In *Aquaculture*. 2019, vol. 506, no., p. 294-301.
4. HUDEC, E. et al. The effect of *Limosilactobacillus fermentum* 2i3 and 0.6% addition of humic substances on production parameters and the immune system of broilers. In *Poultry Science*. 2024, vol. 103, no. 8, art. no. 103884, p. [1-11].
5. CHOMOVÁ, N. et al. Feed enriched by autochthonous probiotic bacteria and its effect on growth and immune response under different feeding regimes and immune response after *Aeromonas salmonicida* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In *Aquaculture International*. 2025, vol. 33, p. 267. DOI: 10.1007/s10499-025-0195
6. KRAHULCOVÁ, M. et al. Occurrence of Antibiotic-Resistant Bacteria in Fish and Seafood from Slovak Market. In *Foods*. 2023 Oct 25;12(21):3912. doi: 10.3390/foods12213912.
7. 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. 137-149.
8. MUDROŇOVÁ, D. et al. Effects of dietary supplementation of humic substances on production parameters, immune status and gut microbiota of laying hens. In *Agriculture*. 2021, vol. 11, no. 8, art. no. 744,p. [1-14].
9. NIMALAN, N. et al. Mucosal barrier status in Atlantic salmon fed marine or plant-based diets supplemented with probiotics. In *Aquaculture*. 2022, vol. 547, no., art. no. 737516, p. [1-19].
10. 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 *Aquaculture Reports*. 2023, 28, 101461, p. [1-15].
11. PANDEY, A.K.; KUMAR, P.; SAXENA, M.J. Nutraceuticals in Veterinary Medicine: Feed additives in animal health. Eds. Gupta R., Srivastava A., Lall R. Springer, Cham. 2019, 257 p. doi: 10.1007/978-3-030-04624-8_23. ISBN 978-3-030-04624-8

12. PANICZ, R. et al. Impact of climate-driven temperature increase on inland aquaculture: Application to land-based production of common carp (*Cyprinus carpio* L.). In *Transbound Emerg Dis*. 2022 Sep;69(5):e2341-e2350.
13. POOPAK, H.; RAEESZADEH, M.; SALIMI, B. Accumulation of heavy metals in meat and their relationship with water and food intake of aquatic animals in Kermanshah, western Iran. In *Int J Environ Health Res.* 2024 Mar;34(3):1453-1465. doi:
14. PREENA, P.G. et al. Antimicrobial resistance in aquaculture: a crisis for concern. In *Biologia*. 2020, 75:1497–1517.
15. RAHAYU, S. et al. Probiotics application in aquaculture: its potential effects, current status in China and future prospects. In *Front. Mar. Sci.* 2024, 11:1455905. doi: 10.3389/fmars.2024.1455905.
16. RASUL, M.G.; MAJUMDAR B.C. Abuse of Antibiotics in Aquaculture and it's Effects on Human, Aquatic Animal and Environment. In *Saudi J Life Sci*. 2017, 2(3):81 – 88.
17. RATANAPROMMANEE, C. et al. Chemical characterization of leonardite and its potential use as soil conditioner and plant growth enhancement. In *Asia-Pacific Journal of Science and Technology*. 2017, *22*(4), APST–22. Dostupné na internete: https://so01.tci-thaijo.org/index.php/APST/article/view/107637
18. RATVAJ, M. et al. Feeding regime-dependent intestinal response of rainbow trout after administration of a novel probiotic feed. In *Animals*. 2023, 13(12), p. [1-24].
19. SHEN, X. et al. Prevalence and distribution analysis of antibiotic resistance genes in a large-scale aquaculture environment. In *Sci Total Environ*. 2020, 711:134626.
20. THIRUVASAGAM, T.; NAZIR, M.I. (2023) Potential Benefits of Humic Substances in Aquaculture. In *ASVS*. 2023, 5(10):62 – 66. Dostupné na internete: https://actascientific.com/ASVS/pdf/ASVS-05-0761.pdf
21. ULUSEKER, C. et al. A review on occurrence and spread of antibiotic resistance in wastewaters and in wastewater treatment plants: Mechanisms and perspectives. In *Front. microbiol.* 2021, 12:717809. DOI: 10.3389/fmicb.2021.717809.

Kontaktná adresa: Dagmar Mudroňová, 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

KOZIE MLIEKO V KONTEXTE PRÁVNYCH PREDPISOV

GOAT'S MILK IN THE CONTEXT OF LEGISLATION

Nagyová Alena[1], Takáčová Daniela[1], Korim Peter[1], Nagy Jozef[2], Bartkovský Martin[2]

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

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

ABSTRACT

The contribution is focused on the importance of goat´s milk in human nutrition and the legal regulations governing its production. Goat farming has a long tradition in Slovakia, with goats primarily raised on small farms. Goat´s milk must come from healthy animals that show no signs of infectious diseases transmissible to humans through milk. Operators are required to monitor and ensure the quality of raw milk throughout the process of collection, heat treatment, transport, and storage until the milk reaches the final consumer. Goat milk may be sold to the final consumer in the Slovak Republic in small quantities too. A small quantity of raw goat milk is defined as the amount corresponding to the typical daily consumption of such milk in the final consumer's household. Goat milk is a nutritious, easily digestible, and health-promoting food. Interest in goat milk and goat milk products is growing, particularly due to its low allergenic potential and good digestibility.

ÚVOD

Kozy patria medzi prvé zvieratá, ktoré si ľudia domestikovali. Chov kôz na produkciu mlieka má dlhú tradíciu pre svoju nenáročnosť na pastvu a pomerne vysokú úžitkovosť. Medzi dominantné oblasti produkcie kozieho mlieka patrí Ázia a Afrika, zatiaľ čo v spotrebe má prvenstvo Grécko a Francúzsko. Kozie mlieko tvorí vyše 2 % celosvetovej produkcie mlieka.

Kozie mlieko je podobné kravskému mlieku, má vysokú nutričnú hodnotu, považuje sa za hodnotnú a zdravú potravinu, ktorá je zdrojom bielkovín. Bielkoviny kozieho mlieka sú rýchlejšie a ľahšie stráviteľné ako u kravského mlieka. U ľudí alergických na kravské mlieko je kozie mlieko predurčené ako náhrada. Z kozieho mlieka sa vyrába široký sortiment mliečnych výrobkov.

Mikrobiálne riziko v kozom mlieku je spojené predovšetkým s konzumáciou surového (nepasterizovaného) mlieka, ktoré môže obsahovať nebezpečné patogény prenášané zo zvierat

alebo z prostredia pri dojení. Riziko pre ľudské zdravie predstavujú hlavne kliešťová encefalitída, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Escherichoa coli, Salmonella, Campylobacter, Brucella a Mycobacterium. Rizikovými skupinami sú hlavne deti a starší ľudia, tehotné ženy a ľudia s chronickými ochoreniami.

Chov kôz

Chov kôz má na Slovensku dlhú tradíciu, kozy sa chovali prevažne v malých hospodárstvach. Na začiatku 20. storočia sa na Slovensku chovalo takmer 500 000 kôz. Po druhej svetovej vojne a znárodnení majetku počet kôz klesol, keď do popredia vystúpili veľké chovy ošípaných a hovädzieho dobytka. Najnižší počet kôz na Slovensku bol v roku 1987, len 9 398 kusov. Po roku 1989 opäť vzrástol záujem o kozy a ich počet sa postupne zvyšoval. V posledných rokoch sa počet kôz na Slovensku ustálil na 35 000 až 37 000 kusov. Z hľadiska krajinnej architektúry je chov kôz prospešný, pretože pasenie pomáha udržiavať a obrábať odľahlejšie poľnohospodárske oblasti, ktoré je ťažké kosiť alebo obrábať inými spôsobmi. Okrem obhospodarovania zarastených plôch je chov kôz prospešný aj pre rozvoj agroturistiky a zamestnanosti vo vidieckych oblastiach. Vďaka svojej pohyblivosti a schopnosti konzumovať rastliny, ktoré iný dobytok nepasie, kozy efektívnejšie využívajú trvalé trávne porasty. V súčasnosti sa kozie mlieko považuje za cennú a zdravú potravinu a zdroj bielkovín. Treba však poznamenať, že chovu kôz a výskumu v tejto oblasti sa na Slovensku venuje oveľa menej pozornosti ako chovu hovädzieho dobytka alebo oviec (Makovický a kol., 2022).

Spotreba mlieka

Kozie mlieko tvorí len malú, okrajovú časť celkovej spotreby mlieka. Priemerná spotreba kozieho mlieka a mliečnych výrobkov na obyvateľa a rok v SR v období rokov 2020-2024 bola 0,7 kg (Repka, 2025).

Chov kôz na mlieko predstavuje jednu z foriem udržateľného poľnohospodárskeho odvetvia a v ekologickom režime podporuje lokálnu produkciu biopotravín. Nielen kozie mlieko, ale aj produkty z kozieho mlieka sú spojené s agroturistikou v horských oblastiach.

Zdravotné požiadavky

Zloženie kozieho mlieka ovplyvňuje plemeno a obdobie laktácie. Kozie mlieko je sekrét mliečnej žľazy kôz získaný zodpovedajúcim spôsobom. Nariadenie EP a Rady (EÚ) č. 853/2004 ustanovuje zdravotné požiadavky na produkciu surového kozieho mlieka. Mlieko musí pochádzať od zdravých zvierat, ktoré neprejavujú žiadne príznaky infekčných chorôb prenosných mliekom na ľudí. Zvieratá musia byť v dobrom zdravotnom stave, neprejavujú

žiadne príznaky chorôb, ktoré môžu mať za následok kontamináciu mlieka, netrpia žiadnymi infekciami pohlavného ústrojenstva s výtokom, ani enteritídou s hnačkou a horúčkou alebo rozpoznateľným zápalom vemena.

Surové kozie mlieko preto musí pochádzať od kôz, ktoré patria do chovu bez brucelózy alebo úradne bez brucelózy. Pokiaľ ide o tuberkulózu, surové kozie mlieko musí pochádzať od stád pravidelne kontrolovaných na tuberkulózu v rámci plánu kontroly schváleného príslušným orgánom. Ak sa kozy držia spolu s kravami, musia byť testované na tuberkulózu. Pokiaľ surové kozie mlieko pochádza od zvieraťa vykazujúceho pozitívnu reakciu v jednotlivých profylaktických testoch na tuberkulózu alebo brucelózu nesmie sa použiť na ľudskú spotrebu. Právne predpisy stanovujú mikrobiologické kritériá ako ukazovatele kvality a zdravotnej bezpečnosti.

Medzi základné kritériá kvality mlieka patrí stanovenie počtu somatických buniek. Pre zabezpečenie mikrobiologickej kvality surového mlieka je dôležité dodržiavať správne hygienické postupy a chladiarenský reťazec, aby sa zabránilo kontaminácii patogénnymi mikroorganizmami.

Povinnosťou prevádzkovateľov je kontrolovať a zabezpečiť kvalitu surového mlieka počas procesu získavania, tepelného spracovania, prepravy a skladovania, až kým sa mlieko nedostane ku konečnému spotrebiteľovi. Tento druh mlieka musí byť na obale označený.

Kozie mlieko je považované za funkčnú a nutrične hodnotnú potravinu. Kozy sú schopné zužitkovať oveľa širšie spektrum tráv, bylín i krovín než hovädzí dobytok, čím sú predurčené na chov v oblastiach, ktoré sú pre ostatné hospodárske zvieratá nevhodné alebo neprístupné. Vyhláška MP RV SR č. 343/2016 Z. z. ustanovuje požiadavky na kozie mlieko a jeho označovanie. V súlade s vyhláškou je možné kozie mlieko tepelne ošetriť pasterizáciou, vysokou pasterizáciou, ultravysokotepelným ohrevom (UHT ohrevom) a termosterilizáciou.

Kozie mlieko možno vyrábať v trhových druhoch, ktoré sa podľa množstva tuku členia na kozie mlieko bez úpravy množstva tuku s množstvom tuku najmenej 3 % hmot. a s obsahom beztukovej sušiny najmenej 8,2 % hmot., s upraveným množstvom tuku a s obsahom beztukovej sušiny najmenej 8,2 % hmot. V názve kozieho mlieka alebo v jeho blízkosti musí byť uvedené množstvo tuku v % hmot. slovami „tuk ... %“; množstvo tuku sa musí uvádzať slovom „najmenej“, ak ide o najnižšiu hodnotu a slovom „najviac“, ak ide o najvyššiu hodnotu.

Fermentované mlieko bez prídavku nemliečnych zložiek na báze kozieho mlieka možno vyrábať v trhových druhoch, ktoré musia spĺňať požiadavky: množstvo tuku v % hmot. vo fermentovanom kozom mlieku bez úpravy množstva tuku najmenej 3 % hmot., s upraveným množstvom tuku menej ako 3 % hmot. A množstvo beztukovej sušiny v % hmot. s prihliadnutím na použitú surovinu a proces fermentácie.

Malé množstvá kozieho mlieka

Hygienické požiadavky na priamy predaj a dodávanie malého množstva surového kozieho mlieka prvovýrobcami konečnému spotrebiteľovi alebo miestnej maloobchodnej prevádzkarni, ktorá priamo zásobuje konečných spotrebiteľov ustanovuje Nariadenie vlády SR č. 360/2011 Z. z.

Malým množstvom surového kozieho mlieka je také množstvo, ktoré zodpovedá obvyklej dennej spotrebe tohto mlieka v domácnosti konečného spotrebiteľa. Surové mlieko možno v chove na produkciu mlieka na stupni prvovýroby podrobiť len týmto operáciám, ktoré podstatne nemenia jeho povahu, čo znamená manipulácii so surovým mliekom po nadojení, a chladeniu a skladovaniu. Prvovýrobca nesmie na stupni prvovýroby predávané surové mlieko žiadnym spôsobom spracúvať, oddeľovať od neho alebo pridávať k nemu akékoľvek zložky, odstreďovať ho alebo vykonávať také činnosti, ktoré ho podstatne menia ani baliť vopred do spotrebiteľských obalov.

ZÁVER

Kozie mlieko je výživná, stráviteľná a zdraviu prospešná potravina. Záujem o kozie mlieko a výrobky z kozieho mlieka rastie najmä pre jeho nízky alergénny potenciál a dobrú stráviteľnosť. Je potrebné zvyšovať povedomie spotrebiteľov o zdravotných výhodách kozieho mlieka a jeho kulinárskej všestrannosti. K rastúcej akceptácii kozieho mlieka prispieva aj nárast populácie s intoleranciou laktózy. V povedomí spotrebiteľov je pozorovateľné rastúce pochopenie nutričných výhod kozieho mlieka, obzvlášť vhodného pre deti a osoby s diétnymi obmedzeniami. Vo vyspelých krajinách je kozie mlieko a kvalitné kozie syry považované za špecialitu obľúbenú napriek vyššej cene.

POĎAKOVANIE

Príspevok bol podporený projektom KEGA 020UVLF-4/2024.

LITERATÚRA

1. Makovický, P., Nagy, M., Margetin, M.: Súčasný stav chovu kôz na Slovensku a jeho perspektívy do budúcnosti. AGRITECH Science, 21, 1 – 3.
2. Nariadenie Európskeho Parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 z 29. apríla 2004, ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu. Úradný vestník EÚ L 139/55, 30. 4. 20024
3. Nariadenie vlády SR z19. októbra 2011 č. 360/2011 Z. z. ktorým sa ustanovujú hygienické požiadavky na priamy predaj a dodávanie malého množstva prvotných produktov

rastlinného a živočíšneho pôvodu a dodávanie mlieka a mliečnych výrobkov konečnému spotrebiteľovi a iným maloobchodným prevádzkarniam. Zbierka zákonov SR, ročník 2011, 28. 10. 2011

4. Repka, M.: Mlieko. Komoditná situačná a výhľadová správa k 31. 12. 2024. MPRV SR (https://www.holstein.sk/files/spravy/2025/jun2025/komoditna-situacna-a-vyhladova-sprava-mlieko.pdf)
5. Vyhláška Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR z 8. decembra 2016 č. 343/2016 Z. z. o niektorých výrobkoch z mlieka. Zbierka zákonov SR, ročník 2016, 19. 12. 2016

Kontaktná adresa: Alena Nagyová, MVDr., PhD. Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika. E-mail: alena.nagyova@uvlf.sk

POROVNANIE FYZIKÁLNO-CHEMICKÝCH VLASTNOSTÍ A ŽIVOTASCHOPNOSTI ŠTARTOVACEJ KULTÚRY FERMENTOVANÉHO SÓJOVÉHO NÁPOJA, KRAVSKÉHO MLIEKA A ICH ZMESI

COMPARISON OF THE PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES AND STARTER CULTURE VIABILITY OF FERMENTED SOY BEVERAGE, COW MILK, AND THEIR BLEND

Najgebauer-Lejko Dorota[1], Żmudziński Daniel[2], Walczycka Maria[1]

[1]Department of Animal Products Processing, [2]Department of Engineering and Machinery for Food Industry, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow, Balicka 122, 30-149 Kraków, Poland

ABSTRACT

This study was established to compare the quality of probiotic fermented beverages produced from cow milk, soybean beverage, and 1:1 milk/soy blend, using a probiotic ABT-1 culture (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12). The obtained products were analyzed for acidity, texture and microbiological quality on day 0 and after 14 days of refrigerated storage. Results indicate that cow milk yogurt exhibited the greatest pH decrease due to post-acidification, unlike the soy-based alternative, which showed different acidification patterns. Texture analysis revealed that soy-based yoghurt alternative was characterized by higher hardness than fermented milk or milk/soy blend. The soy-based alternative partially favored *Bifidobacterium* growth but was less supportive of *Str. thermophilus* and *Lb. acidophilus*. Mixed soy/cow milk formulations demonstrated improved bacterial viability during storage, suggesting that the addition of soy beverage to cow milk may enhance microbiological stability in fermented dairy products. Overall, although soy-based fermented beverages may serve as dairy alternatives, their probiotic stability remains lower, highlighting the importance of substrate and culture selection. In contrast, milk/soy blended formulations appear to offer a more balanced compromise between plant-based composition and microbial stability, particularly in maintaining the viability of probiotic cultures with potential health benefits.

Key words: yogurt, soy beverage, cow milk, microbiological quality, texture

INTRODUCTION

Due to lifestyle choices and health concerns such as lactose intolerance and milk protein allergies, an increasing number of consumers are reducing or eliminating dairy products from their diets. Concerns about cholesterol, antibiotics, and growth hormones in animal-derived foods, as well as the growing demand for plant-based and novel products, have accelerated the development of dairy alternatives. It is estimated that about 15% of Europeans avoid dairy for various reasons, contributing to rapid growth in the market for plant-based milk substitutes (Sethi et al., 2016; Vanga & Raghavan, 2018; Ziarno et al. 2019). Plant-based beverages are typically produced from legumes, cereals, pseudo-cereals, and nuts. They are colloidal suspensions or emulsions obtained through aqueous extraction, followed by filtration, homogenization, and heat treatment. However, compared with cow's milk, these products often have lower protein and calcium content, may contain anti-nutritional substances, and can present sensory and stability challenges. Their nutritional value depends on the raw material, processing, and fortification with nutrients such as calcium, vitamins D, B2 and B12, iron, and zinc. Despite these limitations, plant-based beverages contain beneficial bioactive compounds, are cholesterol-free, and have a lower environmental footprint. Fermentation with lactic acid bacteria can improve shelf life, sensory quality, and nutritional value, although plant substrates often require supplementation with stabilizers and fermentation promoters to support starter culture growth and product stability (Gupta & Abu-Ghannam, 2012; Sethi, 2016).

In this light, the aim of this study was to compare the quality of a soy beverage fermented with a probiotic ABT culture with analogous products made from cow's milk and from a 1:1 mixture of cow's milk and soy beverage.

MATERIALS AND METHODS

Materials

The raw materials used for the production of beverages fermented with the lyophilized starter culture ABT-1 (composition: *Streptococcus thermophilus, Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12; Chr. Hansen, Denmark) were:

1. UHT cow's milk 1.5% (nutritional value: energy 44 kcal, 1.5% fat, 4.7% carbohydrates, 3.0% protein).
2. commercial organic soy beverage (ingredients: water, dehulled soybeans (9.7%), salt; nutritional value: energy 32 kcal, 1.7% fat, 1.0% carbohydrates, 3.0% protein)
3. 1:1 blend of UHT cow milk (1) and soy beverage (2).

Production of fermented beverages

The production procedure included the following stages:

1. Exactly 100 ml of milk / soy beverage / soy beverage–milk blend was measured into sterile plastic containers and inoculated with the ABT-1 culture;
2. The beverages were incubated at 38°C to pH 4.7;
3. The fermented beverages were stored under refrigerated conditions until analyses (4°C).

Analyses

Analyses were performer on fresh (0 day) and stored (14 day) samples and included determination of:

- titratable acidity PN-75/A 86130 and pH using Elmetron CP-411 pH-metr;
- texture characteristics – instrumentally using TA-XT.Plus texture analyzer (Stable Micro Systems – Haslemere, Surrey, UK) by means of a double penetration test to a depth of 15 mm (1 mm/s) with the use of a cylindrical probe (height 4 cm, diameter 2 cm);
- microbiological quality – the count of starter bacteria, i.e.: *Str, thermophilus* (PN-ISO 7889:2007), *Lb. acidophilus* (FIL–IDF Standard 149 A, 1997), *Bifidobacterium* (Warmińska-Radyko & Łaniewska-Trokenheim, 2003).

The results were subjected to two-way ANOVA using Statistica 13.3 software (TIBCO, USA), and differences were considered significant based on Tukey's post-hoc test at $P \leq 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

The results regarding acidity and textural features of the analyzed fermented beverages are presented in Table 1, while Table 2 shows the results of the microbiological studies.

The pH values differed significantly between the products; the lowest pH was observed in the product fermented from a mixture of cow's milk and soy beverege (M/S), while the highest was found in the yogurt made from cow's milk (M). Fermented beverages containing a soy component (S, M/S) were characterized by significantly lower titratable acidity compared to probiotic yogurt made from cow's milk (M). The most pronounced decrease in pH during refrigerated storage was recorded for the cow's milk yogurt (ΔpH = −0.22 units), whereas soy-based fermented beverages did not exhibit this effect (ΔpH = +0.07), indicating the influence of the type of raw material used on the post-acidification rate.

The results of the texture profile analysis (TPA) showed that the soy-based yogurt alternative (S) was characterized by greater hardness than either the milk yogurt (M) or the fermented beverage made from the milk–soy mixture (M/S; Table 1).

Table 1. Acidity and texture characteristics of cow milk, soy beverage and 1:1 cow milk/soy fermented beverages (mean ± SD)

Product	Storage time (days)	pH	Titratable acidity (% lactic acid)	Hardness (G)	Adhesiveness (|G·s|)	Cohesiveness (-)	Gumminess (G)
M	0	4.94±0.09^{d}	0.58±0.03^{c}	14.46±1.76 ^{ab}	3.81±5.06^{ab}	0.68±0.05^{a}	9.71±0.51^{a}
	14	4.72±0.12^{bc}	0.67±0.02^{d}	13.76±1.59^{a}	0.39±0.79^{a}	0.68±0.07^{a}	4.60±5.21^{a}
S	0	4.71±0.03^{bc}	0.39±0.17^{a}	16.21±1.43^{b}	6.52±3.69^{b}	0.67±0.03^{a}	10.83±1.06^{a}
	14	4.78±0.08^{c}	0.41±0.03^{a}	16.17±2.26^{b}	0.67±0.79^{a}	0.65±0.04^{a}	5.04±5.98^{a}
M/S	0	4.61±0.08^{ab}	0.50±0.02^{b}	13.61±0.49^{a}	0.00±0.00^{a}	0.71±0.04^{a}	9.66±0.26^{a}
	14	4.54±0.04^{a}	0.57±0.07^{c}	14.37±0.65 ^{ab}	0.00±0.00^{a}	0.67±0.03^{a}	4.80±5.44^{a}

Legend: M – cow milk ABT yogurt, S – soy ABT-yogurt alternative, M/S – 1:1 blend of cow milk/soy fermented ABT beverage; ^{a,b,c,d} different letters in columns denote statistically significant differences at $P \leq 0.05$

Table 2. Count of starter bacteria in fresh and stored cow milk, soy and 1:1 cow milk/ soy fermented beverages (mean ± SD)

Product	Storage time (days)	*L. acidophilus* (log cfu/g)	*Bifidobacterium* (log cfu/g)	*Str. thermophilus* (log cfu/g)
M	0	8.32±0.07^{b}	6.91 ± 0.12^{b}	8.34 ± 0.11^{b}
	14	8.20±0.20^{b}	6.57 ± 0.19^{a}	8.27 ± 0.23^{b}
M/S	0	8.25±0.09^{b}	7.11 ± 0.04^{b}	8.37 ± 0.02^{b}
	14	8.26±0.02^{b}	7.03 ± 0.05^{b}	8.34 ± 0.08^{b}
S	0	7.94±0.03^{b}	7.88 ± 0.07^{d}	8.58 ± 0.58^{b}
	14	7.12±0.34^{a}	7.48 ± 0.06^{c}	7.34 ± 0.03^{a}

Legend: M – cow milk ABT yogurt, S – soy ABT-yogurt alternative, M/S – 1:1 blend of cow milk/soy fermented ABT beverage; ^{a,b,c,d} different letters in columns denote statistically significant differences at $P \leq 0.05$

The analysis of viable bacterial cell counts showed that soy-based fermented beverages (S) were more conducive to the growth of *Bifidobacterium*, but were less favorable for the viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Streptococcus thermophilus* bacteria. The cow milk/soy treatment (M/S) maintained higher bacterial counts and greater stability compared to exclusively soy-based fermented beverage (S). A significant decrease in the counts of all tested

starter bacteria was observed in beverages produced solely from soy beverage (S). These results are consistent with the findings of Ndife et al. (2019), who reported that during the storage of probiotic yogurts, cow milk supported the viability of probiotic cultures better than a soy beverage environment. Additionally, in dairy yogurt the level of bifidobacteria significantly decreased after two weeks of storage, whereas in milk beverages with added soy beverage no significant reduction in the number of these probiotic bacterial cells was observed.

CONLUSION

The results suggest that mixed cow milk/soy beverage formulations improve bacterial viability and product stability, making them a promising option for achieving desirable sensory and microbiological properties in fermented dairy products. For vegan yogurt alternatives, however, careful selection of raw materials and starter cultures is essential. In summary, soy-based fermented beverages may serve as an alternative to traditional cow's milk yogurt for lactose-intolerant individuals or vegans, but they may not always provide comparable microbiological stability, particularly in terms of probiotic viability.

ACKNOWLEDGEMENT

The research was carried out within the project "The Research Network of Life Sciences Universities for the Development of the Polish Dairy Industry - Research Project" funded under the designated subsidy of the Minister of Science and Higher Education of Poland (MEIN/2023/DPI/2872).

REFERENCES

1. FIL–IDF Standard 149 A (1997). Dairy starter cultures of lactic acid bacteria (LAB) - Standard of Identity. *Brussels, Belgium*, *41*(4).
2. Gupta, S., & Abu-Ghannam, N. (2012). Probiotic fermentation of plant based products: possibilities and opportunities. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *52*(2), 183-199.
3. Ndife J.., Samaila J., & Offia-Olua, B. (2019). Development and comparative evaluation of storage changes in probiotic soy-yoghurt. *J. Microbiol.Biotech. Food Sci.,* 9, 298-301.
4. PN-ISO 7889 (2007). Jogurt. Oznaczanie liczby charakterystycznych drobnoustrojów. Metoda liczenia kolonii w temperaturze 37 stopni C. (Yogurt – Enumeration of characteristic microorganisms – Colony count technique at 37°C

5. Sethi S., Tyagi S.K., Rahul K. Anurag (2016). Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 53(9), 3408-3423.
6. Vanga S.K., Raghavan V. (2018). How well do plant based alternatives fare nutritionally compared to cow's milk. *Journal of Food Science & Technology*, 55(1), 10-20
7. Warmińska-Radyko I., Łaniewska-Trokenheim Ł. (2003). Nowe metody badań mikrobiologicznych w przemyśle spożywczym. OWH Oficyna Wydawnicza „Hoża", Warszawa, 41-42.
8. Ziarno M., Zaręba D., Henn E., Margas E., Nowak M. (2019). Properties of non-dairy gluten-free millet-based fermented beverages developed with yoghurt cultures. *Journal of Food and Nutrition Research*, 58(1), 21-30.

Contact address: Najgebauer-Lejko Dorota, Department of Animal Products Processing, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow, Balicka 122, 30-149, Krakow, Poland. E-mail: dorota.najgebauer-lejko@urk.edu.pl

SEZÓNNE VARIÁCIE OBSAHU TUKU A BIELKOVÍN V MLIEKU DOJNÍC

SEASONAL VARIATION IN MILK FAT AND PROTEIN CONTENT IN DAIRY COWS

Ondrašovičová Silvia [1], Zahumenská Jana [2], Kováčová Mariana [2], Zigo František [3], Récky Andrej [3], Kirovski Danijela [4]

[1]Department of Biology and Physiology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia

[2]Department of Hygiene, Technology and Health Food Safety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia

[3]Department of Animal Nutrition and Husbandry, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia

[4]Department of Physiology and Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Blvd. Oslobodjenja 18, Belgrade, Serbia

ABSTRACT

This study evaluated seasonal changes in milk fat and protein content in dairy cows over a one-year period. A total of 3000 milk samples were collected from 250 clinically healthy cows. Both milk fat and protein showed significant seasonal variation ($p < 0.001$), with the lowest values recorded in summer and the highest in autumn. These changes are likely associated with seasonal differences in feeding regimes, environmental conditions, and metabolic status of the animals. Understanding these variations is essential for optimizing milk production and technological quality.

Key words: milk fat, milk protein, season, dairy cow, milk quality

ÚVOD

Mliečny tuk a bielkoviny patria medzi kľúčové zložky kravského mlieka, ktoré určujú jeho nutričnú a technologickú kvalitu. Ich koncentrácia je ovplyvnená viacerými faktormi, vrátane genetiky, štádia laktácie, kŕmneho režimu a environmentálnych podmienok (Parmar et al., 2020; Zacometti et al., 2023). Medzi najvýznamnejšie faktory ovplyvňujúce variabilitu zloženia mlieka patrí ročné obdobie.

Viaceré štúdie z Európy aj iných regiónov konzistentne preukázali, že obsah mliečneho tuku a bielkovín klesá počas letných mesiacov a zvyšuje sa v chladnejších obdobiach roka (Zacometti et al., 2023; Heck et al., 2009). Tieto zmeny súvisia najmä s tepelným stresom,

zmenami v zložení krmiva a metabolickou adaptáciou dojníc (Heck et al., 2009; Musayeva et al., 2016).

Napriek rozsiahlym medzinárodným poznatkom sú údaje o sezónnych variáciách v špecifických regionálnych podmienkach, ako je východné Slovensko, stále obmedzené. Preto je hodnotenie sezónnych zmien obsahu tuku a bielkovín v mlieku dôležité pre optimalizáciu manažmentu chovu dojníc a zlepšenie kvality mlieka.

MATERIÁL A METODIKA

Štúdia bola realizovaná na poľnohospodárskom podniku na východnom Slovensku v horskej oblasti (cca 550–570 m n. m.) s kontinentálnym podnebím charakterizovaným teplými letami a chladnými zimami.

Do štúdie bolo zahrnutých 250 klinicky zdravých dojníc slovenského strakatého plemena chovaných vo voľnom ustajnení. Zvieratá boli kŕmené kompletnou kŕmnou dávkou (TMR), ktorej zloženie sa menilo v závislosti od ročného obdobia – v zimnom období dominovali konzervované krmivá, zatiaľ čo v letnom období sa zvyšoval podiel čerstvej zelenej hmoty.

Vzorky mlieka boli odoberané individuálne raz mesačne počas jedného roka (marec 2024 – február 2025) počas ranného dojenia. Celkovo bolo analyzovaných 3000 vzoriek mlieka. Do analýzy boli zahrnuté len vzorky od dojníc bez známok mastitídy (CMT – kalifornský test na mastitídu, negatívny).

Stanovený bol obsah mliečneho tuku (%) a bielkovín (%) pomocou prístroja LactoScan MCCV (Milkotronic Ltd., Bulharsko) v súlade s príslušnými normami (ISO 21543; STN EN ISO 13366-2).

Štatistické spracovanie

Údaje boli rozdelené podľa ročných období (jar, leto, jeseň, zima). Pre hodnotené parametre (obsah tuku a bielkovín) boli vypočítané priemerné hodnoty a smerodajné odchýlky (SD).

Rozdiely medzi sezónami boli hodnotené pomocou jednofaktorovej analýzy rozptylu (ANOVA) s následným Tukeyho post hoc testom. Hladina štatistickej významnosti bola stanovená na $\alpha = 0,05$. Štatistická analýza bola realizovaná pomocou softvéru IBM SPSS Statistics, verzia 20.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky ročného monitorovania preukázali výrazné sezónne zmeny v základnom zložení kravského mlieka (Tabuľka č. 1).

Tabuľka č. 1, Sezónne zmeny obsahu tuku a bielkovín v analyzovaných vzorkách mlieka (Mean ± SD)

Parameter	Jeseň	Zima	Jar	Leto
Tuk (%)	$4,20 \pm 0,58^{a}$	$3,98 \pm 0,55^{ab}$	$3,95 \pm 0,54^{ab}$	$3,83 \pm 0,57^{b}$
Bielkoviny (%)	$3,68 \pm 0,28^{a}$	$3,60 \pm 0,27^{ab}$	$3,52 \pm 0,26^{ab}$	$3,49 \pm 0,29^{b}$

Poznámka: Hodnoty označené rôznymi písmenami (a, b) sa štatisticky významne líšia ($p < 0,001$); úroveň významnosti jednotlivých porovnaní je uvedená v texte.

Obsah mliečneho tuku vykazoval jasný sezónny trend. Najnižšie priemerné hodnoty boli zaznamenané v letnom období (3,83 %), zatiaľ čo najvyššie hodnoty boli zistené na jeseň (4,20 %). Rozdiel medzi letom a jeseňou bol štatisticky vysoko významný ($p < 0,001$). Obsah tuku bol na jeseň signifikantne vyšší aj v porovnaní s jarným a zimným obdobím ($p < 0,01$), pričom medzi zimou (3,98 %) a jarou (3,95 %) sa významný rozdiel nepotvrdil.

Podobný sezónny priebeh bol pozorovaný aj pri obsahu bielkovín. Najnižšie hodnoty boli zaznamenané v lete (3,49 %), zatiaľ čo najvyššie hodnoty boli dosiahnuté na jeseň (3,68 %). Hodnoty v jesennom a zimnom období boli signifikantne vyššie v porovnaní s jarným a letným obdobím ($p < 0,001$). Rozdiel medzi jeseňou a letom (približne 0,19 percentuálneho bodu) bol vysoko štatisticky významný ($p < 0,001$), pričom medzi jeseňou a zimou sa rozdiel nepotvrdil.

Celkovo možno konštatovať, že najnižší obsah tuku a bielkovín bol zaznamenaný počas letného obdobia, zatiaľ čo najvyššie hodnoty sa vyskytovali na jeseň. Sezónne minimálne a maximálne hodnoty sledovaných parametrov sú uvedené v Tabuľke č. 2.

Tabuľka č. 2, Sezónne minimá a maximá sledovaných parametrov vzoriek mlieka

Parameter	Najnižšia hodnota (sezóna)	Najvyššia hodnota (sezóna)
Tuk (%)	Leto (3,83)	Jeseň (4,20)
Bielkoviny (%)	Leto (3,49)	Jeseň (3,68)

Zistené sezónne zmeny v obsahu mliečneho tuku a bielkovín potvrdzujú všeobecne známe trendy opísané v literatúre, kde dochádza k poklesu týchto zložiek počas letného obdobia a k ich zvýšeniu v chladnejších mesiacoch (Heck et al., 2009; Musayeva et al., 2016). Hlavným

faktorom je pravdepodobne tepelný stres, ktorý vedie k zníženému príjmu krmiva a následným metabolickým zmenám ovplyvňujúcim syntézu mliečnych zložiek.

Nižší obsah bielkovín v lete môže súvisieť aj s narušeným pomerom energie a dusíkatých látok v kŕmnej dávke počas pastevného obdobia. Naopak, vyššie hodnoty tuku a bielkovín zaznamenané na jeseň možno pripísať stabilnejším environmentálnym podmienkam, vyššiemu podielu konzervovaných krmív a pokročilejšiemu štádiu laktácie.

Podobné sezónne trendy boli zaznamenané aj v krajinách strednej a východnej Európy, čo naznačuje, že klimatické a nutričné faktory majú v tomto regióne porovnateľný vplyv na zloženie mlieka (Kocsis et al., 2022; Czyżak-Runowska et al., 2020).

POĎAKOVANIE

Táto práca bola realizovaná v rámci projektu SK-SRB-25-0055: Vplyv patogénov vemena u kráv a oviec na oxidačný stres, kvalitu mlieka a životné prostredie a KEGA 001UVLF-4/2025: Inovácie výučby fyziológie pre zahraničných študentov.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. CZYŻAK-RUNOWSKA, G., WÓJTOWSKI, J., BIELIŃSKA-NOWAK, S., WOJTCZAK, J., MARKIEWICZ-KĘSZYCKA, M. (2020). Seasonal variation in the quality parameters of milk from an extensive, small family farm. Acta Scientiarum Polonorum Zootechnica, 19(3), 63–70.
2. HECK, J. M. L., VAN VALENBERG, H. J. F., DIJKSTRA, J., VAN HOOIJDONK, A. C. M. (2009). Seasonal variation in the Dutch bovine raw milk composition. Journal of Dairy Science, 92(10), 4745–4755.
3. KOCSIS, R., SÜLE, J., NAGY, P., GÁL, J., TARDY, E., CSÁSZÁR, G., RÁCZ, B. (2022). Annual and seasonal trends in cow's milk quality determined by FT-MIR spectroscopy in Hungary between 2011 and 2020. Acta Veterinaria Hungarica, 70(3), 207–214.
4. MUSAYEVA, A., FEDOROVA, T., BELIK, N. (2016). Effect of seasonal factors on milk composition and somatic cell count. Journal of Animal Science, 94(6), 2341–2348.
5. PARMAR, P., LOPEZ-VILLALOBOS, N., TOBIN, J. T., MURPHY, E., MCDONAGH, A., CROWLEY, S. V., KELLY, A. L., SHALLOO, L. (2020). The effect of compositional changes due to seasonal variation on milk density and the determination of season-based density conversion factors for use in the dairy industry. Foods, 9(8), 1004.
6. ZACOMETTI, C., TATA, A., MASSARO, A., RIUZZI, G., BRAGOLUSI, M., COZZI, G., PIRO, R., KHAZZAR, S., GERARDI, G., GOTTARDO, F., SEGATO, S. (2023). Seasonal variation in raw milk VOC profile within intensive feeding systems. Foods, 12(9), 1871.

Kontaktná adresa: Silvia Ondrašovičová, MVDr. PhD., Katedra biológie a fyziológie, UVLF v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika. E-mail: silvia.ondrasovicova@uvlf.sk

SEZÓNNA VARIÁCIA LAKTOFERÍNU A JEHO SÚVISLOSŤ S POČTOM SOMATICKÝCH BUNIEK V SUROVOM KRAVSKOM MLIEKU

SEASONAL VARIATION OF LACTOFERRIN AND ITS ASSOCIATION WITH SOMATIC CELL COUNT IN RAW COW'S MILK

Ondrašovičová Silvia [1], Zahumenská Jana [2], Zigo František [3], Kiss Dávid Sándor [4], Schilling-Toth Boglarka Maria [4], Alymbaeva Daiana [4]

[1]Department of Biology and Physiology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia

[2]Department of Hygiene, Technology and Health Food Safety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia

[3]Department of Animal Nutrition and Husbandry, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia

[4]Department of Physiology and Biochemistry, University of Veterinary Medicine Budapest, Istvan u. 2, 1078 Budapest, Hungary

ABSTRACT

Lactoferrin is an important component of the innate immune system of the mammary gland. This study aimed to evaluate seasonal changes in milk lactoferrin concentration and its relationship with somatic cell count (SCC). Milk samples (n = 3000) were collected from 250 clinically healthy dairy cows. Lactoferrin concentrations differed significantly between seasons, with the lowest levels observed in summer and the highest in autumn ($p < 0.001$). A significant positive correlation between lactoferrin concentration and SCC was observed.

Key words: lactoferrin, somatic cell count, milk quality, season, dairy cows

ÚVOD

Počet somatických buniek (PSB) je kľúčovým ukazovateľom zdravia mliečnej žľazy, pričom jeho zvýšenie je úzko spojené s prítomnosťou subklinickej mastitídy, so zmenami v zložení mlieka a zhoršenou technologickou kvalitou mlieka, najmä v syrárstve (Superti, 2020; Alhussien & Dang, 2018). Zvýšený PSB je spojený s poklesom obsahu kazeínu, degradáciou mliekarenských proteínov proteolytickými enzýmami a zhoršenou výťažnosťou a kvalitou syrov. Sezónne výkyvy PSB sú popisované s tendenciou k zvýšeniu v letnom období, najmä v dôsledku tepelného stresu a vyššej bakteriálnej záťaže v prostredí (Musayeva et al., 2016).

Laktoferín je bioaktívny proteín mlieka s významnou imunologickou funkciou. Jeho koncentrácia môže reagovať na fyziologické zmeny mliečnej žľazy a subklinické zápalové procesy. Cieľom tejto práce bolo posúdiť sezónne zmeny laktoferínu a jeho vzťah k PSB ako tradičnému ukazovateľu zdravia vemena.

MATERIÁL A METODIKA

Štúdia bola realizovaná na poľnohospodárskom podniku na východnom Slovensku v horskej oblasti (cca 550–570 m n. m.) s kontinentálnym podnebím charakterizovaným teplými letami a chladnými zimami.

Do štúdie bolo zaradených 250 klinicky zdravých dojníc slovenského strakatého plemena chovaných vo voľnom ustajnení. Zvieratá boli kŕmené kompletnou kŕmnou dávkou (TMR), ktorej zloženie sa menilo v závislosti od ročného obdobia. V zimnom období dominovali konzervované krmivá, zatiaľ čo v letnom období sa zvyšoval podiel čerstvej zelenej hmoty.

Dojenie sa realizovalo dvakrát denne v paralelnej dojárni s dvanástimi fixačnými stojiskami v dvoch protiľahlých radoch (Agromont, Slovensko).

Dni po otelení sa pohybovali v širokom rozmedzí od 2 do 625 dní (priemerne 119 dní), čo umožnilo zahrnúť celé fyziologické spektrum priebehu laktácie a minimalizovať selekčné skreslenie.

Odber vzoriek mlieka prebiehal raz mesačne počas jedného roka (marec 2024 – február 2025), vždy pri rannom dojení. Pred odberom sa vykonalo klinické vyšetrenie mliečnej žľazy a základné fyzikálne hodnotenie mlieka, pričom do analýzy boli zahrnuté len vizuálne nezmenené vzorky.

Vzorky boli bezprostredne po odbere uložené do sterilných vzorkovníc, schladené na 5 °C a do šiestich hodín transportované do laboratória na analytické spracovanie.

Laktoferín bol stanovený imunochemickou metódou ELISA po predchádzajúcom odstredení mlieka. Počet somatických buniek bol analyzovaný fluorescenčnou metódou pomocou prístroja LactoScan PSB (Milkotronic Ltd., Nova Zagora, Bulgaria).

Štatistické spracovanie

Štatistické vyhodnotenie zahŕňalo jednocestnú analýzu ANOVA a korelačnú analýzu. Štatistická analýza bola realizovaná pomocou softvéru IBM SPSS Statistics verzia 20.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Najnižšie koncentrácie laktoferínu boli zaznamenané v lete (154 mg/dl), zatiaľ čo najvyššie hodnoty sa vyskytli v jesennom období (172 mg/dl) (Tabuľka č. 1). Koncentrácia laktoferínu sa medzi sezónami významne líšila ($p < 0,001$). Laktoferín sa javí ako vhodný doplnkový marker imunitnej aktivity mliečnej žľazy.

Tabuľka č.1., Sezónne zmeny koncentrácie laktoferínu a počtu somatických buniek v analyzovaných vzorkách mlieka

Ročné obdobie	Laktoferín (mg/dl)	PSB (×10³ buniek/ml)
Jar	158,20 ± 37,73	364,79 ± 76,64
Leto	153,79 ± 52,40	423,44 ± 86,72
Jeseň	171,96 ± 40,05	274,99 ± 58,44
Zima	157,96 ± 36,46	367,00 ± 10,70

Sezónna variabilita PSB nebola štatisticky významná ($p > 0,05$), napriek tendencii k vyšším hodnotám PSB počas letných mesiacov. Korelačná analýza preukázala pozitívny vzťah medzi koncentráciou laktoferínu a PSB vo všetkých sezónach.

Laktoferín je významný proteín vrodenej imunity mliečnej žľazy a jeho koncentrácia v mlieku môže slúžiť ako indikátor imunitnej aktivity vemena (Superti, 2020). V tejto štúdii boli najnižšie koncentrácie laktoferínu zaznamenané v letnom období, čo môže súvisieť s negatívnym vplyvom tepelného stresu na imunitnú odpoveď dojníc (Zhou et al., 2025).

Naopak, zvýšené hodnoty laktoferínu v jesennom období možno pripísať fyziologickým zmenám v neskorej fáze laktácie a zvýšenej aktivácii obranných mechanizmov mliečnej žľazy (Cheng et al., 2008; Superti, 2020). Podobné sezónne trendy boli popísané aj v štúdiách sledujúcich bioaktívne zložky mlieka (Dimovska et al., 2024).

Počet somatických buniek nevykazoval v tejto štúdii štatisticky významnú sezónnosť, avšak pozorovaný trend vyšších hodnôt počas letných mesiacov korešponduje s údajmi uvádzanými v literatúre (Musayeva et al., 2016; Li et al., 2014).

POĎAKOVANIE

Táto práca bola realizovaná v rámci projektu SK-HU-24-0022: Vyhodnocovanie antibakteriálnych vlastností nanočastíc proti multirezistentným baktériám a KEGA 001UVLF-4/2025: Inovácie výučby fyziológie pre zahraničných študentov.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ALHUSSIEN, M., & DANG, A. K. (2018). Milk somatic cells, factors influencing their release, future prospects and practical utility in dairy animals: An overview. *Veterinary World*, 11(5), 562–577.
2. DIMOVSKA, L., TRAJKOVSKA, B., VELJANOVSKA, L., GAGACHEVA, B., DIMOVSKA, N. (2024). Seasonal variations in somatic cell count and their impact on the physicochemical composition of raw cow milk. *International Journal of Food Technology and Nutrition*, 7, 104–109.
3. LI, N., RICHOUX, R., BOUTINAUD, M., MARTIN, P., & GAGNAIRE, V. (2014). Role of somatic cells on dairy processes and products: a review. *Dairy Science & Technology*, 94, 517–538.
4. MUSAYEVA, A., FEDOROVA, T., & BELIK, N. (2016). Effect of seasonal factors on milk composition and somatic cell count. *Journal of Animal Science*, 94, 2341–2348.
5. SUPERTI, F. (2020). Lactoferrin from bovine milk: A protective companion for life. *Nutrients*, 12, 9, 2562.
6. ZHOU, S., HAN, R., WANG, J., & ZHENG, N. (2025). Comparative analysis of lactoferrin content in raw milk from different regions and seasons. *Food Science*, 46, 12, 25–31.

Kontaktná adresa: Silvia Ondrašovičová, MVDr. PhD., Katedra biológie a fyziológie, UVLF v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenskaá republika. E-mail: silvia.ondrasovicova@uvlf.sk

VÝVOJ A SÚČASNÁ SITUÁCIA V SEKTORE MLIEKA

DEVELOPMENT AND CURRENT SITUATION IN DAIRY SECTOR

Pastorek Alexander, Štefániková Margita, Borovská Soňa

Slovenský zväz prvovýrobcov mlieka, Výstavná 4, 949 01 Nitra, Slovenská republika

ABSTRACT

The article presents long-term and short-term development of production and economic indicators in dairy sector in Slovakia, the European Union and worldwide. Current situation in dairy sector generally is characterized by high milk supplies and stagnation of demand, which has negative impact on farm-gate milk prices. The situation is aggravated by rising input costs, mainly due to increasing price of energy, diesel and fertilizers. Based of analysis and estimates, high loss in dairy farming sector in Slovakia is expected this year, which will have highly negative impact for number of dairy cows and dairy farm companies. This situation leads to a further reduction in Slovakia's self-sufficiency in milk production.

The Slovak Association of Dairy Farmers defends interests of dairy farmers and currently is promoting effective measures on European and national levels to improve the situation.

The measures are described in more details in this contribution.

Key words: dairy farming sector, milk production, milk quality, farm-gate prices, economics of milk production, loss

ÚVOD

Sektor prvovýroby mlieka na Slovensku je z dlhodobého pohľadu charakterizovaný poklesom počtu dojníc. Vzhľadom na zlepšenie situácie na trhu s mliekom v Európskej únii a vo svete, sa tempo poklesu sa v minulých rokoch mierne spomalilo. Naopak, pozitívny vývoj zaznamenáva v úžitkovosti, vďaka čomu produkcia, resp. dodávky surového kravského mlieka v posledných rokoch zastabilizovali.

Aktuálne je trh s mliekom ovplyvnený veľkým navýšením produkcie mlieka v Európe aj vo svete. Toto navýšenie spolu so stratou trhového podielu Európskej únie na svetových trhoch negatívne ovplyvňuje nákupné ceny mlieka, ktoré podľa analýz Slovenského zväzu prvovýrobcov mlieka môžu na Slovensku v tomto roku poklesnúť až na úroveň 39 ct/kg mlieka. Spolu o očakávaným navýšením výrobných nákladov v dôsledku nárastu cien pohonných hmôt, energií a hnojív na úroveň 54 ct/kg hrozí aj za predpokladu, že by celková podpora z národných

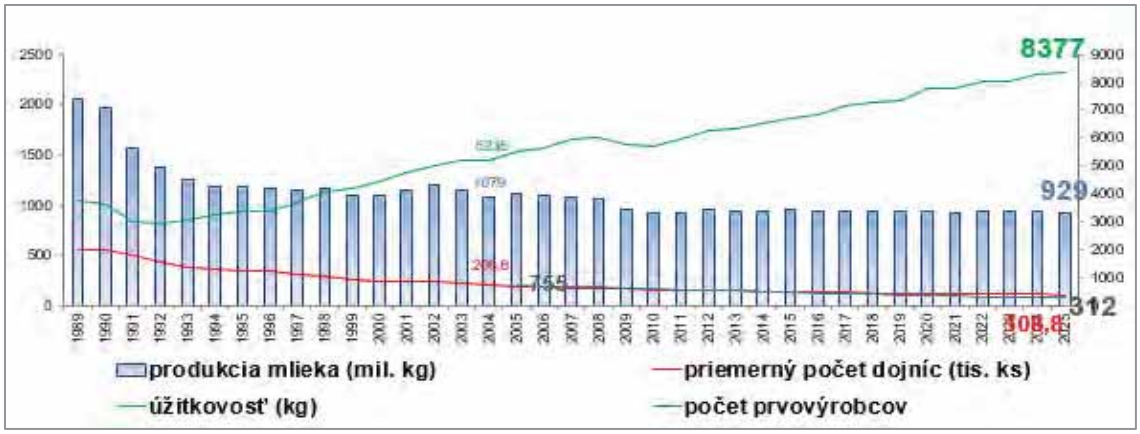
aj európskych zdrojov dosiahla úroveň z roku 2025, strata v sektore mlieka v celkovej výške až 69 mil. EUR.

Takýto trend môže spôsobiť oslabenie konkurencieschopnosti slovenského sektoru prvovýroby mlieka, ďalší pokles počtu dojníc a počtu prvovýrobcov mlieka na Slovensku a tým aj ohrozenie sebestačnosti vo výrobe mlieka na národnej úrovni. Slovenský zväz prvovýrobcov mlieka vypracoval návrh opatrení, ktoré je potrebné prijať na riešenie tejto nepriaznivej situácie na európskej a národnej úrovni.

VÝVOJ A SÚČASNÝ STAV V SEKTORE MLIEKA

Od vstupu Slovenska do Európskej únie v roku 2004 postupne došlo k poklesu takmer všetkých kľúčových produkčných ukazovateľov v sektore prvovýroby mlieka (Graf č. 1). Priemerný počet dojníc do roku 2025 kontinuálne klesal až na úroveň 108 800 ks, čo predstavuje pokles o 46 %. S tým súvisí pokles produkcie surového kravského mlieka, ktorá sa na Slovensku v rovnakom sledovanom období znížila na úroveň 929 mil. kg, t. j. o 14%.

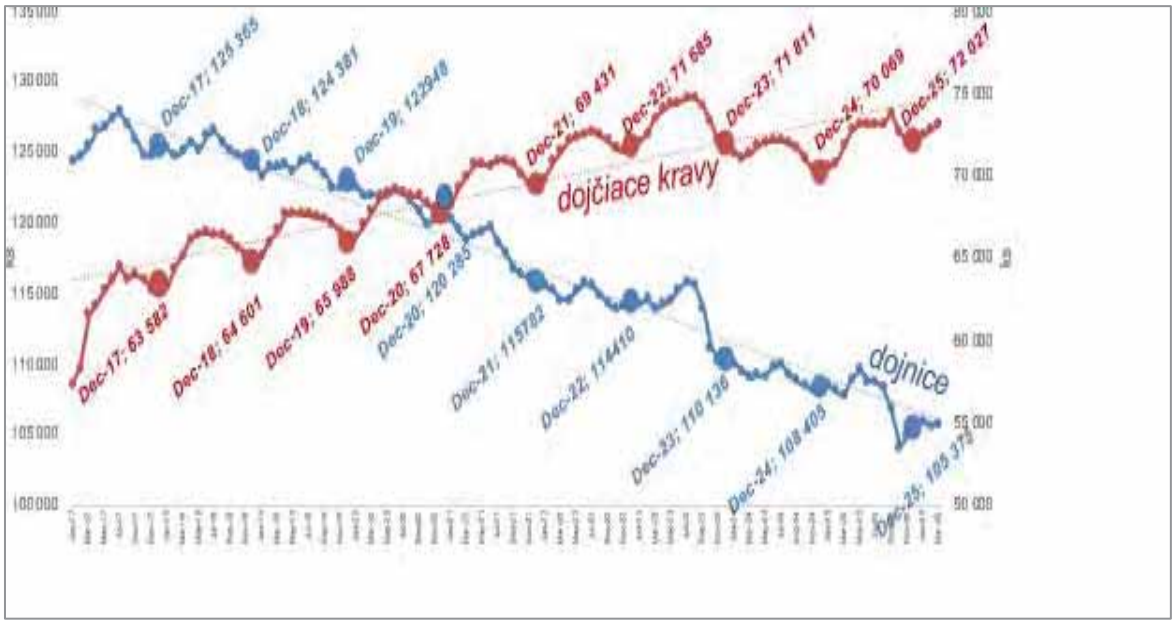
Graf č. 1, Vývoj produkčných ukazovateľov v sektore prvovýroby mlieka na Slovensku



Pozitívny vývoj bol zaznamenaný pri úžitkovosti mlieka, ktorá na Slovensku od roku 2004 narástla o 3 142 kg mlieka na kravu a rok - na úroveň 8 377 kg mlieka na kravu a rok. Dôvody tohto nárastu možno vidieť najmä v dobrých chovateľských a pestovateľských postupoch na strane poľnohospodárskych podnikov a tiež v dobrej kvalite krmív a krmovín v uplynulom roku. Nárast bol zaznamenaný aj pri kvalitatívnych ukazovateľoch surového kravského mlieka. Priemerný obsah tuku v dodanom surovom kravskom mlieku bol v roku 2025 na úrovni 3,96 % a obsah bielkovín na úrovni 3,46 %, pričom v oboch prípadoch ide v porovnaní s uplynulým rokom o navýšenie (obsah tuku o 0,09 percentuálnych bodov a obsah bielkovín o 0,04 percentuálnych bodov).

Pri hodnotení fyzických stavov dojníc ku koncu uplynulého roka, možno konštatovať, že ich počet ku koncu roka 2025 v medziročnom porovnaní klesol na úroveň 105 375 kusov, čo predstavuje pokles o 3 030 kusov, resp. 2,8%. Dlhodobým trendom je nárast počtu kráv bez trhovej produkcie mlieka, ktorých stav ku koncu uplynulého roka bol na úrovni 72 027 ks, čo je medziročný nárast o 1 958 ks, resp. o 1,8 %. Aktuálny stav dojníc k marcu 2026 je 105 760 kusov. Z hľadiska dlhodobého vývoja došlo k zníženiu tempa poklesu stavov dojníc.

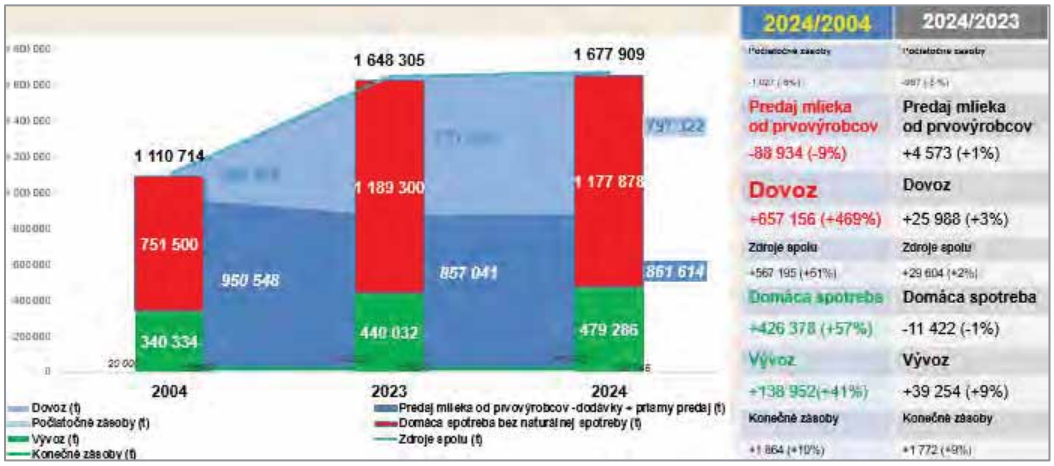
Graf č. 2, Stavy kráv podľa CEHZ – dojné kravy (dojnice) a dojčiace kravy (kravy bez trhovej produkcie mlieka)



Dodávky mlieka boli na Slovensku v roku 2025 na úrovni 812,66 mil. kg. Medziročne klesli o 0,8 mil. kg, resp. o 0,1% . Naopak, na európskom aj svetovom trhu bolo v roku 2025 zaznamenané veľké navýšenie produkcie, resp. dodávok surového kravského mlieka. K najvýraznejšiemu navýšeniu došlo v Anglicku (+770 mil. kg), vo Francúzsku (+461 mil. kg), v Poľsku (+420 mil. kg), v Írsku (+420 mil. kg), v Nemecku (+298 mil. kg) a v Holandsku (+260 mil. kg). Na zvýšenie dodávok v Európskej únii mal vplyv súbor viacerých faktorov, napríklad dobrá kvalita a množstvo krmovín, resp. dobré podmienky na pastvu; nárast počtu dojníc v dôsledku buď plánovanej expanzie alebo lepšieho využitia existujúcich priestorov a technológií); dobré nákupné ceny surového kravského mlieka v prvej polovici minulého roka a tiež zvýšenie úžitkovosti a plodnosti v porovnaní s rokom 2024, kedy boli viaceré chovy dojníc zasiahnuté ochorením Bluetongue.

Bilancia surového kravského mlieka v dlhodobom časovom horizonte od vstupu Slovenska do Európskej únie poukazuje na výrazný nárast dovozu. Ako znázorňuje graf č. 3, dovoz mlieka na Slovensku dlhodobo prevyšuje vývoz.

Graf č. 3, Bilancia surového kravského mlieka v SR

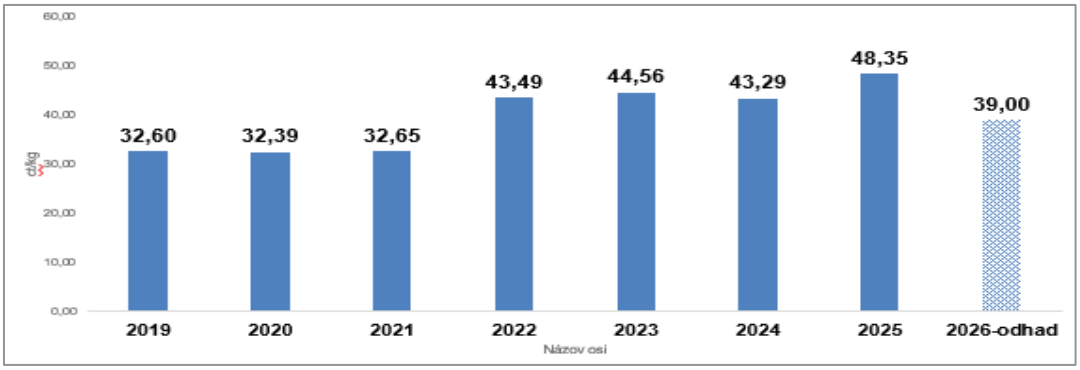


EKONOMIKA VÝROBY MLIEKA

Významný vplyv na ekonomiku výroby mlieka má nákupná cena surového kravského mlieka, výrobné náklady a aj podpora v sektore prvovýroby mlieka.

Nákupná cena mlieka na Slovensku dlhodobo zaostáva za priemerom Európskej únie. V roku 2025 bola priemerná cena mlieka na Slovensku na úrovni 48,35 ct/kg (graf č. 4) a v porovnaní s priemernou európskou cenou za rovnaké obdobie bola o 4,11 ct/kg, resp. o 8% nižšia. Zároveň bola najnižšia spomedzi krajín V4, keď priemerná cena mlieka za rok 2025 bola v Poľsku na úrovni 52,80 ct/kg, v Českej republike na úrovni 52,14 ct/kg a v Maďarsku na úrovni 50,36 ct/kg.

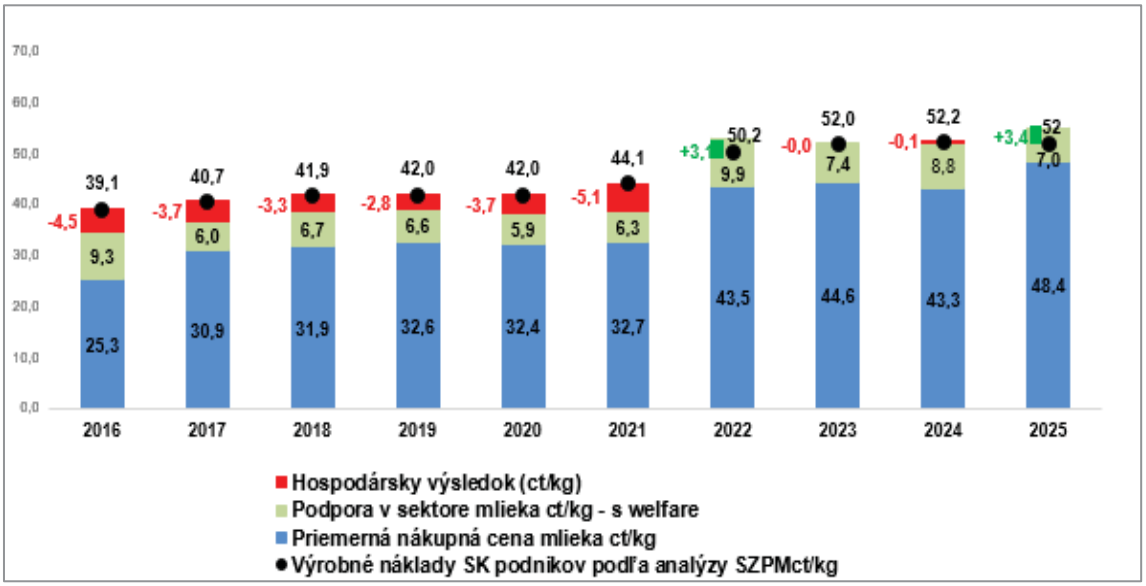
Graf č. 4, Priemerné ročné nákupné ceny surového kravského mlieka na Slovensku



Aktuálne dochádza k poklesu nákupných cien mlieka na európskej aj na národnej úrovni. Podľa odhadov SZPM priemerná cena mlieka na Slovensku klesne v tomto roku oproti roku 2025 takmer o 10 ct/kg na úroveň približne 39 ct/kg, čo predstavuje medziročný pokles o 19%. V rámci európskych krajín dochádza k najvýraznejšiemu poklesu v krajinách, ktoré sú zamerané na export ako napr. Írsko, Nemecko, Dánsko, Poľsko, Holandsko, či Belgicko. Európske ceny mlieka sú však v porovnaní s USA, Austráliou a Novým Zélandom vyššie, čo znevýhodňuje Európsku úniu z hľadiska celosvetového obchodu a výsledkom je, že postupne stráca podiel na celosvetovom exporte.

Nižšie-uvedený graf znázorňuje ekonomiku výroby surového kravského mlieka. Výrobné náklady na mlieko zahŕňajú náklady na všetky kategórie mliečneho hospodárstva, t.j. náklady na dojnice, teľatá, aj mladý dobytok. V posledných rokoch sa výrobné náklady zastabilizovali a pohybovali sa od 50,2 ct/kg v roku 2022 do 52,2 ct/kg v roku 2024. V roku 2025 dosiahli výrobné náklady úroveň 52 ct/kg.

Graf č. 5, Ekonomika v sektore prvovýroby mlieka na Slovensku



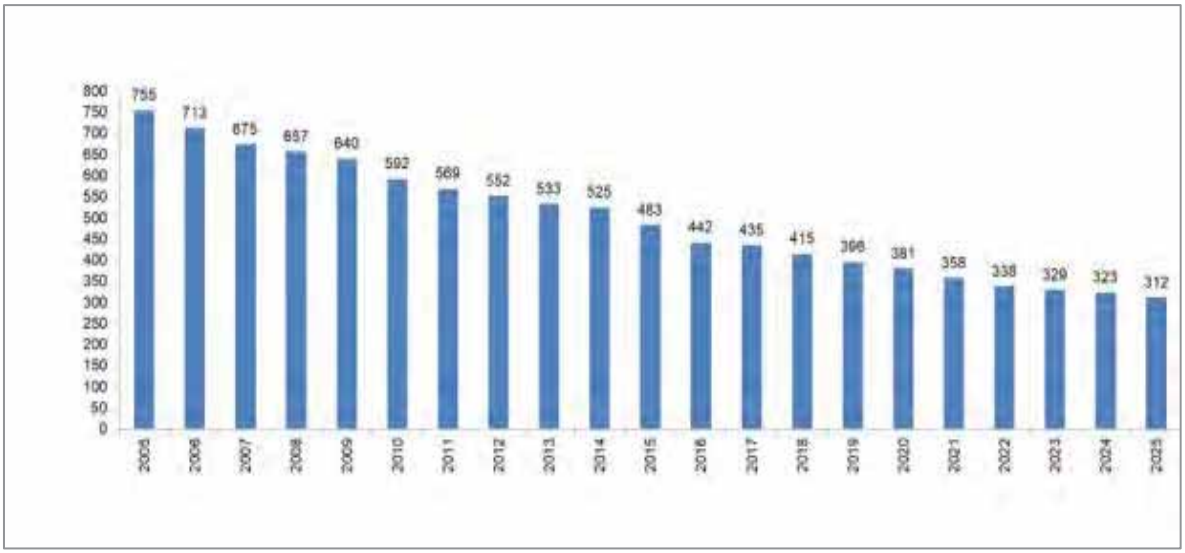
Celková podpora z európskych aj národných zdrojov pre podniky uplatňujúce ustajňovací systém výroby (nie pastevný) v roku 2025 v priemere predstavovala 7 ct/kg, resp. 611 EUR/VDJ. V tejto súvislosti je potrebné uviesť, že podniky prvovýroby mlieka, ktoré dosahujú vyššiu úžitkovosť ako je priemerná, vychádza na kilogram mlieka výrazne nižšia podpora ako je uvedených 7 ct/kg mlieka. Po započítaní podpory dosiahli slovenskí prvovýrobcovia mlieka v roku 2025 kladný hospodársky výsledok 3,4 ct/kg mlieka (graf č. 5).

Bez podpory by prvovýrobcovia mlieka vyrábali so stratou v výške 3,6 centa na každý kilogram mlieka.

V dôsledku nárastu cien pohonných hmôt, energií a hnojív sa na aktuálny rok 2026 očakáva navýšenie výrobných nákladov o 2 ct/kg mlieka (+ 4%) na úroveň 54 ct/kg. Pri výške nákladov na úrovni 54 ct/kg mlieka a predpokladanej priemernej nákupnej cene mlieka na úrovni 39 ct/kg by prvovýrobcovia mlieka na Slovensku dosiahli bez podpory stratu na úrovni 15,4 ct/kg.
Pri predpokladaných ročných dodávkach na úrovni 823 mil. kg (čo je o 1% viac ako v roku 2025), by celková strata za sektor prvovýroby mlieka na Slovensku dosiahla 126 mil. EUR.
Ak by celková podpora z európskych aj národných zdrojov ostala v roku 2026 na rovnakej úrovni ako v uplynulom roku 2025, t.j. vo výške 7 ct/kg mlieka, slovenský podnik prvovýroby mlieka by v priemere dosiahol stratu 8,4 ct/kg, resp. celková strata za sektor prvovýroby mlieka na Slovensku by dosiahla 69 mil. EUR.

POČET PODNIKOV PRVOVÝROBY MLIEKA NA SLOVENSKU

Graf č. 6, Počet prvovýrobcov surového kravského mlieka na Slovensku



Vzhľadom na nízku technologickú úroveň výroby spôsobenú vysokým investičným dlhom, problémom s pracovnou silou, ale aj nižšími príjmami, dlhodobo zaznamenávame na Slovensku pokles počtu podnikov prvovýroby. Pri výhľade ďalšieho poklesu nákupných cien mlieka a náraste výrobných nákladov, očakávame ďalší pokles podnikov prvovýroby mlieka (graf č. 6), čo by mohlo viesť k ďalšiemu zníženiu sebestačnosti vo výrobe mlieka.

ĎALŠIE VÝZVY SLOVENSKÉHO SEKTORU PRVOVÝROBY MLIEKA

Pred slovenským sektorom prvovýroby mlieka stoja viaceré výzvy. Vážnym problémom je dlho-pretrvávajúci vysoký investičný dlh. Aj keď na Slovensku už sú podniky, ktoré investovali prostriedky do moderných a vyspelých ustajňovacích a dojacích technológií, stále veľká časť podnikov prevádzkuje prvovýrobu mlieka na technologicky nízkej úrovni.

Slovenské podniky prvovýroby mlieka tiež čelia častým legislatívnym zmenám a požiadavkám na európskej aj národnej úrovni.

Pozornosť je aktuálne sústredená aj na prípravu novej agrárnej politiky, resp. novému finančnému rámcu, v rámci čoho je okrem iného potrebné zabezpečiť, aby bol chov dojníc vnímaný ako citlivý sektor a tiež zdôrazňovať nevyhnutnosť podpory inovácií v tomto sektore.

Prvovýrobcovia mlieka už dlhodobejšie evidujú problémy s pracovnou silou. Záujem o štúdium poľnohospodárstva a o prácu v živočíšnej výrobe je nízky. Jedným z dôvodov je vysoká konkurencia na trhu práce zo strany priemyslu, najmä automobilového priemyslu.

Celý sektor poľnohospodárstva a teda aj chov dojníc je vystavený klimatickým zmenám a veľkým výkyvom počasia (záplavy, sucho a pod.).

Ochorenie slintačka a krívačka, ktoré ohrozovalo podniky prvovýroby mlieka v prvej polovici roku 2025 poukázalo na to, že je dôležité venovať viac pozornosti zdraviu zvierat a otázkam biosecurity.

Aktuálnym problémom je aj nárast cien pohonných hmôt, ktorý súvisí s konfliktom na Blízkom východe.

PRÍLEŽITOSTI SLOVENSKÉHO SEKTORU PRVOVÝROBY MLIEKA

Dôležitou súčasťou sektora mlieka na Slovensku je aj tzv. Mliečny fond, do ktorého už od roku 2008 prispievajú prvovýrobcovia a prvonákupcovia mlieka prostriedkami v jednotnej sadzbe stanovenej na kg mlieka. Z takto nazbieraných prostriedkoch sú realizované aktivity zamerané na zvyšovanie spotreby mlieka a mliečnych výrobkov. Od založenia Mliečneho fondu po súčasnosť sa spotreba mlieka a mliečnych výrobkov na Slovensku zvýšila na 192 kg /osoba/rok, čo je nárast o takmer 40 kilogramov.

V súvislosti s vyššie spomínanými problémami s pracovnou silou je nevyhnutná komunikácia a osveta medzi mladými ľuďmi, čo najväčšie prepojenie teórie a praxe a tým aj vzbudenie ich záujmu o prácu v prvovýrobe mlieka.

Dôležitá je aj spolupráca so zahraničnými organizáciami, ktorá napomáha získavaniu cenných informácii, poznatkov a k výmene skúseností medzi prvovýrobcami mlieka na medzinárodnej úrovni.

NÁVRH OPATRENÍ NA RIEŠENIE SITUÁCIE V SEKTORE MLIEKA

Slovenský zväz prvovýrobcov mlieka v súvislosti s aktuálnou situáciou v sektore mlieka vypracoval návrh súboru opatrení s cieľom udržať stavy kráv a prvovýrobu mlieka na Slovensku a zlepšiť podnikateľské prostredie, odstránenie veľkého investičného dlhu a vyrovnanie konkurencieschopnosti voči ostatným krajinám. Ide o opatrenia pre sektor prvovýroby mlieka na európskej a na národnej úrovni.

Obrázok č. 1, Opatrenia pre sektor prvovýroby mlieka na európskej úrovni



Opatrenia pre sektor prvovýroby mlieka na európskej úrovni znázorňuje obrázok č. 1. Prvým opatrením by mala byť aktivácia Európskej poľnohospodárskej krízovej rezervy, z ktorej by sa financovalo opatrenie na dobrovoľné zníženie výroby mlieka. Ďalšie opatrenia by sa vzťahovali na reguláciu trhu a zahŕňali by aktiváciu intervenčného nákupu masla a sušeného odstredeného mlieka, aktiváciu súkromného skladovania priemyselných komodít, a opatrenia na zvýšenie exportu mlieka a mliečnych výrobkov. Poslednou skupinou opatrení by boli opatrenia na podporu spotreby mlieka a mliečnych výrobkov, napríklad podpora školského mlieka.

Na národnej úrovni presadzuje SZPM na zlepšenie situácie v sektore mlieka 3 skupiny opatrení. Sú nimi: viaceré intervencie Strategického plánu Spoločnej poľnohospodárskej politiky, opatrenia Štátnej pomoci a Mimoriadnu národnú podporu SR formou kompenzácie strát prvovýrobcov mlieka z dôvodu výpadku tržieb spôsobenej výrazným poklesom nákupných cien mlieka (obrázok č. 2).

Z intervencií Strategického plánu by pomohli zlepšiť situáciu zvýšené sadzby viazanej podpory príjmu a podpory na welfér v rámci neprojektových podpôr, zlepšenie technologickej úrovne podnikov a realizácia investičných projektov v rámci projektových podpôr. Situáciu by mohli

zlepšiť aj opatrenia na posilnenie vyjednávacej sily prvovýrobcov – napríklad prostredníctvom združovania podnikov prvovýroby mlieka do odbytových organizácií v rámci intervencie horizontálna spolupráca. Efektívnym opatrením na zlepšenie transparentnosti v reťazci mlieka by mohlo byť aj vytvorenie medziodvetvovej organizácie sektoru prvovýroby mlieka, spracovania mlieka a obchodu – v rámci intervencie vertikálna spolupráca.

Štátna pomoc by mala byť poskytnutá prostredníctvom viacerých schém, ktoré by mohli prispieť k zlepšeniu situácie v sektore mlieka, napr. schéma na poskytovanie pomoci vo forme úľav na environmentálnych daniach, tzv. zelená nafta, ďalej opatrenie na kompenzáciu nárastu cien energií (zavedenie nového opatrenia vo forme tzv. zelenej energie), znovuzavedením úľav na odvodových povinnostiach pre zamestnávateľov, ale i okamžitým spustením úhrady časti nákladov spojených s vykonávaním služieb zabezpečovaných Plemenárskymi službami SR, poprípade podpory nákladov na vakcináciu proti viacerým chorobám hospodárskych zvierat.

Obrázok č. 2, Opatrenia pre sektor prvovýroby mlieka na národnej úrovni



ZÁVER

Slovenskí prvovýrobcovia mlieka sú v porovnaní s európskymi konkurencieschopní, čo sa týka výrobných nákladov. Nie sú však konkurencieschopní, čo sa týka príjmov, pretože dlhodobo dostávajú za mlieko nižšiu nákupnú cenu. Vzhľadom na aktuálny výrazný pokles nákupných cien mlieka a zvyšujúce sa výrobné náklady je možné situáciu v sektore hodnotiť ako veľmi vážnu. V tejto súvislosti je potrebné prijať opatrenia pre sektor prvovýroby mlieka na národnej aj európskej úrovni. Bez prijatia týchto opatrení hrozí ďalší pokles podnikov prvovýroby mlieka a sebestačnosť Slovenska vo výrobe mlieka.

ZDROJE

Vlastné analýzy Slovenského zväzu prvovýrobcov mlieka na základe údajov od členov SZPM

Grafické a tabuľkové spracovania Slovenského zväzu prvovýrobcov mlieka na základe údajov:

1. Komoditnej a situačnej správy za mlieko, Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka
2. Pôdohospodárskej platobnej agentúry
3. Plemenárskych služieb SR
4. Štátnej veterinárnej a potravinovej správy SR
5. Milk Market Observatory
6. European Dairy Farmers

Kontaktná adresa: Ing. Alexander Pastorek, predseda, Slovenský zväz prvovýrobcov mlieka, Výstavná 4, 949 01 Nitra, Slovensko. E-mail: szpm@szpm.sk

MIKROSKOPICKÉ HUBY VO VYBRANÝCH KORENINÁCH

MICROSCOPIC FUNGI IN SELECTED SPICES

Pipová Monika, Jevinová Pavlina, Regecová Ivana, Várady Matúš, Mesarčová Lýdia

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

ABSTRACT

Despite their natural antimicrobial potential, spices and herbs can easily become contaminated with microscopic fungi in the pre-harvest and post-harvest periods. In this study, the number of yeasts and molds was determined in samples of four spices purchased at local retail stores (allspice, caraway, fennel and anise) in accordance with STN EN ISO 21527-1/01 and STN EN ISO 21527-2/01 using two selective culture media DRBC and DG-18. The results confirmed the highest number of molds in caraway (up to 9.7×10^3 CFU.g^{-1} on DRBC and 2.0×10^3 CFU.g^{-1} on DG-18), followed by fennel, anise, and allspice. At the same time, the fennel samples showed the highest number of yeasts ($4{,}1\times10^4$ CFU.g^{-1} on DRBC and $5{,}7\times10^4$ CFU.g^{-1} on DG-18), whereas the counts of yeasts in the allspice samples were below the detection limit. Generally, higher numbers of molds were observed on DRBC plates, and the differences between the DRBC and DG-18 culture media were more pronounced in the more haevily contaminated caraway samples. As for yeasts, the differences were less pronounced – in several samples of anise and fennel, the yeast count on DG-18 was comparable to that on DRBC or slightly higher. The results demonstrate that both culture media selectively promote the growth of different microscopic fungi, with DRBC agar being more suitable for detecting a broader spectrum of molds, including fast-growing species, while DG-18 agar is preferred mainly by xerophilic species of the genus *Aspergillus*. This study confirmed that dried spices can be a source of various micromycetes, with the level of contamination depending primarily on the type of spice and the conditions under which it is processed and stored.

Key words: spices, molds, yeasts, micromycetes, microscopic fungi

ÚVOD

Koreniny sú rastlinné komodity oddávna používané pri príprave jedál, ktorým dodávajú špecifické chuťové a aromatické vlastnosti. Vďaka širokému spektru rozmanitých chemických látok (éterických zlúčenín, alkaloidov, fenolov, terpenoidov, flavonoidov, tanínov, organických kyselín, živíc, či sírnych zlúčenín) sú však známe aj svojou prirodzenou antimikrobiálnou

aktivitou (Burt, 2004; Cabicarová et al., 2017). Väčšina korenín pochádza z tropických a subtropických krajín s teplým a vlhkým podnebím, ktoré umožňuje proliferáciu nežiaducich mikroorganizmov, vrátane mikroskopických húb. K bežným mikrobiálnym kontaminantom korenia patria nielen mezofilné baktérie a zástupcovia čeľade Enterobacteriaceae, ale najmä xerofilné druhy mikroskopických vláknitých húb z rodov *Aspergillus* a *Penicillium* (Karan et al., 2005), medzi ktorými sú aj potenciálni producenti mykotoxínov (Garcia et al., 2018; Syamilah et al., 2022; Jevinová et al., 2024). Úroveň mikrobiálnej kontaminácie korenín závisí hlavne od hygienických podmienok počas zberu surovín a následne počas manipulácie, spracovania, skladovania a distribúcie finálnych produktov (Soomro et al., 2022). Koreniny musia byť krátko po zbere očistené od fyzikálnych kontaminantov a vysušené na úroveň vlhkosti bezpečnú pre ich skladovanie (Pandey, 2017). Sušenie je jednou z najstarších fyzikálnych metód konzervácie potravín, podstatou ktorej je zníženie obsahu vody dostupnej pre mikroorganizmy. Práve u korenín je fáza dehydratácie kľúčová, pretože ak prebieha pomaly, môže mať za následok vysokú úroveň mikrobiálnej kontaminácie, zníženie senzorickej kvality a ohrozenie bezpečnosti výrobkov.

MATERIÁL A METODIKA

Stanovenie počtu kvasiniek a mikroskopických vláknitých húb sa vykonávalo vo vzorkách štyroch druhoch korenín z maloobchodnej siete – nové korenie celé (*Pimenta officinalis*), rasca celá (*Cuminum cyminum*), fenikel (*Foeniculum vulgare*) a aníz (*Pimpinella anisum*) podľa pokynov STN EN ISO 21527-1 a 21527-2. Na prípravu základnej suspenzie sa použila oplachová metóda, pri ktorej sa 10 g vzorky korenín miešalo so 100 ml 0,1 %-ného roztoku sterilnej peptónovej vody v laboratórnej miešačke po dobu 15 minút. Ďalšie dve desaťnásobné riedenia sa pripravili štandardným spôsobom podľa STN EN ISO 6887-1. Všetky tri riedenia sa následne vyočkovali rozterom v objeme 0,1 ml na povrch dvoch arbitrážnych kultivačných médií – DRBC (agar s dichlóranom, bengálskou ružovou a chloramfenikolom) a DG-18 (agar s dichlóranom a glycerolom) a inkubovali sa 5 – 7 dní v termostate pri teplote 25 °C. Po stanovenej dobe inkubácie sa spočítali kolónie s charakteristickou morfológiou a vypočítal sa zvlášť obsah kvasiniek a zvlášť obsah mikroskopických vláknitých húb v hmotnostnej jednotke testovaných vzoriek.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Koreniny sa v gastronómii s obľubou používajú pre svoje charakteristické chuťové a aromatické vlastnosti, ale aj kvôli preukázaným konzervačným, antimikrobiálnym a antioxidačným účinkom (Picková et al. 2020). Tieto komodity sú však zároveň veľmi

náchylné na kontamináciu mikroskopickými hubami, najmä ak sú podmienky vhodné pre ich rast. Neefektívne procesy sušenia a nevhodné skladovacie podmienky výrazne zvyšujú pravdepodobnosť mikrobiálnej kontaminácie a tiež riziko vyplývajúce z prítomnosti mykotoxínov (Syamilah et al., 2022).

Mikrobiologická kvalita vzoriek štyroch druhov korenín bola hodnotená na základe počtu a spektra vláknitých húb na dvoch kultivačných médiách. Výsledky uvedené v tabuľke č. 1 poukazujú na rozdielnu úroveň mikrobiálnej kontaminácie v závislosti od druhu vyšetrovaných vzoriek. Najvyššie počty mikromycét vykazovali vzorky rasce. Tieto sa na médiu DRBC pohybovali od $<1{,}0\times10^2$ do $9{,}7\times10^3$ KTJ.g^{-1} a na médiu DG-18 od $<1{,}0\times10^2$ do $2{,}0\times10^3$ KTJ.g^{-1}. Kvasinky boli prítomné vo všetkých analyzovaných vzorkách v počte od $2{,}0\times10^2$ do $9{,}2\times10^3$ KTJ.g^{-1} na médiu DRBC a v rozmedzí od $1{,}0\times10^2$ do $5{,}7\times10^3$ KTJ.g^{-1} na médiu DG-18.

Vzorky feniklu obsahovali oproti ostatným testovaným druhom korenín vyššie počty kvasiniek ($5{,}4\times10^3$ – $4{,}1\times10^4$ KTJ.g^{-1} na agare DRBC a $6{,}5\times10^3$ – $5{,}7\times10^4$ KTJ.g^{-1} na agare DG-18). Počty mikroskopických vláknitých húb na médiu DRBC sa pohybovali od $3{,}0\times10^2$ do $2{,}4\times10^3$ KTJ.g^{-1} a na médiu DG-18 od $1{,}0\times10^2$ do $1{,}1\times10^3$ KTJ.g^{-1}.

V prípade anízu boli zistené nízke až stredne vysoké počty mikromycét (na DRBC od $<1{,}0\times10^2$ do $8{,}1\times10^2$ KTJ.g^{-1} a na DG-18 od $<1{,}0\times10^2$ do $2{,}7\times10^2$ KTJ.g^{-1}). Počty kvasiniek vykazovali výraznú variabilitu, pričom u väčšiny vyšetrovaných vzoriek neboli detegované, avšak v jednotlivých prípadoch dosahovali veľmi vysoké hodnoty (až $1{,}1\times10^5$ KTJ.g^{-1} na DRBC a $1{,}7\times10^5$ KTJ.g^{-1} na DG-18).

Najnižšie počty mikroskopických húb boli stanovené vo vzorkách nového korenia. Výsledky poukázali na minimálnu a sporadickú kontamináciu, ktorá bola u väčšiny vzoriek pod detekčným limitom metódy ($<1{,}0\times10^2$ KTJ.g^{-1}). Počty vláknitých húb u týchto vzoriek dosiahli najvyššiu hodnotu $6{,}0\times10^2$ KTJ.g^{-1} na médiu DRBC a $2{,}0\times10^2$ KTJ.g^{-1} na médiu DG-18. Počty kvasiniek boli u všetkých vzoriek nového korenia pod detekčným limitom metódy.

Z porovnania výsledkov získaných na dvoch kultivačných médiách vyplýva, že u väčšiny vzoriek korenín boli na médiu DRBC zaznamenané vyššie počty mikroskopických vláknitých húb ako na médiu DG-18. Tento rozdiel bol najvýraznejší u vzoriek rasce a čiastočne aj u vzoriek nového korenia a anízu. V prípade kvasiniek boli rozdiely menej výrazné, pričom u niektorých vzoriek (najmä anízu a feniklu) boli zistené počty kvasiniek na médiu DG-18 porovnateľné alebo mierne vyššie ako na médiu DRBC.

Tabuľka č. 1, Počty kvasiniek a mikroskopických vláknitých húb (MVH) v analyzovaných vzorkách korenín

Vzorka	DRBC		DG-18	
	MVH	Kvasinky	MVH	Kvasinky
Nové korenie				
1	$4{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$	$1{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$
2	$<1{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$
3	$<1{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$
4	$<1{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$	$2{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$
5	$6{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$	$2{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$
6	$<1{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$
Rasca				
1	$<1{,}0\times10^2$	$2{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$	$1{,}0\times10^2$
2	$<1{,}0\times10^2$	$9{,}2\times10^3$	$1{,}0\times10^2$	$5{,}7\times10^3$
3	$1{,}5\times10^3$	$3{,}0\times10^2$	$1{,}0\times10^3$	$1{,}6\times10^3$
4	$6{,}5\times10^3$	$4{,}0\times10^2$	$1{,}4\times10^3$	$2{,}0\times10^2$
5	$5{,}6\times10^3$	$7{,}0\times10^2$	$1{,}6\times10^3$	$7{,}0\times10^2$
6	$9{,}7\times10^3$	$5{,}2\times10^2$	$2{,}0\times10^3$	$3{,}0\times10^2$
Aníz				
1	$4{,}0\times10^2$	$1{,}0\times10^2$	$2{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$
2	$8{,}1\times10^2$	$1{,}1\times10^5$	$2{,}7\times10^2$	$1{,}7\times10^5$
3	$1{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$	$1{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$
4	$<1{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$
5	$<1{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$
6	$<1{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$	$1{,}0\times10^2$	$<1{,}0\times10^2$
Fenikel				
1	$3{,}0\times10^2$	$1{,}3\times10^4$	$4{,}5\times10^2$	$1{,}4\times10^4$
2	$4{,}0\times10^2$	$2{,}5\times10^4$	$4{,}0\times10^2$	$3{,}2\times10^4$
3	$2{,}4\times10^3$	$5{,}4\times10^3$	$1{,}1\times10^3$	$6{,}5\times10^3$
4	$7{,}2\times10^2$	$4{,}1\times10^4$	$6{,}0\times10^2$	$5{,}7\times10^4$
5	$5{,}0\times10^2$	$2{,}4\times10^4$	$5{,}0\times10^2$	$4{,}1\times10^4$
6	$4{,}0\times10^2$	$2{,}1\times10^4$	$1{,}0\times10^2$	$1{,}2\times10^4$

Z hľadiska kvalitatívneho bola v analyzovaných vzorkách korenín jednoznačne potvrdená dominancia mikromycét z rodu *Aspergillus*, pričom ich druhové zastúpenie sa líšilo v závislosti od použitého kultivačného média (Tabuľka č. 2) a variabilita druhov sa zvyšovala s počtom mikroskopických vláknitých húb vo vyšetrovaných vzorkách.

Tabuľka č. 2, Identifikované izoláty mikromycét v analyzovaných vzorkách korenín

Koreniny	Izoláty na kultivačnom médiu	
	DRBC	DG-18
Nové korenie	*Aspergillus* spp. (sekcia *Fumigati*), *Fusarium* spp.	*Aspergillus* spp. (sekcia *Nigri* a *Flavi*)
Rasca	*Scopulariopsis* spp, *Penicillium* spp.	*Scopulariopsis* spp., *Aspergillus* spp. (sekcia *Aspergillus*)
Aníz	*Aspergillus* spp. (sekcia *Nigri* a *Circumdati*)	*Aspergillus* spp. (sekcia *Nigri*)
Fenikel	*Fusarium* spp., *Mucor* spp., *Cladosporium* spp.	*Aspergillus* spp. (sekcia *Nigri* a *Flavi*), *Scopulariopsis* spp.

S použitím média DRBC boli vo vzorkách nového korenia identifikované rody *Aspergillus* (sekcia *Fumigati*) a *Fusarium*, zatiaľ čo na DG-18 agare dominoval rod *Aspergillus* zo sekcií *Nigri* a *Flavi*. Pri rasci sa na DRBC vyskytovali najmä rody *Scopulariopsis* a *Penicillium*, kým na DG-18 sa okrem rodu *Scopulariopsis* objavili aj zástupcovia rodu *Aspergillus* zo sekcie *Aspergillus*.

Pri aníze boli na DRBC zaznamenané mikromycéty rodu *Aspergillus* zo sekcií *Nigri* a *Circumdati*, zatiaľ čo na DG-18 sa vyskytovali iba zástupcovia sekcie *Nigri*. Vo fenikli sa na DRBC médiu izolovali rody *Fusarium*, *Mucor* a *Cladosporium*, avšak na DG-18 boli prítomné najmä rody *Aspergillus* (sekcie *Nigri* a *Flavi*) a *Scopulariopsis*.

Uvedené rozdiely naznačujú, že obidve kultivačné médiá selektívne podporujú rast odlišných skupín mikromycét, pričom DRBC agar je vhodnejší na záchyt širšieho spektra mikroskopických vláknitých húb vrátane rýchlo rastúcich druhov, zatiaľ čo DG-18 agar zvýhodňuje najmä xerofilné druhy z rodu *Aspergillus*. Rozdiely vo výkonnosti obidvoch médií sa pripisujú rozmanitosti mikromycét a ich rozdielnym nárokom na živiny, hodnoty pH a aktivity vody potrebné na oživenie stresovaných buniek a tvorbu mycélií (Beuchat a Mann, 2016). Keďže médium DG-18 obmedzuje veľkosť kolónií, vo všeobecnosti sa neodporúča jeho použitie ako univerzálneho média na stanovenie počtu kvasiniek prítomných vo vzorkách

potravinách (Beuchat et al., 2001; Deak et al., 2001). Naopak zloženie DRBC agaru podporuje rýchlejší rast a umožňuje izoláciu širšej palety mikromycét, ktoré vytvárajú na povrchu média väčšie kolónie s lepšie rozoznateľnou morfológiou, preto sa odporúča používať ako univerzálne médium pre mykologické analýzy (Beuchat, Mann, Gurtler, 2007).

Vysokú úroveň kontaminácie korenín mikroskopickými vláknitými hubami potvrdili vo svojich prácach aj iní autori. Výsledky štúdie vykonanej v Malajzii (Nordin et al., 2022) odhalili vysoký počet mikromycét (1,95 – 2,59 log KTJ.g^{-1}) vo vzorkách feniklu, rasce, čierneho korenia a chilli v prášku, zatiaľ čo zo vzoriek badiánu a klinčekov neboli izolované žiadne mikromycéty. Druh *Aspergillus (A.) flavus* prevládal najmä vo vzorkách bieleho korenia (70,0 %) a čierneho korenia (34,0 %), výskyt *A. niger* autori zaznamenali vo vzorkách feniklu (33,3 %), škorice (33,3 %) a čierneho korenia (27,7 %). Vzorky rasce boli podobne ako v našej štúdii kontaminované rôznymi druhmi mikromycét vrátane *A. amstelodami* (8,6 %), *A. chevalieri* (2,9 %), *A. flavus* (2,9 %), *A. niger* (5,7 %), *A. sydowii* (20 %), *Penicillium chrysogenum* (5,7 %), *Chaetomium jabalpurense* (5,7 %) a *Cladosporium tenuissimum* (2,9 %).

Karan et al. (2005) izolovali zástupcov rodu *Aspergillus* vo väčšom či menšom počte zo všetkých vyšetrovaných vzoriek korenín. Prítomnosť mikroskopických vláknitých húb z rodu *Penicillium* potvrdili vo vzorkách celého a mletého bieleho korenia, celej a mletej rasce, mletého cesnaku, mletej cibule, mletých klinčekov a v jednej vzorke mletej červenej papriky. Výskyt ostatných rodov mikromycét bol omnoho zriedkavejší. Zástupcovia rodu *Rhizopus* boli izolovaní zo vzoriek celého čierneho korenia, celej rasce a dvoch vzoriek mletej červenej papriky. V mletej rasci a dvoch vzorkách mletej červenej papriky autori potvrdili tiež prítomnosť *Mucor* spp., v celom a mletom bielom korení *Paecylomyces* spp. a v mletej rasci prítomnosť *Apsydia* spp.

Značný výskyt mikromycét v koreninách preukázali vo svojej štúdii aj Garcia et al. (2018). Mykologickému vyšetreniu podrobili spolu 200 vzoriek rozmarínu, feniklu, škorice, klinčeka, čierneho a bieleho korenia a oregana. S výnimkou klinčeka vykazovali všetky koreniny vysokú úroveň kontaminácie mikroskopickými vláknitými hubami, najmä druhmi z rodov *Aspergillus*, *Penicillium* a *Cladosporium*. V čiernom a bielom korení autori zaznamenali najväčší výskyt toxinogénnych druhov z rodu *Aspergillus* – komplex *A. niger* (52 %), *A. flavus* (32 %), *A. nomius* (12 %), *A. ochraceus* (12 %), *A. parasiticus* (4 %) a *A. carbonarius* (4 %). Produkcia aflatoxínov bola preukázaná u všetkých izolátov *A. nomius* a 66,7 % izolátov *A. flavus* z bieleho korenia a tiež u 14,2 % izolátov *A. flavus* z čierneho korenia. Vzorky oregana síce vykazovali najvyšší počet izolátov komplexu *A. niger* (49), z ktorých však iba 2,04 % produkovalo ochratoxín A. Na základe dosiahnutých výsledkov autori konštatujú, že vysoký počet mikromycét vo vyšetrovaných koreninách môže negatívne

ovplyvňovať senzorickú kvalitu týchto výrobkov a predstavovať zdravotné riziko pre spotrebiteľov.

ZÁVER

Mikrobiologická analýza vzoriek korenín preukázala rozdielnu úroveň kontaminácie plesňami a kvasinkami v závislosti od druhu koreniny. Najnižšia úroveň kontaminácie bola zaznamenaná vo vzorkách nového korenia, kde boli mikroskopické huby detegované len sporadicky a v nízkych počtoch. Naopak, najvyššie počty mikroskopických vláknitých húb boli zaznamenané vo vzorkách rasce, zatiaľ čo fenikel vykazoval najvyššiu úroveň kontaminácie kvasinkami, a to konzistentne vo všetkých analyzovaných vzorkách. Vzorky anízu sa vyznačovali nízkou úrovňou celkovej kontaminácie s výskytom ojedinelých vzoriek s extrémne vysokým počtom kvasiniek. Porovnanie výkonnosti kultivačných médií DRBC a DG-18 ukázalo, že médium DRBC umožnilo u väčšiny vzoriek detekciu vyššieho počtu mikromycét, zatiaľ čo médium DG-18 poskytovalo porovnateľné výsledky najmä pri stanovení počtu kvasiniek a pri vyšetrení vzoriek s dominanciou xerofilných mikromycét. Dosiahnuté výsledky potvrdzujú, že sušené koreniny môžu byť významným zdrojom mikroskopických húb, pričom úroveň kontaminácie je ovplyvnená najmä druhom koreniny a podmienkami jej spracovania a skladovania.

POĎAKOVANIE

Práca bola finančne podporená projektom KEGA č. 009UVLF-4/2026.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BEUCHAT, L. R. – MANN, D. A. Comparison of new and traditional culture-dependent media for enumerating foodborne yeasts and molds. In *Journal of Food Protection*. ISSN 0362-028X, 2016, vol. 79, no. 1, p. 95-111.
2. BEUCHAT, L. R. – MANN, D. A. – GURTLER, J. B. Comparison of dry sheet media and conventional agar media methods for enumerating yeasts and molds in food. In *Journal of Food Protection*. ISSN 0362-028X, 2007, vol. 70, no. 11, p. 2661-2664.
3. BEUCHAT, L. R. et al. Performance of mycological media in enumerating desiccated food spoilage yeasts: An interlaboratory study. In *International Journal of Food Microbiology*. ISSN 0168-1605, 2001, vol.70, no. 1-2, p. 89-96.
4. BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. In *International Journal of Food Microbiology*. ISSN 0168-1605, 2004, vol. 94, no. 3, p. 223-253.

5. CABICAROVÁ, T. et al. Sledovanie inhibičného vplyvu korenín a byliniek na rast *Staphylococcus aureus* v kultivačnom médiu. In *Trendy v potravinárstve*. ISSN 1336-085X, 2017, vol. 22, no. 1, p. 2-15.
6. DEAK, T. et al. Comparison of dichloran 18% glycerol (DG18) agar with general purpose mycological media for enumerating food spoilage yeasts. In *International Journal of Food Microbiology*. ISSN 0168-1605, 2001, vol. 67, no. 1-2, p. 49-53.
7. GARCIA, M. V. et al. Fungi in spices and mycoto×igenic potential of some aspergilli isolated. In *Food Microbiology*. ISSN 0740-0020, 2018, vol. 73, no. 1, p. 93-98.
8. JEVINOVÁ, P. et al. Mykológia a mykotoxikológia krmív a potravín (Vysokoškolská učebnica pre študijný program Bezpečnosť krmív a potravín). 1. vyd. Košice : UVLF, 2023. 351 s. ISBN 978-80-8077-810-1.
9. KARAN, D. D. et al. Presence of moulds and mycotoxins in spices. In *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*. ISSN 0352-4906, 2005, no. 108, p. 77-84.
10. NORDIN, S. et al. Prevalence, identification and mycotoxigenic potential of fungi in common spices used in local Malaysian cuisines. In *Foods*. ISSN 2304-8158, 2022, vol. 11, no. 17, 2548.
11. PANDEY, A. K. Harvesting and post-harvest processing of medicinal plants: Problems and prospects. In *The Pharma Innovation Journal*. ISSN 2349-8242, 2017, vol. 6, no. 12, p. 229-235.
12. PICKOVA, D. et al. A review on mycotoxins and microfungi in spices in the light of the last five years. In *Toxins (Basel)*. ISSN 2072-6651, 2020, vol. 12, no. 12, 789.
13. SOOMRO, T. et al. Microbial assessment of spices available in different markets of Karachi, Pakistan: A food quality index assessment approach. In *Journal of Food Science and Nutrition* ISSN 2470-1076, vol. 8, 146.
14. STN EN ISO 6887-1/A1 Mikrobiológia potravinárskeho reťazca. Úprava analytických vzoriek, príprava základnej suspenzie a desaťnásobných riedení na mikrobiologické skúšanie. Časť 1: Všeobecné pokyny na prípravu základnej suspenzie a desaťnásobných riedení. Zmena A1: Požiadavky a návod na používanie väčšej skúšobnej dávky na kvalitatívne metódy (ISO 6887-1: 2017).
15. STN EN ISO 21527-1/01 Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu kvasiniek a plesní. Časť 1: Metóda počítania kolónií vo výrobkoch s aktivitou vody väčšou ako 0,95 (ISO 21527-1: 2008).
16. STN EN ISO 21527-2/01 Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu kvasiniek a plesní. Časť 1: Metóda počítania kolónií vo výrobkoch s aktivitou vody menšou ako 0,95 alebo rovnajúcou sa 0,95 (ISO 21527-2: 2008).

17. SYAMILAH, N. et al. Mycotoxins and mycotoxigenic fungi in spices and mixed spices: A review. In *Food Research*. ISSN 0095-974X, 2022, vol. 6, no. 4, p. 30-46.

Kontaktná adresa: Pipová Monika, Department of Food Hygiene and Technology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic.E-mail: monika.pipova@uvlf.sk

VYUŽITIE MIKROSKOPICKEJ METÓDY PRI STANOVENÍ ZLOŽIEK Z HMYZU V MLYNSKÝCH VÝROBKOCH

THE USE OF MICROSCOPIC METHOD IN DETERMINING INSECT COMPONENTS IN MILLING PRODUCTS

Pirčová Štefánia [1], Sventeková Anita [2], Vargová Nela [2], Horňáková Ľubica [2]

[1]*Veterinárny a potravinový ústav v Košiciach, Národné referenčné laboratórium pre detekciu živočíšnych proteínov v krmivách*

Hlinkova 1, 043 65 Košice, Slovenská republika

[2]*Univerzitná veterinárna nemocnica, Klinika malých zvierat UVLF v Košiciach*

Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

The increasing use of insect-derived ingredients in foods has created a need for reliable analytical methods for their detection and control. The aim of this study was to evaluate the applicability of a microscopic method validated for feedstuffs for detecting insect-derived components in milling products. Model adulterated samples of milling products were prepared using powdered forms of *Acheta domesticus, Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus* and *Locusta migratoria* at contamination levels ranging from 0.1 to 0.5%. Samples were analysed using light microscopy with a double petroleum ether/tetrachloroethylene (PE/TCE) sedimentation protocol according to Regulation (EC) No 152/2009 and Commission Implementing Regulation (EU) 2022/893. Characteristic insect-derived particles were detected in all contaminated samples, with approximately 5–10 particles observed per sample. The most frequently identified structures were muscle fibres, tracheoles and cuticular fragments. Detection was successful even at the lowest adulteration level (0.1%), demonstrating the suitability of the method as a screening tool for insect-derived particles in food matrices. Characteristic morphological features of exoskeleton fragments were observed for the examined insect species; however, reliable species differentiation in milling products was not possible. The results demonstrate that a microscopic method validated for feed has potential applicability for detection of insect-derived components in food matrices and may represent a useful tool for authenticity testing and official food control.

Keywords: insect-derived ingredients, light microscopy, PE/TCE sedimentation, milling products, processed animal proteins, food authenticity

ÚVOD

Používanie zložiek z hmyzu v potravinách rastlinného a živočíšneho pôvodu bolo povolené Vykonávacím nariadením Komisie (EÚ) 2017/2470, ktorým sa zriaďuje únijný zoznam nových potravín v súlade s nariadením Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2015/2283 o nových potravinách. Podľa prílohy únijného zoznamu nových potravín sú v súčasnosti povolené zložky zo štyroch druhov hmyzu: svrček domový (*Acheta domesticus*), múčiar obyčajný (*Tenebrio molitor*), potemník stajňový (*Alphitobius diaperinus*) a koník sťahovavý (*Locusta migratoria*).

Používanie spracovaných živočíšnych bielkovín získaných z chovného hmyzu bolo povolené aj v krmive pre živočíchy akvakultúry nariadením Komisie (EÚ) 2017/893 a následne pre ošípané a hydinu nariadením Komisie (EÚ) 2021/1372, pričom ich použitie v krmive pre prežúvavce ostáva podľa nariadenia (ES) č. 999/2001 naďalej zakázané.

Podľa Prílohy X k Nariadeniu (EÚ) č. 142/2011 sa spracované živočíšne bielkoviny z chovného hmyzu určené na výrobu krmív môžu získavať iba z ôsmich druhov hmyzu, medzi ktoré patria napríklad *Hermetia illucens, Musca domestica, Tenebrio molitor, Alphitobius diaperinus* a viaceré druhy svrčkov.

V nadväznosti na tieto legislatívne zmeny Referenčné laboratórium Európskej únie pre živočíšne proteíny v krmivách (EURL-AP) vypracovalo a validovalo osobitný analytický protokol vrátane kroku dvojitej sedimentácie petroléter/tetrachlóretylén (PE/TCE), zabezpečujúci detekciu častíc suchozemských bezstavovcov vrátane hmyzu v kŕmnych surovinách, kŕmnych zmesiach a premixoch. Tento protokol bol zapracovaný do Vykonávacieho nariadenia Komisie (EÚ) 2022/893.

Detekcia zložiek pochádzajúcich z chovného hmyzu je založená na identifikácii typických mikroskopických znakov, ako sú svalové vlákna, štetinky, kutikulárne fragmenty, tracheálny systém, elementy exoskeletu a časti ústneho ústrojenstva.

Keďže uvedená metodika bola validovaná pre krmivá, jej aplikácia na potravinové matrice predstavuje nový prístup, ktorého využiteľnosť je predmetom tejto práce.

CIEĽ PRÁCE

Cieľom práce bolo overiť využiteľnosť mikroskopickej metódy validovanej pre krmivá pri detekcii zložiek z hmyzu v mlynských výrobkoch.

MATERIÁL A METODIKA

Na stanovenie zložiek z chovného hmyzu bola použitá metóda svetelnej mikroskopie podľa Nariadenia (ES) č. 152/2009 s osobitným protokolom dvojitej sedimentácie

petroléter/tetrachlóretylén (PE/TCE) podľa Vykonávacieho nariadenia Komisie (EÚ) 2022/893.

Príprava modelových vzoriek

Na experiment boli pripravené modelovo adulterované vzorky mlynských výrobkov s prídavkom práškových foriem jednotlivých druhov hmyzu:

1. špaldová celozrnná krupica + 0,25 % *Acheta domesticus*
2. jemné ovsené vločky + 0,1 % *Tenebrio molitor*
3. pšeničná múka hladká + 0,1 % *Alphitobius diaperinus*
4. pohánková múka hladká + 0,5 % *Locusta migratoria*

Vzorky boli homogenizované a analyzované ako modely úmyselnej adulterácie.

Príprava vzoriek sedimentáciou

Mikroskopické skúmanie sa vykonalo po príprave vzoriek protokolom dvojitej sedimentácie PE/TCE podľa Vykonávacieho nariadenia Komisie (EÚ) 2022/893. Všetky kroky boli realizované v sklenenom kónickom oddeľovacom lieviku s objemom 250 ml. Navážka 10 g rozomletej podvzorky (±0,01 g) bola najskôr podrobená primárnej sedimentácii v tetrachlóretyléne vrátane odobratia sedimentu na filtračnom papieri.

Zachytený objem 30 ml TCE bol následne nahradený 30 ml petroléteru (40–60 °C), čím vznikla zmes 30 % PE / 70 % TCE (hustota približne 1,26 g.cm^{-3}). Po premiešaní a desaťminútovej sedimentácii vznikli dve frakcie:

- druhý sediment
- konečný flotát (<1,26 g.cm^{-3})

Obe frakcie boli oddelene zozbierané, konečný flotát vysušený a preosiaty sitom s veľkosťou ôk 0,25 mm na jemnú a hrubú frakciu určenú na mikroskopické hodnotenie.

Mikroskopické skúmanie

Mikroskopické skúmanie sa vykonalo po príprave vzoriek sedimentáciou. Na zisťovanie zložiek suchozemských bezstavovcov bol použitý krok dvojitej sedimentácie petroléter/tetrachlóretylén (PE/TCE) (obr. 1).

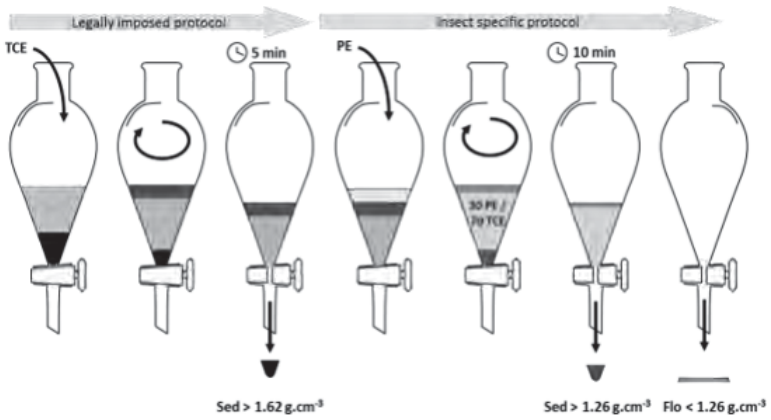
Mikroskopické podložné sklíčka boli pripravené zo sedimentu aj konečného flotátu. Jemná a hrubá frakcia boli reprezentatívne nanesené na podložné sklíčka a zaliate preparačným činidlom podľa štandardných operačných postupov EURL-AP. Preparáty boli prekryté krycími sklíčkami.

Pozorovania sa realizovali kombinovaným mikroskopom pri rôznych zväčšeniach; pri hrubších frakciách bol použitý aj stereoskopický mikroskop. Celá plocha preparátu bola systematicky preskúmaná na prítomnosť častíc hmyzieho pôvodu.

Identifikácia bola založená na prítomnosti typických mikroskopicky rozpoznateľných znakov, ako sú:

- svalové vlákna,
- štetinky,
- kutikulárne fragmenty bezstavovcov,
- tracheálny systém hmyzu,
- elementy exoskeletu,
- časti ústneho ústrojenstva.

Každá vzorka bola analyzovaná v paralelných stanoveniach.



Obrázok 1. Schéma dvojitej sedimentácie PE/TCE (zdroj: EURL-AP).

Výsledky

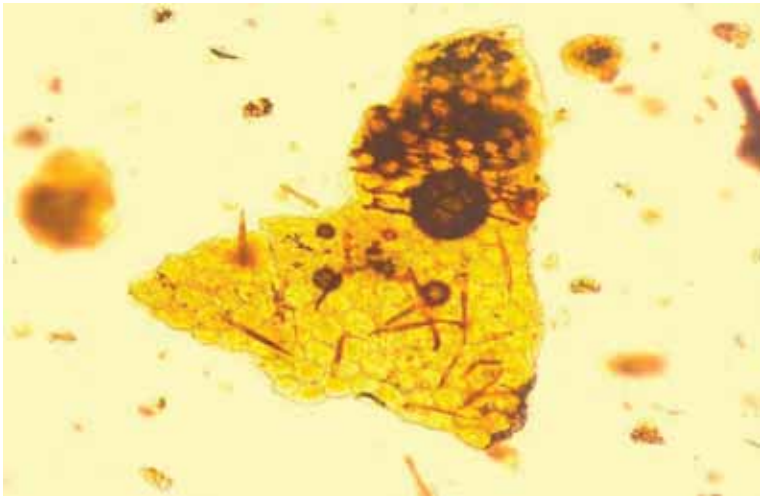
Vo všetkých modelovo adulterovaných vzorkách mlynských výrobkov boli mikroskopicky detegované charakteristické partikuly hmyzieho pôvodu. V jednotlivých vzorkách bolo stanovených približne 5–10 partikúl, pričom najčastejšie pozorovanými štruktúrami boli svalové vlákna, tracheoly a kutikulárne fragmenty.

Detekcia bola úspešná vo všetkých analyzovaných matriciach vrátane najnižšej testovanej úrovne adulterácie 0,1 %, čo poukazuje na vhodnosť mikroskopickej metódy s dvojitou sedimentáciou PE/TCE na skríningovú detekciu zložiek hmyzieho pôvodu v mlynských výrobkoch.

Použitá metodika umožnila detekciu častíc spracovaných živočíšnych proteínov (PAP) pochádzajúcich z hmyzu. Spoľahlivá druhová identifikácia v modelových vzorkách mlynských výrobkov však nebola možná.

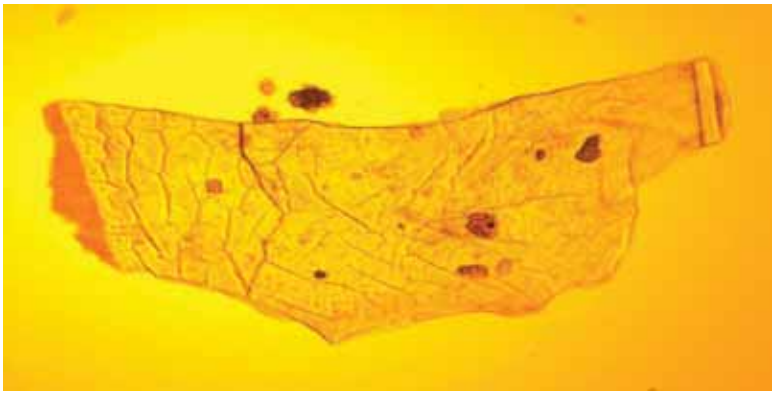
Mikroskopické pozorovanie zároveň preukázalo charakteristické morfologické znaky exoskeletu jednotlivých druhov hmyzu.

Mucha bránivka (*Hermetia illucens*) sa vyznačovala fragmentmi exoskeletu sivokrémovej až tmavohnedej farby, často vo forme šupín pripomínajúcich bunkovú štruktúru medového plástu. Na fragmentoch boli často prítomné dlhé tenké žltohnedé štetinky (obr. 2).



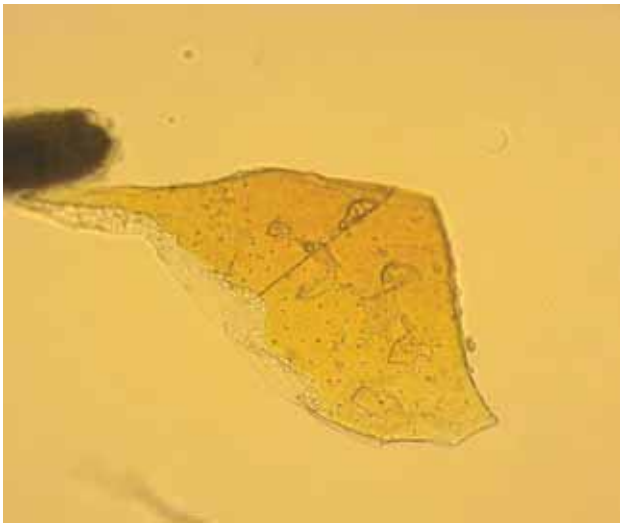
Obrázok 2.

Múčiar obyčajný (*Tenebrio molitor*) vykazoval exoskeletálne fragmenty sivej až jantárovej farby so štruktúrou tvorenou tmavohnedými bodkami, z ktorých miestami vyčnievali jednotlivé štetinky (obr. 3).



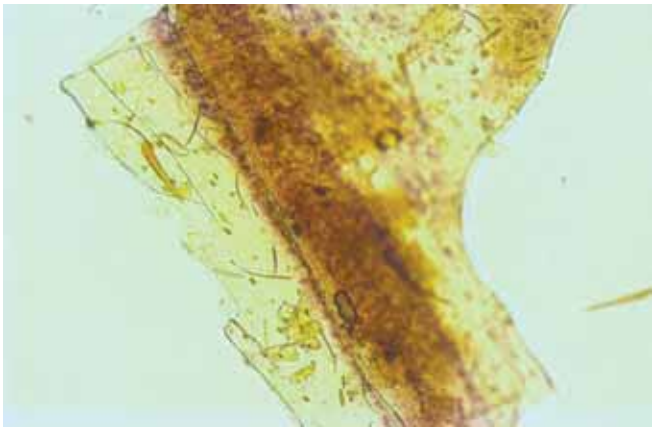
Obrázok 3.

Potemník stajňový (*Alphitobius diaperinus*) mal typické elementy exoskeletu svetložltej až tmavožltej farby s čiernymi bodkami bez prítomnosti štetiniek (obr. 4).



Obrázok 4

Svrčky (*Acheta domesticus, Gryllodes sigillatus, Gryllus assimilis*) sa vyznačovali šupinkovými fragmentmi svetlo až tmavohnedej farby s početnými bodkami a často vystupujúcimi štetinkami rôznej dĺžky a hrúbky (obr. 5).



Obrázok 5

Pozorované morfologické rozdiely dokumentované na mikrofotografiách (obr. 2–5) potvrdzujú využiteľnosť mikroskopických znakov pri detekcii častíc hmyzieho pôvodu. Výsledky naznačujú, že mikroskopická metóda validovaná pre krmivá má potenciál využitia aj pri analýze potravinových matríc.

ZÁVER

Mikroskopickou metódou s dvojitou sedimentáciou PE/TCE boli vo všetkých modelovo adulterovaných vzorkách mlynských výrobkov úspešne detegované zložky hmyzieho pôvodu.

Vo vzorkách boli identifikované charakteristické mikroskopické štruktúry, najmä svalové vlákna, tracheoly a kutikulárne fragmenty, pričom v jednotlivých vzorkách bolo stanovených približne 5–10 partikúl hmyzieho pôvodu.

Výsledky preukázali, že metóda validovaná pre krmivá je využiteľná aj pri detekcii zložiek z hmyzu v potravinových matriciach a predstavuje vhodný skríningový nástroj laboratórnej kontroly. Limitáciou metódy zostáva nemožnosť spoľahlivej druhovej diferenciácie jednotlivých druhov hmyzu. Získané výsledky naznačujú potenciál adaptácie tejto metodiky aj pre oblasť autentifikácie a úradnej kontroly potravín.

Z uvedených druhov sa podľa IPIFF za perspektívne druhy pre budúce využitie na potravinárske a kŕmne účely považujú najmä *Hermetia illucens* a *Tenebrio molitor*.

LITERATÚRA U AUTOROV

Kontaktná adresa: Pirčová Štefánia, MVDr., Veterinárny a potravinový ústav v Košiciach, Národné referenčné laboratórium pre detekciu živočíšnych proteínov v krmivách, Hlinkova1/A, 043 65 Košice, Slovenská republika. E-mail: stefania.pircova@svpu.sk

SNIŽOVÁNÍ ALERGENICITY ROSTLINNÝCH PROTEINŮ

REDUCING THE ALLERGENICITY OF PLANT PROTEINS

Pospiech Matej, Bartlová Marie, Javůrková Zdeňka, Dobeš Jan, Havlová Lenka

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 article addresses the current issue of food allergies triggered by highly stable plant proteins (particularly wheat, soy, and peanuts) and innovative methods for actively reducing their allergenicity. The primary investigated approaches include the application of natural bioactive compounds (polyphenols and flavonoids) and modern nanomaterials (Ag, ZnO, and TiO2 nanoparticles). These compounds exhibit a strong affinity for food proteins, binding to them and inducing structural and conformational changes. The resulting complexes effectively mask allergenic epitopes, preventing their recognition by specific antibodies. To objectively evaluate these modifications, the article emphasises the necessity of a multi-methodological approach. The commonly used ELISA method faces limitations in modified matrices due to potential interferences. Therefore, it is crucial to combine it with physicochemical techniques (Raman spectroscopy, turbidimetry) and, to verify the functionality of the masking, with in vitro digestion models and immunoblotting.

Key words: gluten, celiac disease, nanoparticles food additives, food allergy

ÚVOD

Potravinové alergie představují v současnosti jeden z nejvýznamnějších zdravotních problémů, který postihuje rostoucí procento dětí i dospělých v celosvětovém měřítku (Battais et al., 2003). Mezi nejčastější spouštěče IgE-zprostředkovaných reakcí, ale i dalších imunitních onemocnění (např. celiakie) které jsou zprostředkovány IgA, patří rostlinné proteiny (Gianfrani et al., 2015). Rizikové jsou zejména proteiny pšenice (gliadiny a gluteniny), sóji luštinaté a podzemnice olejné. Tyto proteiny vykazují extrémní strukturní stabilitu a odolnost vůči štěpení pepsinem v žaludku, což z nich činí velmi potentní spouštěče alergických reakcí i při průniku do střevního traktu (Bøgh - Madsen, 2016). U senzibilizovaných jedinců tak mohou i stopová množství vyvolat anafylaktický šok (Asensio et al., 2008).

Pro potravinářské podniky z toho vyplývá nutnost zavedení přísných kontrolních mechanismů. V praxi se nejčastěji využívají imunochemické metody, především ELISA

(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), které slouží k detekci skrytých alergenů, prevenci křížové kontaminace v provozu a zajištění správného značení výrobků (Asensio et al., 2008). Moderní výzkum se však již nesoustředí pouze na detekci, ale aktivně hledá cesty, jak přirozenou alergenicitu rostlinných proteinů v potravinových matricích cíleně snižovat. Velmi slibnými nástroji se v tomto ohledu ukazují být přirozené rostlinné bioaktivní látky a moderní nanomateriály (Pu et al., 2020; Havlová et al., 2025; Pospiech et al., 2022).

SNIŽOVÁNÍ ALERGENICITY BIOAKTIVNÍMI LÁTKAMI

Rostlinné sekundární metabolity, mezi které patří především polyfenoly a flavonoidy (např. kyselina gallová, kyselina kávová, kvercetin, rutin, katechin či extrakty z brusinek a zeleného čaje, hroznového, petrželového a borůvkového extraktu), vykazují silnou afinitu k interakci s potravinovými proteiny (Havlová et al., 2025; Van Buiten et al., 2018; Pérot et al., 2017; Pospiech et al., 2022). Tyto látky se na proteiny vážou prostřednictvím kovalentních i nekovalentních interakcí, zejména vodíkových můstků a hydrofobních interakcí (Pu et al., 2020). Tento pokles imunoreaktivity často sleduje specifický trend – k maximální inhibici dochází při nižších koncentracích (obvykle do 1,5 %), přičemž při vyšším dávkování může v detekčních systémech dojít k opětovnému zdánlivému nárůstu imunoreaktivity (Havlová et al., 2025). Tato data korespondují se zjištěními dalších autorů; například Pérot et al. (2017) potvrdili, že polyfenolické extrakty z brusinek tvoří s pšeničnými gliadiny nerozpustné komplexy, efektivně maskují epitopy na dot blotu s využitím IgE protilátek alergiků a signifikantně snižují degranulaci bazofilů (Pérot et al., 2017). Podobný imunoredukční mechanismus prokázali Van Buiten et al. (2018), kteří aplikací polyfenolů ze zeleného čaje omezili gliadinem zprostředkovanou zánětlivou reakci a propustnost střevních buněk, k čemuž došlo primárně díky precipitaci gliadinu a inhibici jeho digesce (Van Buiten et al., 2018).

U pšeničného gliadinu byla potvrzena silná afinita zejména k rutinu a kyselině gallové (Havlová et al., 2025). Interakce s těmito látkami vede k formování stabilních proteinových komplexů, což se makroskopicky projevuje nárůstem turbidity (zákalu) roztoku. Jak uvádí Girard, tvorba makromolekulárních komplexů omezuje expozici proteinu vůči rozpouštědlu a usnadňuje vznik zákalu a následnou sedimentaci (Girard, 2022). Vznik těchto nerozpustných komplexů efektivně vede k „maskování“ alergenních epitopů (Pérot et al., 2017). Na molekulární úrovni vede tato interakce ke změně konformace proteinu. Výzkum Pu et al. potvrzuje, že vazba flavonoidů vyvolává přeměnu sekundárních struktur – specificky dochází k úbytku α-helixu ve prospěch β-skládaných listů a neuspořádaných smotků (random coils) (Pu et al., 2020). Právě tyto strukturní přestavby znemožňují specifickým protilátkám rozpoznat svá vazebná místa

SNIŽOVÁNÍ ALERGENICITY NANOČÁSTICEMI

Inovativním přístupem k modifikaci alergenních proteinů je využití nanočástic kovů a jejich oxidů (např. stříbro – Ag, oxid zinečnatý – ZnO nebo Oxid titaničitý – TiO_2) (Havlová et al., 2023). Nanočástice disponují vysokým poměrem povrchu k objemu, což jim umožňuje účinně interagovat s proteiny za vzniku tzv. proteinové korony a stericky stínit klíčové domény (Reymond-Laruinaz et al., 2016). Z našich výsledků vyplývá, že zejména nanočástice ZnO, TiO_2 a Ag mají výrazný inhibiční vliv na imunoreaktivitu u proteinů (Havlová et al., 2023). Spektroskopické analýzy odhalily, že nanočástice stříbra tvoří s gliadinem povrchové vazby – primárně interagují s aromatickými aminokyselinami (tyrosin, tryptofan) a zapojují se do disulfidických vazeb proteinu, čímž generují zcela nové absorpční peaky a vedou k radikálnímu nárůstu turbidity (Barth - Zscherp, 2002). Z tohoto důvodu předpokládáme, že důvodem snižování alergenicity je shlukování alergenních domén do struktur nepřístupných pro protilátky. Zjištění, že interakce s nanočásticemi ovlivňuje amidové vazby a vede ke změnám imunoreaktivity, se shodují se studií Cölfen et al., kteří doložili, že vazba nanočástic s proteiny ovlivňuje jejich přirozenou imunoreaktivitu a makroskopicky se projevuje změnami v turbidimetrických parametrech (Cölfen et al., 2002). Zároveň Reymond-Laruinaz et al. ve své studii potvrdili, že biokonjugace stříbrných nanočástic s proteiny silně ovlivňuje oblast amidové vazby I a III, což odpovídá našim pozorováním spektrálních změn na konformační úrovni (Reymond-Laruinaz et al., 2016). Podobně jako u polyfenolů i zde hraje roli koncentrace – zatímco střední koncentrace stříbra alergenicitu nemění, nadměrné koncentrace radikálně snižují množství lepku detekovatelného ELISA metodou (Havlová et al., 2025).

METODY PRO SLEDOVÁNÍ ZMĚNY ALERGENICITY

Pro objektivní posouzení změny alergenicity po aplikaci bioaktivních látek a nanočástic je klíčové využití kombinace imunochemických a fyzikálně-chemických metod, neboť samotné rutinní přístupy aplikované na upravené potravinové matrice mají zásadní omezení (Asensio et al., 2008; Lupi et al., 2019).

ELISA je standardem pro kvantifikaci alergenů v průmyslu. U modifikovaných matric ale naráží na limity. Naše zjištění potvrzují, že různé komerční kity poskytují po přídavku bioaktivních látek dramaticky odlišné výsledky (Havlová et al., 2025). Tyto rozdíly nespočívají jen v maskování epitopů, ale v přímé interferenci přísad s detekčním systémem kitu. Jak například doložili Li et al., určité koncentrace antioxidantů nebo nanočástic mohou přímo inhibovat, nebo naopak katalyzovat peroxidázovou reakci se substrátem TMB, jenž se v ELISA kitech běžně využívá (You et al., 2008; Li et al., 2019). Kity reagují odlišně na základě různého

pH pufrů a složení extrakčních roztoků. Pro kontrolní účely u modifikovaných produktů je proto nutná pečlivá validace.

Spektroskopické metody (Ramanova spektroskopie, UV-VIS, Turbidimetrie) jsou naprosto nepostradatelné pro studium interakcí na úrovni konformačních změn proteinů. Ramanova spektroskopie spolehlivě detekuje konformační změny – po přidání polyfenolů a nanočástic k lepkovým frakcím zaznamenáváme signifikantní změny intenzity v oblastech amidových vazeb I, II a III, u disulfidických můstků (kolem 530 a 800 cm-1) i v oblastech typických pro π-π stohovací interakce aromatických jader (Reymond-Laruinaz et al., 2016). Použití Ramanovy spektroskopie pro sledování sekundárních struktur a proteinových modifikací lepku vyzdvihují jako vysoce přesné také další autoři (Kuhar and Umapathy, 2021; Kłosok et al., 2021; Krekora et al., 2023; Welc et al., 2022).

SDS-PAGE a Imunoblotting jsou techniky sledující změny přímo na molekulární úrovni. Jak ale upozorňují Lupi et al. (2019), při vývoji hypoalergenních matric není možné sledovat proteiny jen v jejich syrovém či tepelně upraveném stavu. Skutečná funkčnost maskování se musí ověřovat i při in vitro digescích, protože modifikované komplexy gliadinu, mohou po natrávení intestinálními enzymy opět začít procházet přes buněčné membrány střeva (např. v Caco-2 modelu) a obnovit tak svou schopnost degranulovat buňky. Kombinace elektroforézy, in vitro digesce a imunoblottingu tak představuje nutný finální krok validace každé modifikace zaměřené na snižování alergenního potenciálu.

ZÁVĚR

Cílené snižování alergenicity rostlinných proteinů pomocí přirozených bioaktivních látek a nanočástic představuje slibný směr moderního potravinářského výzkumu. Tyto inovativní přístupy dokážou prostřednictvím komplexace a konformačních změn účinně maskovat alergenní epitopy, a tím snižovat celkovou imunoreaktivitu. Důležité je ale si uvědomit, že pro spolehlivou kontrolu těchto hypoalergenních úprav nedostačují standardní metody, jako je samotná ELISA, a to kvůli přímé interferenci přidaných látek s detekčními kity. K úspěšnému vývoji modifikovaných potravinových matric je proto nezbytná komplexní analytická strategie, která propojuje imunochemické postupy ze spektroskopickými metodami (např. Ramanovou spektroskopií) a s finální validací pomocí *in vitro* trávicích testů, aby byla zaručena stabilita maskování alergenů i během trávení v lidském těle.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce vznikla za podpory projektu Veterinární univerzity Brno ITA/Tremlová/2026 „Technologie pro udržitelnou výrobu potravin a mechanismy ochrany zdraví před alergenními složkami potravin“.

POUŽITÁ LITERATURA

1. ASENSIO, L. et al. Determination of food authenticity by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). In *Food Control* [online]. 2008, vol. 19, no. 1, p. 1–8. ISSN 09567135.
2. BARTH, A. - ZSCHERP, C. What vibrations tell about proteins. In *Quarterly Reviews of Biophysics* [online]. 2002, vol. 35, no. 4, p. 369–430. ISSN 0033-5835.
3. BATTAIS, F. et al. Food allergy to wheat: identification of immunogloglin E and immunoglobulin G-binding proteins with sequential extracts and purified proteins from wheat flour. In *Clinical & Experimental Allergy* [online]. 2003, vol. 33, no. 7, p. 962–970. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2222.2003.01592.x>. ISSN 0954-7894.
4. BØGH, K.L. - MADSEN, C.B. Food Allergens: Is There a Correlation between Stability to Digestion and Allergenicity? In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 2016, vol. 56, no. 9, p. 1545–1567. ISSN 15497852.
5. CÖLFEN, H. et al. Mechanism of Nanoparticle-Enhanced Turbidimetric Assays Applying Nanoparticles of Different Size and Immunoreactivity. In *Langmuir* [online]. 2002, vol. 18, no. 20, p. 7623–7628. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/la025983n>. ISSN 0743-7463.
6. GIANFRANI, C. et al. Extensive in vitro gastrointestinal digestion markedly reduces the immune-toxicity of Triticum monococcum wheat: Implication for celiac disease. In *Molecular Nutrition and Food Research* [online]. 2015, vol. 59, no. 9, p. 1844–1854. ISSN 16134133.
7. GIRARD, A.L. Moderate heat enhances gliadin-proanthocyanidin interactions. In *Food Chemistry* [online]. 2022, vol. 393, p. 133331. ISSN 0308-8146.
8. HAVLOVÁ, L. et al. Effect of selected bioactive substances and nanoparticles on the immunoreactivity of edible packages containing chitosan, by the ELISA method. In *Food and Agricultural Immunology* [online]. 2023, vol. 34, no. 1. ISSN 14653443.
9. HAVLOVÁ, L. et al. The Inhibitory Effect of Bioactive Substances on Immunoreactivity of Gluten and Crustacean Protein by ELISA Method. In *Journal of Food Biochemistry* [online]. 2025, vol. 2025, no. 1. ISSN 17454514.

10. KŁOSOK, K. et al. Effects of Physical and Chemical Factors on the Structure of Gluten, Gliadins and Glutenins as Studied with Spectroscopic Methods. In *Molecules* [online]. 2021, vol. 26, no. 2, p. 508. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/1420-3049/26/2/508/htm>. ISSN 1420-3049.
11. KREKORA, M. et al. Raman and thermal (TGA and DSC) studies of gluten proteins supplemented with flavonoids and their glycosides. In *Journal of Cereal Science* [online]. 2023, vol. 111. ISSN 10959963.
12. KUHAR, N. - SIL, S. - UMAPATHY, S. Potential of Raman spectroscopic techniques to study proteins. In *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* [online]. 2021, vol. 258, no. 119712. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.119712>.
13. LI, X. - KONG, C. - CHEN, Z. Colorimetric Sensor Arrays for Antioxidant Discrimination Based on the Inhibition of the Oxidation Reaction between 3,3′,5,5′-Tetramethylbenzidine and Hydrogen Peroxides. In *ACS Applied Materials & Interfaces* [online]. 2019, vol. 11, no. 9, p. 9504–9509. ISSN 1944-8244.
14. LUPI, R. et al. Thermal treatment reduces gliadin recognition by IgE, but a subsequent digestion and epithelial crossing permits recovery. In *Food Research International* [online]. 2019, vol. 118, p. 22–31. ISSN 18737145.
15. PÉROT, M. et al. Polyphenol Interactions Mitigate the Immunogenicity and Allergenicity of Gliadins. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2017, vol. 65, no. 31, p. 6442–6451. ISSN 15205118.
16. POSPIECH, M. et al. Effect of Bioactive Substances on the Immunoreactivity of Allergens. In *Food safety and food quality. Proceedings of the scientific papers* [online]. 2022, p. 139–142.
17. PU, P. et al. Six flavonoids inhibit the antigenicity of β-lactoglobulin by noncovalent interactions: A spectroscopic and molecular docking study. In [online]. 2020. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128106>.
18. REYMOND-LARUINAZ, S. et al. Protein–nanoparticle interaction in bioconjugated silver nanoparticles: A transmission electron microscopy and surface enhanced Raman spectroscopy study. In *Applied Surface Science* [online]. 2016, vol. 389, p. 17–24. ISSN 0169-4332.
19. VAN BUITEN, C.B. - LAMBERT, J.D. - ELIAS, R.J. Green Tea Polyphenols Mitigate Gliadin-Mediated Inflammation and Permeability in Vitro. In *Molecular Nutrition and Food Research* [online]. 2018, vol. 62, no. 12. ISSN 16134133.

20. WELC, R. et al. Effect of chemical structure of selected phenolic acids on the structure of gluten proteins. In *Food Chemistry* [online]. 2022, vol. 389. ISSN 18737072.
21. YOU, J. et al. Development of a monoclonal antibody-based competitive ELISA for detection of β-conglycinin, an allergen from soybean. In *Food Chemistry* [online]. 2008, vol. 106, no. 1, p. 352–360. ISSN 03088146.

Kontaktná adresa: Pospiech Matej, Department of Plant Origin Food Science, Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology, University of Veterinary Sciences Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno,Czech Republic. E-mail: mpospiech@vfu.cz

MIKROPLASTY V POTRAVINÁCH ROSTLINNÉHO PŮVODU A MOŽNOSTI JEJÍCH DETEKCE

MICROPLASTICS IN PLANT-BASED FOODS AND METHODS FOR THEIR DETECTION

Pospiech Matej [1], Fikselová Martina [2], Javůrková Zdeňka [1], Tremlová Bohuslava [1]

[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]Ústav potravinářství, Fakulta biotechnologie a potravinářství, Slovenská zemědělská univerzita v Nitře, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika

ABSTRACT

This article addresses the issue of microplastics, which constitute a form of environmental pollution with a direct impact on the safety of plant-based foods. The degradation of plastic materials produces microscopic fragments that are increasingly being monitored by European and global food safety regulatory bodies, such as EFSA. The article summarizes the primary sources of contamination in primary agricultural production and describes the mechanism by which particles (0.005–0.7 µm) are transported through the root system into edible plant tissues. It also provides an overview of current detection methods, including advanced instrumental techniques (FTIR, SEM-EDS, Py-GC/MS). Attention is given to innovative approaches, particularly surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) using plasmonic nanostructures, which, in combination with machine learning algorithms (CNN, SVM), can effectively filter out biological noise and identify even heavily degraded particles in complex food matrices.

Key words: environment polution, hazards, EFSA, Raman spectroscopy

ÚVOD

Plasty jsou běžnou součástí výroby potravin. Primárně se vyskytují v obalových materiálech, můžeme je ale najít také v jednorázových příborech, talířích a dalších pomůckách ke konzumaci. Další oblastí s využitím plastů je prvovýroba. Plasty se běžně používají pro uskladňování surovin, jsou součástí obráběcích strojů a součástí výrobních linek. Plasty jsou běžně součástí oblečení, kde se původně přírodní materiály nahrazují funkčními plastovými. Další a podle některých autorů také nejvýznamnějším zdrojem znečištění jsou oděry pneumatik (Wang et al., 2025).

Plasty ale v průběhu času, působením slunečního záření, mechanického namáhání a chemického působení degradují. Degradovaný plast ztrácí svoji polymerní povahu

a proměňuje se jak chemicky (zejména oxidací), tak i mikroskopicky, kdy z původní makromolekuly vznikají drobné fragmenty mikroskopických rozměrů. Takto degradované fragmenty plastů rozdělujeme na mikroplasty (MP) a nanoplasty (Ho et al., 2024).

Průkaz mikroplastů, které vznikly jako environmentální polutanty, proto není jednoduchý. Proměnlivá je jak chemická povaha mikroplastů, tak také jejich tvar a velikost. Z hlediska chemické povahy mikroplastů je rovněž proměnlivý obsah aditiv využívaných u plastů. Zejména se jedná o změkčovadla (ftaláty), inhibitory hoření (PBDE), stabilizátory a barviva (Hoang et al., 2025). Na chemickou čistotu mikroplastů má vliv také vysoká schopnost plastů na svůj hydrofobní povrch absorbovat z prostředí perzistentní organické polutanty (DDT, PCB a PAH) (Parashar et al., 2023).

POTRAVINY ROSTLINNÉHO PŮVODU

Specifikum kontaminace potravin rostlinného původu mikroplasty je dáno kromě jiného také jejich přímým technologickým zpracováním. Za významný zdroj mikroplastů u ovoce a zeleniny jsou považovány aplikace čistírenských kalů, které se využívají pro kompostování, dalším zdrojem jsou netkané mulčovací folie využívané pro ochranu rostlin, jako je například pěstování jahod, dalším zdrojem je využití kontaminované vody nebo atmosférické srážky využívané při zavlažování. Specifickým zdrojem je také využití enkapsulovaných hnojiv nebo aplikace agrochemikálií při obalování semen (Das et al., 2025).

Specifickým problémem u potravin rostlinného původu však není jen přímá kontaminace MP, ale také jejich průnik a transport do buněk a pletiv. Některé MP jsou dostatečně malé, aby pronikali nespecificky přes kořenový systém do rostlin, kde jsou transportovány cévními svazky do stonků, listů a jedlých plodů. Jedná se o částice o velikosti 0,005-0,7 µm. Větší částice přes kořeny neprojdou a zůstávají zachyceny na vnějším povrchu, jsou proto rizikové pro potraviny typu, kořeny, oddenky a hlízy (zázvor, cibule, brambory).

V odborné literatuře potvrzené výskyty MP jsou uvedeny v tabulce č. 1. Výskyt MP se značně liší, což je dáno také různými způsoby průkazu. Nejvíce MP bylo potvrzeno u čajů z čajových sáčků, kde je obsah MP v řádu miliard. Na druhou stranu, jak v čaji, tak v pivu byly potvrzeny také velké části kolem 3 mm, které ale z pohledu toxikologického nepředstavují problém, protože neprojdou buněčnými membránami.

Tabulka č. 1, Obsah mikroplastů u vybraných zemědělských komodit

Komodita	Potvrzené plasty	Množství MP	Rozmezí velikostí (µm)
Jablka	neuvedeno	195 částic/kg	1,5-2,5
Mrkev	neuvedeno	101 částic/kg	1,51-2,5
Obiloviny	PE, PP, PET	67 ug/g	neuvedeno
Vodní rostliny a řasy	PEST, RY, PP, PA, CP	1,8 částic/g	110 – 4 970
Víno	PE	2563 částic/l	7-475
Pivo	PE, PP, PAM, PA, PEA, PET, ABS	117 částic/l	10-3 000
Čaj	PET, PA6, PA, PEA, ABS	1,5*10*10 částic/sáček	0,017-3 000

Zdroje: (Zuccarello et al., 2019; Oliveri Conti et al., 2020; Hernandez et al., 2019; Diaz-Basantes et al., 2020; Dessì et al., 2021; Prata et al., 2020).
PE – polyethylen, PP - polypropylen, PET - polyethylentereftalát, PEST - polyester, RY - viskóza/umělé hedvábí, PA - polyamid, CP - celofán, PAM - polyakrylamid, PEA - polyesteramid, ABS - akrylonitrilbutadienstyren, PA6 - polyamid 6 / nylon 6

MOŽNOSTI DETEKCE MIKROPLASTŮ V ROSTLINNÝCH KOMODITÁCH

Detekce MP v potravinách rostlinného původu je možná více způsoby. Pokud se jedná o vzorky čiré, s minimálním obsahem organické hmoty, je možný jejich přímý průkaz po filtraci. U vzorků kusových lze použít oplach a následnou filtraci. U zpracovaných potravin, jako jsou džemy, husté džusy, pyré a podobné produkty, je analýza možná teprve po odstranění organické hmoty, která se dělá primárně pomocí enzymatického nebo chemického trávení. Nejčastěji se využívá peroxid vodíku, kombinace kyselé a zásadité degradace (chemické štěpení) a enzymatické trávení pomocí celulázy. Nejméně vhodný způsob zpracování je chemické štěpení, protože dochází k silné oxidaci plastů a mění se jak jejich tvar, tak chemická podoba, což ztěžuje jejich průkaz (Das et al., 2025).

V případě rozložení organických matric je častým krokem hustotní separace MP pomocí roztoků solí jako je NaCl, NaI, nebo $ZnCl_2$, které umožní oddělení lehčích polymerů od těžkých organických zbytků (Eze et al., 2024).

Z hlediska samotné identifikace a kvantifikace doplňují spektrální metody (Ramanova spektroskopie, FTIR) další instrumentální přístupy. Pro analýzu povrchové morfologie a tvarové charakteristiky se používají další mikroskopické techniky, které buď ve viditelném spektru umožňují určení těchto charakteristik u MP. Zatímco v případě výskytu menších částic než 2 µm, kdy se jedná o průkaz nanoplastů, se naopak uplatňuje skenovací elektronová mikroskopie s prvkovou analýzou (SEM-EDS) (Das et al., 2025). Pro určení přesné kvantifikace přítomného množství je pak nutné použít další techniky, jako je například

pyrolyzní plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (Py-GC/MS), která sice částice tepelně zničí, ale umožňuje přesně kvantifikovat celkovou hmotnost jednotlivých typů polymerů ve vzorku.

Největší výzvou budoucích technik je přímé využití spektrálních technik, jako jsou FT-NIR a Ramanova mikro-spektroskopie, které za použití technik strojového učení mohou odfiltrovat biologický šum a určit konkrétní typ MP (Kumar et al., 2025; Das et al., 2025). Klíčovým přitom není jen určení typu plastu, ale zejména odfiltrování proběhlou oxidaci a deformace MP. Pro tento účel se nejvíce hodí pokročilé algoritmy strojového a hlubokého učení (zejména konvoluční neuronové sítě – CNN, modely SVM či PCA-LDA) které dokážou spolehlivě klasifikovat polymery nejen z biologicky zašuměných spektrálních dat, ale umí identifikovat i ty plasty, jejichž spektrální stopa byla výrazně pozměněna předchozí degradací nebo oxidací v prostředí (Jin et al., 2022).

TECHNIKY RAMANOVY SPEKTROSKOPIE ZVYŠUJÍCÍ ODEZVU SIGNÁLU

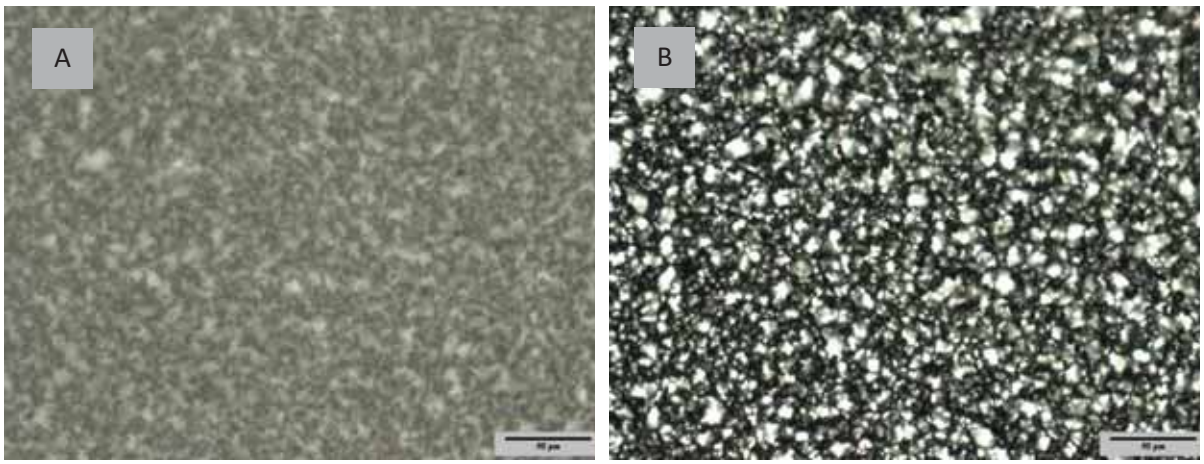
Dalším aspektem, který souvisí s průkazem MP v potravinách rostlinného původu, je také zapojení technik schopných zesílit signál pro analýzu. Důvodem, někdy i nutností pro zesílení signálu, je malá velikost částic, kdy při spektrálním snímání jsou analyzovány nikoliv jen MP, ale také pozadí filtru, které způsobuje zašumění signálu a zhoršuje jeho průkaz. Běžná Ramanova spektroskopie navíc trpí slabým rozptylem fotonů, což limituje její citlivost zejména u submikrometrových a nanoplastových částic (Liu et al., 2026). V rostlinných matricích navíc dochází k silné fluorescenční interferenci se zbytky organických látek, pigmentů a proteinů, jež mohou slabý Ramanův signál plastu zcela překrýt (Prata et al., 2020). Z tohoto důvodu lze využít technik, jako je SERS (Surface-Enhanced Raman Spectroscopy) využívaného u Ramanovy spektroskopie. SERS technika dokáže zesílit Ramanův signál až o několik řádů. Zesílení probíhá díky využití plazmonických nanostruktur, typicky tvořených vzácnými kovy, jako jsou nanočástice zlata nebo stříbra (Kumar et al., 2025).

SERS efekt je založen na dvou odlišných mechanismech. Jedná se o elektromagnetické zesílení, které využívá povrchově lokalizované plazmonové rezonance v kovových nanostrukturách. Při interakci s laserem vznikají tzv. plazmonické "horké skvrny" (hotspots) – oblasti s extrémně koncentrovaným elektromagnetickým polem. Pokud se částice mikroplastu nachází v těsné blízkosti této skvrny (obvykle do 5 nm), její Ramanův signál je zesílen o 6 až 8 řádů (Kumar et al., 2025).

Druhý mechanismus je chemické zesílení. Tento jev vzniká přímým přenosem náboje mezi cílovou molekulou a povrchem kovu, čímž se mění molekulární polarizovatelnost analytu.

Chemický mechanismus přispívá k celkovému signálu dodatečným zesílením až o 2 řády (Kumar et al., 2025).

Obrázek č. 1, Technika SERS zvyšující odezvu signálu Ramanovy mikroskopie



A – neupravený filtr, B filtr pokovený nanovrstvou zlata o síle 50nm

SERS substrátů pro průkaz MP lze využít dvěma způsoby, jeden je založen na koloidním roztoku kovových nanočástic, kdy jsou nanočástice přímo rozptýleny ve vzorku. Při přidání roztoku částice agregují na povrch mikroplastu a zesilují signál (Kumar et al., 2025). Nevýhodou této techniky je náhodná distribuce signálu ve spojitosti s náhodnou agregací. Dalším způsobem je využití planárního substrátu. Tento způsob využívá nanočástice přímo na filtračním papíře, které slouží jako fyzické pasti pro MP a současně zesilují signál. Navrstvení nanočástic na filtrační papír plazmatickým poprašováním je zobrazeno na obrázku č. 1. Extrémně citlivou variantou jsou superhydrofobní planární substráty (např. pole CuO nanodrátků pokrytých stříbrem). Během odpařování kapky vzorku na tomto povrchu dochází k tzv. efektu kávové skvrny (coffee ring effect), který mikro- a nanoplasty masivně zakoncentruje do jednoho bodu. Tento přístup umožňuje detekci nanoplastů o velikostech až 50 nm při extrémně nízkých koncentracích (Sharma et al., 2012).

Ani při použití technik SERS se nevyhneme fluorescenci pozadí a rušení organického materiálu v potravinách. Proto i u těchto technik je důležité použít techniky strojového učení, které umožnují zvýšit přesnost až na požadovanou úroveň pravděpodobnosti 95-99 % (Luo et al., 2023).

ZÁVĚR

Všudypřítomná kontaminace mikroplasty a nanoplasty je komplexní výzvou pro moderní zemědělství a bezpečnost potravního řetězce. MP představují nejen fyzickou zátěž pro

ekosystémy, ale díky své schopnosti prostupovat buněčnými membránami rostlin nesou i skrytá chemická a biologická rizika. Problematika detekce těchto částic v rostlinných komoditách je zásadní pro ochranu spotřebitelů a plnění standardů, které vyžadují instituce zaměřené na bezpečnost potravin, jako je EFSA. Přestože tradiční analytické metody narážejí na technologické limity spojené s biologickým šumem a oxidací vzorků, integrace vysoce citlivých technik, jakou je SERS, s modely strojového učení otevírají nové možnosti. Budoucnost úspěšné kvantifikace a identifikace mikroplastů spočívá v kombinaci těchto inovativních spektroskopických přístupů, které umožní spolehlivě mapovat jejich výskyt i v extrémně nízkých koncentracích a submikrometrových velikostech.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce vznikla za podpory EFSA (Evropský úřad pro bezpečnost potravin) a projektu APVV-23-0036 „Optimization of methods for detecting the presence of microplastics in food“

POUŽITÁ LITERATURA

1. DAS, Surajit; Yemane H. GEBREMESKAL; Bogdana Vladimirovna MAKSIMOVA; Pavel ZUN a Natalia Borisovna EREMEEVA. *“Microplastic contamination and detection in food systems: a review of machine learning, traditional methods, and other relevant factors”* [online]. 2025, vol. 416. In *Journal of Hazardous Materials*. ISSN 0026265X. Dostupné z: doi:10.1016/j.microc.2025.115440
2. DESSÌ, Claudia; Elvis D OKOFFO; Jake W O; Michael GALLEN; Saer SAMANIPOUR; Cassandra RAUERT; Xianyu WANG a Kevin V THOMAS. Plastics contamination of store-bought rice [online] 2021. vol. 416. In *Journal of Hazardous Materials*. Dostupné z: 10.1016/j.jhazmat.2021.125778
3. DIAZ-BASANTES, Milene F.; Juan A. CONESA a Andres FULLANA. Microplastics in honey, beer, milk and refreshments in Ecuador as emerging contaminants. In *Sustainability (Switzerland)*. [online]. 2020, vol. 12, no 12. ISSN 20711050. Dostupné z: doi:10.3390/SU12145514
4. EZE, Chukwuebuka Gabriel; Chidiebele Emmanuel NWANKWO; Satarupa DEY; Suresh SUNDARAMURTHY a Emmanuel Sunday OKEKE. Food chain microplastics contamination and impact on human health: a review. In *Environmental Chemistry Letters* [Online]. vol. 22, no. 4. 1889–1927. ISSN 1610-3653. Dostupné z: doi:10.1007/s10311-024-01734-2

5. HERNANDEZ, Laura M.; Elvis Genbo XU; Hans C.E. LARSSON; Rui TAHARA; Vimal B. MAISURIA a Nathalie TUFENKJI. Plastic Teabags Release Billions of Microparticles and Nanoparticles into Tea. In *Environmental Science and Technology*. [Online]. 2019, vol. 53, no. 21. 12300–12310. ISSN 15205851. Dostupné z: doi:10.1021/acs.est.9b02540
6. HOANG, Hong Giang; Ngoc Son Hai NGUYEN; Tao ZHANG; Huu-Tuan TRAN; Santanu MUKHERJEE a Ravi NAIDU. A review of microplastic pollution and human health risk assessment: current knowledge and future outlook. In *Frontiers in Environmental Science*. [Online]. vol. 13. ISSN 2296-665X. Dostupné z: doi:10.3389/fenvs.2025.1606332
7. HO, Kay T.; Rhema BJORKLAND a Robert M. BURGESS. Comparing the definitions of microplastics based on size range: Scientific and policy implications. In *Marine Pollution Bulletin* [Online]. 2024, vol. 207. 116907. ISSN 0025326X. Dostupné z: doi:10.1016/j.marpolbul.2024.116907
8. JIN, Naifu; Yizhi SONG; Rui MA; Junyi LI; Guanghe LI a Dayi ZHANG. Characterization and identification of microplastics using Raman spectroscopy coupled with multivariate analysis. In *Analytica Chimica Acta*. [Online]. 2022, vol. 1197. ISSN 18734324. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2022.339519
9. KUMAR, Jayasree; Phularida AMULRAJ; Sadia Fatima HAROON; Rangabhashiyam SELVASEMBIAN; Venugopal Rao SOMA a Rajapandiyan PANNEERSELVAM. *Trapping tiny pollutants: SERS-driven strategies for microplastics and nanoplastics detection*. iScience [Online]. 2025, vol. 28. ISSN 25890042. Dostupné z: doi:10.1016/j.isci.2025.113888
10. LIU, Yonghao; Yizhan WU; Junjie WANG; Jiantao QI; Changjing ZHOU a Yuhua XUE, 2026. Recent Advances in Raman Spectral Classification with Machine Learning. In *Multidisciplinary Digital Publishing Institute* [Online]. 2026, vol. 26. ISSN 14248220. Dostupné z: doi:10.3390/s26010341
11. LUO, Yinlong; Wei SU; Dewen XU; Zhenfeng WANG; Hong WU; Bingyan CHEN a Jian WU. Component identification for the SERS spectra of microplastics mixture with convolutional neural network. In *Science of the Total Environment*. [Online]. 2023, vol. 895. ISSN 18791026. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2023.165138
12. OLIVERI CONTI, Gea; Margherita FERRANTE; Mohamed BANNI; Claudia FAVARA; Ilenia NICOLOSI; Antonio CRISTALDI; Maria FIORE a Pietro ZUCCARELLO. Micro- and nano-plastics in edible fruit and vegetables. The first diet risks assessment for the general population. In *Environmental Research*. [Online]. 2020, vol. 187. ISSN 10960953. Dostupné z: doi:10.1016/j.envres.2020.109677

13. PARASHAR, Neha; Byomkesh MAHANTY a Subrata HAIT,. Microplastics as carriers of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in aquatic environment: interactions and ecotoxicological effects. In *Water Emerging Contaminants & Nanoplastics* [Online]. 2023, vol. 3, no. 3. 15. ISSN 28312597. Dostupné z: doi:10.20517/wecn.2023.25
14. PRATA, Joana C.; Ana PAÇO; Vanessa REIS; João P. DA COSTA; António José Silva FERNANDES; Florinda Mendes DA COSTA; Armando C. DUARTE a Teresa ROCHA-SANTOS. Identification of microplastics in white wines capped with polyethylene stoppers using micro-Raman spectroscopy. In *Food Chemistry* [Online]. 2020, vol. 331. ISSN 18737072. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2020.127323
15. SHARMA, Bhavya; Renee R. FRONTIERA; Anne-Isabelle HENRY; Emilie RINGE a Richard P. VAN DUYNE. SERS: Materials, applications, and the future. In *Materials Today* [Online]. 2012 vol. 15, no. 1–2. ISSN 13697021. Dostupné z: doi:10.1016/S1369-7021(12)70017-2
16. WANG, Yanzhe; Jie XU; Yunfeng ZHAO; Ying PAN; Zaiwang ZHANG; Suzhe LIU; Xiaohui CHEN; Jiqiang ZHANG a Tao WU. Tire wear particles in the marine environment: sources, migration, ecological risk and control strategy. In *Frontiers in Marine Science*. [Online]. vo. 12. ISSN 2296-7745. Dostupné z: doi:10.3389/fmars.2025.1668826
17. ZUCCARELLO, P.; M. FERRANTE; A. CRISTALDI; C. COPAT; A. GRASSO; D. SANGREGORIO; M. FIORE a G. OLIVERI CONTI. Exposure to microplastics (<10 μm) associated to plastic bottles mineral water consumption. In *Water Research* [Online]. 2019, vol. 157. ISSN 18792448. Dostupné z: doi: 10.1016/j.watres.2019.03.091

Kontaktná adresa: Pospiech Matej, Department of Plant Origin Food Science, Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology, University of Veterinary Sciences Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno,Czech Republic. E-mail: mpospiech@vfu.cz

BIOLOGICKÉ ÚČINKY NÍZKÝCH KONCENTRACÍ ANTIMONU SOUVISEJÍCÍ S POTRAVINOVÝMI OBALY

BIOLOGICAL EFFECTS OF LOW CONCENTRATIONS OF ANTIMONY ASSOCIATED WITH FOOD PACKAGING

Provazník Adam, Vevera Petr, Sláma Petr, Pavlík Aleš

Ústav morfologie, fyziologie a genetiky zvířat, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1665/1, 613 00 Brno, Česká Republika

ABSTRACT

Antimony is a significant environmental contaminant whose exposure in the human population is not determined solely by industrial and energy-related sources, but also by the everyday use of food-contact packaging materials. Particular attention is paid in this context to polyethylene terephthalate (PET), which is widely used not only for packaging bottled water and soft drinks, but also for a broad range of other food products. The aim of this study was to assess the effects of environmentally relevant concentrations of antimony, corresponding to typical long-term human exposure, on the behavior of bone tissue cells, with a focus on the balance between osteoblast proliferation and differentiation. Mesenchymal stem cells isolated from rat bone tissue were used as the experimental model, as they better reflect physiological conditions of the bone microenvironment compared to commonly used immortalized cell lines. Cells were exposed to low antimony concentrations in the range of 8.2–41.1 nM, and cellular responses were evaluated using proliferation assays and immunocytochemical visualization of osteocalcin as a marker of advanced osteoblast differentiation. The results demonstrated that even these very low concentrations of antimony are capable of modulating osteoblast behavior. Antimony exposure was associated with increased cell proliferation, while simultaneously weakening the differentiated cellular phenotype, as evidenced by reduced osteocalcin signal intensity. This pattern suggests that antimony does not primarily exert cytotoxic effects, but rather interferes with the transition of osteoblasts from the proliferative phase to functional maturation and extracellular matrix mineralization. The obtained data indicate that chronic low-dose antimony exposure may disrupt bone remodeling processes already at concentrations commonly encountered in the environment. This study therefore highlights antimony as a potentially underestimated environmental risk factor with possible long-term consequences for the integrity of bone tissue in mammalian organisms, including humans.

Key words: antimony, PET packaging, bone tissue, mesenchymal cells, proliferation

ÚVOD

V průmyslové výrobě PET se oxid antimonitý běžně používá jako katalyzátor polykondenzační reakce. Tento katalyzátor však není z polymerní matrice zcela odstraněn a antimon tak zůstává v hotových obalech přítomen v reziduálních koncentracích řádově ve stovkách $mg \cdot kg^{-1}$ polymeru. Z hlediska potravinové bezpečnosti je klíčovým procesem migrace antimonu z obalu do potraviny uložené v PET materiálu. Vedle balených vod a nealkoholických nápojů se PET široce používá také při balení ovocných šťáv, ochucených a funkčních nápojů, rostlinných alternativ mléka, tekutých mléčných výrobků, olejů, octů, dresinků, kečupů, omáček, dětských výživ a hotových tekutých nebo polotekutých pokrmů. U těchto produktů často dochází k dlouhodobému kontaktu potraviny s obalovým materiálem, což vytváří podmínky pro difuzně řízený přenos antimonu z PET polymeru do potravinové matrice. Míra migrace antimonu je významně ovlivněna fyzikálně-chemickými podmínkami skladování, zejména teplotou, dobou kontaktu a charakterem potraviny. Zvýšené teploty, ke kterým může docházet například během přepravy, skladování ve skladech nebo při vystavení obalů přímému slunečnímu záření, výrazně urychlují difuzi antimonu. Současně mohou roli sehrávat i vlastnosti potravinové matrice, jako je kyselost, obsah lipidů nebo přítomnost organických kyselin, které mohou ovlivňovat chemickou formu a mobilitu antimonu. PET obaly tak nelze považovat za zcela inertní materiál, ale představují kvantifikovatelný zdroj chronické nízkodávkové expozice antimonu v potravním řetězci. Antimon uvolněný do potravin může být perorálně přijímán člověkem, distribuován do různých tkání a ovlivňovat buněčné redoxní procesy, mitochondriální funkce a genovou expresi. Ačkoliv koncentrace antimonu uvolňované z PET obalů obvykle nepřekračují legislativní limity stanovené pro pitnou vodu, jejich dlouhodobý příjem v kombinaci s dalšími environmentálními zdroji může přispívat k celkové toxické zátěži organismu. Z tohoto pohledu představuje migrace antimonu z PET obalů relevantní faktor environmentální a dietární expozice s potenciálním významem pro zdraví živočišných organismů i člověka.

MATERIÁL A METODIKA

Primární buňky kostní tkáně byly izolovány metodou explantační kultivace z epifýz dlouhých kostí laboratorního potkana (*Rattus norvegicus*). Po eutanazii experimentálního zvířete byly pánevní končetiny za aseptických podmínek zbaveny měkkých tkání a epifýzální oblasti femuru mechanicky odděleny. Kostní fragmenty byly opakovaně promyty fosfátovým pufrem (PBS) za účelem odstranění krevních složek a následně fragmentovány na menší segmenty, které byly nasazeny na kultivační povrch 6jamkových destiček. Kultivace probíhala v kompletním médiu DMEM s vysokým obsahem glukózy, suplementovaném 10 % fetálního

bovinního séra a 1 % ATB, při 37 °C v atmosféře s 5 % CO_2. Migrace buněk z explantátů a jejich adherence byly pravidelně monitorovány mikroskopicky. Po dosažení přibližně 80 % konfluence byly buňky enzymaticky pasážovány trypsinem a kultivovány do stabilní 4. pasáže, která byla použita pro vlastní experimenty.

Biologicky dostupná frakce antimonu byla připravena inkubací oxidu antimonitého (Sb_2O_3) v kultivačním médiu při 37 °C po dobu 24 hodin, následovanou centrifugací a sterilní filtrací. Koncentrace rozpuštěného antimonu byla stanovena pomocí hmotnostní spektrometrie a použitý roztok sloužil k přípravě expozičních médií. Buňky byly vystaveny antimonovým iontům v koncentracích 8,2; 24,6 a 41,1 nM, které odpovídají environmentálně a fyziologicky relevantním hladinám. Expozice probíhala kontinuálně, přičemž médium s příslušnou koncentrací antimonu bylo obnovováno každé dva dny.

Pro imunofluorescenční analýzu byly buňky nasazeny v nízké hustotě (1000 buněk/jamka) na vícekomorová kultivační sklíčka a po ukončení expozice fixovány paraformaldehydem. Následovala permeabilizace buněčných membrán a blokace nespecifických vazeb. Vizualizace osteokalcinu jako markeru pokročilé osteoblastové diferenciace byla provedena pomocí specifických primárních a fluorochromem značených sekundárních protilátek. Buněčná jádra byla kontrastně obarvena DAPI a aktinový cytoskelet vizualizován pomocí phalloidinu. Preparáty byly analyzovány fluorescenční mikroskopií při jednotných expozičních parametrech a intenzita signálu osteokalcinu byla semikvantitativně vyhodnocena analýzou digitálních obrazů. Imunofluorescenční detekce osteokalcinu byla provedena za použití monoklonální primární protilátky proti osteokalcinu (clone OC4-30, Thermo Fisher Scientific) a odpovídající sekundární polyklonální protilátky goat anti-mouse IgG2a, cross-adsorbed (Thermo Fisher Scientific). Fluorescenční signál byl vizualizován na fluorescenčním mikroskopu Olympus BX51 (Olympus, Japonsko) vybaveném digitální kamerou Promicra. Pořízené snímky byly analyzovány a vyhodnoceny pomocí softwaru QuickPHOTO INDUSTRIAL 4 (PROMICRA, Česká republika) při jednotně nastavených expozičních parametrech pro všechny experimentální skupiny.

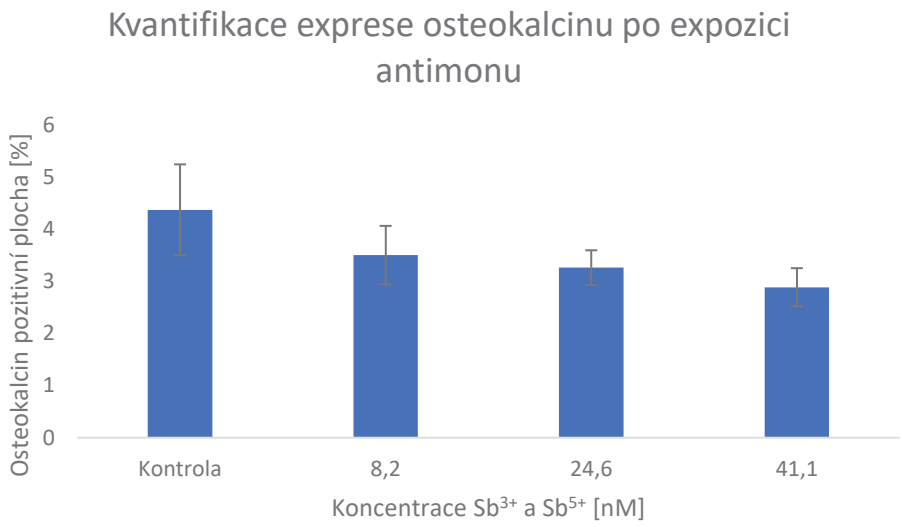
Buněčná proliferace a objektivní posouzení vlivu antimonu na dynamiku růstu buněčné populace byly hodnocena pomocí průtokové cytometrie na přístroji BriCyte E6 (Mindray, Čína). Buňky byly kultivovány v 6jamkových destičkách po dobu 10 dnů v přítomnosti jednotlivých koncentrací antimonu, poté sklizeny enzymatickou disociací a resuspendovány v PBS. Bylo vyseto 5000 buněk na jamku.

Statistické zpracování bylo provedeno na základě výsledku testování normality dat pomocí Kruskal-Wallis ANOVA na hladině významnosti $p<0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Pozitivní signál byl detekován ve všech sledovaných skupinách včetně kontroly, což potvrzuje zachování osteogenního fenotypu buněk i po expozici antimonu. Semikvantitativní analýza fluorescenčního signálu, vyjádřená jako procentuální podíl osteokalcin-pozitivní plochy, však odhalila zřetelný klesající trend v závislosti na rostoucí koncentraci antimonu (viz obr. č. 1), avšak bez statistické závislosti.

Obrázek č. 1, Kvantifikace exprese osteokalcinu po expozici antimonu (pozitivní plocha v %)



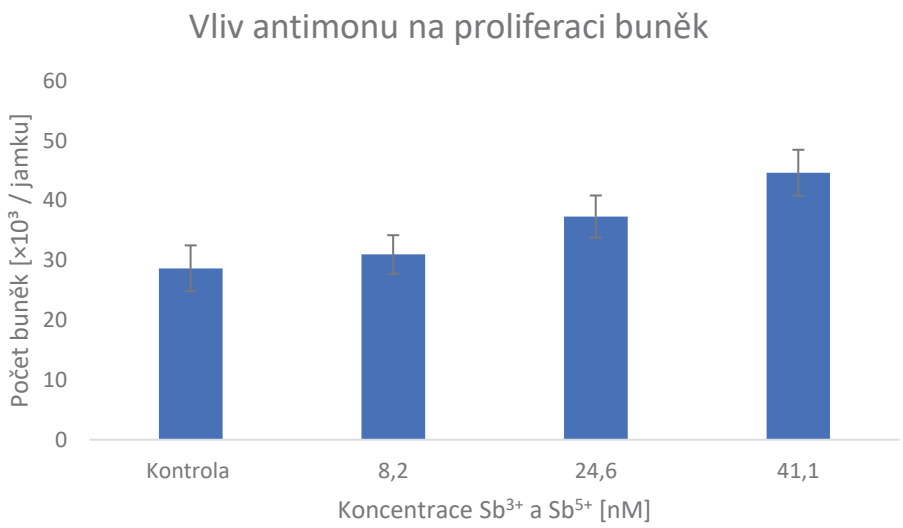
Analýza absolutního počtu buněk po desetidenní expozici naznačila koncentraci závislý nárůst buněčné proliferace. Nejvýraznější efekt byl pozorován u nejvyšší testované koncentrace antimonu (41,1 nM), kde došlo k navýšení počtu buněk o více než 55 % ve srovnání s kontrolní skupinou. Grafické znázornění výsledků vykazuje přibližně lineární trend zvyšování buněčné populace se vzrůstající koncentrací antimonu. Tento trend však nebyl v rámci provedené statistické analýzy potvrzen jako statisticky významný, a získaná data tedy poukazují na trendový charakter pozorovaného jevu bez průkazné statistické opory.

Cílem této práce bylo posoudit vliv environmentálně relevantních koncentrací antimonu na chování buněk kostní tkáně, se zaměřením na rovnováhu mezi buněčnou proliferací a osteogenní diferenciací. Získané výsledky je nutné interpretovat v kontextu současných poznatků o působení toxických metaloidů na osteoblasty a proces kostní remodelace.

Použité koncentrační rozmezí antimonu (1–5 µg/l; 8,2–41,1 nM) bylo zvoleno tak, aby odpovídalo hodnotám popsaným v biologických matricích u chronicky exponovaných populací (Wang et al., 2020; Ferreira et al., 2019). Tyto koncentrace se nacházejí hluboko pod prahem akutní cytotoxicity, který je v in vitro systémech popisován až při řádově vyšších dávkách

(Boreiko a Rossman, 2020). Zvolené experimentální podmínky tak umožnily studovat subletální, potenciálně regulační účinky antimonu na buňky kostní tkáně.

Obrázek č. 2, Vliv antimonu na proliferaci buněk



Analýza buněčné proliferace ukázala koncentrací závislý nárůst počtu buněk, přičemž nejvýraznější efekt byl pozorován při nejvyšší testované koncentraci antimonu. Tento výsledek se může jevit jako paradoxní, neboť u mnoha těžkých kovů bývá popisován spíše antiproliferační účinek. Nicméně podobná stimulační odpověď při nízkých dávkách byla popsána i pro chemicky příbuzný arsen a je vysvětlována hormetickým efektem, kdy subtoxické koncentrace aktivují mitogenní signalizační dráhy (Boreiko a Rossman, 2020). Watcharasit et al. (2012) demonstrovali, že nízké koncentrace arsenu mohou stimulovat buněčnou proliferaci prostřednictvím aktivace VEGF-dependentních signálních mechanismů. Lze proto předpokládat, že antimon může i u progenitorů osteoblastů vyvolávat podobnou časnou adaptační odpověď na mírný stresový podnět.

Současně však výsledky imunofluorescenční analýzy osteokalcinu, který je považován za pozdní marker osteoblastové diferenciace a mineralizace matrix, ukázaly klesající trend v intenzitě signálu se zvyšující se koncentrací antimonu. Přestože tento pokles nedosáhl statistické významnosti, jeho konzistentní výskyt napříč analyzovanými skupinami naznačuje možnou inhibici přechodu buněk do terminální fáze osteogeneze. Podobný nesoulad mezi zvýšenou proliferací a omezením pozdních diferenciačních markerů byl popsán i u jiných toxických kovů, například u arsenu nebo kadmia, které narušují mineralizaci kostní matrix prostřednictvím oxidativního stresu a interference s buněčnými regulačními mechanismy (Granéli et al., 2014; Boreiko a Rossman, 2020).

ZÁVĚR

Z hlediska environmentální i potravinové bezpečnosti je zásadním zjištěním skutečnost, že k narušení buněčného metabolismu dochází již při koncentracích antimonu, které byly v literatuře popsány u reálně exponovaných populací, včetně expozice plynoucí z kontaktu potravin s PET obaly. Antimon, uvolňovaný z polymerních materiálů za určitých podmínek skladování, by proto neměl být v rámci environmentálního monitoringu a hodnocení zdravotních rizik opomíjen. Jeho schopnost interferovat s procesy kostní remodelace může představovat dlouhodobé riziko pro integritu skeletu, zejména při chronické nízkodávkové expozici. Tato práce poskytuje metodický i teoretický základ pro další výzkum metalotoxicity v kontextu kostní biologie a přispívá k hlubšímu pochopení potenciálních rizik, která pro savčí organismus představuje dlouhodobá expozice xenobiotikům spojeným s moderními materiály používanými v potravinářských obalech.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BOREIKO, C. J. et ROSSMAN, T.G**.** Antimony and its compounds: Health impacts related to pulmonary toxicity, cancer, and genotoxicity. In *Toxicology and Applied Pharmacology*. ISSN 0041-008X, 2020, vol. 403, p. 115156.
2. FERREIRA, A. P. S. S. et al. Home-based and informal work exposes the families to high levels of potentially toxic elements. In *Chemosphere*. ISSN 0045-6535, 2019, vol. 218, p. 319–327.
3. GRANÉLI, C. et al. Novel markers of osteogenic and adipogenic differentiation of human bone marrow stromal cells identified using a quantitative proteomics approach. In *Stem Cell Research*. ISSN 1873-5061, 2014, vol. 12, no. 1, p. 153–165.
4. WANG, R. et al. Elevated non-essential metals and the disordered metabolism of essential metals are associated to abnormal pregnancy with spontaneous abortion. In *Environment International*. ISSN 0160-4120, 2020, vol. 144, p. 106061.
5. WATCHARASIT, P. et al. Low arsenite concentrations induce cell proliferation via activation of VEGF signaling in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. In *Environmental Toxicology and Pharmacology*. ISSN 1382-6689, 2012, vol. 33, no. 1, p. 53–59.

Kontaktná adresa: Pavlík Aleš, Department Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of AgriScience, Mendel University in Brno, Zemědělská 1665/1, 613 00 Brno, Czech Republic. E-mail: ales.pavlik@mendelu.cz

HODNOTENIE ÉTERICKÝCH OLEJOV AKO SELEKTÍVNYCH ANTIBAKTERIÁLNYCH LÁTOK V AKVAKULTÚRE

EVALUATING ESSENTIAL OILS AS SELECTIVE ANTIBACTERIAL AGENTS IN AQUACULTURE

Ratvaj Marek, Hudecová Patrícia, Kollár Moskáľová Lenka, Mudroňová Dagmar

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

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the antibacterial activity of eight commercial essential oils (EOs) against fish-derived probiotic strains *Lactiplantibacillus plantarum* (R2) and *Limosilactobacillus fermentum* (R3) to assess their potential impact on beneficial host microbiota. Using the disc diffusion method, thyme and oregano EOs exhibited the strongest antibacterial activity with inhibition zones exceeding 33 mm, while eucalyptus, pine, and mountain pine EOs showed no inhibitory effect (0.0 mm). Peppermint EO showed moderate activity, whereas tea tree and rosemary EOs fell below the effective threshold for these specific strains. For the most potent oils, the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were determined; oregano EO showed lower values (MIC 0.25 µl/ml, MBC 0.5 µl/ml) compared to thyme EO (MIC 1.0 µl/ml, MBC 2.0 µl/ml). Statistical analysis confirmed significant inhibitory effects at very low concentrations for both EOs. These results suggest a favorable selectivity profile, as the concentrations required to inhibit beneficial microbiota are generally higher than those effective against common fish pathogens. The findings indicate that appropriately dosed essential oils could serve as a natural alternative to antibiotics in aquaculture, suppressing pathogens while preserving the host's beneficial intestinal microflora.

Key words: essential oils, aquaculture, antibacterial activity

ÚVOD

Esenciálne oleje (EO) predstavujú rastlinné extrakty so širokým spektrom biologických účinkov, vrátane preukázanej antibakteriálnej a antiparazitickej aktivity (Dawood et al. 2021). Ich využitie v akvakultúre nadobúda čoraz väčší význam, najmä v súvislosti s hľadaním alternatív k antibiotikám. Avšak pri ich potenciálnom aplikačnom využití je nevyhnutné zohľadniť aj možný negatívny vplyv na prospešnú mikrobiotu hostiteľa.

Probiotiká na báze baktérií mliečneho kvasenia sú v akvakultúre využívané na podporu zdravia rýb, optimalizáciu črevnej mikrobioty či stimuláciu imunitnej odpovede (Ratvaj et al. 2023, Chomová et al. 2025). Práve esenciálne oleje môžu zvyšovať účinnosť probiotických preparátov, avšak je potrebné určiť, či nedochádza k ich negatívnej interakcii (Ambrosio et al. 2019). Cieľom tejto štúdie bolo preto stanoviť antibakteriálnu aktivitu vybraných komerčných esenciálnych olejov voči probiotickým kmeňom *Lactiplantibacillus plantarum* (R2) a *Limosilactobacillus fermentum* (R3) izolovaným od pstruha, a to prostredníctvom diskovo-difúznej metódy, stanovenia minimálnej inhibičnej koncentrácie (MIC) a minimálnej baktericídnej koncentrácie (MBC).

MATERIÁL A METODIKA

Antibakteriálna aktivita ôsmich komerčných esenciálnych olejov (EO) (Calendula a.s., Slovenská republika) bola testovaná voči pstružím probiotickým kmeňom *L. plantarum* (R2) a *L. fermentum* (R3), pre stanovenie potenciálneho negatívneho vplyvu EO na prospešnú mikrobiotu. Testovaný bol eukalyptový (*Eucalyptus globulus* LABILL.), kosodrevinový (*Pinus mungo* L.), mätový (*Mentha piperita* L.), oreganový (*Origanum vulgare* L.), tymiánový (*Thymus vulgaris* L.), čajovníkový (*Melaleuca alternifolia*), rozmarínový (*Rosmarinus officinalis* L.) a borovicový EO (*Pinus silvestris* L.). Na stanovenie antibakteriálnej aktivity bola použitá kvalitatívna diskovo-difúzna metóda. Z nočnej bakteriálnej kultúry (18 hod.) bola pripravená suspenzia upravená na zákal zodpovedajúci hustote 0,5 McFarland (1,5 x 10^8 KTJ/ml), s jej následným rovnomerným nanesením na celý povrch De Man, Rogosa a Sharpe (MRS) agaru (HiMedia, India). Na naočkovaný povrch média boli umiestnené sterilné papierové disky s priemerom 6 mm (BD BBL Sensi-Disc, Beckton Dickinson, USA), na ktoré boli aplikované koncentrované EO v objeme 10 µl. Antibakteriálny účinok bol po 24 hodinovej anaeróbnej kultivácii pri teplote 37 °C hodnotený meraním priemeru inhibičných zón. Taktiež bola stanovená minimálna inhibičná koncentrácia (MIC) EO použitím 96-jamkových mikrotitračných platničiek. Bakteriálna suspenzia bola upravená na zákal zodpovedajúci hustote 1,0 McFarland (3,0 x 10^8 KTJ/ml) a pridaná k nariedenému EO v koncentračnom rozsahu od 2 µl/ml do 0,0078 µl/ml v pomere 1:1. Na stanovenie minimálnej baktericídnej koncentrácie (MBC) boli vzorky z jednotlivých jamiek kultivované na MRS. Po inkubácii boli výsledky hodnotené a MBC bola definovaná ako najnižšia koncentrácia, pri ktorej nedošlo k rastu baktérií. Antibakteriálny účinok oreganového a tymiánového EO bol hodnotený aj štatistickým programom GraphPad Prism 8.3.0 použitím jednosmernej ANOVA spolu s Dunettovým testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Antibakteriálny účinok EO bol hodnotený pomocou diskovo-difúznej metódy, pričom tymiánový a oreganový EO vykazovali najsilnejšiu antibakteriálnu aktivitu, zatiaľ čo pri eukalyptovom a borovicovom EO nebola zaznamenaná zóna inhibície. Na základe veľkosti inhibičnej zóny možno EO podľa práce Rota a kol. (2008) klasifikovať na oleje so silnou antibakteriálnou aktivitou (zóna inhibície je ≥ 20 mm), so strednou aktivitou (zóna inhibície < 20 – 12 mm) a bez schopnosti inhibovať rast baktérií (zóna inhibície < 12 mm). Výsledky poukazujú na silný antibakteriálny účinok tymiánového a oreganového EO, stredne silný účinok mätového EO a čajovníkový, eukalyptový, kosodrevinový, borovicový a rozmarínový EO nevykazujú inhibičný účinok (Tabuľka č. 1).

Tabuľka č. 1, Antibakteriálna aktivita stanovená pomocou diskovo-difúznej metódy v milimetroch

EO	*L. plantarum* (R2)	*L. fermentum* (R3)
Tymiánový	33,7 ± 0,15	38,3 ± 0,21
Oreganový	35,7 ± 0,12	40,7 ± 0,06
Čajovníkový	10,3 ± 0,05	9,3 ± 0,06
Mätový	12,7 ± 0,06	15,3 ± 0,06
Eukalyptový	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Kosodrevinový	0,0 ± 0,0	9,0 ± 0,0
Borovicový	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Rozmarínový	0,0 ± 0,0	10,3 ± 0,06

Oreganový a tymiánový EO boli zvolené na MIC a MBC vzhľadom na ich najvýraznejší antibakteriálny účinok. Pre oreganový EO boli zaznamenané nižšie hodnoty, a to MIC 0,25 µl/ml a MBC 0,5 µl/ml (Tabuľka č. 2). V prípade tymiánového EO dosahovala MIC hodnotu 1,0 µl/ml a MBC 2,0 µl/ml (Tabuľka č. 2). Štatistickou analýzou bol potvrdený signifikantný antibakteriálny účinok v rozsahu od 2,0 µl/ml do 0,015 µl/ml pre oregánový EO a od 2,0 µl/ml do 0,125 µl/ml pre tymiánový EO (Graf č. 1).

Tieto výsledky poukazujú na toleranciu vybraných kmeňov baktérií voči niektorým esenciálnym olejom, pričom dôvodom tejto odolnosti môže byť prítomnosť obranných mechanizmov baktérií, akými sú napríklad efluxné pumpy (Gaurav et al. 2023) alebo je to chemickou danosťou hlavných účinných látok v EO (Soković et al 2010), keďže fenolické zlúčeniny v tymiánovom a oreganovom oleji boli najúčinnejšie pri inhibícii rastu baktérií.

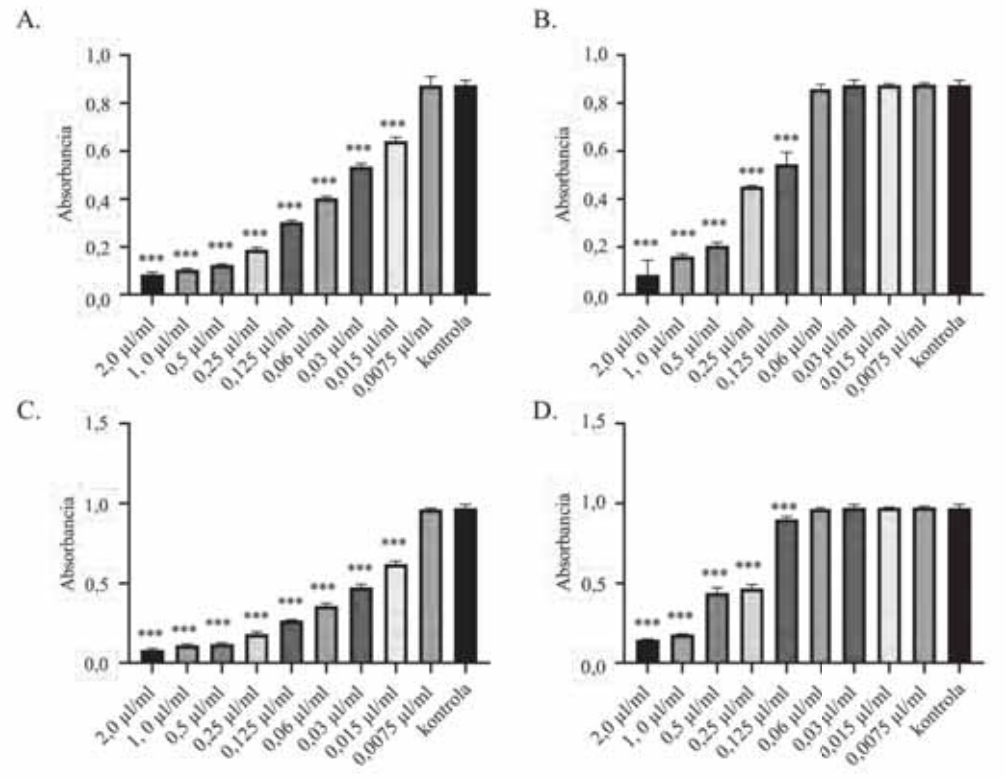
Ďalším dôvodom, prečo sú niektoré oleje účinnejšie, môže byť komplexné zloženie týchto olejov a interakcie medzi jednotlivými prítomnými zložkami.

Získané výsledky možno považovať za priaznivé, keďže z našich predchádzajúcich testov (Hudecová et al. 2024), ako aj prác iných autorov (Ambrosio et al. 2019) vyplýva, že koncentrácie potrebné na inhibíciu prospešnej mikrobioty sú vyššie než koncentrácie účinné pre potlačenie rastu bakteriálnych patogénov, vyjadrené hodnotami MIC a MBC.

Tabuľka č. 2, MIC a MBC tymiánového a oregánového EO voči probiotickým kmeňom

	Tymiánový EO		**Oreganový EO**	
	MIC	**MBC**	**MIC**	**MBC**
***Lactobacillus plantarum* (R2)**	1,0 µl/ml	2,0 µl/ml	0,25 µl/ml	0,5 µl/ml
***Limosilactobacillus fermentum* (R3)**	1,0 µl/ml	2,0 µl/ml	0,25 µl/ml	0,5 µl/ml

Graf. č. 1, Antibakteriálna aktivita oreganového EO voči R2 (A.) a R3 (C.) a tymiánového EO voči R2 (B.) a R3 (D.); ***p < 0,001



ZÁVER

Esenciálne oleje z tymiánu a oregana vykazujú antimikrobiálnu aktivitu voči probiotickým kmeňom baktérií, no tieto baktérie vykazujú vyššiu úroveň odolnosti (minimálnej inhibičnej koncentrácie a minimálnej baktericídnej koncentrácie) ako patogény. Táto vlastnosť umožňuje ich využitie v prostredí akvakultúry ako vhodný doplnok na potencovanie účinku probiotických baktérií pridávaných do krmiva. V ďalšej fáze výskumu bude selektovaná presná koncentrácia, ktorá má minimálny negatívny dopad na probiotické kmene a zároveň je najúčinnejšia voči rybím patogénom.

POĎAKOVANIE

Publikácia vznikla za finančnej podpory IGA UVLF 07/2025 *„In vitro črevný model ako nástroj skúmania vplyvu látok naturálneho pôvodu u Oncorhynchus mykiss a Apis mellifera“* a za podpory projektu APVV-24-0348.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AMBROSIO, C. M. S. et al. Unraveling the selective antibacterial activity and chemical composition of citrus essential oils. In *Scientific reports* [online]. 2019, vol. 9, no. 1, p. 17719 [cit. 2026-04-16]. DOI: 10.1038/s41598-019-54084-3. Dostupné na internete: https://www.nature.com/articles/s41598-019-54084-3.
2. CHOMOVÁ, N. et al. Feed enriched by autochthonous probiotic bacteria and its effect on growth and immune response under different feeding regimes and immune response after Aeromonas salmonicida infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In *Aquaculture International*. ISSN 1573-143X, 2025, vol. 33, p. 267. DOI: 10.1007/s10499-025-01950-9.
3. DAWOOD, M. A. et al. Antiparasitic and Antibacterial Functionality of Essential Oils: An Alternative Approach for Sustainable Aquaculture. In *Pathogens* [online]. 2021, vol. 10, no. 2 [cit. 2026-04-16]. DOI: 10.3390/pathogens10020185. Dostupné na internete: https://www.mdpi.com/2046-2042/10/2/185.
4. GAURAV, A. et al. Role of Bacterial Efflux Pumps in Antibiotic Resistance, Virulence, and Strategies to Discover Novel Efflux Pump Inhibitors. In *Microbiology*. ISSN 1465-2080, 2023, vol. 169, no. 5, p. 001333. DOI: 10.1099/mic.0.001333.
5. HUDECOVÁ, P. et al. Antibacterial and Antibiofilm Activity of Essential Oils Against *Aeromonas* Spp. Isolated from Rainbow Trout. In *Animals* [online]. 2024, vol. 14, no. 22 [cit. 2026-04-16]. DOI: 10.3390/ani14223202. Dostupné na internete: https://www.mdpi.com/2076-2615/14/22/3202.

6. RATVAJ, M. et al. Feeding-Regime-Dependent Intestinal Response of Rainbow Trout after Administration of a Novel Probiotic Feed. In *Animals* [online]. 2023, vol. 13, no. 12, p. 1892 [cit. 2026-04-16]. DOI: 10.3390/ani13121892. Dostupné na internete: https://www.mdpi.com/2076-2615/13/12/1892.
7. ROTA, M. C. et al. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. In *Food Control*. ISSN 0956-7135, 2008, vol. 19, no. 7, p. 681–687. DOI: 10.1016/j.foodcont.2007.07.007.
8. SOKOVIĆ, M. et al. Antibacterial Effects of the Essential Oils of Commonly Consumed Medicinal Herbs Using an In Vitro Model. In *Molecules* [online]. 2010, vol. 15, no. 11, p. 7532-7546 [cit. 2026-04-16]. DOI: 10.3390/molecules15117532. Dostupné na internete: https://www.mdpi.com/1420-3049/15/11/7532.

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

DRUHOVÁ DIVERZITA BAKTÉRIÍ MLIEČNEHO KVASENIA VO VYBRANÝCH POTRAVINOVÝCH MATRICIACH

SPECIES DIVERSITY OF LACTIC ACID BACTERIA IN SELECTED FOOD MATRICES

Regecová Ivana, Výrostková Jana, Pipová Monika, Jevinová Pavlina, Dudríková Eva, Badovská Sára, Adamková Vanessa, Hatalová Júlia

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

ABSTRACT

This study evaluated the occurrence and diversity of lactic acid bacteria in different food matrices, including raw milk (A1 and A2), beer, and fermented dried beef. Lactic acid bacteria counts were determined using culture-based methods, and selected isolates were identified by 16S rRNA gene sequencing. lactic acid bacteria were detected during beer production, with reappearance in the final product suggesting possible secondary contamination. In raw milk, lactic acid bacteria showed stable occurrence with no significant differences between A1 and A2 types. In fermented meat, lactic acid bacteria persisted at low but stable levels. Identified species reflected adaptation to specific environments, highlighting their technological importance and contribution to food quality and safety.

Key words: beer, lactic acid bacteria, meat, microbiological quality, milk A2

ÚVOD

Baktérie mliečneho kvasenia (BMK) predstavujú jednu z najvýznamnejších skupín mikroorganizmov v potravinárskom priemysle, kde plnia dvojakú úlohu, ako žiadúce fermentačné činitele a ako potenciálne kontaminanty. Ich druhová diverzita v rôznych potravinových matriciach je priamym dôkazom ich adaptability na špecifické environmentálne faktory, akými sú dostupnosť nutrientov, hodnota pH či prítomnosť inhibičných látok. Podľa najnovších štúdií zohrávajú BMK kľúčovú úlohu v senzorickej a nutričnej kvalite fermentovaných surovín, pričom ich funkčné vlastnosti sú úzko späté s konkrétnou druhovou diverzitou v danej ekologickej nike (Zhu a kol., 2024). V pivovarníctve je zásadnou vlastnosťou BMK schopnosť prežívať v selektívnom prostredí piva, kde vďaka špecifickej genetickej predospozícii môžu odolávať inhibičnému pôsobeniu chmeľových kyselín a **etanolu (Mertz a kol., 2022)**. Naopak, v mliečnych matriciach je prítomnosť BMK indikátorom technologickej

kvality. Súčasný výskum naznačuje, že hoci variabilita kazeínov typu A1 a A2 môže mierne ovplyvňovať dynamiku rastu niektorých kmeňov, celkové zloženie mliečnej mikrobioty zostáva pri dodržaní hygienických štandardov pomerne stabilné (Kontopodi a kol., 2022). Osobitnú kategóriu predstavujú sušené mäsové výrobky, kde extrémne podmienky nízkej aktivity vody a vysokej salinity prirodzene selektujú vysoko adaptované druhy, najmä *Latilactobacillus sakei*, ktoré vďaka svojej perzistencii zabezpečujú biokonzerváciu produktu (Scheinberg a kol., 2021). Štúdium jednotlivých vlastností týchto baktérií a ich presná identifikácia pomocou molekulárno-biologických metód, vrátane sekvenovania 16S rRNA oblasti, je preto nevyhnutným predpokladom pre správne riadenie mikrobiologickej stability a kvality v potravinárskom reťazci.

MATERIÁL A METODIKA

V danej štúdii bolo analyzovaných 40 vzoriek surového kravského mlieka rozdelených podľa genotypu dojníc na A1 (Holstein, n = 20) a A2 (Jersey, A2/A2, n = 20). Súbor vzoriek bol doplnený o vzorky piva (vrchne kvasené) odoberané v rôznych fázach výroby vrátane surovín (slad, chmeľ) a hovädzieho fermentovaného sušeného mäsa.

Príprava vzoriek a desaťnásobných riedení prebiehala podľa STN EN ISO6887-1: 2017 a 6887-5:2021. Počet baktérií mliečneho kvasenia bol stanovený kultivačne na De Man, Rogosa a Sharpe agare podľa STN ISO 15214: 2002 pri 37 °C/72 h v semianaeróbnych podmienkach.

Druhová identifikácia izolátov bola realizovaná pomocou amplifikácie 16S rRNA génu s použitím univerzálnych primerov 27F/1492R podľa Frank a kol. (2008). Bakterálna DNA bola izolovaná modifikovanou metódou podľa Yang a kol. (2008). PCR produkty boli sekvenované (SEQme s.r.o.) a analyzované pomocou BLAST v databáze GenBank (NCBI).

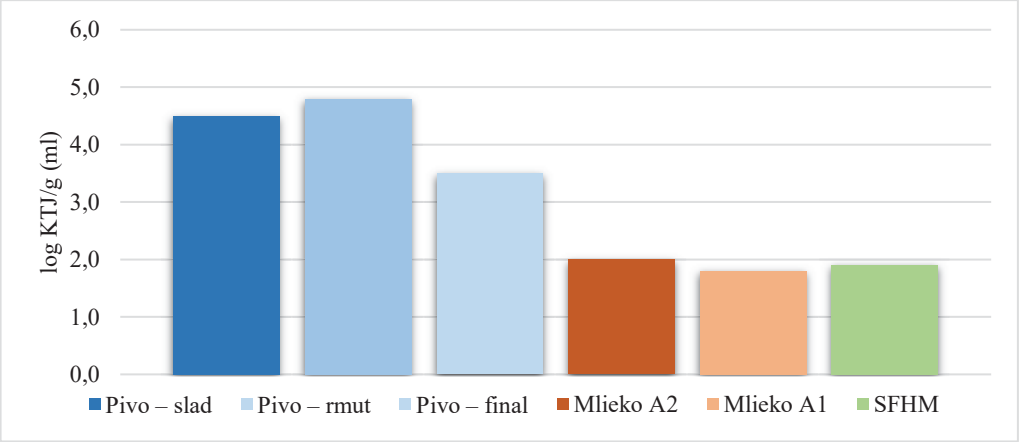
VÝSLEDKY A DISKUSIA

V rámci kultivačného mikrobiologického vyšetrenia bol stanovený počet baktérií mliečneho kvasenia v rôznych potravinových matriciach (Graf č. 1). Pri výrobe vrchne kvaseného piva boli BMK detegované už v slade (4,5 log KTJ/g), pričom počas rmutovania došlo k ich miernemu nárastu (4,8 log KTJ/ml). V následných technologických krokoch (sladina, mladina) sa ich prítomnosť nepotvrdila, čo poukazuje na účinok technologických zásahov, avšak vo finálnom pive sa BMK opätovne detegovali, hoci v nižšej koncentrácií (3,5 log KTJ/ml). Opätovný výskyt BMK vo finálnom pive však naznačuje sekundárnu kontamináciu, čo potvrdzujú Bokulich a Bamforth (2013), ktorí uvádzajú, že BMK dokážu perzistovať v biofilmoch pivovarských zariadení aj po sanitácii.

V surovom mlieku predstavovali BMK stabilnú a technologicky významnú zložku mikrobioty. V A2 mlieku dosahovali priemerné hodnoty 2,0 ± 0,6 log KTJ/ml, zatiaľ čo v A1 mlieku 1,8 ± 0,5 log KTJ/ml. Ich výskyt bol pomerne konzistetný vo väčšine analyzovaných vzoriek a rozdiely medzi jednotlivými typmi mlieka boli zanedbateľné. Podobnú stabilitu mikrobioty surového mlieka a význam BMK ako prirodzených antagonistov voči nežiaducej mikrobioty zdôrazňujú Quigley a kol. (2013), pričom namerané hodnoty zodpovedajú surovine s dobrou hygienickou kvalitou.

Pri SFHM boli BMK detegované v nízkych, ale stabilných počtoch (1,9 log KTJ/g). Tento stav poukazuje na relatívnu stabilitu mikrobiologického profilu produktu a schopnosť BMK prežívať v podmienkach so zníženou aktivitou vody. Podľa Hammesa a Hertela (2015) je práve táto adaptabilita na stres (soľ, sušenie) kľúčová pre mikrobiologickú bezpečnosť produktu, kde BMK vďaka perzistencii plnia funkciu biokonzervantov.

Graf č. 1 Kvantitatívne zastúpenie BMK v jednotlivých potravinových matriciach



Následná druhová identifikácia potvrdila prítomnosť viacerých technologicky významných zástupcov BMK, pričom ich zastúpenie sa líšilo v závislosti od typu analyzovanej matrice (Tabuľka č. 1). V procese výroby piva boli identifikované druhy *Levilactobacillus brevis*, *Lactiplantibacillus plantarum* a *Pediococcus damnosus*, ktoré patria medzi typických kontaminantov pivovarníckeho prostredia. Identifikácia druhov *Levilactobacillus brevis*, *Lactiplantibacillus plantarum* a *Pediococcus damnosus* v procese výroby piva korešponduje s faktom, že tieto taxóny disponujú genetickými determinantmi rezistencie voči chmeľovým horkým kyselinám (napr. gény *horA* a *horC*), čo im umožňuje prežívať v selektívnom prostredí piva. Podobnú dominanciu vyššie uvedených rodov, ako hlavných kontaminantov, ktorí negatívne ovplyvňujú senzorické vlastnosti piva produkciou diacetylu a kyseliny mliečnej, potvrdil aj Vriesekoop a kol. (2012).

Tabuľka č. 1, Druhové zastúpenie baktérií mliečneho kvasenia v rôznych potravinových matricách

Druh mikroorganizmu	RefSeq.	Matrica
Lactiplantibacillus plantarum	NR_115624.1	pivo
Levilactobacillus brevis	NR_116238.1	
Pediococcus damnosus	NR_042095.1	
Lactobacillus rhamnosus	KF999660.1	mlieko (A1, A2)
Lactobacillus paracasei	KX832361.1	
Lactobacillus johnsonii	OQ256705.1	
Latilactobacillus sakei	KX538916.1	SFHM
Lactobacillus paraplantarum	EU380193.1	
Pediococcus pentosaceus	PV072564.1	

V mlieku ako dominantný zástupcovia BMK boli detegované druhy *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus* a *Lactobacillus johnsonii*. Tieto druhy patria medzi významné fermentatívne baktérie a sú známe aj svojimi potenciálnymi probiotickými vlastnosťami. Ich zastúpenie bolo v A1 aj A2 mlieku veľmi podobné, pričom dominantným druhom bol *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus* a *Lactobacillus johnsonii*. Prítomnosť týchto druhov v analyzovaných vzorkách mlieka potvrdzuje ich kľúčovú úlohu v mliečnej mikrobiote. Tieto baktérie sú cenené nielen pre svoju schopnosť efektívne fermentovať laktózu a produkovať antimikrobiálne látky, ale najmä pre ich probiotický potenciál, ktorý zahŕňa moduláciu imunitného systému a zlepšenie diverzity črevnej mikrobioty. Skutočnosť, že distribúcia týchto druhov je v mlieku typu A1 aj A2 takmer identická, naznačuje, že polymorfizmus *β*-kazeínu nemá zásadný selektívny vplyv na druhové zloženie prirodzene prítomných BMK Quigley a kol. (2013).

V SFHM boli identifikované druhy *Latilactobacillus sakei*, *Lactobacillus paraplantarum* a *Pediococcus pentosaceus*, ktoré sú typické pre mäsové výrobky a podieľajú sa na ich stabilite a senzorických vlastnostiach. Prítomnosť druhov *Latilactobacillus sakei*, *Lactobacillus paraplantarum* a *Pediococcus pentosaceus* v SFHM potvrdzuje ich kľúčovú úlohu v procese dozrievania mäsových výrobkov. *Latilactobacillus sakei* je považovaný za vysoko adaptovaný druh na prostredie mäsa, kde vďaka svojej schopnosti rásť pri nižších teplotách a v prítomnosti soli účinne inhibuje rast nežiadúcich a kaziacich mikroorganizmov. Spolu s *Pediococcus pentosaceus* prispievajú k tvorbe typickej arómy a textúry prostredníctvom acidifikácie a enzymatickej aktivity. Identifikácia týchto druhov je v súlade so zisteniami, ktoré publikovali Hammes a Hertel (2015), ktorí uvádzajú, že tieto taxóny tvoria základnú mikrobiotu fermentovaných mäsových produktov a sú kľúčové pre zabezpečenie ich mikrobiologickej bezpečnosti a predĺženie údržnosti.

ZÁVER

Baktérie mliečneho kvasenia predstavovali významnú zložku mikrobioty vo všetkých analyzovaných potravinových matriciach, pričom ich výskyt bol ovplyvnený technologickým spracovaním. Pri výrobe piva boli BMK detegované v rôznych štádiách procesu, pričom ich prítomnosť vo finálnom produkte môže súvisieť so sekundárnou kontamináciou. V mlieku boli BMK stabilne prítomné bez výrazných rozdielov medzi A1 a A2 variantom, zatiaľ čo v sušenom fermentovanom hovädzom mäse dominovali druhy adaptované na stresové podmienky. Následná druhová identifikácia prispela k lepšiemu poznaniu ich zastúpenia v rôznych potravinových matriciach.

POĎAKOVANIE

Práca bola vykonaná vďaka finančnej podpore z grantovej úlohy VEGA 1/0325/26 a KEGA 009UVLF-4/2026.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BOKULICH, N. A. a BAMFORTH, C. W. The microbial ecology of brewing. In *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. ISSN 1092-2172, 2013, roč. 77, č. 2, s. 157–182.
2. FRANK, J. A. et al. Critical evaluation of two primers commonly used for amplification of bacterial 16S rRNA genes. In *Applied and Environmental Microbiology*. ISSN 0099-2240, 2008, roč. 74, č. 8, s. 2461–2470.
3. HAMMES, W. P. a HERTEL, C. The genera Lactobacillus and Carnobacterium. In *The Prokaryotes: Firmicutes and Tenericutes*. Berlin: Springer, 2015, s. 765–840. ISBN 978-3-642-30120-9.
4. KONTOPODI, E., HETTINGA, K. A. a LUDWIG, T. The effect of bovine milk A1 and A2 variants on health and the composition of the gut microbiota: A systematic review. In *Frontiers in Nutrition*. ISSN 2296-861X, 2022, roč. 9, art. no. 963784.
5. MERTZ, S., VOGEL, R. F. a NIESSEN, L. Genetic markers for the prediction of the beer spoiling potential of lactic acid bacteria: A review. In *European Food Research and Technology*. ISSN 1438-2377, 2022, roč. 248, s. 2415–2433.
6. QUIGLEY, L. et al. The complex microbiota of raw milk. In *FEMS Microbiology Reviews*. ISSN 1574-6976, 2013, roč. 37, č. 5, s. 664–698.

7. SCHEINBERG, J. A., CAMPBELL, J. A. a MILLER, M. F. The role of Latilactobacillus sakei in the bioconservation of fermented and dried meat products. In *Journal of Food Safety*. ISSN 1745-4565, 2021, roč. 41, č. 4, e12906.
8. STN ISO 15214 (56 0103) Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu mezofilných kyslomliečnych baktérií. Metóda počítania kolónií kultivovaných pri 30 °C. Bratislava: STN, 2002.
9. STN EN ISO 6887-1 Mikrobiológia potravinového reťazca. Príprava skúšobných vzoriek, východiskovej suspenzie a desatinných riedení. Časť 1: Všeobecné pravidlá. Bratislava: ÚNMS SR, 2017.
10. STN EN ISO 6887-5 Mikrobiológia potravinového reťazca. Príprava skúšobných vzoriek, východiskovej suspenzie a desatinných riedení. Časť 5: Mlieko a mliečne výrobky. Bratislava: ÚNMS SR, 2021.
11. VRIESEKOOP, F. et al. Bacteria in brewing: The good, the bad and the ugly. In *Journal of the Institute of Brewing*. ISSN 0046-9750, 2012, roč. 118, č. 4, s. 335–345.
12. YANG, J.-L. et al. A simple and rapid method for extracting bacterial DNA from intestinal microflora for ERIC-PCR detection. In *World Journal of Gastroenterology*. ISSN 1007-9327, 2008, roč. 14, č. 18, s. 2872–2876.
13. ZHU, Y. et al. Diversity of lactic acid bacteria in fermented foods and their impact on sensory and nutritional quality: A review. In *Food Research International*. ISSN 0963-9969, 2024, roč. 176, art. no. 113821.

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

ÚČINOK SKRMOVANIA HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA KVALITU PRODUKOVANÝCH VAJEC

THE EFFECT OF FEEDING HUMIC SUBSTANCES ON EGG QUALITY

Reitznerová Anna[1], Várady Matúš[1], Najt David[1], Mellen Martin[2], Olekšáková Martina[2], Gerbáčová Katarína[2], Marcinčák Slavomír[1]

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

[2]Babičkin dvor

ABSTRACT

The aim of the experiment was to determine the effect of supplemented humic substances over a 30-day period on the quality of laying hens' eggs. The monitored parameters included egg weight and the weight of their components, quality parameters (yolk color, albumen height, Haugh units, quality grade), egg pH, and the chemical composition of the egg mixture. Feeding humic substances had a statistically significant positive effect on eggshell weight ($p < 0.05$) and the height of the dense albumen, which was reflected in an improvement in Haugh units ($p < 0.01$). The protein content of the egg mixture increased ($p < 0.05$). The yolk color, assessed using the Roche color scale, increased statistically significantly ($p < 0.05$), although the colorimetric parameters (L*, a*, b*) did not change ($p > 0.05$). The results confirm the beneficial effect of humic substances on egg quality and support their use as a feed additive for laying hens.

Key words: humic substances, egg qaulity, eggshell, egg yolk, Haugh units

ÚVOD

Vajcia patria na Slovensku k bežným a dlhodobo obľúbeným potravinám. Priemerný obyvateľ ich ročne skonzumuje viac ako 200 kusov, avšak domáca produkcia za týmto dopytom výrazne zaostáva (Štatistický úrad SR, 2025).

U konzumentov si držia výsadné postavenie predovšetkým vďaka unikátnemu nutričnému profilu, v ktorom dominujú proteíny s ideálnym pomerom aminokyselín. Okrem nich sú zdrojom dôležitých esenciálnych mastných kyselín a pestrej palety mikronutrientov. Samotné posudzovanie kvality sa pritom nezužuje len na vizuálnu stránku, ako je čistota či integrita škrupiny. Rovnako podstatné sú aj vnútorné ukazovatele – od výšky bielka až po Haughove jednotky a sfarbenie žĺtka (Abebe et al., 2023).

Reštrikcie v používaní antibiotík v rámci EÚ zásadne zmenili doterajší prístup v intenzívnej živočíšnej produkcii. Súčasné chovy musia garantovať zdravotnú bezpečnosť produktov a minimalizovať vznik rezistencie bez toho, aby klesla efektivita výroby (Arif et al., 2019). Práve táto potreba urýchlila výskum aditív na báze humínových látok (HS), ktoré predstavujú perspektívny nástroj pre modernú výživu hospodárskych zvierat. Z chemického hľadiska ide o stabilné produkty vznikajúce pri humifikácii organickej hmoty, tvorených heterogénnou zmesou humínových a fulvových kyselín (Sanmiguel et al., 2022). Uplatnenie HS v živočíšnej produkcii sa neobmedzuje len na priamu stimuláciu rastových parametrov; ich potenciál vychádza z rozmanitých biologických vlastností, predovšetkým z antibakteriálneho, antivírusového, antiflogistického a antioxického pôsobenia (Simakova et al., 2021; Sanmiguel et al., 2022)

Doterajšie poznatky o suplementácii HS v chove nosníc poukazujú na pozitívne trendy v produkčných ukazovateľoch. Pri použití nízkych až stredných dávok sa v praxi pozoruje nielen lepšia intenzita znášky, ale aj efektívnejšia konverzia krmiva, pričom hmotnosť vajec zostáva zachovaná, prípadne mierne stúpa (Mudroňová et al., 2021; Sanmiguel et al., 2022). Odozva organizmu však nie je vždy identická. Výsledky uvedené v doteraz publikovaných vedeckých prácach vykazujú určitú variabilitu, ktorú možno pripísať rozdielom v genotype, veku zvierat či konkrétnemu zloženiu kŕmnej dávky a dĺžke podávania aditíva (Zhang et al., 2020; Hrnčár et al., 2023).

Kvalita vaječnej škrupiny je najkritickejším bodom v ekonomike produkcie vajec. S pribúdajúcim vekom nosníc dochádza k prirodzenej degradácii kvality škrupiny (Abebe et al., 2023). Výskumy potvrdzujú, že pridanie HS do krmiva vedie k preukaznému zvýšeniu hrúbky a pevnosti škrupiny, a to nielen u kury domácej, aj u japonských prepelíc (Hrnčár et al., 2020; Sanmiguel et al., 2022). Okrem mechanickej odolnosti je tiež dôležitá vnútorná kvalita vajec. Farba žĺtka súvisí s príjmom a využitím pigmentov v krmive. Niektoré štúdie pri HS uvádzajú zintenzívnené sfarbenie, pravdepodobne vďaka lepšej absorpcii karotenoidov alebo priamej depozícii pigmentov (Zhang et al., 2020). Určitú nejednotnosť výsledkov v sfarbení žĺtka môžu vysvetľovať aj interakcie s minerálnymi aditívami; v niektorých prípadoch bolo zaznamenané jeho mierne zosvetlenie žĺtka, ktoré sprevádzalo nárast priemernej hmotnosti vajec (Sanmiguel et al., 2022). Okrem priameho vplyvu na produkt vykazujú HS aj výrazné imunostimulačné účinky. Zvyšujú aktivitu fagocytov, podporujú diferenciáciu B-lymfocytov a sekréciu imunoglobulínov (IgA, IgM, IgG) v krvi a črevnej sliznici. Zvýšená imunokompetencia nosníc sa v praxi prejavuje lepšou odolnosťou voči patogénom a schopnosťou efektívnejšie kompenzovať stresové faktory prostredia. V prostredí intenzívnej výroby ide o podstatný faktor, ktorý priamo podmieňuje stabilitu kvalitatívnych znakov vajec (Mudroňová et al., 2021;

Sanmiguel et al., 2022). HS tak predstavujú prostriedok, ktorý umožňuje prepojiť ekonomické ciele chovateľov s požiadavkami spotrebiteľov na zdravotne nezávadné a kvalitné produkty (Simakova et al., 2021).

Cieľom práce bolo skrmovať HS spolu s krmivom nosniciam počas 30 dní a následne zhodnotiť ich vplyv na hmotnosť škrupiny a vaječného obsahu, chemické zloženie a kvalitatívne parametre žĺtka a bielka.

MATERIÁL A METODIKA

V rámci pokusu bolo vyšetrených 120 ks netriedených vajec (Babičkin dvor). Vajcia pochádzali od nosníc, ktorým za účelom zlepšenia kvality produkovaných vajec boli s kŕmnou zmesou pridávané humínové látky (HUMAC Natur AFM v dávke 0,6 %) po dobu 30 dní. Vyšetrenie vajec bolo realizované pred (0. deň) a po uplynutí doby skrmovania humínových látok (30. deň).

Hodnotenie kvalitatívnych parametrov vajec (hmotnosť vajca, farba žĺtka, výška bielka, Haughove jednotky) a zatriedenie vajec do triedy kvality (AA, A, B, C), bolo realizované pomocou prístroja Egg Tester Plus^{TM} (ORKA, Izrael). Zariadenie umožňuje automatické stanovenie hmotnosti vajca, pričom pomocou ultrazvukových senzorov je zaznamenaná výška hustého bielka (v rozsahu 0 – 30 mm) a farba vaječného žĺtka (v rozsahu 1 – 15 jednotiek farebnej stupnice). Na základe týchto meraní prístroj následne vypočíta hodnotu Haughových jednotiek v rozsahu 0 - 130. Získané výsledky slúžia na zatriedenie vajec do tried kvality AA, A, B a C.

Hmotnosť vaječného obsahu, samostatných časti vajec (žĺtka a bielka) a vaječnej škrupiny boli vážené pomocou laboratórnych váh (Navigator^{TM}, Ohaus). Hodnoty pH vzoriek vaječného žĺtka, bielka a vaječnej zmesi boli stanovené pomocou digitálneho pH-metra (InoLab pH 720, WTW, Weilhem, Nemecko) vybaveného sklenenou elektródou.

Obsah sušiny, tuku a bielkovín vo vzorkách vaječného obsahu boli stanovené pomocou TANGO FT-NIR spektrofotometra (Bruker, Germany) s rozlíšením 16 cm^{-1}. Každé meranie pozostávalo zo 64 skenov, pričom výsledná hodnota pre jednu vzorku bolo získaná ako priemer dvanástich opakovaní.

Kolorimetrické parametre vzoriek vaječného žĺtka a vaječnej zmesi boli merané spektrofotometrom TS 7600 (meracia plocha Ø 40 mm, osvetlenie D65, štandardný pozorovací uhol 10°; 3NH, Shenzhen Threenh Technology Co., Ltd., Čína). Výsledky meraní boli spracované pomocou softvéru SQCX (3NH, Shenzhen Threenh Technology Co., Ltd., Čína). Farba analyzovaných vzoriek bola vyjadrená vo farebnom priestore CIE Lab, kde parameter L* reprezentuje svetlosť v rozsahu od čiernej (0) po bielu (100), parameter a* vyjadruje farebný

prechod medzi červenou a zelenou, a parameter b* farebný prechod medzi žltou a modrou. Pred samotnou analýzou bol prístroj kalibrovaný pomocou kalibračnej doštičky podľa pokynov výrobcu, pričom kalibrácia bola vykonaná na štandard bielej a čiernej farby.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Hmotnosti jednotlivých častí vajec sú uvedené v tabuľke č. 1. Skrmovanie humínových látok malo štatisticky významný vplyv na hmotnosť vaječnej škrupiny a to nárastom hmotnosti ($p < 0,05$). Naopak, pri hmotnosti vaječného bielka a žĺtka neboli zistené štatisticky významné rozdiely ($p > 0,05$), čo môže súvisieť s vyššou variabilitou nameraných hodnôt, ako aj s možnými stratami materiálu počas separácie a váženia jednotlivých častí vajec. Podobné zistenia uvádzajú aj Sanmiguel et al. (2022), ktorí preukázali, že suplementácia humínových látok v krmive pozitívne ovplyvnila produkčnú výkonnosť nosníc, vrátane kvality a hmotnosti škrupiny, bez zmeny hmotnosti vaječného obsahu.

V priebehu 30-dňového podávania humínových látok boli zaznamenané zmeny vybraných kvalitatívnych ukazovateľov vajec (Tabuľka č. 1). Farba žĺtka sa štatisticky významne zvýšila z hodnoty 9,36 ± 0,92 na 10,50 ± 1,31 ($p < 0,05$). Rovnako bol zaznamenaný štatisticky významný nárast výšky hustého bielka, ktorá sa zvýšila z 5,40 ± 1,07 mm na 7,42 ± 1,53 mm ($P < 0,01$). Haughove jednotky, ako významný indikátor kvality vaječného bielka, sa štatisticky významne zvýšili z 68,69 ± 12,59 na 83,58 ± 12,22 ($p < 0,01$), čo poukazuje na zlepšenie kvality vajec. Tento pozitívny vplyv humínových látok na hmotnosť bielka a Haughových jednotiek potvrdili aj Arpášiová et al. (2023) vo svojej práci pri skrmovaní 0,5 % humínových kyselín nosniciam. Zlepšenie kvality vajec môže byť spojené s pozitívnym vplyvom humínových látok na črevnú mikroflóru a zlepšením využitia živín (Li et al., 2022). Naopak, hmotnosť vajec nevykazovala štatisticky významnú zmenu ($p > 0,05$). Rovnako neboli zistené štatisticky významné rozdiely ani v triede kvality, hoci bol pozorovaný trend zlepšenia kvality (z triedy A na triedu AA).

Nami namerané hodnoty pH (Tabuľka č. 1) zodpovedajú hodnotám pH pre vaječný bielok, žĺtok a vaječnú zmes, ktoré uvádza Saláková (2014). Merané hodnoty pH sa počas 30 dní skrmovania humínových látok štatisticky významne nemenili ($p > 0,05$). Bielko malo pH približne 8,4, žĺtok okolo 6,0 a vaječná zmes 7,3.

Tabuľka č. 1: Parametre produktivity a kvalitatívne parametre vajec

	0. deň	30. deň	P hodnota
Hmotnosť [g]			
vajce	63,57 ± 6,42	64,76 ± 3,72	0,59
škrupina	8,37 ± 0,71	9,34 ± 1,27	**0,03**
vaječný bielok	35,95 ± 3,75	36,14 ± 4,83	0,92
vaječný žĺtok	17,90 ± 2,36	18,41 ± 5,09	0,76
Kvalitatívne parametre			
farba žĺtka	9,36 ± 0,92	10,50 ± 1,31	**0,02**
výška hustého bielka [mm]	5,40 ± 1,07	7,42 ± 1,53	**0,001**
Haughove jednotky	68,69 ± 12,59	83,58 ± 12,22	**0,008**
trieda kvality	A	AA	0,21
Hodnoty pH			
vaječný bielok	8,45 ± 0,15	8,47 ± 0,17	0,76
vaječný žĺtok	6,02 ± 0,04	6,00 ± 0,04	0,23
vaječná zmes	7,36 ± 0,08	7,32 ± 0,05	0,16

Chemické zloženie vaječnej zmesi je uvedené v tabuľke č. 2. Skrmovanie humínových látok v priebehu 30 dní malo vplyv na množstvo celkových bielkovín vo vaječnej zmesi ($p < 0,05$), pričom v obsahu tuku nebol zaznamenaný štatisticky významný rozdiel ($p > 0,05$).

Tabuľka č. 2: Chemické zloženie vaječnej zmesi

Chemické zloženie [%]	0. deň	30. deň	P hodnota
sušina	24,30 ± 0,23	24,74 ± 0,83	0,10
tuk	11,97 ± 0,47	11,54 ± 0,85	0,14
bielkoviny	13,15 ± 0,21	13,33 ± 0,13	**0,02**

Tabuľka č. 3 znázorňuje výsledky kolorimetrického merania farby vaječného žĺtka a vaječnej zmesi. Skrmovanie humínových látok počas 30 dní nemalo štatisticky významný vplyv na sledované farebné parametre (L*, a*, b*) vaječného žĺtka a vaječnej zmesi ($p > 0,05$). Farba vaječného žĺtka predstavuje významný kvalitatívny ukazovateľom, ktorý je ovplyvňovaný obsahom karotenoidov v kŕmnej dávke. Intenzita sfarbenia žĺtka (od svetložltej až po tmavooranžovú farbu) je priamo úmerná obsahu karotenoidov (napr.: luteín, zeaxantín) (Nys et al., 2011; McNamara a Thesmar, 2005). V sledovanom pokuse sa síce zaznamenal mierny nárast hodnoty parametra b*, ktorý vyjadruje intenzitu žltého sfarbenia, avšak tento rozdiel nebol štatisticky významný. Na druhej strane, pri hodnotení farby pomocou Egg testeru

(tabuľka č. 1) na základe Rocheovej farebnej škály žĺtka bol preukázaný štatisticky významný vplyv na farbu žĺtka ($p < 0,05$).

Tabuľka č. 3: Kolorimetrické stanovenie farby vaječného žĺtka a vaječnej zmesi

	0. deň	30. deň	P hodnota
Vaječný žĺtok			
L*	53,33 ± 5,00	51,64 ± 5,34	0,43
a*	13,72 ± 2,77	13,11 ± 2,49	0,58
b*	39,77 ± 6,30	45,11 ± 7,87	0,08
Vaječná zmes			
L*	54,18 ± 11,24	54,91 ± 10,93	0,87
a*	8,73 ± 2,03	8,10 ± 1,49	0,40
b*	28,27 ± 6,12	32,24 ± 6,20	0,13

ZÁVER

Podávanie humínových látok počas 30 dní malo pozitívny vplyv na kvalitu vajec, najmä na hmotnosť škrupiny, farbu vaječného žĺtka a výšku vaječného bielka. Zistené výsledky potvrdzujú pozitívny efekt humínových látok na kvalitu vajec a ich uplatnenie ako doplnkovej zložky krmiva pre nosnice.

LITERATÚRA

1. Abebe, F., Mulatu, H., Kelemework, S. (2023). Review of factors affecting egg quality and its effect. *Journal of Animal Health*, *3*(2), 17-32.
2. Arif, M., Alagawany, M., Abd El-Hack, M. E., Saeed, M., Arain, M. A., Elnesr, S. S. (2019). Humic acid as a feed additive in poultry diets: A review. *Iranian journal of veterinary research*, *20*(3), 167.
3. Arpášová, H., Kačániová, M., Pistová, V., Gálik, B., Fik, M., Hleba, L. Effect of probiotics and humic acid on egg production and quality parameters of laying hens eggs. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*, 2016, 49, 2.
4. Hrnčár, C., Hanusová, E., Hanus, A., Capcarová, M., Kalafová, A., Arpášová, H., ... & Bujko, J. (2020). The effect of probiotic and humic acids on internal and external egg quality of Japanese quails. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, *53*(2), 239-239.
5. Hrnčár, C., Hanusová, E., Hanus, A., Zita, L., Šimonová, N., Hegerová, T., & Bujko, J. (2023). Effects of Dietary Supplementation of Humic Substances on External and Internal Egg Quality of Oravka Hens. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, *56*(2), 141-141.

6. Li, C., Li, X., Li, P., Wei, B., Zhang, C., Zhu, X., Zhang, J. Sodium humate alters the intestinal microbiome, short-chain fatty acids, eggshell ultrastructure, and egg performance of old laying hens. Front Vet Sci. 2022 Oct 12, 9, 986562.
7. McNamara, D., Thesmar, H. *Encyclopedia of Human Nutrition*. USA: Academic Press, 2005, s. 86–92. ISBN 978-01-2226-694-2.
8. Mudroňová, D., Karaffová, V., Semjon, B., Naď, P., Koščová, J., Bartkovský, M., ... & Marcinčák, S. (2021). Effects of dietary supplementation of humic substances on production parameters, immune status and gut microbiota of laying hens. *Agriculture*, *11*(8), 744.
9. Nys, Y., Bain, M., Van Immerseel, F. Improving the safety and quality of eggs and egg products Volume 1: Egg chemistry, production and consumption. Veľká Británia : Woodhead Publishing, 2011. 602 s. ISBN 978-1-84569-754-9
10. Saláková, A. Hygiena a technologie drůbeže, vajec a zvěřiny. Brno : Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014. 82 s. ISBN 978-80-7305-721-3
11. Sanmiguel, R.A., Dedousi, A., López, J.D., Sierra, D.A., Sossidou, E.N. Effects of feeds, supplemented with humic substances and calcium carbonate, on performance, egg quality and heart rate variability in laying hens. Vet Res Forum. 2022. 13(4), 461-467.
12. 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.
13. Štatistický úrad Slovenskej republiky. *Vajíčka symbol Veľkej noci* [online]. Bratislava: ŠÚ SR, 17. 04. 2025 [cit. 2026-04-14]. Dostupné na: https://slovak.statistics.sk/ExportPdf2/PdfExportSrvlt?Document=20adbfe8-7c62-4445-926f-55a15ac47d32.
14. Zhang, A. R., Pirzado, S. A., Liu, G. H., Chen, Z. M., Chang, W. H., Cai, H. Y., ... & Zheng, A. J. (2020). Dietary supplementation with sodium humate improves egg quality and immune function of laying hens. *Journal of Applied Animal Nutrition*, *8*(2), 93-100.

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

ZLOŽENIE BAKTERIÁLNYCH SPOLOČENSTIEV OVČEJ SRVÁTKY PRI VÝROBE BRYNDZE NA SLOVENSKU

BACTERIAL COMMUNITY COMPOSITION OF EWES´ WHEY FROM THE PRODUCTION OF BRYNDZA CHEESE IN SLOVAKIA

Rešková Zuzana, Čaplová Zuzana, Koreňová Janka, Klištincová Nikola

Oddelenie Mikrobiológie a molekulárnej biológie, Odbor Potravinárstva, Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Priemyselná 4, 821 08 Bratislava

ABSTRACT

To initiate the ripening of traditional cheese, including Bryndza cheese in Slovakia, producers can add fermented whey from previous production batches to pasteurized milk. Whey, as a natural starter, represents an undefined community of microorganisms. In spite of that, it has advantages over defined commercial starters. Microbial strains present in the whey are well-adapted to the specific substrate and production conditions, and they produce aroma-active compounds, thereby contributing to the unique sensory properties of the cheese (Morandi, et al., 2022). In order to identify the bacterial community in fresh and fermented whey from eight locations in Slovakia, both culture-based and culture-independent analyses were performed. Results of quantitative culture-based analysis showed at 5 to 9 log CFU ml^{-1} presumptive lactococci, and at 4 to 9 log CFU ml^{-1} presumptive lactobacilli. Among the pathogens, coliforms were identified, but their counts were by 1–5 decimal orders of magnitude lower than those of lactococci, especially in fermented whey. Staphylococci was also detected, and their value exceed 5 log CFU ml^{-1}, but with average value under 4 log CFU ml^{-1}. Results of culture-independent analysis of whey samples revealed dominant genus of *Lactococcus* in most samples except for three where *Streptococcus* dominated and for one where *Lactobacillus* dominated. Whey obtained from previous production can be suitable as a natural starter in the production of bryndza cheese due to its bacterial composition, especially when fermented whey is applied. However, its use requires the implementation of strict hygienic practices and microbiological monitoring to ensure product safety and quality.

Key words: bryndza cheese, whey, culture-based, culture-indepenedent, next generation sequencing

ÚVOD

Srvátka z predchádzajúcej výroby sa často používa ako prírodný štartér v technológii tradičných syrov vrátane bryndze na Slovensku. Prírodné štartéry zo srvátky majú výhodu oproti definovaným štartovacím kultúram vďaka svojmu zloženiu mikrobiálnych kmeňov, ktoré sú dobre prispôsobené substrátu a podmienkam vo výrobnom zariadení, sú prirodzene selektované pre konkurenčný úspech v zmiešaných mikrobiálnych populáciách vrátane bakteriofágov a produkujú aromatické zlúčeniny zodpovedné za charakteristické vlastnosti daného typu produktu (Sádecká et al., 2019).

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky 1,0 – 1,5 l čerstvej (nefermentovanej) srvátky (pH 4,6 – pH 6,8) a fermentovanej srvátky (prirodzene fermentovanej pri teplote 17 – 21 °C počas 24 – 72 hodín; pH 3,9 – pH 6,2) boli získané z 8 malých prevádzok na výrobu ovčieho syra vo všetkých regiónoch produkcie ovčieho syra na Slovensku v priebehu dvoch rokov.

Kultivačné metódy: Predpokladané laktobacily boli kvantifikované na agare de Man-Rogosa-Sharpe (agar MRS; Merck, Darmstadt, Nemecko) pri teplote 37 °C za anaeróbnych podmienok počas 72 hodín. Predpokladané laktokoky boli kvantifikované na agare M17 (Merck) pri teplote 30 °C počas 72 hodín. Ďalej boli vzorky analyzované na prítomnosť koaguláza-pozitívnych stafylokokov podľa normy ISO 6888–1 (ISO 2021), koliformných baktérií podľa normy ISO 4832 (ISO 2006) s použitím Chromocult Coliform Agar (Merck), *Salmonella* spp. podľa normy ISO 6579–1 (ISO 2017a) a *Listeria monocytogenes* podľa normy ISO 11290–1 (ISO 2017b).

Nekultivačné metódy: Metagenómová analýza srvátky bola uskutočnená metódami vysokokapacitného sekvenovania na dvoch platformách: Illumina MiSeq a Oxford Nanopore MinION HTS:

DNA pre analýzu *MiSeq* bola extrahovaná pomocou súpravy DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen). Oblasť V3-V4 prokaryotického génu 16S rRNA bola amplifikovaná polymerázovou reťazovou reakciou (PCR) s primermi 16S-Amplicon-F a 16S-Amplicon-R. Knižnice DNA boli pripravené pomocou súpravy Nextera XT Index podľa protokolu pre prípravu knižnice 16S Metagenomic Sequenceing (Illumina). Vysokokapacitné sekvenovanie bolo vykonané pomocou súpravy MiSeq Reagent Kit v3 v režime párových koncov 2 × 300 bp. Po analýze údajov sekvenovania boli finálne fragmenty analyzované pomocou služby na online platforme s databázou SILVA (Quast et al., 2014).

DNA pre analýzu *MinION* bola extrahovaná pomocou extrakčnej súpravy DNeasy PowerSoil (Qiagen). Bakteriálny gén 16S rRNA bol amplifikovaný pomocou primerov 27F a 1492R po príprave knižnice pomocou súpravy Ligation Sequencing Kit (SQK-LSK109, ONT). Vysokokapacitné sekvenovanie sa uskutočnilo pomocou prietokovej kazety R9 (FLO-MIN 109 R9.2, ONT). Po analýze sekvenačných dát boli gény 16S rRNA identifikované pomocou taxonomických klasifikačných nástrojov Kraken (platforma Galaxy).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vzorky srvátky z výroby ovčieho hrudkového syra boli analyzované metódami založenými na kultivácii a nezávislými od kultivácie. Analyzovali sa dva typy srvátky: čerstvá srvátka s pH ~ 5,6 a fermentovaná srvátka s nižším pH (~ 4,5). Fermentovaná srvátka je ovplyvnená aktivitou baktérií mliečneho kysnutia (LAB) (Ryan a Walsh 2016).

Výsledky kvantitatívnej analýzy založenej na kultivácii (Tabuľka č. 1) ukázali, že predpokladané laktokoky boli prítomné v koncentrácii 5 log až 9 log CFU.ml^{-1}. Laktokoky dominovali nad laktobacilmi (s koncentráciou 4 až 8,5 log CFU.ml^{-1}) vo všetkých vzorkách, s výnimkou čerstvej aj fermentovanej srvátky od producenta 3. Kmene rodu *Lactococcus* sú známe svojou schopnosťou rýchlo okysliť mlieko a bežne sa používajú v štartovacích kultúrach, kde prispievajú k zlepšeniu pevnosti tvarohu a arómy syra (Ruggirello, et al., 2014). Koliformné baktérie boli prítomné vo vzorkách čerstvej aj fermentovanej srvátky od všetkých výrobcov, ale ich počet bol o 1 – 5 desatinných rádov nižší ako počet laktokokov, najmä vo fermentovanej srvátke. Niektoré LAB môžu zohrávať významnú úlohu pri znižovaní populácie koliformných baktérií prostredníctvom produkcie bakteriocínov, ktoré vykazujú silnú baktericídnu aktivitu proti rôznym patogénom, najmä *E. coli* (Cuevas-González et al., 2024). Koagulázo-pozitívne stafylokoky boli prítomné vo všetkých vzorkách s priemernou hodnotou nepresahujúcou 4 log CFU ml^{-1}. Sledované patogénny *Salmonella* spp a *L. monocytogenes* neboli detegované v žiadnej zo vzoriek.

Výsledky analýzy vzoriek srvátky nezávislej od kultivácie sú uvedené v Tabuľke č. 2. Relatívna abundancia čeľadí bola vypočítaná na základe údajov MiSeq a zloženie čeľadí bolo špecifikované na základe výsledkov sekvenovania na platforme MinION. Vo všetkých vzorkách srvátky bola zistená najvyššia abundancia pre čeľaď Streptococaceae. V počiatočných štádiách fermentácie pri výrobe syrov môžu byť primárne prítomné laktokoky (Carafa a kol. 2019). Rod *Lactococcus* bol dominantný vo väčšine vzoriek, s výnimkou čerstvej aj fermentovanej srvátky od producenta 5 a fermentovanej srvátky od producenta 4, kde dominoval rod *Streptococcus*. Výnimku predstavovala fermentovaná srvátka od producenta 2, kde boli zachytené výlučne laktobacily rodov *Lactobacillus sensu lato*. Vo všetkých vzorkách

boli zaznamenané aspoň niektoré z potenciálnych patogénnych bakteriálnych rodov čeľadí Enterabacteriaceae, Pseudomonadaceae a Staphylococcaceae, v rôznom zastúpení. Je potrebné pripomenúť, že vysoko-kapacitné sekvenovanie bolo založené na totálnej DNA extrahovanej zo vzoriek a preto nebolo možné nerozlíšiť DNA živých buniek od DNA tých mŕtvych. Získané výsledky korelovali s výsledkami analýz bryndze od rôznych výrobcov na Slovensku pomocou sekvenovania amplikónu génu 16S rRNA s použitím Illumina MiSeq (Sádecká, et al., 2019), ale aj s výsledkami iných typov syra (Mannu et al., 2000).

Tabuľka č. 1, Kultivačná analýza vzoriek čerstvej a fermentovanej srvátky

Producent	Typ srvátky	pH	Množstvo [log10 CFU. mL-1]			
			Lactobacily	Laktokoky	Koliformné	KPS
1	čerstvá	5,02	6,18	8,18	7,59	<2,65
	fermentovaná	5,00	7,00	8,28	6,46	<2,66
2	čerstvá	4,65	4,00	7,15	7,70	<2,67
	fermentovaná	3,86	7,15	8,15	4,81	<2,68
3	čerstvá	6,36	6,52	6,36	7,04	<2,69
	fermentovaná	4,35	8,49	8,69	7,18	5,52
4	čerstvá	6,78	4,28	7,72	7,98	4,58
	fermentovaná	4,67	7,41	8,04	4,48	<2,69
5	čerstvá	6,73	3,96	4,65	<3,65	5,38
	fermentovaná	6,15	7,68	8,30	4,45	5,83
6	čerstvá	6,59	4,56	5,66	<2,69	<2,69
	fermentovaná	4,14	6,88	8,70	<2,69	<2,69
7	čerstvá	5,03	4,89	7,70	7,98	5,65
	fermentovaná	4,4	6,36	9,00	6,36	<3,65
8	čerstvá	4,56	5,04	8,56	7,34	4,65
	fermentovaná	4,37	5,43	8,96	7,23	3,36

KPS – Koagulázo-pozitívne stafylokoky

Tabuľka č. 2, Nekultivačná analýza vzoriek čerstvej a fermentovanej srvátky sekvenovaním novej generácie

Producent	Typ srvátky	Relatívne zastúpenie [%] bakteriálnych rodov									
		Lactococcus	*Streptococcus*	*Lactobacillus s.l.*	*Enterococcus*	*Staphylococcus*	*Escherichia*	*Pseudomonas*	*Acinetobacter*	*Hafnia*	ostatné
1	Č	72,7	5,4	0,7	1,8	0,0	4,7	0,0	5,2	7,9	1,6
	F	62,1	6,7	1,1	4,2	0,0	3,6	0,1	7,1	13,5	1,6
2	Č	44,9	17,5	4,4	1,3	0,0	31,3	0,0	0,0	0,4	0,2
	F	0,7	0,1	96,8	0,1	0,0	0,4	0,1	0,1	0,1	1,6
3	Č	57,4	0,2	1,0	0,2	0,0	6,9	7,4	0,4	23,1	3,4
	F	69,8	0,5	2,0	0,8	2,2	17,8	0,2	0,1	6,0	0,6
4	Č	47,7	11,1	0,1	0,2	0,0	14,5	2,9	20,0	1,2	2,3
	F	3,5	83,0	0,0	0,2	0,0	11,2	0,0	1,8	0,0	0,3
5	Č	14,0	71,0	2,4	1,4	0,0	5,0	0,0	0,1	2,4	3,7
	F	10,4	70,3	2,5	1,7	0,0	7,2	0,0	0,0	4,6	3,3
6	Č	75,9	12,2	0,7	0,1	5,3	1,4	0,2	0,6	3,0	0,6
	F	82,8	2,0	0,5	0,8	1,0	3,6	1,2	0,4	7,3	0,4
7	Č	89,3	0,0	0,0	0,0	7,7	0,1	2,5	0,0	0,1	0,3
	F	98,5	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	0,4	0,1	0,1	0,1
8	Č	76,7	1,0	2,9	0,3	2,3	16,3	0,0	0,0	0,1	0,4
	F	93,4	0,4	2,5	0,0	0,5	2,1	0,0	0,0	1,0	0,1

Č – čerstvá srvátka, F – fermentovaná srvátka

ZÁVER

Zloženie mikrobioty syra je ovplyvnené nielen geografickým pôvodom syra, ale aj špecifickým prostredím ovčej farmy. Prítomnosť kontaminujúcich baktérií je podmienená mikrobiologickou kvalitou mlieka a celkovými hygienickými opatreniami výrobného zariadenia. V prípade používania srvátky ako štartovacej kultúry pri výrobe bryndze je potrebná mikrobiologická kontrola zabezpečujúca kvalitu výrobkov a ochranu spotrebiteľa.

POĎAKOVANIE

Táto publikácia vznikla v rámci projektu RPVV 11 „Prenos poznatkov a inovácií v rámci podpory slovenskej produkcie potravín a potravinárskych výrobkov s vyššou pridanou hodnotou“ podporovaného Ministerstvom pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR; kontrakt medzi MPRV SR a NPPC č. 1299/2025/MPRVSR-930.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. MANNU, L. et al. Mesophilic lactobacilli in Fiore Sardo cheese: PCR-identification and evolution during cheese ripening. In *International Dairy Journal* 2000; 10, s. 383–9. (ISSN 0958-6946)
2. MORANDI, S. et al. Effect of using mycotoxin-detoxifying agents in dairy cattle feed on natural whey starter biodiversity. In *Journal of Dairy Science*. 2022, 105(8), s. 6513-6526. https://doi.org/10.3168/jds.2022-21793.
3. CARAFA, I. et al. Evaluation of autochthonous lac- tic acid bacteria as starter and non-starter cultures for the produc- tion of Traditional Mountain cheese. In *Food Research International* 2019; 115, s. 209–18
4. CUEVAS-GONZÁLEZ P. F. et al. Micro- biological quality and native lactic acid bacteria diversity of arti- sanal Mexican cheeses: a review. In *Food Research International* 2024; 194, s. 114876. https:// doi.org/ 10.1016/ j.foodres.2024.114876
5. RUGGIRELLO, M. et al. Detection and viability of Lactococ- cus lactis throughout cheese ripening. In *PLoS One* 2014; 9(12) :e114280. ISSN 1932-6203
6. QUAST, C, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*. 41, s. 590-596. ISSN 1362-4962
7. SÁDECKÁ, J. et al . Microorganisms and volatile aroma-active compounds in bryndza cheese produced and marketed in Slovakia. In *Journal of Food and Nutrition Research*. 2019; 58, s. 382–92. ISSN 1336-8672

Kontaktná adresa: Rešková Zuzana, Department of Microbiology and molecular biology, Division of Food Science, National agriculture and food centre, Priemyselná 4, 821 08 Bratislava, Slovak Republic. E-mail: zuzana.reskova@nppc.sk

KYSANÉ MLÉČNÉ VÝROBKY A SPOTŘEBITELÉ

FERMENTED MILK PRODUCTS AND CONSUMERS

Samková Eva[1], Dadáková Eva[2], Švecová Lada[1], Janoušek Honesová Simona[1], Baldíková Eva[1], Janů Tereza[1], Hasoňová Lucie[1]

[1] Katedra potravinářských biotechnologií a kvality zemědělských produktů, [2] Katedra aplikované chemie, Fakulta zemědělská a technologická, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Studentská 1668, 370 05 České Budějovice, Česká republika

ABSTRACT

Fermented dairy products represent an important group of foods with a long-standing tradition. In the Czech Republic, the most common products include kefir, buttermilk, and acidophilus milk, which are valued for their nutritional and health benefits. Globally, there is a wide variety of fermented milk beverages that differ in the microorganisms used, the technological processes, and cultural significance. Among the most well-known are yogurt, lassi from India, ayran from the Middle East, and kumis made from mare's milk. Current trends indicate a growing interest in functional foods, to which fermented dairy beverages belong. Research focuses primarily on their probiotic effects, their influence on the gut microbiota and immune system, and their potential for preventing certain lifestyle-related diseases. Due to their diversity, availability, and health benefits, fermented dairy beverages maintain a stable place in consumers' diets.

Key words: fermented milk beverages, functional foods, gut microbiota, consumers

ABSTRAKT

Kysané mléčné výrobky představují významnou skupinu potravin s dlouhou tradicí. V České republice patří mezi nejběžnější výrobky zejména kefír, podmáslí a acidofilní mléko, které jsou ceněny pro své nutriční i zdravotní benefity. Celosvětově existuje široká škála kysaných mléčných nápojů, které se liší použitými mikroorganismy, technologickými postupy i kulturním významem. Mezi nejznámější patří jogurt, lassi z Indie, ayran z oblasti Blízkého východu nebo kumys vyráběný z kobylího mléka. Současné trendy ukazují rostoucí zájem o funkční potraviny, kam kysané mléčné nápoje bezesporu patří. Výzkum se zaměřuje zejména na jejich probiotické účinky, vliv na střevní mikrobiotu, imunitní systém a potenciál v prevenci některých civilizačních onemocnění. V důsledku svých zdravotních přínosů, ale i rozmanitosti a dostupnosti si kysané mléčné nápoje udržují pevné místo v jídelníčku spotřebitelů.

Klíčová slova: kysané mléčné nápoje, funkční potraviny, střevní mikrobiota, spotřebitelé

Kontaktní adresa: prof. Ing. Samková Eva, Ph.D., Katedra potravinářských biotechnologií a kvality zemědělských produktů, Fakulta zemědělská a technologická, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Studentská 1668, 370 05 České Budějovice. E-mail: samkova@fzt.jcu.cz

HODNOTENIE HYGIENY DOJENIA

MILKING HYGIENE ASSESSMENT

Sasáková Naďa, Kachnič Ján, Hromada Rudolf, Štrkolcová Gabriela, Kottferová Jana, Takáčová Daniela, Korim Peter, Vargová Mária, Veszelits Laktičová Katarína

Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 048 01 Košice, nada.sasakova@uvlf.sk

ABSTRACT

This study highlights the significance of disinfection and adherence to environmental hygiene standards during milk production. By maintaining a high level of hygiene in initial milk production, the likelihood of microbial contamination in the surroundings, the risk of infectious diseases, and the impact on milk quality are significantly decreased. The study presents findings from microbiological assessments of teat cups using the swabbing method. The findings reveal an elevated count of the observed bacteria, indicating a potential risk for the transmission of infectious diseases during the milking process if hygiene protocols are not followed. The application of appropriate disinfectants during milking, in adequate amounts and concentrations, is essential for ensuring milk quality. For this reason, it is necessary to focus on increasing attention within assurance of hygiene in the process of obtaining milk in the milking parlour.

Key words: disinfection, primary milk production, hygiene of milking

ÚVOD

Kvalitu prostredia v prvovýrobe mlieka môže ovplyvniť množstvo faktorov, ako sú pravidelnosť a kvalita sanitačných prác, hygiena prostredia, ako aj kvalita používanej pitnej vody. Správnym vykonávaním sanitačných prác sa zabezpečia optimálne podmienky pre produkciu kvalitného a zdravotne bezpečného mlieka. Súčasťou HACCP je Sanitačný program, ktorý predstavuje súbor činností ako je mechanické čistenie, dezinfekcia, dezinsekcia, deratizácia, odstraňovanie organických látok a pod.

Mikrobiologické nebezpečenstvo v prvovýrobe mlieka môže predstavovať okrem kontaminovanej vody aj nedostatočné čistenie a oplach technologických zariadení, celkový zdravotný stav stáda, pohyb zvierat, osobná hygiena pracovníkov a mnohé iné (Barbano et Melilili 2017). Nedostatky pri celkovej hygiene dojenia, ošetrenia mlieka vyvoláva prítomnosť znečisťujúcich látok už vo fáze prvovýroby (Dudríková 2014).

V chove dojníc je približne 95% infekcií vemien kráv spôsobené prítomnosťou patogénov prenášaných alimentárnou cestou (*Stahylococcus aureus, Mycoplasma spp., Streptococcus agalactiae)* a baktériami nachádzajúcimi sa v prostredí, ako sú *Streptococcus uberis, Streptococcus dysgalactiae, Escherichia coli* a podobne (Rifatbegović et al. 2024).

Hajdučková a kol. (2023) zistili, že k najvýznamnejším pôvodcom mastitíd patrí Staphylococcus aureus schopný tvoriť biofilm, čo sa spája aj s rezistenciou k antibiotikám.

Martis et al. (2017) zistili, že najčastejšie izolovanou skupinou mikroorganizmov na 2 farmách bol *Streptococcus* spp. (6,25 % z celkového počtu štvrtí mliečnej žľazy), nasledované koaguláza-negatívnymi stafylokokmi (3,6 %) a *Corynebacterium* spp. (1,5 %).

Situácia v prvovýrobe mlieka si neustále vyžaduje zdôrazňovanie postupov a opatrení, ktoré sú ľahko uskutočniteľné a prinášajú do kvality mlieka stabilitu a kontrolu nad mastitídou. Potrebné je zabezpečiť pravidelné prehliadky technického stavu dojacieho zariadenia s preventívnou obmenou gumových súčastí v intervaloch stanovených dodávateľom dojacej techniky (Brestenský a kol. 2015).

Vysoký počet mikroorganizmov v priestoroch chovu dojníc má negatívne účinky na zdravie zvierat a na kvalitu vyprodukovaného mlieka. Z tohto dôvodu sa zvyšujú nároky na dezinfekciu v prvovýrobe mlieka. Vhodným dezinfekčným procesom sa odstraňujú nežiaduce a hygienicky problematické patogénne mikroorganizmy. Na dezinfekciu treba používať len vhodné dezinfekčné prípravky, ktoré sú certifikované a schválené a pitnú vodu hygienicky bezpečnú, ktoré neobsahuje patogénne baktérie a parazity. Dezinfekčné prípravky je potrebné používať v správnej koncentrácii, expozičnej dobe a pred samotnou dezinfekciou je nevyhnutné dôsledné mechanické čistenie. Práve čistením dosiahneme odstránenie biofilmov, ktoré sú tvorené zmesou tuku a bielkovín. Biofilmy usadené na technologických zariadeniach, stenách a podlahách sú dobrým podkladom pre prežívanie nežiaducich baktérií. Preto pred samotnou dezinfekciou je nevyhnutným krokom zabezpečenie odstránenia nečistôt z plôch vhodným výberom čistiacich prostriedkov a detergentov s použitím horúcej vody pod tlakom, kedy sa dá dosiahnuť účinnosť odstránenia mikroorganizmov až do 80%. Zároveň sa zníži spotreba dezinfekčného prípravku v procese dezinfekcie (Sasáková a kol. 2013).

Na dezinfekciu strukov sa používajú hlavne jódové preparáty s aktívnym jódom vytvárajúce bariérovú filmotvornú dezinfekciu (Masofilm, Kenostart a pod.), na báze kyseliny mliečnej (Kenolac a pod.) a mnoho iných s ochrannou zložkou na povrchy strukov.

Ozsvári et Ivanyos (2022) analyzovali používanie dezinfekčných prostriedkov na struky pred a po dojení a čistiacich prostriedkov na dojacie strojov na veľkých komerčných farmách holštajnsko-frízskeho chovu. Zistili, že 83,7 % fariem používalo rôzne metódy dezinfekcie pred

dojením (65,1 % namáčanie strukov) a všetky aplikovali dezinfekciu po dojení. V stádach boli chlórhexidín (42,9 %) a iné zlúčeniny chlóru (21,4 %) najpoužívanejšími účinnými látkami pri dezinfekcii pred dojením, zatiaľ čo jód pri dezinfekcii po dojení (53,8 %). Kyselina mliečna sa v oboch dezinfekčných prostriedkoch umiestnila na druhom mieste (25,0 oproti 41,0 %).

Zonja et al. (2018) používali jódové prípravky na dezinfekciu a poukázali na problém vedľajších produktov, ktoré sú nebezpečné pre zdravie.

Po aplikácií dezinfekčných prostriedkov je dôležitý dôkladný oplach čistou pitnou vodou. Tak sa odstránia aj posledné zvyšky rezíduí po dezinfekčnom prípravku na technologickom zariadení a v celom priestore, kde bola dezinfekcia vykonaná. Kontrola účinnosti dezinfekcie použitého dezinfekčného prostriedku mikrobiologickými stermi je jedinou objektívnou metódou, ktorou sa môžeme dozvedieť o efektívnosti vykonanej dezinfekcie. Získame tak vedomosti o vhodnosti použitia dezinfekčného prípravku, o dostatočnej použitej koncentrácii, expozičnej dobe, oplachu a pod..

Čistenie a dezinfekcia v mliekarenskom priemysle prebieha v mnohých na seba nadväzujúcich krokoch, ktoré začínajú odstránením hrubých nečistôt z priestoru ako aj z technologických zariadení. Nasleduje oplach studenou pitnou vodou a čistenie priestoru a technologických zariadení pomocou čistiacich prostriedkov. Dôležité je odstránenie zvyškov čistiacich prostriedkov a nečistôt pomocou oplachu studenou pitnou vodou. Následne sa použije dezinfekčný prostriedok podľa návodu uvedeného na obale a potom nasleduje dôkladný oplach vodou pred začatím výrobného procesu.

MATERIÁL A METODIKA

Sledovali sme hygienické podmienky súvisiace s procesom sanitácie na farme s chovom dojníc, zabezpečujúcej získavanie a spracovanie mlieka. Táto prevádzka je moderná a plne automatizovaná. Prevádzka má vybudovaný potrubný systém odvádzania mlieka až do tankov. Dezinfekcia v poľnohospodárskom podniku sa vykonáva pravidelne pred každým začiatkom dojenia a po ukončení dojenia. Dezinfekciu vykonáva školený personál pomocou vhodných dezinfekčných prostriedkov. Vo svojej praxi využívajú vybrané dezinfekčné prípravky na udržanie optimálnej hygieny prostredia. Tým sa zaručuje získavanie kvalitného a hlavne zdravotne bezpečného mlieka. Všetky dezinfekčné prostriedky, ktoré sa používajú, boli schválené Ministerstvom zdravotníctva SR.

V tomto podniku dojiči počas dojenia nie sú v priamom styku s dojnicami. Ale aj napriek tomu musí personál počas dojenia prísne dodržiavať zásady personálnej hygieny.

Kontrola hygieny dojenia bola hodnotená mikrobiologickými stermi v ceckových násadcoch v procese dojenia. Správnym vykonávaním procesov dezinfekcie v procese dojenia

sa zabezpečuje zníženie počtu mikroorganizmov, čím sa zníži riziko prenosu baktérií z jedného vemena na druhé, a tak sa dosiahne primeraná úroveň hygieny prostredia.

Na získanie steru z ceckového násadca bol použitý sterilný tampón. Po odobratí sterov sa tampóny so vzorkami vložili do skúmaviek, ktoré boli naplnené 10 ml fyziologickým roztokom. Pomocou pipety sa naočkovala vzorka o objeme 0,1 ml na platne s tuhou živnou pôdou podľa zvolených sledovaných skupín mikroorganizmov. Po ukončení kultivácie sa vyhodnotil kvantitatívny nárast kolónií.

Na stanovenie celkového počtu mikroorganizmov sa použil mäsopeptónový agar (MPA). Kultivácia sa vykonala pri teplote 37°C za 24 hodín. Na stanovenie počtu koliformných mikroorganizmov sa použil Endoagar (EA), pričom kultivácia bola vykonaná za 24 hodín a pri teplote 37°C. Sabouradov agar (SA) sa použil pri stanovení počtu plesní, pričom kultivácia bola vykonaná pri 22°C za 3 až 5 dní.

Na porovnanie výsledkov sa použila bioluminiscenčná metóda ATP použitím odberového pera a prístroja BioTrace. Smith et al. (2007) odporúčajú bioluminiscenčnú metódu kontroly do mliekarenských podnikov, kde sa využíva ako doplnková metóda na stanovenie správneho účinku dezinfekcie a na kontrolu dodržiavania hygieny. Metóda je považovaná za jednoduchú a rýchlu, pretože výsledok dosiahneme za menej ako 10 minút.

Mikrobiologickou kontrolou vzduchu sa zisťuje úroveň hygieny prostredia. Prítomnosť mikroorganizmov, najmä indikátorových koliformných baktérií a plesní poukazuje na zvýšené riziko vzniku a šírenia infekčných ochorení.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Hygienická úroveň dojenia bola posudzovaná mikrobiologickou analýzou hygieny ceckových násadcov tak, že boli odobrané stery z daného násadca počas procesu dojenia.

V rámci analýz sa zhodnotila účinnosť používaných dezinfekčných prostriedkov. Na dezinfekciu ceckových násadcov v dojacom zariadení sa používaného dezinfekčného prípravku Jodonal M, ktorý zohráva podstatnú úlohu pri dezinfekcii počas dojenia (ZONJA, 2018).

Kontrola hygieny ceckových násadcov sa vykonávala odobratím mikrobiologických sterov z plochy 10 cm^2. Odber sterov sa vykonal pred dojením, počas dojenia a na konci dojacieho procesu. Na základe výsledkov vyšetrených sterov bola zhodnotená úroveň hygieny v ceckových násadcoch počas celého procesu dojenia.

Prvý ster bol odobratý z násadca po dezinfekcii ešte pred začatím dojacieho procesu. Nasledujúcich päť sterov bolo odobraných po každom ďalšom dojení nasledujúcej dojnice. Pred každým dojením boli vemená dojníc očistené jednorazovými utierkami namočenými

v dezinfekčnom prípravku Jodonal M (koncentrácia aktívneho jódu 1,6 %) s pracovnou koncentráciou 2 % roztoku. Tento dezinfekčný roztok sa v procese nevymieňal, použité handry sa celý čas preplachovali v nádobe s uvedeným dezinfekčným roztokom.

Jednotlivé stery boli odoberané v tomto poradí: 1. ster – pred dojením; 2. ster – po prvej krave; 3. ster – po druhej krave; 4. ster – po tretej krave; 5. ster – po štvrtej krave; 6. ster – po piatej krave; 7. ster – po poslednej krave 6.

Výsledky sterov sú uvedené v Tabuľke č. 1.

Analýzy preukázali prítomnosť mikroorganizmov rastúcich pri 37°C, koliformných baktérií, *E. coli* a v malom počte sa zistila prítomnosť plesní a kvasiniek. Tieto mikroorganizmy sa vplyvom nedostatočnej hygieny počas dojenia prenášajú na vemená ostatných dojníc, čím sa zvyšuje riziko vzniku ochorenia vemien a zhoršuje sa kvalita nadojeného mlieka. Z tohto dôvodu je potrebné dbať na pravidelné vykonávanie dezinfekcie ceckových násadcoch počas celého procesu dojenia.

Výsledky testov poukázali na nárast počtu mikroorganizmov v ceckových násadcoch, ktorý sa zvyšoval zostupne od nadojenia prvej dojnice až po poslednú podojenú dojnicu. Výsledky mikrobiologických rozborov boli podporené aj výsledkami ATP rozborov.

V zásade sa majú používať na čistenie vemena iba jednorázové utierky, nikdy nepoužívať jednu utierku na viac kráv. Zabezpečíme tým, že utierka je napustená dezinfekčným roztokom v správnej koncentrácii, jednorazovým používaním sa zamedzí prenášaniu potenciálnych patogénov. V prípade textilných utierok sa odporúča používať ich nie na viac ako 5 kráv, ale je tu veľké riziko nestálej koncentrácie dezinfekčného roztoku, čo môže spoôsobiť prenos baktérií spôsobujúcich mastitídu.

Martins et al. (2017) hodnotili klinickú účinnosť jódového dezinfekčného prostriedku na struky po dojení vyšším obsahom voľného jódu, ktorý znížil riziko klinickej mastitídy, hoci rozdiely v nových infekciách boli zistené iba v týždenných časových bodoch.

Mikrobiologické vyšetrenie ceckových násadcov poukázalo na dôležitosť ich dezinfekcie, keďže aplikáciou dezinfekčných prípravkov by sa mal výrazne ovplyvniť počet mikroorganizmov. Z analýz vzoriek sterovou metódou sme zistili rastúci počet bakterií v ceckovom násadci s ďalšou podojenou kravou.

Tabuľka č. 1, Výsledky mikrobiologických sterov ceckových násadcov

Odber	Vzorka	ATP (RLU)	CPM	KB	*E. coli*	Kvasinky	Plesne
			(KTJ/10cm^2)				
JAR	1.	49	$1{,}5.10^2$	0	0	0	0
	2.	5 643	$1{,}7.10^2$	$2{,}1.10^2$	$1{,}0.10^1$	0	0
	3.	7 842	$2{,}5.10^2$	$2{,}8.10^2$	$1{,}3.10^1$	$1{,}0.10^1$	0
	4.	9 853	NP	$5{,}4.10^2$	$1{,}5.10^1$	$1{,}3.10^1$	0
	5.	12 567	NP	NP	$1{,}8.10^1$	$1{,}7.10^2$	0
	6.	29 984	NP	NP	$1{,}9.10^1$	$1{,}9.10^2$	0
	7.	195 812	NP	NP	NP	NP	0
LETO	1.	3	$0{,}2.10^2$	0	0	0	0
	2.	53	$0{,}5.10^2$	$1{,}3.10^2$	0	0	0
	3.	125	$1{,}3.10^2$	$1{,}6.10^2$	0	0	1
	4.	256	$1{,}5.10^2$	$2{,}3.10^2$	0	1.10^1	1
	5.	310	$1{,}8.10^2$	$2{,}5.10^2$	0	$1{,}5.10^2$	3
	6.	350	$1{,}9.10^2$	NP	0	$1{,}8.10^2$	3
	7.	289 451	NP	NP	$1{,}3.10^1$	$5{,}3.10^2$	5
JESEŇ	1.	12	1.10^1	0	0	0	0
	2.	35	$1{,}2.10^2$	0	0	0	0
	3.	73	$1{,}5.10^2$	0	0	0	0
	4.	158	$2{,}9.10^2$	0	0	$1{,}3.10^1$	0
	5.	161	$4{,}0.10^2$	$1{,}4.10^2$	0	$1{,}6.10^2$	1
	6.	202	$4{,}3.10^2$	$1{,}9.10^2$	0	$1{,}9.10^2$	1
	7.	175 302	NP	NP	$2{,}2.10^1$	$8{,}7.10^2$	2
ZIMA	1.	2	$0{,}3.10^1$	1.10^1	0	0	0
	2.	15	$1{,}2.10^1$	$1{,}4.10^1$	0	0	0
	3.	22	$2{,}1.10^1$	$1{,}5.10^1$	0	0	0
	4.	69	$3{,}7.10^1$	$4{,}6.10^1$	0	0	0
	5.	180	$5{,}9.10^1$	$5{,}9.10^1$	0	0	0
	6.	194	$9{,}5.10^1$	NP	0	0	0
	7.	155 601	NP	NP	0	$1{,}1.10^1$	1

ZÁVER

Výsledky práce poukazujú na dôležitosť a pravidelnosť vykonávania procesov čistenia a dezinfekcie v prvovýrobe mlieka. Dôkladným vykonávaním sanitačných postupov pri spracovaní a výrobe produktov živočíšneho pôvodu sa znižuje riziko výskytu nebezpečných potravín a ochorení z nich. Výsledkom dodržiavania zásad správnej výrobne praxe je produkcia kvalitných a bezpečných mliečnych produktov.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporovaná projektom vedeckej grantovej agentúry MŠVVaM SR VEGA č.1/0709/23.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BARBANO, D. – MELILILI, C. *Milk fatty acid compositttion to support management of feeding, health and reproduction in Dairy cows.* 2017. vo. 13. no.9. p. 23-25.
2. BRESTENSKÝ, V. – BAUMGARTNER, J. – BENKOVÁ, J. a kol. Chov hospodárskych zvierat. Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum - Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra, 2015.
3. DUDRÍKOVÁ, E. a kol. *Technológia potravín, bezpečnosť a kvalita mlieka a mliečnych výrobkov pre magistrov.* Košice: UVLF, 2014. 250 – 270 s. ISBN 978-80-8077-447-9.
4. HAJDUČKOVÁ, V. – KIRÁLY, J. – LAUKO, S. – HUDECOVÁ, P. – PILIPČINEC, E. Antibiofilmová aktivita Quercetínu a Pomiferínu voči izolátom *Staphylococcus aureus* pochádzajúcich z mlieka dojníc. In: Zborník abstraktov Hygiena alimentorum XLIII, 2023, 39.
5. MARTINS, C. - PINHEIRO, E. - GENTILINI, M. - LOPEZ BENAVIDES, M. - SANTOS, V. Efficacy of a high free iodine barrier teat disinfectant for the prevention of naturally occurring new intramammary infections and clinical mastitis in dairy cows. Journal of Dairy Science, 2017, 100, 5, 3930-3939.
6. ÓZSVÁRI, L. – IVANYOS, D. The use of teat disinfectants and milking machine cleaning products in commercial Holstein-Friesian farms. Front Vet Sci. 2022, 19;9:956843.
7. RIFATBEGOVIĆ, M. – NICHOLAS, R. – MUTEVELIĆ, T. – HADŽIOMEROVIĆ, M. – MAKSIMOVIĆ, Z. Pathogens Associated with Bovine Mastitis: The Experience of Bosnia and Herzegovina. Vet Sci. 2024 1;11(2):63.
8. SASÁKOVÁ, N. – GREGOVÁ, G. – HROMADA, R. – LAKTIČOVÁ, K. *Sanitácia v potravinárstve.* Košice: UVLF, 2013. 56– 66s. ISBN 978- 80-8077-366-3.

9. ZONJA, A. et.al. Iodinated disinfection by products: Formation and cocerns. 2018. ISN 901-821. vol. 18. no. 5. p. 45-46.

Kontaktná adresa: doc. MVDr. Sasáková Naďa, PhD. Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 048 01 Košice, Slovenská republika. E-mail: nada.sasakova@uvlf.sk

PRVÁ MOLEKULÁRNA IDENTIFIKÁCIA *SARCOCYSTIS* SPP. U HOVÄDZIEHO DOBYTKA URČENÉHO NA ĽUDSKÚ SPOTREBU NA SLOVENSKU

FIRST MOLECULAR IDENTIFICATION OF *SARCOCYSTIS* SPP. IN CATTLE INTENDED FOR HUMAN CONSUMPTION IN SLOVAKIA

Schreiberová Andrea[1], Fedorková Barbora[1], Dudríková Eva[2], Marcinčák Slavomír[2], Štrkolcová Gabriela[1]

[1] *Katedra epizootológie, parazitológie a ochrany spoločného zdravia, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika*

[2] *Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika*

ABSTRACT

Parasites of the genus *Sarcocystis* are the causative agents of sarcocystosis, a disease of veterinary importance affecting a wide range of intermediate and definitive hosts. These protozoan parasites have an obligate two-host life cycle, in which carnivores serve as definitive hosts and herbivores or omnivores act as intermediate hosts, where intramuscular tissue cysts are formed. In cattle, which act as intermediate hosts, the parasite invades striated muscle tissue and forms characteristic intramuscular sarcocysts. Samples of cardiac, trunk, and femoral muscle were collected from a slaughtered cow during routine meat inspection. Histopathological examination confirmed the presence of *Sarcocystis* in all examined tissue types. Molecular analysis was performed by amplification of a fragment of the cytochrome c oxidase subunit I (*cox1*) gene of mitochondrial DNA. Two cattle-specific species, *Sarcocystis cruzi* and *Sarcocystis bovifelis*, were identified. These results emphasize the importance of systematic meat inspection and surveillance of *Sarcocystis* infections in cattle intended for human consumption to ensure food safety and protect public health.

Key words: *Sarcocystis,* cattle, PCR,

ÚVOD

Parazity rodu *Sarcocystis* (Apicomplexa: Sarcocystidae) sú intracelulárne prvoky s obligátnym dvojhostiteľským životným cyklom, ktorý zahŕňa definitívneho hostiteľa (zvyčajne mäsožravce) a medzihostiteľa (zvyčajne bylinožravce alebo všežravce). Patria medzi heteroxénne kokcídie infikujúce široké spektrum stavovcov.

V súčasnosti je u hovädzieho dobytka opísaných sedem druhov rodu *Sarcocystis*: *Sarcocystis hirsuta*, *Sarcocystis cruzi*, *Sarcocystis bovifelis*, *Sarcocystis bovini*, *Sarcocystis rommeli*, *Sarcocystis hominis* a *Sarcocystis heydorni*, pričom posledné dva druhy majú zoonotický význam. Definitívnymi hostiteľmi druhov rodu *Sarcocystis* sú prevažne psovité a mačkovité *mäsožravce.* Definitívnymi hostiteľmi *S. cruzi* sú najmä psovité šelmy vrátane líšky hrdzavej (*Vulpes vulpes*) (Máca et al. 2024), zatiaľ čo pri druhoch *S. hirsuta*, *S. bovifelis*, *S. bovini* a *S. rommeli* sa za definitívnych hostiteľov považujú mačkovité šelmy, pričom *S. bovifelis* bola zaznamenaná aj u lasicovitých druhov (Rubiola et al. 2024).

U hovädzieho dobytka ako medzihostiteľa tieto parazity invadujú priečne pruhované svalové tkanivo, kde vytvárajú charakteristické intramuskulárne cysty (sarkocysty) a spôsobujú ochorenie nazývané sarkocystóza. Postihnuté môžu byť takmer všetky priečne pruhované svaly vrátane kostrových svalov, svalov oka, hrtana aj srdca (Dubey a Rosenthal 2023). Sarkocystóza hovädzieho dobytka má väčšinou asymptomatický priebeh, výnimočne môže viesť aj ku klinickým prejavom. Vznik klinického ochorenia je podmienený množstvom prijatých oocýst, imunologickým statusom hostiteľa a štádiom infekcie (Decker a kol. 2017). Bovinná eozinofilná myozitída je často spájaná so sarkocystózou a predstavuje zápal priečne pruhovaného svalstva charakterizovaný akumuláciou eozinofilov. Postihnuté zvieratá sú spravidla klinicky bez príznakov a jedná sa zvyčajne o náhodný nález na bitúnku pri kontrole jatočných tiel (Dubey a Rosenthal 2023). Pri bovinnej eozinofilnej myozitíde bola zaznamenaná najvyššia prevalencia druhov *Sarcocystis bovifelis* a *Sarcocystis hominis* (Rubiola a kol. 2024).

Na základe uvedených skutočností je identifikácia druhov *Sarcocystis* u hovädzieho dobytka dôležitá z hľadiska veterinárnej medicíny, hygieny potravín aj ochrany verejného zdravia. Cieľom tejto práce bolo pomocou molekulárno-genetických metód identifikovať druhy *Sarcocystis* prítomné v svalových tkanivách srdca, hrudníka a stehna hovädzieho dobytka.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky srdcového, hrudného a stehenného svalstva boli odobraté z odporazeného hovädzieho dobytka počas rutinného vyšetrenia mäsa na bitúnku na východnom Slovensku. Histopatologické vyšetrenie potvrdilo u jednej kravy prítomnosť sarkocýst vo všetkých skúmaných tkanivách. Izolované sarkocysty s bradyzoitmi boli následne uchované na molekulárnu analýzu.

Molekulárna identifikácia *Sarcocystis* spp.

Genómová DNA bola izolovaná zo vzoriek svalového tkaniva (srdce, hruď a stehno) pomocou súpravy DNeasy® Blood and Tissue Kit (QIAGEN, GmbH, Hilden, Nemecko) podľa protokolu výrobcu. Molekulárna analýza druhov rodu *Sarcocystis* bola realizovaná konvenčnou PCR amplifikáciou génu cytochróm c oxidázy podjednotky I (*cox1*) mitochondriálnej DNA s použitím primerov SF1 forward primer (5'-ATGGCGTACAACAATCATAAAGAA-3') a SR9 reverse primer (5'-ATATCCATACCRCCATTGCCCAT-3'). Dĺžka amplifikovaného fragmentu je približne 1050 bp. Celková reakčná zmes pre PCR s objemom 50 µl pozostávala z 25 µl OneTaq® 2X Master Mix so štandardným pufrom (New England Biolabs), 21 µl vody bez nukleáz, 1 µl každého z oboch primerov (Sigma, Veľká Británia) a 2 µl DNA templátu. Amplifikačný program pozostával z úvodnej denaturácie pri 95 °C/5 min, nasledovalo 35 cyklov, ktoré pozostávali z denaturácie pri 95 °C/30 s, z nasadania primerov 55 °C/30 s a elongácie 72 °C/1 min. Na záver nasledovala finálna fáza elongácie pri 72 °C/5 min (Gjerde 2014). Amplifikované produkty PCR boli vizualizované agarózovou elektroforézou na 1 % géli v 1× TAE pufri, farbenom fluorescenčným farbivom GoodView™, a detegované v UV svetle pomocou transiluminátora. Pozitívne PCR produkty boli zaslané do laboratória Microsynth Seqlab (Viedeň, Rakúsko) na purifikáciu a obojsmerné sekvenovanie (Sangerova metóda). Získané sekvencie boli upravené v MEGA X a zostavené v programe GeneTool a porovnané s referenčnými sekvenciami v databáze GenBank (NCBI) pomocou BLAST analýzy.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Táto štúdia potvrdila prítomnosť infekcie *Sarcocystis* v svalovine hovädzieho dobytka vyšetreného počas rutinnej veterinárnej kontroly jatočného tela. (Obr. 1, 2). Histopatologická analýza preukázala rozsiahlu distribúciu sarkocýst v srdcovom, hrudnom a stehennom svalstve vo vzorkách z jednej kravy. Molekulárna charakterizácia založená na analýze génu *cox1* umožnila identifikáciu dvoch druhov asociovaných s hovädzím dobytkom, *Sarcocystis cruzi* a *Sarcocystis bovifelis*.

Obr. 1 Sarkocysta v stehennej svalovine



Obr. 2 Sarkocysty v srdcovej svalovine



Sarcocystis cruzi

Molekulárnou analýzou *cox1* génu mtDNA bol v izolátoch **Sr1**, **Sr2** a **Sr3** (zo vzoriek svaloviny srdca) a v jednom izoláte **Hr2** (zo svalu hrude) zaznamenaný druh *Sarcocystis cruzi*. Výsledná sekvencia vzorky zo srdcového svalu **Sr1** – bola na 99,90% zhodná s nasledovnými referenčnými sekvenciami – MT796940.1 (hostiteľ: *Bos taurus*, Litva; Prakas a kol. 2020); KT901079.1 (hostiteľ: *Bos taurus*, Argentína; Gjerde 2016); KC209599.1 (hostiteľ: *Bos taurus*, Argentína; Gjerde 2013) a PX921625.1 (hostiteľ: *Bos taurus*; Čína); pri porovnaní v databáze GenBank, pričom rozdiel medzi porovnávanými sekvenciami bol len v jednom nukleotide. Sekvencia izolátu **Sr2** bola na 99,90% zhodná so sekvenciou MT796944.1 (hostiteľ: *Bos taurus*, Litva; Prakas a kol. 2020); a na 99,81% so sekvenciami KT901079.1 (hostiteľ: *Bos taurus*, Argentína; Gjerde 2016) a KC209599.1 (hostiteľ: *Bos taurus*, Argentína; Gjerde 2013). Sekvencia izolátu **Sr3** bola na 100% identická so sekvenciou KT901079.1 (hostiteľ: *Bos taurus*, Argentína; Gjerde 2016) a KC209599.1 (hostiteľ: *Bos taurus*, Argentína; Gjerde 2013). Sekvencia izolátu **Hr2** bola 99,81% zhodná so sekvenciou KT901079.1 (hostiteľ: *Bos taurus*, Argentína; Gjerde 2016) aj s KC209599.1 (hostiteľ: *Bos taurus*, Argentína; Gjerde 2013). Sekvencie všetkých štyroch izolátov (Sr1, Sr2, Sr3 a Tr2) *S. cruzi* vykazovali vzájomné rozdiely minimálne v jednom nukleotide.

Sarcocystis bovifelis

Sarcocystis bovifelis bol na základe analýzy génu *cox1* mtDNA potvrdený v jednom izoláte **Hr1** zo vzorky svaloviny z hrudníka. Sekvencia izolátu **Hr1** bola na 99,81% identická

so sekvenciou s KT900992.1 (hostiteľ: *Bos taurus*, Argentína; Gjerde 2016); a na 99,71% so sekvenciou MT796912.1 (hostiteľ: *Bos taurus*, Litva; Prakas a kol. 2020).

Získané sekvencie génu *cox1* oboch druhov *S. cruzi* a *S. bovifelis* vykazovali vysokú podobnosť s referenčnými sekvenciami z celosvetových databáz, avšak žiadna z nich nebola 100 % identická, čo môže naznačovať ich jedinečnosť. Rod *Sarcocystis* vykazuje výraznú heterogenitu nukleotidových sekvencií v mitochondriálnom géne *cox1*, čo poukazuje na genetickú variabilitu populácií sledovaných kokcídií. Táto genetická variabilita sa môže odrážať aj v biologických vlastnostiach jednotlivých druhov, vrátane ich patogenity a tkanivovej preferencie.

Sarcocystis cruzi sa považuje za najpatogénnejší druh pre hovädzí dobytok, napriek tomu sa často vyskytuje aj u klinicky zdravých jedincov. Na rozdiel od *S. bovifelis* sa lokalizuje aj v srdcovom tkanive (Dubey a Rosenthal 2023). V súlade s týmito poznatkami bol *S. cruzi* v našej práci detegovaný výlučne v srdcovom tkanive, zatiaľ čo v hrudnom svalstve bola zistená koinfekcia druhmi *S. cruzi* a *S. bovifelis*. Tento nález môže poukazovať na rozdiely v tkanivovej preferencii jednotlivých druhov alebo na variabilitu intenzity infekcie u sledovaného jedinca.

Sarkocystóza predstavuje významný veterinárny a ekonomický problém v chovoch hospodárskych zvierat, kde vedie k zníženiu produkcie a znehodnoteniu jatočných tiel. Získané výsledky potvrdzujú význam diagnostiky *Sarcocystis* spp. a poukazujú na potrebu ďalšieho výskumu s väčším počtom vzoriek a širším geografickým pokrytím.

ZÁVER

Prvé molekulárne potvrdenie výskytu *Sarcocystis cruzi* a *Sarcocystis bovifelis* u hovädzieho dobytka na Slovensku zdôrazňuje význam kombinácie histopatologických a molekulárnych metód pri ich presnej detekcii. Tieto zistenia poukazujú na dôležitosť systematickej kontroly mäsa a monitorovania infekcií *Sarcocystis* u hovädzieho dobytka určeného na ľudskú spotrebu s cieľom zabezpečiť bezpečnosť potravín a ochranu verejného zdravia.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená projektom KEGA 007UVLF-4/2024.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. DECKER, F., a kol. (2017) Sarcocystis. In: *Parasitic protozoa of farm animals and pets*. Cham: Springer International Publishing,. p. 103-124.

2. DUBEY, J. P.; ROSENTHAL, B. M. (2023) Bovine sarcocystosis: Sarcocystis species, diagnosis, prevalence, economic and public health considerations, and association of Sarcocystis species with eosinophilic myositis in cattle. *International Journal for Parasitology*, 53.9: 463-475.
3. GJERDE, B. (2013) Phylogenetic relationships among Sarcocystis species in cervids, cattle and sheep inferred from the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I gene. *Int J Parasitol.* Jun;43(7):579-91. doi: 10.1016/j.ijpara.2013.02.004.
4. GJERDE, B. (2014) Sarcocystis species in red deer revisited: with a re-description of two known species as Sarcocystis elongata n. sp. and Sarcocystis truncata n. sp. based on mitochondrial cox1 sequences. *Parasitology*. Mar;141(3):441-52. doi: 10.1017/S0031182013001819.
5. GJERDE, B. (2016) Molecular characterisation of Sarcocystis bovifelis, Sarcocystis bovini n. sp., Sarcocystis hirsuta and Sarcocystis cruzi from cattle (Bos taurus) and Sarcocystis sinensis from water buffaloes (Bubalus bubalis). *Parasitol Res.* Apr;115(4):1473-92. doi: 10.1007/s00436-015-4881-5.
6. MÁCA, O. a kol. (2024). Red foxes (Vulpes vulpes) and raccoon dogs (Nyctereutes procyonoides) as potential spreaders of Sarcocystis species. *Front. Vet. Sci.* 11:1392618. doi: 10.3389/fvets.2024.1392618
7. PRAKAS, P. a kol. (2020) Molecular identification of four Sarcocystis species in cattle from Lithuania, including S. hominis, and development of a rapid molecular detection method. *Parasit Vectors*. Dec 7;13(1):610. doi: 10.1186/s13071-020-04473-9.
8. RUBIOLA, S. a kol. (2024) Detection of Sarcocystis hominis, Sarcocystis bovifelis, Sarcocystis cruzi, Sarcocystis hirsuta and Sarcocystis sigmoideus sp. nov. in carcasses affected by bovine eosinophilic myositis. *Food and waterborne parasitology*, 34: e00220., doi: 10.1016/j.fawpar.2024.e00220.

Kontaktná adresa: RNDr. Andrea Schreiberová PhD., Katedra epizootológie, parazitológie a ochrany spoločného zdravia, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81, Košice, Slovenská republika. E-mail: andrea.schreiberova@uvlf.sk

SKÚSENOSTI S RIEŠENÍM PRÍPADU *LISTERIA MONOCYTOGENES* V R.2025 U VÝROBCU MLIEČNYCH VÝROBKOV

EXPERIENCE WITH RESOLVING A *LISTERIA MONOCYTOGENES* CASE IN 2025 AT A DAIRY PRODUCTS MANUFACTURER

Sleziaková Jana[1], Kubicová Zuzana[2], Cabanová Lenka[2]

[1]Regionálna veterinárna a potravinová správa, Potravinový dozor a hygiena potravín, Kollárova 2, 03101 Liptovský Mikuláš

[2]Štátny veterinárny a potravinový ústav v Dolnom Kubíne

Skúšobné laboratórium Dolný Kubín, Jánoškova 1611/58, 026 01 Dolný Kubín

ABSTRACT

This study describes the investigation of a fatal listeriosis case in 2025 associated with the consumption of pasteurised sheep cheese produced by a farm under the supervision of the Regional Veterinary and Food Administration in Liptovský Mikuláš. Following the death of a 72-year-old patient, the presence of *Listeria monocytogenes* was confirmed in cerebrospinal fluid. The investigation included inspection of the production process, sampling of food products and environmental swabs, as well as microbiological and molecular-biological analyses. In total, 77 samples were collected, of which 19.5% tested positive for *L. monocytogenes*. Whole genome sequencing (WGS) revealed the presence of two clonal complexes (CC29, CC37) in the facility. CC29 isolates clustered with the isolate from cheese consumed by patient and also with the isolate found in the cerebrospinal fluid of the patient. Phylogenetic analysis of CC29 isolates using cgMLST demonstrated high genetic relatedness (0–3 allelic differences, AD). The results highlight the importance of combining conventional and modern genomic methods for identifying contamination sources and emphasize the need for strict hygiene practices in small-scale dairy processing facilities.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, pasteurised sheep cheese, WGS, The One Health Concept

ÚVOD

Listeria monocytogenes je významný patogén súvisiaci s potravinami a prostredím spracovávajúcim potraviny, ktorý je schopný spôsobiť závažné infekcie u ľudí, najmä u starších osôb, imunokompromitovaných pacientov a tehotných žien. Ochorenia ľudí sú často spojené s konzumáciou nepasterizovaných mliečnych výrobkov, ako sú ovčí syr alebo bryndza. V posledných rokoch sa pozornosť stále viac sústreďuje na malé prevádzky spracovávajúce

mlieko, kde môže dôjsť k sekundárnej kontaminácii výrobkov v dôsledku nedodržania hygienických štandardov alebo neúčinných sanitačných procesov.

V máji 2025 došlo k úmrtiu 72-ročného spotrebiteľa z okresu Bardejov po konzumácii ovčieho hrudkového syra (OHS) zakúpeného v predajnom stánku salaša spadajúceho pod Regionálnu veterinárnu a potravinovú správu Liptovský Mikuláš (RVPS LM). Následným vyšetrovaním Regionálnymi úradmi verejného zdravotníctva v Bardejove a Liptovskom Mikuláši (RÚVZ BJ a LM) bola zistená prítomnosť *L. monocytogenes* v cerebrospinálnej tekutine zosnulého. RVPS LM v rámci vyšetrovania zabezpečila kontrolu výroby, predajného stánku aj samotných produktov. Táto udalosť viedla k rozsiahlym kontrolám, preventívnym opatreniam, stiahnutiu výrobkov z trhu a laboratórnym vyšetreniam vzoriek vo Veterinárnom a potravinovom ústave v Dolnom Kubíne (VPÚ DK), kde boli počas šetrenia analyzované desiatky vzoriek. Vybrané izoláty *L. monocytogenes* boli celogenómovo sekvenované (whole genome sequencing, WGS), čo umožnilo detailnú molekulárnu charakterizáciu izolátov a potvrdenie genetickej príbuznosti medzi klinickým humánnym izolátom a kmeňmi pochádzajúcimi z potravín a prostredia prevádzky. Tento prístup zdôrazňuje význam One Health konceptu a moderných molekulárnych metód v rýchlej identifikácii zdroja kontaminácie a v prevencii ďalších prípadov ochorenia.

MATERIÁL A METÓDY

Popis prípadu

Dňa 29.5.2025 podvečer zaslal RÚVZ LM podnet odstúpený z RÚVZ BJ ohľadom prešetrenia uvádzania ovčieho hrudkového syra (OHS) na trh, po ktorého konzumácii u spotrebiteľa (72 r.) malo dôjsť k exitu dňa 28.5.2025. V anamnéze bola uvedená konzumácia OHS zakúpeného 17.5.2025 v predajnom stánku salaša, ktorý spadá pod RVPS LM. Na základe informácii z RÚVZ LM a BJ boli v cerebrospinálnej tekutine zosnulého zistené *L. monocytogenes* a *Borrelia*.

Odber vzoriek potravín a sterov z prostredia

RVPS LM vykonala bezodkladné kontroly v prevádzke salaša a predajnom stánku, v rámci ktorých boli 30.5.2025 odobraté vzorky OHS s dátumom výroby 29.5.2025 a 30.5.2025, 12 sterov z výroby a 3 stery z predajného stánku. Majiteľ salaša si 2.6.2025 odobral vzorky ovčieho mlieka, OHS s dátumom výroby 31.5.2025 a stery z výroby. RVPS LM následne v priebehu mesiaca jún odoberala vzorky potravín a sterov z výrobného prostredia, rovnako aj majiteľ v rámci samokontroly (Tab. 1).

Mikrobiologické analýzy

Detekcia prítomnosti *Listeria monocytogenes* vo vzorkách potravín a sterov z prostredia bola realizovaná v súlade s normou STN EN ISO 11290-1. Vzorky boli po homogenizácii kultivované v polovičnom Fraser bujóne pri 30 °C počas 24 hodín. Následne bola uskutočnená sekundárna kultivácia vo Fraser bujóne pri 37 °C počas 48 hodín. Kultúry boli následne vyočkované na selektívnu pôdu (ALOA) a inkubované pri 37 °C počas 24–48 hodín. Suspektné kolónie boli podrobené konfirmačným testom. Na potvrdenie druhu *Listeria monocytogenes* boli použité štandardné identifikačné postupy v súlade s platnou legislatívou a metodikou laboratória.

Molekulárno-biologické analýzy

Izolácia DNA. Z bakteriálnych kultúr v objeme 1500 µl tekutého média BHI sa bunky sedimentovali centrifugáciou pri 8000 rpm počas 10 minút. Po odstránení supernatantu sa pelet resuspendoval v enzymatickom roztoku obsahujúcom lyzozým (100 mg/ml) a inkuboval pri 37 °C počas 90 minút. DNA bola následne izolovaná pomocou komerčne dostupnej súpravy: DNeasy Blood & Tissue kit (Qiagen, Nemecko) podľa inštrukcií výrobcu. Koncentrácia a čistota izolovanej DNA sa stanovili spektrofotometricky pomocou prístroja NanoDrop One sledovaním pomerov A260/280 a A260/230 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA).

Príprava genómových knižníc. Genómové knižnice boli pripravené pomocou Illumina DNA Prep (Illumina) a Illumina UD Indexes (Illumina) podľa inštrukcií výrobcu. Pripravené knižnice boli poolované a kvantifikované fluorometricky na prístroji Quantus (Promega, Madison, WI). Následne bol pool knižníc nariedený na finálnu koncentráciu pre iSeq100 loading: 100 pM.

Sekvenovanie na prístroji iSeq100. Parametre sekvenačného chodu boli nastavené v softvéri Local Run Manager. Reagenčná kazeta (cartridge) bola rozmrazená v chladničke pri 5°C minimálne 36 hodín. Prietokový článok (flow cell) bol 15 minút pred spustením sekvenácie temperovaný pri laboratórnej teplote. Sekvenovanie prebiehalo približne 19 hodín s použitím nastavení pre paired-end sekvenáciu a dĺžku čítania 2 x 150 bp.

Bioinformatická analýza získaných sekvenačných dát. Surové sekvenačné dáta (fastq.gz) boli spracované pomocou *Listeria pipeline 1.4* (Bogaerts et al., 2025). Čítania boli orezané a filtrované nástrojom fastp 0.23.4 (Chen, 2023; Shen et al., 2024) a genómy boli zostavené de novo pomocou SPAdes 3.15.5 (Bankevich et al., 2012; Kolmogorov et al., 2019). Kvalita zostáv bola hodnotená nástrojmi QUAST 5.2.0 a BUSCO 5.5.0 (Gurevich et al., 2013; Manni et al., 2021), pričom kontaminácia a taxonomická konzistencia boli overené pomocou Kraken2 2.1.1 a ConFindr 0.8.2 (Wood et al., 2019; Low et al., 2019). Genómové analýzy

zahŕňali detekciu génov rezistencie, virulencie a plazmidov (AMRFinder 4.0.19, ResFinder 4.4.2, VirulenceFinder, VFDB, PlasmidFinder) (Bortolaia et al., 2020; Feldgarden et al., 2019) a sekvenačné typizovanie (MLST, rMLST, cgMLST), pričom identifikácia druhu bola potvrdená pomocou BLASTn 2.14.0 (Camacho et al., 2009; Jolley & Maiden, 2010). Dáta z typizácie cgMLST boli ďalej spracované pomocou pipeline: *MLST phylogeny* (Bogaerts et al., 2025).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Chronológia prípadu a šetrenie z pohľadu RVPS LM

Na základe informácii od RÚVZ LM a BJ (29.5.2025) o úmrtí 72 ročného pacienta (28.5.2025) po konzumácii OHS zakúpeného dňa 17.5.2025, vykonala **30.5.2025** RVPS LM bezodkladné kontroly v prevádzke A – v mliekarni aj v predajnom stánku syrov. Bolo zistené, že prevádzkovateľ nakupuje surové ovčie mlieko od troch dodávateľov (B, C a D), mlieko pasterizuje a vyrába OHS, oštiepky, údený ovčí syr, bryndzu a žinčicu. V prevádzke sa súčasne spracováva kravská hrudka pôvodom z inej prevádzky (výroba parených výrobkov). Taktiež boli preverené pasterizačné záznamy od 16.5. do 30.5.2025, aktuálny stav prevádzkovej hygieny a zariadení a plnenie veterinárnych požiadaviek pri výrobe mliečnych výrobkov. V predajnom stánku bola preverená hygiena predaja, stav zariadení a prevádzky aj osobná hygiena. Úradne boli odobraté syry s dátumami výroby (DV) 29.5.2025, 30.5.2025 a stery z výrobných priestorov a predajného stánku.

2.6.2025 boli z VPÚ DK telefonicky oznámené suspektné výsledky na prítomnosť *L. monocytogenes,* na základe čoho boli uložené preventívne opatrenia podľa § 14 ods. 2 zákona 39/2007 – v mliekarni:

- Zákaz príjmu a spracovania surového ovčieho mlieka.
- Zákaz uvádzania vyrobeného ovčieho syra od 29.5.2025 do obdržania výsledkov.
- Kompletná sanitácia výrobných aj pomocných priestorov a zariadení prevádzky – obmena dezinfekčných prostriedkov.
- Po sanitácii zabezpečiť stery na prítomnosť *L. monocytogenes*, ktoré budú odobraté za prítomnosti inšpektorov RVPS.
- Technická revízia pastéra a po nej kontrola účinnosti pasterizácie.

a preventívne opatrenia podľa § 20 ods. 9 zákona 152/1995 – v predajnom stánku:

- Zákaz predaja a uvádzania na trh potravín z predajného stánku.
- Kompletná sanitácia priestorov a zariadení stánku s obmenou dezinfekčných prostriedkov.

- Po sanitácii zabezpečiť stery na prítomnosť *L. monocytogenes*, ktoré budú odobraté v prítomnosti inšpektorov RVPS.

4.6.2025 boli doručené výsledky analýz syrov a sterov odobratých 30.5.2025, kde bola zistená prítomnosť *L. monocytogenes* v syroch s DV 29.5.2025, 30.5.2025; v troch steroch z výroby a dvoch steroch z predajného stánku. Na základe týchto výsledkov boli uložené preventívne opatrenia podľa §8 ods. 3 písm. e) zákona o veterinárnej starostlivosti:

- Zákaz nákupu a spracovania surového ovčieho mlieka (SOM) na prevádzke. Termín: do zrušenia tohto nariadenia, podmienené preukázaným odstránením hygienických nedostatkov a zdravotných rizík na prevádzke.
- Predložiť doklad o zákonnej likvidácii syra a bryndze spolu o hmotnosti 1478 kg.
- Doručiť na RVPS LM záznamy z registračnej pokladnice s uvedením kódu ovčieho hrudkového syra, počtu predajov a predaného množstva od 17.5.2025-2.6.2025.
- Predložiť doklad o účinnosti pasterizačného zariadenia na pasterizáciu SOM na RVPS LM – servis zariadenia oprávnenou firmou a predložiť výsledok vyšetrenia na účinnosť pasterizácie SOM.
- Zabezpečiť vykonanie dezinsekčných, deratizačných prác v prevádzke A oprávnenou firmou.
- Vykonať revíziu plánu HACCP, sanitačného programu prevádzky a taktiež plánu samokontrolných vyšetrení výrobkov.
- Kompletne vymeniť za nové všetky pracovné pomôcky na čistenie a sanitáciu v prevádzke.
- Vykonať preškolenie pracovníkov vo veci dodržiavania zásad osobnej hygieny a hygieny pri výrobe a manipulácii s potravinami.
- Predložiť výsledky vyšetrení sterov a vzoriek mliečnych výrobkov odobratých 4.6.2025 na RVPS LM.
- Zákaz uvádzania na trh bryndze ovčej, bryndze zmesnej vyrobenej 1.6. a 2.6.2025, ovčieho syra, vyrobeného od 17.5.2025 do 2.6.2025.
- Informovať všetkých odberateľov o sťahovaní z trhu ovčieho syra vyrobeného od 17.5.2025 do 2.6.2025 a povinnosti informovať konečných spotrebiteľov o možnosti vrátenia týchto produktov.
- Predložiť množstvá stiahnutých syrov za jednotlivé dni od 17.5.2025-2.6.2025 z výrobnej prevádzky a od jednotlivých odberateľov a ďalších vlastných prevádzok.

a podľa §20 ods. 9 zákona o potravinách:

- Zabezpečiť informovanie spotrebiteľov oznamom na výveske na viditeľnom mieste stánku a súčasne na facebookovom profile prevádzky A o možnosti vrátenia ovčieho

syra, ktorý bol zakúpený v dňoch 29.5 až 2.6.2025 a to s uvedením možnej kontaminácie baktériou *L. monocytogenes*.

V dňoch **10.6.2025**, **17.6.2025**, **19.6.2025**, **25.6.2025** boli uskutočnené priebežné kontroly plnenia opatrení, došetrovanie a opätovné odbery sterov a vzoriek parených syrov z kravského mlieka, nariadená kompletná sanitácia, zákaz výroby parených syrov z kravského mlieka, keďže 10 a 16.6.2025 bolo zistené, že 1 ster (lis na syry) a 1 vzorka pareného výrobku boli pozitívne na prítomnosť *L. monocytogenes* (Eurofins Food Testing, Nové Zámky).

24.6.2025 bola povolená skúšobná výroba OHS s podmienkou neuvádzania na trh do vyhovujúceho výsledku. **25.6.2025** prebehla dodatočná kontrola, odber vzorky ovčieho syra a spustenie výroby parených syrov z kravského mlieka. **30.6.2025** boli doručené vyhovujúce výsledky skúšobnej výroby OHS (DV 25.6.2025) a pasterizovaného ovčieho mlieka. Taktiež boli revidované HACCP, sanitačný program a plán samokontrolných vyšetrení. 1.7.2025 prebehla dodatočná kontrola overenia plnenia opatrení a bolo povolené spracovanie SOM a výroba produktov z ovčieho mlieka. Vo výkone zostali opatrenia: mesačné vyšetrenie ovčieho syra, mesačné vyšetrenie pareného mliečneho výrobku a štvrťročné vyšetrenie sterov na prítomnosť *L. monocytogenes.*

RVPS LM súbežne šetrila aj dodávateľa SOM (dodávateľ B), u ktorého bola zistená prítomnosť *L. monocytogenes* rovnakého klonálneho komplexu ako v prevádzke A – CC29. Dodávateľovi bol nariadený zákaz výroby výrobkov z nepasterizovaného SOM na vlastnom salaši. Identifikovala sa príčina vylučovania baktérie do SOM (2 dojné ovce).

Laboratórne analýzy vo VPÚ DK

Počas šetrenia prípadu bolo u výrobcu (prevádzka A) a jeho dodávateľov (dodávateľ B, C a D) celkovo odobratých 77 vzoriek, z toho 20 odberov predstavovalo vzorky potravín a 57 stery z prostredia výroby a predajného stánku. *L. monocytogenes* bola dokázaná v 15 vzorkách (15/77; 19,5%). Vzorky potravín boli pozitívne v 9 prípadoch (9/20; 45%) a v steroch bola *L. monocytogenes* dokázaná 6 krát (6/57; 10,5%) (Tab. 1).

Tab. 1 Odbery vzoriek počas šetrenia prípadu.

Dátum odberu	**Miesto odberu**	**Vzorku odobral**	**Popis vzorky**	**Dôkaz prítomnosti *L. monocytogenes***
30.5.2025	domácnosť pacienta	RÚVZ BJ	ovčí syr v papierovom obale	1/1 **dokázaná** / $7x10^3$ KTJ/g
30.5.2025	prevádzka A	RVPS LM	3x ster - predajný stánok	2/3 **dokázaná**
			ovčí syr - DV: 29.5.2025	5/5 **dokázaná**
			ovčí syr - DV: 30.5.2025	5/5 **dokázaná**
			12x ster - výroba	3/12 **dokázaná**
2.6.2025	prevádzka A	Majiteľ	ovčie mlieko	1/1 **dokázaná**
			ovčí syr - DV: 31.5.2025	2/2 **dokázaná**
			2x ster	1/2 **dokázaná**
10.6.2025	prevádzka A	RVPS LM	neúdené nite	1/5 **dokázaná**
			údené tyčinky	0/5 nedokázaná
			20x ster - výroba	0/20 nedokázaná
10.6.2025	dodávateľ B	RVPS LM	surové ovčie mlieko	5/5 **dokázaná** / $6x10^2$
			ovčí syr nepasterizovaný	0/5 nedokázaná
19.6.2025	prevádzka A	RVPS LM	20x ster - výroba	0/20 nedokázaná
23.6.2025	dodávateľ B		surové ovčie mlieko	1/1 **dokázaná**
24.6.2025	dodávateľ B		surové ovčie mlieko	1/1 **dokázaná**
24.6.2025	dodávateľ C	Majiteľ	surové ovčie mlieko	0/1 nedokázaná
24.6.2025	dodávateľ C		2x pasterizované ovčie mlieko	0/2 nedokázaná
25.6.2025	prevádzka A	RVPS LM	ovčí pasterizovaný syr	0/5 nedokázaná
15.7.2025	dodávateľ B,D	Majiteľ	3x ovčie mlieko	0/3 nedokázaná
16.7.2025	prevádzka A	Majiteľ	ovčí pasterizovaný syr	0/5 nedokázaná
24.7.2025	dodávateľ B	Majiteľ	ovčí nepasterizovaný syr	0/5 nedokázaná

Na zabezpečenie detailnejšej charakterizácie izolátov *L. monocytogenes*, bolo uskutočnené celogenómové sekvenovanie (WGS) vybraných trinástich izolátov (13/15; 86,6%), ktorých prehľad je uvedený v Tab. 2.

Tab. 2 Prehľad izolátov typizovaných pomocou celogenómového sekvenovania (WGS)

ID izolátu	Dátum odberu	Miesto odberu	Pôvod izolátu
5229_2_2025_UVZ		domácnosť pacienta	pasterizovaný OHS (zakúpený 17.5.2025)
5241_2025_DK		prevádzka A	ster - predajný stánok (nôž na krájanie syra)
5242_2025_DK		prevádzka A	ster - predajný stánok (nerezová tácka)
5243_4_2025_DK	30.5.2025	prevádzka A	OHS (dátum výroby: 29.5.2025)
5256_3_2025_DK		prevádzka A	OHS (dátum výroby: 30.5.2025)
5244_2025_DK		prevádzka A	ster výroba (pracovný stôl)
5248_2025_DK		prevádzka A	ster - výroba (výpusť. kanál)
5252_2025_DK		prevádzka A	ster- výroba (odkvap. vaňa)
5285_2025_DK		prevádzka A	ovčie mlieko (31.5.2025)
5286_2_2025_DK	2.6.2025	prevádzka A	OHS (dátum výroby: 31.5.2025)
5287_2025_DK		prevádzka A	ster č.1
5770_2025_DK	10.6.2025	prevádzka A	neúdené nite
5804_2025_DK		dodávateľ B	surové ovčie mlieko

Celogenómové sekvenovanie (WGS)

Aby sa zistila fylogenetická príbuznosť medzi izolátmi *L. monocytogenes*, získané dáta boli najskôr podrobené 7-loci MLST analýze a určeniu séroskupiny. Takýto prístup je vhodný na prvotné triedenie izolátov do väčších skupín. Do bioinformatických analýz boli zaradené aj sekvenačné dáta pochádzajúce z humánneho kmeňa *L. monocytogenes* izolovaného z cerebrospinálnej tekutiny pacienta, ktoré boli poskytnuté Úradom verejného zdravotníctva SR (ÚVZ SR) pod číslom databázy ENA (European Nucleotide Archive) SAMEA118576250. Z výsledkov (Tab. 3) vyplýva, že v prevádzke A boli identifikované dva klony *L. monocytogenes* (klonálne komplexy: CC29 a CC37), pričom do CC29 bol zaradený aj izolát pochádzajúci od dodávateľa B, izolát zo syra, ktorý konzumoval pacient (5229_2_2025_UVZ) a napokon aj humánny kmeň pochádzajúci od pacienta (SAMEA118576250), ktorý ochoreniu podľahol. Obidva identifikované klonálne komplexy (CC29, CC37) patria medzi 30 hlavných klonov *L. monocytogenes* cirkulujúcich v Európe (Félix et al., 2023).

Všetkým izolátom bola zhodne určená séroskupina IIa, čo je v súlade s viacerými publikáciami, ktoré poukazujú na vysokú prevalenciu tohto typu v rôznych druhoch potravín, najmä v mliečnych a mäsových produktoch (Kramarenko et al., 2013; Martín et al., 2014, Ebner et al., 2015; Kubicová et al., 2021).

Tab. 3 Prehľad výsledkov 7-loci MLST a určenia séroskupiny

ID izolátu	Dátum odberu	Miesto odberu	Séroskupina	MLST CC
SAMEA118576250	-	-	IIa	CC29
5229_2_2025_UVZ	30.5.2025	domácnosť pacienta	IIa	CC29
5241_2025_DK		prevádzka A	IIa	CC29
5242_2025_DK		prevádzka A	IIa	CC29
5243_4_2025_DK		prevádzka A	IIa	CC29
5256_3_2025_DK		prevádzka A	IIa	CC29
5244_2025_DK		prevádzka A	IIa	CC29
5248_2025_DK		prevádzka A	IIa	CC29
5252_2025_DK		prevádzka A	IIa	CC29
5285_2025_DK		prevádzka A	IIa	CC29
5286_2_2025_DK	2.6.2025	prevádzka A	IIa	CC29
5287_2025_DK		prevádzka A	IIa	CC37
5770_2025_DK	10.6.2025	prevádzka A	IIa	CC37
5804_2025_DK		dodávateľ B	IIa	CC29

Z pohľadu sledovania rezistencie voči antimikrobiálnym látkam boli vo všetkých analyzovaných izolátoch zistené gény *fosX* a *vga(G)*. Gén *fosX* zodpovedá za prirodzenú rezistenciu *L. monocytogenes* voči fosfomycínu a je bežnou súčasťou genómu tohto druhu (Scortti et al., 2018). Gén *vga(G)* patrí medzi gény kódujúce proteíny typu ABC-F, ktoré sa podieľajú na ochrane ribozómu a môžu súvisieť s rezistenciou voči niektorým antibiotikám pôsobiacim na proteosyntézu (Wilson et al., 2020). Dôležité je, že v analyzovanom súbore neboli detegované gény asociované s rezistenciou voči β-laktámovým antibiotikám (ampicilín, penicilín), ktoré predstavujú liečbu prvej voľby pri listerióze (Temple & Nahata, 2000).

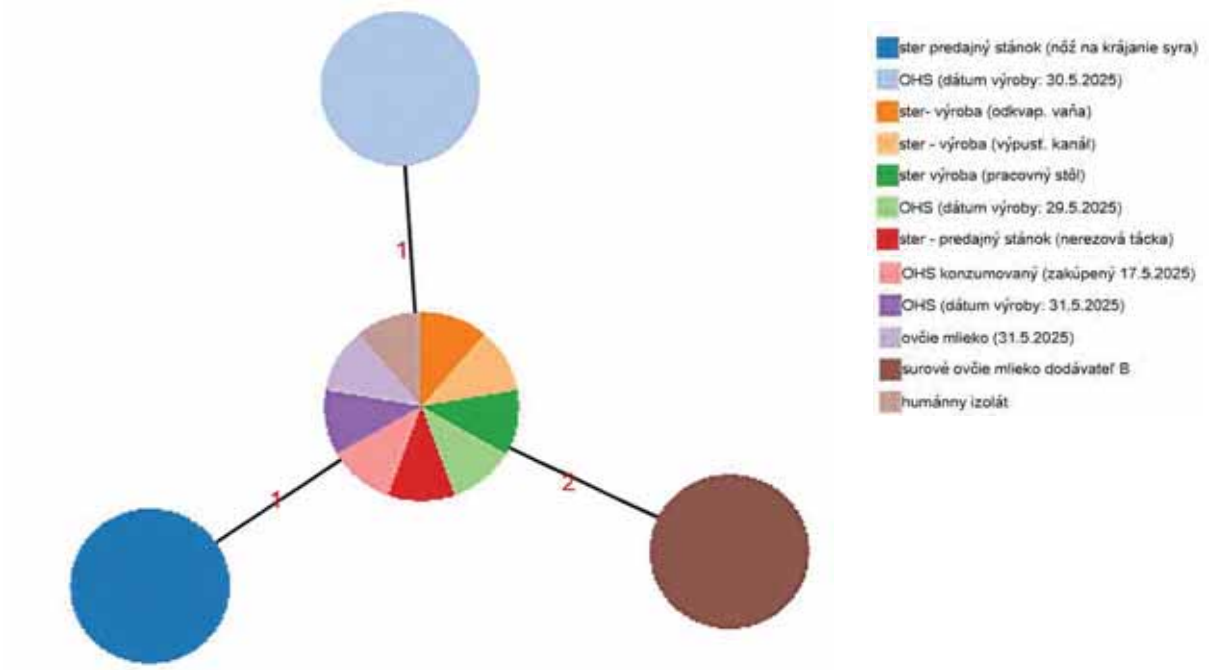
Analýza virulenčných faktorov preukázala, že väčšina hlavných génov zodpovedných za patogenitu bola prítomná u všetkých izolátov *L. monocytogenes*. Konzervovaná prítomnosť génov *prfA, hly, plcA, plcB, mpl, actA, inlA* a *inlB* potvrdzuje zachovaný tzv. LIPI-1 ostrov virulencie (*Listeria Pathogenity Island 1*), ktorý je kľúčový pre intracelulárny životný cyklus baktérie (Vázquez-Boland et al., 2001; Camejo et al., 2011). Neprítomnosť génov *bapL, luxS* a *recO* u všetkých izolátov naznačuje, že tieto kmene pravdepodobne využívajú alternatívne mechanizmy regulácie tvorby biofilmu a adaptability na prostredie. Napriek tomu bola prítomnosť ďalších génov asociovaných s biofilmom a stresovou odpoveďou (*clpC/E/P, actA, cheY*) univerzálna, čo podporuje schopnosť prežívania v potravinárskom prostredí a perzistencie v spracovateľských prevádzkach (Carpentier & Cerf, 2011). Celkovo možno konštatovať, že analyzované izoláty *L. monocytogenes* vykazovali vysoký virulenčný potenciál pri súčasne nízkej úrovni klinicky významnej získanej rezistencie. Táto kombinácia je z

epidemiologického hľadiska významná, keďže kmene si zachovávajú schopnosť vyvolať závažné invazívne ochorenia, pričom ich pretrvávanie v potravinovom reťazci predstavuje trvalé riziko pre verejné zdravie.

Fylogenetická analýza izolátov *L. monocytogenes* bola realizovaná pomocou core genome multilocus sequence typing (cgMLST) na základe schémy BIGSdb, ktorá zahŕňa 1 748 lokusov (Moura et al., 2016). Alelické profily boli určené pomocou BLAST algoritmu. Tento prístup poskytuje vysokú diskriminačnú schopnosť a je v súčasnosti považovaný za štandard pri vyšetrovaní epidémií listeriózy a sledovaní cirkulácie klonov na národnej aj medzinárodnej úrovni (Ruppitsch et al., 2015; Moura et al., 2016). Pri analýze izolátov *Listeria monocytogenes* pomocou cgMLST sa za hranicu genetickej príbuznosti štandardne považuje ≤ 7 alelických rozdielov (AD) (Füszl *et al.,* 2025), čo indikuje pravdepodobné klonálne prepojenie medzi jednotlivými izolátmi. Všetkých 12 izolátov *L. monocytogenes* vytvorilo jeden klaster s minimálnymi hodnotami alelických rozdielov oproti sebe (0-3 AD) (Tab. 4, Obr. 1). Humánny izolát (SAMEA118576250) bol identický (0 AD) s izolátom pochádzajúcim zo syra, ktorý pacient konzumoval (5229_2_2025_UVZ) a len veľmi málo sa líšil od ostatných izolátov pochádzajúcich z prevádzky A a dodávateľa B, ktoré boli predmetom tohto šetrenia (0-2 AD). Takto nízka hodnota AD je v kontexte cgMLST považovaná za silný dôkaz spoločného zdroja nákazy alebo veľmi úzkej epidemiologickej súvislosti (Ruppitsch et al., 2015).

Tab. 4 Znázornenie alelických rozdielov (AD) medzi jednotlivými izolátmi *L. monocytogenes*

ID	5229_2_2025_UVZ	5241_2025_DK	5242_2025_DK	5243_4_2025_DK	5244_2025_DK	5248_2025_DK	5252_2025_DK	5256_3_2025_DK	5285_2025_DK	5286_2_2025_DK	5804_2025_DK	SAMEA118576250
5229_2_2025_UVZ	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0
5241_2025_DK	1	0	1	1	1	1	1	2	1	1	3	1
5242_2025_DK	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0
5243_4_2025_DK	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0
5244_2025_DK	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0
5248_2025_DK	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0
5252_2025_DK	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0
5256_3_2025_DK	1	2	1	1	1	1	1	0	1	1	3	1
5285_2025_DK	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0
5286_2_2025_DK	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0
5804_2025_DK	2	3	2	2	2	2	2	3	2	2	0	2
SAMEA118576250	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0



Obr. 1 Vizualizácia výsledkov cgMLST analýzy pomocou minimum spanning tree (MST) (PHYLOViZ, Ribeiro-Gonçalves et al., 2016).

ZÁVER

Vyšetrovanie prípadu preukázalo súvislosť medzi konzumáciou pasterizovaného ovčieho hrudkového syra a fatálnym ochorením spôsobeným *Listeria monocytogenes*. Kombináciou mikrobiologických analýz a celogenómového sekvenovania (WGS) sa podarilo identifikovať spoločný zdroj kontaminácie, pričom genetická príbuznosť (0-2 AD) humánneho izolátu a izolátov z potravín predstavuje silný dôkaz epidemiologickej súvislosti.

Zistenia potvrdili prítomnosť dvoch klonálnych komplexov v prevádzke A, pričom klon CC29 bol zodpovedný za daný prípad ochorenia a bol identifikovaný aj u dodávateľa surového ovčieho mlieka (dodávateľ B). Zavedené opatrenia, vrátane sanitácie, revízie technologických postupov a dočasného zastavenia výroby, viedli k eliminácii kontaminácie v prevádzke.

Prípad poukazuje na význam pravidelnej kontroly, dôsledného dodržiavania hygienických zásad a efektívneho systému samokontroly v potravinárskych prevádzkach. Zároveň zdôrazňuje prínos moderných molekulárnych metód, najmä WGS, pri rýchlej a presnej identifikácii zdrojov potravinových nákaz a ochrane verejného zdravia.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Bankevich, A., Nurk, S., Antipov, D., Gurevich, A. A., Dvorkin, M., Kulikov, A. S., et al. (2012). SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell

sequencing. *Journal of Computational Biology, 19*(5), 455–477. https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021

2. Bogaerts, B., Van Braekel, J., Van Uffelen, A., D'aes, J., Godfroid, M., Delcourt, T., et al. (2025). Galaxy @Sciensano: A comprehensive bioinformatics portal for genomics-based microbial typing, characterization, and outbreak detection. *BMC Genomics, 26*(1), 20. https://doi.org/10.1186/s12864-024-11182-5
3. Bortolaia, V., Kaas, R. S., Ruppe, E., Roberts, M. C., Schwarz, S., Cattoir, V., et al. (2020). ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 75*(12), 3491–3500. https://doi.org/10.1093/jac/dkaa345
4. Camacho, C., Coulouris, G., Avagyan, V., Ma, N., Papadopoulos, J., Bealer, K., & Madden, T. L. (2009). BLAST+: Architecture and applications. *BMC Bioinformatics, 10*, 421. https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-421
5. Camejo, A., Carvalho, F., Reis, O., Leitão, E., Sousa, S., & Cabanes, D. (2011). The arsenal of virulence factors deployed by Listeria monocytogenes to promote its cell infection cycle. Virulence, 2(5), 379–394. https://doi.org/10.4161/viru.2.5.17812
6. Carpentier, B., & Cerf, O. (2011). Review — Persistence of Listeria monocytogenes in food industry equipment and premises. International Journal of Food Microbiology, 145(1), 1–8. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.014
7. Ebner, R., Stephan, R., Althaus, D., Brisse, S., Maury, M., & Tasara, T. (2015). Phenotypic and genotypic characteristics of *Listeria monocytogenes* strains isolated during 2011–2014 from different food matrices in Switzerland. *Food Control, 57*, 321–326. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.04.030
8. Feldgarden, M., Brover, V., Haft, D. H., Prasad, A. B., Slotta, D. J., Tolstoy, I., et al. (2019). Validating the AMRFinder tool and resistance gene database by using antimicrobial resistance genotype-phenotype correlations in a collection of isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 63*(11), e00483-19. https://doi.org/10.1128/AAC.00483-19
9. Félix, B., Capitaine, K., Te S., Felten, A., Gillot, G., Feurer, C., et al. (2023). Identification by high-throughput real-time PCR of 30 major circulating *Listeria monocytogenes* clonal complexes in Europe. *Microbiology Spectrum, 11*(3), e03954-22. https://doi.org/10.1128/spectrum.03954-22
10. Füszl, A., Pietzka, A., Hyden, P., Mösenbacher, T., Stöger, A., Blaschitz, M., Stadlbauer, S., Hasenberger, P., Schindler, S., Heger, F., Pleininger, S., & Indra, A. (2025). Assessing mutation accumulation in DNA repair-deficient *Listeria monocytogenes*: Implications for cgMLST cluster thresholds in outbreak analysis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 15*, 1530851. https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1530851

11. Gurevich, A., Saveliev, V., Vyahhi, N., & Tesler, G. (2013). QUAST: Quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics, 29*(8), 1072–1075. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt086
12. Chen, S. (2023). Ultrafast one-pass FASTQ data preprocessing, quality control, and deduplication using fastp. *iMeta, 2*(2), e107. https://doi.org/10.1002/imt2.107
13. Jolley, K. A., & Maiden, M. C. J. (2010). BIGSdb: Scalable analysis of bacterial genome variation at the population level. *BMC Bioinformatics, 11*, 595. https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-595
14. Kolmogorov, M., Yuan, J., Lin, Y., & Pevzner, P. A. (2019). Assembly of long, error-prone reads using repeat graphs. *Nature Biotechnology, 37*(5), 540–546. https://doi.org/10.1038/s41587-019-0072-8
15. Kramarenko, T., Roasto, M., Meremäe, K., Kuningas, M., Põltsama, P., & Elias, T. (2013). *Listeria monocytogenes* prevalence and serotype diversity in various foods. *Food Control, 30*(1), 24–29. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.06.047
16. Kubicová, Z., Roussel, S., Félix, B. & Cabanová, L. (2021). Genomic Diversity of *Listeria monocytogenes* Isolates from Slovakia (2010 to 2020). *Frontiers in Microbiology* 12, 729050. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.729050
17. Low, A. J., Koziol, A. G., Manninger, P. A., Blais, B., & Carrillo, C. D. (2019). ConFindr: Rapid detection of intraspecies and cross-species contamination in bacterial whole-genome sequence data. *PeerJ, 2019*(5), e6995. https://doi.org/10.7717/peerj.6995
18. Manni, M., Berkeley, M. R., Seppey, M., Simão, F. A., & Zdobnov, E. M. (2021). BUSCO update: Novel and streamlined workflows along with broader and deeper phylogenetic coverage for scoring of eukaryotic, prokaryotic, and viral genomes. *Molecular Biology and Evolution, 38*(10), 4647–4654. https://doi.org/10.1093/molbev/msab199
19. Martín, B., Perich, A., Gomez, D., Yanguela, J., Rodríguez, A., Garriga, M., et al. (2014). Diversity and distribution of *Listeria monocytogenes* in meat processing plants. *Food Microbiology, 44*, 119–127. https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.05.014
20. Moura, A., Tourdjman, M., Leclercq, A., Hamelin, E., Laurent, E., Fredriksen, N., van Cauteren, D., Bracq-Dieye, H., Thouvenot, P., Vales, G., Tessaud-Rita, N., Maury, M. M., Alexandru, A., Criscuolo, A., Quevillon, E., & Donguy, M. P., Enouf, V., de Valk, H., Brisse, S., & Lecuit, M. (2017). Real-time whole-genome sequencing for surveillance of Listeria monocytogenes, France. Emerging Infectious Diseases, 23(9), 1462–1470. https://doi.org/10.3201/eid2309.170336
21. Ribeiro-Gonçalves, B., Francisco, A. P., Vaz, C., Ramirez, M., & Carrico, J. A. (2016). PHYLOViZ Online: Web-based tool for visualization, phylogenetic inference, analysis and

sharing of minimum spanning trees. Nucleic Acids Research, 44(W1), W246–W251. https://doi.org/10.1093/nar/gkw359

22. Ruppitsch, W., Pietzka, A., Prior, K., et al. (2015). Defining and evaluating a core genome multilocus sequence typing scheme for whole-genome sequence-based typing of Listeria monocytogenes. Journal of Clinical Microbiology, 53(9), 2869–2876. https://doi.org/10.1128/JCM.00769-15
23. Scortti, M., Han, L., Alvarez, S., Leclercq, A., & Moura, A., & Lecuit, M. (2018). Epistatic control of intrinsic resistance by virulence genes in Listeria. PLoS Genetics, 14(9), e1007525. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007525
24. Shen, W., Sipos, B., & Zhao, L. (2024). SeqKit2: A Swiss army knife for sequence and alignment processing. *iMeta, 3*(3), 191. https://doi.org/10.1002/imt2.191
25. Temple, M. E., & Nahata, M. C. (2000). Treatment of listeriosis. Annals of Pharmacotherapy, 34(5), 656–661. https://doi.org/10.1345/aph.19345
26. Vázquez-Boland, J. A., Kuhn, M., Berche, P., Chakraborty, T., Domínguez-Bernal, G., Goebel, W., González-Zorn, B., Wehland, J., & Kreft, J. (2001). Listeria pathogenesis and molecular virulence determinants. Clinical Microbiology Reviews, 14(3), 584–640. https://doi.org/10.1128/CMR.14.3.584-640.2001
27. Wilson, D. N., Hauryliuk, V., Atkinson, G. C., & O'Neill, A. J. (2020). Target protection as a key antibiotic resistance mechanism. Nature Reviews Microbiology, 18(11), 637–651. https://doi.org/10.1038/s41579-020-00419-1
28. Wood, D. E., Lu, J., & Langmead, B. (2019). Improved metagenomic analysis with Kraken 2. *Genome Biology, 20*(1), 257. https://doi.org/10.1186/s13059-019-1891-0

POĎAKOVANIE

Táto práca bola finančne podporená Národným Kontaktným bodom úradu EFSA v Slovenskej republike (Jednoročný projekt pre hodnotenie rizika pre organizácie podľa čl. 36 Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 178/2002 „Podpora bezpečnosti potravín pomocou WGS typizácie zoonotických baktérií").

Kontaktné adresy:

Sleziaková Jana, Regionálna veterinárna a potravinová správa, Potravinový dozor a hygiena potravín, Kollárova 2, 03101 Liptovský Mikuláš. Slovensko, E-mail: jana.sleziakova@svps.sk Cabanová Lenka; Kubicová Zuzana, Štátny veterinárny a potravinový ústav, Jánoškova 1611/58, 026 01 Dolný Kubín, Slovensko. E-mail: lenka.cabanova@svpu.sk; zuzana.kubicova@svpu.sk

OBSAH POPS VO VYBRANÝCH VZORKÁCH RASTLINNÉHO OLEJA.

POPS CONTENT IN SELECTED VEGETABLE OIL SAMPLES.

[1]Stachová Sejáková Zuzana*,[1]Čonka Kamil, [1]Gago František, [1]Drobná Beáta

[1] NRC pre dioxíny a príbuzné zlúčeniny, Ústav laboratórnej medicíny, Lekárska fakulta, Slovenská Zdravotnícka Univerzita, Limbová 12, 833 03 Bratislava, Slovenská republika

ABSTRACT

During January – March 2026, we collected vegetable oil samples form Slovak groceries. They were analysed for polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs), and polychlorinated biphenyls (PCBs). The samples were from different brands, producers and origin. 16 samples were processed of various plant origins. WHO-TEQ_{2005} values were calculated from the measured results. The majorityof the sample of vegetable oil from Slovak groceries do not exceed the maximum and action values set by the European Commission for this commodity. However, for one sample, vegetable oil from canned fish, values for PCDDs, PCDFs and dl-PCBs are well above the limit.

Key words: PCDDs, PCDFs, dl-PCBs, vegetable oil

ÚVOD

Polychlórované dibenzo-p-dioxíny (PCDD), polychlórované dibenzo-furány (PCDF) a polychlórované bifenyly (PCB) patria medzi perzistentné organické polutanty (POPs). V životnom prostredí sa vyskytujú vo zvýšenej miere v dôsledku ľudskej činnosti a dlhodobo pretrvávajú kvôli svojej odolnosti voči biodegradácii[1,2,3]. Pre svoju výraznú schopnosť bioakumulácie sa dostávajú až na vrchol potravinového reťazca[4, 5].

PCDD a PCDF vznikajú najmä nedokonalým spaľovaním 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 do roku 1984. Používali sa o.i. ako stabilizátory náterov, chladiace a dielektrické kvapaliny a teplonosné médiá. V životnom prostredí sa dodnes nachádzajú staré záťaže, ktoré sú predstavujú zdroj kontaminácie hospodárskych zvierat. PCB sa transportujú v životnom prostredí a bioakumulujú sa v potravinovom reťazci[6, 7]. Účinky PCB na zdravie človeka sa týkajú najmä nervového, endokrinného, reprodukčného a imunitného systému[8].

Rastlinné oleje sú v európskych podmienkach vyrábané prevažne z olejnatých semien repky olejnej, slnečnice, ale aj z olív, tekvice a rôznych alternatívnych zdrojov, ako napríklad konope. Keďže POPs sú vysoko lipofilné olejnaté semená týchto rastlín môžu, pri pestovaní v oblastiach zaťažených kontamináciou pôdy alebo s atmosférickou depozíciou, slúžiť ako matrica pre ich akumuláciu, ktorá sa následne môže premietať do kontaminácie získaných rastlinných olejov. Vzhľadom na svoj rastlinný pôvod a rozsah používania vo výžive obyvateľstva predstavuje vhodnú matricu na monitorovanie prítomnosti látok ako PCB a PCDD/F v potravinovom reťazci.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky sa po prijatí skladovali pri laboratórnej teplote a v tme. Do navážky vzorky oleja pred ďalším spracovaním pridalo známe množstvo 13C12-označených extrakčných štandardov PCDD/F a PCB.

Vzorky sa prečistili a spálili tuky na kolóne plnenej 44%-nou H_2SO_4 na silikagéli sa PCDD/F a PCB frakcionovali použitím kolón s aktívnym uhlím. K prečisteným extraktom boli pred analýzou pridané známe množstvá 13C12-označených dávkovacích štandardov PCDD/F a PCB na výpočet výťažnosti 13C12-označených extrakčných štandardov. So sadou vzoriek bol spracovaný slepý pokus.

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; Trace GC Ultra, Thermo, Nemecko; DFS, Thermo, 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} na tuk vo vzorkách oleja, 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 13,50%, pre dl-PCB 15,03% a pre PCDD/F + dl-PCB 13,70%.. Jednotlivé výsledky, ktoré boli nižšie ako medza stanovenia (LOD) boli počítané s hodnotou LOD “horná medza“ (uperbound), na

výpočet TEQ. Pre jednotlivé vzorky sa vypočítali TEQ a porovnávali sa medzi sebou. Komodita rastlinný olej má podľa európskych smerníc určené svoje maximálne limity (Tab. 1). Pri maximálnych limitoch by sa nemali dané produkty dostať k spotrebiteľovi.

Z nameraných výsledkov pre vzorky rastlinných olej dostupných na slovenskom trhu vidno, že v hodnotení TEQ pre jednotlivé skupiny POPs sa neprekročili maximálne a ani akčné limity (Tab. 2.). Avšak pri jednej vzorke sa našli aj vzorky prekračujúce akčný aj maximálny limit pre dl-PCB a PCDD/F. V tomto prípade dvojnásobne avšak ide o veľmi špecifickú a vzorku oleja použitého pri konzervácii morskej ryby, kde už len tento samotný fakt , že bol olej v kontakte s rybou a konzervou mohol olej skontaminovať.

Z nameraných výsledkov vidieť, že v celkovom hodnotení olejov na slovenskom trhu sa, okrem jednej veľmi špecifickej výnimky, neprekročili maximálne a ani akčné limity (Tab. 2.).

Tabuľka č. 1: Porovnanie maximálnych a akčných limitov pre jednotlivé tipy zlúčenín v rastlinných olejoch a tukoch stanovených legislatívou. (https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02023R0915-20240425)

Vegetable oils and fats (status valid from 2023)	**Dioxins and Furans (sum of PCDD/Fs): WHO-PCDD/F-TEQ**	**Sum of dioxins and dioxin-like PCBs (sum of PCDD/Fs and DL-PCBs): WHO-PCDD/F-PCB-TEQ**	**Sum of dioxin-like PCBs (DL-PCBs): WHO-PCB-TEQ**	**Non-dioxin-like PCBs**
Maximum values	0,75 pg/g fat	1,25 pg/g fat	---	40 ng/g fat
Action levels	---	---	---	---

Tabuľka č. 2: Porovnanie hodnôt TEQ pre jednotlivé tipy zlúčenín pre jednotlivé vzorky rastlinných olejov.

				WHO_{2005}-TEQ (pg/g tuku)			
oleje	**značka**	**pôvod**	**tip**	**∑PCDD/F**	**∑PCDD/Fs and DL-PCBs**	**∑DL-PCBs**	**∑IND PCB (ng/g)**
O-1	Bioporus	Nemecko	slnečnicový	0,102	0,125	0,023	0,018
O-2	Raciol, Palma SR		repkový	0,102	0,131	0,029	0,000
O-3	Vita D´or-Lidl		repkový/ jednodruhový	0,063	0,084	0,021	0,000
O-4	Haday	Čína	repkový/ s extraktom z kajanského korenia	0,195	0,212	0,018	0,001
O-5	Bell Zvolen		repkový/ spreji	0,118	0,143	0,025	0,028
O-6	Heliol Palma		slnečnicový	0,068	0,072	0,004	0,009
O-7	Venus		slnečnicový	0,086	0,098	0,013	0,000

Pokračovanie tabuľky č. 2

O-8	Giana	Ukrajina	slnečnicový	0,063	0,072	0,008	0,036
O-9	Borgers	EÚ	olivový/ extra virgin	0,065	0,079	0,014	0,186
O-10	Franz Josef Exclusive		olivový/ extra virgin	0,073	0,113	0,039	0,317
O-11	Billa premium	EÚ	olivový/ extra virgin nerafinovaný	0,045	0,053	0,008	0,091
O-12	Olitalia		olivový/ s hľuzovkovou arómou	0,073	0,087	0,014	0,069
O-13	Cannalife s.r.o.		tekvicový/ Premium	0,222	0,234	0,012	0,02
O-14	LIDL	Holandsko	avokádový/ s chilli príchuťou	0,051	0,066	0,015	0,002
O-15	Nupreme		konopný/ bio virgin	0,116	0,124	0,008	0,002
O-16	Šproty riga, SOKRA		olivový/ zo šprotov	1,431	3,078	1,647	11,701

ZÁVER

Z nameraných hodnôt ΣTEQ pre PCDD/F a DL-PCB a koncentrácii ΣIND PCB v nami testovaných vzorkách rastlinných olejov môžeme povedať, že v obchodnej sieti sme nezachytili rastlinný olej, ktorý by prekračoval maximálne limity. Výnimkou je olej odobratý z rybacej konzervy, kde ryby bývajú významným zdrojom kontaminácie a tým je potrebné venovať zvýšenú pozornosť.

Pri porovnaní pôvodu či tipu rastlinného oleja nie je vidno výrazné rozdiely. Je teda zrejmá dôležitosť a opodstatnenosť pravidelných monitoringov na Slovenskom trhu, aby sa na trhu naďalej vyskytovali len produkty neprekračujúce limity stanovené legislatívou.

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

Kontaktná adresa: Stachová Sejáková Zuzana, NRC pre dioxíny a príbuzné zlúčeniny, Ústav laboratórnej medicíny, Lekárska fakulta, Slovenská Zdravotnícka Univerzita, Limbová 12, 833 03 Bratislava, Slovenská republika. E-mail: zuzana.stachova@szu.sk

SENZORICKÉ HODNOTENIE PÁRKOV NA BÁZE HRACHU A ICH POROVNANIE S VYBRANÝMI MÄSOVÝMI A RASTLINNÝMI ALTERNATÍVAMI

SENSORY EVALUATION OF PEA-BASED SAUSAGES AND THEIR COMPARISON WITH SELECTED MEAT AND PLANT-BASED ALTERNATIVES

Staruch Ladislav[1], Ďurka Ervín[1], Bodík Igor[2]

[1] Ústav potravinárstva a výživy, Oddelenie potravinárskej technológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

2 Ústav chemického a environmentálneho inžinierstva, Oddelenie environmentálneho inžinierstva, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

ABSTRACT

Pea protein is considered a promising raw material for plant-based meat analogues due to its techno-functional properties, nutritional value and relatively low allergenic burden compared with some commonly used plant proteins. The aim of this study was to evaluate the sensory properties of a pea-based sausage and compare them with selected meat and plant-based sausage products based on wheat and soy. Four samples were assessed by 12 evaluators using a hedonic scale, descriptor analysis and rank-order testing. The assessed parameters included consistency, colour and appearance in cross-section, odour, taste and overall acceptability. The meat sausage achieved the highest sensory scores; however, among plant-based samples, the pea-based sausage showed the best overall sensory performance and the highest similarity to the reference meat sample. The results indicate that pea-based sausages may represent a promising plant-based alternative to conventional meat products, although further optimization of flavour profile remains desirable.

Key words: pea protein, plant-based sausages, sensory evaluation, meat analogues, consumer acceptability

ÚVOD

Rastúci záujem o rastlinné alternatívy mäsa je spojený s environmentálnymi, etickými aj výživovými aspektmi, no úspech týchto výrobkov na trhu je stále vo veľkej miere podmienený ich senzorickou kvalitou. Práve chuť, vôňa, textúra a celková spotrebiteľská akceptácia patria medzi rozhodujúce faktory, ktoré ovplyvňujú ochotu spotrebiteľa nahradiť tradičné mäsové

výrobky rastlinnými analógmi. Novšie prehľadové práce sa zhodujú v tom, že napriek výraznému technologickému pokroku zostáva senzorická stránka jednou z najväčších výziev vývoja plant-based výrobkov (Ishaq et al., 2022; Appiani et al., 2023; Kumari et al., 2023; Jang a Lee, 2024; Tireki et al., 2024).

Hrachová bielkovina patrí medzi perspektívne suroviny pre výrobu mäsových analógov, pretože sa vyznačuje priaznivými emulgačnými, gélotvornými a väzbovými vlastnosťami a umožňuje formulovať výrobky s vhodnou textúrou a stabilitou. Zároveň sa v literatúre často uvádza ako surovina s relatívne nízkou alergénnou záťažou v porovnaní s niektorými tradične využívanými rastlinnými proteínmi, najmä sójou a pšenicou, hoci alergické reakcie na hrach sú odborne popísané a pri vývoji výrobkov ich nemožno ignorovať. Práve kombinácia funkčnosti, nutričného potenciálu a možnosti znížiť závislosť od sójových a pšeničných proteínov robí z hrachu významnú surovinu aj pre budúci rozvoj tejto výrobkovej kategórie (Shanthakumar et al., 2022; Taylor et al., 2021; An et al., 2024; Plattner et al., 2024; Harasym et al., 2025; Abedini et al., 2025).

Význam vývoja senzoricky akceptovateľných rastlinných výrobkov zdôrazňujú aj novšie práce, ktoré upozorňujú na potrebu spájať technologickú funkčnosť surovín so senzorickou akceptáciou a nutričnou kvalitou konečného výrobku. V prípade párkov a podobných emulzných výrobkov je dôležité dosiahnuť nielen vhodnú textúru, ale aj chuťový profil dostatočne blízky mäsovej referencii (Fiorentini et al., 2020; Michel et al., 2021; Locatelli et al., 2025). Cieľom práce bolo senzoricky zhodnotiť párok na báze hrachu a porovnať jeho vybrané zmyslové vlastnosti s komerčne zakúpeným mäsovým párkom a s rastlinnými alternatívami na báze pšenice a sóje.

MATERIÁL A METODIKA

Do senzorického hodnotenia boli zaradené štyri vzorky párkov. Vzorka č. 1 predstavovala komerčne zakúpený rastlinný párok na báze pšenice, vzorka č. 2 komerčne zakúpený rastlinný párok na báze sóje, vzorka č. 3 komerčne zakúpený mäsový párok a vzorka č. 4 experimentálny párok na báze hrachu. Hrachová vzorka bola pripravená na báze hrachovej bielkoviny a hrachovej vlákniny s použitím pomocných zložiek zabezpečujúcich stabilitu a emulgačné vlastnosti výrobku. Technologické spracovanie hrachovej vzorky bolo založené na vytvorení emulznej matrice a jej následnom formovaní do finálnej podoby.

Senzorické hodnotenie sa uskutočnilo za účasti 12 hodnotiteľov. V prvej časti bola použitá hedonická stupnica na hodnotenie parametrov konzistencia, farba a vzhľad v nákroji, vôňa, chuť a celková chutnosť. V druhej časti boli hodnotené chuťové deskriptory mäsový, slaný, strukovinový a sójový charakter vzoriek. Výsledky boli spracované ako aritmetický priemer a

smerodajná odchýlka; rozdiely medzi vzorkami boli posudzované pomocou Studentovho kritéria. Referenčnú vzorku predstavoval mäsový párok.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky hedonického hodnotenia potvrdili rozdiely medzi jednotlivými vzorkami vo všetkých sledovaných parametroch. V tabuľke č. 1. sú uvedené výsledky vo forme priemernej hodnoty ± smerodajnej odchýlky. Referenčný mäsový párok dosiahol najvyššie bodové hodnotenie vo vôni, chuti aj celkovej chutnosti. Spomedzi rastlinných vzoriek však najlepšie výsledky dosiahol párok na báze hrachu, ktorý sa vo viacerých atribútoch najviac priblížil mäsovej referencii.

Tabuľka č. 1. Výsledky hedonického senzorického hodnotenia vzoriek párkov

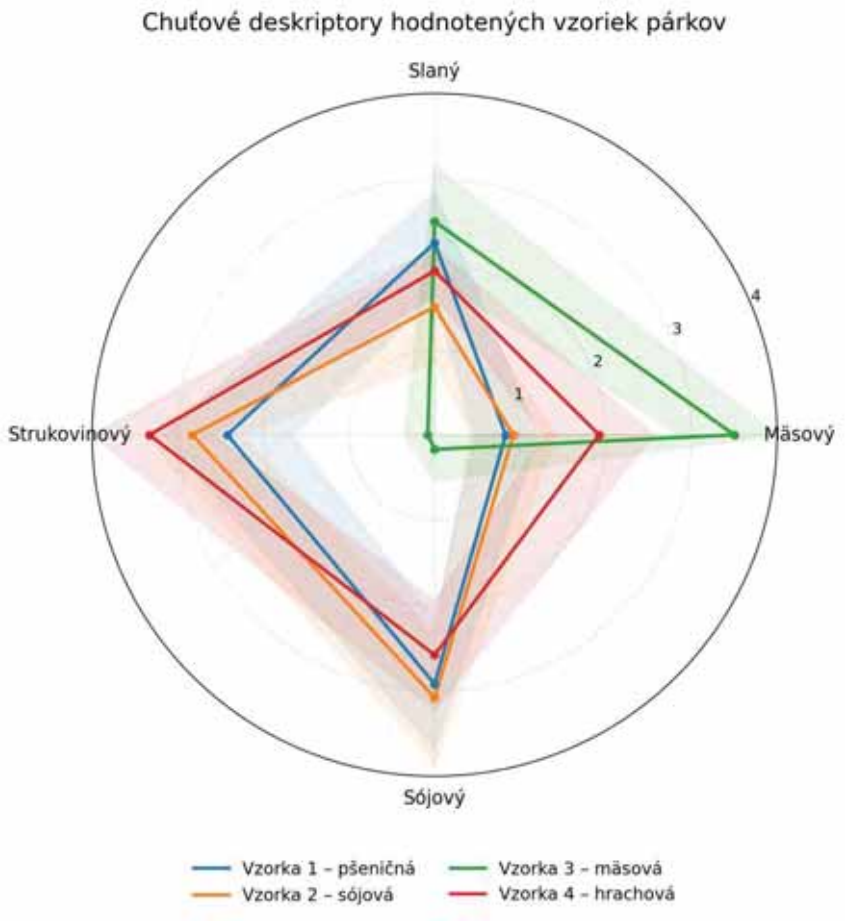
Vzorka	Typ	Konzistencia (0-4)	Farba a vzhľad v nákroji (0-4)	Vôňa (0-6)	Chuť (0-6)	Celková chutnosť (0-3)
1	pšeničná báza	1,75 ± 0,60	0,67 ± 0,47	2,83 ± 0,80	1,92 ± 0,49	1,25 ± 0,72
2	sójová báza	2,17 ± 0,69	2,42 ± 0,86	3,83 ± 0,90	2,50 ± 0,87	1,42 ± 0,76
3	mäsová	3,58 ± 0,64	3,25 ± 0,83	5,58 ± 0,49	5,00 ± 0,71	2,67 ± 0,62
4	hrachová báza	2,92 ± 0,49	2,75 ± 0,83	4,58 ± 0,76	3,58 ± 0,86	2,17 ± 0,80

Poznámka: Hodnoty sú uvedené ako priemer ± smerodajná odchýlka (SD); vyššia hodnota znamenala priaznivejšie senzorické hodnotenie; n = 12. Pri parametroch farba a vzhľad v nákroji a celková chutnosť sa hrachová vzorka štatisticky významne nelíšila od referenčnej mäsovej vzorky.

Z hľadiska celkovej chutnosti možno vzorky zoradiť v zostupnom poradí nasledovne: vzorka č. 3 (2,67), vzorka č. 4 (2,17), vzorka č. 2 (1,42) a vzorka č. 1 (1,25). Hrachová vzorka sa tak spomedzi rastlinných výrobkov umiestnila na prvom mieste a zároveň sa v celkovej chutnosti najviac priblížila referenčnému mäsovému párku. Podobný trend sa potvrdil aj pri parametri farba a vzhľad v nákroji, kde sa hrachová vzorka senzoricky približovala mäsovej referencii.
Pri hodnotení chuťových deskriptorov sa ukázalo, že hrachová vzorka dosiahla spomedzi rastlinných výrobkov najvyšší mäsový deskriptor (1,92), čo poukazuje na jej najväčšiu podobnosť s mäsovou referenciou. Zároveň sa pri nej výraznejšie prejavil aj strukovinový charakter (3,33), čo naznačuje, že hrachová báza poskytuje priaznivý základ pre vývoj rastlinných párkov, no chuťový profil zostáva vhodné ďalej optimalizovať. Pavúčinový graf

chuťových deskriptorov ukazuje, že hrachová vzorka predstavovala zo všetkých rastlinných alternatív senzoricky najvyváženejší profil.

Graf č. 1. Pavúčinový graf chuťových deskriptorov hodnotených vzoriek párkov s vyznačením variability (± SD).



Získané výsledky sú v súlade s novšou odbornou literatúrou, podľa ktorej má hrachová bielkovina významný potenciál pre výrobu mäsových analógov, no ich ďalší rozvoj je podmienený najmä optimalizáciou arómy a textúry. Viaceré práce zdôrazňujú, že spotrebiteľská akceptácia rastlinných výrobkov je výrazne závislá od schopnosti priblížiť sa mäsovému senzorickému profilu, pričom práve chuť a textúra zostávajú limitujúcimi parametrami. Naše výsledky túto skutočnosť potvrdili: hrachová vzorka bola hodnotená ako najlepšia rastlinná alternatíva, no stále nedosiahla úroveň mäsovej referencie. Zároveň však senzoricky prekonala pšeničný aj sójový výrobok, čo podporuje názor, že hrach môže mať v budúcnosti významné uplatnenie vo vývoji nových rastlinných párkov a podobných emulzných výrobkov (Fiorentini et al., 2020; Appiani et al., 2023; Kumari et al., 2023; Jang a Lee, 2024; Beňo et al., 2025; Abedini et al., 2025).

Poradová skúška ďalej potvrdila, že najlepšie bola hodnotená mäsová vzorka, pričom párok na báze hrachu by sa podľa dosiahnutých výsledkov umiestnil na druhom mieste. Zo všetkých rastlinných výrobkov tak vykázal najvyššiu mieru zhody s referenčným výrobkom a zároveň najvyššiu celkovú chutnosť. Z praktického hľadiska možno tieto výsledky považovať za priaznivé zistenie pre ďalší vývoj rastlinných výrobkov na báze hrachu, ktoré môžu predstavovať zaujímavú alternatívu ku konvenčným mäsovým párkom.

ZÁVER

Senzorické hodnotenie potvrdilo, že experimentálny párok na báze hrachu predstavoval spomedzi hodnotených rastlinných vzoriek najlepšie prijatý výrobok a senzoricky sa najviac približoval referenčnému mäsovému párku. Hoci mäsová vzorka dosiahla najvyššie bodové hodnotenia vo väčšine sledovaných parametrov, hrachová vzorka sa umiestnila bezprostredne za ňou a prekonala ostatné rastlinné alternatívy na báze sóje a pšenice. Výsledky naznačujú, že hrachová bielkovina má vhodný potenciál pre využitie vo výrobe rastlinných párkov, pričom ďalší vývoj by sa mal zamerať najmä na optimalizáciu chuťového a aromatického profilu výrobku.

POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla s podporou projektu APVV-22-0292 "Opätovné využívanie vyčistených odpadových vôd"

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ABEDINI, A.; et al. Advancing meat analogues with pea proteins: a comprehensive and systematic review of applications, 3D-printing and digestive properties. *Future Foods*, 2025, 13, 100868. DOI: 10.1016/j.fufo.2025.100868.
2. AN, N.; et al. A comprehensive review on composition to application of pea protein and its components. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 282(Pt 5), 137273. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.137273.
3. APPIANI, M.; et al. Sensory properties and consumer acceptance of plant-based meat, dairy, fish and eggs analogs: a systematic review. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2023, 7, 1268068. DOI: 10.3389/fsufs.2023.1268068.
4. BEŇO, F.; et al. Plant substitutes enrich hybrid sausages: evaluation of physicochemical, rheological, nutritional, microbiological, and chemical quality. LWT, 2025, 229, 118143. DOI: 10.1016/j.lwt.2025.118143.

5. FIORENTINI, M.; et al. Role of Sensory Evaluation in Consumer Acceptance of Plant-Based Meat Analogs and Meat Extenders: A Scoping Review. *Foods*, 2020, 9(9), 1334. DOI: 10.3390/foods9091334.
6. HARASYM, J.; et al. Pea Protein Isolates: From Extraction to Functionality. *Molecules*, 2025, 30(23), 4650. DOI: 10.3390/molecules30234650.
7. ISHAQ, A.; et al. Plant-based meat analogs: A review with reference to formulation and gastrointestinal fate. *Current Research in Food Science*, 2022, 5, 973–983. DOI: 10.1016/j.crfs.2022.06.001.
8. JANG, J.; et al. Advancements in plant based meat analogs enhancing sensory and nutritional attributes. npj *Science of Food*, 2024, 8, 50. DOI: 10.1038/s41538-024-00292-9.
9. KUMARI, S.; et al. Sensory Evaluation of Plant-Based Meat: Bridging the Gap with Animal Meat, Challenges and Future Prospects. *Foods*, 2023, 13(1), 108. DOI: 10.3390/foods13010108.
10. LOCATELLI, N. T.; et al. Toward Nutritionally Sound Plant-Based Meat Analogues: Expert Consensus from a Delphi Study. *Foods*, 2025, 14(17), 3068. DOI: 10.3390/foods14173068.
11. MICHEL, F.; et al. Consumers' associations, perceptions and acceptance of meat and plant-based meat alternatives. *Food Quality and Preference*, 2021, 87, 104063. DOI: 10.1016/j.foodqual.2020.104063.
12. PLATTNER, B. J.; et al. Use of Pea Proteins in High-Moisture Meat Analogs: Physicochemical Properties of Raw Formulations and Their Texturization Using Extrusion. *Foods*, 2024, 13(8), 1195. DOI: 10.3390/foods13081195.
13. SHANTHAKUMAR, P.; et al. The Current Situation of Pea Protein and Its Application in the Food Industry. *Molecules*, 2022, 27(16), 5354. DOI: 10.3390/molecules27165354.
14. TAYLOR, S. L.; et al. A perspective on pea allergy and pea allergens. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 116, 186–198. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.07.017.
15. TIREKI, S.; et al. A Review on Sensory Parameters and Evaluation Methods of Plant-Based Protein Foods. *Food Reviews International*, 2024, 40(10), 3710–3729. DOI: 10.1080/87559129.2024.2370944.

Kontaktná adresa: Ervín Ďurka, Ústav potravinárstva a výživy, Oddelenie potravinárskej technológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovensko. E-mail: ervin.durka@stuba.sk

ANTIMIKROBIÁLNA REZISTENCIA U KOAGULÁZA-NEGATÍVNYCH STAFYLOKOKOV U KRÁV SO SUBKLINICKOU MASTITÍDOU

ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN COAGULASE-NEGATIVE STAPHYLOCOCCI IN COWS WITH SUBCLINICAL MASTITIS

Szabóová Tatiana[1], Gregová Gabriela[1], Dančová Nikola[1], Hajdučková Vanda [2], Teleky[3]Jana

[1]Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat, [2]Katedra mikrobiológie a imunológie, [3]Katedra morfologických disciplín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice Slovenská republika

ABSTRACT

Milk production is a key sector of animal production in dairy farming, with increasing emphasis on ensuring the safety and high quality of dairy products. Current trends in dairy farming address not only milk production requirements, but also animal welfare, farm hygiene, and disease prevention. This study aimed to monitor and evaluate the occurrence of antimicrobial resistance in coagulase-negative staphylococci (CoNS) isolated from cows with subclinical mastitis on a cattle farm with a free-range housing system on deep litter in eastern Slovakia. In milk obtained from dairy cows with subclinical mastitis, the species *S. xylosus*, *S. chromogenes*, and *S. equorum* were most frequently identified. Throughout the year, an increased level of resistance was observed, especially to beta-lactam antibiotics such as ampicillin (81.36%) and oxacillin (78.81%), as well as to trimethoprim and rifampicin. Methicillin resistance (MRCoNS) was the most prevalent resistance mechanism in CoNS isolated from dairy cow milk (almost 62%), whereas penicillin resistance was detected in 11% of isolates, while other resistance mechanisms in CoNS were not detected. These CoNS strains may spread within the dairy farm environment and facilitate the transfer of resistance genes to susceptible bacteria. Accordingly, maintaining proper housing hygiene and strict adherence to milking hygiene protocols are crucial preventive measures.

Key words: subclinical mastitis, dairy cows, milk production, antimicrobial resistance

ÚVOD

Produkcia mlieka predstavuje jedno z kľúčových odvetví živočíšnej výroby v chove dojníc, pričom v súčasnosti sa kladie veľký dôraz na zabezpečenie zdravotnej neškodnosti a vysokej kvality mliečnych produktov. Aktuálne trendy v chove dojníc zohľadňujú nielen

požiadavky na produkciu mlieka, ale aj aspekty welfare, hygieny chovu zvierat a prevencie ochorení **(**Ajose et al. 2022).

Hygiena chovu zvierat a podmienky prostredia zohrávajú zásadnú úlohu pri vzniku mastitíd u dojníc. Ide o multifaktoriálne ochorenia, na vzniku ktorých sa vo veľkej miere podieľajú hlavne environmentálne faktory (najmä pri subklinických formách). Mastitídy vedú k výrazným ekonomickým stratám v dôsledku zníženej úžitkovosti a kvality mlieka. Tieto straty sú priamo ovplyvnené aj vznikom antimikrobiálnej rezistencie (AMR), ktorá častokrát komplikuje liečbu a znižuje jej účinnosť (Tomanić et al. 2025).

V chove dojníc sú mastitídy vo viac ako u 90 % prípadov bakteriálneho pôvodu. Pôvodcov mastitíd je možné rozdeliť do dvoch hlavných skupín: kontagiózne (nákazlivé) a environmentálne (z prostredia). Kontagiózne mastitídy často spôsobujú *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae, Mycoplasma bovis* a koaguláza-negatívne stafylokoky (CoNS) - *S. chromogenes, S. warneri, S. xylosus* – spôsobujúce subklinické mastitídy a prenášané počas procesu dojenia. Environmentálne mastitídy spôsobujú hlavne koliformné baktérie (*Escherichia coli, Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp.) vyskytujúce sa v prostredí chovu dojníc, najčastejšie v podstielke a truse, ale aj *Streptococcus uberis* a *Streptococcus dysgalactiae* pomerne často sa vyskytujúce na koži vemena. Znečistená a vlhká podstielka je hlavným zdrojom baktérií spôsobujúcich environmentálne mastitídy, čím sa zvyšuje bakteriálne zaťaženie a riziko prenosu infekcie (Lacková et al. 2025).

V súčasnosti predstavuje výskyt antimikrobiálnej rezistencie u CoNS globálny problém s významným terapeutickým dopadom. V posledných rokoch bola najčastejšie zaznamenaná rezistencia voči beta-laktámovým antibiotikám (ampicilín, oxacilín) a chinolónom (ciprofloxacín). V klinickej praxi zároveň postupne pribúdajú aj prípady rezistencie voči glykopeptidovým antibiotikám, ako sú vankomycín a teikoplanín. CoNS izolované z mlieka mastitídnych kráv so subklinickou formou často vykazujú rezistenciu aj voči erytromycínu, tetracyklínu a meticilínu (Pires et al. 2024; Khelili et al. 2025).

MATERIÁL A METODIKA

Táto štúdia bola zameraná na sledovanie a hodnotenie výskytu antimikrobiálnej rezistencie u CoNS izolovaných z mlieka od kráv so subklinickou mastitídou na farme hovädzieho dobytka s voľným systémom ustajnenia na hlbokej podstielke, lokalizovanej na východnom Slovensku.

Všetky izoláty boli identifikované kombináciou kultivačných a spektrometrických metód. Pre selektívnu izoláciu stafylokokov boli použité tuhé selektívne pôdy – Manitol Salt Agar a Chrom agar, pričom inkubácia prebiehala pri teplote 37 °C počas 24 hodín v termostate.

Antimikrobiálna citlivosť bola testovaná a hodnotená u 111 izolátov CoNS pomocou komerčne modifikovanej NCCLS mikrodilučnej metódy - komerčného kitu (Bel-Miditech) na 20 testovaných antibiotík. Minimálna inhibičná koncentrácia (MIC) a fenotypická identifikácia mechanizmov rezistencie u jednotlivých izolátov stafylokokov boli stanovené a vygenerované podľa EUCAST (2024) a odčítané pomocou skenera a digitálneho analytického softvéru.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V priebehu minulého roka sa uskutočnili tri odbery, pri ktorých bolo izolovaných 111 kmeňov CoNS. V mlieku získanom od dojníc so subklinickou mastitídou boli najčastejšie identifikované druhy *S. xylosus*, *S. chromogenes* a *S. equorum*.

Tabuľka č. 1, Percentuálne zastúpenie antimikrobiálnej rezistencie u CoNS

	MIC xG	% rezistencie
ampicilín	1.82	81.36
ampicilín + sulbaktám	0.98	0.00
piperacilín + tazobaktám	1.14	0.00
oxacilín	2.43	78.81
gentamicín	0.33	0.00
ciprofloxacín	0.19	0.00
moxifloxacín	0.13	1.69
erytromycín	0.61	11.02
clindamycín	0.17	2.54
linezolid	1.33	0.00
rifampicín	0.06	10.17
vankomycín	0.96	0.00
teikoplanín	0.77	5.08
tetracyklín	0.25	3.39
tigecyklín	0.07	0.00
chloramfenikol	3.26	0.00
trimetoprim	10.99	68.64
trimetoprim + sulfónamid	1.06	4.24
nitrofurantoín	3.88	0.00

Najvyššia miera rezistencie bola zaznamenaná v zimnom období, zatiaľ čo najnižšie hodnoty boli detegované na jar. Počas celého roka bola preukázaná zvýšená rezistencia najmä voči betalaktámovým antibiotikám – ampicilínu (81.36%), oxacilínu (78.81%), ale aj voči trimetoprimu (68,64%) a rifampicínu (10,17%), ako je znázornené v Tabuľke č.1. Tento trend pravdepodobne súvisí s dlhodobým uplatňovaním jednostranne zameranej liečby v chove hovädzieho dobytka.

V štúdii Woudstra et al. (2023) výskyt antibiotikorezistentných CoNS, najmä druhov *S. xylosus*, *S. epidermidis, S. chromogenes*, *S. cohnii* a *S. haemolyticus* bol potvrdený v steroch z prostredia chovu dojníc na farme v Nemecku u ≥ 90 % vyšetrených vzoriek.

Fenotypickou analýzou mechanizmov rezistencie sme zistili, že najčastejším mechanizmom vyskytujúcim sa u CoNS izolovaných z mlieka dojníc bol mechanizmus rezistencie MRCoNS (meticilín-rezistentné koaguláza-negatívne stafylokoky) takmer u 62% prípadov. Mechanizmus rezistencie na penicilíny bol potvrdený u 11% izolátov CoNS. Ostatné mechanizmy rezistencie, ako aminoglykozidová rezistencia, multirezistencia (MDR), MLSB/c (konštitutívna forma) a MLSB/i (inducibilná forma) neboli preukázané ani u jedného z vyšetrovaných izolátov (Tabuľka č. 2).

Tabuľka č. 2, Prehľad mechanizmov rezistencie u vybraných izolátov CoNS

Mechanizmus rezistencie	% rezistencie
Resistance to penicillins	11.02
mecA	0.00
MRCoNS	61.86
Aminogl,PH(2'')-AC(6')	0.00
Constitutive MLSB	0.00
Inducible MLSB/i	0.00
Multiresistance	0.00

ZÁVER

Získané výsledky v našej práci poukazujú na význam pravidelného monitorovania a hodnotenia výskytu antimikrobiálnej rezistencie u hlavných pôvodcov mastitíd vo vzorkách mlieka, akými sú aj koaguláza-negatívne stafylokoky (*S. xylosus, S. chromogenes* a *S. equorum*) vykazujúce rezistenciu hlavne na beta-laktámové antibiotiká (ampicilín, oxacilín). Tieto kmene sa môžu v prostredí chovu dojníc ďalej šíriť a prenášať gény rezistencie na citlivé baktérie. Z tohto dôvodu je kľúčové dôsledné udržiavanie hygieny ustajnenia dojníc, dodržiavanie hygienických štandardov v procese dojenia, ktoré predstavujú jedno zo základných preventívnych opatrení.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola realizovaná a financovaná za podpory projektov KEGA 009UVLF-4/2025 a APVV-23-0488.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AJOSE, D. J. et al. Combating bovine mastitis in the dairy sector in an era of antimicrobial resistance: ethno-veterinary medicinal option as a viable alternative approach. In *Frontiers in Veterinary Science*, 2022, vol. 9: 800322.
2. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters, Version 14.0. 2024. Available online: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_14.0_Breakpoint_Tables.pdf (accessed on 1 January 2024).
3. KHELILI, A. - ACHEK, R. - ABDULLAH, M. R. - KARIM, A. - NABI, I. - MOAWAD, A. A. - LANKRI, E.-H. - IDELEVICH, E. A. - Becker, K. Characterization and Antimicrobial Resistance of Bacteria Causing Subclinical Mastitis in Dairy Cows in the Upper Cheliff Region, Northern Algeria. In *Antibiotics*, 2025, 14(12), 1190.
4. LACKOVÁ, Z. – ZIGO, F. – PRNOOVÁ, A. Výskyt a etiológia mastitíd dojníc a ich vplyv na reprodukčné ukazovatele. In *GRANT journal*. ISSN 1805-062X, 1805-0638 (online), 2025, vol. 14, no. 01, p. 76 -78.
5. PIRES, A. J. et al. When the solution becomes the problem: a review on antimicrobial resistance in dairy cattle. Future Microbiology, 2024, 19.10: 903-929.
6. TOMANIĆ, D. - KLADAR, N. - KOVAČEVIĆ, Z. Antibiotic residues in milk as a consequence of mastitis treatment: Balancing animal welfare and one health risks. *Veterinary Sciences*, 2025, vol. *12*, no. 12, p. 1159.
7. WOUDSTRA, S et al. Reservoirs of Staphylococcus spp. and Streptococcus spp. associated with intramammary infections of dairy cows. Pathogens, 2023, 12.5: 699.

Kontaktná adresa: Szabóová Tatiana, 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: tatiana.szaboova@uvlf.sk

POROVNANIE OBSAHU KOFEÍNU A CHLOROGÉNOVÝCH KYSELÍN V 100 % *COFFEA CANEPHORA* A POUŽITEJ KÁVOVEJ USADENINE AKO POTENCIÁLNEHO ZDROJA BIOAKTÍVNYCH ZLÚČENÍN

COMPARISON OF CAFFEINE AND CHLOROGENIC ACID CONTENT IN 100 % *COFFEA CANEPHORA* AND SPENT COFFEE GROUNDS AS A POTENTIAL SOURCE OF BIOACTIVE COMPOUNDS

Švecová Terézia, Bobková Alica, Demianová Alžbeta, Lidiková Judita, Jurčaga Lukáš

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

ABSTRACT

Global coffee consumption is continuously increasing, leading to a higher production of by-products generated during its processing. One of the most significant is spent coffee grounds (SCG), which are often disposed of in landfills, where their high organic matter content poses an environmental concern. However, SCG contains bioactive compounds with potential for further valorisation. The aim of this study was to determine and compare the content of caffeine and chlorogenic acids (CQAs) in 100 % *Coffea canephora* samples and the corresponding SCG. Five samples of coffee bean extracts from different geographical origins and their corresponding SCG extracts were analysed. The content of caffeine and CQAs was determined using high-performance liquid chromatography (HPLC), with CQAs expressed as the sum of 3-CQA, 4-CQA, 5-CQA, 3,5-diCQA, and 4,5-diCQA. Statistical analysis was performed using one-way analysis of variance (ANOVA) with Tukey's test and a paired t-test ($\alpha = 0.05$). The results showed that caffeine content was higher in coffee extracts (4.82–15.98 $mg \cdot g^{-1}$) compared to SCG (4.82–9.15 $mg \cdot g^{-1}$). A similar trend was observed for CQAs, with values in coffee extracts ranging from 22.93 to 53.51 $mg \cdot g^{-1}$, while SCG ranged from 8.14 to 29.75 $mg \cdot g^{-1}$, with statistically significant differences between samples ($p < 0.05$). Despite the decrease in concentration after extraction, a considerable amount of these bioactive compounds remains in SCG. Based on the obtained results, SCG can be considered a promising by-product with potential for use as a source of caffeine and CQAs in various industrial applications.

Key words: spent coffee grounds, *Coffea canephora*, caffeine, chlorogenic acids, bioactive compounds

ÚVOD

Káva je jedným z najznámejších a najviac konzumovaných nápojov na svete. Definuje sa ako výluh z mletých a pražených kávových zŕn (Núñez *et al.,* 2021). Jej obľúbenosť možno vysvetliť výraznou arómou a chuťou, ktoré sú kľúčovými atribútmi pre spotrebiteľov (Gomes *et al.,* 2024). V posledných desaťročiach dochádza k výraznému rastu produkcie aj spotreby kávy (Pino a Apraez, 2025). V kávovom roku 2022/2023 sa celosvetovo vyprodukovalo približne 165,5 milióna 60 kg vriec kávy a podľa aktuálnych odhadov by mala produkcia v roku 2025/2026 dosiahnuť 178,8 milióna 60 kg vriec (ICO, 2025). Z hľadiska produkcie dominujú hlavne dva druhy kávovníka, a to *Coffea arabica* (*C. arabica* - Arabika) a *Coffea canephora* (*C. canephora* - Robusta). V porovnaní s *C. arabica* sa vyznačuje vyšším obsahom kofeínu a výraznejšou horkosťou (Ruta a Farcasanu, 2021). Tvorí približne 40 % svetovej produkcie kávy a jej pestovanie v posledných rokoch rastie vďaka vyššej odolnosti voči nepriaznivým podmienkam prostredia a chorobám (Lin *et al.,* 2024; Campuzano-Duque *et al.,* 2021).

Rastúci dopyt po káve vedie k vzniku značného množstva vedľajších produktov počas jej spracovania. Medzi najvýznamnejšie patrí použitá kávová usadenina (spent coffee grounds - SCG), ktorá zostáva po extrakcii pražených a mletých kávových zŕn (Franca a Oliveira, 2022). Ide o surovinu bohatú na makroživiny, pričom významnú časť tvoria polysacharidy, ako hemicelulóza a celulóza, proteíny a lipidy (Yusufoğlu *et al.,* 2024). Okrem toho obsahuje bioaktívne zlúčeniny, najmä chlorogénové kyseliny (CGA) a kofeín. CGA predstavujú významnú skupinu fenolických zlúčenín prítomných v SCG. Medzi najvýznamnejšie patria kyseliny kafeoylchinové (CQAs) (Oliveira *et al.,* 2021). Kofeín je prirodzený alkaloid zo skupiny metylxantínov a pôsobí ako stimulátor centrálneho nervového systému (Saud a Salamatullah, 2021). Obe skupiny zlúčenín vykazujú významnú antioxidačnú aktivitu a sú spájané s priaznivými účinkami na zdravie, najmä v súvislosti s prevenciou chronických ochorení (Klingel *et al.,* 2020; Saud a Salamatullah, 2021).

Množstvo vyprodukovanej SCG sa celosvetovo odhaduje na približne 6 miliónov ton ročne (Janissen a Huynh, 2018; Klingel *et al.,* 2020). Vzhľadom na vysoký obsah organickej hmoty predstavuje jej likvidácia environmentálny problém, spojený s tvorbou skleníkových plynov (Franca a Oliveira, 2022; Crossley *et al.,* 2020). V súčasnosti sa čoraz väčšia pozornosť venuje zhodnocovaniu a opätovnému využitiu SCG ako perspektívnej suroviny pre produkty s pridanou hodnotou (Benincá *et al.,* 2023). Pre významný obsah CGA a kofeínu môže SCG nájsť uplatnenie vo viacerých priemyselných oblastiach, akú sú kozmetický, farmaceutický, ale aj potravinársky priemysel. V potravinárstve by mohla byť využitá ako prírodný antioxidant, zložka potravín alebo ako súčasť aktívnych obalových materiálov (Iriondo-DeHond *et al.,* 2019).

Cieľom práce bolo stanoviť a porovnať obsah kofeínu a CGA vo vzorkách 100 % *C. canephora* a z nich získanej SCG a zhodnotiť jej potenciál ako zdroja bioaktívnych zlúčenín.

MATERIÁL A METODIKA

V rámci štúdie bolo analyzovaných 5 extraktov zo stredne pražených kávových zŕn 100 % *C. canephora* z rôznych geografických oblastí a k nim prislúchajúcich 5 extraktov z použitej kávovej usadeniny (SCG). Pre lepšiu prehľadnosť boli vzorky kávy označené písmenom „B“ (bean – zrno) a vzorky SCG písmenom „G“ (grounds – usadenina). Podrobný opis vzoriek je uvedený v tabuľke 1.

Tabuľka 1 Charakteristika analyzovaných vzoriek

Označenie vzorky	**1B / 1G**	**2B / 2G**	**3B / 3G**	**4B / 4G**	**5B / 5G**
Druh kávy	100 % *Coffea canephora*				
Krajina pôvodu	Jáva / Indonézia	Brazília	Guatemala	India	Uganda
Nadmorská výška (m n. m.)	1500	540–820	1100	1000 – 1600	1500
Spracovanie	Mokré	Suché	Mokré	Mokré	Mokré
Praženie	Stredný stupeň				

Poznámka: B – extrakty z kávových zŕn; G – extrakty z použitej kávovej usadeniny; m n. m. – metre nad morom.

Pred analýzou boli vzorky kávových zŕn homogenizované pomocou elektrického mlynčeka (Grindomix GM 200, Retsch, Haan, Nemecko) pri otáčkach 10 000 rpm/60 sekúnd. Následne sa na laboratórnych váh (Kern PCB 1000-1, Kern & Sohn GmbH, Nemecko) z každej vzorky odvážilo 7 g a zalialo 120 mL horúcej destilovanej vody s teplotou 98 °C. Extrakcia prebiehala 5 minút za občasného miešania. Vzorky boli následne prefiltrované cez filtračný papier Sartorius (Grade 390, Nemecko) za účelom získania kávových extraktov. Použitá kávová usadenina (SCG), ktorá zostala po filtrácii, bola presunutá do sušiacich nádob a sušená pri teplote 110 °C počas 5 hodín. Po ochladení boli extrakty zo vzoriek SCG pripravené rovnakým spôsobom ako extrakty kávy. Pred samotnou analýzou sa oba druhy extraktov znova prefiltrovali cez striekačkový mikrofilter (Frisenette, 25 mm, 0,45 µm; Q-Max, Nemecko) a následne preniesli do označených vialiek. Takto pripravené vzorky boli analyzované.

Stanovenie obsahu kofeínu a chlorogénových kyselín bolo realizované pomocou vysokoúčinnej kvapalinovej chromatografie (HPLC) podľa metodiky Bobkovej *et al.* (2021). Separácia prebiehala na kolóne C-18 Poroshell 120 (150 mm × 3 mm × 2,7 µm; Agilent Technologies, Waldbronn, Nemecko). Ako mobilné fázy sa použili acetonitril (A) a 0,1 % H_3PO_4 v ddH_2O (v/v) (B). Gradientový elučný program bol nasledovný: 0–1 min izokratická

elúcia (20 % A + 80 % B), 1–5 min (25 % A + 75 % B), 5–15 min (30 % A + 70 % B) a 15–25 min (40 % A + 60 % B), pričom pred každou injektážou nasledovala 3-minútová ekvilibrácia. Prietok mobilnej fázy predstavoval 1 mL·min^{-1}, objem nástreku 10 µL a teplota kolóny 30 °C. Vzorky sa pred analýzou skladovali pri teplote 4 °C. Detekcia prebiehala pri vlnových dĺžkach 276 nm (kofeín) a 320 nm (chlorogénové kyseliny), pričom rozsah zberu dát bol 210–400 nm. Analýzy boli vykonané v štyroch opakovaniach. Obsah kofeínu a CGA bol vyjadrený v mg·g^{-1} sušiny. Obsah CGA bol stanovený ako suma 3-CQA, 4-CQA, 5-CQA, 3,5-diCQA a 4,5-diCQA (ďalej ako CQAs).

Výsledky boli vyhodnotené pomocou základných deskriptívnych štatistických metód, výpočtom priemeru a štandardnej odchýlky. Na posúdenie štatisticky významných rozdielov medzi vzorkami bola použitá jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA) s následným Tukeyho HSD testom. Na porovnanie extraktov kávových zŕn a SCG bol použitý párový t-test. Štatistické analýzy boli realizované v softvéri R (RStudio) a Microsoft Excel ($\alpha = 0,05$).

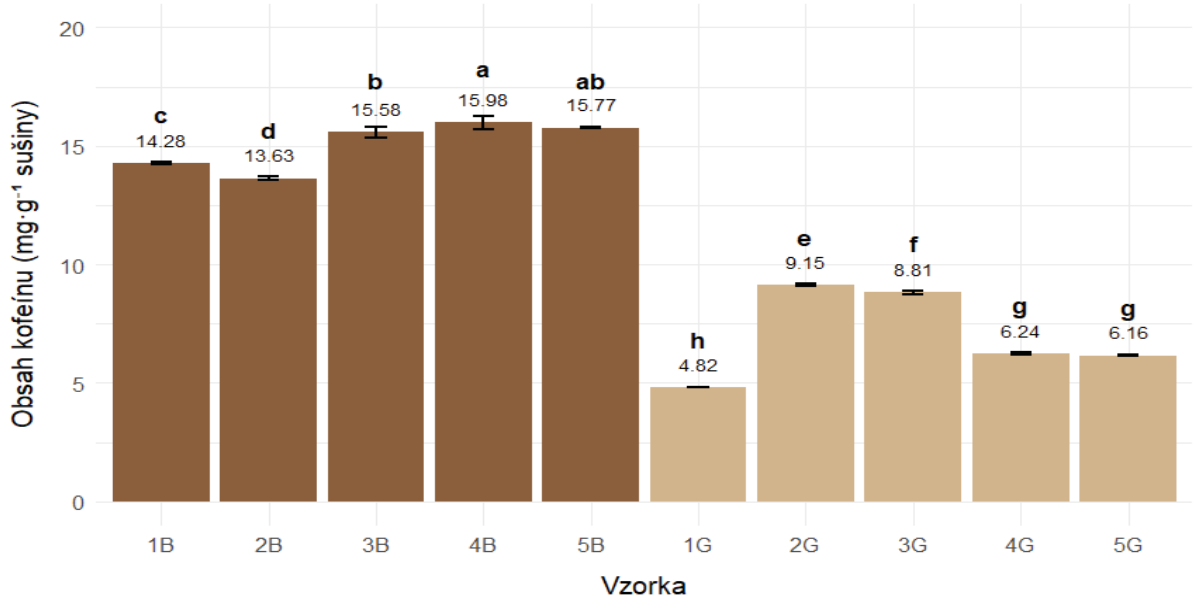
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Namerané hodnoty obsahu kofeínu a chlorogénových kyselín, konkrétne kafeoylchinových kyselín (CQAs; suma 3-CQA, 4-CQA, 5-CQA, 3,5-diCQA a 4,5-diCQA), v analyzovaných vzorkách extraktov z kávy a použitej kávovej usadeniny (SCG) sú uvedené na obrázkoch 1 a 2.

Z uvedených výsledkov vyplýva, že obsah kofeínu bol vo vzorkách kávových extraktov vyšší v porovnaní s príslušnými vzorkami SCG. Najvyššie hodnoty boli zaznamenané vo vzorke 4B (15,98 mg·g^{-1}) a najnižšie vo vzorke 1G (4,82 mg·g^{-1}). Tento trend poukazuje na pokles obsahu kofeínu po extrakcii, čo bolo potvrdené aj štatistickou analýzou. Medzi jednotlivými vzorkami boli zistené štatisticky významné rozdiely na hladine významnosti $\alpha = 0,05$ (ANOVA, Tukeyho test). Porovnaním extraktov kávy a k nim prislúchajúcich SCG bol vo všetkých prípadoch zistený štatisticky významný pokles obsahu kofeínu ($p < 0,001$; párový t-test). Franca a Oliveira (2022) uvádzajú, že koncentrácia kofeínu v SCG je nižšia v porovnaní s kávou v dôsledku jeho dobrej rozpustnosti vo vode, ktorá súvisí s hydrofilnou povahou a schopnosťou vytvárať vodíkové väzby. Napriek tomu časť kofeínu zostáva zachovaná v SCG (Cavanagh *et al.*, 2023; Chatzimitakos *et al.*, 2023; Tavagnacco *et al.*, 2011). Chatzimitakos *et al.* (2023) uvádzajú priemernú hodnotu kofeínu v SCG na úrovni 6,6 mg·g^{-1} a v káve espresso 12,7 mg·g^{-1}. Nami stanovené hodnoty boli mierne vyššie (v SCG 7,04 mg·g^{-1} a v káve 15,05 mg·g^{-1}), čo môže súvisieť s rozdielnym botanickým pôvodom analyzovaných vzoriek, keďže uvedení autori analyzovali kávové zmesi (60 % *C. arabica* a 40 % *C. canephora*). Vplyv druhu kávy na obsah kofeínu potvrdzuje aj štúdia Kalschne *et al.* (2019),

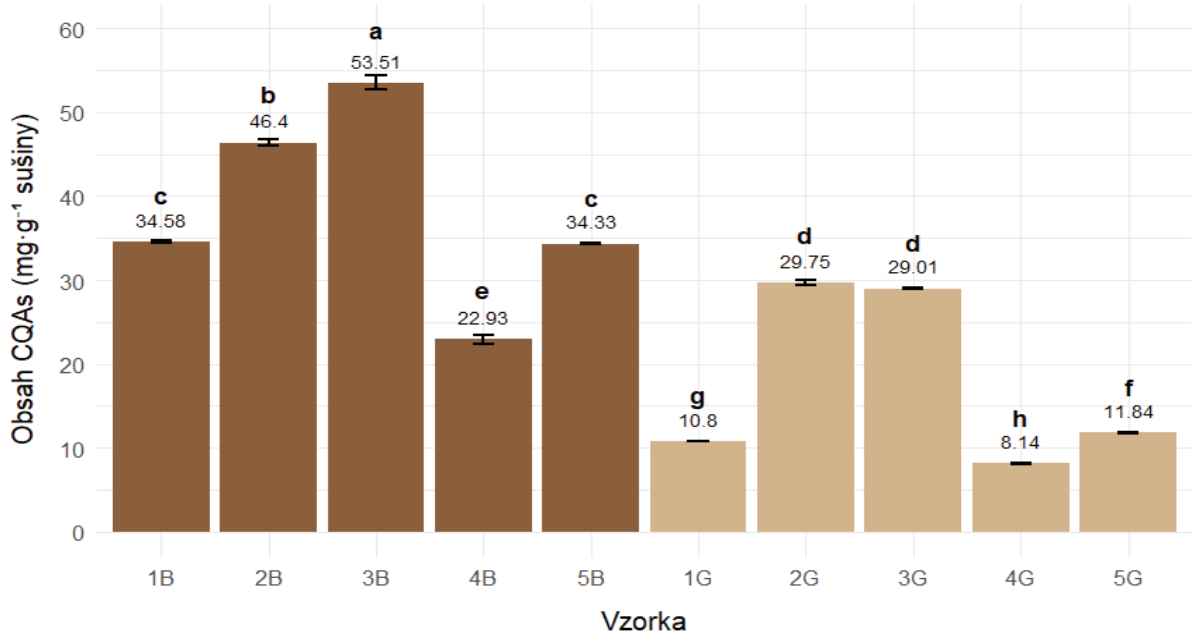
ktorá uvádza, že *C. canephora* sa vyznačuje vyšším obsahom kofeínu než *C. arabica*. Z našich výsledkov vyplýva, že obsah kofeínu v SCG *C. canephora* je porovnateľný s obsahom kofeínu v extraktoch z kávy *C. arabica* uvádzaných v literatúre. Tento fakt naznačuje, že SCG môže predstavovať významný zdroj kofeínu aj po extrakcii. Napríklad Król *et al.* (2020) uvádzajú obsah kofeínu v praženej *C. arabica* na úrovni 6,42 mg·g^{-1} a Jeszka-Skowron *et al.* (2020) 9,68 mg·g^{-1}, čo sú hodnoty porovnateľné s nami analyzovanými vzorkami SCG *C. canephora* (4,82 – 9,15 mg·g^{-1}). Okrem podmienok extrakcie môže obsah kofeínu ovplyvniť aj skladovanie kávy. Niektoré štúdie (Koirala *et al.*, 2025; Lin *et al.*, 2022) poukazujú na pokles jeho koncentrácie v priebehu času, čo môže súvisieť s degradačnými a oxidačnými procesmi.

Obrázok č. 1, Obsah kofeínu v analyzovaných vzorkách extraktov z kávy a SCG



Poznámka: Hodnoty sú vyjadrené ako priemer (n = 4), pričom chybové úsečky predstavujú štandardnú odchýlku. Rôzne písmená nad stĺpcami označujú štatisticky významné rozdiely medzi vzorkami (Tukeyho test, $p < 0,05$). B – extrakty z kávových zŕn; G – extrakty z SCG.

Obrázok č. 2, Obsah CQAs v analyzovaných vzorkách extraktov z kávy a SCG



Poznámka: Hodnoty sú vyjadrené ako priemer (n = 4), pričom chybové úsečky predstavujú štandardnú odchýlku. Rôzne písmená nad stĺpcami označujú štatisticky významné rozdiely medzi vzorkami (Tukeyho test, $p < 0,05$). B – extrakty z kávových zŕn; G – extrakty z SCG.

Získané výsledky preukázali podobný trend ako pri kofeíne a extrakty z kávových zŕn obsahovali vyššie množstvá CQAs v porovnaní s príslušnými vzorkami SCG. Najvyššia koncentrácia bola zaznamenaná vo vzorke 3B (53,51 $mg \cdot g^{-1}$), zatiaľ čo najnižšia vo vzorke 4G (8,14 $mg \cdot g^{-1}$). Štatistické analýzy (ANOVA, Tukeyho test) preukázali významné rozdiely v obsahu CQAs medzi jednotlivými vzorkami ($\alpha = 0,05$). Porovnaním extraktov kávových zŕn a k nim prislúchajúcich vzoriek SCG bol vo všetkých prípadoch zistený štatisticky významný pokles obsahu CQAs po extrakcii, čo potvrdil aj párový t-test ($p < 0,001$). Obsah skúmaných kofeoylchinových kyselín (CQAs) bol vo vzorkách SCG približne o polovicu nižší (8,14 – 29,75 $mg \cdot g^{-1}$) v porovnaní s kávovými extraktmi (22,93 – 53,51 $mg \cdot g^{-1}$). Tento rozdiel je spôsobený najmä vylúhovaním týchto zlúčenín do kávového nápoja počas extrakcie. Belviso *et al.* (2014) zistili, že priemerný obsah celkových CQAs v SCG získanej z kapsulovej kávy *C. arabica* je približne štyrikrát nižší (1,95 $mg \cdot g^{-1}$) ako v káve (8,29 $mg \cdot g^{-1}$). Andrade *et al.* (2022) uvádzajú obsah CQAs v SCG v rozmedzí 1,80 – 5,07 $mg \cdot g^{-1}$. V oboch prípadoch sú tieto hodnoty nižšie v porovnaní s nami stanovenými výsledkami (8,14 – 29,75 $mg \cdot g^{-1}$), čo môže súvisieť s tým, že jednotlivé štúdie zahŕňajú do súčtu CQAs rôzne izoméry týchto kyselín. Okrem toho môže byť rozdiel spôsobený aj odlišným pôvodom a zložením analyzovaných vzoriek, pričom Andrade *et al.* (2022) neuvádzajú konkrétne druhy káv, z ktorých boli SCG získané. Seninde a Chambers (2020) svojimi analýzami potvrdili, že kávové zrná druhu *C.*

canephora majú vo všeobecnosti vyšší obsah CQAs ako *C. arabica*. Na základe našich výsledkov možno konštatovať, že obsah CQAs v niektorých vzorkách SCG bol porovnateľný s hodnotami, ktoré uvádza literatúra pre praženú kávu. Tento výsledok poukazuje na potenciál SCG ako zdroja týchto bioaktívnych zlúčenín aj po extrakcii. Podľa Belviso *et al.* (2014) sa celkový obsah CQAs výrazne znížil v praženej káve v porovnaní so zelenou v dôsledku zvyšujúceho sa stupňa praženia (z 52,87 na 2,09 $mg \cdot g^{-1}$). Naše výsledky stanovené pre vzorky extraktov z pražených káv aj SCG sa nachádzajú v tomto intervale. Badmos *et al.* (2020) stanovili priemerný obsah CQAs na úrovni 21,59 $mg \cdot g^{-1}$, pričom išlo o sumu 3-CQA, 4-CQA a 5-CQA. Tieto hodnoty korešpondujú s hodnotami, ktoré sme stanovili pre vzorky SCG v našej štúdii, avšak v porovnaní s výsledkami kávových extraktov sú nižšie, čo môže byť spôsobené rozdielnym geografickým pôvodom vzoriek, podmienkami skladovania, ale aj rozdielnym rozsahom zahrnutých zlúčenín. Vplyv skladovania na obsah CQAs potvrdzuje štúdia Król *et al.* (2020), ktorá uvádza, že počas dlhšieho skladovania (12 mesiacov) dochádza k výraznému poklesu týchto zlúčenín až na hodnotu 0,02 $mg \cdot g^{-1}$ v dôsledku enzymatickej a neenzymatickej oxidácie, čo potvrdzujú aj výsledky Jeszka-Skowron *et al.* (2023).

ZÁVER

Výsledky tejto štúdie preukázali, že obsah kofeínu a chlorogénových kyselín (CQAs) bol vo všetkých analyzovaných vzorkách vyšší v extraktoch z kávových zŕn 100 % *C. canephora* v porovnaní s príslušnými vzorkami použitej kávovej usadeniny (SCG), čo súvisí s ich extrakciou do kávového nápoja. Napriek tomu SCG obsahuje významné množstvo týchto bioaktívnych zlúčenín, čo poukazuje na jej potenciál ako ich alternatívneho zdroja, ktoré by mohli nájsť uplatnenie v rôznych priemyselných oblastiach. Zhodnocovanie SCG tak predstavuje perspektívny prístup k jej využitiu a môže prispieť k zníženiu environmentálnej záťaže, podpore cirkulárnej ekonomiky a udržateľnosti. Ďalší výskum by sa mal zamerať na optimalizáciu podmienok izolácie a využitia týchto zlúčenín so zreteľom na ich kvalitu a bezpečnosť.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená v rámci projektov VEGA 1/0412/25 a KEGA č. 042SPU-4/2025.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ANDRADE, C. – PERESTRELO, R. – CÂMARA, J. S. Bioactive compounds and antioxidant activity from spent coffee grounds as a powerful approach for its valorization. In *Molecules*. ISSN 1420-3049, 2022, vol. 27.
2. BELVISO, S. et al. Phytochemical and microbiological stability of spent espresso coffee grounds in capsules. In *Food Research International*. ISSN 0963-9969, 2014, vol. 61, p. 93–99.
3. BENINCÁ, D. B. et al. Incorporation of spent coffee grounds in muffins: A promising industrial application. In *Food Chemistry Advances*. ISSN 2772-753X, 2023, vol. 3.
4. BOBKOVÁ, A. et al. Detection of changes in total antioxidant capacity, the content of polyphenols, caffeine, and heavy metals of teas in relation to their origin and fermentation. In *Foods*. ISSN 2304-8158, 2021, vol. 10, no. 8.
5. CAMPUZANO-DUQUE, L. F. et al. Bases for the establishment of Robusta coffee (Coffea canephora) as a new crop for Colombia. In *Agronomy*. ISSN 2073-4395, 2021, vol. 11.
6. CAVANAGH, Q. – BROOKS, M. S. L. – RUPASINGHE, H. P. V. Innovative technologies used to convert spent coffee grounds into new food ingredients: Opportunities, challenges, and prospects. In *Future Foods*. ISSN 2666-8335, 2023, vol. 8.
7. CHATZIMITAKOS, T. et al. Optimized isolation procedure for the extraction of bioactive compounds from spent coffee grounds. In *Applied Sciences*. ISSN 2076-3417, 2023, vol. 13.
8. CROSSLEY, O. P. et al. Phosphorus recovery from process waste water made by the hydrothermal carbonisation of spent coffee grounds. In *Bioresource Technology*. ISSN 0960-8524, 2020, vol. 301.
9. FRANCA, A. S. – OLIVEIRA, L. S. Potential uses of spent coffee grounds in the food industry. In *Foods*. ISSN 2304-8158, 2022, vol. 11, no. 14.
10. GOMES, W. D. S. et al. Exploring the microbiome of coffee plants: Implications for coffee quality and production. In *Food Research International*. ISSN 0963-9969, 2024, vol. 179.
11. IRIONDO-DEHOND, A. et al. Validation of coffee by-products as novel food ingredients. In *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. ISSN 1466-8564, 2019, vol. 51, p. 194–204.
12. JANISSEN, B. – HUYNH, T. Chemical composition and value-adding applications of coffee industry by-products: A review. In *Resources, Conservation and Recycling*. ISSN 0921-3449, 2018, vol. 128, p. 110–117.

13. JESZKA-SKOWRON, M. – FRANKOWSKI, R. – ZGOŁA-GRZEŚKOWIAK, A. Comparison of methylxanthines, trigonelline, nicotinic acid and nicotinamide contents in brews of green and processed Arabica and Robusta coffee beans. In *LWT*. ISSN 0023-6438, 2020, vol. 125.
14. JESZKA-SKOWRON, M. et al. Comprehensive analysis of metabolites in brews prepared from naturally and technologically treated coffee beans. In *Antioxidants*. ISSN 2076-3921, 2023, vol. 12.
15. KALSCHNE, D. L. et al. Sensory characterization and acceptance of coffee brews of C. arabica and C. canephora blended with steamed defective coffee. In *Food Research International*. ISSN 0963-9969, 2019, vol. 124, p. 234–238.
16. KLINGEL, T. et al. A review of coffee by-products including leaf, flower, cherry, husk, silver skin, and spent grounds as novel foods within the European Union. In *Foods*. ISSN 2304-8158, 2020, vol. 9.
17. KOIRALA, S. et al. Caffeine content in Nepalese coffee: Influence of brewing methods and storage time. In *Coffee Science*. ISSN 1980-3818, 2025, vol. 20, p. 1–9.
18. KRÓL, K. et al. The content of polyphenols in coffee beans as roasting, origin and storage effect. In *European Food Research and Technology*. ISSN 1438-2385, 2020, vol. 246, p. 33–39.
19. LIN, Y. H. – HUANG, H. W. – WANG, C. Y. Effects of high pressure-assisted extraction on yield, antioxidant, antimicrobial, and anti-diabetic properties of chlorogenic acid and caffeine extracted from green coffee beans. In *Food and Bioprocess Technology*. ISSN 1935-5130, 2022, vol. 15, p. 1529–1538.
20. LIN, Y. W. et al. Innovative coffee filter cups enhance pour-over coffee quality while providing bioactive benefits – Challenges and opportunities. In *Journal of Agriculture and Food Research*. ISSN 2666-1543, 2024, vol. 15.
21. MEDZINÁRODNÁ ORGANIZÁCIA PRE KÁVU. Public market information [online]. [cit. 2024-01-10]. Dostupné na internete: https://ico.org/resources/public-market-information/.
22. NÚÑEZ, N. et al. Non-targeted HPLC-FLD fingerprinting for the detection and quantitation of adulterated coffee samples by chemometrics. In *Food Control*. ISSN 0956-7135, 2021, vol. 124.
23. OLIVEIRA, G. et al. Coffee by-products and their suitability for developing active food packaging materials. In *Foods*. ISSN 2304-8158, 2021, vol. 10.

24. PINO, A. F. S. – APRAEZ, L. S. C. Artificial intelligence and multispectral imaging in coffee production: A systematic literature review. In *European Journal of Agronomy*. ISSN 1161-0301, 2025, vol. 170.
25. RUTA, L. L. – FARCASANU, I. C. Coffee and yeasts: From flavor to biotechnology. In *Fermentation*. ISSN 2311-5637, 2021, vol. 7, no. 1.
26. SAUD, S. – SALAMATULLAH, A. M. Relationship between the chemical composition and the biological functions of coffee. In *Molecules*. ISSN 1420-3049, 2021, vol. 26.
27. SENINDE, D. R. – CHAMBERS, E. Coffee flavor: A review. In *Beverages*. ISSN 2306-5710, 2020, vol. 6.
28. TAVAGNACCO, L. et al. Molecular dynamics simulation studies of caffeine aggregation in aqueous solution. In *The Journal of Physical Chemistry B*. ISSN 1520-6106, 2011, vol. 115, no. 37, p. 10957–10966.
29. YUSUFOĞLU, B. et al. Bio-recycling of spent coffee grounds: Recent advances and potential applications. In *Current Opinion in Food Science*. ISSN 2214-7993, 2024, vol. 55.

Kontaktná adresa: Švecová Terézia, Institute of Food sciences, Slovak university of agriculture in Nitre, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic. E-mail: xsvecova@uniag.sk

PRAVIDLÁ PRE OZNAČOVANIE ŽIVOČÍŠNYCH A RASTLINNÝCH MLIEČNYCH VÝROBKOV

RULES FOR LABELING ANIMAL AND PLANT-BASED DAIRY PRODUCTS

Takáčová Daniela, Nagyová Alena, Sasáková Naďa, Korim Peter

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

ABSTRACT

Clear and accurate product labelling is essential for protecting consumers in the EU. It is important that they are fully informed about the ingredients in the food and drinks they purchase, enabling them to make informed decisions about their choices. The EU has stringent regulations regarding the term “milk”, which specifically refers to products derived from the mammary glands of mammals. It is crucial to clearly distinguish between these and plant-based alternatives, such as almond milk and soy milk, to prevent any potential misrepresentation to consumers. EU law prohibits commercial practices that are unfair, misleading, or aggressive, which are likely to distort consumers' economic behaviour.

Key words: judikatúra, mlieko, právne predpisy, produkty

ÚVOD

Normatívnym právnym aktom pre označovanie mlieka a mliečnych výrobkov je nariadenie (EÚ) č. 1308/2013. Článok 78 tohto nariadenia výslovne stanovuje, že definície, názvy alebo pokyny na predaj uvedené v prílohe VII k nariadeniu 1308/2013 vrátane etikiet pre mlieko a mliečne výrobky určené na ľudskú spotrebu, sa môžu používať len na obchodovanie s výrobkami v rámci EÚ, ktoré spĺňajú príslušné požiadavky uvedené v prílohe. V súčasnosti neexistuje samostatný právny predpis o označovaní rastlinných produktov, či už na európskej alebo slovenskej úrovni. Európska komisia začala spoluprácu s Európskou vegánskou alianciou na vývoji právnych noriem pre vegetariánske a vegánske potraviny, s cieľom prijať ustanovenia aj o označovaní rastlinných alternatív.

POJEM MLIEKO A MLIEČNE VÝROBKY

Podľa ustanovení prílohy VII časti III bodu 1 nariadenia č. 1308/2013 sa pod pojmom „mlieko“ rozumie výlučne bežná tekutina vylučovaná mliečnou žľazou, ktorá sa získava z jedného alebo viacerých dojení bez toho, aby sa do nej čokoľvek pridalo alebo odobralo.

Pojem mlieko sa môže používať aj pri mlieku spracovanom bez toho, aby sa zmenilo jeho zloženie, alebo pri mlieku, ktorého obsah tuku je normalizovaný (podľa časti IV), alebo v spojení so slovom alebo slovami na označenie druhu, triedy, pôvodu a/alebo zamýšľaného spôsobu použitia takého mlieka alebo na opis fyzikálneho ošetrenia alebo úpravy zloženia, ktorým sa mlieko podrobilo, za predpokladu, že takáto úprava sa obmedzuje na pridanie a/alebo odobratie prirodzených zložiek mlieka.

V bode 2 sú definované „mliečne výrobky“ ako výrobky získané výlučne z mlieka, hoci sa môžu pridať aj iné látky potrebné na ich výrobu, za predpokladu, že sa tieto látky nepoužívajú na úplnú alebo čiastočnú náhradu akejkoľvek mliečnej zložky, pričom výlučne sú vyhradené názvy „smotana“, „maslo“, „cmar“, „syr“, „jogurt“, „kefír“ atď. pre mliečne výrobky vo všetkých fázach uvádzania na trh.

Ďalej sa v bode 3 uvádza, že „mlieko“ a názvy mliečnych výrobkov sa môžu používať aj v spojení so slovom alebo slovami na označenie zložených výrobkov, ktorých žiadna časť sa nepoužíva ani sa neplánuje používať ako náhrada mliečnej zložky, pričom mlieko alebo mliečny výrobok je ich základnou časťou, a to v zmysle množstva alebo charakteristiky daného výrobku. V prípade, že mlieko nepochádza od hovädzieho dobytka, uvádza sa druh zvieraťa, od ktorého mlieko pochádza (bod 4).

Vyhláška MPaRV SR č. 343/2016 Z. z. vo svojich ustanoveniach uvádza, že označovanie mlieka a mliečnych výrobkov v SR podlieha prísnym legislatívnym normám, ktoré garantujú kvalitu a pôvod. Kľúčovým prvkom je oválny symbol (SK OVÁL) s číslom schvaľovacej prevádzkarne, ktorý pri označení SK zaručuje slovenský pôvod. Výrobky musia obsahovať názov, podiel tuku (napr. smotanový >10 %, zloženie a spôsob tepelného ošetrenia (napr. UHT, trvanlivý).

Kľúčové aspekty označovania mliečnych výrobkov:

- **Pôvod (SK OVÁL):** Oválna značka so skratkou SK v hornej časti a číselným kódom mliekarne garantuje, že výrobok bol vyrobený na Slovensku.



Zdroj: https://www.slovenskemlieko.sk/novinky/vieme-urcite-ci-kupujeme-slovensky-mliecny-vyrobok-pomoze-nam-sk-oval

- **Označenie „smotanový“:** Možno použiť len pri výrobkoch s obsahom mliečneho tuku najmenej 10 % alebo najmenej 30 % tuku v sušine.
- **Označenie „tvarohový“:** Tvarohový výrobok musí obsahovať viac ako 50 % tvarohu, pričom beztuková sušina tvarohu musí byť najmenej 16 %.
- **Tepelné ošetrenie:** Na obale musí byť uvedený spôsob ošetrenia (napr. pasterizované, UHT – ultra vysokoteplotne ošetrené, trvanlivé).
- **Zloženie a surovina:** Pri zmesiach z rôznych zvierat sa názov živočíšneho druhu uvádza, ak aspoň 70 % podielu pochádza z danej suroviny.

V zmysle ustanovení zákona č. 152/1995 Z. z. o potravinách v znení nesk. predpisov, Potravinového kódexu a vyhlášky č. 243/2015 Z. z. o požiadavkách na označovanie potravín v odvodenej alebo zdrobnenej forme, čo môže viesť k zámene potraviny s potravinami, ktoré sú definované právnymi predpismi upravujúcimi potraviny, vrátane mlieka a mliečnych výrobkov, čo vylučuje aj označenia ako napr. „Ovsené mlieko“, „Sójová smotana“, atď.

RASTLINNÉ ALTERNATÍVY

Rastlinné alternatívy (ako napríklad mandľové, sójové mlieko) musia byť jasne rozlíšené a nesmú zavádzať spotrebiteľov. Podľa judikatúry Súdneho dvora EÚ (napr. rozsudok vo veci TofuTown z roku 2017) sa názvy ako „mlieko“, „maslo“ či „syr“ nesmú používať na označenie čisto rastlinných produktov. Zákaz platí aj pri použití výrazov ako napr. „sójové mlieko“ alebo „tofu maslo“ – tieto sú neprípustné, aj keď je na obale jasne uvedený rastlinný pôvod. V takýchto prípadoch majú výrobcovia používať opis ako „nápoj“ (napr. mandľový nápoj). V rámci EÚ existuje zoznam tradičných výnimiek, ktoré sa môžu naďalej používať, napríklad kokosové mlieko, arašidové maslo či kakaové maslo. Výnimka pre „kokosové mlieko“ sa vzťahuje na tradičný produkt (extrakt z dužiny), nie na moderné rastlinné náhrady kravského mlieka na báze kokosu. Žiadny iný rastlinný nápoj, ako napríklad sójový, makový, mandľový, ovsený, pohánkový atď., nemožno označovať ako mlieko.



Zdroj:https://www.foodland.sk/sojove-mlieko/?srsltid=AfmBOoqbYvM-SeomTZrD4byEO4NTHFAnQPdUzoeSX ByibIyRfPna5H3l

Súdny dvor EÚ v roku 2024 potvrdil, že členské štáty nemôžu plošne zakázať používanie týchto názvov, ak neexistuje oficiálny zákonný názov pre daný rastlinný výrobok.

Právna výnimka pre názov „kokosové mlieko“ a ďalšie podobné produkty (v SR napr. masliak, maslová haluška, fazuľa maslová, pečeňový syr, vtáčie mlieko) je zakotvená v Rozhodnutí Komisie 2010/791/EÚ. Táto úprava umožňuje používať tradičné mliečne názvy pre výrobky, ktorých presná povaha je jasná z tradičného používania alebo ak sa označenie používa na opis charakteristickej vlastnosti výrobku. Hoci je zoznam v rozhodnutí rozdelený podľa jazykov, vďaka princípu jednotného trhu sú tieto výnimky akceptované v rámci EÚ.

Vzhľadom k tomu, že rastlinné alternatívy nemajú právne ustanovený názov, takéto produkty sú na trhu krátko, odporúča sa pomenovať ich podľa obsahu zložky, ktorá je hlavná – napríklad „kokosový dezert“, „sójový mliečny dezert“ (napr. rastlinná alternatíva jogurtu), „probiotický mandľový nápoj“ (napr. rastlinná alternatíva jogurtu a mlieka kefír) a „ovsený nápoj“ (napr. rastlinná alternatíva mlieka) (Dvořáková a Málek 2023). Označovanie rastlinných produktov názvami vyhradenými pre mlieko a mliečne výrobky môže viesť k sankciám podľa zákona č. 108/2024 Z. z. o ochrane spotrebiteľa a o zmene a doplnení niektorých zákonov ako aj v zmysle ustanovení zákona o reklame a o zmene a doplnení niektorých zákonov č. 147/2001 Z. z.

ZÁVER

Na základe uvedených ustanovení nariadenia č. 1308/2013 a interpretácie Súdneho dvora EÚ vyplýva, že nie je prípustné používať označenia pre mliečne produkty v kontexte uvedenej právnej úpravy pre označovanie rastlinných produktov. Označovanie takýchto potravín sa musí riadiť aj všeobecnými právnymi predpismi, a to nariadením Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 1169/2011 z 25. októbra 2011 o poskytovaní informácií o potravinách spotrebiteľom do doby, kým nebudú prijaté osobitné právne predpisy. Týmto nariadením sú ustanovené aj všeobecné zásady, požiadavky a zodpovednosti, ktoré sa vzťahujú na informácie o potravinách, a najmä čo sa týka označovania potravín. Ustanovujú sa ním prostriedky, ktoré zaručujú právo spotrebiteľov na informácie, a postupy poskytovania informácií o potravinách so zreteľom na potrebu zabezpečiť dostatočne pružné reagovanie na budúci vývoj a nové požiadavky na informácie. Informácie o potravinách by nemali byť zavádzajúce, klamlivé ani nesprávne, obzvlášť v prípade, že ide o charakteristiky výrobku, jeho účinky alebo vlastnosti.

Aby sa predišlo postihom v prípade zistení porušenia právnych úprav a aby sa čo najviac zabránilo klamaniu spotrebiteľa zo strany prevádzkovateľov potravinárskeho sektoru, je nevyhnutné odporučiť dôsledné dodržiavanie platných a účinných normatívnych právnych aktov a odporúčaní od kompetentných orgánov, ako aj zosúladiť označovanie rastlinných produktov s príslušnými normami.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. 2010/791/EÚ: Rozhodnutie Komisie z 20. decembra 2010 obsahujúce zoznam výrobkov uvedených v bode III ods. 1 druhom pododseku prílohy XII k nariadeniu Rady (ES) č. 1234/2007 (prepracované znenie) [oznámené pod číslom K(2010) 8434]. *Ú. v. EÚ L 336,* 21.12.2010, s. 55-59
2. DVOŘÁKOVÁ, T., MÁLEK, J.: Sometimes illegal labelling of alternative products of plant origin. [online]. 2023, [cit. 2026-02-09]. Dostupné na internete: <https://www.peytonlegal.cz/en/labelling-of-plant-products/>
3. Judikatúra Súdneho dvora EÚ vo veci C 422/16 Verband So-zialer Wettbewert eV proti TofuTown.com GmbH. *Ú. v. EÚ C 277/18,* 21.8.2017, s. 18
4. POTRAVINOVÝ KÓDEX. Vestník MP SR (2002), čiastka 24, roč. XXXIV
5. 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 *Ú. v. EÚ L 304,* 22.11.2011, s. 18-63
6. NARIADENIE EP a R (EÚ) č. 1308/2013, ktorým sa vytvára spoločná organizácia trhov s poľnohospodárskymi výrobkami, a ktorým sa zrušujú nariadenia Rady (EHS) č. 922/72, (EHS) č. 234/79, (ES) č. 1037/2001 a (ES) č. 1234/2007. *Ú. v. EÚ L 347,* 20.12.2013, s. 671-854
7. VYHLÁŠKA č. 243/2015 Z. z. Vyhláška Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky o požiadavkách na označovanie potravín v znení nesk. predpisov. Zbierka zákonov, čiastka 71/2015
8. VYHLÁŠKA č. 343/2016 Z. z. Vyhláška Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky o niektorých výrobkoch z mlieka. ZZ_2016_343_20170401
9. ZÁKON č. 108/2024 Z. z. o ochrane spotrebiteľa a o zmene a doplnení niektorých zákonov. ZZ_2024_108
10. ZÁKON č. 147/2001 Z. z. o reklame a o zmene a doplnení niektorých zákonov. Zbierka zákonov, čiastka 62/2001

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

MASTITÍDA: PREDSTAVUJÚ DOJACIE ZARIADENIA RIZIKO?

MASTITIS: DO MILKING MACHINES POSE A RISK?

Teleky Jana[1] , Hajdučková Vanda[2], Király Ján[2], Hudecová Patrícia[2], Pilipčinec Emil[2]

[1]Katedra morfologických disciplín,[2]Katedra mikrobiológie a imunológie

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

ABSTRACT

Mastitis in dairy cows is a significant health and economic problem in livestock farming. Staphylococci are among the common causative agents of this disease. These microorganisms are able to form a biofilm, which increases their virulence and contributes to higher resistance to antimicrobial agents. Of the total number of milk samples collected from dairy cows with subclinical mastitis (n = 29), 46 isolates of coagulase-negative staphylococci (CoNS) were identified by culture, microscopy and biochemical methods. Of the total number of samples collected from swabs from milking equipment (n = 24), 33 isolates of CoNS were identified. All CoNS isolates isolated from dairy cow milk were tested for biofilm formation using a modified method according to O'Toole (1999). The obtained results indicate the importance of CoNS in the etiology of subclinical mastitis in dairy cows and at the same time indicate the possible role of milking technique in the transmission of microorganisms during the milking process. The results of the work emphasize the importance of adhering to hygiene measures during milking and regular sanitation of milking equipment in ensuring the microbiological quality of milk.

Key words: mastitis, dairy cow, staphylococci, biofilm

ÚVOD

Mastitída je zápalová reakcia tkaniva mliečnej žľazy a patrí medzi polyfaktoriálne ochorenie, na ktorom sa podieľa imunologický mechanizmus dojnice, vplyvy vonkajšieho prostredia a senzibilita mliečnej žľazy. Mnohé faktory, vrátane genetických, environmentálnych, manažérskych a mikrobiologických, prispievajú k vzniku a šíreniu tohto ochorenia. Okrem negatívneho vplyvu na zdravie a pohodu zvierat, mastitída zvyšuje náklady na veterinárnu starostlivosť a znižuje produkciu mlieka (Girma a Tamir 2022). Na vzniku infekčných mastitíd sa podieľajú rôzne druhy mikroorganizmov, medzi hlavné kontagiózne patogény patria *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* a *S. uberis*, zatiaľ čo

z environmentálnych pôvodcov sa najčastejšie izolujú *S. dysgalactiae*, *Escherichia coli* a *Klebsiella pneumoniae.* (Sharif a kol. 2009). Významnú skupinu tvoria aj koaguláza-negatívne stafylokoky (CoNS), bežne sa vyskytujúce na koži vemena, najmä *Staphylococcus chromogenes, S. simulans, S. xylosus, S. haemolyticus, S. warneri* a *S. epidermidis.* Hoci mastitídy vyvolané týmito patogénmi mávajú často mierny klinický priebeh, ich dlhodobé pôsobenie vedie k ekonomickým stratám v dôsledku poklesu dojivosti a zvýšenia počtu somatických buniek (PSB), či celkového počtu mikroorganizmov (CPM) (Dolešová 2019). Včasná identifikácia patogéna a vhodná liečba sú preto rozhodujúce pre obnovenie fyziologickej funkcie mliečnej žľazy a zabránenie trvalého poklesu produkcie mlieka (Algharib a kol. 2024). Okrem liečby mastitídy sú dôležité aj zmeny v manažmente dojníc, ako napríklad vylepšené hygienické postupy, zmeny v strave, lepšia ventiláciu a zlepšené podmienky života pre dojnice, čo môže prispieť k celkovému zlepšeniu zdravia zvierat a zníženiu výskytu mastitídy.

Kontagiózne baktérie, ktoré spôsobujú mastitídu, sa prenášajú z infikovaných na zdravé dojnice, najčastejšie počas procesu dojenia. Prenos môže prebiehať prostredníctvom kontaminovaných rúk, ručníkov alebo dojacích strojov, ktoré slúžia ako rezervoáre patogénnych mikroorganizmov. Hygienické opatrenia počas dojenia významne prispievajú k zníženiu výskytu kontagióznej formy mastitídy. Pre dosiahnutie optimálnych výsledkov v chove dobytka je preto nevyhnutné zamerať sa na podporu uvoľňovania mlieka prostredníctvom správnych a konzistentných postupov pri nasadzovaní dojných nástavcov. Rovnako je dôležité vedieť identifikovať abnormálne mlieko u kráv, čo je kľúčové pre prevenciu infekcií a zabezpečenie kvalitného mlieka. Nástavce je potrebné nasadzovať výlučne na čisté a suché struky, čím sa minimalizuje riziko kontaminácie. Rovnako je potrebné implementovať efektívne hygienické postupy, ktoré zahŕňajú dôkladné umývanie a dezinfekciu strukov pred dojením, ako aj správnu metódu odstraňovania nástavcov, ktorá zabraňuje poškodeniu strukov a nadmernému dojeniu, čím sa predchádza ďalším zdravotným problémom dobytka (DairyNZ 2023).

MATERIÁL A METODIKA

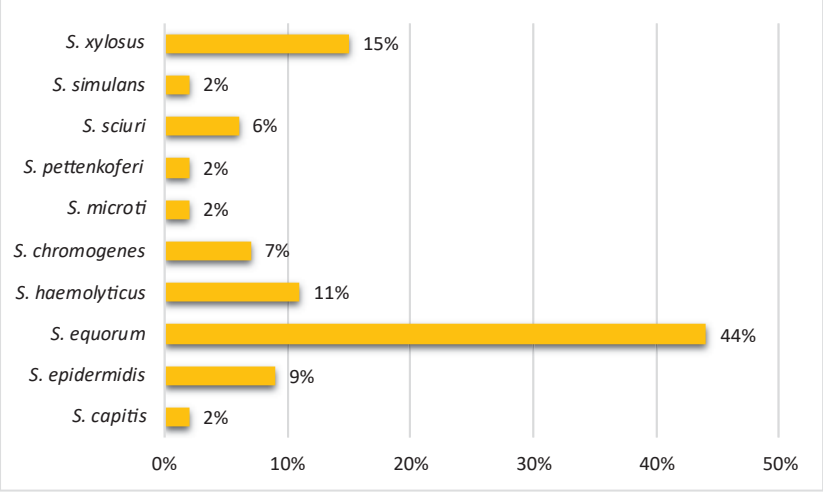
Vzorky mlieka získané od dojníc so subklinickou formou mastitídy a vzorky sterov z dojacích zariadení boli vyšetrené kultivačne na vopred pripravené kultivačné médiá určené na izoláciu stafylokokov – Baird-Parker agar a Manitol slaný agar a kultivované 24 hodín pri 37 °C. Na základe posúdenia vzhľadu kolónií, lecitinázovej aktivity a fermentácie manitolu boli všetky stafylokoky identifikované mikroskopicky a biochemicky základnými biochemickými testami (kataláza, oxidáza, koaguláza) a využitím komerčnej biochemickej súpravy

STAPHYtest 24 určenej na druhovú identifikáciu stafylokokov. Presnejšia identifikácia jednotlivých izolátov stafylokokov bola vykonaná prostredníctvom MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics 2011). U všetkých identifikovaných CoNS bola testovaná schopnosť tvorby biofilmu modifikovanou metódou podľa O' Toole (1999). Mikrotitračné platničky s bakteriálnou suspenziou pripravenou vo fyziologickom roztoku a modifikovaným BHI médiom (37 g BHI, 20 g NaCl, 10 g glukózy/l) boli inkubované 24 hodín pri 37 °C. Po odstránení nenaviazaných buniek bol biofilm ofarbený 0,1 % roztokom kryštálovej violete. Následne bolo farbivo rozpustené 30 % kyselinou octovou a absorbancia bola meraná použitím prístroja SYNERGY READER 2 (BioTek, Merck, SRN) pri 550 nm. Schopnosť produkcie biofilmu bola vyhodnotená podľa Stepanović et al. (2007), ako negatívna kontrola bol použitý *S. epidermidis* CCM 4418. Dosiahnuté výsledky boli vyhodnotené pomocou štatistického programu Prism 8.3.0 použitím jednosmernej ANOVA – Dunettov test.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Celkový počet odobratých vzoriek mlieka od dojníc s pozitívnym NK testom bol 29. Kultivačne, mikroskopicky a biochemicky boli identifikované CoNS (n = 46) (Graf č. 1). CoNS sú prirodzenou súčasťou mikrobioty kože a slizníc, no za určitých podmienok môžu kolonizovať mliečnu žľazu a spôsobiť intramamárnu infekciu vo forme subklinickej mastitídy (Taponen at al. 2017). Dominancia CoNS zistená v tejto práci je v súlade s výsledkami viacerých zahraničných štúdií. Podľa Dego (2024) predstavujú CoNS významnú skupinu mikroorganizmov podieľajúcich sa na etiológii subklinickej mastitídy a v niektorých chovoch môžu tvoriť viac než 60 – 70 % všetkých izolátov z mlieka dojníc. Medzi najčastejšie identifikované druhy patria najmä *S. chromogenes, S. haemolyticus, S. epidermidis* a *S. simulans*.

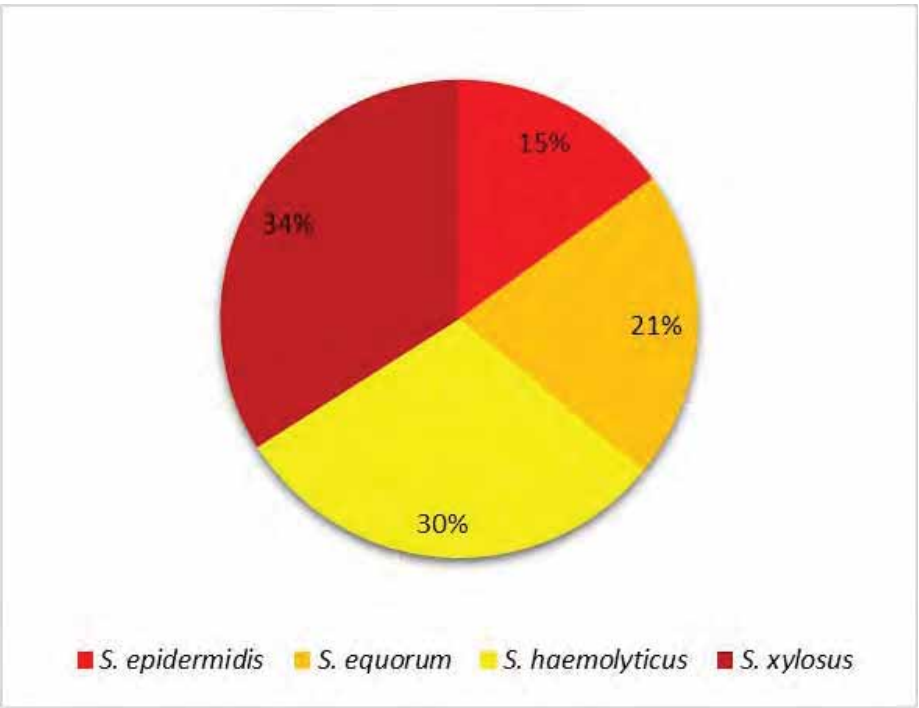
Graf č. 1, Druhové zastúpenie CoNS z mlieka dojníc



De Visscher a kol. (2017) vo svojej štúdii uvádzajú, že koaguláza-negatívne stafylokoky boli prítomné približne v 90 % analyzovaných vzoriek mlieka, pričom medzi dominantné druhy patril *S. equorum*, nasledovaný druhmi *S. haemolyticus* a *S. epidermidis*. Tieto výsledky sú čiastočne porovnateľné s našimi zisteniami, kde *S. equorum* predstavoval najvýznamnejší druh stafylokokov izolovaných z mlieka dojníc. Naše výsledky sú s týmito zisteniami v súlade, keďže v analyzovaných 29 vzorkách mlieka dojníc so subklinickou mastitídou sme identifikovali 46 izolátov z toho 10 rôznych druhov.

Z celkového počtu vzoriek sterov z dojacích zariadení (n = 24) bolo potvrdených základnými mikrobiologickými metódami 33 izolátov CoNS (Graf č. 2). Druhové zastúpenie izolátov stafylokokov poukazuje na rozdielnu frekvenciu výskytu jednotlivých zástupcov stafylokokov na povrchu násadcov, ktoré prichádzajú do priameho kontaktu so strukovou časťou vemena počas procesu dojenia. Najvyšší výskyt bol zaznamenaný u druhu *S. xylosus*, ktorý bol potvrdený v 11 prípadoch, čo predstavuje približne 33,3 % z celkového počtu identifikovaných stafylokokov. Tento druh je často súčasťou mikrobioty kože zvierat a prostredia, čo môže poukazovať na jeho prenos počas procesu dojenia alebo na kontamináciu povrchov dojacieho zariadenia. Výskyt rovnakých druhov stafylokokov v mlieku aj na povrchu dojacej techniky naznačuje možnú epidemiologickú súvislosť medzi kontamináciou dojacieho zariadenia a prenosom mikroorganizmov počas procesu dojenia. Podobné zistenia uvádzajú aj De Visscher a kol. (2014), ktorí poukazujú na prítomnosť CoNS na povrchu dojacej techniky a ich potenciálnu úlohu pri šírení infekcií medzi dojnicami.

Graf č. 2, Druhové zastúpenie CoNS z izolovaných zo sterov z dojacích zariadení



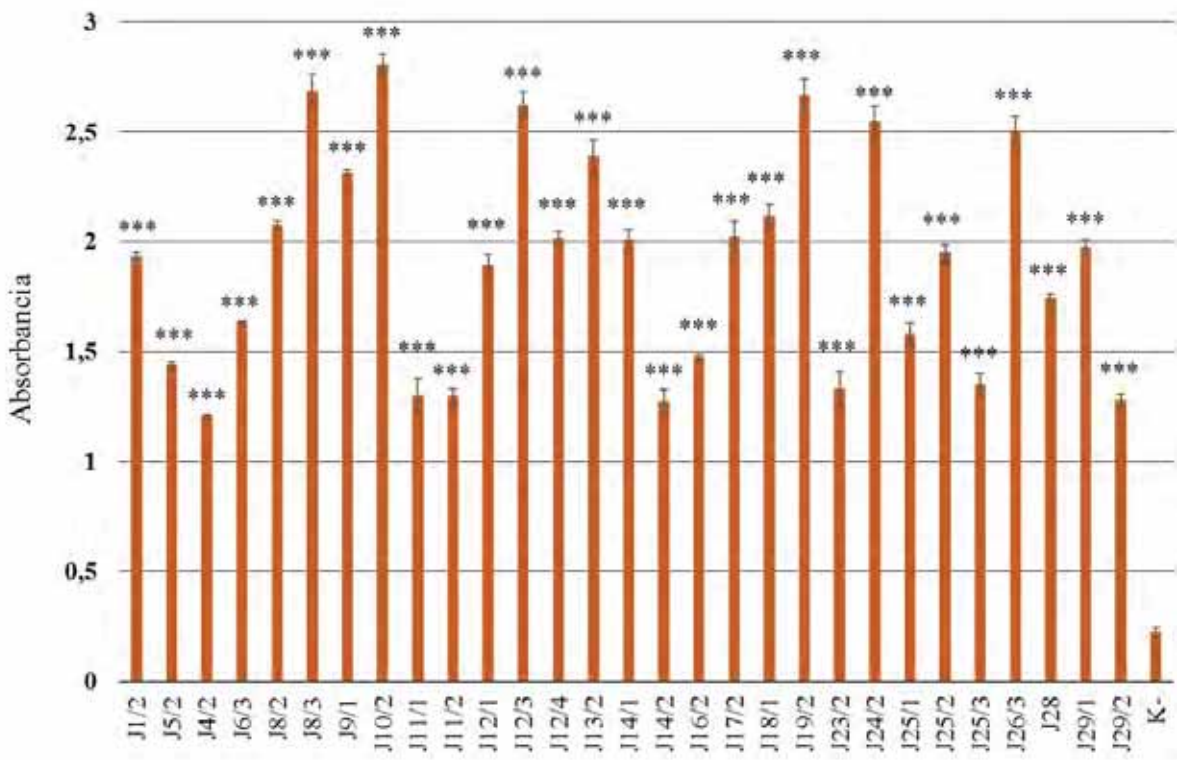
Dôležitým faktorom patogenity stafylokokov je aj schopnosť tvorby biofilmu, ktorá zvyšuje odolnosť baktérií voči antibiotikám a umožňuje im unikať imunitnej odpovedi hostiteľa. De Buck et al. (2021) vo svojej práci uvádza, že 60 – 80 % izolátov je schopných tvoriť biofilm. Iné práce uvádzajú odlišné výsledky, napríklad 96,7 % biofilm-produkujúcich CoNS (ZHU et al. 2026) alebo približne 31,3 % izolátov (Simojoki et al. 2012), čo môže súvisieť s použitými metodikami a kultivačnými médiami. U všetkých identifikovaných CoNS izolovaných z mlieka dojníc bola testovaná schopnosť tvorby biofilmu. Intenzita biofilmu bola stanovená spektrofotometricky na základe hodnôt absorbancie meraných pri vlnovej dĺžke 550 nm. Na základe optickej denzity boli kmene klasifikované podľa kritérií Stepanović et al. (2007) (Tabuľka č. 1).

Tabuľka č. 1, Hodnotenie tvorby biofilmu

TVORBA BIOFILMU	HODNOTA OPTICKEJ DENZITY
netvoriace biofilm	< 0,28833
slabo tvoriace biofilm	0,28834 − 0,57666
stredne tvoriace biofilm	0,57667 − 1,15332
silne tvoriace biofilm	> 1,15333

Na základe posúdenia hodnôt absorbancie zo 46 izolátov CoNS pochádzajúcich z mlieka dojníc bolo 29 vyhodnotených ako silní producenti biofilmu. Do skupiny silných producentov biofilmu patrili predovšetkým izoláty druhu *S. equorum* (J1/2, J6/3, J8/1, J10/2, J11/1, J12/1, J12/3, J12/4, J13/2, J14/2, J14/3, J16/2, J17/2, J19/2, J23/2, J24/2, J25/1, J29/2), ktoré zároveň predstavovali najpočetnejšie zastúpený druh. Výrazná schopnosť tvorby biofilmu bola zaznamenaná aj u izolátov druhov *S. xylosus* (J8/2, J8/3, J11/2, J12/2, J18/1, J25/2) a *S. haemolyticus* (J5/2, J9/1, J17/3, J26/3). Výsledky hodnotenia schopnosti tvorby biofilmu preukázali, že prevažná časť izolovaných kmeňov vykazovala výraznú schopnosť adherencie a tvorby biofilmovej matrice. Menšia časť izolátov sa vyznačovala strednou intenzitou a len ojedinele boli zaznamenané kmene s nízkou biofilmovou aktivitou. Dominantné postavenie mali najmä izoláty *S. equorum*, pričom zvýšená schopnosť tvorby biofilmu bola pozorovaná aj u druhov *S. xylosus*, *S. haemolyticus* a *S. epidermidis*. Podobné zistenia uvádzajú Stepanović a kol. (2007), ktorí poukazujú na význam biofilmu ako významného virulenčného faktora stafylokokov, umožňujúceho ich prežívanie na povrchoch a zvýšenú toleranciu voči antimikrobiálnym látkam. Tieto poznatky podporujú predpoklad, že schopnosť tvorby biofilmu môže zohrávať významnú úlohu pri kontaminácii dojacej techniky a následnom prenose mikroorganizmov medzi zvieratami.

Graf č. 2, Biofilmová aktivita CoNS izolovaných z mlieka dojníc



*** $p < 0,001$

K- *Staphylococcus epidermidis* CCM 4418

ZÁVER

Bovinné mastitídy patria ku globálne rozšíreným infekčným ochoreniam s významne negatívnym dopadom na ekonomiku chovu mliečneho dobytka. Okrem samotného ochorenia mliečnej žľazy sú mastitídy príčinou zníženej produkcie mlieka a jeho kvality, porúch reprodukcie a v určitých prípadoch aj fatálnych systémových ochorení. Cieľom práce bolo zistiť druhové zastúpenie stafylokokov v zmesných vzorkách surového mlieka od dojníc so subklinickou formou mastitídy a zároveň posúdiť výskyt stafylokokov na násadcoch dojacích zariadení ako potenciálnom zdroji kontaminácie počas procesu dojenia. Súčasťou práce bolo aj sledovanie schopnosti izolovaných stafylokokov tvoriť biofilm, ktorý predstavuje významný faktor ich perzistencie v prostredí chovu a na povrchu technických zariadení. Zo 46 vyšetrených vzoriek mlieka bolo identifikovaných 29 izolátov CoNS. Najviac zastúpeným druhom bol *S. equorum*. Izoláty CoNS získané zo sterov z dojacích zariadení sa do značnej miery zhodovali z druhmi izolovanými z mlieka, čo poukazuje na možnú epidemiologickú súvislosť medzi kontamináciou dojacej techniky a prenosom mikroorganizmov počas procesu dojenia. Súčasťou práce bolo aj hodnotenie schopnosti tvorby biofilmu u izolovaných stafylokokov. Získané výsledky poukázali na to, že prevažná časť izolátov vykazovala vysokú mieru tvorby biofilmu, zatiaľ čo menší podiel bol charakteristický strednou intenzitou a len ojedinele sa

vyskytli kmene s nízkou biofilmovou aktivitou. Výrazná schopnosť tvorby biofilmu bola zaznamenaná najmä u druhu *Staphylococcus equorum*, ale aj u druhov *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus haemolyticus* a *Staphylococcus epidermidis*. Na základe získaných výsledkov možno konštatovať, že koaguláza-negatívne stafylokoky predstavujú významnú skupinu mikroorganizmov podieľajúcich sa na mikrobiologickej etiológii subklinickej mastitídy u dojníc. Súčasne ich výskyt na násadcoch dojacích zariadení poukazuje na význam hygienických opatrení počas procesu dojenia a na potrebu pravidelnej sanitácie dojacej techniky. Dodržiavanie správnej hygienickej praxe pri dojení a monitorovanie mikrobiologickej kvality mlieka môžu významne prispieť k prevencii šírenia mastitíd v chovoch dojníc.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená projektom APVV-23-0488 a KEGA 005UVLF-4/2026.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ALGHARIB, S. A., DAWOOD, A. S., HUANG, L., GUO, A., ZHAO, G., ZHOU, K., LI, C., LIU, J., GAO, X., LUO, W., XIE, S. Basic concepts, recent advances, and future perspectives in the diagnosis of bovine mastitis. In *Journal of Veterinary Science* [online]. 2024, vol. 25, no. 1, e18 [cit. 2025-11-11]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.4142/jvs.23147>. ISSN 1229-845X.
2. DAIRYNZ. *Contagious mastitis* [online]. 2023 [cit. 2026-03-04]. Dostupné na internete: <https://www.dairynz.co.nz/animal/mastitis/contagious-mastitis/>.
3. DEGO, O. K., VIDLUND, J. Staphylococcal mastitis in dairy cows. In *Frontiers in Veterinary Science*, Review article. Sec. Veterinary Infectious Diseases [online]. 2024, vol. 11, 1356259 [cit. 2026-01-08]. Dostupné na internete: <https://www.frontiersin.org/journals/veterinary-science/articles/10.3389/fvets.2024.1356259/full>. ISSN 2297-1769.
4. DE VISSCHER, A., PIEPERS, S., HAESEBROUCK, F., SUPRÉ, K., DE VLIEGHER, S. Coagulase-negative *Staphylococcus* species in bulk milk: Prevalence, distribution, and associated subgroup - and species-specific risk factors. In *Journal of Dairy Science* [online]. 2017, vol. 100, no. 1, s. 629–642 [cit. 2026-03-01]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11476>. ISSN 0022-0302.
5. DE BUCK, J. et al. Non-aureus Staphylococci and Bovine Udder Health: Current Understanding and Knowledge Gaps. In *Frontiers in Veterinary Science* [online]. 2021, vol. 8, article 658031 [cit. 2026-02-20]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33937379/>. ISSN 2297-1769.

6. DOLEŠOVÁ, P. Mastitídy dojníc: etiológia a výskyt v chovoch. In *Roľnícke noviny* [online]. 2019 [cit. 2026-02-12]. Dostupné na internete: <https://rno.sk/mastitidy-dojnic-etiologia-a-vyskyt-v-ch>.
7. GIRMA, A. - TAMIR, D. Prevalence of Bovine Mastitis and Its Associated Risk Factors among Dairy Cows in Ethiopia during 2005–2022: A Systematic Review and Meta-Analysis. In *Veterinary Medicine International* [online]. 2022, vol. 2022, art. no. 7775197, [cit. 2025-10-04]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36164492/>. ISSN 2042-7670.
8. O'TOOLE, G. A. et al. Genetic approaches to study of biofilms. Methods Enzymol., 1999, vol. 310, s. 91–109, doi: 10.1016/s0076-6879(99)10008-9.
9. SHARIF, A., CHHALGARI, M. U., MUHAMMAD, G. Mastitis control in dairy production. In *Journal of Agricultural and Social Sciences* [online]. 2009, vol. 5, no. 3 [cit. 2026-02-05]. Dostupné na internete: <https://www.researchgate.net/publication/228628180_Mastitis_control_in_dairy_production>. ISSN 1813-2235.
10. SIMOJOKI, H. et al. Is the biofilm formation and slime producing ability of coagulase-negative staphylococci associated with the persistence and severity of intramammary infection? In *Veterinary Microbiology* [online]. 2012, roč. 158, č. 3–4, s. 344–352 [cit. 2026-03-07]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22424866/>. ISSN 0378-1135.
11. STEPANOVIĆ, S. et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. In *APMIS* [online]. 2007, roč. 115, č. 8, s. 891–899 [cit. 2026-03-06]. Dostupné na internete: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17696944/. ISSN 1600-0463.
12. TAPONEN, S. et al. Factors associated with intramammary infection in dairy cows caused by coagulase-negative staphylococci, *Staphylococcus aureus, Streptococcus uberis, Streptococcus dysgalactiae, Corynebacterium bovis,* or *Escherichia coli*. In *Journal of Dairy Science* [online]. 2017, vol. 100, no. 1, s. 493–503 [cit. 2026-02-20]. Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28341052/>. ISSN 0022-0302.
13. ZHU, S. et al. Pathogenesis of bovine mastitis and influence of the gut microbiota: a review. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2026. [cit. 2026-02-11]. (print), ISSN 1520-5118 (online). Dostupné na internete: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/41616125/>. ISSN 0021-856.

Kontaktná adresa: Teleky Jana, MVDr., PhD., Department of Morphological Disciplines, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic. E-mail: jana.teleky@uvlf.sk

HYGIENICKÉ ODVODNENIE SUŠIARNE ŠKROBU: CASE STUDY ZÁVODU TATE & LYLE, BOLERÁZ (2025)

HYGIENIC DRAINAGE IN A STARCH DRYING FACILITY: A CASE STUDY OF TATE & LYLE, BOLERÁZ (2025)

Valo Michal, Svitana Juraj

ACO Stavebné prvky, s.r.o. Fraňa Kráľa 35, 81105 Slovenská republika

ABSTRACT

Pri výrobe škrobu a škrobových derivátov predstavuje kontrola procesných kvapalín a mikrobiologickej hygieny kľúčový faktor bezpečnej produkcie. Príspevok sa zaoberá významom hygienického odvodnenia podláh a výrobných plôch v novorealizovanej sušiarni škrobu závodu Tate & Lyle v Boleráze (2025). Dôraz je kladený na princípy hygienického dizajnu odvodňovacích systémov a ich vplyv na minimalizáciu rizika kontaminácie produktov, zlepšenie čistiteľnosti a zvýšenie prevádzkovej efektivity. Ako príklad je prezentované riešenie dodané spoločnosťou ACO — hygienické nerezové krabicové a štrbinové odvodnenie, ktoré podporujú splnenie požiadaviek hygienických noriem a umožňujú jednoduché čistenie bez stagnácie kvapalín. Diskutované sú prínosy týchto systémov, vrátane zníženia mikrobiologického zaťaženia, urýchlenia čistiacich procesov a zníženia nákladov na sanitáciu. Príspevok potvrdzuje, že efektívne hygienické odvodnenie je determinujúcou súčasťou bezpečnej a udržateľnej potravinárskej výroby.

1. Význam hygienického odvodnenia v potravinárskych prevádzkach

V potravinárskych prevádzkach, akou je sušiareň škrobu v závode Tate & Lyle v Boleráze, je **odvodnenie podláh a výrobných plôch kľúčovou súčasťou hygienickej koncepcie celého závodu**. Pri výrobe škrobu a škrobových derivátov vznikajú na podlahe rôzne kvapaliny — procesné kvapaliny, kondenzáty zo sušenia, umývacie roztoky alebo náhodné úniky materiálu. Pokiaľ tieto kvapaliny nie sú efektívne odvádzané, hrozí:

- **pretrvávanie stojatej vody**, ktorá môže pôsobiť ako mikrobiálny rezervoár
- **riziko kontaminácie produktu mikroorganizmami** (napr. Listeria monocytogenes, Salmonella spp.)
- **degradácia povrchov podlahových materiálov, zvýšené riziko pošmyknutia a pracovných úrazov**
- **zníženie účinnosti umývania a sanitácie** výrobných priestorov.

Hygienické odvodnenie nie je teda len otázkou odvedenia vody, ale **integrálnym prvkom bezpečnej prevádzky potravinárskej výroby**. Podporuje kontrolu mikrobiologického rizika, optimálnu hygienu výrobných plôch a súčinnosť s čistiacimi režimami (CIP/SIP).

2. Princípy hygienického dizajnu odvodnenia

Pre vysokú hygienickú úroveň musí byť odvodňovacie riešenie navrhnuté tak, aby:

- **minimalizovalo skryté dutiny, škáry a ostré hrany**, ktoré môžu zadržiavať nečistoty a baktérie,
- **umožnilo kompletné a rýchle mechanické aj chemické čistenie** bez náročnej demontáže prvkov,
- **zabezpečovalo úplný odtok bez stagnácie kvapalín** a tým eliminovalo **podmienky pre rast mikroorganizmov,**
- **bolo vyrobené z materiálov odolných voči korózii a sanitácii**, typicky z nehrdzavejúcej ocele triedy 304/316.

Tieto zásady sú základom hygienického prístupu **HygieneFirst**, ktorý spoločnosť ACO aplikuje na hygienické drenážne riešenia určené pre potravinársky priemysel. Takéto produkty sú konštruované s dôrazom na čistiteľnosť, hygienickú bezpečnosť a minimalizáciu rizika mikrobiálnej kontaminácie.



Obrázok 1. Ľahko rozoberateľná a čistiteľná vpust

3. Úloha a prínos odvodňovacích žľabov ACO v sušiarni škrobu

Do závodu Tate & Lyle v Boleráze boli v rámci projektu dodané od spoločnosti ACO **hygienické podlahové žľaby a štrbinové odvodnenie**, navrhnuté špeciálne pre potravinárske prevádzky.

Kľúčové prínosy týchto prvkov:

- **Plne odvodniteľná konštrukcia** s hygienickými prechodmi a zaoblenými vnútornými rohmi minimalizuje zvyšky materiálu aj vody.

- **Hygienické spoje a absencia neprístupných dutín** zabraňujú akumulácii mikrobiálnych kontaminantov.
- **Jednoduchá sanitácia a rýchle čistenie** skracujú dobu neproduktívnej údržby a znižujú náklady na pracovnú silu aj čistiace prostriedky.
- **Materiál a povrchová úprava (nerezová oceľ, morenie/pasivácia)** zabezpečujú odolnosť voči agresívnym chemikáliam a dlhú životnosť aj pri intenzívnej sanitácii.

V kontexte sušiarne škrobu je toto odvodnenie dôležité najmä v zónach, kde na podlahách vznikajú zvýšené množstvá procesných vôd — napríklad pri odvodnení technologických zariadení, v miestach kondenzácie, pri výpustiach alebo v prechodových zónach medzi technologickými blokmi. Efektívne odvodnenie výrazne znižuje riziko **krížovej kontaminácie medzi výrobnými úsekmi** a zároveň **zlepšuje rýchlosť a účinnosť denného čistenia.**

4. Hygiena a kvalita výroby – konkrétne dopady

Vďaka použitiu hygienických odvodňovacích prvkov je možné v prevádzke sušiarne škrobu dosiahnuť:

- **nižší výskyt kontaminácie produktov**, čo vedie k stabilnej kvalite a vyššej bezpečnosti škrobových produktov,
- **nižšie mikrobiologické zaťaženie prevádzky**, pretože dobre odvodnené a čistiteľné plochy znižujú základnú úroveň mikroorganizmov,
- **úspory na čistiacich prostriedkoch, čase čistenia a personálnych nákladoch**,
- lepšie splnenie požiadaviek hygienických princípov a noriem (napr. EHEDG, EN 1672 a EN ISO 14159), ktoré sú zásadné pri auditoch a certifikácii potravinárskych prevádzok.

Celkový prínos hygienického odvodnenia tak predstavuje **prevádzkovú aj strategickú hodnotu nad rámec stavebného prvku** — ide o kľúčový komponent bezpečnej, efektívnej a auditovateľne hygienickej potravinárskej výroby.

Kontaktné adresy:

Ing. Michal Valo, sales manager, mvalo@aco.sk, +421 903 435 738

Ing. Juraj Svitana, sales manager, jsvitana@aco.sk, +421 903 425 924

ACO Stavebné prvky, s.r.o., Fraňa Kráľa 35, 81105 Bratislava, www.aco.sk

ŠTÚDIA PREVALENCIE NA ÚROVNI MALOOBCHODU ZAMERANÁ NA MIKROBIOLOGICKÚ KONTAMINÁCIU RASTLINNÝCH ALTERNATÍV MLIEČNYCH, MÄSOVÝCH A RYBÍCH VÝROBKOV URČENÝCH NA PRIAMU SPOTREBU – VÝSLEDKY Z TMA ÚRADU EFSA

A RETAIL-LEVEL PREVALENCE STUDY ON THE MICROBIOLOGICAL CONTAMINATION OF READY-TO-EAT PLANT-BASED ALTERNATIVES TO DAIRY, MEAT, AND FISH PRODUCTS – RESULTS FROM THE EFSA`S TMA

Vanková Petra, Lépesová Kristína, Dringušová Gabriela, Kotrčová Zuzana

Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR, Odbor bezpečnosti potravín a výživy, Kontaktný bod pre vedeckú a technickú spoluprácu s úradom EFSA v SR, Dobrovičova 12, 812 66 Bratislava; efsa.focalpoint@land.gov.sk

**Štúdiu vykonalo 15 ČŠ pod vedením Food Safety Authority of Ireland*

ABSTRACT

The prevalence study proposed investigated the microbiological quality of RTE plant-based dairy and meat substitutes in the European Union. The study provide data on the numbers of these products potentially contaminated with microbial hazards at retail level. The analytical testing was carried out at the end of the products shelf-life in order to determine the worst-case scenario for contamination with *L. monocytogenes* at the end of the foods shelf-life duration. Results of this study contribute relevant prevalence data to the evidence base and are useful for further microbial risk assessment of these products.

Keyword: food-related risks, microbiological contamination, European Food Safety Authority, tailor-made activities, ready-to-eat plant-based alternatives

ÚVOD

V roku 2002 bol *nariadením Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 178/2002* zriadený Európsky úrad pre bezpečnosť potravín (EFSA) z dôvodu nutnosti vytvorenia oficiálnej vedeckej inštitúcie, ktorá by poskytovala vedecké poradenstvo na úrovni Európskej únie (EÚ) a komunikovala o rizikách v rámci celého agropotravinového reťazca. Úlohou úradu EFSA je poskytovať nezávislé a transparentné vedecké poradenstvo manažérom rizík v súvislosti s bezpečnosťou celého agropotravinového reťazca a má v kompetencii vedecké hodnotenie rizika a komunikáciu o riziku v danej oblasti.

Sieť kontaktných bodov (KB) úradu EFSA, ktorej súčasťou je aj Kontaktný bod pre vedeckú a technickú spoluprácu s úradom EFSA v Slovenskej republike (KB EFSA v SR), bola zriadená v roku 2008 v nadväznosti na nariadenie (ES) č. 178/2002, ktoré zaväzuje členské štáty (ČŠ) EÚ spolupracovať s úradom EFSA.

Úlohy KB úradu EFSA sa delia na hlavné aktivity (*principal activities*) a aktivity šité na mieru (*tailor-made activities,* TMA). Kým hlavné aktivity vymedzujú plnenie úlohy KB, sú rovnaké pre všetky KB a zostávajú nemenné počas celého rámcového obdobia, TMA sú zamerané na konkrétne priority ČŠ a úradu EFSA. Navrhujú ich ČŠ alebo úrad EFSA a prinášajú krátkodobé a strednodobé prínosy pre ekosystém bezpečnosti potravín EÚ, pričom podporujú aj vytváranie dlhodobých partnerstiev. Okrem toho podporujú pripravenosť na hodnotenie rizík v budúcnosti a riadia sa inkluzívnym prístupom orientovaným na výber.

V roku 2025 sa SR prvýkrát zapojila do TMA s názvom ***„A retail prevalence study to investigate microbiological contamination levels in ready-to-eat (RTE) plant-based dairy and meat substitutes*“** – **„Štúdia o prevalencii v maloobchode zameraná na skúmanie úrovne mikrobiologickej kontaminácie v rastlinných náhradách mliečnych výrobkov a mäsa určených na priamy konzum (RTE)“**, spolu s ďalšími 14 ČŠ (Rakúsko, Belgicko, Chorvátsko, Cyprus, Dánsko, Estónsko, Fínsko, Francúzsko, Nemecko, Lotyšsko, Holandsko, Španielsko a Švédsko). Koordinátorom a hlavným riešiteľom tohto projektu bolo Írsko.

Na trhu EÚ sa objavuje čoraz väčší výber RTE rastlinných náhrad mliečnych výrobkov a mäsa. Rastlinné receptúry týchto výrobkov môžu obsahovať širokú škálu rôznych zložiek, ktoré sa líšia chemickým, nutričným a mikrobiologickým zložením. Patria sem strukoviny (napr. sója, hrach, bôb, cícer, fazuľa mungo), obilniny (napr. ryža, ovos, pšenica, quinoa), orechy (napr. mandle, kešu, kokos) a olejnaté semená (napr. repka a slnečnica) (Kyrylenko et al., 2023).

Rastúca popularita RTE rastlinných náhrad mliečnych výrobkov a mäsa zvýšila dôraz na ich bezpečnosť a potenciálny výskyt súvisiacich rizík. Rôzne prípady stiahnutia výrobkov z trhu a ohnísk chorôb pochádzajúcich z potravín spojených s RTE rastlinnými náhradami mäsa a mliečnych výrobkov poukazujú na to, že prevádzkovateľom potravinárskych podnikov vyrábajúcim tento druh výrobkov môžu chýbať potrebné odborné znalosti na identifikáciu relevantných rizík v oblasti bezpečnosti potravín.

Výrobné procesy niektorých z týchto rastlinných výrobkov sa zvyčajne líšia od tradičných metód založených na tepelnom spracovaní používaných pri výrobe produktov živočíšneho pôvodu (napr. varené údeniny, pasterizované tekuté mlieko a syr), v dôsledku čoho sa v týchto potravinách môžu vyskytovať mikrobiologické riziká, ktoré nie sú nevyhnutne eliminované špecifickými kontrolnými opatreniami, ako je tepelné spracovanie počas výroby.

RTE rastlinné náhrady mliečnych výrobkov alebo mäsa sú rizikové okrem mikrobiálnej kontaminácie baktériami rodu *Salmonella* alebo *Escherichia coli* produkujúcej Shiga toxín (STEC) aj z hľadiska možnej krížovej kontaminácie baktériou *Listeria monocytogenes* pochádzajúcou z prostredia alebo kontaminovaných surovín. V januári 2023 došlo k významnému stiahnutiu rôznych vegánskych výrobkov (rastlinných syrov) z viacerých ČŠ a tretích krajín z dôvodu prítomnosti *L. monocytogenes*, ktoré boli vyrobené z mandľového mlieka a bio kešu orechov. Táto kauza bola spojená s piatimi závažnými prípadmi listeriózy vo Francúzsku, medzi ktorými boli aj štyri tehotné ženy. Niektoré štúdie preukázali, že spórotvorné baktérie, ako napríklad *Bacillus* spp. a *Clostridium* spp., predstavujú potenciálne riziko pre určité druhy rastlinných výrobkov, aj keď sú v rámci výrobného procesu podrobené tepelnému spracovaniu. Dôvodom je, že baktérie tvoriace spóry sú tepelne odolné a bežne sa vyskytujú v rastlinných surovinách. Takéto baktérie majú schopnosť vytvárať odolné endospóry, čo im umožňuje prežiť napr. pasterizáciu, tým pádom spóry môžu klíčiť a rásť buď počas výroby produktu, alebo počas skladovania. Tradičné tepelné ošetrenie na odstránenie spór alebo fermentácia na zabránenie rastu mikroorganizmov spôsobujúcich kazenie preto nemusí byť vhodné pre rastlinné alternatívy mliečnych výrobkov (Food Safety News, 2023).

Napriek rastúcej popularite potravín rastlinného pôvodu však v odbornej literatúre stále existujú výrazné medzery vo výskume, najmä pokiaľ ide o bezpečnosť potravín a nové riziká. S cieľom vyplniť tieto medzery vo vedomostiach bola realizovaná táto rozsiahla európska štúdia financovaná v rámci iniciatívy TMA úradu EFSA, ktorej cieľom bolo preskúmať mikrobiologickú kvalitu RTE rastlinných náhrad mliečnych výrobkov (mlieko, smotana a syr), mäsa a rýb v 15 rôznych krajinách.

HLAVNÉ CIELE PROJEKTU

Medzi hlavné ciele projektu patrilo určenie mikrobiologickej kvality RTE rastlinných náhrad mliečnych a mäsových výrobkov na konci doby trvanlivosti uvedenej na obale na maloobchodnej úrovni, získanie relevantných údajov o prevalencii nežiadúcich mikroorganizmov, ktoré bude možné využiť pri budúcom posudzovaní mikrobiologických rizík týchto výrobkov, spolupráca s ostatnými ČŠ s cieľom získať relevantné vedecké dôkazy a zvýšenie informovanosti o možných rizikách pre bezpečnosť potravín pre spotrebiteľov RTE rastlinných náhrad mliečnych a mäsových výrobkov.

MATERIÁL A METÓDY

Všetci partneri projektu museli vzorky testovať na dve povinné parametre: detekcia *L. monocytogenes* a *Listeria* spp. Okrem toho, vzorky mali byť vyšetrené na najmenej štyri z dodatočných parametrov v závislosti od testovacích kapacít a možností laboratória: pH, aktivita vody (aw), *Salmonella* spp., *E. coli, E. coli* produkujúca Shiga toxín (STEC), *B. cereus* alebo *Bacillus* spp. a *Clostridium perfringens* alebo *Clostridium* spp.

Vzorky boli testované s použitím najnovšieho vydania príslušnej referenčnej metódy ISO pre každý uvedený testovací parameter.

V termíne od 1. marca do 30. novembra 2025 sa v 15 ČŠ odoberali vzorky RTE rastlinných mliečnych výrobkov (mlieko, smotana a syr), ako aj náhrad rýb a mäsa, ktoré boli v tom čase dostupné v maloobchodnej sieti. V rámci prieskumu prevalencie sa skúmala mikrobiologická kvalita balených RTE rastlinných mliečnych výrobkov, náhrad mäsa a rýb v EÚ, ako napríklad:

- Rastlinné mlieka a smotany (napr. ovsené, sójové, ryžové, kokosové atď.)
- Vegánske/vegetariánske náhrady syra (napr. rastlinné alternatívy k čedaru, brie, mozzarelle, syrovým nátierkam atď.)
- Vegánske/vegetariánske náhrady mäsa (napr. rastlinné alternatívy k plátok údenín, kúskom kuracieho mäsa, saláme pepperoni atď.)
- Vegánske/vegetariánske náhrady rýb (napr. rastlinné alternatívy k údenému lososovi, mušľám atď.)
- Hotové mliečne alebo mäsové alternatívy vyrobené zo zložiek, ako je tofu, tempeh alebo seitan.

Partneri projektu odobrali vzorky vhodných RTE rastlinných náhrad mliečnych výrobkov, mäsa a rýb určených z maloobchodného predaja potravín (supermarkety, malé obchody, samoobsluhy, čerpacie stanice atď.), špecializovaných predajní (obchody so zdravou výživou, lekárne, remeselné predajne, farmárske obchody atď.) a internetových obchodov.

VÝSLEDKY

Celkový počet vzoriek otestovaných na prítomnosť *L. monocytogenes* a *Listeria* spp. (povinné parametre) zo všetkých ČŠ bol 1534. Väčšina partnerov projektu hodnotila fyzikálno-chemické vlastnosti vzoriek, konkrétne pH (n = 14) a aw (n = 11). Metódu detekcie *Salmonella* spp. a STEC použilo 13, resp. 8 partnerov, zatiaľ čo stanovenie počtu *E. coli* vykonalo 12 partnerov. Sedem partnerov testovalo vzorky na prítomnosť *B. cereus* a štyria na prítomnosť *Bacillus* spp. Päť partnerov testovalo vzorky na prítomnosť *Clostridium* spp., zatiaľ čo traja partneri testovali konkrétne na prítomnosť *C. perfringens*.

Väčšina vzoriek (n = 1254) bola odobratá z tradičných maloobchodných predajní ako sú napr. supermarkety, malé obchodíky, obchody s rýchlym občerstvením a čerpacie stanice. Vzhľadom na to, že rastie počet aj internetových predajcov ponúkajúcich na predaj rastlinné náhrady aj s doručením domov, do prieskumu boli zahrnuté aj takéto vzorky, pokiaľ boli k dispozícii v zúčastnených krajinách (n = 98). Ostatné vzorky (n = 182) pochádzali z tzv. špecializovaných predajní.

Každý partner projektu rozdelil 100 vzoriek na približne rovnaké tretiny - rastlinné mlieka, rastlinné syry a rastlinné hotové mäsové výrobky - v závislosti od toho, aké druhy výrobkov boli v danej krajine k dispozícii. Okrem toho sa v prípade dostupnosti zbierali aj vzorky rastlinných hotových náhrad rýb a rastlinnej smotany.

Rastlinné zložky v odobratých vzorkách sa značne líšili. Väčšina testovaných náhrad mlieka bola vyrobená predovšetkým z ovsa, sóje a mandlí, pričom kokos bol zistený v mnohých náhradách smotany a syra. V kategórii RTE náhrad mäsa prevládali skôr zložky ako sója a pšenica. Počet vzoriek RTE rastlinných náhrad rýb bol, v porovnaní s ostatnými kategóriami výrobkov, malý a preukázalo sa, že najčastejšie používanou hlavnou rastlinnou zložkou v nich sú morské riasy. To naznačuje, že trh s náhradami rýb je stále v počiatočnom štádiu a vo veľkej miere sa opiera o zmesi a morské rastliny. Vo viacerých produktoch boli použité viaceré rastlinné zložky, čo následne podčiarkuje dôležitosť zmesových zložení, najmä v prípade náhrad syra a mäsa, kde dosiahnutie požadovanej textúry a funkčnosti predstavuje významnú výzvu. Nie je to prekvapujúce, keďže výroba väčšiny potravín rastlinného pôvodu je zložitá a tieto potraviny by sa považovali za vysoko spracované (Uyttendaele, 2025).

Vzhľadom na fyzikálno-chemické vlastnosti odobratých vzoriek výsledky testov ukázali, že hodnota pH rastlinných mliečnych náhrad, smotany a náhrad mäsa je spravidla nižšia ako v prípade rastlinných syrov a rýb. Hodnota aktivity vody u mliečnych náhrad a smotany bola najvyššia, pričom u rastlinného syra bola o niečo nižšia. Hodnota aktivity vody u náhrad mäsa a rýb bola najnižšia zo všetkých testovaných druhov vzoriek. Priemerné fyzikálno-chemické vlastnosti namerané v testovaných vzorkách naznačujú, že v prípade kontaminácie by mohli podporovať rast väčšiny patogénov prenášaných potravinami.

Mikrobiologická kvalita testovaných výrobkov bola vo všeobecnosti dobrá. Celkovo bolo, po vyradení jednej vzorky z hľadiska zloženia, analyzovaných 1533 vzoriek RTE rastlinných mliečnych výrobkov, mäsa a syrov. Z celkového počtu vzoriek testovaných na prítomnosť

L. monocytogenes pomocou metódy detekcie aj kvantifikácie bol tento mikroorganizmus zistený v množstve 25 g iba v jednej vzorke mliečnej náhrady, ktorá bola označená ako „chladený ľahký nápoj na báze ovsa“ (Fínsko). Patogén však nebol následne kvantifikovateľný.

Trinásť partnerov projektu testovalo 1332 vzoriek na prítomnosť *Salmonella* spp., neboli však zistené žiadne pozitívne výsledky. Osem partnerov projektu testovalo celkovo 831 vzoriek na prítomnosť *E. coli* produkujúcej Shiga toxín (STEC). Fínsko zistilo, že 3,9 % nimi vyšetrených vzoriek bolo PCR-pozitívnych (predpokladaný výskyt STEC), avšak nepodarilo sa im kultivovať životaschopné izoláty na potvrdenie ich prítomnosti v produktoch (frankfurtské párky na báze hrachu a vzorky nápojov na báze ovsa a sóje s čokoládovou príchuťou). Okrem toho Nemecko zistilo prítomnosť STEC (PCR pozitívny, kultivácia negatívny) v 0,9 % nimi vyšetrených vzoriek. Vzorka bola rastlinná náhrada mlieka vyrobená z fermentovaného ovsa s pridaním vápnika a spracovaná pri ultra vysokej teplote. Hoci takéto zistenia sa javia znepokojujúco, je potrebné poznamenať, že žiadneho z izolátov STEC sa nepodarilo potvrdiť kultiváciou, čo naznačuje, že patogény neboli prítomné v životaschopnom stave - vzorky neboli označené za nevyhovujúce.

Jedenásť partnerov projektu analyzovalo 1113 vzoriek RTE rastlinných mliečnych výrobkov, mäsa a rýb s cieľom zistiť prítomnosť *B. cereus* alebo *Bacillus* spp., z ktorých až 1 096 vzoriek bolo vyhovujúcich. Dôvodom bolo buď to, že počet kolónií *B. cereus*/*Bacillus* spp. bol nižší ako 1 000 KTJ/g, alebo že ich počet neprekročil limit stanovený pre použitú laboratórnu analytickú metódu. V malom počte vzoriek bol zaznamenaný výskyt *B. cereus*/*Bacillus* spp. v počte >100 KTJ/g, avšak ich počty boli nižšie ako 1 000 KTJ/g a nepovažovali sa za riziko pre verejné zdravie. V prípade 14 vzoriek (1,3 %) bola koncentrácia *B. cereus* alebo *Bacillus* spp. stanovená v rozmedzí 1 000 až 100 000 KTJ/g, a preto boli tieto vzorky v súlade s mikrobiologickým kritériom pre *B. cereus* uvedeným v usmernení č. 3 s názvom „Usmernenie pre interpretáciu výsledkov mikrobiologického testovania hotových potravín uvádzaných na trh“ označené ako hraničné (Írsky úrad pre bezpečnosť potravín, FSAI, 2020). U troch vzoriek (0,3 %) boli zistené hladiny presahujúce 100 000 KTJ/g a boli označené za nevyhovujúce. Hraničné hodnoty týchto patogénov boli zistené v rastlinných náhradách mäsa, syra a rýb vyrobených z rôznych rastlinných zložiek, z ktorých tri obsahovali ako hlavnú rastlinnú zložku tofu, ako aj v smotane z kokosového mlieka. Nevyhovujúce hodnoty >100 000 KTJ/g boli zistené v náhradách mäsa vyrobených z tofu a v náhrade syra vyrobenej z kešu orechov.

Osem partnerov projektu testovalo RTE rastlinné mliečne výrobky, mäso a ryby na prítomnosť buď *C. perfringens*, alebo *Clostridium* spp. Celkovo bolo testovaných 810 vzoriek a z nich 712 (87,8 %) bolo označených za vyhovujúce na základe mikrobiologického kritéria <10 KTJ/g stanoveného pre *C. perfringens* v usmernení č. 3 FSAI (v Rakúsku sa podľa národných usmernení (Kommunikationsplattform Verbraucher:innengesundheit, 2025) vzorky s <1 000 KTJ/g *C. perfringens* považujú za vyhovujúce). Za hraničné pre *C. perfringens* v

rozmedzí 10 až 10 000 KTJ/g bolo označených celkovo 99 vzoriek (12,2 %). Žiadna z testovaných vzoriek nebola označená za nevyhovujúcu (>10 000 KÚV/g) Podľa opatrení na riadenie rizík odporúčaných v usmernení č. 3 (FSAI, 2020) sa výsledok testu šarže potravín, ktorá je označená ako hraničná, nepovažuje za nebezpečný podľa článku 14 nariadenia (ES) č. 178/2002 v znení neskorších zmien a doplnení. Prevádzkovateľ potravinárskeho podniku by mal preto vyšetriť príčinu zvýšených hladín a prijať opatrenia v rámci svojich postupov založených na analýze nebezpečenstiev a kritických kontrolných bodov (HACCP) a správnych hygienických postupov (GHP).

L. monocytogenes je druh rodu *Listeria*, ktorý je patogénny (t. j. môže spôsobiť ochorenie z potravín), a z tohto dôvodu je hlavným predmetom právnych požiadaviek nariadenia Komisie (ES) č. 2073/2005 (Európska komisia, 2005). Existujú však aj iné nepatogénne druhy rodu *Listeria*, ktoré boli izolované z rôznych biotopov, vrátane pôdy, vegetácie, siláže, odpadových vôd, vody a výkalov zdravých zvierat a ľudí. Hoci ostatné druhy rodu *Listeria* nie sú považované za patogénne, slúžia ako cenné indikátory podmienok prostredia, ktoré môžu podporovať potenciálnu prítomnosť *L. monocytogenes* (Spanu and Jordan, 2020; Tompkin, 2002). *Listeria* spp. sú kontaminanty, ktoré sa môžu udržať v prostredí spracovania potravín vrátane zariadení na spracovanie potravín, ak nie sú zavedené účinné opatrenia na čistenie a dezinfekciu. Zistenie alebo stanovenie počtu *Listeria* spp. v RTE potravinách môže naznačovať nedostatočné tepelné spracovanie alebo kontamináciu po spracovaní pochádzajúcu z výrobného prostredia. Nariadenie č. 2073/2005 rozlišuje medzi potravinami RTE, ktoré môžu podporovať rast *L. monocytogenes* (kategória potravín 1.2), a tými, ktoré ho nemôžu podporovať (kategória potravín 1.3) (Európska komisia, 2005). Potraviny, ktoré môžu podporovať rast baktérií rodu *Listeria*, sa posudzujú pomocou citlivejšej metódy nazývanej detekčný test, ktorý poskytuje výsledok „detekované“ alebo „nedetekované“, v porovnaní s kvantitatívnym testom, ktorý poskytuje výsledok v podobe počtu. V dôsledku toho boli všetky vzorky podrobené testom na detekciu aj na stanovenie počtu. Na základe uplatnených kritérií pre interpretáciu výsledkov boli niektoré vzorky klasifikované ako nevyhovujúce, keď výsledky testov indikovali prítomnosť v množstve 25 g, zatiaľ čo iné sa javili ako hraničné pri hodnotení na základe stanoveného rozsahu 10 – 100 KTJ/g *Listeria* spp., v závislosti od použitej testovacej metódy. Z 1533 vzoriek testovaných na prítomnosť *Listeria* spp. pomocou metódy detekcie aj kvantifikácie bola v 15 vzorkách (0,98 %) zistená prítomnosť *Listeria* spp. v 25 g, ktoré boli označené za nevyhovujúce. Pokiaľ ide o výsledky testov metódou kvantifikácie sa zistilo, že 10 vzoriek (0,65 %) malo hladiny medzi 10 a 100 KTJ/g a boli označené ako hraničné, zatiaľ čo jedna vzorka (0,07 %) obsahovala počty >100 KTJ/g a bola označená ako nevyhovujúca v súlade s mikrobiologickými smernicami pre limity

stanovenia počtu *Listeria* spp. v usmernení FSAI č. 3. Vo Fínsku bol zistený *Listeria innocua* v množstve <10 KTJ/g v jednej chladenej náhrade mäsa na báze hrachu, ktorá bola ochutená paradajkami a bylinkami. V Nemecku bola baktéria *Listeria* spp. zistená v 3 zo 104 testovaných výrobkov (3 %), pričom vo všetkých prípadoch bol rovnako izolovaný druh *L. innocua*. V jednej vzorke bola zistená prítomnosť baktérií rodu *Listeria* spp. v počte 3100 KTJ/g a vzorka bola následne označená za nevyhovujúcu. Išlo o chladenú náhradu syra, ktorá bola opísaná ako alternatíva k syru Camembert s fermentovaným karfiolom, vyrobená na báze rastlinného oleja a škrobu. V inej vzorke chladenej náhrady mäsa, ktorej hlavnou rastlinnou zložkou bol seitan a v ktorej sa v 25 g nezistila prítomnosť *Listeria* spp. bola zistená prítomnosť *L. innocua* v množstve <40 KTJ/g, ako aj 970 KTJ/g *B. cereus*. V Slovenskej republike bol *Listeria* spp. zistený v jednej zo 100 vzoriek v počte 10 KTJ/g. V šiestich ďalších vzorkách neboli v 25 g zistené baktérie *Listeria* spp., ale boli v nich zistené nízke hladiny tohto hygienického indikátora a boli označené ako hraničné. Uvedené vzorky predstavovali najmä náhrady mäsa a syra.

Detekcia prítomnosti baktérií *E. coli* sa používa na posúdenie hygienického stavu potravinárskeho výrobku a môže naznačovať možnú prítomnosť fekálnych patogénov. Tieto baktérie sa zničia primeraným tepelným spracovaním a nemali by sa vyskytovať v tepelne spracovaných potravinách. Počet baktérií *E. coli* nižší ako 20 KTJ/g potraviny sa považuje za uspokojivý. Dvanásť ČŠ posúdilo RTE rastlinné vzorky mliečnych, mäsových a rybích náhrad z hľadiska prítomnosti hygienického indikátora *E. coli*, pričom z celkového počtu testovaných vzoriek (n = 1229) bolo v šiestich (0,49 %) zistených viac ako 100 KTJ/g *E. coli*. Tieto vzorky boli označené za nevyhovujúce v súlade s mikrobiologickými limitmi stanovenými pre *E. coli* v usmernení č. 3 FSAI (2020). U žiadnej vzorky neboli zistené hraničné hladiny *E. coli* v rozmedzí 20 až 100 KTJ/g. Medzi nevyhovujúce vzorky patrili chladené náhrady mäsových výrobkov vyrobené z tofu a/alebo byliniek, náhrady mäkkých syrov z kešu ako aj náhrada syra Camembert vyrobená z kešu orechov a obsahujúci vegánske kultúry.

DISKUSIA

Hlavným cieľom tejto spoločnej európskej štúdie financovanej v rámci iniciatívy TMA úradu EFSA bolo identifikovať potenciálne vznikajúce riziká v oblasti bezpečnosti potravín spojené s RTE rastlinnými náhradami mliečnych výrobkov (mlieko, smotana a syr), mäsa a rýb. Zistenia tejto štúdie prispievajú k vydaniu usmernení v oblasti bezpečnosti potravín založených na dôkazoch, ktoré sú prispôsobené potravinárskym podnikom vyrábajúcim tieto druhy rastlinných výrobkov. Podporujú tiež poradenstvo v oblasti komunikácie o rizikách a

odporúčania pre spotrebiteľov s cieľom pomôcť minimalizovať riziko pre verejné zdravie v podobe ochorení z potravín vyplývajúcich z ich konzumácie.

V priebehu spoločnej štúdie realizovanej v 15 ČŠ sa zistilo, že hoci niektoré zúčastnené krajiny zaviedli vnútroštátne usmernenia vrátane odporúčaných mikrobiologických kritérií na monitorovanie kontaminácie RTE výrobkov na trhu, nie je to tak vo všetkých ČŠ. Vypracovanie a zavedenie harmonizovaných mikrobiologických kritérií na hodnotenie mikrobiologickej kvality RTE rastlinných náhrad mliečnych výrobkov, mäsa a rýb by bolo prínosom pri podporovaní konzistentnosti pri úradných posudzovaniach mikrobiologickej zhody týchto výrobkov.

Hoci celková mikrobiologická kvalita vzoriek testovaných v tejto štúdii bola dobrá, zaznamenali sa určité problémy. Mikrobiologická kontaminácia sa zistila hlavne v RTE rastlinných výrobkoch, ktorých hlavnou zložkou bolo tofu, hrachová bielkovina a kešu orechy. Menší počet pozitívnych vzoriek obsahoval aj iné zložky, ako sú iné orechy, ovos, kokos, seitan a tempeh, ako aj zmesi rôznych zložiek. Pravidelné cielené monitorovanie patogénov a hygienických ukazovateľov v týchto výrobkoch by prispelo k vytvoreniu dôkazovej základne na identifikáciu vznikajúcich rizík. Podporilo by tiež zavedenie vhodných preventívnych kontrol na úrovni výroby, ktoré sú prispôsobené ku kontrole mikrobiologických nebezpečenstiev spojených s rastlinnými výrobkami tohto druhu.

Celkové výsledky štúdie poukazujú na to, že prítomnosť patogénov prenášaných potravinami v RTE rastlinných náhradách mliečnych výrobkov, mäsa a rýb určených nie je síce bežná, môže sa však sporadicky vyskytovať. V rámci postupov založených na zásadách správnej hygienickej praxe (GHP) a systéme HACCP, ktoré prevádzkovateľ potravinárskeho podniku uplatňuje v rámci svojho systému riadenia bezpečnosti potravín, by sa mala zohľadniť primeraná kontrola možných rizík. Ak prevádzkovatelia potravinárskych podnikov tieto riziká primerane neriadia prostredníctvom predpokladaných preventívnych opatrení v podobe riadnej kontroly dodávateľov surovín, primeraných hygienických programov, školenia personálu a riadnej údržby a kontroly teploty chladiaceho reťazca, existuje riziko, že akákoľvek kontaminácia patogénmi narastie na úroveň, ktorá môže spôsobiť vážne ochorenia z potravín, podobne ako by sa dalo očakávať v prípade RTE mliečnych, mäsových a rybích výrobkov živočíšneho pôvodu.

V súvislosti s prítomnosťou nepatogénnych druhov *Listeria* spp., ktoré slúžia ako hygienický indikátor prítomnosti patogénu *L. monocytogenes*, boli zistené niektoré potenciálne problémy s kontamináciou. V jednej vzorke chladenej mliečnej náhrady na báze ovsa vo Fínsku bol zistený výskyt *L. monocytogenes* v množstve <1 KTJ/g, pričom táto vzorka bola označená za nevyhovujúcu. V roku 2024 bol zaznamenaný významný výskyt listeriózy s 20 prípadmi (15

hospitalizácií a tri úmrtia) spojený s chladenými mandľovými, ovsenými a kokosovými rastlinnými mliečnymi výrobkami (Kanadská agentúra pre verejné zdravie, 2024). Okrem toho bol výrobok mliečnej náhrady na báze ovsa vo Fínsku a Estónsku zdrojom ohniska *B. cereus* v roku 2022 (Ruokavirasto – Fínsky úrad pre potraviny, 2022).

Hoci kultivačné testy nepotvrdili žiadne životaschopné izoláty STEC, v troch náhradách kravského mlieka (2 na báze ovsa, 1 na báze sóje) a dvoch náhradách mäsa (2 na báze hrachu) bolo zaznamenaných 5 pozitívnych výsledkov PCR na STEC. Aj keď niektoré alternatívy týchto výrobkov živočíšneho pôvodu, ako je surové mlieko, syr zo surového mlieka a fermentované mäso, boli spojené s prípadmi ochorení z potravín, žiadne prípady ochorení z potravín spojené s RTE rastlinnými náhradami mliečnych výrobkov alebo mäsa určenými zatiaľ neboli hlásené. Stále viac sa však uvádza, že určité rastlinné zložky, ako sú obilniny, môžu byť vystavené kontaminácii STEC prostredníctvom kontaminovanej vody, prírodných hnojív alebo výkalov voľne žijúcich zvierat. Od roku 2009 boli v USA, Kanade a Francúzsku hlásené ohniská ochorení z potravín spôsobených STEC v dôsledku kontaminácie výrobkov z múky a cesta (BfR, Nemecký federálny inštitút pre posudzovanie rizík, 2024).

Mnohé rastlinné výrobky, najmä tie, ktoré sú vyrobené z obilnín a strukovín, môžu byť náchylné na kontamináciu mikroorganizmami tvoriacimi spóry. Hoci výskyt *C. perfringens*/*Clostridium* spp. sa nezistil v množstvách vyvolávajúcich obavy, v niektorých výrobkoch bol zaznamenaný vyšší počet *B. cereus*/*Bacillus* spp. Takéto výsledky môžu naznačovať krížovú kontamináciu jednak zo surovín a/alebo nesprávne teplotné podmienky, či problémy s manipuláciou v niektorých výrobkoch. Hoci sa v tejto štúdii nehodnotila produkcia toxínov, vysoká hladina *B. cereus* zistená v niektorých vzorkách môže naznačovať nedostatočnú kontrolu procesu alebo kontamináciu po spracovaní a mohla by predstavovať potenciálne riziko, ak sa s takými výrobkami nesprávne zaobchádza alebo sa nesprávne skladujú. Vzorka z Nemecka, v ktorej zistili najvyšší počet kolónií *B. cereus* (náhrada syra na báze tofu), obsahovala izolát s génovým klastrom zodpovedným za produkciu emetického toxínu cereulidu.

V tomto prieskume sa zistilo, že RTE syrové a mäsové/rybie náhrady sú prevažne chladené potraviny a ich trvanlivosť sa pohybuje od jedného týždňa cez niekoľko týždňov až po niekoľko mesiacov. V mnohých prípadoch boli označené dátumom minimálnej trvanlivosti, čo znamená, že spotrebiteľ sa môže rozhodnúť konzumovať ich aj po uplynutí tohto dátumu, ak usúdi, že majú dostatočnú senzorickú kvalitu na konzumáciu (t. j. na základe vizuálneho vzhľadu, vône a chuti). Sedem z produktov s hraničnými alebo neuspokojivými výsledkami testov bolo zakúpených v internetových obchodoch, kde je primerane predvídateľné riziko, že chladiaci reťazec nebude počas distribúcie konečnému spotrebiteľovi riadne udržiavaný. To by mohlo

spôsobiť teplotné podmienky, ktoré by mohli zvýšiť riziko rozmnožovania patogénov v produkte, ak by bol kontaminovaný.

ZÁVER

Spotrebitelia často vnímajú potraviny rastlinného pôvodu ako bezpečnejšie než ich živočíšne ekvivalenty. Z tohto dôvodu sa odporúča, aby orgány zodpovedné za bezpečnosť potravín v spolupráci s príslušnými zainteresovanými stranami prehodnotili a aktualizovali informovanie spotrebiteľov o rizikách súvisiacich so skladovaním a používaním RTE rastlinných výrobkov. Je mimoriadne dôležité, aby boli spotrebiteľom poskytované jasné informácie o rizikách týkajúce sa dôležitosti dodržiavania podmienok skladovania uvedených na obale výrobkov a aby bola zabezpečená správna manipulácia s RTE rastlinnými výrobkami – najmä po otvorení, keď je doba skladovania v chladničke obmedzená –, čím sa prispeje k zabezpečeniu bezpečnosti potravín až na tanieri.

POĎAKOVANIE

Tento mikrobiologický prieskum prevalencie bol realizovaný v spolupráci s 15 členskými štátmi (IE – líder štúdie, AT, BE, HR, CY, DK, EE, FI, FR, DE, LV, NL, SK, ES a SE) a bol financovaný prostredníctvom Tailor made Activities (TMA) národných kontaktných bodov Európskeho úradu pre bezpečnosť potravín (EFSA).

LITERATÚRA

1. BfR, Nemecký federálny inštitút pre posudzovanie rizík, 2024; BfR (German Federal Institute for Risk Assessment) (2024) FAQ: *Escherichia coli* in flour and dough - What is important for enjoyment without remorse? Available at: https://www.bfr.bund.de/en/service/frequently-asked-questions/topic/escherichia-coli-in-flour-and-dough-what-is-important-for-enjoyment-without-remorse/#:~:text=How%20can%20humans%20become%20infected,the%20region%20of%2010%2C000%20bacteria.
2. Food Safety News: Five sick in French Listeria outbreak linked to cheese alternative. Dostupné na: Five sick in French Listeria outbreak linked to cheese alternative | Food Safety News.
3. Írsky úrad pre bezpečnosť potravín, FSAI: Guidelines for the Interpretation of Results of Microbiological Testing of Ready-to-Eat Foods Placed on the Market, Guidance Note 3, 2020. Dostupné na: Guidance Note 3 Guidelines for the Interpretation of Results of Microbiological Testing of Ready-to-Eat Foods Placed on the Market (Revision 4).

4. Kanadská agentúra pre verejné zdravie, 2024; Canadian Food Inspection Agency. (2023) Bacterial Pathogens and Indicators in Plant-based Cheese Alternatives - April 1, 2019 to March 31, 2022, Food microbiology - Targeted surveys - Final report. Available at: https://inspection.canada.ca/en/food-safety-industry/food-chemistry-and-microbiology/food-safety-testing-reports-and-journal-articles/bacterial-pathogens-and-indicators-plant-based-1
5. Kyrylenko A. et al. (2023) Levels and types of microbial contaminants in different plant-based ingredients used in dairy alternatives. International Journal od Food Microbiology; Vol. 407.
6. Kommunikationsplattform Verbraucher:innengesundheit (2025) Pathogene Bakterien und deren Toxine in Lebensmitteln. BEIBLATT 004 LEITLINIE „Nicht Sicher“ Version 14 (In German). Available at: https://www.verbrauchergesundheit.gv.at/dam/jcr:dde59e65-ff76-4289-9fc4-3a6a0bedb497/Leitlinie_Nicht_Sicher_Beiblatt_004_pathogene_Bakterien_u_1.pdf.
7. 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 v platnom znení (všeobecné potravinové právo EÚ). Dostupné na: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SK/TXT/PDF/?uri=CELEX:32002R0178&from=SK
8. Nariadenie (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériách pre potraviny. Dostupné na: eur-lex.europa.eu/legal-content/SK/TXT/PDF/?uri=CELEX:32005R2073.
9. Ruokavirasto – Fínsky úrad pre potraviny, 2022; Ruokavirasto - Finnish Food Authority (2022) Microbiological defect in oat drink. Available at: https://www.ruokavirasto.fi/elintarvikkeet/ohjeita-kuluttajille/takaisinvedot1/kaurajuomassa-mikrobiologinen-virhe/.
10. Uyttendaele, M. (2025) Microbial safety challenges in plant-based foods. Affidia – The Journal, 01-02. Available at: https://affidiajournal.com/en/microbial-safety-challenges-in-plant-based-foods.
11. Spanu, C. and Jordan, K. (2020) *Listeria monocytogenes* environmental sampling programme in ready-to-eat processing facilities: A practical approach. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 19:2843- 2861.
12. Tompkin, R.B. (2002) Control of *Listeria monocytogenes* in the Food-Processing Environment. Journal of Food Protection 65(4):709–725.

Kontaktná adresa: Vanková Petra, Dringušová Gabriela, Lépesová Kristína, Zuzana Kotrčová, Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR, Odbor bezpečnosti potravín a výživy, Kontaktný bod pre vedeckú a technickú spoluprácu s úradom EFSA v SR, Dobrovičova 12, 812 66 Bratislava, Slovenská republika. E-mail: efsa.focalpoint@land.gov.sk

NOVÉ METÓDY SPRACOVANIA VÝBEROVEJ KÁVY

NEW METHODS OF PROCESSING SPECIALTY COFFEE

Várady Matúš, Reitznerová Anna, Marcinčák Slavomír, Kováčová Mariana, Jevinová Pavlína, Peter Popelka

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 evaluated the effect of processing methods on fatty acid composition, bioactive compounds, heavy metal content and acrylamide formation in coffees processed using spontaneous methods (natural, washed and honey) and induced methods (anaerobic fermentation and carbonic maceration). Linoleic (43–48%) and palmitic acids (33–39%) were identified as dominant fatty acids across all analysed samples, confirming their importance as key lipid components and differentiation markers among specialty coffees. For example, Guatemala washed coffee contained 47.04% linoleic acid and 33.96% palmitic acid, while Peru coffee processed by carbonic maceration showed the highest linoleic acid content among evaluated samples. Significant variability in lipid composition was observed in fermented samples, particularly in Rwanda anaerobically processed coffee, where increased levels of palmitic and stearic acids were recorded. Heavy metal analysis confirmed the presence of Al, Hg, Ni, Cr, Cd, Cu and Pb, with significant differences among countries and processing methods. The highest cadmium concentration (0.062 mg/kg) was detected in Guatemala coffee processed by carbonic maceration, whereas the highest lead concentration (0.252 mg/kg) was observed in Ethiopia washed coffee. Despite these variations, all values remained below recommended safety limits. Acrylamide formation was strongly affected by roasting level and processing method. Higher concentrations were detected in light roasted samples, while dark roasting resulted in significant reductions. Study demonstrated that all of the specialty coffees examined were good sources of antioxidants and had low acrylamide levels regardless of processing method, degree of roasting, or origin. Most of the specialty coffees processed by induced methods along with spontaneously processed coffees with high overall sensory evaluation scores, however, are among the best on the market.

Keywords: specialty coffee, processing, bioactive compounds, heavy metals, fatty acids

ÚVOD

Káva patrí medzi najvýznamnejšie poľnohospodárske komodity na svete a predstavuje jeden z najčastejšie konzumovaných nápojov s výrazným ekonomickým aj spoločenským významom. Jej kvalita je výsledkom komplexnej interakcie medzi genetickými faktormi, geografickým pôvodom, klimatickými podmienkami a technologickými postupmi spracovania. Výberová káva má štandardizovaný celý výrobný proces, od výberu kritérií pre kávové plantáže až po jej prípravu, pričom prebiehajú predbežné triedenie a cupping – ochutnávka kávy. Zároveň je najdôležitejším kritériom dosiahnutie cuppingového skóre 80 bodov na 100-bodovej škále (Lingle a Menon, 2017).

V posledných rokoch sa osobitná pozornosť venuje chemickému zloženiu kávových zŕn, ktoré významne ovplyvňuje senzorické vlastnosti, nutričnú hodnotu a bezpečnosť výsledného nápoja (Várady a kol. 2022, 2024a,b, 2026). Lipidy predstavujú významnú zložku kávových zŕn, pričom ich obsah sa pohybuje približne medzi 10 a 17 % suchej hmotnosti (Silva a kol., 2020). Mastné kyseliny zohrávajú dôležitú úlohu pri tvorbe arómy, stabilite chuti a ochrane aromatických zlúčenín počas praženia. Medzi dominantné mastné kyseliny v *Coffea arabica* patria najmä palmitová (C16:0) a linolová kyselina (C18:2), ktoré sa považujú za významné markery kvality a stability kávového oleja. Ich zastúpenie je ovplyvnené nielen genetickými faktormi, ale aj technologickými procesmi vrátane fermentácie a praženia (Silva a kol., 2020; Várady a kol., 2024b). Okrem lipidov obsahuje káva široké spektrum bioaktívnych zlúčenín, medzi ktoré patria najmä fenolové látky, kofeín a chlorogenové kyseliny. Tieto zlúčeniny vykazujú významnú antioxidačnú aktivitu a podieľajú sa na tvorbe chuti, horkosti a farby kávy. Počas praženia dochádza k degradácii niektorých fenolových zlúčenín, pričom súčasne vznikajú nové produkty Maillardových reakcií, ako napríklad melanoidíny, ktoré môžu prispievať k antioxidačnej aktivite (Farah, 2012). V kontexte potravinovej bezpečnosti je významným aspektom aj prítomnosť ťažkých kovov. Ťažké kovy, ako hliník (Al), ortuť (Hg), nikel (Ni), chróm (Cr), kadmium (Cd), meď (Cu) a olovo (Pb), môžu byť prítomné v kávových zrnách v dôsledku environmentálnych podmienok, kvality pôdy alebo technologického spracovania. Koncentrácia môže byť ovplyvnená typom pôdy, spôsobom pestovania a spôsobom spracovania po zbere (Várady a kol. 2024a). Ďalším významným ukazovateľom bezpečnosti praženej kávy je akrylamid, ktorý vzniká počas tepelných procesov ako vedľajší produkt Maillardových reakcií medzi aminokyselinami a redukujúcimi cukrami. Obsah akrylamidu v káve je ovplyvnený najmä stupňom praženia, pričom vyššie koncentrácie sa zvyčajne vyskytujú pri svetlom pražení a postupne klesajú pri tmavšom pražení (Bonilla a kol., 2025, Várady a kol., 2026).

Moderné metódy spracovania kávy, ako anaeróbna fermentácia a karbonická macerácia, predstavujú inovatívne technologické postupy, ktoré umožňujú modifikovať chemické zloženie a senzorický profil kávy. Tieto metódy však môžu zároveň ovplyvňovať tvorbu kontaminantov, čo poukazuje na potrebu komplexného hodnotenia kvality kávy zahŕňajúceho chemické aj bezpečnostné parametre (Várady a kol., 2022, 2024a,b, 2026). Cieľom tejto práce bolo skúmať vplyv nových metód spracovania výberovej kávy na hodnotenie zloženia mastných kyselín, bioaktívnych zlúčenín, obsahu ťažkých kovov a tvorby akrylamidu vo výberových kávach.

MATERIÁL A METODIKA

Použili sme vzorky guatemalských, nikaragujských, peruánskych, etiópskych, kenských, burundských, jávských a rwandských (RWA) káv - 100% *C. arabica*. Kávové zrná boli spracované prirodzenými (prírodná, premývaná a medová) a indukovanými (anaeróbna fermentácia a karbonická macerácia) pozberovými metódami (Várady a kol., 2022, 2024b).
Pri anaeróbnej fermentácii boli kávové zrná fermentované v uzavretých nádobách bez prístupu kyslíka počas 60 až 250 hodín v závislosti od konkrétnej metódy spracovania. Pri karbonickej macerácii boli kávové plody fermentované v prostredí s vysokým obsahom oxidu uhličitého, čo viedlo k výrazným metabolickým zmenám v priebehu fermentácie.

Praženie kávových zŕn bolo realizované pri konečnej teplote približne 204 °C počas 5 minút, pričom vývojová fáza po prvom prasknutí trvala približne 30 sekúnd (Beberry, Praha, Česká republika). Ťažké kovy (meď, olovo, chróm, kadmium, nikel, hliník a ortuť) boli identifikované pomocou viacprvkovej techniky hmotnostnej spektrometrie s indukčne viazanou plazmou(Agilent ICP-MS 7900, Santa Clara, CA, USA). Podmienky ICP-MS boli: RF výkon, 1370 W; RF prispôsobenie, 1,58 V; prietok plazmového plynu (Ar), 15 l/min; hĺbka odberu vzoriek, 7,9 mm; prietok nosného plynu (Ar), 1,22 l/min; čerpadlo rozprašovača, 0,1 ot./s; a teplota rozprašovacej komory 2 °C.

Olej z kávy bol extrahovaný Soxhletovou metódou (Randallova extrakcia) v rozpúšťadlovom extraktore Ser 148 (Velp Scientifica, Usmate, Taliansko). Metylestery mastných kyselín získané z extraktov zelených kávových zŕn boli analyzované pomocou GC-MS. Spôsob prípravy a separácie metylesterov mastných kyselín (FAME) bol podľa Grajzer a kol. (2021). Identifikácia mastných kyselín sa uskutočnila pomocou externých štandardov FAME (obrázok č.1).

Obsah bioaktívnych zlúčenín bol stanovený pomocou HPLC Ultimate 3000 (ThermoFisher Scientific, Waltham, USA) a spektrofotometrických metód, ktoré umožnili kvantifikáciu fenolických zlúčenín, kofeínu a antioxidantov.

Senzorické hodnotenie vzoriek bolo vykonané podľa štandardizovaných protokolov Specialty Coffee Association, pričom hodnotitelia posudzovali atribúty ako aróma, chuť, dochuť, kyslosť, telo a celkové skóre (obrázok č. 2).

Dáta boli analyzované pomocou softvéru GraphPad Prism 10.4.1 (627) 2024.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky poukázali na významný vplyv krajiny pôvodu a technologických postupov spracovania na chemické zloženie a bezpečnostné parametre kávových zŕn. Vo všetkých analyzovaných vzorkách boli dominantnými mastnými kyselinami palmitová (C16:0) a linolová kyselina (C18:2), čo potvrdzuje ich význam ako základných lipidových zložiek kávového oleja. Vzorky z Guatemaly spracované mokrou metódou vykazovali približne 33,96 % palmitovej kyseliny a 47,04 % linolovej kyseliny, čo potvrdzuje stabilitu lipidového profilu pri spontánnych metódach spracovania. Podobné zastúpenie mastných kyselín v *C. arabica* uvádzajú aj Mehari a kol. (2019), ktorí zdôrazňujú význam lipidovej frakcie pri stabilite arómy a ochrane aromatických zlúčenín počas praženia. Výraznejšie rozdiely v lipidovom profile boli pozorované pri indukovaných fermentačných technikách. Vzorky z Peru spracované karbonickou macerácioU vykazovali najvyšší obsah linolovej kyseliny spomedzi analyzovaných vzoriek, zatiaľ čo prirodzene spracované vzorky z Peru vykazovali vyšší podiel palmitovej kyseliny. V prípade vzoriek z Rwandy fermentovaných počas 100 hodín bol zaznamenaný zvýšený obsah palmitovej a stearovej kyseliny v porovnaní s prirodzene spracovanými vzorkami, čo poukazuje na význam dĺžky fermentácie pri modifikácii lipidového profilu. Podobné zmeny v chemickom zložení počas fermentácie opisujú Joët a kol. (2010), ktorí uvádzajú, že mikrobiálne procesy počas pozberového spracovania môžu významne ovplyvniť lipidový metabolizmus a následnú tvorbu aromatických zlúčenín.

Senzorické hodnotenie potvrdilo vysokú kvalitu analyzovaných káv, pričom všetky vzorky dosiahli skóre vyššie ako 80 bodov, čím spĺňali kritériá pre kategóriu výberovej kávy. Najvyššie skóre medzi spontánne spracovanými vzorkami dosiahla Keňa spracovaná mokrou metódou s hodnotou 88,75 bodu, zatiaľ čo etiópska káva spracovaná rovnakou metódou dosiahla 87,75 bodu. Medzi fermentovanými vzorkami dosahovali vysoké hodnoty napríklad Guatemala spracovaná anaeróbnou fermentáciou a Peru karbonickou macerácioU, pričom celkové skóre sa pohybovalo v rozmedzí približne 87 až 88 bodov. Tieto výsledky sú v súlade so zisteniami Toledo a kol. (2016), ktorí uvádzajú, že moderné fermentačné techniky vedú k zvýšeniu komplexnosti arómy a zlepšeniu senzorických vlastností kávy.

Analýza obsahu ťažkých kovov preukázala prítomnosť viacerých prvkov vrátane Al, Hg, Ni, Cr, Cd, Cu a Pb, pričom ich koncentrácie sa líšili v závislosti od krajiny pôvodu a

spôsobu spracovania. Najvyšší obsah kadmia bol zaznamenaný vo vzorkách z Guatemaly spracovaných karbonickou macerâciou, kde koncentrácia dosiahla hodnotu 0,062 mg/kg. Naopak najvyšší obsah olova bol zistený vo vzorkách etiópskej kávy spracovanej mokrou metódou, kde koncentrácia dosiahla hodnotu 0,252 mg/kg. Zvýšené hodnoty ortuti boli pozorované najmä vo fermentovaných vzorkách z Rwandy a Guatemaly, čo poukazuje na možný vplyv fermentačných podmienok na mobilitu kovov v zrne. Podobné regionálne rozdiely v obsahu ťažkých kovov v káve uvádzajú aj Jeszka-Skowron a kol., 2016, Şemen a kol. 2017), ktorí zdôrazňujú význam environmentálnych podmienok a kvality pôdy pri akumulácii kovov v rastlinách.

Významným parametrom bezpečnosti praženej kávy bol obsah akrylamidu, ktorý vzniká počas Maillardových reakcií pri vysokých teplotách. Vo všeobecnosti boli vyššie koncentrácie zaznamenané pri svetlom pražení, zatiaľ čo tmavé praženie viedlo k ich postupnému poklesu. Napríklad vo vzorkách z Rwandy spracovaných prirodzenou metódou bol zaznamenaný pokles obsahu akrylamidu z približne 173 µg/kg pri svetlom pražení na 83 µg/kg pri tmavom pražení. Podobne vo vzorkách z Guatemaly spracovaných mokrou metódou bol obsah akrylamidu po tmavom pražení približne 53 µg/kg, zatiaľ čo anaeróbne fermentované vzorky vykazovali ešte nižšie hodnoty približne 39 až 30 µg/kg. Tento trend potvrdzujú aj Bagdonaite a kol. (2015), ktorí uvádzajú, že degradácia akrylamidu je výrazne závislá od teploty a času praženia. Zaujímavým zistením bolo, že zníženie obsahu akrylamidu pri vyšších stupňoch praženia bolo sprevádzané zachovaním alebo dokonca zvýšením antioxidačnej aktivity niektorých vzoriek. Tento jav bol pozorovaný najmä pri prirodzene spracovaných vzorkách z Peru a Javy, čo naznačuje, že optimalizácia pražiacich podmienok môže viesť k zníženiu obsahu kontaminantov bez negatívneho vplyvu na nutričnú hodnotu kávy. Podobný efekt zvýšenia antioxidačnej aktivity pri tmavšom pražení opisuje Farah (2012).

Celkové výsledky (tabuľka 1 a 2) potvrdzujú, že kombinované hodnotenie lipidového profilu, obsahu bioaktívnych zlúčenín, koncentrácií ťažkých kovov a obsahu akrylamidu predstavuje komplexný prístup k hodnoteniu kvality a bezpečnosti špeciálnych káv. Moderné fermentačné techniky spolu s optimalizovanými podmienkami praženia umožňujú nielen modifikáciu senzorických vlastností, ale aj kontrolu obsahu potenciálne rizikových zlúčenín, čím prispievajú k výrobe bezpečných a vysoko kvalitných produktov, čo potvrdzujú aj viaceré súčasné štúdie zamerané na chemickú charakterizáciu kávy (Farah, 2012, Toledo a kol., 2016; Barbosa a kol., 2019).

Tabuľka č. 1, Rozsah nameraných hodnôt vybraných parametrov v zelených kávach.

	Spracovanie				
	Suché	Premývané	Medové	Anaerobná fermentácia	Karbonická macerácia
Kvalitatívne parameter					
TP (µg GAE/mg)	21,2-23,5	22,4-25,1	17,5-18,0	17,4-19,7	18,7-19,9
TF (µg QE/mg)	1,84-1,95	2,03-2,19	1,63-1,65	1,68-2,08	1,73-1,86
AC (µg TE/mg)	62,8-101	52,6-58,2	47,4-48,2	57,6-73,9	82,3-84,1
5-O-CQA (µg/1000 µg)	56,6-59,1	55,0-58,3	52,4-56,9	53,1-66,5	61,3-62,0
CAF (µg/1000 µg)	52,5-58,4	58,5-59,5	53,0-54,7	43,8-60,2	65,4-66,2
Obsah ťažkých kovov (mg/kg)					
Hg	< 0,002	< 0,002	< 0,001	< 0,001	< 0,015
Al	0,18-15,3	0,10-15,5	0,60-0,62	0,12-1,49	0,10-0,20
Ni	0,41-0,97	0,14-0,792	0,45-0,66	0,11-0,792	0,11-0,172
Cr	0,06-0,36	0,17-0,45	0,20-0,28	0,01-0,06	0,02-0,09
Cd	Nd-0,006	0,004-0,01	0,01-0,03	0,005-0,01	0,04-0,06
Cu	2,94-11,1	6,80-11,9	7,04-10,2	6,01-11,33	5,51-10,2
Pb	0,03-0,06	0,03-0,06	0,091	0,07-0,20	0,02-0,09
Zloženie mastných kyselín (% FAME)					
C16:0	35,2-39,0	34,0-35,4	33,5-34,5	33,0-34,3	34,3-34,8
C18:0	6,12-7,06	6,29-8,21	6,75-7,64	6,76-8,06	6,64-6,88
C18:1n9	7,41-9,22	8,52-9,49	9,96-10,5	6,87-11,7	8,30-8,92
C18:2n6	45,3-46,4	46,8-47,2	46,0-46,1	43,3-46,5	46,6-48,0
C18:3n3	Nd-1,48	1,11-1,21	1,33-1,47	1,44-1,53	Nd-1,12
C20:0	1,96-2,48	1,83-2,36	2,24-2,27	1,83-2,36	2,06-2,24
Výťažok MK (%)	12,1-13,7	12,5-16,6	15,2-15,3	13,7-14,7	14,4-14,5

TP = celkové polyfenoly, TF = celkové flavonoidy, AC = antioxidačná kapacita, CAF = kofeín, 5-O-CQA = Kyselina 5-O-kofeoylchínová, GAE = ekvivalent kyseliny galovej, QE = ekvivalent kvercetínu, TE = ekvivalent troloxu, FAME = metylestery mastných kyselín, MK = mastné kyseliny, Nd = nezistené.

Tabuľka č. 2, Rozsah nameraných hodnôt vybraných parametrov v pražených kávach.

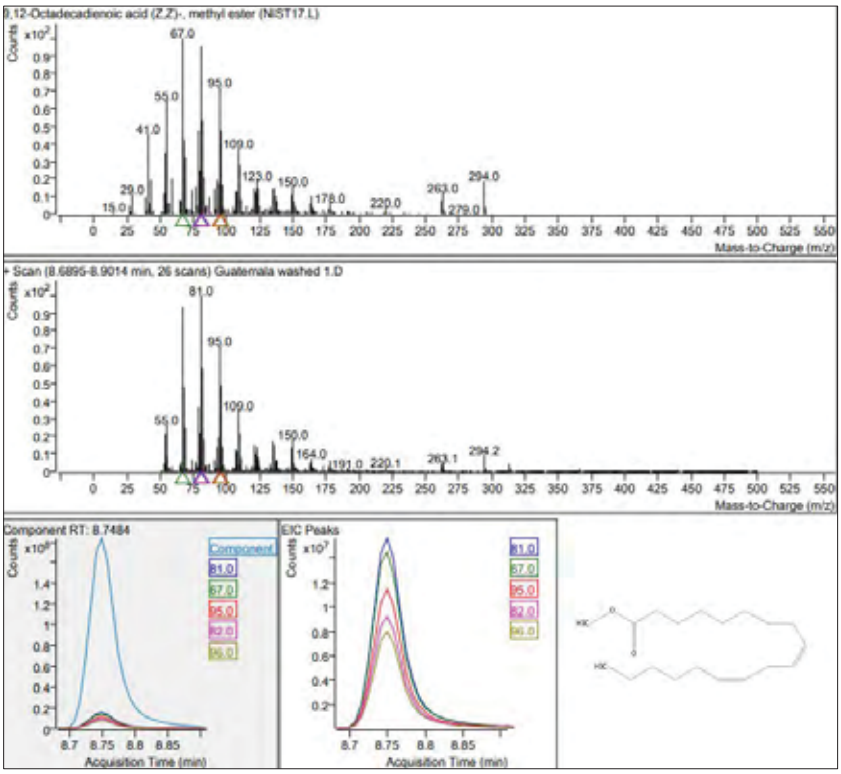
	Spracovanie				
	Suché	Premývané	Medové	Anaerobná fermentácia	Karbonická macerácia
Kvalitatívne parametere					
TP (µg GAE/mg)	25,3-39,6	26,2-40,6	26,3-37,5	27,3-39,5	23,3-41,0
TF (µg QE/mg)	4,20-4,79	2,32-2,82	3,02-3,43	4,51-4,74	2,11-2,22
AC (µg TE/mg)	20,3-32,1	22,6-29,4	22,4-23,9	21,1-29,9	26,1-30,8
5-O-CQA (µg/1000 µg)	50,3-54,6	47,2-53,3	47,7-58,6	52,7-78,4	47,7-58,6
CAF (µg/1000 µg)	66,2-71,5	78,2-79,7	84,2-91,3	67,8-85,6	54,2-65,9
AA (µg/kg)	49-173	53-79	39-74	30-83	30-71
Obsah ťažkých kovov (mg/kg)					
Hg	< 0,001	< 0,005	< 0,001	< 0,006	< 0,013
Al	0,71-13,5	9,2-29,4	0,24-1,52	0,73-19,8	0,75-16,4
Ni	0,35-0,54	0,49-1,16	0,42-0,91	0,42-1,42	0,43-0,9
Cr	0,06-0,33	0,08-0,20	0,10-0,12	0,06-0,45	0,10-0,13
Cd	Nd-0,01	Nd-0,01	0,01-0,03	Nd-0,02	Nd
Cu	9,79-12,2	7,46-12,3	10,0-10,6	8,33-12,10	10,6-11,5
Pb	0,03-0,12	0,05-0,25	0,10-0,11	0,04-0,22	0,04-0,06

TP = celkové polyfenoly, TF = celkové flavonoidy, AC = antioxidačná kapacita, CAF = kofeín, AA = akrylamid, 5-O-CQA = Kyselina 5-O-kofeoylchínová, GAE = ekvivalent kyseliny galovej, QE = ekvivalent kvercetínu, TE = ekvivalent troloxu, Nd = nezistené.

ZÁVER

Metódy spracovania a praženie významne ovplyvňujú chemické zloženie, senzorické vlastnosti a bezpečnostné parametre výberových káv. Naše výsledky potvrdili stabilitu lipidového profilu s dominantným zastúpením palmitovej a linolovej kyseliny. Obsah ťažkých kovov a akrylamidu zostal v bezpečných limitoch. Komplexné hodnotenie chemických a senzorických parametrov umožňuje efektívnu diferenciáciu kvality kávy podľa technologického spracovania. Štúdia preukázala, že všetky výberové kávy boli dobrým zdrojom antioxidantov bez ohľadu na spôsob spracovania, stupeň praženia alebo pôvod. Väčšina testovaných káv patrí medzi najlepšie výberové kávy na svetovom trhu.

Obrázok č. 1, Chromatogram metylesterov mastných kyselín.



Obrázok č. 2, Senzorické hodnotenie vzoriek.



POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená vedeckou grantovou agentúrou Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu SR a Slovenskej akadémie vied (VEGA č. 1/0038/25) a EÚ NextGeneration EU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti SR v rámci projektu č. 09I03-03-V05-00017.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BAGDONAITE, K.; DERLER, K.; MURKOVIC, M. Formation and degradation of acrylamide during roasting of coffee. In *Food Chemistry*. ISSN 0308-8146, 2015, vol. 168, p. 90–96.
2. BARBOSA, J.N.; BOREM, F.M.; CIRILLO, M.A.; MALTA, M. R.; ALVARENGA, A.A.; ALVES, H.M.R. Coffee quality and its interactions with environmental factors in Minas Gerais. In *Brazilian Journal of Agricultural Sciences.* ISSN 1981-1160, 2012, vol. 4(5), 181–190.
3. BONILLA, L.F.; SANDOVAL-ALDANA, A.; DAZA, L.D. Acrylamide: an approach to its knowledge and importance for roasted coffee. In Food Chemistry. ISSN 0308-8146, 2025, vol. 466, p. 142247.
4. FARAH, A. Coffee constituents. In: CHU, Y.-F., ed. Coffee: *Emerging Health Effects and Disease Prevention*. Oxford: Wiley-Blackwell, 2012, p. 21–58. ISBN 978-0-470-95878-1.
5. GRAJZER, M.; TYBURSKI, M.; KRÓL, A.; KRAWCZYK, K.; ZALEWSKI, I. Chemistry, oxidative stability and bioactivity of oil extracted from Rosa rugosa (Thunb.) seeds by supercritical carbon dioxide. In *Food Chemistry*. ISSN 0308-8146, 2021, vol. 335, p. 127649.
6. JESZKA-SKOWRON, M.; STANISZ, E.; DE PEÑA, M. P. Relationship between antioxidant capacity, chlorogenic acids and elemental composition of green coffee. In *LWT - Food Science and Technology*. ISSN 0023-6438, 2016, vol. 73, p. 243–250.
7. JOËT, T.; LENOIR, J.; HARMON, C.; LORENZI, R.; LAMY, C.; VALE, A.; DUSSERT, S.; ETIENNE, H. Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green Arabica coffee beans. In *Food Chemistry*. ISSN 0308-8146, 2010, vol. 118, no. 3, p. 693–701.
8. LINGLE, T. R.; MENON, S. N. Cupping and grading—discovering character and quality. In: FOLMER, B., ed. *The Craft and Science of Coffee*. Cambridge, Massachusetts: Academic Press, 2017, p. 181–203.
9. MEHARI, B.; REDI-ABSHIRO, M.; CHANDRAVANSHI, B. S. GC-MS profiling of fatty acids in green coffee (Coffea arabica L.) beans and chemometric modeling for tracing geographical origins from Ethiopia. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*. ISSN 0022-5142, 2019, vol. 99, p. 3811–3823.
10. SILVA, A. C. R.; LIMA, M. S.; NUNES, C. A.; ALVES, A. P. C.; GOMES, F. S.; TEIXEIRA, A. A. Comprehensive lipid analysis of green Arabica coffee beans by LC-HRMS/MS. In *Food Research International*. ISSN 0963-9969, 2020, vol. 137, p. 109727.

11. ŞEMEN, S.; MERAL, R.; KARAKAYA, S. Elemental composition of green coffee and its contribution to dietary intake. In *Food Chemistry*. ISSN 0308-8146, 2017, vol. 215, p. 92–100.
12. TOLEDO, P. R. A. B.; PEIXOTO, R. R. A.; PEREIRA, R. G. F. A. Multivariate analysis in the differentiation of coffee samples based on chemical composition. In *Food Research International*. ISSN 0963-9969, 2016, vol. 89, p. 103–110.
13. VÁRADY, M.; TAUCHEN, J.; FRAŇKOVÁ, A.; KLOUČEK, P.; POPELKA, P. 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 0023-6438, 2022, vol. 172, p. 114245.
14. 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, 2024a, vol. 10, no. 3, p. e25563.
15. VÁRADY, M.; GRAJZER, M.; ZALEWSKI, I.; TAUCHEN, J.; FRAŇKOVÁ, A.; KLOUČEK, P.; POPELKA, P. Fatty acid composition and sensory properties as descriptors of differentiation of specialty coffees based on spontaneous and induced processing methods. In *Applied Food Research*. ISSN 2772-5022, 2024b, vol. 4, p. 100512.
16. VÁRADY, M.; TAUCHEN, J.; FRAŇKOVÁ, A.; KLOUČEK, P.; VLČÁKOVÁ, M.; REITZNEROVÁ, A.; MARCINČÁK, S.; POPELKA, P. Impact of processing and roasting on quality parameters of Guatemalan, Peruvian, Rwandan, and Javanese specialty coffees. *In Journal of Food Composition and Analysis*. ISSN 0889-1575, 2026, vol. 150, p. 108912.

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

VÝZNAM SANITÁCIE Z HĽADISKA BEZPEČNEJ VÝROBY MLIEČNYCH PODUKTOV

THE IMPORTANCE OF SANITATION IN TERMS OF DAIRY PRODUCTS SAFE PRODUCTION

Veszelits Laktičová Katarína[1], Vargová Mária[1], Zahumenská Jana[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

Sanitation in food processing plant refers to the creation and maintenance of sanitary conditions that reduce the risk of foodborne illnesses in food processing plants. Pathogens and other food safety hazards may persist on contact surfaces, equipment, and utensils. Without proper sanitation of surfaces, these pathogens can result in cross-contamination and potentially cause a foodborne disease outbreak. In the work, we focused on the sanitation importance in terms of dairy products safe production. Based on the obtained microbiological swabs from the evaluated surfaces in selected parts of the operation, we can conclude that the hygiene level of monitored surfaces was at a good level. Disinfection of the surfaces was sufficient with the exception of the cottage cheese vat surface, where we recorded 25 CFU of total number of microorganisms after disinfection, and 40 CFU before the start of production. If cleaning and disinfection are not carried out thoroughly, biofilm formation can occur, which will have a negative impact, especially on food production. Sanitation is a fundamental aspect of food safety, as safe food cannot be produced in the absence of hygienic conditions.

Kľúčové slová: hygiene, disinfection, microorganisms, food industry, milk products

ÚVOD

Získavanie a spracovanie mlieka na Slovensku má dlhú tradíciu a radí sa k významným výrobným odvetviam. Potravinová bezpečnosť vo výrobe konzumného mlieka a mliečnych výrobkov je prioritou mliekarenského priemyslu na Slovensku (Blcháč, 2004). Mliekarenský priemysel je kľúčovou súčasťou globálnych dodávok potravín a je známy svojou rozmanitou škálou produktov vrátane mlieka, syra, jogurtu a iných odvodených produktov. Zabezpečenie bezpečnosti a kvality týchto produktov je prvoradé vzhľadom na potenciál mikrobiálnej a

chemickej kontaminácie, ku ktorej môže dôjsť na viacerých miestach výrobného a dodávateľského reťazca. Tieto kontaminanty nielenže predstavujú hrozbu pre verejné zdravie, ale prinášajú aj značnú ekonomickú záťaž v dôsledku sťahovania produktov z trhu, straty dôvery spotrebiteľov a regulačných sankcií (Spruk, 2023). Hygienický stav jednotlivých plôch a zariadení, kde sa spracovávajú potraviny, hrá zásadnú úlohu v mikrobiálnej kontaminácii potravín, ktorá má priamy vplyv na kvalitu potravín a zdravie spotrebiteľov. Prítomnosť koliformných baktérií na povrchoch technologických zariadení poukazuje na prítomnosť iných systémových patogénov, ako je Salmonella, Shigella a *E. coli O157:H7*, ktoré by mohli spôsobiť závažné infekcie. Nedostatočné čistenie a sanitačné postupy nemôžu odstrániť zadržané zvyšky potravín na povrchoch, ktoré môžu pomôcť pri tvorbe mikrobiálnych biofilmov (Razim, 2016).

Biofilmy sú štruktúrované bakteriálne spoločenstvá vnorené v samo produkovanej polymérnej matrici, ktorá poskytuje špecifické výhody pre daný druh a robí ho odolným voči metódam čistenia a dezinfekcie (Flemming et al., 2016). Biofilmy tiež prispievajú k jamkovej korózii zariadení a potrubí v mliekarenskom priemysle (Lv et al., 2024). Hlavným problémom však je, že mliečne biofilmy prostredníctvom medzidruhových aj vnútro druhových interakcií, vrátane laboratórnych baktérií, patogénnych baktérií a baktérií tvoriacich spóry (Alonso et al., 2022), slúžia ako zdroje kontaminácie mlieka a výrobkov. Mliečne biofilmy môžu skutočne obsahovať ľudské patogény, ako sú *Bacillus c*ereus, *Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Salmonella enterica a Staphylococcus aureus* (Galié et al., 2018).

Vplyv dezinfekcie na hygienu rôznych povrchov v jednotlivých častiach prevádzky má svoje opodstatnenie z hľadiska prevencie pred vznikom alimentárnych nákaz. Hygienické požiadavky na jednotlivé druhy zariadení potravinárskej prevádzky sú rôzne, preto je potrebné ich dodržiavať na všetkých stupňoch výroby (Zeleňáková, 2008). Golian et al. (2003) popisujú, že ak nie sú čistenie a dezinfekcia účinné, je treba venovať pozornosť vhodnosti používaných prostriedkov na túto činnosť, ale i postupom vlastného vykonania. V práci sme sa zamerali na význam sanitácie z hľadiska hygieny povrchov, ktorá môže ovplyvniť bezpečnú výrobu mliečnych produktov.

MATERIÁL A METÓDY

Monitorovaná mliekareň patrí do skupiny veľkých prevádzok, s výrobou širokého sortimentu mliečnych výrobkov, predovšetkým kyslomliečnych výrobkov, špeciálne jogurtov, ako aj tvarohu a smotán. Svoju činnosť dynamicky rozšírila aj o produkciu čerstvých a zrejúcich syrov. Neoddeliteľnou súčasťou výrobnej činnosti, je spracovanie mlieka na sušené mliečne výrobky a výroba masla. Základom činnosti v monitorovanej prevádzke sú vlastné mliečne výrobky,

s ktorými úspešne obchoduje nielen na tuzemskom, ale i zahraničnom trhu. V našej práci bola skúmaná a analyzovaná hygienická úroveň vybraných povrchov ako aj povrchov technologických zariadení v priestoroch tvarohárne a výroby jogurtov pomocou mikrobiologických sterov počas výroby, po dezinfekcii a pred začatím výroby. Mikrobiologické stery boli odobraté klasickou mikrobiologickou metódou. Stery sa odoberali z rôznych povrchov (stena, podlaha, manipulačný stôl, dvere, technologické zariadenia). Mikrobiologické stery boli odobraté pomocou 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. Jednotlivé druhy mikroorganizmov sú vyjadrené v KTJ (kolónie tvoriace jednotky). Získané výsledky sú aritmetickým priemerom z 5 odobratých sterov. Hodnotená mliekareň má dôkladne vypracovaný sanitačný program, ktorý je neoddeliteľnou súčasťou systému HACCP. Všetky priestory a strojové vybavenie sa vždy po výrobnom procese čistia a dezinfikujú. V mliekarenskom závode je dôležitá obmena alkalických a kyslých prípravkov. Sledovaná prevádzka v procese čistenia a dezinfekcie využíva CIP (cleaning in place) systém s nasledujúcim programom. Po každej výrobe sa vykoná oplach vodou zahriatou na 50° C , následne cez systém potrubí vháňa NaOH, ktorý v ňom stojí do nasledujúceho dňa. Ráno sa potrubie premýva HNO_3 s dobou pôsobenia 10 - 15 minút, po uplynutí časovej expozície sa dôkladne opláchne vodou s teplotou minimálne 50° C. Všetky rozoberateľné časti sa po mechanickom umytí vlažnou vodou ponoria do Pedoxu na 15 - 30 minút, ten sa v pravidelných intervaloch obmieňa s chlórnanom sodným, aby nedošlo k vytvoreniu rezistencie. Steny a podlahy vo všetkých častiach mliekarenskej prevádzky sa každodenne mechanicky čistia a dezinfikujú použitím prípravku SAVO s koncentráciou 10 % a časovou expozíciou 30 minút.

VÝSLEDKY

V tabuľke č.1 sú zaznamenané výsledky kultivácií mikrobiologických sterov odobratých zo sledovaných povrchov v časti výroby tvarohu. Na základe výsledkov možno konštatovať, že počty sledovaných druhov mikroorganizmov vyhovujú požiadavkám stanoveným pre bezpečné prostredie výroby potravín a dezinfekčný proces bol účinný.

Tabuľka č. 1: Priemerné hodnoty mikroorganizmov na testovaných povrchoch v časti výroby tvarohu

MIESTO ODBERU	POČAS VÝROBY			PO DEZINFEKCII			PRED ZAČATÍM VÝROBY		
	CPM Ø (KTJ)	KB Ø (KTJ)	Plesne Ø (KTJ)	CPM Ø (KTJ)	KB Ø (KTJ)	Plesne Ø (KTJ)	CPM Ø (KTJ)	KB Ø (KTJ)	Plesne Ø (KTJ)
Podlaha	3	0	0	0	0	0	0	0	0
Stena	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Manipulačný stôl	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dvere	1	0	0	0	0	0	0	0	0

V tabuľke č.2 je vyjadrený stav hygienickej úrovne jednotlivých monitorovaných povrchov technologických zariadení a baliaceho materiálu finálnych výrobkov. Získané výsledky poukazujú na dobrý hygienický stav povrchov monitorovaných technológií ako aj obalového materiálu s výnimkou povrchu tvarohárskej vane, kde sme zaznamenali 25 KTJ celkových počtov mikroorganizmov po dezinfekcii. Tento stav sa zhoršil do začatia výroby, kedy sme na povrchu tvarohárskej vane detekovali 40 KTJ CPM.

Tabuľka č. 2: Priemerné hodnoty mikroorganizmov na testovaných technologických zariadeniach v časti výroby tvarohu

MIESTO ODBERU	POČAS VÝROBY			PO DEZINFEKCII			PRED ZAČATÍM VÝROBY		
	CPM Ø (KTJ)	KB Ø (KTJ)	Plesne Ø (KTJ)	CPM Ø (KTJ)	KB Ø (KTJ)	Plesne Ø (KTJ)	CPM Ø (KTJ)	KB Ø (KTJ)	Plesne Ø (KTJ)
Tvarohárska vaňa	12	0	0	35	0	0	40	0	0
Plniaci stroj	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Balička	0	0	0		0	0	0	0	0
Obalový materiál	nedezinfikuje sa			0	0	0	nedezinfikuje sa		

Priemerné hodnoty mikroorganizmov na vybraných testovaných povrchoch v časti výroby jogurtov sú zaznamenané v tabuľke č. 3. Stav monitorovaných povrchov bol na dobrej hygienickej úrovni. Ojedinelý výskyt CPM sme zaznamenali na podlahe počas výroby. Po dezinfekcii, hodnotené počty mikroorganizmov na podlahe klesli na nulu.

Tabuľka č. 3: Priemerné hodnoty mikroorganizmov na testovaných povrchoch v časti výroby jogurtov

MIESTO ODBERU	POČASVÝROBY			PO DEZINFEKCII			PRED ZAČATÍM VÝROBY		
	CPM Ø (KTJ)	KB Ø (KTJ)	Plesne Ø (KTJ)	CPM Ø (KTJ)	KB Ø (KTJ)	Plesne Ø (KTJ)	CPM Ø (KTJ)	KB Ø (KTJ)	Plesne Ø (KTJ)
Podlaha	15	0	1	0	0	0	0	0	0
Stena	4	0	0	5	0	0	0	0	0
Manipulačný stôl	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Dvere	0	0	0	0	0	0	0	0	0

V tabuľke č. 4 sú uvedené priemerné hodnoty mikroorganizmov zo sledovaných technologických zariadeniach v časti výroby jogurtov. Získané výsledky poukazujú na mikrobiologickú čistotu sledovaných povrchov a efektívne prevedenú dezinfekciu.

Tabuľka č. 4: Priemerné hodnoty mikroorganizmov na testovaných technologických zariadeniach v časti výroby jogurtov

MIESTO ODBERU	POČAS VÝROBY			PO DEZINFEKCII			PRED ZAČATÍM VÝROBY		
	CPM Ø (KTJ)	KB Ø (KTJ)	Plesne Ø (KTJ)	CPM Ø (KTJ)	KB Ø (KTJ)	Plesne Ø (KTJ)	CPM Ø (KTJ)	KB Ø (KTJ)	Plesne Ø (KTJ)
Plnička jogurtov	3	0	0	0	0	0	0	0	0
Plnička džemu	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Dopravný pás	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Viečko jogurtov	nedezinfikuje sa			0	0	0	nedezinfikuje sa		

DISKUSIA

Hygienické opatrenia v mliekarskom priemysle sú navrhnuté tak, aby zabránili zavlečeniu a šíreniu patogénov a kontaminantov od počiatočného dojenia kráv až po spracovanie a distribúciu hotových produktov. Účinná hygiena je kľúčová v každom kroku, ovplyvňovaná faktormi, ako je hygiena fariem, zdravie zvierat, kvalita krmiva a čistota spracovateľských zariadení (Spruk, 2023). Napriek všeobecne klesajúcej tendencii alimentárnych ochorení, spoločnosť ešte stále zaskakujú hromadné ochorenia, s ktorými sa nedokáže k vlastnej spokojnosti vysporiadať (Normanno 2005; Valík, 2009).

Na základe našich interpretovaných výsledkov z monitoringu hygieny povrchov v sledovanej mliekarenskej prevádzke, môžeme konštatovať, že sanitácia má svoje opodstatnenie z hľadiska

nielen čistoty jednotlivých povrchov ale aj povrchov technológií, ktoré prichádzajú do kontaktu s potravinami pre zabezpečenie bezpečnej výroby mliečnych produktov. Získané výsledky z mikrobiologických sterov odobratých z rôznych povrchov vrátane výrobných technológií poukazovali na dostatočnú hygienu povrchov v závode, s výnimkou povrchu tvarohárskej vane, kde sme po dezinfekcii detekovali 25 KTJ celkových počtov mikroorganizmov. Mikroorganizmy nachádzajúce sa vo výrobných zariadeniach tvoria súčasť mikrobiálnej kontaminácie hotového výrobku. Príčinou ich výskytu môže byť nedostatočné čistenie a dezinfekcia povrchov, vytvorenie biofilmu a pretrvávanie mikroorganizmov, ktoré sú pre čistenie a dezinfekciu ťažko dostupné (Čapla et al., 2009). Preto sa kladie veľký dôraz na celý komplex zabezpečenia kvality, vrátane hygieny výroby (Lopašovský a kol., 2006).

ZÁVER

Vplyv sanitácie ako aj dodržiavanie všetkých hygienických štandárd v mliekarenskom závode má svoje opodstatnenie z hľadiska bezpečnej výroby mliekarenských produktov a prevencie pred vznikom alimentárnych nákaz. Výsledky získané z monitoringu hygieny povrchov poukazujú na vyhovujúcu hygienickú úroveň sledovaných povrchov, povrchov výrobných technológii v hodnotených častiach výroby tvarohu a jogurtov, s výnimkou povrchu tvarohárskej vane, kde bolo zaznamenaných 25 KTJ celkových počtov mikroorganizmov po dezinfekcii. Tento stav sa zmenil a do začatia výroby sa dokonca zvýšil na 40 KTJ CPM. Pri nedodržaní hygieny prevádzky alebo pri nedostatočnom čistení, prípadne dezinfekcii, je nutné počítať s negatívnymi vplyvmi na vyrobené potraviny. Nápravné opatrenia sú nevyhnutnosťou pre ďalšie zabezpečenie hygienickej výroby mliečnych produktov.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Alonso, V. P. P., Harada, A. M. M. and Kabuk D. Y. I. Competitive and/or cooperative interactions of Listeria monocytogenes with Bacillus cereus in dual-species biofilm formation. In *Front. Microbiol.* 2020, vol. 11, p. 177.
2. Blcháč, J. Súčasná situácia slovenského mliekarstva. In *Mliekarenstvo,* 2004, roč. 34, č. 1, s. 28-32.
3. Čapla, J., Zajac, P., Golian, J., Vietoris, V. Tvorba biofilmov na povrchoch z nerezovej ocele v potravinárskom priemysle. In *Potravinárstvo*, 2009, roč. 3, č. 1.
4. Flemming, H.C., J. Wingender, U. Szewzyk, P. Steinberg, S. A. Rice, and S. Kjelleberg. Biofilms. An emergent form of bacte rial life. In *Nat. Rev. Microbiol.,* 2016, vol. 14, p. 563–575.

5. Galié, S., C., García-Gutiérrez, E. M., Miguélez, C. J., Villar, and F. Lombó. Biofilms in the food industry: Health aspects and control methods. In *Front. Microbiol*., 2018, vol. 9, p. 898.
6. Golian, J., Popelka, P. et al. Sanitácia v potravinárstve. SPU, Nitra, 2003, s. 96 - 103, ISBN 80-8069-267- X.
7. ISO Standard 18593-2004: Microbiology of food and animal feeding stuffs: Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.
8. ISO Standard 21527-2008: Microbiology of food and animal feeding stuffs: Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds.
9. ISO Standard 4832-2006: Microbiology of food and animal feeding stuffs: Horizontal method or the enumeration of coliforms.
10. Lopašovská, J., Petríková, J., Koreňová, J., Stoleřová, K. Monitoring úrovne hygieny a sanitácie v malých potravinárskych prevádzkach. In*:* Zborník prác z medzinárodnej vedeckej konferencie „Bezpečnosť a kontrola potravín“, Nitra, 2006, ISBN 80-8069-682-0, s. 66.
11. Normanno G., Firinu A., Virgilio S., Mula G., Dam-brosio A., Poggiu A., Decastelli L., Mioni R., Scuota S., Bolzoni G., Di Giannatale E., Salinetti A. P., La Salandra G., Bartoli M., Zuccon F., Pirino T., Sias S., Parisi A., Quaglia N. C., Celano G. V. Coagulase-positive Staphylococci and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. In *Int. J. Food Microbiol*., 2005, vol. 98, issue 1, p. 73.
12. Razim A., Hayat A., Madiha F., Nomanc M. Detection and enumeration of Enteric bacteria associated with food handlers and surfaces of food manufacturing industry located in Hub city, Pakistan. In *World Sci. News*, 2016, vol. 49, no. 2, p. 192.
13. Spruk, V. Evaluation of sanitary measures in the dairy industry. In *International Journal of Food Science and Nutrition*, 2023, vol. 8, Issue 4, p. 50-51.
14. Valík Ľ., Prachar V. Pôvodcovia ochorení z požívatín a minimalizácia ich rizika. STU, Bratislava, 2009. s., ISBN
15. Zeleňáková L., Pauková J. Application of ELISA tests for the detection of goat milk in sheep milk. In *Potravinárstvo,* 2008, vol. 2, s. 32.

Kontaktná adresa: MVDr. Katarína Veszelits Laktičová, PhD., Department of public veterinary medicine and animal welfare, Komeského 73, 04181 Košice, Slovak republic. E-mail: Katarina.VeszelitsLakticova@uvlf.sk

REOLOGICKÉ VLASTNOSTI LEPKU AKO INDIKÁTOR TECHNOLOGICKEJ KVALITY MÚKY

RHEOLOGICAL PROPERTIES OF GLUTEN AS INDICATORS OF FLOUR TECHNOLOGICAL QUALITY

Výrostková Jana, Zahumenská Jana, Kováčová Mariana, Dudriková Eva, Regecová Ivana, Mastiľák Michaela

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

ABSTRACT

This study focuses on evaluating the effect of storage on the rheological properties of gluten as indicators of the technological quality of wheat flours. Three types of wheat flour (refined wheat flour T650, semi-coarse flour, and coarse flour) were analyzed after 60 days of storage under two different conditions: in original paper packaging and in sealed plastic containers. The evaluated parameters included gluten elasticity and extensibility, determined according to STN EN ISO 21415-1.

The results demonstrated a deterioration of gluten rheological properties in all analyzed samples due to storage. Gluten extensibility decreased from initial values of 12.6–14.6 cm to 8.3–12.6 cm in paper packaging (a decrease of 13.7–34.1%) and to 5.3–9.3 cm in plastic containers (a decrease of 36.3–57.9%). At the same time, elasticity values shifted toward less favorable levels, with deterioration reaching up to 100% depending on flour type and storage conditions. More pronounced changes were observed in samples stored in plastic containers.

The findings indicate degradation of the gluten protein network and a reduction in its viscoelastic properties as a function of storage conditions. The study highlights the importance of optimizing storage conditions to preserve the technological quality of wheat flours.

Keywords: wheat flour, gluten, elasticity, extensibility

ÚVOD

Kvalita pšeničnej múky predstavuje jeden z rozhodujúcich faktorov ovplyvňujúcich technologický proces výroby pekárenských a cestovinárskych výrobkov. Medzi najvýznamnejšie parametre hodnotenia kvality múky patria vlastnosti lepku, ktorý zohráva kľúčovú úlohu pri tvorbe štruktúry cesta a výsledných vlastností finálneho produktu. Lepok je

komplex bielkovín, najmä gliadínov a gluteníov, ktoré sú zodpovedné za viskoelastické vlastnosti cesta, ako sú pružnosť a ťažnosť (Belitz a kol., 2009; Shewry & Halford, 2002).

Reologické vlastnosti lepku významne ovplyvňujú spracovateľské vlastnosti múky, ako aj kvalitu konečných výrobkov. Pružnosť lepku zabezpečuje schopnosť cesta udržať si tvar a odolávať deformáciám, zatiaľ čo ťažnosť umožňuje jeho roztiahnutie bez porušenia štruktúry. Optimálna rovnováha medzi týmito vlastnosťami je nevyhnutná pre dosiahnutie požadovanej textúry a objemu pekárenských výrobkov (Dobraszczyk & Morgenstern, 2003). Lepok je nevyhnutný aj pri výrobe mrazených pekárenských polotovarov, keďže jeho sieťová štruktúra pomáha udržať stabilitu cesta počas mrazenia a rozmrazovania, čím prispieva k zachovaniu kvality finálneho výrobku (Li a kol., 2023).

Kvalita lepku je ovplyvnená viacerými faktormi, medzi ktoré patrí odroda pšenice, podmienky pestovania, technologické spracovanie a tiež podmienky skladovania múky (Wieser, 2007). Počas skladovania môže dochádzať k zmenám fyzikálno-chemických vlastností múky, ktoré sa následne prejavujú aj v zmene reologických vlastností lepku. Tieto zmeny môžu byť spôsobené napríklad oxidáciou lipidov, aktivitou enzýmov alebo interakciami medzi jednotlivými zložkami múky (Kaur & Khatkar, 2020). V praxi sa múka často skladuje v rôznych podmienkach, ktoré môžu významne ovplyvniť jej kvalitu. Spotrebiteľské správanie zahŕňa napríklad ponechanie múky v pôvodnom papierovom obale alebo jej presypanie do uzatvárateľných nádob. Tieto rozdielne spôsoby skladovania môžu mať odlišný vplyv na stabilitu múky a vlastnosti lepku, čo je dôležité nielen z technologického, ale aj z praktického hľadiska (Sissons, 2008).

Reologické vlastnosti lepku sú v súčasnosti považované za významné indikátory technologickej kvality pšeničnej múky, keďže priamo ovplyvňujú správanie cesta počas spracovania a jeho schopnosť zadržiavať plyn vznikajúci fermentáciou. Ich hodnotenie poskytuje komplexný obraz o funkčnosti a stabilite proteínovej siete v priebehu technologických operácií. Z literárnych zdrojov vyplýva, že aj relatívne malé zmeny v štruktúre lepku sa môžu výrazne prejaviť na kvalite finálnych výrobkov, najmä z hľadiska ich objemu, textúry a senzorických vlastností (Cauvain 2015; Culetu a kol., 2021).

V kontexte skladovania múky nadobúda sledovanie týchto vlastností osobitný význam, keďže počas skladovania dochádza k fyzikálno-chemickým zmenám ovplyvňujúcim interakcie medzi jednotlivými zložkami múky. Tieto zmeny môžu modifikovať funkčné vlastnosti lepku a tým aj jeho technologickú využiteľnosť, čo potvrdzujú viaceré štúdie zaoberajúce sa stabilitou múk a cerealných produktov počas skladovania (He a kol., 2023).

Cieľom príspevku je zhodnotiť reologické vlastnosti lepku, konkrétne jeho pružnosť a ťažnosť, ako indikátorov technologickej kvality pšeničných múk, a posúdiť ich zmeny v závislosti od podmienok skladovania.

MATERIÁL A METODIKA

Technologické vlastnosti mlynských produktov boli hodnotené na troch druhoch pšeničných múk: pšeničnej múke hladkej typu T650 (vzorka č. 1), pšeničnej múke polohrubej výberovej (vzorka č. 2) a pšeničnej múke hrubej (vzorka č. 3). Hodnotenými parametrami boli reologické vlastnosti cesta, konkrétne jeho pružnosť a ťažnosť.

Experiment prebiehal počas 60 dní a analýza vzoriek bola realizovaná v dvoch časových bodoch: na začiatku skladovania (deň 0) a po ukončení skladovania (deň 60). Spracovanie vzoriek sa uskutočnilo v súlade s normou STN EN ISO 21415-1. Vzorky múk boli rozdelené do dvoch skladovacích režimov: Režim A – múky boli presypané do uzatvárateľných plastových dóz a uložené v potravinovom sklade (skrinka) pri teplote 22,4 °C a relatívnej vlhkosti 70–75 %. Režim B – múky zostali v pôvodnom papierovom obale, v ktorom boli zakúpené, a boli uložené za rovnakých podmienok pri teplote 22,4 °C a relatívnej vlhkosti 70–75 %. Počas experimentu sa sledovali zmeny pružnosti a ťažnosti cesta v závislosti od typu múky, spôsobu balenia a dĺžky skladovania.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na základe hodnotenia pružnosti lepku bolo možné sledovať zhoršenie jeho kvalitatívnych vlastností vplyvom skladovania. Pružnosť lepku bola hodnotená číselne na stupnici od 1 do 5, pričom nižšie číslo zodpovedalo lepšej kvalite. Pred skladovaním sa hodnoty pružnosti pohybovali v rozmedzí od 2 do 3, čo zodpovedá pružnému až stredne pružnému lepku. Po skladovaní došlo k zvýšeniu hodnôt na interval 3,3 až 4, čo predstavuje stredne pružný až málo pružný lepok. Najvýraznejší pokles bol zaznamenaný pri skladovaní v plastovej dóze. Pri vzorke č. 1 sa hodnota zhoršila z 2 na 4, čo predstavuje zmenu o 100 %, a pri vzorke č. 2 z 2,3 na 4, teda o 73,9 %. Vzorka č. 3 vykazovala miernejšie zmeny, z 3 na 3,3 pri papierovom balení (o 10,0 %) a na 3,6 pri skladovaní v dóze (o 20,0 %).

Získané výsledky poukazujú na jednoznačný negatívny vplyv skladovania na pružnosť lepku vo všetkých analyzovaných vzorkách múky. Zvýšenie hodnôt na použitej päťstupňovej škále indikuje zhoršenie elastických vlastností lepku a oslabenie jeho schopnosti obnoviť pôvodný tvar po mechanickom namáhaní. Tento jav možno interpretovať ako dôsledok zmien v priestorovom usporiadaní proteínovej siete, predovšetkým narušenia disulfidických väzieb a oslabovania nekovalentných interakcií medzi gliadínovou a glutenínovou frakciou. Výraznejšie

zhoršenie bolo zaznamenané pri skladovaní vzoriek v plastových dózach, čo môže súvisieť s odlišnou dynamikou výmeny vlhkosti a vzduchu v porovnaní s papierovým obalom. Stabilnejšie mikroprostredie v uzavretom systéme môže podporovať redistribúciu vlhkosti v matrici múky a následne ovplyvniť hydratáciu bielkovín. Podobné mechanizmy popisujú aj Belitz a kol. (2009) a Forsido a kol. (2021), ktorí uvádzajú, že skladovacie podmienky významne ovplyvňujú funkčné vlastnosti cerealných produktov.

Tabuľka č. 1, Hodnoty pružnosti lepku pred a po skladovaní

Vzorka	pred skladovaním	papierový obal	zmena (%)	plastová dóza	zmena (%)
1/pš. hladká T 650	2	3,3	+65	4	+100
2/ pš. polohrubá	3	3,3	+10	3,6	+20
3/ pš. hrubá	2,3	3,3	+43,5	4	+73,9

Vysvetlivka: Vyššia hodnota znamená nižšiu kvalitu pružnosti lepku.

Ťažnosť lepku predstavuje dôležitý kvalitatívny parameter múky, ktorý súvisí s jeho schopnosťou vytvárať elastickú a súdržnú štruktúru počas spracovania cesta. Pri ťažnosti lepku sa hodnoty pred skladovaním pohybovali v rozmedzí 12,6 až 14,6 cm. Po skladovaní došlo vo všetkých vzorkách k poklesu. Pri vzorke č. 1 klesla hodnota z 12,6 cm na 8,3 cm v spotrebiteľskom balení, čo predstavuje pokles o 34,1 %, a na 5,3 cm v plastovej dóze, teda o 57,9 %. Pri vzorke č. 2 došlo k zníženiu z 12,6 cm na 10,6 cm (o 15,9 %) v papierovom obale a na 6,0 cm (o 52,4 %) v dóze. Pri vzorke č. 3 sa ťažnosť znížila zo 14,6 cm na 12,6 cm, čo predstavuje pokles o 13,7 %, a na 9,3 cm, teda o 36,3 %.

Pokles ťažnosti lepku po skladovaní naznačuje zníženie schopnosti proteínovej siete podstupovať deformáciu bez porušenia kontinuity štruktúry. Z technologického hľadiska ide o významný parameter, keďže primeraná ťažnosť je nevyhnutná pre optimálne spracovanie cesta, jeho plynozádržnú schopnosť a dosiahnutie požadovaného objemu výrobku. Najvýraznejší pokles bol zaznamenaný pri vzorkách skladovaných v plastových dózach, čo potvrdzuje vyššiu citlivosť lepku na podmienky s obmedzenou výmenou prostredia.

Mechanizmus znižovania ťažnosti možno vysvetliť postupnou degradáciou proteínových makropolymérov, zmenami hydratácie a reorganizáciou intermolekulových väzieb počas skladovania. Tieto procesy vedú k nižšej flexibilite glutenovej siete a k zvýšenej náchylnosti na pretrhnutie pri mechanickom zaťažení. Dobraszczyk a Morgenstern (2003) uvádzajú, že aj relatívne malé zmeny v štruktúre lepku sa môžu významne prejaviť v reologickom správaní cesta a kvalite finálneho výrobku.

Tabuľka č. 2, Hodnoty ťažnosti lepku pred a po skladovaní

Vzorka	pred skladovaním (cm)	papierový obal (cm)	zmena (%)	plastová dóza (cm)	zmena (%)
1/pš. hladká T 650	12,6	8,3	-34,1	5,3	-57,9
2/ pš. polohrubá	12,6	10,6	-15,9	6	-52,4
3/ pš. hrubá	14,6	12,6	-13,7	9,3	-36,3

Vysvetlivka: Záporná hodnota vyjadruje pokles ťažnosti po skladovaní.

Na základe získaných výsledkov možno konštatovať, že spôsob skladovania predstavuje významný faktor ovplyvňujúci technologickú kvalitu múky. Vo všetkých analyzovaných prípadoch došlo k zhoršeniu sledovaných parametrov, pričom intenzívnejšie zmeny boli zaznamenané pri skladovaní v plastových dózach. Výsledky naznačujú potrebu optimalizácie podmienok skladovania nielen v priemyselnej praxi, ale aj v spotrebiteľskom prostredí, kde býva manipulácia s múkou často podceňovaná.

ZÁVER

Na základe získaných výsledkov možno konštatovať, že skladovanie pšeničných múk počas 60 dní viedlo k zhoršeniu reologických vlastností lepku vo všetkých analyzovaných vzorkách. Výraznejšie negatívne zmeny boli zaznamenané pri skladovaní v uzatvárateľných plastových dózach. Pokles pružnosti a ťažnosti lepku indikuje oslabenie viskoelastických vlastností proteínovej siete, čo môže nepriaznivo ovplyvniť technologické spracovanie cesta a kvalitu finálnych pekárenských výrobkov.

Získané výsledky zároveň poukazujú na význam skladovacích podmienok ako determinujúceho faktora stability technologickej kvality múky. Z praktického hľadiska je preto nevyhnutné optimalizovať podmienky skladovania s cieľom minimalizovať degradačné zmeny lepku a zachovať jeho funkčné vlastnosti počas skladovania.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená projektom 007UVLF-4/2024.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BELITZ, H. D. a kol. *Food Chemistry*. 4th ed. Berlin: Springer, 2009. ISBN 978-3-540-69933-0.
2. CAUVAIN, S. Breadmaking processes. In *Technology of breadmaking*. Cham: Springer International Publishing, 2015. p. 23-55.

3. CULETU, A. a kol. Nutritional and functional properties of gluten-free flours. In *Applied Sciences*, 2021, 11.14: 6283.
4. DOBRASZCZYK, B. J. a MORGENSTERN, M. P. Rheology and the breadmaking process. In *Journal of Cereal Science*. 2003, 38(3), 229–245.
5. FORSIDO, S. F.; WELELAW, E.; BELACHEW, T.; HENSEL, O. Effects of storage temperature and packaging material on physico-chemical, microbial and sensory properties and shelf life of extruded composite baby food flour. In *Heliyon*. 2021, roč. 7, č. 4, e06821. DOI: 10.1016/j.heliyon.2021.e06821.
6. HE, N. a kol. Improving the microstructural and rheological properties of frozen unfermented wheat dough with laccase and ferulic acid. In *Foods*, 2023, 12.14: 2772.
7. KAUR, A., KHATKAR, B. S. Effect of storage on rheological and functional properties of whole wheat flour. 2020.
8. LI, Y. a kol. Effect of Lactylated gluten and freeze-thaw cycles on frozen dough: From water state and microstructure. In *Foods*, 2023, 12.19: 3607. https://doi.org/10.3390/foods12193607
9. SISSONS, M. Role of durum wheat composition on pasta quality. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2008, 88(10), 1629–1641.
10. SHEWRY, P. R. a HALFORD, N. G. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. In *Journal of Experimental Botany*. 2002, 53(370), 947–958.
11. STN EN ISO 21415-1. Pšenica a pšeničná múka – Stanovenie obsahu lepku – Časť 1: Stanovenie mokrého lepku ručnou metódou.
12. WIESER, H. Chemistry of gluten proteins. In *Food Microbiology*. 2007, 24(2), 115–119.

Kontaktná adresa: Výrostková Jana, Department of Food Hygiene and Technology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic. E-mail: jana.vyrostkova@uvlf.sk

VPLYV SPÔSOBU ROZMRAZOVANIA NA FYZIKÁLNO-CHEMICKÉ, FAREBNÉ A SENZORICKÉ VLASTNOSTI MRAZENÝCH JAHÔD
INFLUENCE OF THAWING METHOD ON PHYSICOCHEMICAL, COLOR AND SENSORY PROPERTIES OF FROZEN STRAWBERRIES

Zahumenská Jana[1], Megyesy Eftimová Zuzana[1], Bujňák Lukáš[2], Kováčová Mariana[1], Dudriková Eva[1]

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

ABSTRACT

This work deals with the evaluation of the influence of different thawing methods on the physicochemical, color and sensory properties of frozen strawberries. Four commercially available samples (J1–J4) were analyzed, which were thawed at room temperature, in a water bath and in a microwave oven. The pH parameters (surface, pulp, juice), soluble solids content (°Bx), basic nutritional indicators and color in the CIELAB system (L*, a*, b*) were determined. The results showed statistically significant differences ($p < 0.05$) between the samples and the thawing methods. The highest pH values were recorded with a water bath, while microwave thawing led to more significant changes in the structure of the fruits. The color parameters showed a higher lightness of sample J3 and a more intense red coloration in sample J1. Sensory analysis confirmed the best evaluation of samples thawed in a microwave oven. The results indicate that the thawing method significantly affects the quality of frozen strawberries.

Key words: strawberry, freezing, thawing, quality

ÚVOD

Mrazenie patrí medzi najefektívnejšie spôsoby konzervácie ovocia, pričom umožňuje dlhodobé uchovanie nutričných a senzorických vlastností jahôd pri minimálnych zmenách ich kvality. Nízke teploty spomaľujú enzymatické reakcie a rast mikroorganizmov, čím sa zachováva farba, chuť aj biologicky aktívne látky (Reid, 1996; Fellows, 2009). Jahody (*Fragaria* × *ananassa*) sú charakteristické vysokým obsahom vody a citlivosťou na mechanické poškodenie, čo ich predurčuje na rýchle spracovanie po zbere, pričom mrazenie predstavuje jednu z najvhodnejších metód ich stabilizácie (Kader, 2002).

Kvalita mrazených jahôd je ovplyvnená viacerými faktormi, vrátane odrody, stupňa zrelosti, predúpravy a rýchlosti mrazenia. Rýchle zmrazenie vedie k tvorbe menších ľadových kryštálov, ktoré menej poškodzujú bunkovú štruktúru plodov, čím sa lepšie zachováva textúra a šťavnatosť po rozmrazení (Sun, 2012). Naopak, pomalé mrazenie môže viesť k degradácii bunkových stien a strate štruktúry (Fellows, 2009).

Významným faktorom ovplyvňujúcim výslednú kvalitu produktu je aj spôsob rozmrazovania. Nevhodne zvolený proces môže viesť k stratám šťavy, zmene textúry, farebnosti a chemického zloženia plodov. Medzi najčastejšie používané metódy patrí rozmrazovanie pri izbovej teplote, vo vodnom kúpeli alebo pomocou mikrovlnného ohrevu, pričom jednotlivé postupy sa líšia rýchlosťou a intenzitou pôsobenia tepla, a tým aj mierou ovplyvnenia fyzikálno-chemických vlastností (Fellows, 2009; James and James, 2010).

Počas skladovania a následného rozmrazovania mrazených jahôd môže dochádzať k zmenám parametrov, ako sú farebnosť, pH, obsah rozpustných sušín či základné nutričné zložky. Stabilita týchto ukazovateľov závisí od podmienok skladovania, dĺžky uchovávania a použitej metódy rozmrazovania, pričom optimalizácia týchto faktorov je kľúčová pre zachovanie kvality konečného produktu (Rickman et al., 2007; James and James, 2010).

Cieľom práce bolo zhodnotiť vplyv rôznych spôsobov rozmrazovania (pri izbovej teplote, vo vodnom kúpeli a v mikrovlnnej rúre) na fyzikálno-chemické a nutričné vlastnosti mrazených jahôd.

MATERIÁL A METODIKA

Na analýzu boli použité štyri vzorky (J1 – J4) komerčne dostupných mrazených jahôd rôznych značiek a výrobcov (Kaufland, Agro Jesenice, Nowaco, Tesco). Vzorky boli analyzované v náhodnom poradí pre zachovanie anonymity. Každá vzorka bola rozdelená na tri časti (100 g) podľa spôsobu rozmrazovania: pri izbovej teplote (22 ± 2 °C/1 hod.), vo vodnom kúpeli (40 °C/20 min.) a v mikrovlnnej rúre (program defrost/10 min.). Po rozmrazení boli vzorky podrobené fyzikálno-chemickým a senzorickým analýzam.

Veľkosť a jednotnosť plodov boli hodnotené meraním pomocou posuvného meradla. Hodnota pH bola meraná na povrchu jahody, v dužine a v šťave potenciometricky pomocou kalibrovaného pH-metra (inoLab® pH 340i metra - Wissenschaftlich-Technische Werkstätten, Weilheim, Nemecko) (IDF, 1989).

Cukornatosť bola stanovená pomocou ručného refraktometra a vyjadrená v stupňoch Brix (°Bx).

Stanovenie obsahu sušiny bolo uskutočnené sušením vzoriek pri 105 °C do konštantnej hmotnosti podľa normy ISO 1442 (analogicky aplikovanej na rastlinný materiál). Obsah popola

bol určený spopolnením vzoriek pri 550 °C podľa ISO 936. Obsah dusíkatých látok (N- látky) bol stanovený základe obsahu dusíka podľa Kjeldahlovej metódy (ISO 937), po vynásobení faktorom 6,25. Obsah hrubého tuku bol stanovený extrakčnou metódou podľa ISO 1443. Stanovenie hrubej vlákniny, ktorá stanovuje obsah organických látok v krmivách, ktoré sú nerozpustné v slabo kyslom a v slabo zásaditom prostredí bolo realizované podľa ISO 6865. Percentuálny obsah bezdusíkatých látok výťažkových (BNLV) bol stanovený výpočtom, ako zvyšok sušiny po odpočítaní obsahu popola, dusíkatých látok, hrubého tuku a hrubej vlákniny.

Farebnosť bola stanovená kolorimetricky v systéme CIE L*a*b* (Commission Internationale de l'Eclairage, 1986) (CIE, 1986) pomocou prístroja Minolta Chroma meter CR-410 (Minolta, Osaka, Japonsko) (McLaren, 1976) pomocou hodnôt Medzinárodnej komisie pre osvetlenie za použitia softvéru farebných údajov CM-S100w SpectraMagic NX (Konica Minolta Sensing Inc.). Pre všetky vzorky boli stanovené tri farebné parametre, L* (svetlosť), a* (zeleno-červená) hodnota a b* (modro-žltá) hodnota.

Samostatne sa hodnotil povrch jahôd a ich dužina. Povrchová vrstva plodov bola mechanicky oddelená a spolu s dužinou usporiadaná na Petriho miskách tak, aby sa zabezpečila rovnomerná a reprezentatívna meracia plocha.

Senzorická analýza podľa Maľa (2012) a Lawlessa a Heymanna (2010) spočívala v hodnotení balenia, chuti, vône, konzistencie a farby vzoriek vybranou skupinou osemčlenného hodnotiteľského panelu. Panel posudzovateľov bol vybraný a vyškolený podľa noriem ISO (ISO, 1993) v senzorickom laboratóriu zriadenom podľa noriem ISO (ISO, 1988). Po zaškolení panelu sa vzorky mrazených jahôd podávali v náhodnom poradí každému hodnotiteľovi panelu, ktorý následne vykonal profilový test.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Veľkosť analyzovaných jahôd sa pohybovala od najmenšej vzorky s výškou 19,52 mm a šírkou 17,34 mm po najväčšiu vzorku jahody s výškou 54,23 mm a šírkou 40,15 mm, čo poukazuje na výraznú variabilitu medzi jednotlivými plodmi. Táto variabilita môže ovplyvňovať aj fyzikálno-chemické vlastnosti plodov, čo potvrdzuje aj Kader (2002).

Výsledky ukazujú štatisticky významné rozdiely ($p < 0,05$) medzi jednotlivými vzorkami pri všetkých sledovaných parametroch, pričom vzorky J3 a J4 dosahovali vo všeobecnosti vyššie hodnoty v porovnaní s J1 a J2. Podobné výsledky uvádzajú aj Rickman et al. (2007). Najvýraznejšie rozdiely boli zaznamenané pri obsahu sušiny, popola a bezdusíkatých látok výťažkových (BNLV), kde sa vzorky jasne rozdelili do odlišných štatistických skupín. Pri obsahu hrubého tuku mali vzorky J1 a J2 podobné hodnoty bez štatisticky významného rozdielu, zatiaľ čo J3 a J4 tvorili samostatné skupiny s vyšším obsahom (Tabuľka č. 1).

Tabuľka č. 1, Chemické ukazovatele kvality mrazených jahôd (v pôvodnej sušine)

Ukazovateľ (g/kg)	J1	J2	J3	J4
Sušina	101,92 ± 0,17^{a}	104,40 ± 0,35^{b}	143,37 ± 1,18^{d}	140,13 ± 0,96^{c}
N-látky	6,75 ± 0,14^{b}	6,17 ± 0,16^{a}	8,74 ± 0,07^{c}	10,03 ± 0,23^{d}
Hrubý tuk	2,61 ± 0,21^{a}	2,51 ± 0,06^{a}	3,57 ± 0,06^{b}	4,91 ± 0,12^{c}
Hrubá vláknina	10,83 ± 0,31^{a}	11,41 ± 0,08^{b}	11,67 ± 0,08^{c}	12,91 ± 0,22^{d}
Popol	4,50 ± 0,11^{a}	5,84 ± 0,08^{b}	10,02 ± 0,17^{c}	10,87 ± 0,12^{d}
BNLV	77,59 ± 0,36^{a}	78,87 ± 0,23^{b}	110,51 ± 0,50^{d}	102,07 ± 0,31^{c}

Hodnoty sú uvedené ako priemer ± smerodajná odchýlka (n = 3). Rôzne indexy (a–d) v riadku označujú štatisticky významné rozdiely medzi vzorkami ($p < 0,05$).

Medzi hodnotami pH povrchu a dužiny nebol zistený štatisticky významný rozdiel ($p > 0,05$), čo naznačuje homogénne rozloženie kyslosti v analyzovaných vzorkách (Tabuľka č. 2).

Štatistická analýza (t-test) preukázala signifikantný rozdiel ($p < 0,05$) medzi mikrovlnným rozmrazovaním a vodným kúpeľom, čo môže súvisieť s narušením bunkovej štruktúry, ako uvádzajú Fellows (2009) a James and James (2010).

Tabuľka č. 2, Výsledky pH a cukornatosti v závislosti od spôsobu rozmrazenia

vzorka	spôsob rozmrazovania	pH dužina	pH povrch	pH šťava	cukornatosť (°Bx)
J1	izbová teplota	3,57 ± 0,17^{ab}	3,57 ± 0,08	3,49 ± 0,03	5,30 ± 0,35
	vodný kúpeľ	3,61 ± 0,11^{a}	3,73 ± 0,07	3,81 ± 0,04	6,07 ± 0,06
	mikrovlnná rúra	3,56 ± 0,06^{b}	3,55 ± 0,13	3,43 ± 0,06	5,35 ± 0,03
J2	izbová teplota	3,33 ± 0,07^{b}	3,42 ± 0,15	3,12 ± 0,01	9,08 ± 0,01
	vodný kúpeľ	3,51 ± 0,15^{a}	3,56 ± 0,14	3,08 ± 0,01	9,35 ± 0,06
	mikrovlnná rúra	3,56 ± 0,22^{a}	3,63 ± 0,17	3,31 ± 0,01	9,11 ± 0,10
J3	izbová teplota	3,74 ± 0,17^{a}	3,75 ± 0,09	3,03 ± 0,02	9,73 ± 0,21
	vodný kúpeľ	3,57 ± 0,08^{b}	3,51 ± 0,09	3,14 ± 0,02	8,12 ± 0,12
	mikrovlnná rúra	3,35 ± 0,02^{c}	3,41 ± 0,08	3,05 ± 0,05	9,18 ± 0,07
J4	izbová teplota	3,51 ± 0,01^{a}	3,49 ± 0,08	3,41 ± 0,07	7,23 ± 0,11
	vodný kúpeľ	3,58 ± 0,04^{a}	3,54 ± 0,05	3,61 ± 0,09	7,19 ± 0,07
	mikrovlnná rúra	3,33 ± 0,07^{b}	3,32 ± 0,02	3,27 ± 0,06	7,07 ± 0,13

Rôzne písmená (a–c) v rámci riadkov označujú štatisticky významné rozdiely medzi spôsobmi rozmrazovania ($p < 0,05$; t-test).

Cukornatosť vyjadrená v stupňoch Brix (°Bx) bola najvyššia pri vzorke J3, pričom spôsob rozmrazovania mal len mierny vplyv na tento parameter.

Farebné parametre (L*, a*, b*) preukázali výrazné rozdiely medzi jednotlivými vzorkami jahôd v závislosti od spôsobu rozmrazovania aj analyzovanej časti (dužina, povrch, šťava).

Hodnoty L* (svetlosť) boli signifikantne najvyššie pri vzorke J3 vo všetkých spôsoboch rozmrazovania ($p < 0,05$), čo poukazuje na jej svetlejšie sfarbenie. Naopak, najnižšie hodnoty L* boli zaznamenané pri vzorke J1, ktorá vykazovala tmavší vzhľad. Spôsob rozmrazovania mal len mierny vplyv na svetlosť, pričom mierne vyššie hodnoty boli pozorované pri vodnom kúpeli.

Parameter a* (červené zafarbenie) bol najvyšší pri vzorke J1, čo naznačuje intenzívnejšie červené sfarbenie, pravdepodobne v dôsledku vyššieho obsahu antokyánov, ktoré sú citlivé na spracovanie (Sun, 2012). Naopak, najnižšie hodnoty a* boli zaznamenané pri vzorke J3, pričom rozdiely medzi vzorkami boli štatisticky významné ($p < 0,05$). Spôsob rozmrazovania nemal výrazný vplyv na parameter a*, avšak mierne zníženie hodnôt bolo pozorované pri vodnom kúpeli.

Hodnoty b* (žlté zafarbenie) nevykazovali medzi vzorkami výrazné signifikantné rozdiely v dužine, čo naznačuje relatívne stabilný podiel žltého pigmentu. Naopak, pri povrchu a šťave boli pozorované vyššie hodnoty b* najmä pri vzorke J2, čo poukazuje na odlišné farebné charakteristiky tejto vzorky.

Tabuľka č. 3, Výsledky merania farby (L*, a*, b*) vzoriek mrazených jahôd

spôsob rozmrazovania		L* dužina	a* dužina	b* dužina	L* povrch	a* povrch	b* povrch	L* šťava	a* šťava	b* šťava
J1	IT	40,98 ± 1,18^{c}	36,05 ± 0,55^{a}	21,89 ± 0,42^{a}	30,55 ± 1,69^{c}	31,05 ± 1,83^{a}	11,07 ± 2,88^{c}	45,76 ± 1,77^{c}	43,53 ± 1,12^{a}	30,94 ± 1,70^{b}
	VK	42,10 ± 1,30^{c}	35,10 ± 0,80^{a}	22,10 ± 0,60^{a}	31,80 ± 1,50^{c}	30,40 ± 1,60^{a}	12,50 ± 2,10^{c}	47,50 ± 1,90^{c}	42,80 ± 1,40^{a}	31,80 ± 1,60^{b}
	MR	39,50 ± 1,10^{c}	34,80 ± 0,90^{a}	21,50 ± 0,70^{a}	29,90 ± 1,40^{c}	30,10 ± 1,70^{a}	10,80 ± 2,30^{c}	44,20 ± 1,80^{c}	42,10 ± 1,50^{a}	29,90 ± 1,80^{b}
J2	IT	45,00 ± 1,34^{b}	30,86 ± 1,67^{b}	21,98 ± 1,65^{a}	34,36 ± 1,36^{b}	26,20 ± 1,86^{b}	14,49 ± 2,09^{b}	59,88 ± 2,42^{b}	41,67 ± 2,85^{a}	41,32 ± 1,12^{a}
	MR	46,20 ± 1,20^{b}	29,90 ± 1,50^{b}	22,30 ± 1,40^{a}	35,50 ± 1,30^{b}	25,80 ± 1,70^{b}	15,20 ± 2,00^{b}	61,50 ± 2,20^{b}	40,90 ± 2,60^{a}	42,50 ± 1,30^{a}
	VK	44,10 ± 1,40^{b}	31,20 ± 1,80^{b}	21,70 ± 1,60^{a}	33,80 ± 1,50^{b}	26,90 ± 1,90^{b}	13,90 ± 2,20^{b}	58,20 ± 2,50^{b}	42,10 ± 2,70^{a}	40,50 ± 1,40^{a}
J3	IT	59,07 ± 1,55^{a}	20,52 ± 2,18^{c}	20,27 ± 1,52^{a}	40,92 ± 2,11^{a}	28,96 ± 1,44^{b}	21,24 ± 2,77^{a}	71,42 ± 3,65^{a}	29,77 ± 2,94^{b}	33,46 ± 2,88^{b}
	VK	60,20 ± 1,40^{a}	19,80 ± 2,00^{c}	20,80 ± 1,30^{a}	42,10 ± 2,00^{a}	28,10 ± 1,30^{b}	22,10 ± 2,50^{a}	73,00 ± 3,40^{a}	28,90 ± 2,70^{b}	34,20 ± 2,60^{b}
	MR	57,80 ± 1,60^{a}	21,30 ± 2,20^{c}	19,90 ± 1,40^{a}	39,70 ± 2,20^{a}	29,50 ± 1,50^{b}	20,50 ± 2,80^{a}	70,10 ± 3,80^{a}	30,50 ± 3,00^{b}	32,80 ± 2,90^{b}
J4	IT	48,35 ± 9,50	29,14 ± 7,91	21,38 ± 0,96	35,28 ± 5,25	28,74 ± 2,43	15,60 ± 5,18	59,02 ± 12,85	38,32 ± 7,47	35,24 ± 5,41
	VK	49,50 ± 9,20	28,27 ± 7,60	21,73 ± 0,90	36,47 ± 5,00	28,10 ± 2,20	16,60 ± 4,90	60,67 ± 12,30	37,53 ± 7,10	36,17 ± 5,10
	MR	47,13 ± 9,60	29,10 ± 7,80	21,03 ± 1,00	34,47 ± 5,40	28,83 ± 2,50	15,07 ± 5,30	57,50 ± 12,90	38,90 ± 7,60	34,40 ± 5,60

Hodnoty sú uvedené ako priemer ± SD (n = 3). Rôzne písmená (a–c) v rámci stĺpcov označujú štatisticky významné rozdiely medzi vzorkami ($p < 0,05$).

Pri porovnaní jednotlivých častí jahody bola zistená vyššia intenzita farebných parametrov v šťave**,** ktorá vykazovala vyššie hodnoty a* a b* v porovnaní s dužinou a povrchom. Tento jav možno vysvetliť uvoľnením farbív (najmä antokyánov) do kvapalnej fázy počas rozmrazovania.

Pre lepšie vizuálne porovnanie farebných rozdielov bol vytvorený farebný profil vzoriek, ktorý je znázornený na obrázku č. 1.

Obrázok č. 1, Farebný profil vzoriek mrazených jahôd J1-J4 (dužina, povrch, šťava)

Časť	Vzorka	MR	IT	VK
Dužina	J1			
	J2			
	J3			
	J4			
Povrch	J1			
	J2			
	J3			
	J4			
Šťava	J1			
	J2			
	J3			
	J4			

Farebný profil vzoriek mrazených jahôd (J1–J4) bol znázornený pomocou kolorimetrických hodnôt CIELAB, pričom vizuálne rozdiely medzi vzorkami korešpondujú s nameranými hodnotami L*, a* a b*.

Senzorická analýza poukázala na rozdiely medzi jednotlivými vzorkami aj spôsobmi rozmrazovania, najmä v parametroch obalu, konzistencie, vône a chuti. Obal vzoriek bol vo všeobecnosti hodnotený pozitívne, bez výrazných rozdielov medzi jednotlivými produktmi.

Konzistencia bola najlepšie hodnotená pri vzorkách rozmrazovaných v mikrovlnnej rúre, ktoré si zachovali pevnejšiu štruktúru, zatiaľ čo pri vodnom kúpeli bola zaznamenaná mäkšia až rozriedená konzistencia v dôsledku vyšších strát šťavy.

Vôňa bola najintenzívnejšia pri mikrovlnnom rozmrazovaní, pričom vzorky rozmrazované pri izbovej teplote pôsobili menej aromaticky. Chuť vykazovala najvyššiu prijateľnosť pri mikrovlnnom rozmrazovaní, čo sa prejavilo výraznejšou sladkosťou a celkovou

intenzitou arómy, zatiaľ čo pri vodnom kúpeli bola hodnotená ako menej výrazná. Vzorka J2 bola pri mikrovlnnom rozmrazovaní hodnotená ako najchutnejšia, zatiaľ čo vzorka J3 vykazovala veľmi dobré senzorické vlastnosti s miernym náznakom nedozretosti. Naopak, vzorka J1 pôsobila mierne kyslo a vykazovala pevnejšiu konzistenciu pri rozmrazovaní pri izbovej teplote aj vo vodnom kúpeli.

Z hľadiska farby boli najtmavšie odtiene a najvyšší únik šťavy pozorované pri vodnom kúpeli, zatiaľ čo mikrovlnná rúra lepšie zachovala prirodzené sfarbenie plodov. Celkovo možno konštatovať, že spôsob rozmrazovania významne ovplyvňuje senzorické vlastnosti jahôd, pričom mikrovlnná rúra sa javí ako najvhodnejší spôsob z hľadiska zachovania chuti, vône a celkovej kvality, čo korešponduje aj so zisteniami Lawlessa a Heymanna (2010).

ZÁVER

Na základe získaných výsledkov možno konštatovať, že spôsob rozmrazovania významne ovplyvňuje kvalitu mrazených jahôd z hľadiska fyzikálno-chemických, farebných aj senzorických parametrov. Najvyššie hodnoty pH boli zaznamenané pri rozmrazovaní vo vodnom kúpeli, zatiaľ čo mikrovlnné rozmrazovanie spôsobovalo výraznejšie zmeny v štruktúre plodov. Farebné analýzy preukázali rozdiely medzi vzorkami, pričom vzorka J3 vykazovala najvyššiu svetlosť a vzorka J1 najintenzívnejšie červené zafarbenie.

Z hľadiska senzorickej kvality sa ako najvhodnejší spôsob rozmrazovania javí mikrovlnná rúra, ktorá najlepšie zachováva chuť a arómu, aj napriek čiastočnému narušeniu textúry. Výsledky poukazujú na význam správnej voľby technologického postupu rozmrazovania pri zachovaní kvality mrazených jahôd.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená projektom KEGA 007UVLF-4/2024 Inovácia a modernizácia nového profilového predmetu "technológia výroby a kvalita mrazených a konzervovaných potravín" pre študijný program trh a kvalita potravín.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. CIE. 1986. *Colorimetry*. 2nd ed. Vienna: Commission Internationale de l'Eclairage. ISBN 978-3-900734-00-7.
2. FELLOWS, P. J. 2009. *Food Processing Technology: Principles and Practice*. 3rd ed. Cambridge: Woodhead Publishing. ISBN 978-1-84569-216-2.
3. IDF. 1989. *Milk and milk products – Determination of pH*. Brussels: International Dairy Federation.

4. ISO. 1988. *Sensory analysis – General guidance for the design of test rooms*. ISO 8589. Geneva: International Organization for Standardization.
5. ISO. 1993. *Sensory analysis – General guidance for the selection, training and monitoring of assessors*. ISO 8586. Geneva: International Organization for Standardization.
6. ISO 936:1998. Meat and meat products – Determination of total ash. Geneva: International Organization for Standardization.
7. ISO 937:1978. Meat and meat products – Determination of nitrogen content (Kjeldahl method). Geneva: International Organization for Standardization.
8. ISO 1442:1997. Meat and meat products – Determination of moisture content. Geneva: International Organization for Standardization.
9. ISO 1443:1973. Meat and meat products – Determination of total fat content. Geneva: International Organization for Standardization.
10. ISO 6865:2000. Animal feeding stuffs – Determination of crude fibre content. Geneva: International Organization for Standardization.
11. JAMES, S. J., JAMES, C. 2010. The food cold-chain and climate change. *Food Research International*, roč. 43, č. 7, s. 1944–1956. ISSN 0963-9969.
12. KADER, A. A. 2002. *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. 3rd ed. Oakland: University of California Agriculture and Natural Resources. ISBN 978-1-879906-51-8.
13. LAWLESS, H. T., HEYMANN, H. 2010. *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*. 2nd ed. New York: Springer. ISBN 978-1-4419-6487-8.
14. MCLAREN, K. 1976. The development of the CIE 1976 (L*a*b*) uniform colour space. *Journal of the Society of Dyers and Colourists*, roč. 92, č. 9, s. 338–341. ISSN 0022-3573.
15. REID, D. S. 1996. Food preservation by freezing. In: *Food Preservation Techniques*. New York: Marcel Dekker, s. 25–45. ISBN 978-0-8247-9576-0.
16. RICKMAN, J. C., BARRETT, D. M., BRUHN, C. M. 2007. Nutritional comparison of fresh, frozen and canned fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, roč. 87, č. 6, s. 930–944. ISSN 0022-5142.
17. SUN, D.W. 2012. *Handbook of Frozen Food Processing and Packaging*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press. ISBN 978-1-4398-4606-3.

Kontaktná adresa: MVDr. Zahumenská Jana 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: jana.zahumenska@uvlf.sk

VÝŽIVOVÁ HODNOTA RASTLINNÝCH MLIEČNYCH A MÄSOVÝCH NÁHRAD – MÔŽEME SKUTOČNE NAHRADIŤ PÔVODNÉ PRODUKTY?

NUTRITIONAL VALUE OF PLANT-BASED DAIRY AND MEAT ANALOGS – CAN WE REALLY REPLACE THE ORIGINAL PRODUCTS?

Zając Marzena

[1] *Department of Animal Product Technology, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow, Poland*

ABSTRACT

The growing role of plant-based meat and dairy substitutes in contemporary diets is examined. While the majority of the global population continues to consume animal products and overall meat consumption is increasing, vegetarian and vegan dietary patterns are gaining popularity, particularly in high-income countries. Motivated by ethical, environmental, health, and lifestyle considerations, these consumer groups—along with flexitarians—are driving demand for plant-based alternatives. Plant foods are valuable sources of fiber, micronutrients, and bioactive compounds; however, animal-derived foods remain key sources of complete protein, vitamin B12, highly bioavailable iron, calcium, and long-chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA), as well as compounds such as creatine, carnosine, and anserine. Although some plant-based substitutes are designed to mimic both the sensory and nutritional properties of animal products and are often fortified, their nutritional profiles vary widely. In general, these products contain more fiber and less saturated fat, but often provide less protein and may contain comparable or higher levels of salt. Additionally, many fall into the category of highly processed foods. The paper highlights that while such products can be successfully incorporated into flexitarian diets, their use as full replacements in vegan diets requires careful dietary planning to prevent nutrient deficiencies, particularly in vitamin B12, iron, calcium, vitamin D, iodine, zinc, and omega-3 fatty acids. Consequently, informed consumer choices, including careful label reading and nutritional comparison, are essential to ensure dietary adequacy.

Key words: meat and dairy analogs; plant-based foods, nutrition

INTRODUCTION

Although most people consume animal products and meat consumption continoues to rise, millions choose diets that exclude meat and dairy entirely. In fact, the number of individuals adopting vegetarian or vegan diets has been increasing worldwide in recent years, particularly in high-income countries (Salomé et al., 2025). Accrding to data from 2016 in the UK

approximately 5 % of the population identifies as vegetarian, while around 1% follows a vegan diet (Santini et al., 2025). The reasons most often cited include ethical concerns about animal treatment in the food industry, the enviromental impact of animal farming, perceived health benefits, and personal attitude and lifestyles such as a commitment to non-violence. These consumers are likely to be interested in a range of vegan products and are the primary buyers of so-called meat and dairy substitutes. Another important group of consumers is flexitarians, who consume meat but seek to replace it for health reasons. At the same time, various nutrient deficiencies have been observed in vegan diets, including vitamin B12, iron, calcium, vitamin D, iodine, zinc, and omega-3 fatty acids (Malhotra & Lakade, 2025). Considering this, an important question arises: are animal product analogues good sources of these nutrients?

NUTRITIONAL VALUE OF MEAT AND DAIRY SUBSTITUTES

Undoubtedly, plant foods are recognized as good sources of fiber, micronutrients, and many bioactive compounds. The main reasons for including meat and dairy in the daily diet are their provision of complete protein, vitamin B12, highly bioavailable iron, calcium, and omega-3 fatty acids, particularly EPA and DHA. Bioactive compounds such as creatine, carnosine, and anserine—found in animal-sourced foods but limited or absent in plant-based foods—also play important roles in human nutrition (Kavanaugh, Rodgers, Rodriguez, & Leroy, 2025). These compounds may therefore be relevant when developing products intended as substitutes.

It should be noted that there is a wide variety of products on the market aimed at individuals identifying as vegan, ovo-vegetarian, lacto-vegetarian, lacto-ovo-vegetarian, pescatarian, or flexitarian. Some dairy and meat substitutes are designed simply to exclude animal-derived ingredients, while others are more carefully formulated to mimic both the sensory properties and nutritional value of animal products. The latter are often fortified with essential nutrients.

Meat and dairy substitutes typically contain more fiber and less saturated fat than their animal-based counterparts. However, their protein content is often lower (Tonheim, Austad, Torheim, & Henjum, 2022). In addition, the salt content of plant-based alternatives tends to be comparable to, or even higher than, that of animal products (El Sadig & Wu, 2024). Another important consideration is that the raw materials used in meat and dairy analogues are often already processed, placing these products in the category of highly processed foods (Olegario, Zalama, González-Mohino, Joaquín, & Ventanas, 2024). Therefore, consumers interested in meat and dairy analogues should exercise the same level of caution as with any other type of food. Reading labels and comparing nutritional values are essential steps in selecting high-quality, nutritious products.

CONCLUSION

Animal product substitutes available on the market vary widely. Some are comparable to their animal-based counterparts in terms of macronutrient composition, and many can be incorporated into flexitarian diets. However, when used as complete replacements for animal-derived foods in vegan diets, they require careful planning to avoid the risk of malnutrition.

REFERENCES

1. EL SADIG, R., & Wu, J. (2024). Are novel plant-based meat alternatives the healthier choice? *Food Research International, 183*, 114184. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114184
2. KAVANAUGH, M., Rodgers, D., Rodriguez, N., & Leroy, F. (2025). Considering the nutritional benefits and health implications of red meat in the era of meatless initiatives. *Frontiers in Nutrition, Volume 12 - 2025*. doi:10.3389/fnut.2025.1525011
3. MALHOTRA, A., & Lakade, A. (2025). Analytical Review on Nutritional Deficiencies in Vegan Diets: Risks, Prevention, and Optimal Strategies. *Journal of the American Nutrition Association, 44*(6), 545-555. doi:10.1080/27697061.2025.2461218
4. OLEGARIO, L. S., Zalama, L., González-Mohino, A., Joaquín, M. F. G., & Ventanas, S. (2024). Sensory and hedonic perception of meat versus ultra-processed plant-based meat analogs: A comparative study. *Journal of Food Science, 89*(12), 10329-10343. doi:https://doi.org/10.1111/1750-3841.17531
5. SALOMÉ, M., Leroy, P., Huneau, J.-F., Fouillet, H., Kesse-Guyot, E., Soler, L.-G., & Mariotti, F. (2025). Modeled impacts of substituting meat and dairy with plant-based substitutes on risk of nutrient deficiency and chronic disease–related mortality: a microsimulation study in French adults. *The American Journal of Clinical Nutrition, 122*(4), 1052-1060. doi:https://doi.org/10.1016/j.ajcnut.2025.07.016
6. SANTINI, M. H., Santo André, H. C., Mazzolani, B. C., Smaira, F. I., Esteves, G. P., Leitão, A. E., . . . Roschel, H. (2025). The role of nutrition background on motivations, barriers, and adherence to a vegan diet: A qualitative study of the vegan eating habits and nutritional evaluation survey (VEGAN-EatS). *Food Quality and Preference, 125*, 105378. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2024.105378
7. TONHEIM, L. E., Austad, E., Torheim, L. E., & Henjum, S. (2022). Plant-based meat and dairy substitutes on the Norwegian market: comparing macronutrient content in substitutes with equivalent meat and dairy products. *Journal of Nutritional Science, 11*, e9. doi:10.1017/jns.2022.6

Contact address: Department of Animal Product Technology, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow, ul. Balicka 122, Kraków, Poland. E-mail: marzena.zajac@urk.edu.pl

ANALÝZA OBSAHU MIKROPLASTOV V OŠTIEPKOCH

ANALYSIS OF MICROPLASTIC CONTENT IN SHEEP CHEESE

Zajác Peter, Čapla Jozef

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

ABSTRACT

Prítomnosť mikroplastov v potravinách vyvoláva rastúce obavy o bezpečnosť mliečnych výrobkov vrátane syrov. Cieľom tejto práce bolo porovnať výskyt mikroplastov v oštiepkoch vyrobených na tradičnom salaši, malej mliekarni a veľkej priemyselnej mliekarni. Vzorky boli spracované kombináciou chelatácie, alkalickej a oxidačnej digescie a analyzované pomocou laserovej infračervenej zobrazovacej techniky (LDIR). Mikroplasty boli zistené vo všetkých vzorkách oštiepkov. Identifikovaných bolo 18 typov častíc, pričom najčastejšie sa vyskytovali polyetylén, polyamid a polypropylén. Vo všetkých vzorkách dominovali fragmenty. Výsledky naznačujú, že zdrojom kontaminácie sú najmä technologické zariadenia, spracovanie a obalové materiály, pričom úloha environmentálnej expozície sa prejavuje aj v tradične vyrábaných syroch. Štúdia poukazuje na potrebu systematického monitorovania mikroplastov v mliekarenskom reťazci a zavedenie verifikácie do plánov HACCP.

Key words: cheese, oštiepok, microplastic, contamination

ÚVOD

Mikroplasty (MPs), definované ako plastové častice menšie ako 5 mm, predstavujú rozšírený kontaminant potravín s potenciálnymi rizikami pre bezpečnosť potravín a ľudské zdravie (Zajác, Čapla a Čurlej, 2025). Ich prítomnosť bola potvrdená v rôznych potravinových matriciach vrátane rýb, soli, medu a najmä mliečnych výrobkov (Cox et al., 2019). Mlieko a syry sú obzvlášť náchylné na kontamináciu mikroplastmi v dôsledku rozsiahleho kontaktu s plastovými materiálmi počas dojenia, skladovania, prepravy, spracovania a balenia (Basaran et al., 2023). V týchto produktoch boli identifikované najmä polyméry ako polyetylén, polypropylén a polyetyléntereftalát pomocou moderných spektroskopických metód (FAO, 2022; Visentin et al., 2025; Katsara et al., 2025; Abedi et al., 2025; Ragusa et al., 2022; Di Fiore et al. 2024).

Európsky úrad pre bezpečnosť potravín považuje mikroplasty za vznikajúce riziko v oblasti bezpečnosti potravín a poukazuje na potrebu ďalších toxikologických údajov, najmä v súvislosti s nanoplastmi (EFSA, 2021), zatiaľ čo regulačné rámce v USA sa zameriavajú predovšetkým na chemickú migráciu z obalových materiálov (U.S. Food and Drug Administration, 2019). Z toxikologického hľadiska môžu mikroplasty pôsobiť ako nosiče endokrinných disruptorov, ťažkých kovov a perzistentných organických látok (Hahladakis, 2018), pričom dlhodobá expozícia potravou môže viesť k oxidačnému stresu, zápalovým procesom a narušeniu črevnej mikrobioty (Jayavel et al., 2024; Sofield, Anderton and Gorecki, 2024).

Napriek rastúcemu záujmu zostáva kontaminácia syrov mikroplastmi málo preskúmaná. Na Slovensku sa syry vyrábajú v technologicky odlišných systémoch – od tradičných horských salašov, cez malé farmárske mliekarne až po veľké priemyselné prevádzky – ktoré sa líšia použitými materiálmi, mierou mechanizácie a hygienickými podmienkami (Zajác et al., 2019; Zajác et al., 2021; Zajác et al., 2023). Okrem priameho kontaktu s plastmi zohráva významnú úlohu aj aerogénna kontaminácia a opotrebovanie plastových povrchov a nástrojov počas výroby (Rednikin et al., 2024; Pironti et al., 2021), pričom mikroplasty sú dnes považované za všadeprítomnú environmentálnu záťaž (Cverenkárová et al., 2021).

Cieľom tejto štúdie bolo porovnať úroveň a charakter kontaminácie mikroplastmi v oštiepkoch vyrábaných v troch rozdielnych produkčných systémoch a identifikovať možné rizikové miesta vzniku kontaminácie s cieľom podporiť účinnejšie opatrenia na jej obmedzenie v mliekarskej výrobe.

MATERIÁL A METODIKA

Na analýzu mikroplastov boli použité štandardné laboratórne zariadenia vrátane orbitálneho inkubátora, vákuového filtračného systému, ultrazvukového kúpeľa a systému Agilent 8700 LDIR Chemical Imaging. Všetky kroky prípravy a spracovania vzoriek prebiehali v laminárnom boxe s HEPA filtráciou s cieľom minimalizovať riziko sekundárnej kontaminácie.

Použité chemikálie a reagencie boli analytickej alebo molekulárno-biologickej čistoty a zahŕňali hydroxid draselný, EDTA, peroxid vodíka, SDS, Tween-20, etanol, kyselinu chlorovodíkovú a ultrapure vodu. Na izoláciu častíc sa využívali polykarbonátové, polyétersulfónové a zlatom-pokovované polyesterové membránové filtre s rôznou veľkosťou pórov.

Analyzovaných bolo šesť vzoriek oštiepkov. Každá vzorka bola analyzovaná 3 krát. Oštiepky boli vyrobené priamo v troch typoch výrobných prevádzok: tradičný salaš (vzorky A,

B), malá mliekareň (vzorky C, D) a veľká priemyselná mliekareň (vzorky E, F). Vzorky boli odoberané priamo na mieste výroby, nebalené syry boli ihneď zabalené do hliníkovej fólie a balené vzorky ponechané v pôvodnom obale. Transport do laboratória prebiehal pri teplote pod 5 °C. Do analýzy boli vzorky skladované pri –18 °C a všetka manipulácia prebiehala v kontrolovanom čistom prostredí.

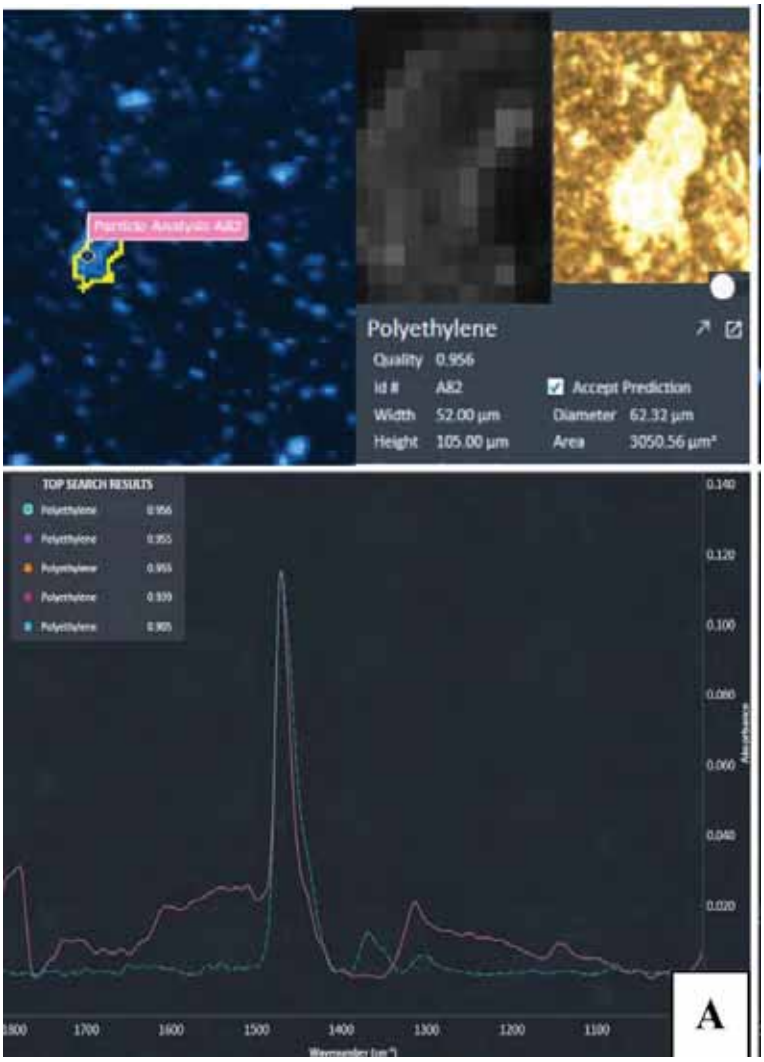
Analýza mikroplastových a nemikroplastových (naturálnych) častíc bola vykonaná pomocou systému Agilent 8700 LDIR Chemical Imaging, ktorý kombinuje stredne infračervenú spektroskopiu s automatizovaným zobrazovaním častíc. Analýza prebiehala v reflektívnom režime v spektrálnom rozsahu 975–1800 cm^{-1} s využitím internej databázy polymérov Agilent na identifikáciu syntetických polymérov a vybraných prírodných materiálov. Do hodnotenia boli zahrnuté iba častice s priemerom ≥10 µm a s minimálnym skóre spektrálnej zhody ≥0,65, čo zabezpečovalo spoľahlivú klasifikáciu.

Pre každú časticu boli zaznamenané základné morfometrické parametre a kvalita spektrálnej zhody (HQI); tvary častíc boli klasifikované ako fragmenty, pelety, vlákna alebo sféry. Údaje boli spracované v programe XLSTAT 2025.2.0 (Addinsoft). Okrem deskriptívneho vyhodnotenia celkového počtu častíc a relatívneho zastúpenia syntetických a prirodzených častíc bola vykonaná aj inferenčná štatistická analýza. Na porovnanie počtu syntetických mikroplastových častíc medzi výrobnými systémami (tradičný salaš A–B, malá mliekareň C–D, veľká priemyselná mliekareň E–F) bol použitý nepárový t-test pri hladine významnosti $\alpha = 0,05$. Rozdiely medzi malými mliekarňami a ostatnými výrobnými systémami boli štatisticky významné ($p < 0,05$), zatiaľ čo rozdiely medzi tradičnými salašmi a veľkými priemyselnými mliekarňami významné neboli ($p > 0,05$). Zloženie častíc bolo ďalej hodnotené pomocou exploračných multivariačných metód (PCA, heatmapa) na základe relatívnych abundancií po korekcii na blank.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Identifikácia reprezentatívnych mikroplastových častíc pomocou LDIR chemického zobrazovania je ilustrovaná na Obrázku č. 1. Výsledky analýzy uvádzame v Tabuľke 1 a Tabuľke 2, ktoré sumarizujú celkový počet detegovaných častíc, podiel syntetických a prirodzených materiálov a relatívne zastúpenie jednotlivých typov častíc v analyzovaných vzorkách syra.

Obrázok č. 1, Identifikácia polyetylénovej mikroplastovej častice pomocou LDIR chemického zobrazovania



Poznámka: A – polyetylén. Obrázok zobrazuje detekciu a identifikáciu mikroplastovej častice polyetylénu na základe infračerveného spektra získaného pomocou systému LDIR. Spektrum vykazuje charakteristické absorpčné pásy, najmä C–H valenčné vibrácie v oblasti ~2800–3000 cm^{-1}, ktoré umožňujú spoľahlivú identifikáciu polyetylénu porovnaním s databázou polymérov. Zobrazené sú aj základné morfometrické parametre častice a vysoká kvalita spektrálnej zhody, potvrdzujúca správnu klasifikáciu materiálu.

Vo všetkých vzorkách boli zistené častice s veľkosťou ≥10 µm, pričom celkový počet častíc sa výrazne líšil medzi jednotlivými výrobnými systémami (Tabuľka 1). Najvyšší celkový počet častíc bol zaznamenaný vo vzorke C (5 779 častíc), nasledovanej vzorkou B (3 668 častíc) a vzorkou D (2 690 častíc). Najnižší počet častíc bol detegovaný vo vzorke F (423 častíc). Podiel syntetických častíc sa pohyboval od 12,7 % (vzorka E) do 58,9 % (vzorka F). V niektorých vzorkách prevažovali prirodzené častice, zatiaľ čo vzorky D a F vykazovali vyšší podiel syntetických častíc než prirodzených. Relatívne zloženie jednotlivých typov častíc je uvedené v Tabuľke 2.

Tabuľka č. 1, Celkový počet častíc vo vzorkách syra

Vzorka	Celkový počet častíc (ks)	Syntetické častice (ks)	Naturálne častice (ks)	Syntetické častice (%)	Naturálne častice (%)
A	1086	468	618	43,1%	56,9%
B	3668	542	3126	14,8%	85,2%
C	5779	1503	4276	26,0%	74,0%
D	2690	1548	1142	57,6%	42,4%
E	2519	321	2198	12,7%	87,3%
F	423	249	174	58,9%	41,1%

Poznámka: Celkový počet častíc zahŕňa všetky detegované častice ≥10 µm po korekcii na slepú vzorku. „Syntetické častice“ predstavujú mikroplasty identifikované na základe zhody polymérov pomocou metódy LDIR, zatiaľ čo „prirodzené častice“ zahŕňajú nepolymérne alebo prirodzene sa vyskytujúce materiály. Percentuálne hodnoty vyjadrujú podiel syntetických a naturálnych častíc v hmote syra. Výsledky predstavujú priemerné hodnoty troch meraní.

Tabuľka č. 2, Relatívne zastúpenie jednotlivých typov častíc (%)

Druh častice	Vzorka					
	A	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**
PE	10,59	0,74	3,79	28,62	ND	23,64
PA	9,94	ND	12,29	11,97	ND	29,55
PET	7,37	1,64	2,32	12,75	0,91	3,31
PP	ND	1,12	1,09	0,22	ND	ND
PU	7,83	1,34	2,63	3,57	2,58	ND
PTFE	ND	3,24	ND	ND	0,95	ND
PVC	5,89	ND	0,42	0,41	ND	0,95
ABS	0,28	ND	0,69	ND	2,26	ND
PLA	0,46	4,09	ND	ND	4,57	ND
PC	0,37	2,40	2,77	ND	0,87	1,42
POM	0,37	0,22	0,02	ND	0,60	ND
PA-N	ND	10,85	3,62	ND	4,84	ND
CAR	4,79	19,71	1,07	2,97	8,77	ND
CEL	2,39	32,58	1,16	0,59	28,62	7,09
CHI	9,02	11,37	62,81	8,74	12,11	ND
MgST	3,13	0,16	0,67	1,26	ND	8,04
RUB	30,57	8,64	3,48	25,72	32,75	24,35
SAND	7,00	1,91	1,18	3,16	0,16	1,65
Spolu (ks)	**1086**	**3668**	**5779**	**2690**	**2519**	**423**

Poznámka: Hodnoty vyjadrujú percentuálny podiel jednotlivých typov častíc vzhľadom na celkový počet častíc detegovaných v príslušnej vzorke. Skratky označujú jednotlivé syntetické polyméry alebo prirodzené/nepolymérne materiály identifikované pomocou metódy LDIR. „Spolu (ks)“ udáva absolútny počet častíc detegovaných v každej vzorke. ND – nedetegované; PE – polyetylén; PA – polyamid; PET – polyetyléntereftalát; PP – polypropylén; PU – polyuretán; PTFE – polytetrafluóretylén; PVC – polyvinylchlorid; ABS – akrylonitril-butadién-styrén; PLA – kyselina polymliečna (polylaktid); PC – polykarbonát; POM – polyoxymetylén; PA-N – prirodzene sa vyskytujúci polyamid; CAR – karbonát; CEL – celulózové vlákna; CHI – chitín; MgST – stearát horečnatý; RUB – guma; SAND – piesok.

Medzi syntetickými polymérmi dominovali najmä polyetylén (PE), polyamid (PA) a polyetyléntereftalát (PET), pričom ich najvyššie zastúpenie bolo zaznamenané vo vzorkách D a F. Tieto polyméry tvorili významnú časť celkovej syntetickej kontaminácie, čo naznačuje intenzívnejší kontakt so syntetickými materiálmi počas technologického spracovania alebo manipulácie so syrom.

Štatistické spracovanie údajov poukázalo na výrazné rozdiely v celkovom počte častíc aj v ich kompozičnom zložení medzi jednotlivými výrobnými systémami. Porovnanie systémov preukázalo štatisticky významné rozdiely v počte syntetických mikroplastových častíc medzi syrmi z malých mliekarní (C, D) a tradičnými salašmi (A, B) ($p < 0,05$), ako aj medzi malými mliekarňami (C, D) a veľkými priemyselnými mliekarňami (E, F) ($p < 0,05$), zatiaľ čo rozdiely medzi tradičnými salašmi a veľkými priemyselnými mliekarňami neboli štatisticky významné ($p > 0,05$). Exploračná multivariačná analýza (PCA) založená na relatívnych abundanciách umožnila jednoznačné rozlíšenie vzoriek podľa dominancie syntetických a prirodzených častíc, pričom prvé dva hlavné komponenty vysvetľovali väčšinu variability dát. Zhluková analýza vo forme heatmapy následne potvrdila existenciu vzorkovo špecifických kompozičných profilov a vysokú heterogenitu medzi výrobnými systémami.

Analýza prítomnosti plastových materiálov v jednotlivých fázach výroby syra poukazuje na viacero potenciálnych zdrojov mikroplastových častíc v celom výrobnom reťazci. Kontaminácia môže vznikať už v počiatočných krokoch, počas dojenia a manipulácie so surovým mliekom, kde dochádza ku kontaktu mlieka s plastovými strukovými násadcami, hadicami a filtračnými textíliami. Mechanické namáhanie týchto komponentov, ich opotrebenie a opakované čistenie môžu viesť k uvoľňovaniu drobných plastových fragmentov do mlieka ešte pred samotným spracovaním.

Počas zberu a transportu mlieka predstavujú ďalší zdroj plastové kanistre, vedrá a flexibilné hadice, ktoré sú používané najmä v tradičných salašoch a malých mliekarňach. V týchto systémoch prebieha manipulácia prevažne manuálne a často v otvorenom prostredí, čo zvyšuje riziko kombinovanej kontaminácie z plastových povrchov aj z okolitého prostredia. Naopak, v priemyselných mliekarňach je transport mlieka realizovaný uzavretými čerpacími systémami, kde síce dochádza ku kontaktu s plastovými komponentmi, avšak v kontrolovaných podmienkach s nižším rizikom mechanického poškodenia materiálov.

Významným zdrojom mikroplastov môžu byť aj technologické operácie počas spracovania mlieka, ako je prečerpávanie, temperovanie, syrenie a spracovanie syreniny. Používanie plastových hadíc, tesnení, ventilov, foriem, sít a miešacích prvkov vytvára početné kontaktné plochy, z ktorých sa môžu vplyvom trenia, tlaku a teploty uvoľňovať fragmenty mikroplastov. Tento mechanizmus je obzvlášť relevantný v malých mliekarňach, kde sa

kombinuje vyšší počet plastových pomôcok s manuálnou manipuláciou a menej štandardizovanými hygienickými postupmi.

Ďalším významným faktorom je kontakt syra s plastovými materiálmi počas solenia, sušenia, skladovania a balenia. Plastové nádoby na soľný roztok, regály, prepravky a obalové fólie predstavujú potenciálne zdroje sekundárnej kontaminácie, najmä pri dlhodobom kontakte s povrchom syra. V prípade priemyselnej výroby môže byť tento rizikový faktor čiastočne eliminovaný použitím uzavretých liniek, automatizácie a pravidelnej výmeny opotrebovaných komponentov.

Celkovo možno konštatovať, že pôvod mikroplastových častíc v syroch je multifaktoriálny a súvisí s kombináciou použitého materiálu, miery jeho opotrebenia, typu technologického procesu a úrovne hygienického manažmentu. Najvyššie riziko vzniku mikroplastov predstavujú flexibilné plastové hadice, tesnenia, filtračné textílie a manuálne používané plastové pomôcky, zatiaľ čo uzavreté a dobre udržiavané systémy môžu riziko kontaminácie výrazne znížiť.

Výsledky preukázali výrazné rozdiely v úrovni kontaminácie syrov mikroplastmi v závislosti od výrobného systému. Najnižšie počty syntetických častíc boli zaznamenané v syroch vyrobených v tradičnom salaši a vo veľkej priemyselnej mliekarni, zatiaľ čo najvyššia kontaminácia bola zistená v syroch z malých mliekarní. To naznačuje, že miera kontaminácie nie je priamo viazaná na rozsah výroby, ale skôr na charakter technologických postupov, intenzitu manuálnej manipulácie a stav plastových komponentov používaných počas spracovania (Zajác et al., 2025).

Tradične vyrábané syry boli charakteristické vysokým podielom prirodzených častíc, čo poukazuje na dominantný vplyv environmentálneho prostredia. Napriek používaniu niektorých plastových pomôcok zostával podiel syntetických častíc relatívne nízky, čo je v súlade s poznatkami o nižšej technologickej záťaži tradičných mliečnych výrobkov (Visentin et al., 2025). Naopak, malé mliekarne vykazovali najvyššie počty mikroplastov, pravdepodobne v dôsledku kombinácie poloautomatizovaných procesov, častého používania plastových hadíc, foriem a nádob a zvýšeného opotrebenia materiálov pri manuálnych operáciách. Význam technologických a obalových materiálov ako zdrojov mikroplastov v syroch potvrdzuje aj štúdia zameraná na migráciu mikroplastov z obalov do syrov (Katsara et al., 2025).

Veľké priemyselné mliekarne dosahovali napriek rozsiahlemu používaniu polymérov nižšie hodnoty syntetických častíc, čo možno pripísať uzavretým výrobným linkám, štandardizovaným hygienickým postupom a kontrolovanému prúdeniu vzduchu. Podobné závery boli zaznamenané aj pri hodnotení mikroplastov v iných mliečnych výrobkoch vyrábaných v kontrolovaných technologických podmienkach (Abedi et al., 2025).

Identifikované polyméry, najmä polyetylén, polyamid, polypropylén a polyetyléntereftalát, patria medzi materiály bežne používané v mliekarenskej technológii a obaloch a sú často uvádzané aj v iných štúdiách zameraných na mikroplasty v mlieku a mliečnych výrobkoch (Katsara et al., 2025; Abedi et al., 2025; Di Fiore et al., 2024). Dominancia fragmentov vo všetkých vzorkách sa líši od vláknitých profilov typických pre mlieko a naznačuje, že pri výrobe syrov zohráva významnú úlohu mechanické opotrebenie povrchov počas rezania, lisovania a tvarovania (Banica et al., 2024).

Z hľadiska bezpečnosti potravín je významná aj vysoká prítomnosť prirodzených častíc, ako sú celulóza, chitín či minerálne zložky, čo poukazuje na komplexný charakter časticovej kontaminácie potravín (Cverenkárová et al., 2021). Hoci zdravotné účinky mikroplastov zatiaľ nie sú jednoznačne definované, dostupné štúdie upozorňujú na ich potenciál pôsobiť ako nosiče chemických látok a prispievať k zápalovým a metabolickým procesom v organizme (Hahladakis et al., 2018; Jayavel et al., 2024; Sofield, Anderton a Gorecki, 2024).

Celkovo výsledky zdôrazňujú potrebu cielenej kontroly plastových materiálov najmä v malých a poloautomatizovaných mliekarenských prevádzkach. Mikroplasty by mali byť považované za vznikajúce fyzikálne riziko a systematicky zahrnuté do postupov správnej výrobnej praxe a HACCP s cieľom minimalizovať ich výskyt v mliečnych výrobkoch.

ZÁVER

Štúdia potvrdila, že kontaminácia syrov mikroplastmi sa výrazne líši v závislosti od výrobného systému a nie je daná iba rozsahom produkcie. Najnižšie počty syntetických častíc boli zistené v priemyselnej výrobe s uzavretými technologickými linkami a kontrolovaným prostredím, zatiaľ čo najvyššia kontaminácia sa vyskytla v malých mliekarňach s otvorenými procesmi a vyšším podielom manuálnej manipulácie. Vo viacerých vzorkách prevažovali prirodzené častice nad syntetickými, čo poukazuje na komplexný charakter takejto kontaminácie. Výsledky zdôrazňujú význam dizajnu zariadení, technologických postupov a hygienického manažmentu a podporujú začlenenie monitoringu a verifikácie kontaminácie mikroplastov v procesoch aj finálnych výrobkoch ako súčasť systémov HACCP.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja (APVV) v rámci grantu č. APVV-23-0036.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ABEDI, D., NIARI, M. H., RAMAVANDI, B., DE-LA-TORRE, G. E., RENNER, G., SCHMIDT, T. C., DOBARADARAN, S., 2025. Microplastics and phthalate esters in yogurt and buttermilk samples: characterization and health risk assessment. Journal of Environmental Health Science and Engineering, 23(1). https://doi.org/10.1007/s40201-025-00939-z
2. BANICA, A. L., RADULESCU, C., STIRBESCU, R. M., DULAMA, I. D., BUCURICA, I. A., STANESCU, S. G., STIRBESCU, N. M., 2024. Microplastics contamination of dairy products with high-fat content – occurrence and associated risks. U.P.B. Sci. Bull., Series B, 86(4), 2024.
3. BASARAN, B., ÖZÇIFÇI, Z., AKCAY, H. T., AYTAN, Ü., 2023. Microplastics in branded milk: Dietary exposure and risk assessment. Journal of Food Composition and Analysis, 123, 105611. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105611
4. COX, K. D., COVERNTON, G. A., DAVIES, H. L., DOWER, J. F., JUANES, F., DUDAS, S. E., 2019. Human consumption of microplastics. Environmental Science & Technology, 53(12), 7068–7074. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01517
5. CVERENKÁROVÁ, K., VALACHOVIČOVÁ, M., MACKUĽAK, T., ŽEMLIČKA, L., BÍROŠOVÁ, L., 2021. Microplastics in the Food Chain. Life, 11(12), 1349. https://doi.org/10.3390/life11121349
6. DI FIORE, C., CARRIERA, F., IANNONE, A., PARIS, E., GALLUCCI, F., AVINO, P., 2024. First Approach for Defining an Analytical Protocol for the Determination of Microplastics in Cheese Using Pyrolysis–Gas Chromatography–Mass Spectrometry. Applied Sciences, 14(13), 5621. https://doi.org/10.3390/app14135621
7. EFSA, 2021. 25 th EFSA colloquium 'A coordinated approach to assess the human health risks of micro- and nanoplastics in food' 6–7 May 2021 Online event. Available at: https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/2021-05/booklet-abstracts.pdf
8. FAO, 2022. Microplastics in food commodities. FAO. https://doi.org/10.4060/cc2392en
9. HAHLADAKIS, J. N., VELIS, C. A., WEBER, R., IACOVIDOU, E., PURNELL, P., 2018. An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. Journal of Hazardous Materials, 344, 179–199. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.10.014
10. JAYAVEL, S., GOVINDARAJU, B., MICHAEL, J. R., VISWANATHAN, B., 2024. Impacts of micro and nanoplastics on human health. Bulletin of the National Research Centre, 48(1). https://doi.org/10.1186/s42269-024-01268-1

11. KATSARA, K., VISKADOURAKIS, Z., KENANAKIS, G., PAPADAKIS, V. M., 2025. Microplastic Migration from Food Packaging on Cheese. Microplastics, 4(2), 17. https://doi.org/10.3390/microplastics4020017
12. PIRONTI, C., RICCIARDI, M., MOTTA, O., MIELE, Y., PROTO, A., MONTANO, L., 2021. Microplastics in the Environment: Intake through the Food Web, Human Exposure and Toxicological Effects. Toxics, 9(9), 224. https://doi.org/10.3390/toxics9090224
13. RAGUSA, A., NOTARSTEFANO, V., SVELATO, A., BELLONI, A., GIOACCHINI, G., BLONDEEL, C., ZUCCHELLI, E., DE LUCA, C., D'AVINO, S., GULOTTA, A., CARNEVALI, O., GIORGINI, E., 2022. Raman Microspectroscopy Detection and Characterisation of Microplastics in Human Breastmilk. Polymers, 14(13), 2700. https://doi.org/10.3390/polym14132700
14. REDNIKIN, A. R., FRANK, Y. A., ROZHIN, A. O., VOROBIEV, D. S., FAKHRULLIN, R. F., 2024. Airborne Microplastics: Challenges, Prospects, and Experimental Approaches. Atmosphere, 15(11), 1380. https://doi.org/10.3390/atmos15111380
15. SOFIELD, C. E., ANDERTON, R. S., GORECKI, A. M., 2024. Mind over Microplastics: Exploring Microplastic-Induced Gut Disruption and Gut-Brain-Axis Consequences. Current Issues in Molecular Biology, 46(5), 4186–4202. https://doi.org/10.3390/cimb46050256
16. U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA), 2019. Food additives and food contact substances. Retrieved from https://www.fda.gov/food/food-additives-petitions/food-additives-food-contact-substances-fcs
17. VISENTIN, E., NIERO, G., BENETTI, F., O'DONNELL, C., DE MARCHI, M., 2025. Assessing microplastic contamination in milk and dairy products. Npj Science of Food, 9(1). https://doi.org/10.1038/s41538-025-00506-8
18. ZAJÁC, P., BEŇOVÁ, E., ŽIDEK, R., ČAPLA, J., BENEŠOVÁ, L., ČURLEJ, J., GOLIAN, J., 2021. Detection of adulteration of traditional Slovak bryndza ewe's cheese with cow's lump cheese by isoelectric focusing of gamma caseins. International Journal of Food Properties, 24(1), 1034–1060. https://doi.org/10.1080/10942912.2021.1953066
19. ZAJÁC, P., ČAPLA, J., ČURLEJ, J., 2025. Microplastic contamination of food. SciFood, 19, 1–16. https://doi.org/10.5219/scifood.1
20. ZAJÁC, P., ČURLEJ, J., ČAPLA, J., BENEŠOVÁ, L., JAKABOVÁ, S., PARTIKA, A., ZUBRICKÁ, S., 2023. Fatty acid profile of traditional Slovak ewe's and cow's lump cheese. International Journal of Food Properties, 26(1), 1426–1444. https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2219860

21. ZAJÁC, P., MARTIŠOVÁ, P., ČAPLA, J., ČURLEJ, J., GOLIAN, J., 2019. Characteristics of textural and sensory properties of Oštiepok cheese. Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences, 13(1), 116–130. https://doi.org/10.5219/855

Kontaktná adresa: doc. Ing. Peter Zajác, PhD. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Ústav potravinárstva, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika. +421 37 641 4371, E-mail: peter.zajac@uniag.sk ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4425-43 74

VPLYV FRITOVANIA NA ZASTÚPENIE SFA, MUFA A PUFA V ZEMIAKOVÝCH HRANOLČEKOCH

EFFECT OF FRYING ON THE DISTRIBUTION OF SFA, MUFA, AND PUFA IN FRENCH FRIES

Zeleňáková Lucia [1*], Gabašová Michaela [1], Fikselová Martina [1], Gálik Branislav [2]

[1]*Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva*

[2]*Ústav výživy a genomiky, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov*

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of the degree of technological processing of potato French fries and frying conditions on changes in the fatty acid profile. Two variants of French fries were analyzed: Variant 1, prepared from raw potatoes without prior heat treatment, and Variant 2, representing pre-fried frozen potato French fries. The samples were fried in a multi-component oil and a single-component (rapeseed) oil under two temperature–time regimes (175 °C/4 min and 200 °C/3 min) until the limit value of total polar materials in the oil (TPM = 24%) was reached. The fatty acid profile was determined by gas chromatography and expressed as the percentage content of saturated (SFA), monounsaturated (MUFA), and polyunsaturated fatty acids (PUFA). The results revealed significant differences between the variants prior to frying, with Variant 1 showing a high PUFA content and Variant 2 characterized by a higher proportion of MUFA. After frying, a substantial increase in MUFA and a decrease in PUFA were observed in both variants, leading to a considerable homogenization of the lipid profile. Frying temperature did not appear to be a dominant factor affecting the fatty acid profile. The results indicate that the degree of technological processing and the absorption of frying oil are the key factors influencing changes in the fatty acid composition.

Keywords: potato, French fries, oils, deep-frying, fatty acids

ÚVOD

Fritovanie predstavuje jednu z najčastejšie používaných metód tepelnej úpravy potravín, pri ktorej sú potraviny ponorené do horúceho tuku pri teplotách približne 150 až 200 °C. Počas procesu dochádza k rýchlemu odparovaniu vody z povrchových vrstiev potraviny, tvorbe prehriatej pary a vzniku charakteristickej chrumkavej textúry, zatiaľ čo vnútro produktu je tepelne spracované na bezpečnú konzumáciu (Pedreschi et al., 2007; Asokapandian et al.,

2020). Zemiakové hranolčeky patria medzi najtypickejšie fritované výrobky, pričom ich konečná kvalita je ovplyvnená degradáciou fritovacieho oleja a jeho interakciou s potravinou (Grootveld et al., 2021).

Nasýtené a nenasýtené mastné kyseliny môžu ovplyvniť degradáciu olejov na vyprážanie. Vo všeobecnosti sú oleje s vysokým obsahom polynenasýtených mastných kyselín (kukuričný, sójový, slnečnicový, repkový a arašidový olej) vhodné pre domácu kuchyňu. Napriek tomu sa uvádza, že oleje s nízkym obsahom kyseliny linolovej a vysokým obsahom kyseliny olejovej (olivový, mandľový, repkový olej) sú stabilnejšie počas procesu vyprážania (Bou et al., 2012). Oleje s vysokým obsahom nenasýtených mastných kyselín majú počas vyprážania tendenciu oxidovať a polymerizovať rýchlejšie než oleje s nižším obsahom nenasýtených kyselín (Bellés et al., 2018).

Významným faktorom ovplyvňujúcim výsledný profil mastných kyselín je aj absorpcia oleja do potraviny, v dôsledku ktorej sa lipidové zloženie fritovaného produktu približuje k zloženiu použitého oleja (Dobarganes et al., 2015). Hoci vyššia teplota fritovania môže urýchľovať degradačné procesy, viaceré štúdie poukazujú na to, že rozhodujúci vplyv má najmä celková doba fritovania a stupeň opotrebenia oleja (Zeleňáková et al., 2023).

Cieľom tejto práce bolo zhodnotiť zmeny v profile mastných kyselín zemiakových hranolčekov v závislosti od stupňa technologického spracovania suroviny, typu použitého oleja a podmienok fritovania, s dôrazom na technologické a nutričné aspekty sledovaných zmien.

MATERIÁL A METODIKA

Charakteristika vzoriek

V experimente boli analyzované dva varianty zemiakových hranolčekov, ktoré sa líšili stupňom technologického spracovania vstupnej suroviny.

- **Variant 1** predstavoval zemiakové hranolčeky pripravené zo surových zemiakov bez predchádzajúcej tepelnej úpravy. Zemiaky boli pred spracovaním mechanicky očistené, krájané na hranolčeky jednotných rozmerov a bezprostredne použité na experimentálne fritovanie.
- **Variant 2** predstavoval priemyselne vyrábané zemiakové hranolčeky, ktoré boli predsmažené a následne zmrazené. Tento variant bol skladovaný v mraziacich podmienkach podľa odporúčaní výrobcu a pred samotným fritovaním nebol nijako technologicky upravovaný.

Fritovanie zemiakových hranolčekov bolo realizované vo fritézach z nerezovej ocele s regulovanou teplotou (objem 8 l) v laboratórnych podmienkach, ako aj v gastronomických prevádzkach. Vzorky boli fritované vo viaczložkovom oleji – O1 a jednozložkovom

(repkovom) oleji – O2 pri dvoch teplotno-časových režimoch: 175 °C/4 min a 200 °C/3 min. Na jedno fritovanie bolo použité rovnaké množstvo hranolčekov (100 g). Fritovací cyklus sa opakoval každých 15 minút, pričom po ukončení fritovania bol košík so vzorkou vybratý a pretrepaný s cieľom odstrániť prebytočný olej. Fritovanie prebiehalo kontinuálne počas niekoľkých dní (približne 6 hodín denne) až do dosiahnutia limitnej hodnoty obsahu polárnych látok v oleji (TPM = 24 %), ktorá signalizuje jeho opotrebovanie. Mimo doby fritovania bol olej uchovávaný v uzavretej fritéze pri izbovej teplote.

Po vychladnutí boli vzorky homogenizované a následne použité na stanovenie profilu mastných kyselín. Analýza bola realizovaná na vzorkách:

- pred fritovaním
- po prvom fritovaní pri 175 °C/4 min a 200 °C/3 min
- po poslednom fritovaní (dosiahnutie 24 % TPM) pri 175 °C/4 min a 200 °C/3 min

Každá vzorka bola analyzovaná minimálne v dvoch opakovaniach s cieľom minimalizovať experimentálnu chybu a zabezpečiť reprodukovateľnosť výsledkov.

Profil mastných kyselín bol stanovený po extrakcii lipidovej frakcie zo vzoriek. Extrahované tuky boli ďalej spracované na metylestery mastných kyselín (FAME), ktoré boli analyzované pomocou plynovej chromatografie. Na základe chromatografického rozdelenia boli mastné kyseliny rozdelené do troch základných skupín:

- nasýtené mastné kyseliny (SFA)
- mononenasýtené mastné kyseliny (MUFA)
- polynenasýtené mastné kyseliny (PUFA)

Výsledky boli vyjadrené ako percentuálne zastúpenie jednotlivých skupín mastných kyselín z celkového obsahu lipidovej frakcie.

Vyhodnotenie výsledkov

V rámci interpretácie výsledkov bol hodnotený vplyv:

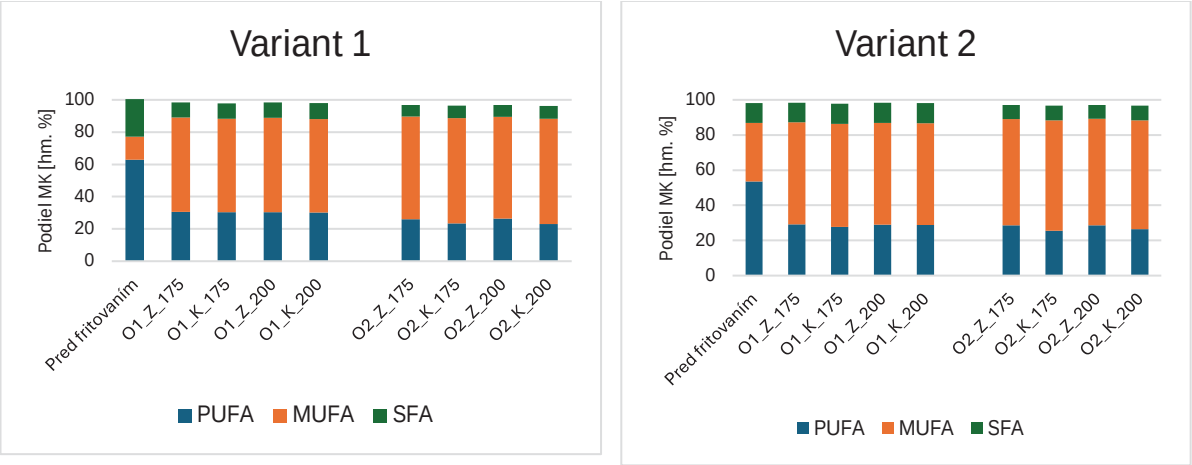
- stupňa technologického spracovania (Variant 1 vs. Variant 2),
- podmienky fritovania (175 °C/4 min a 200 °C/3 min),
- použitého oleja na zmeny v profile mastných kyselín.

Analýzy boli vykonané v laboratóriách Ústavu potravinárstva a Ústavu výživy a genomiky SPU v Nitre.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky analýzy profilu mastných kyselín poukazujú na výrazné rozdiely medzi sledovanými variantmi zemiakových hranolčekov už pred procesom fritovania, ako aj na

výrazný vplyv samotného fritovania na konečné zloženie lipidovej frakcie. Komplexné porovnanie oboch variantov je uvedené v grafoch 1 a 2.



Grafy č. 1,2 Podiel frakcií mastných kyselín v hranolčekoch variantu 1 a 2 pri rôznych podmienkach fritovania v obidvoch olejoch

Variant 1, predstavujúci hranolčeky pripravené zo surových zemiakov bez predchádzajúcej tepelnej úpravy, vykazoval pred fritovaním veľmi vysoký podiel polynenasýtených mastných kyselín (PUFA), ktoré tvorili približne 63 % celkového obsahu mastných kyselín. Zároveň bol tento variant charakteristický nízkym obsahom mononenasýtených mastných kyselín (MUFA) a pomerne vysokým zastúpením nasýtených mastných kyselín (SFA).

Naopak, Variant 2, tvorený priemyselne vyrábanými predsmaženými a zmrazenými zemiakovými hranolčekmi, vykazoval už pred fritovaním vyváženejší profil mastných kyselín. Tento variant sa vyznačoval podstatne vyšším podielom MUFA, nižším zastúpením PUFA a výrazne nižším obsahom SFA v porovnaní s Variantom 1. Rozdiely v základnom profile mastných kyselín možno pripísať rozdielnemu stupňu technologického spracovania vstupnej suroviny, predovšetkým procesu predsmaženia, ktorý významne ovplyvňuje lipidovú zložku produktu ešte pred finálnou tepelnou úpravou.

Po procese fritovania došlo u oboch variantov k výrazným zmenám v zastúpení jednotlivých skupín mastných kyselín. Vo všetkých sledovaných prípadoch bol zaznamenaný výrazný nárast MUFA a zároveň významný pokles podielu PUFA. Tento trend možno jednoznačne spájať s absorpciou fritovacieho oleja do produktu, pričom použitý olej bol charakteristický vysokým obsahom mononenasýtených mastných kyselín. Výsledkom tohto procesu bolo výrazné zjednotenie lipidového profilu Variantov 1 a 2 po fritovaní, čím sa pôvodné rozdiely medzi surovinami do značnej miery eliminovali.

Pri detailnejšom hodnotení zmien polynenasýtených mastných kyselín možno konštatovať, že Variant 1 zaznamenal po fritovaní výraznejší absolútny pokles PUFA. Ich podiel sa znížil z pôvodných vysokých hodnôt približne na 23–31 %. V prípade Variant 2 sa hodnoty PUFA po fritovaní pohybovali v rozmedzí približne 26–29 %, čo naznačuje o niečo stabilnejšie správanie tejto frakcie. Hoci sú rozdiely medzi oboma variantmi po fritovaní relatívne malé, výsledky naznačujú, že polynenasýtené mastné kyseliny sú u surových hranolčekov citlivejšie na zmeny spôsobené fritovaním.

Mononenasýtené mastné kyseliny sa po fritovaní stali dominantnou lipidovou frakciou u oboch sledovaných variantov. Ich podiel dosahoval približne 58–65 %, pričom rozdiely medzi Variantom 1 a Variantom 2 boli minimálne. V niektorých prípadoch boli u Variantu 1 zaznamenané mierne vyššie maximálne hodnoty MUFA, avšak celkovo možno konštatovať, že z hľadiska zastúpenia MUFA boli oba varianty po fritovaní porovnateľné.

Obsah nasýtených mastných kyselín sa v priebehu fritovania výrazne nemenil a vykazoval len mierne kolísanie hodnôt. Vo väčšine prípadov nedošlo k ich zvýšeniu, skôr bol pozorovaný mierny pokles, čo možno opäť pripísať absorpcii oleja s nižším podielom SFA. Po fritovaní mal Variant 1 vo všeobecnosti mierne nižší obsah nasýtených mastných kyselín než Variant 2. Hodnoty SFA sa pohybovali približne v rozmedzí 7–10 % pri Variante 1 a 8–12 % pri Variante 2. Hoci ide o relatívne malé rozdiely, z nutričného hľadiska možno Variant 1 po tepelnom spracovaní hodnotiť ako mierne priaznivejší z hľadiska obsahu nasýtených mastných kyselín.

Vplyv teploty fritovania (175 °C a 200 °C) na konečný profil mastných kyselín sa v rámci sledovaných vzoriek neprejavil ako dominantný faktor. Rozdiely medzi jednotlivými teplotnými režimami boli malé a nebol pozorovaný jednoznačný trend, ktorý by naznačoval systematické zhoršenie alebo zlepšenie zastúpenia jednotlivých skupín mastných kyselín pri vyššej teplote. Z výsledkov vyplýva, že rozhodujúcim faktorom pre konečný lipidový profil bol najmä typ variantu a rozsah absorpcie fritovacieho oleja, nie samotná teplota fritovania v sledovanom intervale.

Zloženie mastných kyselín v olejoch má rozhodujúci vplyv na ich oxidačnú a termickú stabilitu počas fritovania. Oleje s vysokým obsahom polynenasýtených mastných kyselín (PUFA) sú náchylnejšie na oxidačné reakcie, zatiaľ čo oleje bohaté na mononenasýtené mastné kyseliny (MUFA), predovšetkým kyselinu olejovú, vykazujú vyššiu stabilitu (Bou et al., 2012; Bellés et al., 2018). Počas fritovania prebiehajú komplexné oxidačné a termické procesy, ktoré vedú najmä k degradácii PUFA, najmä kyseliny linolovej a linolénovej, a k relatívnemu zvýšeniu podielu stabilnejších MUFA a nasýtených mastných kyselín (SFA) (Zhang et al., 2015).

Pokles obsahu polynenasýtených mastných kyselín počas fritovania bol opakovane potvrdený v literatúre a súvisí s ich vyššou reaktivitou a citlivosťou na oxidačné poškodenie pri zvýšených teplotách (Zeleňáková et al., 2019). Súčasne býva zaznamenaný nárast podielu kyseliny olejovej, čo možno vysvetliť jej vyššou oxidačnou stabilitou a nižším počtom dvojitých väzieb v molekule. Výsledkom týchto zmien je postupná transformácia profilu mastných kyselín smerom k vyššiemu zastúpeniu MUFA počas fritovania (Rotondo et al., 2020).

ZÁVER

Celkovo možno konštatovať, že hoci Variant 1 a Variant 2 vykazovali výrazne odlišné zloženie mastných kyselín pred fritovaním, proces fritovania tieto rozdiely do značnej miery potlačil. Po tepelnej úprave boli oba varianty charakterizované vysokým podielom MUFA, výrazne zníženým obsahom PUFA a relatívne stabilným podielom SFA. Napriek tomuto zjednoteniu si Variant 1 zachoval mierne nižší obsah nasýtených mastných kyselín, zatiaľ čo Variant 2 vykazoval o niečo vyšší podiel polynenasýtených mastných kyselín. Tieto rozdiely môžu mať význam najmä z hľadiska nutričného hodnotenia výrobkov a ich potenciálnej oxidačnej stability.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-22-0402 a projektom KEGA č. 002SPU-4/2025.

LITERATÚRA

1. ASOKAPANDIAN, S.; SWAMY, G.J. a HAJJUL, H. 2020. Deep fat frying of foods: A critical review on process and product parameters. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 60(20), s. 3400–3413. ISSN 1040-8398. Dostupné na: doi:10.1080/10408398.2019.1688761
2. BELLÉS, M.; LEAL, L.N.; DÍAZ, V.; ALONSO, V.; RONCALÉS, P. a BELTRÁN, J.A. 2018. Effect of dietary vitamin E on physicochemical and fatty acid stability of fresh and thawed lamb. *Food Chemistry* [online]. 239, s. 1–8. ISSN 03088146. Dostupné na: doi:10.1016/j.foodchem.2017.06.076
3. BOU, R.; NAVAS, J.A.; TRES, A.; CODONY, R. a GUARDIOLA, F. 2012. Quality assessment of frying fats and fried snacks during continuous deep-fat frying at different large-scale producers. *Food Control* [online]. 27(1), s. 254–267. ISSN 09567135. Dostupné na: doi:10.1016/j.foodcont.2012.03.026

4. DOBARGANES, M.C. a MÁRQUEZ-RUIZ, G. 2015. *Oxidized fats in foods. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 6(2):157-63. Dostupné na: https://doi.org/10.1097/00075197-200303000-00004
5. GROOTVELD, M.; PERCIVAL, B.C.; MOUMTAZ, S.; GIBSON, M.; WOODASON, K.; AKHTAR, A.; WAWIRE, M.; EDGAR, M. a GROOTVELD, K.L. 2021. Commentary: Iconoclastic Reflections on the 'Safety' of Polyunsaturated Fatty Acid-Rich Culinary Frying Oils: Some Cautions regarding the Laboratory Analysis and Dietary Ingestion of Lipid Oxidation Product Toxins. *Applied Sciences*. 11(5), 2351. Dostupné na: doi:10.3390/app11052351
6. PEDRESCHI, F.; KAACK, K.; GRANBY, K. a TRONCOSO, E. 2007. Acrylamide reduction under different pre-treatments in French fries. *Journal of Food Engineering* [online]. 79(4), s. 1287–1294. ISSN 02608774. Dostupné na: doi:10.1016/j.jfoodeng.2006.04.014
7. ROTONDO, A.; LA TORRE, G.L.; DUGO, G.; CICERO, N.; SANTINI, A. a SALVO, A. 2020. Oleic Acid Is not the Only Relevant Mono-Unsaturated Fatty Ester in Olive Oil. *Foods* [online]. 9(4), s. 384. ISSN 2304-8158. Dostupné na: doi:10.3390/foods9040384
8. ZELEŇÁKOVÁ, L.; ANGELOVIČOVÁ, M.; ŠNIRC, M.; ŽIAROVSKÁ, J.; KRÁČMAR, S.; GÁLIK, B. a KUNOVÁ, S. 2019. Thermo-degradative changes of rapeseed and sunflower oils during deep-frying French fries. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*. 13(1), 138-149. Dostupné na: doi:10.5219/1080
9. ZELEŇÁKOVÁ, L.; GABAŠOVÁ, M.; ANGELOVIČ, M.; GÁLIK, B.; FIKSELOVÁ, M. a KOLESÁROVÁ, A. 2023. Profil mastných kyselín v zemiakových hranolčekoch fritovaných v repkovom oleji. *Ingrovy dny 2023: sborník 49. konference o jakosti potravin a potravinových surovin, 28.2.-2.3.2023 Mendelova univezita v Brně*. Brno: Mendelova univerzita, 550-567. ISBN 978-80-7509-917-4.
10. ZHANG, H.; ZHANG, H.; CHENG, L.; WANG, L. a QIAN, H. 2015. Influence of deep-frying using various commercial oils on acrylamide formation in French fries. *Food Additives & Contaminants: Part A* [online]. 32(7), s. 1083–1088. ISSN 1944-0049. Dostupné na: doi:10.1080/19440049.2015.1045559

Kontaktná adresa: doc. Ing. Lucia Zeleňáková, PhD., Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76, Slovenská republika. E-mail: lucia.zelenakova@uniag.sk

VPLYV MASTITÍDY NA KVALITU MLIEKA A REPRODUKČNÉ PARAMETRE U SLOVENSKÉHO STRAKATÉHO DOBYTKA

IMPACT OF MASTITIS ON MILK QUALITY AND REPRODUCTIVE PARAMETERS IN SLOVAK SPOTTED CATTLE

Zigo František[1], Farkašová Zuzana[1], Lacková Zuzana[1], Výrostková Jana[2], Regecová Ivana[2], Vargová Mária[3], Ondrašovičová Silvia[4], Hoppejová Tamara [1], Récky Andrej

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

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

ABSTRACT

The aim of the study was to evaluate the incidence and etiology of mastitis in dairy cows and to compare its impact on milk composition and reproductive parameters. The study included 200 Slovak Spotted cattle from a production herd in the Trenčín region of Slovakia. The selected cows underwent a clinical examination of the mammary gland, including a California Mastitis Test (CMT) of quarter milk samples. Subsequently, a milk sample was taken from each cow for microbiological examination and analysis of milk composition. Based on the CMT results and laboratory cultivation, mastitis was confirmed in 52 cows (26%). The most frequent form was subclinical mastitis, with an incidence of 17.5% (35 cows), while clinical mastitis was observed in 8.5% (17 cows). The results of the study indicate that milk from cows with clinical mastitis and a high somatic cell count had lower concentrations of fat and lactose than milk from healthy cows. Evaluation of reproductive parameters showed that 94% (16 out of 17) of cows with clinical mastitis exhibited unsatisfactory values for indicators such as the insemination interval, insemination index, service period and intercalving period.

Key words: cows, milk, composition, mastitis, intercalving period

ÚVOD

Jedným z významných faktorov, ktorý ovplyvňuje úspešnosť chovov zameraných na trhovú produkciu mlieka, je aj výskyt zápalových ochorení mliečnej žľazy - mastitíd. Mastitídy patria medzi najzávažnejšie ochorenia dojníc, ktoré majú polyfaktoriálny charakter a na ich vzniku sa môže podieľať niekoľko faktorov. Medzi najdôležitejšie činitele patria obranné mechanizmy (imunita) samotnej dojnice, jej genetická výbava a fyziológia. Taktiež priebeh ochorenia ovplyvňujú poradie a štádium laktácie a vek dojnice. Významnú úlohu pri rozvoji zohráva aj vonkajšie prostredie, ako hygiena chovu, kvalita a spôsob ustajnenia dojníc (Čobirka a kol., 2020).

Intramamárne infekcie sa prejavujú klinicky a subklinicky a ich prítomnosť v chovoch významne ovplyvňuje nielen objem a kvalitu nadojeného mlieka, ale aj reprodukčné parametre dojníc. Okrem zníženia produkcie a kvality mlieka, ktoré patria medzi hlavné ekonomické straty, sú ďalšie straty spôsobené najmä predĺžením medziobdobia a servis periódy, ktorých neštandardná dĺžka znižuje dojivosť počas nasledujúcej laktácie (Dolecheck a kol., 2019). Rovnako straty, ktoré vznikajú v dôsledku nízkej plodnosti, majú vplyv na celkový obrad stáda s ovplyvňovaním brakovania neplodných kráv, počtu narodených teliat, priebehu laktačnej krivky a ďalších individuálnych vlastností kráv (Tvarožková a kol., 2021).

Práca sa zameriava na analýzu zdravotného stavu mliečnej žľazy u dojníc v podmienkach produkčnej farmy v Trenčianskom kraji. Skúma súvislosti medzi výskytom mastitíd a ich dopadom nielen na kvalitatívne parametre mlieka, ale aj na reprodukčnú úspešnosť zvierat.

MATERIÁL A METODIKA

Chovy dojníc a odber vzoriek

Praktická časť štúdie bola realizovaná na produkčnej farme dojníc situovanej na západnom Slovensku v Trenčianskom kraji. Na farme sa chová 470 ks slovenského strakatého dobytka, pričom 250 ks tvoria dojnice, ktoré sú chované systémom voľného ustajnenia na hlbokej podstielke a kŕmené TMR v súlade s nutričnými požiadavkami pre dojnice o hmotnosti 650 kg (NRC, 2001). Dojenie kráv sa vykonávalo 2x denne v rybinovej dojárni s dodržiavaním hygienického programu pozostávajúceho s aplikácie napeňovacieho dezinfekčného prostredku, posúdenia prvých odstrekov mlieka a dezinfekcie ceckov po automatickom ukončení dojenia.

Do štúdie bolo zaradených 200 dojníc, ktoré boli po otelení postupne preradzované z pôrodnice (10 dní po otelení) do rozdoja. Vybrané dojnice boli klinicky vyšetrené a mlieko z každej štvrte vemena bolo podrobené senzorickému vyšetreniu a vyhodnotením NK-testu (nepriamy diagnostický test, Krause, Dánsko) s následným odberom zmesnej vzorky mlieka do dvoch skúmaviek pre laboratórne analýzy bakteriálnych patogénov vemena a kvalitatívnych

zložiek. Vzorky boli ochladené na 4 °C a ihneď transportované do laboratória a analyzované nasledujúci deň.

Analýza vzoriek

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).

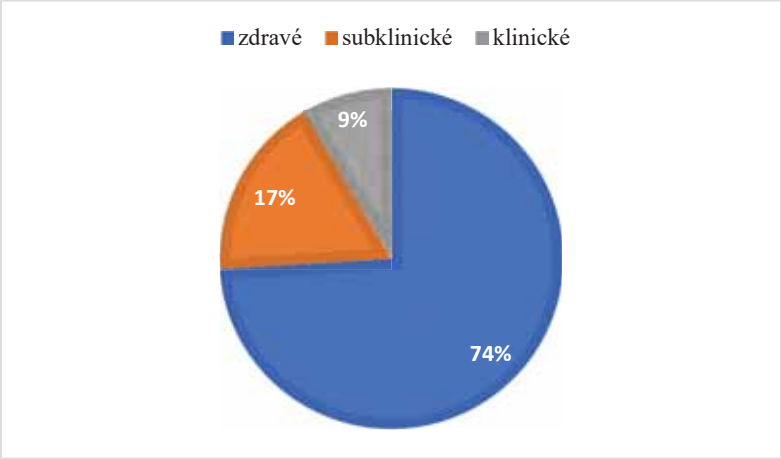
Testovanie základných zložiek mlieka monitorovaných kráv, ako je obsah tuku, bielkovín, laktózy a beztukovej sušiny (SNF) bolo pomocou FTIR spektroskopie na analyzátore MilkoScan FT 6000 (Foss Analytical A/S, Hillerød, Dánsko) podľa Zahumenská a kol. (2024). Somatický počet buniek bol pomocou LactoScan SCC analyzátora (Milko-tronic Ltd., Nova Zagora, Bulharsko), priameho fluorescenčného prístroja v súlade s príslušnými medzinárodnými normami – STN EN ISO 13366-2:2010. Všetky merania boli vykonané dvakrát pre každú vzorku. Reprodukčné parametre ako inseminačný interval, inseminačný index, medziobdobie, servis perióda a dĺžka laktácie boli sledované získané z databázy farmového manažmentu chovu HerdMetrix (Agromont, Nitra).

Po komplexnom vyšetrení dojníc boli kravy rozdelené do troch skupín na základe klasifikácie mastitíd na zdravé a dojnice so subklinickou alebo klinickou formou mastitídy. Priemerné hodnoty zložiek mlieka a reprodukčných parametrov dojníc zaradených v jednotlivých skupinách boli porovnávané pomocou jednofaktorovej analýzy rozptylu (One-way ANOVA). Na určenie štatisticky významných rozdielov medzi priemermi jednotlivých skupín bol použitý následný Tukey post-hoc test pri hladine významnosti $p < 0,05$, resp. $p < 0,01$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z 800 štvrťových vzoriek podrobených NK testu, bolo 78 pozitívnych a 721 negatívnych. Vyhodnotením NK-testu a laboratórnej kultivácie u 200 monitorovaných dojníc sa u 52 z nich (26%) potvrdil výskyt mastitíd. Medzi najčastejšie formy patrili subklinické mastitídy s výskytom 17,5 % (35 dojníc). Klinické formy mastitíd boli na úrovni 8,5 % (17 dojníc; Graf 1). Medzi najčastejších pôvodcov klinických foriem patrili *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Aerococcus viridans*, *Staphylococcus xylosus* a *Escherichia coli*.

Graf č. 1: Výskyt mastitíd v sledovanom chove dojníc



Prvá fáza laktácie je kľúčová pre ziskovosť farmy, keďže produkuje približne 42 až 45 % celkového výnosu laktácie. Táto fáza vysokej produkcie vyvoláva značný metabolický stres, charakterizovaný výraznou negatívnou energetickou bilanciou a rýchlou stratou skóre telesnej kondície v dôsledku lipomobilizácie. Príjem krmiva nerastie tak rýchlo ako produkcia mlieka, čím sa obmedzuje dodávka energie. Najvyššia produkcia mlieka zvyčajne dosahuje vrchol medzi 50 a 90 dňami v mlieku, čo najviac zaťažuje metabolické procesy. Najmä počas tohto obdobia je u dojníc zvýšený výskyt mastitídy, čo vedie k poškodeniu alveol v parenchymovom tkanive. Poškodenie sekrečného tkaniva vedie k zvýšeniu somatických buniek a ku zníženiu produkcie mlieka. Preto nižší počet somatických buniek znamená lepší zdravotný stav a lepšiu kvalitu mlieka, keďže somatické bunky stúpajú pri mastitíde, ako potvrdila naša štúdia (Tab. 1).

Tabuľka č. 1: Vyhodnotenie PSB, dennej produkcie a kavlitatívneho zloženia mlieka

Parameter	KM	SKM	Zdravé
PSBx10^3	906±123,5^{a}	457±35,3^{b}	186±23,7^{c}
Denná produkcia mlieka (kg)	15,4±4,6^{a}	19,6±4,5^{a,b}	23,2±3,1^{b}
DM (g.100^{g-1})	12,35±0,75	12,7±0,82	13,48±0,55
SNF (g.100^{g-1})	8,65±0,54	8,86±0,32	9,33±0,47
tuk (g.100^{g-1})	3,6±0,57^{a}	3,84±0,54^{a,b}	4,15±0,42^{c}
bielkoviny (g.100^{g-1})	3,3±0,42	3,4±0,31	3,2±0,28
laktóza (g.100^{g-1})	4,35±0,30^{a}	4,62±0,32^{a,b}	4,87 ± 0,29^{b}

Poznámka: SKM – subklinická mastitída, KM – klinická mastitída, PSB – počet somatických buniek, DM – sušina; SNF – beztuková sušina;

Podľa Hisira a kol. (2023) okrem zmeny PSB sa vplyvom mastitídy častokrát mení aj zloženie mlieka. Z výsledkov štúdie vyplýva, že v mlieku s vysokým obsahom PSB od kráv s klinickou mastitídou boli nižšie koncentrácie tuku a laktózy v porovnaní so zdravými dojnicami.

Výsledky hodnotenia monitorovaných dojníc na základe reprodukčných parametrov a klasifikácie mastitíd sú uvedené v Tab. č. 2. U všetkých reprodukčných parametrov až 94 % (16 zo 17 ks) dojníc s klinickou formou mastitídy vykazovalo nevyhovujúcu hodnotu. Podobné výsledky boli preukázané v štúdiách Kumar a kol. (2017) a Dolecheck a kol. (2019), ktorí poukázali na to, že mastitída má negatívny vplyv na reprodukčnú schopnosť kráv. Kravy s mastitídou vykazovali oneskorenú ruju, znížené percento gravídnych zvierat so zvýšeným rizikom potratu. Systémová imunitná odpoveď a endokrinné zmeny spojené s mastitídou môžu tiež narušiť vývoj folikulov, funkciu oocytov a schopnosť ovulácie, čím ďalej zhoršujú plodnosť. Rovnako mastitída spôsobovala u kráv predĺženie intervalu ruje a zníženie luteálnej fázy, čo narúšalo udržanie gravidity a ovplyvňovalo embryonálny vývoj.

Tabuľka č. 2: Hodnotenie vybraných dojníc na základe reprodukčných parametrov a formy mastitídy

Reprodukčný parameter	Hodnota reprodukčného parametra		Dojnice s nevyhovujúcou hodnotou reprodukčného parametra podľa klasifikácie mastitíd		
	vyhovujúca [ks/%]	nevyhovujúca [ks/%]	SKM [ks/%]	KM [ks/%]	Zdravé [ks/%]
Inseminačný interval (55-80 dní)	163 ks (81,5%)	37 ks (18,5%)	18 ks (9%)	16 ks (8%)	3 ks (1,5%)
Inseminačný index (1,2-2)	142 ks (71%)	38 ks (19%)	17 ks (8,5%)	16 ks (8%)	5 ks (2,5%)
Servis perióda (60 -110 dní)	171 ks (85,5%)	29 ks (14,5%)	9 ks (4,5%)	16 ks (8%)	4 ks (2%)
Medziobdobie (365-400 dní)	171 ks (85,5%)	29 ks (14,5%)	8 ks (4%)	16 ks (8%)	5 ks (2,5%)
Doba laktácie (240-305 dní)	160 ks (80,5%)	40 ks (19,5%)	19 ks (9,5%)	16 ks (8%)	5 ks (2,5%)

Poznámka: SKM – subklinická mastitída, KM – klinická mastitída

ZÁVER

Výsledky štúdie potvrdili, že kvalita mlieka sa znižuje najmä s výskytom klinických mastitíd, čo môže vyvolať obavy o verejné zdravie. Zmena v zložení a kvalite mlieka znižuje produktivitu farmy a príjmy pre chovateľa z jeho predaja. Navyše, u kráv s klinickou mastitídou boli zaznamenané neuspokojivé hodnoty všetkých reprodukčných parametrov, čo negatívne vplýva na ich dĺžku produkcie a laktačný cyklus. Účinná diagnostika intramamárnych infekcií a ich včasná liečba môžu byť stratégiou na zníženie strát produkcie a zlepšenie reprodukčných ukazovateľov dojníc. Malo by sa dodržiavať správne riadenie prostredníctvom dobrej hygieny, fázovej výživy, krokov hygienického programu dojenia a pravidelného monitorovania zdravia vemena.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by the Slovak Research and Development Agency under the Contract no. APVV-22-0457. Also, this study was supported by a project Visegrad Fund no. 22430046: *Control of antimicrobial resistance by the Integrated Farm System within "Farm to Fork" strategy*. The project is co-financed by the governments of Czechia, Hungary, Poland and Slovakia through Visegrad Grants from the International Visegrad Fund. The mission of the fund is to advance ideas for sustainable regional cooperation in Central Europe.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. COBIRKA, M. - TANCIN, V. - SLAMA, P. Review epidemiology and classification of mastitis animals. *Animals*, 2020, vol. 10, p. 2212.
2. DOLECHECK, K.A. – GARCÍA-GUERRA, A. – MORAES, L.E. Quantifying the effects of mastitis on the reproductive performance of dairy cows: A meta-analysis, *Journal of Dairy Science*. 2019, vol.102, no. 9, p. 8454–8477.
3. HISIRA, V. et al. Comparative Analysis of Methods for Somatic Cell Counting in Cow's Milk and Relationship between Somatic Cell Count and Occurrence of Intramammary Bacteria. *Vet Sci*. 2023, vol. 17, no. 10, p. 468.
4. KUMAR, N. et al, Mastitis effects on reproductive performance in dairy cattle: a review, *Tropical Animal Health and Production*. 2017, vol. 49, p. 663-673.
5. TVAROŽKOVÁ, K. – HOLKO, I. – TANČIN, V. *Zdravotný stav mliečnej žľazy dojníc v pozornosti chovateľa*, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre; VETSERVIS, s.r.o.; NPPC - Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra, 2021.

6. ZAHUMENSKÁ, J. et al. Influence of different milking methods on milk quality based on somatic cell count and basic composition. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 2024, vol. 31, p. 215–221.
7. 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

FT-IR SPEKTROSKOPIA AKO NÁSTROJ NA ŠTÚDIUM DIVERZITY KVASINIEK V HROZNE

FT-IR SPECTROSCOPY AS A TOOL FOR THE STUDY OF YEAST DIVERSITY IN GRAPES

Ženišová Katarína, Jankura Ervin, Rešková Zuzana

Oddelenie Mikrobiológie a molekulárnej biológie, Odbor Potravinárstva, Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Priemyselná 4, 821 08 Bratislava

ABSTRACT

The yeast microflora of the wine grapes and in the process of wine production is very diverse. Advanced molecular biological methods are available today for its precise identification. However, due to their price and laboriousness, their application is not always effective and in many cases simpler identification methods are sufficient. In our research, we used Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) to characterize isolated yeasts and explored the possibility of using this physical analytical method for preliminary sorting of isolates. Yeast diversity was monitored on two varieties (Dunaj and Devín) from different wine-growing areas in Slovakia. Using the statistical method Hierarchical Cluster Analysis (HCA), we arranged individual strains into clusters based on heterogeneity. We selected one representative from each cluster, thus avoiding redundant work with colonies of microorganisms that are identical. We sequenced these representatives. The following strains were identified: *Candida*, *Saccharomyces*, *Kloeckera*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus* and *Zygosaccharomyces*. FTIR method could also be an opportunity to discriminate yeasts on a strain level. It is an interesting tool for typing on a strain level because it considers the physiological state of a living yeast cell at a defined stage of growth under standardized conditions.

Key words: Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), wine, yeast

ÚVOD

Mikrobiologickú charakteristiku hroznového muštu a vína vytvára široké spektrum mikroorganizmov. Túto spontánnu mikroflóru tvoria baktérie, kvasinky a vláknité huby (Mateo a Maicas, 2016). Za alkoholovú fermentáciu sú zodpovedné kvasinky a svojim metabolizmom významne ovplyvňujú kvalitu a senzorické vlastnosti budúceho vína. Finálny produkt je dôsledkom kombinovaného pôsobenia rôznych druhov mikroorganizmov, ktoré sa počas

fermentačného procesu presadzujú viac alebo menej úspešne a zároveň ovplyvňujú aj kvalitu vznikajúceho vína (Furdíková a kol., 2014).

Infračervená spektroskopia s Fourierovou transformáciou (FT-IR) bola predstavená v práci Naumann a kol. (1991a) ako technika na identifikáciu a klasifikáciu mikroorganizmov. Táto metóda funguje na základe absorbcie/transmisie infračerveného žiarenia chemickými väzbami bunkových komponentov, pričom je zaznamenaný celkový biochemický profil bunky v podobe spektra.

Táto metóda je rýchla, vyžaduje minimum manuálnej práce a pri jej vykonávaní nie sú potrebné žiadne chemikálie. Má však aj svoje nevýhody, a to potreba rôznych štatistických metód, ďalej je to citlivosť prístroja FT-IR na vlhkosť a pravdepodobne najväčšou nevýhodou je jej malá robustnosť v súvislosti so zmenou chemického zloženia mikrobiálnych buniek pri zmene kultivačných podmienok (Oust a kol., 2004; Wenning a Scherer, 2013; Lejková a kol., 2015).

MATERIÁL A METODIKA

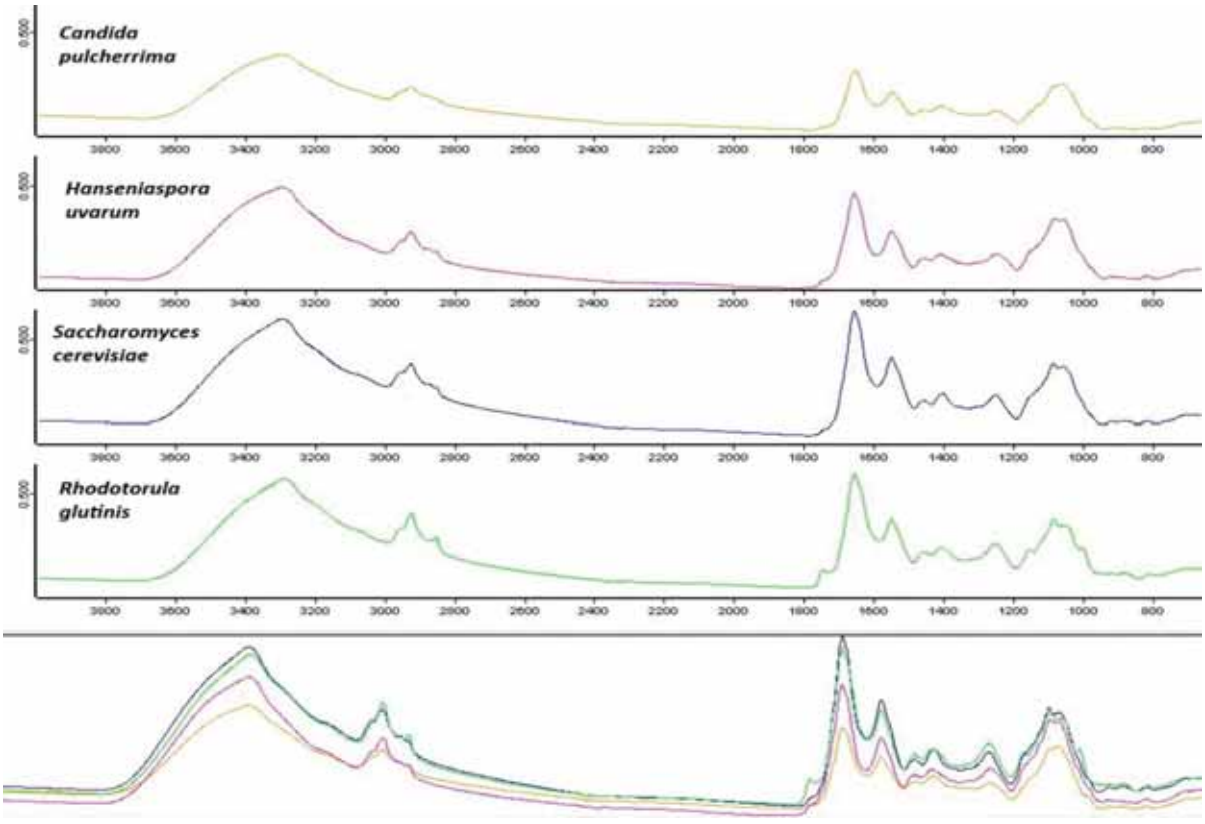
Zloženie mikroflóry sme sledovali na bobuliach, v mušte, fermentovanom mušte a mladom víne odrôd Devín a Dunaj, ktoré pochádzali z rôznych vinohradníckych oblastí. Bobule sme inkubovali v sterilnom fyziologickom roztoku po dobu 24 h pri teplote 30 °C. Z roztoku sme urobili rôzne riedenia a následne naočkovali na rôzne agarové živné média - WL nutrient agar, Candida Differential agar a Malt agar (Merck, Darmstadt, Nemecko). Zo zostávajúcich bobúľ sme vyrobili mušt, ktorý sme naočkovali podobne ako pri spracovaní bobúľ. Mušt sme nechali spontánne fermentovať pod kvasnou zátkou, pričom v štádiu búrlivého kvasenia (burčiaku) sme zase naočkovali burčiak v niekoľkých riedeniach na agarové média. Po dvoch týždňoch po úplnom skončení kvasenia sme naočkovali na agarové média vzniknuté mladé víno v niekoľkých riedeniach. Agarové média sme inkubovali pri teplote 26 °C 4-5 dni. Získané jednotlivé čisté kolónie sme predbežne identifikovali pomocou biochemických API testov 32 ID C (Biomérieux) pre kvasinky.

Na analýzu infračervenou spektroskopiou s Fourierovou transformáciou (FTIR) sme použili agarové médium s kvasničným autolyzátom, peptónom a glukózou (YPD) (Merck) a kultiváciu pri 30 °C počas 48 h. Z jednotlivých izolátov sme mikrobiologickým očkom odobrali 1 - 3 kolónií, rozmiešali ich v 0,1 ml deionizovanej vody a z tejto suspenzie sme 35 µl napipetovali na pozíciu 96-jamkovej ZnSe platničky pre infračervenú spektroskopiu. Vzorky na platničke sme vysušili pri 37 °C po dobu 45 min. Spektrá sme zmerali v prístroji Bruker Tensor 27 FT-IR s prídavným modulom HTS-XT (Bruker Optics, Ettlingen, Nemecko). Spektrá sme zaznamenali v oblasti od 4000 cm^{-1} do 400 cm^{-1} so spektrálnym rozlíšením 4 cm^{-}

[1], pričom každá vzorka bola zmeraná 64-krát (celé meranie jednej vzorky trvalo približne 1min). Spektrá sme spracovali pomocou softvéru OPUS (Bruker), čo zahrňovalo spriemerovanie 64 skenov každej vzorky, výpočet druhej derivácie pomocou Savitzky-Golayovho algoritmu s 9 urovnávacími prvkami a vektorovú normalizáciu. Pomocou programu OPUS bola tiež vykonaná klastrová analýza (HCA) nameraných vzoriek na základe Euklidovskej vzdialenosti s použitím Wardovho algoritmu, pri frekvenčných rozsahov 3032-2829 cm^{-1}, 1351-1200 cm^{-1}, a 901-699 cm^{-1}.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výstupom z FT-IR spektroskopie je spektrum, ktoré odráža chemické zloženie buniek podrobených meraniu. Príklady takýchto spektier sú na Obrázku č. 1.



Obrázok č. 1, Ukážka infračervených spektier kvasinkových kmeňov: *Candida pulcherrima, Hanseniaspora uvarum, Saccharomyces cerevisiae* a *Rhodotorula glutinis*.

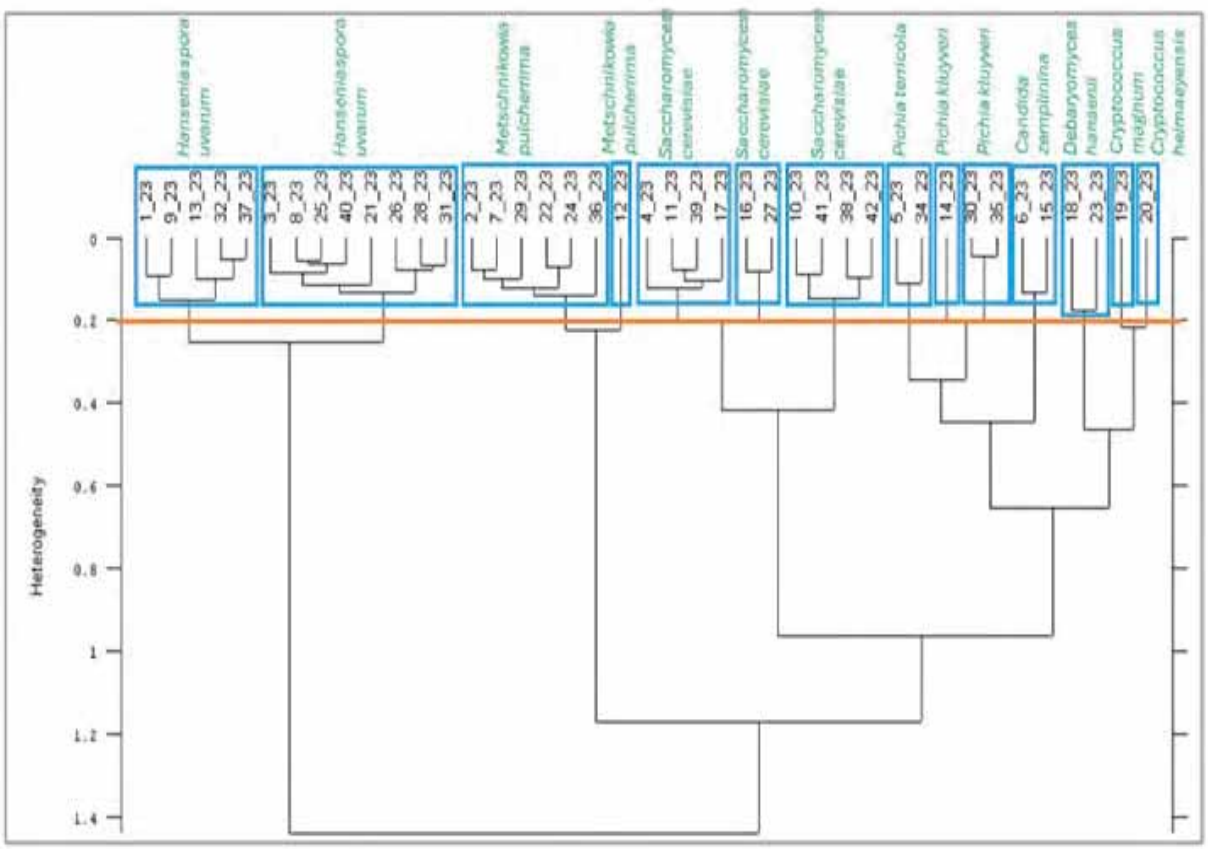
V infračervenom spektre môže byť rozlíšených 5 spektrálnych regiónov, a to región mastných kyselín (3000-2800 cm^{-1}), región obsahujúci amidové skupiny proteínov a peptidov (1700-1500 cm^{-1}), zmiešaný región mastných kyselín, proteínov a komponentov nesúcich fosfátové skupiny (1500-1200 cm^{-1}), región pre polysacharidy bunkových stien

mikroorganizmov (1200-900 cm^{-1}) a región „fingerprintu“, ktorý obsahuje slabé, ale unikátne absorbancie charakteristické pre špecifické baktérie (900-700 cm^{-1}) (Naumann a kol., 1991b).

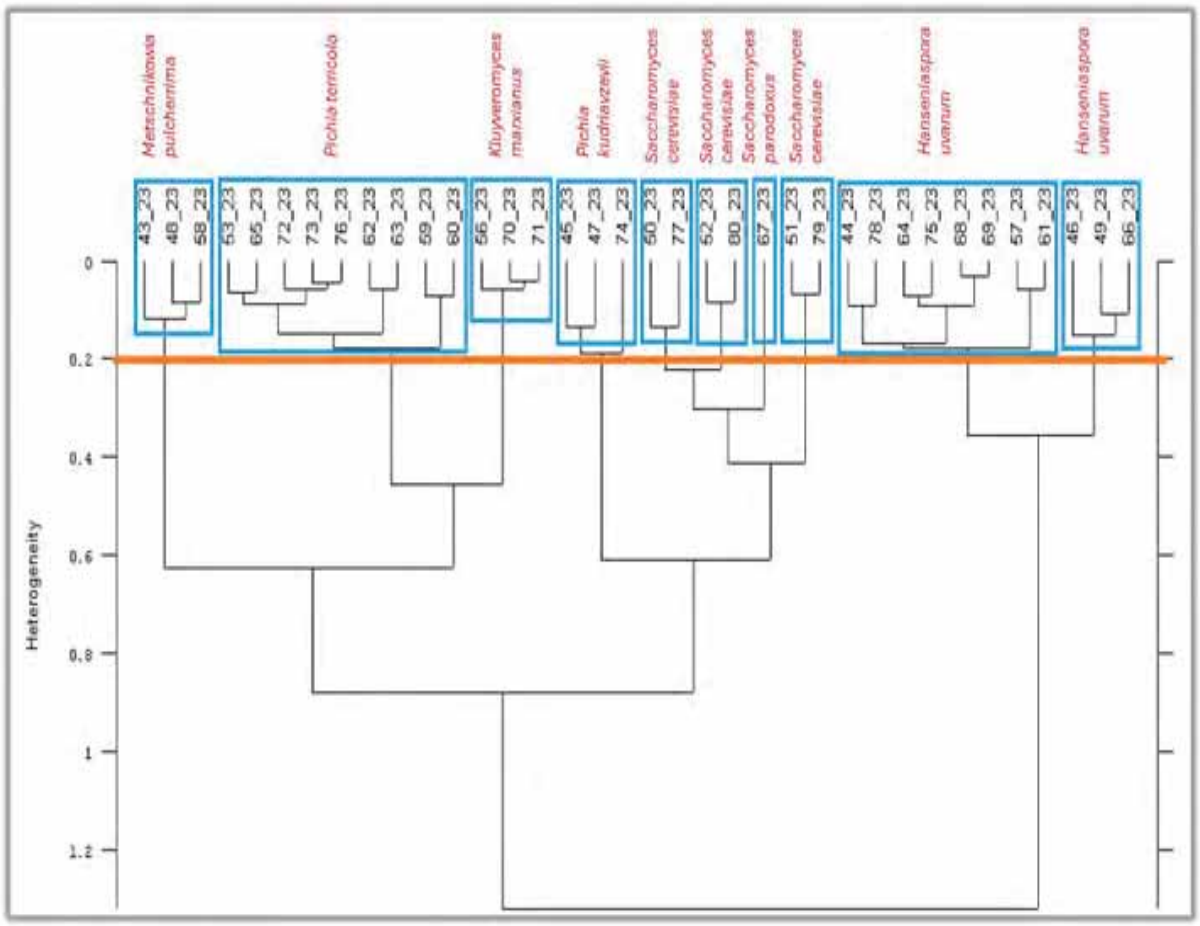
Pomocou hierarchickej zhlukovej analýzy (HCA) sme získali dendrogram. Vďaka výslednému dendrogramu dokážeme vybrať jedného zástupcu z každého klastra, a týmto spôsobom zamedziť nadbytočnej práci s kolóniami mikroorganizmov, ktoré sú identické.

Pri odrode Devín sme FT-IR metódou analyzovali 41 kmeňov, ktoré sme pomocou HCA testu na základe hodnoty heterogenity 0,2 rozdelili do 14 skupín (Obrázok č. 2). Pri odrode Dunaj sme analyzovali 36 kmeňov, ktoré sme pomocou HCA testu na základe hodnoty heterogenity 0,2 rozdelili do 10 skupín (Obrázok č. 3). Z jednotlivých skupín sme vybrali 1-2 zástupcov a týchto podrobili ďalšej analýze, a to sekvenovaniu ITS oblasti. Sekvenovaním sme dostali konkrétny druh danej skupiny.

Na bobuliach hrozna a v mušte sme identifikovali rody tzv. nesacharomycétnych kvasiniek ako *Hanseniaspora* (*Kloeckera*), *Metschnikowia*, *Pichia*, *Candida*, *Kluyveromyces*, v štádiu burčiaku už prevažoval rod *Saccharomyces*, tiež rod *Candida* a *Hanseniaspora* a vo víne už len kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*.



Obrázok č. 2, Ilustračný záznam dendrogramu odlišnosti infračervených spektier kmeňov z odrody Devín.



Obrázok č. 3, Ilustračný záznam dendrogramu odlišnosti infračervených spektier kmeňov z odrody Dunaj.

ZÁVER

Získané výsledky demonštrujú, že FT-IR spektroskopiu je možné efektívne využiť na charakterizáciu kvasiniek a mikroskopických húb pri výrobe vína. Pri dodržaní rovnakých kultivačných podmienok je možné odlíšiť aj príbuzné druhy. Metódu je tiež možné využiť na predbežné triedenie izolátov pred definitívnou molekulárno-biologickou identifikáciou.

Spomedzi 77 izolátov sme pomocou FT-IR spektroskopie vyhodnotili 24 izolátov ako divergentných. Tým sme predišli nadbytočnej práci s veľkým počtom rovnakých kmeňov pri ich ďalšej identifikácii a charakterizácii finančne náročnejšími metódami.

FT-IR je zaujímavý nástroj na typizáciu na úrovni kmeňa, pretože zohľadňuje fyziologický stav živej kvasinkovej bunky v definovanom štádiu rastu za štandardizovaných podmienok.

POĎAKOVANIE

Táto publikácia vznikla v rámci projektu RPVV 13 „Monitorovanie kvasinkovej mikroflóry a vplyvov prostredia v ekosystéme viniča“ podporovaného Ministerstvom

pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR; kontrakt medzi MPRV SR a NPPC č. 1299/2025/MPRVSR-930.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. FURDÍKOVÁ, K., MALÍK, F. Spôsoby vedenia alkoholovej fermentácie. In *Vinič a víno*. 2014, vol. 5, s. 156-158.
2. LEJKOVÁ, J., KOREŇOVÁ, J., ŽENIŠOVÁ, K., VALÍK, Ľ., KUCHTA, T. Isolation of autochthonous lactic acid bacteria from ewes' lump cheese, bryndza cheese and barrelled ewes' cheese, and their characterization using Fourier transform infrared spectroscopy. In *Journal of Food and Nutrition Researc.,* 2015, 54(4), s. 308-313.
3. MATEO J.J., MAICAS S. Application of non- Saccharomyces yeast to wine-making process. In *Fermentation*. 2016, 2(3), 14.
4. NAUMANN D., HELM D., LABISCHINSKI H. Microbiological characterizations by FT-IR spectroscopy. In *Nature*. 1991a, 351, s. 81-82.
5. NAUMANN, D., HELM, D., LABISCHINSKI, H., GIESBRECHT, P. The characterization of microorganisms by Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR). In *Modern techniques for rapid microbiological analysis.* 1991b, s. 43-96.
6. OUST, A., MØRETRØ, T., KIRSCHNER, C., NARVHUS, J. A., KOHLER, A. FT-IR spectroscopy for identification of closely related lactobacilli. In *Journal of Microbiological Methods*. 2004, 59(2), s. 149-162.
7. WENNING, M., SCHERER, S. Identification of microorganisms by FTIR spectroscopy: perspectives and limitations of the method. In *Applied microbiology and biotechnology*. 2013, 97(16), s. 7111-7120.

Kontaktná adresa: Ženišová Katarína, Department of Microbiology and molecular biology, Division of Food Science, National agriculture and food centre, Priemyselná 4, 821 08 Bratislava, Slovak Republic. E-mail: katarina.zenisova@nppc.sk

GENERÁLNY PARTNER - SYRÁREŇ BEL SLOVENSKO, a.s.



HLAVNÍ PARTNERI - BILLA, s.r.o.



HLAVNÍ PARTNERI - Domäsko s.r.o.



HLAVNÍ PARTNERI - Labaš, s.r.o. a Potraviny FRESH, s.r.o.

Labaš®

FRESH Plus
ZDRAVŠIE POTRAVINY

HLAVNÍ PARTNERI - Labaš, s.r.o. a Potraviny FRESH, s.r.o.



FRESH Plus

Najširší sortiment BIO potravín

HLAVNÍ PARTNERI - Labaš, s.r.o. a Potraviny FRESH, s.r.o.



HLAVNÍ PARTNERI – TAURIS a.s.



HLAVNÍ PARTNERI - Tesco Stores SR, a.s.



Maso.cz - odborný časopis pro obor zpracování masa
Folia Veterinaria- vedecké periodikum Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Folia Pharmaceutica Cassoviensia - vedecké periodikum Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

maso®

FOLIA VETERINARIA

FOLIA PHARMACEUTICA CASSOVIENSIA

SPONZORI - AQUA PRO EUROPE, a.s.

AQUA PRO®

ZDRAVÁ VODA NA DOSAH

SPONZORI - Dalton spol. s r.o. - Staromestská Mäsiareň

DALTON
MÄSOKOMBINÁT KOŠICE

Staromestská
Mäsiareň

SPONZORI - URPINER, BANSKOBYSTRICKÝ PIVOVAR, a.s.



VYSTAVOVATELIA - ACO Stavebné prvky, s.r.o.



- Hygienická konštrukcia podľa **EN 1672, EN ISO 14159** a príručky **EHEDG**
- Spád minimálne 1% naprieč všetkými časťami žľabu
- Jednoduché a rýchle čistenie a sanitácia
- Vysoký prietok (v závislosti od zvoleného typu vpustu)
- Široká ponuka štandardizovaných rozmerov
- Kompletne morený výrobok

Kontakt:

Ing. Michal Valo mvalo@aco.sk
+421 903 435 738

Ing. Juraj Svitana jsvitana@aco.sk
+421 903 425 924

ACO. we care for water

VYSTAVOVATELIA - BioIng, s.r.o.

BIOING

VYSTAVOVATELIA - Biomedica Slovakia, s.r.o.



VYSTAVOVATELIA - Biotecha Slovakia, s.r.o.

BIOTECHA
Slovakia

VYSTAVOVATELIA - Biotecha Slovakia, s.r.o.

BIOTECHA

Trusted for the
Solutions That Last

Hygiena Alimentorum XLVI
FOOD SAFETY & VETERINARY

Laboratory Solutions for Food & Veterinary Testing

Precision instruments, reagents and integrated laboratory infrastructure for food safety testing, microbiology, residue analysis and veterinary diagnostics.

PRODUCTS/SOLUTIONS

Microbial Identification & Culture Media
Rapid phenotype-based identification for bacteria, yeasts and fungi. Validated workflows for food-borne pathogen screening and veterinary diagnostics.

Salmonella | Listeria | E. coli
Anaerobic systems

biolog · Anaerobe Systems · SHIMADZU · Shimadzu Diagnostics Europe

Chromatography & Residue Analysis
HPLC and UHPLC systems and columns for mycotoxin detection, pesticide residue testing, antibiotic residue screening and nutritional content verification.

Mycotoxins | Pesticides | Antibiotics
GMP-compliant

KNAUER

Filtration Systems
Syringe filters, membranes and filtration units for sample clarification, beverage sterility testing, water quality analysis and environmental monitoring.

Nylon | PVDF | Cellulose
Beverage & water sterility

MERCK

Molecular Biology & Immunoassay Reagents
PCR reagents, antibodies and ELISA kits for allergen detection, GMO screening, zoonotic pathogen panels and rapid food safety testing.

Allergens | GMO | Zoonoses
Real-time & digital PCR

MERCK

Weighing & Moisture Analysis
Analytical balances and moisture analyzers for gravimetric sample preparation, moisture determination in food products, and GLP/GMP compliant data output.

Grains | Dairy | Meat
OIML compliant

biosan · KERN

Safety Equipment & Sample Storage
Class II biosafety cabinets for handling zoonotic pathogens and ultra-low freezers for long-term preservation of reference strains, vaccines and diagnostic specimens.

BSL-2 compliant
-80°C storage

NUAIRE · Ecosafe

Application areas



→ FOOD & BEVERAGE INDUSTRY

Microbiology & Environmental Testing
Pathogen & spoilage organism detection, surface monitoring

Analytical & Quality Control
Mycotoxin, pesticide and allergen residue testing

Measurement & Sample Prep
Moisture analysis, gravimetrics, label verification

Water & Beverage Sterility
Filtration and microbiological water testing

→ VETERINARY & ANIMAL HEALTH

Residue & Drug Testing
Antibiotic, hormone and veterinary drug residue analysis

Pathogen Identification
Zoonotic disease diagnostics, anaerobic culture

Feed & Raw Material QC
Mycotoxin screening, nutritional analysis of feed

Biological Storage & Safety
Vaccine preservation, BSL-2 workflow containment

LITHUANIA
+370 5 237 6007 | info@biotecha.lt

SLOVAKIA
+421 902 683699 | info@biotecha.sk

CZECHIA
+420 775 565910 | info@biotecha.cz

VYSTAVOVATELIA - GeneProof a.s.

GeneProof®
part of NuvinkaDx

VYSTAVOVATELIA - HELAGO-CZ, s.r.o.

helago®

www.helago.cz

Laboratorní přístroje a technika

- **Laboratorní přístroje**

klimatické komory, walk in komory, biologické a CO2 inkubátory, sušárny, mrazáky, váhy, mikroskopy, mlýny, spektrometry, refraktometry, homogenizátory, třepačky, termostaty, vodní lázně, vakuová technika, a další

- **Spotřební materiál, chemie a reagencie**
- **Bezpečnostní a oční sprchy, laboratorní kohouty**
- **Laminární boxy, bezpečnostní skříně**

BINDER
Best conditions for your success

BROOKFIELD AMETEK · BioTectus · LAUDA · BANDELIN · BOLA · WELCH by Gardner Denver · OPTIKA MICROSCOPES ITALY · A&D A&D Company, Ltd. · ALPINA · TOF · schuett-biotec.de · JBIO TECH · Lab Companion











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 - Latte ingredients, s.r.o.



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 - Novonesis



VYSTAVOVATELIA - O.K. SERVIS BioPro, s.r.o.



VYSTAVOVATELIA - O.K. SERVIS BioPro, s.r.o.

KONTROLA KVALITY

O.K. SERVIS BioPro www.biopro.cz



MPA III Dairy | MOVE-T | Tango II

FT-NIR analyzátory

- Přesná analýza tekutých i pevných vzorků
- Měření tuku, bílkovin, laktózy, sušiny a dalších parametrů
- Doživotně odolná křemenná cela

Automatizovaná detekce patogenů

VIDAS KUBE™

- Stanovení patogenů v potravinách a prostředí
- Detekce *Listerie monocytogenes* v souladu s novou legislativou





Biomilk 7000

Kvantifikace laktózy a sodíku

- Pro kvantifikaci zbytkové laktózy v mléku a mléčných výrobcích.
- rychlá a přesná analýza s jednoduchou obsluhou a nízkými provozními náklady.

Okamžitá analýza prostředí

- Okamžité ověření čisticích postupů
- Kvantifikace bakterií a reziduí částic
- Výsledky do 30 sekund



Cytoquant

www.biopro.cz

O.K.SERVIS BioPro, s.r.o., Bořetická 2668/1, 193 00 Praha 9, ČR
+420 281 091 460, info@oks.cz
O.K. SERVIS BioPro SK, s.r.o., Odbojárska 21, 831 02 Bratislava, SR
bratislava@oks.cz

Certifikace managementu jakosti dle ČSN EN ISO 9001:2016

VYSTAVOVATELIA - SALESIANER MIETTEX, s.r.o.



VYSTAVOVATELIA - SHIMADZU

SHIMADZU

Excellence in Science

VYSTAVOVATELIA - SHIMADZU

SHIMADZU
Excellence in Science

SHIMADZU SLOVAKIA, organizačná zložka

Analytické riešenia
pre potraviny a nápoje



Bezpečnosť potravín • kontrola kvality • autenticita • vývoj metód

Pre potravinárske, kontrolné a výskumné laboratóriá poskytujeme prístroje, aplikačné know-how, zaškolenie, servis a podporu pre rutinné aj špecializované analýzy potravín, nápojov, obalových materiálov, technologických vôd a mechanických vlastností obalov.

Kde vieme pomôcť

- **Kontaminanty:** rezíduá pesticídov, veterinárnych liečiv, mykotoxíny, PFAS, dioxíny, MOSH/MOAH
- **Aditíva a kvalita:** sladidlá, siričitany, konzervanty, farbivá, organické kyseliny
- **Nutričné parametre:** vitamíny, cukry, aminokyseliny, mastné kyseliny, minerály
- **Autenticita:** rastlinné oleje/tuky, med/sirupy, víno, mäso, čaj/káva, pôvod a falšovanie
- **Mikrobiológia:** MALDI-TOF identifikácia mikroorganizmov a kontaminácie
- **Aróma a off-flavour:** diacetyl, pachové látky, prchavé organické zložky
- **Výroba a hygiena:** TOC/TN vo výplachoch, technologické a odpadové vody
- **Obalové materiály:** cudzie častice, migrácia, mikroplasty, polyméry, mechanické vlastnosti





Portfólio pre food laboratóriá

- **HPLC/UHPLC/SFC:** cukry, farbivá, vitamíny, organické kyseliny, derivatizácia
- **LC-MS/MS a LC-QTOF:** rezíduá, kontaminanty, autenticita, cielené/nontarget analýzy
- **GC, HS-GC, GC-MS/MS:** aróma, off-flavour, rozpúšťadlá, dioxíny, MOSH/MOAH
- **MALDI-TOF MS:** mikrobiálna identifikácia, food fraud, polyméry a biomolekuly
- **DNA-RNA analýza:** automatizovaná kapilárna elektroforéza pre DNA/RNA fragmenty, PCR produkty a autenticitu potravín.
- **UV-Vis-NIR, FTIR, fluorescencia, Raman:** rýchla QC, oleje/tuky, chemometria
- **AAS, ICP-OES/ICP-MS, EDXRF:** ťažké kovy, prvková analýza, screening
- **TOC/TN:** čistota vody, kontrola čistenia, procesná kontrola
- **Material Testing:** textúra a mechanické vlastnosti
- **Softvér, spotrebný materiál a servis**

Riešite novú metódu, modernizáciu laboratória alebo aplikáciu pre špecifickú matricu?

Navrhneme vhodnú konfiguráciu a pomôžeme nastaviť analytický workflow od prípravy vzorky po vyhodnotenie dát.

www.shimadzu.sk | sk@shimadzu.sk | +421 (2) 48 20 00 81 | Röntgenova 26, 851 01 Bratislava
Pomôžeme s výberom vhodnej konfigurácie, aplikačnou konzultáciou, zaškolením a popredajným servisom.

Názov publikácie:	Zborník vedeckých príspevkov z medzinárodnej vedeckej konferencie HYGIENA ALIMENTORUM XLVI: Trendy produkcie a predaja bezpečných mliečnych a rastlinných produktov Scientific Proceedings of the International Scientific Conference HYGIENA ALIMENTORUM XLVI: Trends in the production and sale of the safe dairy and plant-based 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
Zostavila:	BODNÁROVÁ Libuša, MVDr. Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika
Recenzovali:	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:	300 ks
Počet strán:	616 strán
Dátum vydania:	Máj 2026
Vydanie:	Prvé

ISBN 978 - 80 - 8077 - 886 - 6

ISBN 978 - 80 - 8077 - 886 - 6