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 EFSA
Štátna veterinárna a potravinová správa Slovenskej republiky
Únia hydinárov Slovenska
Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárske vedy pri SAV v Bratislave

HYGIENA ALIMENTORUM XLII

Medzinárodná vedecká konferencia

pod záštitou Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky

Zdravotná bezpečnosť a kvalita produktov hydiny, rybolovu a zveriny – aktuálne problémy a trendy

Zborník prednášok a posterov

Proceedings of lectures and posters

18. – 20. máj 2022
Hotel Patria**** - Štrbské Pleso
Slovenská republika

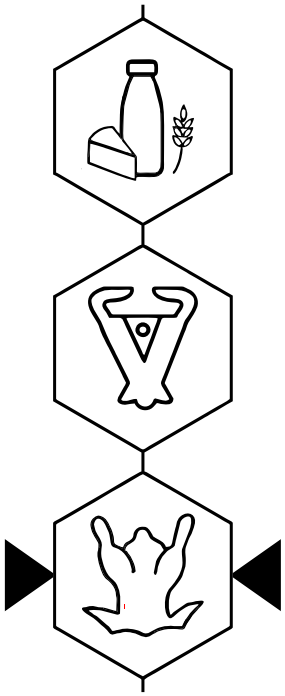
HYGIENA ALIMENTORUM XLII

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 EFSA
Štátna veterinárna a potravinová správa Slovenskej republiky
Únia hydinárov Slovenska
Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárske vedy pri SAV v Bratislave

HYGIENA ALIMENTORUM XLII

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

Zdravotná bezpečnosť a kvalita produktov hydiny, rybolovu a zveriny – aktuálne problémy a trendy



Zborník prednášok a posterov

Proceedings of lectures and posters

18. – 20. máj 2022
Hotel Patria**** - Štrbské Pleso
Slovenská republika

ZOSTAVILI

POPELKA Peter, prof. MVDr., PhD.
SEMJON Boris, MVDr., PhD.

RECENZOVALI

LEGÁTH Jaroslav, prof. MVDr., CSc.
NAĎ Pavel, doc. MVDr., PhD.

ODBORNÝ A ORGANIZAČNÝ GARANT KONFERENCIE

NAGY Jozef, prof. MVDr., PhD.
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika

MEDZINÁRODNÝ PROGRAMOVÝ VÝBOR

BANIA Jacek, prof. Dr. hab.
Fakulta veterinárnej medicíny, Poľnohospodárska univerzita vo Wroclave, Poľská republika
BÍREŠ Jozef, prof. MVDr., DrSc.
Štátna veterinárna a potravinová správa Slovenskej republiky
BURSOVÁ Šárka, doc. MVDr., Ph.D.
Fakulta veterinárnej hygieny a ekológie, VETUNI Brno, Česká republika
GOLIAN Jozef, prof. Ing., Dr.
Fakulta biotechnológie a potravinárstva, SPU v Nitre, Slovenská republika
KROMEROVÁ Katarína, MUDr.
Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky
MARCINČÁK Slavomír, prof. MVDr., PhD.
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika
MIGDAL Wladyslaw, prof. dr. hab.
Fakulta potravinárskej technológie, Poľnohospodárska univerzita Krakow, Poľská republika
MIHAĽOVÁ Katarína, Mgr.
Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky
MOJŽIŠOVÁ Jana, Dr. h. c. prof. MVDr., PhD.
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika
MOLNÁR Daniel, Ing. Mgr.
Únia hydinárov Slovenska, Slovenská republika
PAULSEN Peter, prof. Dr. Med. Vet. Dipl. ECVPH
Univerzita veterinárnej medicíny, Viedeň, Rakúsko
SØRENSEN Mette, prof. Dr.
Fakulta biovied a akvakultúry, Nord University, Bodø, Nórsko
TREMLOVÁ Bohuslava, doc. MVDr., CSc.
Fakulta veterinárnej hygieny a ekológie, VETUNI Brno, Česká republika
ZDOLEC Nevijo, assoc. prof. DVM, Ph.D.
Fakulta veterinárnej medicíny, Univerzita Záhreb, Chorvátsko

ORGANIZAČNÝ VÝBOR

Marcinčák Slavomír, prof. MVDr., PhD.
Popelka Peter, prof. MVDr., PhD.
Kožárová Ivona, doc. MVDr., PhD.
Bartkovský Martin, Mgr., PhD.
Bystrický Milo, Ing. Mgr.
Jevinová Pavlína, MVDr., PhD.
Kotrčová Zuzana, Ing.
Regecová Ivana, MVDr., PhD.
Semjon Boris, MVDr., PhD.
Škovranová Eva

GENERÁLNY PARTNER

TAURIS ® GROUP

HLAVNÍ PARTNERI

BILLA, s.r.o.
Labaš, s.r.o.
Potraviny FRESH, s.r.o.
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

SPONZORI

AQUA PRO EUROPE, a.s.
Babičkin dvor, a.s.
Dalton spol. s r.o. - Staromestská Mäsiareň
Hydina Slovensko s.r.o., Lieskovec
Hyza a.s.
Milk Agro, s.r.o.
MINERÁLNE VODY, a.s., Prešov
REGIA TT s.r.o. - Pivnica Orechová
Rybárstvo Požehy s.r.o.

VYSTAVOVATELIA

BioIng, s.r.o.
Biomedica Slovakia s.r.o.
JEMO TRADING spol. s r.o.
Latte ingredients s.r.o.
Merck Life Science spol. s r.o.
NOACK - SLOVAKIA, spol. s r.o.
O.K. SERVIS BioPro, s.r.o.
TECNOZOO S.p.a.

OBSAH – PREDNÁŠKY

1. Bartkovský, M., Marcinčák, S.: HUMÍNOVÉ LÁTKY A FERMENTOVANÉ KRMIVÁ OBOHATENÉ O VÝZNAMNÉ MASTNÉ KYSELINY – EFEKT NA KVALITU MÄSA BROJLEROVÝCH KURČIAT 16
2. Bíreš, J.: VÝSLEDKY ÚRADNÝCH KONTROL POTRAVÍN V ROKU 2021 NA SLOVENSKU 24
3. Bursová, Š., Necidová, L., Bartáková, K., Skočková, A., Haruštiaková, D., Buchtová, H., Klimešová, M., Vorlová, L.: BALENÍ A SKLADOVÁNÍ JAKO FAKTOR OVLIVŇUJÍCÍ VYBRANÉ JAKOSTNÍ PARAMETRY ČERSTVÝCH RYB 30
4. Dalmau, A.: KRITICKÉ BODY Z HĽADISKA WELFARE HYDINY NA BITÚNKU 38
5. Horák, O.: AKČNÍ PLÁN REALIZACE STRATEGIE BEZPEČNOSTI POTRAVIN A VÝŽIVY 2030 39
6. Karaffová, V., Mudroňová, D., Popelka, P., Semjon, B., Ratvaj, M., Hudec, E., Marcinčák, S.: VPLYV HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA VYBRANÉ PARAMETRE PRSNEJ SVALOVINY BROJLEROV 42
7. Macháček, M.: NÁRODNÍ PROGRAMY TLUMENÍ SALMONEL V ČESKÉ REPUBLICE – ZVÝŠENÍ KVALITY ŽIVOČIŠNÝCH PRODUKTŮ, A POHODY A WELFARE ZVÍŘAT 47
8. Makiš, A., Semjon, B., Marcinčáková, D., Bartkovský, M., Mesarčová, L., Reitznerová, A., Klempová, T., Marcinčák S.: KVALITA STEHENNEJ SVALOVINY BROJLEROVÝCH KURČIAT PO SKRMOVANÍ FERMENTOVANÉHO PRODUKTU OBOHATENÉHO O VÝZNAMNÉ MASTNÉ KYSELINY 55
9. Mudroňová, D., Popelka, P., Koščová, J., Fečkaninová, A., Cingeľová Maruščáková, I., Ratvaj, M., Chomová, N., Viswanath K., Sorensen, M.: PROBIOTICKÝ PRÍPRAVOK PRE LOSOSOVITÉ RYBY – JEHO VÝVOJ A VPLYV NA ZDRAVIE RÝB 63
10. Nowicki, M., Klich, D., Didkowska, A., Bełkot, Z., Popczyk, B., Wiśniewski, J., Anusz, K.: FAKTORY OVPLYVŇUJÚCE RIZIKO ZAMORENIA ALARIA ALATA U DIVIAKOV .. 71
11. Paulsen, P.: HYGIENICKÉ POSTUPY PRI PRODUKCII MÄSA ZO ZVERINY – AKÝ JE "NAJLEPŠÍ POSTUP"? 77
12. Pospiech, M., Kružík, V., Titěra, D., Javůrková, Z., Ljasovská, S., Tremlová, B.: KVALITA MEDU V ČESKÝCH KRAJÍCH 78
13. Ratvaj, M., Cingeľová Maruščáková, I., Schusterová, P., Popelka, P., Fečkaninová, A., Mareš, J., Žitňan, R., Mudroňová, D.: DYNAMIKA IMUNITNEJ ODPOVEDE PSTRUHA DÚHOVÉHO PO PODÁVANÍ PROBIOTICKÉHO KRMIVA S AUTOCHTÓNNYMI LAKTOBACILMI 88
14. Reitznerová, A., Makiš, A., Bartkovský, M., Semjon, B., Marcinčáková, D., Mudroňová, D., Nagy, J., Marcinčák, S.: KVALITA MÄSA KURČIAT PO APLIKÁCII HUMÍNOVÝCH LÁTOK A PROBIOTÍK VO VÝŽIVE 96
15. Rutkowska-Mazur, A., Bartyzel, K., Niedziółka, J., Migdał, L., Walczycka, M., Migdał, W.: CHEMICKÉ ZLOŽENIE A BEZPEČNOSŤ MÄSA Z VOĽNE ŽIJÚCICH ZVIERAT ULOVENÝCH V POĽSKU 104

16. Sørensen, M.: TRENDY PRODUKCIE AKVAKULTÚRY V NÓRSKU 123
17. Škuntová, O., Cabanová, L., Vieriková, M.: MÔŽE HYDINOVÉ MÄSO OBSAHUJÚCE ZVYŠKY ANTIBIOTÍK SKONČIŤ NA VAŠOM STOLE? 125

OBSAH – POSTEROVÉ PRÍSPEVKY:

1. Bartáková, K., Bursová, Š., Skočková, A., Necidová, L., Haruštiaková, D., Klimešová, M.: VLIV ZPŮSOBU BALENÍ NA DYNAMIKU TEPLOTNÍCH ZMĚN FILETŮ LOSOSA OBECNÉHO 128
2. Belej, Ľ., Bobko, M., Bobková, A., Čapla, J., Jurčaga, L., Demianová, A., Poláková, K., Mesárošová, A., Lidiková, J.: MOŽNOSTI DRUHOVEJ IDENTIFIKÁCIE ZVERINY VYUŽITÍM MOLEKULÁRNYCH METÓD 135
3. Benešová, L., Jakabová, S., Ondruš, L., Semjon, B., Zajác, P., Čapla, J., Čurlej, J., Golian, J.: STANOVENIE CELKOVÉHO OBSAHU PROTEÍNOV PRI VYBRANÝCH SPÔSOBOCH IZOLÁCIE PROTEÍNOV Z RÝB 142
4. Čapla, J., Zajác, P., Čurlej, J., Golian, J., Benešová, L., Jakabová, S., Bobková, A., Ševcová, K.: POTRAVINOVÉ PODVODY S MORSKÝMI RYBAMI A METÓDY ICH ODHAĽOVANIA 151
5. Čurlej, J., Zajác, P., Čapla, J., Jakabová, S., Benešová, L., Golian, J.: KVALITA A ZDRAVOTNÁ BEZPEČNOSŤ MÄSOVÝCH VÝROBKOV V KONTEXTE VYUŽITIA ALTERNATÍVNYCH PRÍSTUPOV PRI PRODUKCII 164
6. Čurlík, J., Iglódyová, A., Barbušinová, E., Šmiga, Ľ., Humeník, F.: VPLYV STREČKOVITOSTI (H. DIANA, H. ACTAEON, CEPHENEMYIA STIMULATOR) NA STRATU HMOTNOSTI U SRNČEJ A JELENEJ ZVERI 182
7. Farkašová, Z., Zigo, F., Lacková, Z.: VPLYV HUMÍNOVÝCH LÁTOK AKO ORGANICKEJ PRÍSADY NA BIOCHEMICKÉ PARAMETRE V KRVI KRÁLIKOV 188
8. Golian, J., Samson Škrada, M., Benešová, L., Ondruš, L., Jakabová, S.: HODNOTENIE KVALITATÍVNEHO A KVANTITATÍVNEHO ZLOŽENIA MASTNÝCH KYSELÍN U TRESKY ALJAŠSKEJ 196
9. Gregová, G., Dančová N., Marcinčák, S., Szabóová, T.: PILOTNÁ ŠTÚDIA HODNOTENIA NOVÝCH PRÍDAVNÝCH LÁTOK DO PODSTIELKY V CHOVE HYDINY NA ZNÍŽENIE EMISIÍ SKLENÍKOVÝCH PLYNOV 205
10. Hajdučková, V., Koščová, J.: AEROMONAS SALMONICIDA A YERSINIA RUCKERI: PÔVODCOVIA BAKTERIÁLNYCH OCHORENÍ RÝB 212
11. Hanzelová, Z., Dudriková, E., Maľová, J., Kováčová, M., Výrostková, J.: EKOLÓGIA MLIEKA A ANTIBIOTICKÁ REZISTENCIA 218
12. Humeník, F., Čurlík, J., Bartkovský, M., Čížek, M., Hagyari, S., Somoš, J., Čížková, D.: AFRICKÝ MOR OŠÍPANÝCH U DIVIAČEJ ZVERI V OKRESE KOŠICE-OKOLIE 226
13. Chomová, N., Nemcová, R., Koščová, J., Fečkaninová, A., Popelka, P., Žitňan, R., Mudroňová, D.: VPLYV HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA RAST BAKTÉRIÍ MLIEČNEHO KVASENIA S PROBIOTICKÝM POTENCIÁLOM 231
14. Jakabová, S., Harangozo, Ľ., Benešová, L., Zajác, P., Čapla, J., Semjon, B., Čurlej, J., Zeleňáková, L., Golian, J.: VÝSKYT ŤAŽKÝCH KOVOV U VYBRANÝCH DRUHOV RÝB URČENÝCH NA SLOVENSKÝ TRH 237

15. Jevinová, P., Pipová, M., Regecová, I.: VAJEČNÁ ŠKRUPINA AKO OCHRANNÁ BARIÉRA PRED KONTAMINÁCIOU VAJEČNÉHO OBSAHU PLESNIVÝCH VAJEC 246
16. Klempová, T., Slaný, O., Čertík, M., Marcinčák, S.: FERMENTOVANÉ KRMIVÁ AKO PROSTRIEDOK ZLEPŠENIA NUTRIČNEJ KVALITY KURACIEHO MÄSA 253
17. Koréneková B., Kožárová, V.: VEDĽAJŠIE ŽIVOČÍŠNE PRODUKTY V HYDINÁRSKOM PRIEMYSLE A PRAVIDLÁ ICH ÚRADNÝCH KONTROL 260
18. Koréneková, B., Kožárová, I., Semjon, B., Bartkovský, M., Marcinčák S., Marcinčáková, D.: VPLYV HUMÍNOVÝCH LÁTOK A PROBIOTICKEJ KULTÚRY NA ZRECIE PROCESY V MÄSE KURČIAT 267
19. Koščová, J., Hajdučková, V., Fečkaninová, A.: VYUŽITIE LÁTOK NATURÁLNEHO PÔVODU S ANTIBAKTERIÁLNYMI ÚČINKAMI V PREVENCII OCHORENÍ RÝB 274
20. Kováčová, M., Maľová, J., Výrostková, J., Dudriková, E., Hanzelová, Z.: VPLYV SEZÓNNOSTI NA KVALITATÍVNY ASPEKT A FUNKČNOSŤ MLIEKA PRODUKOVANÉHO SLOVENSKÝM STRAKATÝM DOBYTKOM 284
21. Kožárová, I., Regecová, I.: SÚČASNÝ PRÁVNY RÁMEC KONTROLY REZÍDUÍ ANTIMIKROBIÁLNYCH LÁTOK V POTRAVINÁCH ŽIVOČÍŠNEHO PÔVODU 289
22. Kromerová, K., Kotrčová, Z., Kuzmiak Theiszová, M.: ZHODNOTENIE SITUÁCIE VÝSKYTU ZOONÓZ, ALIMENTÁRNYCH NÁKAZ A NÁKAZ Z VODY V SR ZA ROK 2020 295
23. Lacková, Z., Zigo, F., Farkašová, Z.: VPLYV PRENYLFLAVONOIDU XANTOHUMOL PODÁVANÉHO V KRMIVE ALEBO VO VODE NA JATOČNÚ HODNOTU A ZLOŽENIE MÄSA JAPONSKÝCH PREPELÍC 299
24. Lazár, J., Lazár, P., Karolová, R.: ZVERINA NUTRIE RIEČNEJ (MYOCASTOR COYPUS) A BOBRA EURÓPSKEHO (CASTOR FIBER) NA SLOVENSKU A V NIEKTORÝCH KRAJINÁCH EÚ 306
25. Maľová, J., Výrostková, J., Dudriková, E., Kováčová, M., Hanzelová, Z.: MOŽNOSTI KONZUMÁCIE MLIEČNYCH VÝROBKOV Z POHĽADU INTOLERANCIE LAKTÓZY 312
26. Mesarčová, L., Koréneková, B., Bača, M., Marcinčák, S.: DOBRÉ ŽIVOTNÉ PODMIENKY BROJLEROV POČAS PREPRAVY NA BITÚNOK 319
27. Mudroňová, D., Karaffová, V., Semjon, B., Naď, P., Koščová, J., Bartkovský, M., Makiš, A., Bujňák, L., Nagy, J., Marcinčák, S.: VPLYV HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA PRODUKCIU VAJEC A IMUNITU NOSNÍC 329
28. Nagyová, A., Korim, P., Takáčová, D., Nagy, J.: PRÁVNA ÚPRAVA ZDRAVOTNEJ BEZPEČNOSTI HYDINOHÉHO MÄSA 338
29. Necidova, L., Bursová, Š., Haruštiaková, D., Skočková, A., Bartáková, K., Klimešová, M.: VLIV MÍRY PORUŠENÍ TEPLOTY PŘI TRANSPORTU NA MIKROBIOLOGICKOU KVALITU VZORKŮ LOSOSA 348
30. Ondrašovičová, S., Hajduková, I., Zigo, F., Sopková, D.: HODNOTY HYDROXYMETYLFURFURALU V MEDE 355

31. Pavlová, A., Dudášová, K., Molnár, L., Kottferová, L., Ciberej, J., Vilček, Š., Jacková, A.: VÝSKYT VÍRUSU HEPATITÍDY E V POPULÁCII VOĽNE ŽIJÚCEJ ZVERI NA SLOVENSKU 359
32. Regecová, I., Kožárová, I.: POŽIADAVKY VYKONÁVANIA AUDITOV PRÍSLUŠNÝCH ORGÁNOV V SÚLADE S NARIADENÍM EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (EÚ) 2017/625 366
33. Reitznerová A., Nagy, J., Semjon, B., Klempová, T., Bartkovský, M., Poláková, Z, Marcinčák, S.: NUTRIČNÁ KVALITA DANIELIEHO MÄSA A VPLYV DLHODOBÉHO SKLADOVANIA NA JEHO OXIDAČNÚ STABILITU 372
34. Sasáková, N., Popelka, P., Takáčová, D., Kachnič, J., Vargová, M., Veszelits Laktičová, K., Hromada, R.: HODNOTENIE ZDRAVOTNEJ BEZPEČNOSTI VODY V RYBOCHOVNOM ZARIADENÍ 381
35. Semjon, B., Bartkovský, M., Marcinčáková, D., Klempová, T., Slaný, O., Reitznerová, A., Čertík, M., Marcinčák, S.: KVALITATIVNE PARAMETRE VAJEC PO SUPLEMENTÁCII VÝŽIVY NOSNÍC FERMENTOVANÝM PRODUKTOM 387
36. Semjon, B., Benešová, L., Jakabová, S., Marcinčáková, D., Klempová, T., Marcinčák, S.: ZMENY TEXTURÁLNYCH PARAMETROV PRSNEJ SVALOVINY KURČIAT PO SKRMOVANÍ FERMENTOVANÉHO PRODUKTU A HUMÍNOVÝCH LÁTOK PRED A PO TEPELNOM OŠETRENÍ MÄSA 395
37. Skočková, A., Bartáková, K., Bursová, Š., Necidová, L., Buchtová H., Haruštiaková, D., Klimešová, M.: ZASTOUPENÍ PLYNŮ V OCHRANNÉ ATMOSFÉŘE BALENÝCH ČERSTVÝCH RYB V PRŮBĚHU SKLADOVÁNÍ 403
38. Slaný, O., Klempová, T., Shapaval, V., Dzurendová, S., Čertík, M., Marcinčák, S.: INOVATÍVNE SPEKTROSKOPICKÉ METÓDY RÝCHLEJ CHARAKTERIZÁCIE ZLOŽENIA MÄSOVÝCH PRODUKTOV 408
39. Szabóová, T., Gregová, G., Dančová, N.: VÝSKYT MIKROBIÁLNEJ REZISTENCIE E. COLI IZOLOVANÝCH V CHOVE HYDINY 415
40. Takáčová,D., Nagyová, A., Sasáková, N.: NÚTENÝ VÝKRM VODNEJ HYDINY Z POHĽADU PRÁVNYCH ÚPRAV 420
41. Várady, M., Tauchen, J., Klouček, P., Popelka, P.: VPLYV SPÔSOBU PRÍPRAVY NA ANTIOXIDAČNÚ AKTIVITU VO FILTROVANÝCH VÝBEROVÝCH KÁVACH ... 425
42. Vargová, M., Veszelits Laktičová, K.: ZHODNOTENIE MIKROBIOLOGICKEJ KONTROLY ÚČINNOSTI DEZINFEKCIE V PEKÁRENSKOM PODNIKU 431
43. Vorlová, L.,Navrátilová, P., Bartáková, K., Hanuš, O., Borkovcová, I., Nejezchlebová, H.: PŘIROZENÝ BEZPEČNOSTNÍ POTENCIÁL POTRAVIN 436
44. Wiśniewski, J., Nowicki, M., Puchalska, M., Anusz, K.: INŠPEKCIA MÄSA DIVIAČEJ ZVERI PO ULOVENÍ V POĽSKU - NAJČASTEJŠIE PRÍČINY KONFIŠKÁCIÍ V ROKOCH 2017 – 2021 440
45. Ziomek, M., Szkucik, K., Skałecki, P., Kaliniak-Dziura, A., Maćkowiak-Dryka, M.: MIKROBIOLOGICKÝ STATUS ÚDENÝCH RÝB UVEDENÝCH NA TRH V POĽSKU 443

TABLE OF CONTENTS – LECTURES

1. Bartkovský, M., Marcinčák, S.: HUMIC SUBSTANCES AND FERMENTED FEED ENRICHED WITH FATTY ACIDS - THE EFFECT ON THE BROILER MEAT QUALITY ..16
2. Bíreš, J.: RESULTS OF OFFICIAL FOOD CONTROL IN 2021 IN SLOVAKIA 24
3. Bursová, Š., Necidová, L., Bartáková, K., Skočková, A., Haruštiaková, D., Buchtová, H., Klimešová, M., Vorlová, L.: PACKAGING AND STORAGE AS A FACTOR INFLUENCING SELECTED QUALITY PARAMETERS OF FRESH FISH.....30
4. Dalmau, A.: CRITICAL POINTS IN TERMS OF ANIMAL WELFARE FOR POULTRY AT THE SLAUGHTERHOUSE.....38
5. Horák, O.: ACTION PLAN FOR FOOD SAFETY AND NUTRITION STRATEGY 2030 39
6. Karaffová, V., Mudroňová, D., Popelka, P., Semjon, B., Ratvaj, M., Hudec, E., Marcinčák, S.: EFFECT OF HUMIC SUBSTANCES ON SELECTED PARAMETERS OF BREAST MUSCLE OF BROILERS 42
7. Macháček, M.: THE NATIONAL PROGRAMS FOR SALMONELLA DECREASING IN POULTRY FARM IN CZECH REPUBLIC - INCREASING THE QUALITY OF FOOD PRODUCTS AND ANIMAL WELFARE 47
8. Makiš, A., Semjon, B., Marcinčáková, D., Bartkovský, M., Mesarčová, L., Reitznerová, A., Klempová, T., Marcinčák S.: THIGH MUSCLE QUALITY OF BROILER CHICKENS AFTER FEEDING A FERMENTED PRODUCT ENRICHED WITH SIGNIFICANT FATTY ACIDS.....55
9. Mudroňová, D., Popelka, P., Koščová, J., Fečkaninová, A., Cingeľová Maruščáková, I., Ratvaj, M., Chomová, N., Viswanath K., Sorensen, M.: PROBIOTIC PREPARATION FOR SALMONIDS - ITS DEVELOPMENT AND IMPACT ON FISH HEALTH 63
10. Nowicki, M., Klich, D., Didkowska, A., Bełkot, Z., Popczyk, B., Wiśniewski, J., Anusz, K.: FACTORS INFLUENCING THE RISK OF ALARIA ALATA INFESTATION IN WILD BOAR.....71
11. Paulsen, P.: HYGIENIC PRACTICES IN GAME MEAT PRODUCTION –WHAT IS "BEST PRACTICE"?.....77
12. Pospiech, M., Kružík, V., Titěra, D., Javůrková, Z., Ljasovská, S., Tremlová, B.: HONEY QUALITY IN CZECH REGIONS.....78
13. Ratvaj, M., Cingeľová Maruščáková, I., Schusterová, P., Popelka, P., Fečkaninová, A., Mareš, J., Žitňan, R., Mudroňová, D.: DYNAMICS OF IMMUNE RESPONSE OF RAINBOW TROUT AFTER FEEDING WITH PROBIOTIC FEED WITH AUTOCHTHONOUS LACTOBACILLI.....88
14. Reitznerová, A., Makiš, A., Bartkovský, M., Semjon, B., Marcinčáková, D., Mudroňová, D., Nagy, J., Marcinčák, S.: QUALITY OF CHICKEN MEAT AFTER DIET SUPPLEMENTATION WITH HUMIC SUBSTANCES AND PROBIOTICS.....96
15. Rutkowska-Mazur, A., Bartyzel, K., Niedziółka, J., Migdał, L., Walczycka, M., Migdał, W.: THE CHEMICAL COMPOSITION AND SAFETY OF GAME MEAT FROM WILD SPECIES HUNTED IN POLAND.....104

16. Sørensen, M.: TRENDS OF AQUACULTURE PRODUCTION IN NORWAY 123
17. Škuntová, O., Cabanová, L., Vieriková, M.: MAY POULTRY MEAT CONTAINING ANTIBIOTIC RESIDUES BE SERVED AT YOUR TABLE? 125

TABLE OF CONTENTS - POSTERS

1. Bartáková, K., Bursová, Š., Skočková, A., Necidová, L., Haruštiaková, D., Klimešová, M.: INFLUENCE OF PACKAGING METHOD ON THE DYNAMICS OF TEMPERATURE CHANGES OF SALMON FILLETS 128
2. Belej, Ľ., Bobko, M., Bobková, A., Čapla, J., Jurčaga, L., Demianová, A., Poláková, K., Mesárošová, A., Lidiková, J.: POSSIBILITIES OF GAME IDENTIFICATION BY GAME USING MOLECULAR METHODS 135
3. Benešová, L., Jakabová, S.,Ondruš, L., Semjon, B., Zajác, P., Čapla, J., Čurlej, J., Golian, J.: DETERMINATION OF TOTAL PROTEIN CONTENT IN SELECTED METHODS OF PROTEIN ISOLATION FROM FISH 142
4. Čapla, J., Zajác, P., Čurlej, J., Golian, J., Benešová, L., Jakabová, S., Bobková, A., Ševcová, K.: FOOD FRAUD WITH SEAFOOD AND METHODS OF THEIR DETECTION 151
5. Čurlej, J., Zajác, P., Čapla, J., Jakabová, S., Benešová, L., Golian, J.: QUALITY AND HEALTH SAFETY OF MEAT PRODUCTS IN THE CONTEXT OF THE USE OF ALTERNATIVE PRODUCTION APPROACHES 164
6. Čurlík, J., Iglódyová, A., Barbušinová, E., Šmiga, Ľ., Humeník, F.: EFFECT OF WABLE FLY AND BOTFLY (H. DIANA, H. ACTAEON, CEPHENEMYIA STIMULATOR) ON THE WEIGHT LOSS IN ROE DEER AND RED DEER GAME 182
7. Farkašová, Z., Zigo, F., Lacková, Z.: THE EFFECT OF HUMIN SUBSTANCES AS ORGANIC ADDITIVE ON BIOCHEMICAL PARAMETERS IN BLOOD OF RABBITS 188
8. Golian, J., Samson Škrada, M., Benešová, L., Ondruš, L., Jakabová, S.: EVALUATION OF THE QUALITATIVE AND QUANTITATIVE COMPOSITION OF FATTY ACIDS IN ALASKA POLLOCK 196
9. Gregová, G., Dančová N., Marcinčák, S., Szabóová, T.: PILOT STUDY OF EVALUATION OF NEW AVIAN COATING ADDITIVES TO REDUCE GREENHOUSE GAS EMISSIONS 205
10. Hajdučková, V., Koščová, J.: AEROMONAS SALMONICIDA A YERSINIA RUCKERI: PATHOGENS OF FISH DISEASES 212
11. Hanzelová, Z., Dudriková, E., Maľová, J., Kováčová, M., Výrostková, J.: MILK ECOLOGY AND ANTIBIOTIC RESISTANCE 218
12. Humeník, F., Čurlík, J., Bartkovský, M., Čížek, M., Hagyari, S., Somoš, J., Čížková, D.: AFRICAN SWINE FEVER IN WILD BOAR POPULATION IN KOŠICE-OKOLIE REGION 226
13. Chomová, N., Nemcová, R., Koščová, J., Fečkaninová, A., Popelka, P., Žitňan, R., Mudroňová, D.: INFLUENCE OF HUMIC SUBSTANCES ON THE GROWTH OF LACTIC ACID BACTERIA WITH PROBIOTIC POTENTIAL 231
14. Jakabová, S., Harangozo, Ľ., Benešová, L., Zajác, P., Čapla, J., Semjon, B., Čurlej, J., Zeleňáková, L., Golian, J.: OCCURRENCE OF HEAVY METALS IN SELECTED FISH SPECIES INTENDED FOR THE SLOVAK MARKET 237
15. Jevinová, P., Pipová, M., Regecová, I.: EGGSHELL AS A BARRIER AGAINST CONTAMINATION OF THE EGG CONTENTS OF MOLDY EGGS 246

16. Klempová, T., Slaný, O., Čertík, M., Marcinčák, S.: FERMENTED FEED AS A WAY TO IMPROVE THE NUTRITIONAL QUALITY OF CHICKEN MEAT 253
17. Koréneková B., Kožárová, I.: ANIMAL BY - PRODUCTS IN THE POULTRY INDUSTRY AND RULES FOR THEIR OFFICIAL CONTROLS 260
18. Koréneková, B., Kožárová, I., Semjon, B., Bartkovský, M., Marcinčák S., Marcinčáková, D.: EFFECT OF HUMIC SUBSTANCES AND PROBIOTIC CULTURE ON RIPENING PROCESS IN POULTRY MEAT 267
19. Koščová, J., Hajdučková, V., Fečkaninová, A.: USE OF SUBSTANCES OF NATURAL ORIGIN WITH ANTIBACTERIAL EFFECTS IN THE PREVENTION OF FISH DISEASES 274
20. Kováčová, M., Maľová, J., Výrostková, J., Dudriková, E., Hanzelová, Z.: THE IMPACT OF SEASONALITY ON QUALITATIVE ASPECT AND FUNCTIONALITY OF MILK PRODUCED BY SLOVAK SPOTTED CATTLE 284
21. Kožárová, I., Regecová, I.: CURRENT REGULATORY FRAMEWORK FOR THE CONTROL OF ANTIMICROBIAL RESIDUES IN FOOD OF ANIMAL ORIGIN 289
22. Kromerová, K., Kotrčová, Z., Kuzmiak Theiszová, M.: EVALUATION OF THE SITUATION OF ZOONOSES, ALIMENTARY AND WATER DISEASES IN THE SR IN 2020 295
23. Lacková, Z., Zigo, F., Farkašová, Z.: EFFECT OF XANTHOHUMOL PRENYLFLAVONOID ADDED TO FEED OR WATER ON THE CARCASS VALUE AND CHEMICAL COMPOSITION OF MEAT OF JAPANESE QUAILS 299
24. Lazár, J., Lazár, P., Karolová, R.: NUTRIA (MYOCASTOR COYPUS) AND EUROPEAN BEAVER (CASTOR FIBER) VENISON IN SLOVAKIA AND SOME EU COUNTRIES 306
25. Maľová, J., Výrostková, J., Dudriková, E., Kováčová, M., Hanzelová, Z.: POSSIBILITIES OF DAIRY CONSUMPTION FROM THE PERSPECTIVE OF LACTOSE INTOLERANCE 312
26. Mesarčová, L., Koréneková, B., Bača., M., Marcinčák, S.: WELFARE OF BROILERS DURING THE TRANSPORT TO THE ABBATOIR 319
27. Mudroňová, D., Karaffová, V., Semjon, B., Naď, P., Koščová, J., Bartkovský, M., Makiš, A., Bujňák, L., Nagy, J., Marcinčák, S.: INFLUENCE OF HUMIC SUBSTANCES ON EGG PRODUCTION AND IMMUNITY OF LAYING HENS 329
28. Nagyová, A., Korim, P., Takáčová, D., Nagy, J.: LEGISLATION OF POULTRY MEAT SAFETY 338
29. Necidova, L., Bursová, Š., Haruštiaková, D., Skočková, A., Bartáková, K., Klimešová, M.: INFLUENCE OF TEMPERATURE CHANGES DURING TRANSPORT ON MICROBIOLOGICAL QUALITY OF SALMON SAMPLES 348
30. Ondrašovičová, S., Hajduková, I., Zigo, F., Sopková, D.: HYDROXYMETHYLFURFURAL LEVELS IN HONEY 355
31. Pavlová, A., Dudášová, K., Molnár, L., Kottferová, L., Ciberej, J., Vilček, Š., Jacková, A.: OCCURRENCE OF HEPATITIS E VIRUS IN THE POPULATION OF WILD ANIMALS IN SLOVAKIA 359

32. Regecová, I., Kožárová, I.: REQUIREMENTS FOR AUDITS OF COMPETENT AUTHORITIES IN ACCORDANCE WITH REGULATION (EU) 2017/625 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL 366
33. Reitznerová, A., Nagy, J., Semjon, B., Klempová, T., Bartkovský, M., Poláková, Z, Marcinčák, S.: NUTRITIONAL QUALITY OF FALLOW DEER MEAT AND THE EFFECT OF LONG-TERM STORAGE ON ITS OXIDATIVE STABILITY 372
34. Sasáková, N., Popelka, P., Takáčová, D., Kachnič, J., Vargová, M., Veszelits Laktičová, K., Hromada, R.: WATER HEALTH ASSESSMENT IN THE FISH FARM..... 381
35. Semjon, B., Bartkovský, M., Marcinčáková, D., Klempová, T., Slaný, O., Reitznerová, A., Čertík, M., Marcinčák, S.: EGG QUALITATIVE PARAMETERS AFTER FEED SUPPLEMENTATION OF LAYNG HENS DIET WITH FERMENTED PRODUCT 387
36. Semjon, B., Benešová, L., Jakabová, S., Marcinčáková, D., Klempová, T., Marcinčák, S.: CHANGES IN TEXTURE PARAMETERS OF CHICKEN BREAST MEAT AFTER FEEDING OF FERMENTED PRODUCT AND HUMIC SUBSTANCES BEFORE AND AFTER MEAT HEAT TREATMENT 395
37. Skočková, A., Bartáková, K., Bursová, Š., Necidová, L., Buchtová Hana, Haruštiaková, D., Klimešová, M.: GAS COMPOSITION IN THE MODIFIED ATMOSPHERE OF PACKAGED FRESH FISH DURING STORAGE 403
38. Slaný, O., Klempová, T., Shapaval, V., Dzurendová, S., Čertík, M., Marcinčák, S.: RAPID CHARACTERIZATION OF MEAT PRODUCTS USING NOVEL SPECTROSCOPIC TECHNIQUES..... 408
39. Szabóová, T., Gregová, G., Dančová, N.: THE OCCURRENCE OF MICROBIAL RESISTANCE OF E. COLI ISOLATED IN POULTRY REARING..... 415
40. Takáčová,D., Nagyová, A., Sasáková, N.: WATERFOWL FATTENING COMPELLED BY LEGAL REQUIREMENTS..... 420
41. Várady, M., Tauchen, J., Klouček, P., Popelka, P.: IMPACT OF PREPARATION METHOD ON ANTIOXIDANT ACTIVITY IN FILTERED SPECIALTY COFFEE BEVERAGES..... 425
42. Vargová, M., Veszelits Laktičová, K.: EVALUATION OF MICROBIOLOGICAL CONTROL OF DISINFECTION EFFICIENCY IN A BAKERY..... 431
43. Vorlová, L.,Navrátilová, P., Bartáková, K., Hanuš, O., Borkovcová, I., Nejezchlebová, H.: NATURAL SAFETY POTENTIAL OF FOOD 436
44. Wiśniewski, J., Nowicki, M., Puchalska, M., Anusz, K.: AFTER SHOOTING INSPECTION OF WILD GAME MEAT IN POLAND – MOST COMMON CAUSES OF CONFISCATIONS IN YEARS 2017 – 2021 440
45. Ziomek, M., Szkucik, K., Skałecki, P., Kaliniak-Dziura, A., Maćkowiak-Dryka, M.: MICROBIOLOGICAL STATUS OF SMOKED FISH PLACED ON THE MARKET IN POLAND..... 443

PREDNÁŠKY

LECTURES

HUMÍNOVÉ LÁTKY A FERMENTOVANÉ KRMIVÁ OBOHATENÉ O VÝZNAMNÉ MASTNÉ KYSELINY – EFEKT NA KVALITU MÄSA BROJLEROVÝCH KURČIAT

HUMIC SUBSTANCES AND FERMENTED FEED ENRICHED WITH FATTY ACIDS – THE EFFECT ON THE BROILER MEAT QUALITY

Bartkovský Martin, Marcinčák Slavomír

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

ABSTRACT

The fatty acid composition of monogastric animals body fat is significantly influenced by the fatty acid composition of feed. Employment of fermented cereals enriched with polyunsaturated fatty acids into commercial feeds is therefore promising way of increasing the content of these essential fatty acid within the animals such as broiler chicken. The aim of this work was to analyse effect of addition of 10 % (w/w) fermented cereals (fermented feed) and humic acids into commercial broiler feed on fatty acid profile, chemical composition and stability of chicken breast meat. Application of fermented feed into commercial feed mixture increased the amount of gamma-linolenic (0,170 ± 0,006) and alpha-linolenic acid in fat of breast muscles and n-6/n-3 ratio was also changed (9,365±0,053). The combination of fermented feed and humic acids do not have a negative impact on the storability and chemical composition of the produced meat.

Key words: humic, acids, fermentation, feed, quality, meat

ÚVOD

Humínové látky sú pravdepodobne najrozšírenejšími prírodnými organickými zlúčeninami na zemskom povrchu. Vznikajú chemickým a biologickým rozkladom organickej hmoty a syntetickou činnosťou mikroorganizmov. Prirodzene sa vyskytujú hlavne v sedimentoch, zeminách, rašeline, hnedom uhlí, lignite a niektorých ďalších materiáloch (Stevenson, 1994, Veselá et al. 2005). Sú považované za najdôležitejší zdroj organického uhlíka v pôdnom i vodnom prostredí (Senesi a Loffredo, 1999) a majú kľúčovú úlohu v prírode, pretože prispievajú k rastu rastlín. Sú zodpovedné za štruktúru a fyzikálno-chemické vlastnosti pôdy a tiež sa spájajú s väčšinou povrchových javov, ktoré v pôde nastávajú (Stevenson, 1994).

Už staročia sú známe ich pozitívne účinky pri liečbe celého radu ochorení, ako sú zápaly rôznych orgánov, gastrointestinálne ochorenia, otravy, rakovina, cukrovka, infekčné ochorenia, anémia atď. (Vaško a Vašková, 2011). V živočíšnej výrobe prídavok humínových kyselín do krmiva môže pozitívne ovplyvňovať všetky produkčné parametre. Zvyšujú denné prírastky, znižujú spotrebu krmiva a konverziu krmiva, zvyšujú jatočnú výťažnosť a výrazne znižujú úhyn (Kucukersan et al., 2005; Celik et al., 2008). Prídavok humínových kyselín do krmiva má pozitívny vplyv na produkciu hydinového mäsa, dosahuje sa vyššia jatočná hmotnosť a výťažnosť kurčiat, pri nižšej spotrebe a rovnakej konverzii krmiva. Pridaním humínových kyselín do krmiva sa upravuje črevná mikroflóra tým že bránia rozmnožovaniu sa škodlivej a naopak podporuje rast užitočnej mikroflóry. Tlmia vzniku zápalov a podporujú imunitu a priaznivo pôsobia na pH tráviacej sústavy. Zabraňujú vstrebávaniu toxických kovov, cudzorodých látok, plesňových toxínov a iných pre organizmus jedovatých zlúčenín z tráviaceho aparátu, ktoré sa vylučujú trusom zvierat. Priaznivo zlepšuje využitie krmiva a jeho nutričných zložiek, čím sa zlepšuje konverzia krmiva. Pre hydinu ako monogastrické zvieratá bol vyvinutý prípravok s prísadou mravčanu vápenatého a jeho použitie v doporučenom dávkovaní môže nahradiť použitie okysličovadiel a vyväzovačov mykotoxínov (Dinar a kol., 2006). V chovoch hydiny vykazuje použitie humínových kyselín najme nižšie uvedené pozitívne účinky. Predovšetkým zvýšenie denných prírastkov (o 6 – 8 %) a zníženie spotreby krmiva na kg prírastku (o 4 – 7 %). Ďalej je to zníženie úhynu hlavne u mladých kurčiat, ale aj u dospelých jedincov (o 40 – 50 %). U nosníc je to zvýšenie znášky (priemerne o 4 %) ako výsledok predlženia znáškovej krivky, čo je odrazom lepšieho zdravotného stavu nosníc. Dôležitým účinkom je aj vyššia jatočná výťažnosť a vyšší podiel prsnej a stehennej svaloviny a tiež výrazne lepšie senzorické vlastnosti jatočného masa. K ďalším účinkom patrí aj zvýšenie vyrovnanosti kŕdľa, zlepšenie operenia, zníženie výdajov na antibiotika a iné lieky. Zistilo sa aj výrazné zníženie zápachu v hale, vylúčenie možnosti vzniku mikrobiálnej rezistencie a prítomnosti rezíduí cudzorodých látok v živočíšnych produktoch. Mimo zvýšenej produkcie vajec a lepšej liahnivosti sa mierne zvýši hmotnosť vajec, pričom hrúbka škrupiny sa nemení, ale zvýši sa jej pevnosť (Dinar a kol., 2006). Úspechy v produkcii PNMK nižšími vláknitými hubami preukázali mikrobiálny potenciál syntetizovať oleje s vysokou pridanou hodnotou a sú hybnou silou pre ich využívanie v produkcii takýchto potravín. Izolácia vysoko účinných tukotvorných mikroorganizmov viedla k vývoju fermentačných technológii, ako alternatíva k rastlinným a živočíšnym zdrojom. Zvlášť aktívne v syntéze PNMK sú nižšie vláknité huby rodu *Zygomycetes* a niektoré riasy. Úspechy v produkcii PNMK hubami preukázali mikrobiálny potenciál syntetizovať oleje s vysokou pridanou hodnotou a sú hlavným stimulom pre ich

použitie (Čertík a kol., 2016). Mikrobiálne PNMK zaraďujeme medzi vysoko hodnotné druhy oleja porovnateľné s lacnejšími rastlinnými olejmi (sójový olej, slnečnicový olej a iné.). Produkcia na polosuchých kultiváciách nižších vláknitých húb môže byť základom a alternatívou pre vytváranie zdrojov PNMK (Čertík a kol., 2012). Schopnosť použitých kmeňov zužitkovať aj exogénne oleje (ľanový olej) umožňuje prípravu bioproduktu so žiadanými PNMK (EPA). Výsledné biokrmivo je schopné poskytovať priaznivý pomer n-6/n-3 PNMK (Čertík a kol., 2008; Čertík a kol., 2017). Solid-state fermentácia (SSF) ponúka najväčšie možnosti pri využívaní mikroskopických vláknitých húb. Na rozdiel od iných mikroorganizmov sú mikroskopické vláknité huby schopné rásť aj na substrátoch ako sú kusy dreva, korene, stonky a iné suché materiály s nízkym obsahom vlhkosti (Bhargav a kol., 2008).

MATERIÁL A METODIKA

Pokus bol realizovaný v priestoroch experimentálneho zverinca UVLF KE. 120 kusov 1-dňových kurčiat plemena COBB 500 bolo privezených od dodávateľa (Hydina Slovensko s.r.o.). Zvieratá boli náhodne rozdelené do troch skupín po 40 zvierat (kontrolná K a 2 experimentálne FP a FH). Zvieratá boli kŕmené základnými kŕmnymi zmesami BR1 (1. – 10 deň), BR2 (11. – 30. deň) a BR3 (31. – 37. deň) (De Heus s.r.o., Česká republika). Prístup k vode bol *ad libitum*. Kontrolnej skupine (K) boli počas celej doby výkrmu podávané len základné kŕmne zmesi. Prvá experimentálna skupina (FP) dostavala od 11. dňa kŕmenia do základných KZ BR2 a BR3 prídavok fermentovaných krmív (FK) v množstve 10 % (50 % pšeničné otruby fermentované s prostredníctvom kmeňa *Cunninghamella elegans* CCF2591 – zdroj kys. γ – linolénovej a 50 % kukuričný šrot fermentovaný s použitím kmeňu *Mortierella alpina* CCF2861– zdroj kys. α – linolénovej a eikozapentaénovej). FP skupina mala takto suplementované krmivo až do konca výkrmu. Druhej experimentálnej skupine (FH) boli do základných kŕmnych zmesí od 2. dňa pridávané humínové látky (HL; Humac® Natur AFM Mycotoxisorb, Humacs.r.o. Košice) a od 11. dňa výkrmu aj 10 % FP. Vo všetkých experimentálnych skupinách bol objem základných kŕmnych zmesi znížený, o objem pridaných zložiek (FK a HL). Po ukončení výkrmu, na 38. deň, boli zvieratá omráčené, usmrtené a prsná svalovina bola skladovaná v chladničke po dobu 7 dní pri teplote 4 °C a následne analyzovaná.

Chemické stanovenie prsnej svaloviny bolo vykonané podľa metód AOAC (1990). Obsah bielkovín sme stanovovali pomocou Kjeldahlovej metódy pomocou automatického analyzátora VELP UDK 159 (VELP, Taliansko) a obsah tukov bol analyzovaný prostredníctvom Soxhletovej metódy v extraktore (DetGras J.P. Selecta S.A., Barcelona, Španielsko) s použitím

petroléteru. Rozkladné zmeny tukov boli stanovované podľa metódy Reitznerová a kol. (2017). Oxidácia lipidov bola hodnotená, ako látky reagujúce s kyselinou tiobarbiturovou (TBA). Hodnoty TBA boli merané spektrofotometricky pri vlnovej dĺžke 532 nm (Helios γ, v. 4. 6. Thermospectronic, Cambridge, UK). Hodnoty TBA sme stanovili do 24 hodín po zabití a po 7 dňoch skladovania v chladničke (4 °C). Výsledky obsahu TBA boli následné prepočítané a stanovené ako obsah malóndialdehydu (MDA) v miligramoch na kilogram vzorky. Profil mastných kyselín (MK), bol stanovený plynovou chromatografiou podľa Semjon a kol. (2020) na plynovom chromatografe GC-6890 N, (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) a vyhodnocovaná pomocou programu ChemStation software B0103 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Štatistické spracovanie výsledkov bolo urobené prostredníctvom štatistického programu GraphPadPrism 9.0.0 (GraphPad Software, San Diego, California, USA).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tabuľke č.1 vidíme zloženie profilu sledovaných mastných kyselín. Ako vidíme došlo k štatisticky významnému zvýšeniu ($p<0,05$) n-3 PNMK v pokusných skupinách F a F+H. Zaznamenali sme štatisticky významný ($p<0,05$) nárast GLA v F skupine (0,170±0,006) a zároveň ALA u skupín F a F+H (1,564±0,021 a 1,579±0,019). Kyseliny alfa-linolénová pôsobí ako prekurzor pre n-3 MK. Tento jav sa nám odrazil aj v profile sledovaných n-3 MK. Významný pomer n-6/n-3 MK bol zaznamenaný u skupín s prídavkom fermentovaného krmiva (F a F+H). V porovnaní s kontrolnou skupinou (12,528±0,095) skupina ktorej boli podávané humínové kyseliny nedosiahla štatisticky významný pomer n-6/n-3 PNMK.

Tabuľka 1 Zloženie profilu mastných kyselín prsnej svaloviny

MK %	K	F	H	F+H
C14:0	0,525 ± 0,038^{a}	0,484 ± 0,011^{b}	0,497 ± 0,008^{a}	0,525 ± 0,006^{a}
C16:0	23,062 ± 0,369^{b}	23,034 ± 0,149^{b}	22,097 ± 0,091^{a}	24,024± 0,087^{a}
C18:0	7,428 ± 0,486	6,717± 0,134	7,357 ± 0,095	6,555 ± 0,184
C18:1 – 9c	34,33 ± 0,859^{b}	38,497 ± 0,304^{a}	34,542 ± 0,186^{b}	35,249 ± 0,289^{b}
C18:1 – 11c	3,199 ± 0,149^{a}	2,670 ± 0,037^{a}	2,924 ± 0,023^{b}	2,854 ± 0,051^{b}
C18:2 –LA	17,352 ± 0,137^{a}	16,312 ± 0,065^{b}	19,450 ± 0,070^{c}	17,123 ± 0,064^{c}
C18:3 –GLA	0,134 ± 0,007^{b}	0,170 ± 0,006^{c}	0,116 ± 0,008^{a}	0,133 ± 0,004^{a}
C18:3 –ALA	1,074 ± 0,042^{c}	1,564 ± 0,021^{b}	1,156 ± 0,015^{a}	1,579 ± 0,019^{a}

C20:4 –ARA	2,593 ± 0,435^{b}	1,903 ± 0,162^{a}	2,682 ± 0,093^{b}	2,158 ± 0,015^{b}
C20:5 –EPA	0,216 ± 0,037^{c}	0,188 ± 0,017^{a}	0,187 ± 0,008^{b}	0,247 ± 0,013^{b}
C22:6 –DHA	0,313 ± 0,054	0,211 ± 0,023	0,338 ± 0,014	0,223 ± 0,013
ΣSFA	31,015± 0,109^{b}	30,234 ± 0,120^{b}	29,951 ± 0,117^{a}	31,104 ± 0,133^{a}
ΣMUFA	37,533 ± 0,712^{c}	41,169 ± 0,281^{a}	37,466 ± 0,166	38,104 ± 0,249
ΣPUFA	21,681 ± 0,616^{a}	20,348 ± 0,227^{a}	23,928 ± 0,143^{b}	21,462 ± 0,161^{b}
Σn – 6	20,078 ± 0,568^{a}	18,385 ± 0,207^{b}	22,248 ± 0,134^{c}	19,414 ± 0,152^{c}
Σn – 3	1,603 ± 0,049^{b}	1,963 ± 0,022^{a}	1,680 ± 0,016^{a}	2,048 ± 0,014^{a}
Σn – 6 / Σn – 3	12,528 ± 0,095^{a}	9,365 ± 0,053^{b}	13,243 ± 0,104^{a}	9,479 ± 0,057^{b}

K-Kontrola, H-humínové kyseliny, F-fermentované krmivo, F+H- fermentované krmivo + humínové kyseliny; LA – kys. linolová, GLA – kys. gamma-linolénová, ALA – kys. alfa-linolénová, ARA – kys. arachidónová, EPA – kys. eikosapentaénová DHA – kys. Dokosahexaenová; Hodnoty zahŕňajúce rovnaký horný index (a, b, c) nie sú štatisticky významné (*ANOVA, $p < 0,05$*).

V tabuľke č.2 uvádzame chemické zloženie prsnej svaloviny. Hodnoty sušiny boli u všetkých skupín približne rovnaké a teda nezaznamenali sme štatisticky významný rozdiel ($p<0,05$). V množstve tuku sme zaznamenali najvyšší podiel v skupine, ktorej bolo pridávané fermentované krmivo (2,448±0,613). kontrolná skupina a zvyšné pokusné skupiny (H; F+H) nezaznamenali výrazné zvýšenie. Podiel vody bol vo všetkých vzorkách na približne rovnakej úrovni podobne ako podiel dusíkatých látok.

Tabuľka 2 Chemické zloženie prsnej svaloviny

	% suš.	**% tuk**	**% voda**	**%NL**
K	25,00±1,005	1,727±0,431^{a}	74,983±1,004	22,330±0,684
H	26,33±1,373	2,448±0,613^{b}	73,667±1,737	22,798±0,340
F	26,265±2,648	1,770±0,144^{a}	73,902±0,938	23,073±1,110
F+H	25,047±1,277	1,747±0,149^{a}	74,953±1,277	22,960±0,150

K-Kontrola, H-humínové kyseliny, F-fermentované krmivo, F+H- fermentované krmivo + humínové kyseliny; % suš. – percento sušiny, % NL – percento dusíkatých látok; Hodnoty zahŕňajúce rovnaký horný index (a, b, c) nie sú štatisticky významné (*ANOVA, $p < 0,05$*).

Výsledky analýzy rozkladných zmien tukov počas skladovania vzoriek, vyjadrené ako množstvo malóndialdehydu sú uvedené v tabuľke 3. Medzi hodnotami malóndialdehydu sme zaznamenali štatisticky významné rozdiely hodnôt pokusných skupín a kontroly ($p<0,05$). Najvyššie hodnoty v prvom dni skladovania mala pokusná skupina H (0,2729±0,05 mg/kg) v porovnaní s kontrolou (0,1567±0,03 mg/kg). Po siedmych dňoch skladovania sme zaznamenali najvyššie hodnoty MDA u kontrolnej skupiny (0,3388±0,44 mg/kg) a naopak najnižšie hodnoty ($p<0,05$) mala pokusná skupina ktorej bolo podávané fermentované krmivo (0,1819±0,17 mg/kg).

Tabuľka 3 Množstvo malóndialdehydu počas skladovania pri chladničkových teplotách (4°C)

(mg/kg)	1. deň	7.deň
K	0,1567±0,031^{a}	0,3388±0,4456^{b}
H	0,2729±0,050^{b}	0,2339±0,2864^{c}
F	0,2111±0,029^{c}	0,1819±0,1728^{a}
F+H	0,2754±0,042^{b}	0,2843±0,2781^{c}

K-Kontrola, H-humínové kyseliny, F-fermentované krmivo, F+H- fermentované krmivo + humínové kyseliny; Hodnoty zahŕňajúce rovnaký horný index (a, b, c) nie sú štatisticky významné (*ANOVA, $p < 0,05$*) v stĺpci.

ZÁVER

Prídavok fermentovaného krmiva významne ($p<0,05$) ovplyvnil profil vybraných mastných kyselín v produkovanom mäse brojlerových kurčiat. Došlo k významnému zlepšeniu pomeru n-6/n-3 mastných kyselín ako aj k zvýšeniu EPA a DHA. Prídavok fermentovaného krmiva v kombinácii nemal negatívny vplyv na zastúpenie jednotlivých mastných kyselín a nedošlo ani k zhoršeniu profilu MK v experimentálnych skupinách. Kombinácia fermentovaného krmiva a humínových kyselín nemala negatívny dopad na skladovateľnosť a chemické zloženie produkovaného mäsa. Prídavkom humínových kyselín teda nedošlo k vychytávaniu účinných látok, ktoré experimentálnemu krmivu poskytlo fermentované krmivo.

POĎAKOVANIE

Experiment bol vykonaný vďaka finančnej podpore Agentúry na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-18-0039.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. STEVENSON, F.J.: Humus chemistry: genesis, composition and reaction, In *John Wiley and sons*, New York, 1994
2. VAŠKOVÁ, J. – VAŠKO, L.: Vplyv humínových kyselín na zdravie zvierat a produkciu mäsa, In Recenzovaný zborník prednášok a posterových prezentácií z medzinárodnej vedeckej konferencie Hygiena alimentorum XXXII, 2011, ŠVPS SR. p.233-236. ISBN 80-7148-050-9. ISBN: 978-80-8077-231-4.
3. VESELÁ L., KUBAL M., KOZLER J., INNEMANOVÁ P., 2005: Struktura a vlastnosti přírodních humínových látek typu oxihumolitu, Chem. Listy 99, 711 - 717
4. SENESI, N., LOFFREDO, E.: The chemistry of soil organic matter. Sparks, Soil physical chemistry., In *CRC press*, Boca Raton, 1999, p.242-345
5. KUCUKERSAN, S. et al.: The effects of humic acid on egg production and egg traits of laying hen. Vet. Med. – Czech, 2005, 50, 406 – 410.
6. CELIK, K., - UZATICI, A. - AKIN A.E.: Effects of dietary humic acid and Saccharomyces cerevisiae on performance and biochemical parameters of broiler chickens. Asian Journal of Animal and VeterinaryAdvances, 2008, 3, 344 – 350.
7. DINAR, E., MENTEL, T.F., RUDICH, Y.: The density of humic acids and humic like substances (HULIS) from fresh and aged wood burning pollution aerosol particles, In *Atmos. Chem. Phys*, 2006, vol.6, p. 5213-5224
8. ČERTÍK, M., KLEMPOVÁ, T.: Functional cereal-derived biomaterials enriched with lipophilic compounds prepared by fungal solid-state fermentations. *Materials Science Forum*, 2016, 851, 8 – 13.
9. ČERTÍK, M., ADAMECHOVÁ, Z., LAOTENG, K.: Microbial production of gamma-linolenic acid: Submerged vs. solid-state fermentations. In Food Science and Biotechnology, 2012, ISSN 1226-7708, vol. 21, no. 4, p.921-926.
10. ČERTÍK, M., ADAMECHOVÁ, Z., HANUSOVÁ, V., BREIEROVÁ, E.: Biotechnology as a useful tool for nutritional improvement of cereal-based materials enriched with polyunsaturated fatty acids and pigments. In Acta Agronom. Hungar., ISSN 1588-2527, 2008, vol. 56, no. 4, p. 377-384.

11. ČERTÍK, M., KLEMPOVÁ, T., JALČ, D., VÁRADYOVÁ, Z., MARCINČÁK, S.: Biotechnologically Enriched Cereals with PUFAs in Ruminant and Chicken Nutrition. In: *Food Lipids - Chemistry, Nutrition, and Biotechnology* (editor: Akoh, C.C.), CRC Press with Taylor & Francis, Boca Raton (FL), USA, 2017, 765 – 778.
12. BHARGAV, S., PANDA, B. P., ALI, M., JAVED,S.: Solid-state Fermentation: An Overview, In *Chem. Biochem. Eng. Q.*, ISSN 0352-9568, 2008, vol.22, no.1, p. 49–70.

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

VÝSLEDKY ÚRADNÝCH KONTROL POTRAVÍN V ROKU 2021 NA SLOVENSKU

RESULTS OF OFFICIAL FOOD CONTROL IN 2021 IN SLOVAKIA

Bíreš Jozef

Štátna veterinárna a potravinová správa SR, Botanická 17, 84213 Bratislava, Slovenská republika

ABSTRACT

Official controls on products of animal origin were carried out by the competent veterinary authorities in 2021 in accordance with the Multi Annual National Control Plan established for 2021-2024 in accordance with Commission Decision 2007/363/EC. Official /veterinary inspections of products of animal origin were carried out in accordance with Act No. 39/2007 Coll. on Veterinary Care, as amended, and pursuant to Act No. 152/1995 Coll. On Foodstuffs and amended in accordance with Regulation (EU) 2017/625 in order to protect animal and human health at all stages of the food chain (from primary production to retail).

Key words: official controls, protection of animal and human health

ÚVOD

Hlavným cieľom úradných kontrol produktov živočíšneho pôvodu bolo overovanie dodržiavania právnych predpisov v tejto oblasti. Špecifickými strategickými cieľmi v tejto oblasti boli:

1. Zisťovanie mikrobiologickej kontaminácie a chemickej kontaminácie (kontaminanty, rezíduá veterinárnych liekov, rezíduá pesticídov, prídavné látky)
2. Kontrola označovania potravín (alergény) v záujme ochrany zdravia spotrebiteľov
3. Ochrana spotrebiteľov pred klamaním a ilegálnymi praktikami (kontrola označovania a zloženia potravín)
4. Monitorovať riziko z mikrobiologickej kontaminácie salmonelami v záujme ochrany zdravia spotrebiteľov.
5. Zdravotná kontrola mäsa z jatočných ošípaných a z diviačej populácie pôvodom zo stredoeurópskeho regiónu a z ostatných členských štátov podľa aktuálnej nákazovej situácie AMO

Cieľom úradných kontrol potravín neživočíšneho pôvodu v roku 2021 bolo overovanie dodržiavania právnych predpisov, zabezpečenie eliminácie nedostatkov u potravín vyrábaných na našom území , kontrola označovania potravín, vrátane klamlivého označenia a používania nepovolených výživových a zdravotných tvrdení a taktiež zabránenie vstupu rizikových potravín dovážaných z tretích krajín tak, aby bola zabezpečená ochrana zdravia spotrebiteľov Európskej únie, pričom sa zohľadňovali riziká pre zdravie ľudí, a akékoľvek informácie, ktoré naznačovali pravdepodobnosť toho, že by spotrebitelia mohli byť uvádzaní do omylu, najmä pokiaľ ide o povahu, identitu, vlastnosti, zloženie, množstvo, trvanlivosť, krajinu pôvodu alebo miesto pôvodu a o spôsob výroby tovaru.

VÝSLEDKY

V Slovenskej republike bolo v roku 2021 celkovo zaregistrovaných v zmysle § 6 zákona 152/1995 Z.z -15 792- právnych subjektov a 27 141 prevádzkarní .Každý prevádzkovateľ vrátane prevádzkovateľa predaja na diaľku, okrem prevádzkovateľov uvedených v osobitnom predpise, musí oznámiť podľa osobitného predpisu príslušnému orgánu úradnej kontroly potravín každú prevádzkareň podliehajúcu jeho kontrole, ktorá vykonáva činnosť na akomkoľvek stupni výroby, spracúvania a distribúcie potravín na účely registrácie. Prevádzkovateľ vrátane prevádzkovateľa predaja na diaľku, okrem prevádzkovateľov uvedených v osobitnom predpise, musí oznámiť príslušnému orgánu úradnej kontroly potravín akúkoľvek významnú zmenu činnosti prevádzkarne alebo jej uzatvorenie.

V roku 2021 bolo skontrolovaných **7 926** právnych subjektov. Vykonaných bolo **celkovo 44 143** úradných kontrol potravín na všetkých stupňoch v reťazci, pričom z toho bolo **2 360 kontrol s nedostatkom**.

Bežné kontroly v riadnej pracovnej dobe boli vykonané v počte 43 653, z čoho bolo 2 193 kontrol s nedostatkom, čo predstavuje 5,0 % kontrol s nedostatkom z počtu bežných kontrol.

Kontroly mimo pracovnej doby boli vykonané v počte 490, z čoho bolo 167 kontrol s nedostatkom, čo predstavuje 34,1 % kontrol s nedostatkom z počtu kontrol mimo pracovnej doby.

Z celkového počtu **7 926** skontrolovaných právnych subjektov / t.j. u **14 045 prevádzkarní** / boli zistené nedostatky v **1 973 prevádzkarňach** *(t. j 14,0 %) - (porušenosť v roku 2020 predstavovala 15,7 %).*

Najčastejšie pri úradných kontrolách boli zisťované na úrovni maloobchodu uvedené typy nedostatkov:

Typ nedostatku - maloobchod	Počet kontrol s nedostatkom	Počet nedostatkov celkom
Hygiena budov, hygiena prevádzkarne	357	1296
po DS/DMT	188	967
Hygiena technologického zariadenia, pracovné pomôcky	473	952
Označenie - nečitateľné, nedostatočné alebo nesprávne	391	799
Hygiena skladovania	203	705
Hygiena predaja	209	518

Najviac nedostatkov **3135** bolo v hyper a supermarketoch a to v 380 prevádzkarňach. Nedostatky sa týkali hygienických nedostatkov v priestoroch potravinárskeho podniku v nadväznosti na riziko prenosu ochorenia COVID-19, nedostatky v hygieny budov, zistení tovaru po dobe spotreby a po dátume minimálnej trvanlivosti, hygieny technologických zariadení a pracovných pomôcok, označovania výrobkov, hygieny skladovania.

Pri kontrole dodržiavania hygienických požiadaviek v priestoroch potravinárskeho podniku v nadväznosti na riziko prenosu ochorenia COVID-19 bolo počas plánovaných úradných kontrol overiť v praxi súlad s hygienickými požiadavkami v priestoroch výrobných podnikov v dôsledku rizika prenosu ochorenia COVID-19. Kontroly boli primárne zamerané na overenie skutočného uistenia a dodržiavania hygienických požiadaviek a opatrení. Inšpekčné skúsenosti RVPS SR potvrdili, že hygienické opatrenia zavedené pred vypuknutím pandémie COVID-19 (umiestnenie primeraného vybavenia na výber pekárenských výrobkov – tašiek, klieští, rukavíc, vzdelávania a dohľadu na mieste predaja) fungovali dobre aj v období po pandémii, čo prinieslo zvýšené hygienické požiadavky v maloobchodnom sektore.

Pozitívne zistenie bolo aj v prípade lepšieho dodržiavania správnej hygienickej praxe pri predaji nebaleného pečiva maloobchodníkmi počas pandémie COVID-19. Pozitívnu úlohu zohrával vedomejší prístup a správanie spotrebiteľov, ako aj zverejňovanie základných hygienických pravidiel pri nákupe, ktoré by sa mali dodržiavať aj v bežných situáciách bez rizika epidémie infekčných respiračných ochorení. Tlak na vyššiu hygienickú normu pri predaji nebaleného pečiva počas tohto obdobia priniesol určité zmeny v organizácii predaja. Predaj nebaleného

pečiva bol prísne obmedzený, čo dostatočne neumožnilo ochranu pečiva pred kontamináciou (napr. otvorené koše prístupné zo všetkých strán, kde je veľmi ťažké eliminovať hromadenie väčšieho počtu spotrebiteľov a nehygienické správanie spotrebiteľov, napr. podávanie chleba bez ochranných pomôcok).

Z hľadiska jednotlivých komodít v obchodnej sieti sa kontrola v roku 2021 zameriavala vo väčšej miere na komoditnú skupinu „Čerstvá zelenina, ovocie“. Ďalšou skupinou komodít s vyššou frekvenciou inšpekcií bola skupina komodít „Fresh Fruit“. Náležitá pozornosť sa venovala aj iným komoditám, ktoré sú významné z hľadiska spotrebiteľského koša alebo komodít, v prípade ktorých existoval iný dôvod na to, aby sa im venovala zvýšená kontrolná pozornosť. 30 % výrobkov v obchodnej sieti predstavovalo domáce výrobky a 70 % výrobkov zo zahraničia (členské štáty EÚ + tretie krajiny). Značná pozornosť sa venovala aj kontrole hygienických podmienok predaja a kontrole systémov bezpečnosti potravín na základe zásad HACCP a hodnoteniu úrovne vysledovateľnosti. Ak sa však v obchodnej sieti zistili nedostatky, ktoré zjavne neboli výsledkom nesprávneho konania predávajúceho, ale boli spôsobené chybami jedného z dodávateľov výrobkov (ako je nedostatočné označovanie balených výrobkov, určité druhy porušení bezpečnosti potravín alebo prípady falšovaných potravín), slúžili predovšetkým ako stimul na vyriešenie takýchto prípadov v mieste ich pôvodu – t. j. spracovateľ, baliareň, predchádzajúci distribútor alebo dovozca. Najvyššia frekvencia nezhôd sa vyskytovala v maloobchode.

V roku 2021 bolo odobratých spolu 4 685 vzoriek potravín živočíšneho pôvodu, nevyhovelo 133 vzoriek (2,84%), čo je v porovnaní s rokom 2020 zlepšenie o 0,6%. Najviac, 29 vzoriek, nevyhovelo mikrobiologickým požiadavkám, fyzikálno-chemickým ukazovateľom nevyhovelo 24 vzoriek. Požiadavkám na označovanie nevyhovelo 25 vzoriek, senzorickým požiadavkám nevyhovelo 20 vzoriek, kontaminanty boli zistené u 22 vzoriek, na obsah osobitnej prísady - NaCl nevyhovelo 10 vzoriek, požiadavkám na prídavné látky nevyhovela 1 vzorka požiadavkám na označovanie alergénov nevyhovela 1 vzorka a po 2 vzorky nevyhoveli požiadavkám na rezíduá veterinárnych liekov a obsah parazitov.

V roku 2021 bolo vykonaných niekoľko cielených kontrol produktov živočíšneho a rastlinného pôvodu:

- Cielená kontrola - Veľká noc 2021
- Cielená kontrola hydinového mäsa pôvodom z iných členských štátov a tretích krajín
- Cielená kontrola mlieka a výrobkov z mlieka dodaných z iných členských štátov a tretích krajín

- Cielená kontrola medu v miestach určenia
- Cielená kontrola mletého mäsa, mäsových prípravkov a zveriny z farmových chovov pôvodom z iných členských štátov a tretích krajín v miestach určenia
- Cielená kontrola bezchybnosti mäsa z domácich kopytníkov
- Cielená kontrola produktov rybolovu na počet Listeria monocytogenes
- Cielená kontrola zabezpečenia označovania bravčového, ovčieho, kozieho, hydinového mäsa a produktov z nich
- Cielená kontrola vajec pôvodom z iných členských štátov a tretích krajín
- Cielená kontrola nakrájaných mäsových výrobkov na Listeria monocytogenes
- Cielená kontrola mäsových výrobkov na dôkaz prítomnosti hydinového proteínu
- Cielená kontrola zameraná na kontrolu nahlasovania zásielok potravín do elektronického systému Štátnej veterinárnej a potravinovej správy SR, „evidencia zásielok“
- Cielená kontrola dodávok hydinového mäsa v schválených potravinárskych prevádzkarňach - rozrábkarne hydinového mäsa a prebaľovacie prevádzkarne
- Cielená kontrola na bitúnkoch, rozrábkarňach, v spracovateľských prevádzkarniach pre mäsové výrobky, mraziarenských skladov a maloobchodných prevádzkarní v súvislosti s opatreniami súvisiacimi s výskytom afrického moru ošípaných v Poľsku (dodatok 1, dodatok 2)
- Cielená kontrola vysledovateľnosti bravčového mäsa z jatočných ošípaných pôvodom z reštrikčných oblastí afrického moru ošípaných podľa VYKONÁVACIEHO NARIADENIA KOMISIE (EÚ) 2021/605
- Cielené sledovanie Vianoce 2021.
- Cielená kontrola - monitoring - Salmonela v melónoch
- Cielená kontrola obsahu kadmia v kakaovom prášku
- Cielená kontrola zameraná na zistenie prítomnosti anorganického arzénu
- Cielená kontrola označovania čerstvého ovocia a zeleniny krajinou pôvodu
- Cielená kontrola čerstvého ovocia a zeleniny mimo pracovnej doby
- Cielená kontrola produktov rastlinného pôvodu - trhoviská malé množstvá
- Cielená kontrola zameraná na kontrolu nahlasovania zásielok potravín do elektronického systému Štátnej veterinárnej a potravinovej správy SR, „evidencia zásielok“

ZÁVER

Výsledky úradných kontrol potravín na Slovensku za rok 2021 potvrdili garancie zdravotnej bezpečnosti a kvality potravín predávaných na slovenskom trhu. Ochrana spotrebiteľa je zabezpečená konsolidovaným systémom úradných kontrol potravín na každom stupni potravinového reťazca cestou organizácií Štátnej veterinárnej a potravinovej správy SR. Nástroj analýzy rizika umožňuje proaktívne uplatňovať opatrenia na ochranu spotrebiteľa v prípade porušenia potravinového práva.

Kontaktná adresa: Bíreš Jozef, State Veterinary and Food Administration SR, Botanická 17, 84213 Bratislava, Slovak Republic; E-mail: jozef.bires@svps.sk

BALENÍ A SKLADOVÁNÍ JAKO FAKTOR OVLIVŇUJÍCÍ VYBRANÉ JAKOSTNÍ PARAMETRY ČERSTVÝCH RYB

PACKAGING AND STORAGE AS A FACTOR AFFECTING SELECTED QUALITY PARAMETERS OF FRESH FISH

[1]Bursová Šárka, [1]Necidová Lenka, [1]Bartáková Klára, [1]Skočková Alena, [2]Haruštiaková Danka, [1]Buchtová Hana, [3]Klimešová Marcela, [1]Vorlová Lenka

[1]Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno, Česká republika

[2]Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita Brno, Česká republika

[3]Výzkumný ústav mlékárenský Praha, Česká republika

ABSTRACT

The aim of the study was to assess the effect of packaging type and storage temperature on the result of selected microbiological and physico-chemical analyzes of fresh fish. The situation of various lengths of the refrigeration chain interruption was simulated. Salmon fillets (*Salmo salar*) packed in air and vacuum were used for the experiments. The following temperatures were used: 3, 5, 8, 11, 14, 17, 20 and 25 ° C and exposure times at 1, 2, 3, 3:30 and 4 h. Analytical sampling for microbiological and physico-chemical examination took place immediately after exposure to elevated temperature (0 h) and then 3 h and 24 h after returning to adequate temperature. 3 parallel determinations were performed in one batch. Fillets stored at melting ice temperature (simple packaging; 0 - 1 ° C) and 3 ° C (vacuum packaging), respectively, were used as controls. The number of psychrotrophic microorganisms was significantly affected by temperature, length of cooling chain failure, examination time after failure and the interaction of all three factors. *E. coli* and salmonella were not detected. The differences in pH and water activity were not statistically significant.

Key words: vacuum package, packed in air, psychrotrophic microorganisms, pH value

ÚVOD

Stále více spotřebitelů i ve vnitrozemských státech konzumuje čerstvé ryby, které jsou oblíbené zejména díky své vysoké nutriční hodnotě a zdravotním benefitům pro konzumenty (vysoký obsah kvalitních bílkovin, nízký obsah tuku, obsah omega-3- nenasycených mastných kyselin a dalším esenciálních nutrientů (Fernandes, 2009). Na druhou stranu limitujícím

faktorem pro prodej čerstvých ryb je jejich omezená údržnost (Masniyom, 2011). K prodloužení údržnosti čerstvých ryb se běžně využívá balení v modifikované atmosféře (ve vakuu či ochranné atmosféře), které omezuje rozvoj kontaminující mikroflóry a současně i intenzitu oxidativních reakcí (Fernandes, 2009; Sivertsvik, 2002).

Teplota je považována za nejdůležitější environmentální faktor ovlivňující mikrobiální růst a tím také údržnost potravin. Při zvýšení teploty potraviny vlivem porušení chladírenského řetězce, může dojít k nárůstu kontaminující mikroflóry. Čím vyšší je vnější teplota, tím vyšší je míra mikrobiálního růstu (Bruckner et al., 2012). Rychlost kažení ryb je závislá především na teplotě, proto se ihned po ulovení ryby chladí nebo mrazí. Čerstvé mořské ryby jsou uváděny do oběhu při teplotě tajícího ledu (od -1 do +2 °C), čerstvé chlazené ryby balené ve vakuu či ochranné atmosféře potom při teplotě od -1 do +5 °C (Fernandes, 2009; Golian et al., 2021; Nařízení 853/2004/ES).

Údržnost potravin významně ovlivňují také vnitřní faktory, zejména hodnota pH a aktivita vody potraviny (Robertson, 2013). Aktivita vody velmi úzce souvisí s teplotou potraviny. Při konstantním obsahu vody v potravině roste aktivita vody se zvyšující se teplotou. Nárůst teploty o 10 °C způsobí nárůst aktivity vody v potravině o hodnotu 0,03–0,20, což může mít negativní vliv na stabilitu balených potravin, u kterých je obsah vody v systému stálý (Kadlec et al., 2013).

Kažení ryb je výsledkem chemických, biochemických a mikrobiologických procesů, které jsou závislé na teplotě. V případě chlazených potravin je proto velmi důležité dodržet odpovídající teplotní řetězec (Fernandes, 2009). Na kažení mořských ryb se nejčastěji podílí gramnegativní bakterie zejména rod *Pseudomonas*, dále např. *Shewanella* spp., *Moraxella* spp, *Acinetobacter* spp. *Alcaligenes* spp. a další (Fernandes, 2009; Golian et al., 2021).

Cílem studie bylo posoudit vliv typu balení a teploty skladování na výsledek vybraných mikrobiologických a fyzikálně-chemických analýz čerstvých ryb, konkrétně filetů lososa obecného. Provedené experimenty modelovaly situace různě dlouhého přerušení chladírenského řetězce, ke kterým může dojít např. při transportu potravin.

MATERIÁL A METODIKA

Modelové pokusy byly provedeny s čerstvými filety lososa obecného (*Salmo salar*) s kůží, které byly zakoupeny v tržní síti a dopravené do laboratoře v tajícím ledu. Ihned po příjmu v laboratoři byly filety naporcovány na cca 170 g porce, polovina připravených vzorků byla individuálně zabalena do prostého balení v podobě plastové misky z polypropylenu překryté průtažnou polyetylenovou folií. Druhá polovina naporcovaných filetů byla

individuálně vakuově zabalena v sáčku z kombinované folie polyamid/polyetylen s využitím vakuové baličky TekVac 411 (Distform, Španělsko).

Připravené vzorky byly vychlazeny na teplotu tajícího ledu (1 ± 1 °C). Následně byla provedena simulace porušení (zvýšení) vnější teploty při transportu vzorků, a to na následující teploty: 3, 5, 8, 11, 14, 17, 20 a 25 °C. Doba expozice vzorků zvýšené teplotě byla 1, 2, 3, 3:30 a 4 h. Poté byly vzorky vráceny zpět na teplotu tajícího ledu, při které byly ponechány až do druhého dne. Odběr analytických vzorků pro mikrobiologické a fyzikálně-chemické vyšetření probíhal ihned po expozici zvýšené teplotě (0 h) a poté za 3 h a za 24 h po návratu do adekvátní teploty. V rámci jedné šarže byly provedeny 3 paralelní stanovení. Jako kontrolní vzorky byly u prostého balení použity filety skladované při teplotě tajícího ledu (1 ± 1 °C), v případě vakuového balení při 3 °C (teploty doporučené výrobci a požadované legislativou). Celkem bylo mikrobiologicky vyšetřeno 753 vzorků prostého i vakuového balení filetů lososa.

Po celou dobu trvání experimentu byla monitorována teplota prostředí a v jádře výrobku pomocí vpichového teplotního čidla NTC spojeného se záznamníkem teploty Testo 175 T2 (Testo SE & Co. KGaA, Německo).

U analytických vzorků byly stanoveny následující mikrobiologické ukazatele: celkový počet mikroorganismů (ČSN EN ISO 4833-1/2013), počet psychrotrofních mikroorganismů (ČSN ISO 17410/2020), počet *Escherichia coli* (ČSN ISO 16649-2/2003) a průkaz *Salmonella* spp. (ČSN EN ISO 6579-1/2020).

Pro stanovení hodnoty pH byl použit mikroprocesorový pH metr 211 (Hanna Instruments, USA), pH bylo měřeno vpichovou elektrodou při teplotě 25 ± 1 °C. Aktivita vody byla stanovena pomocí aw-metru LabMaster (Novasina AG, Švýcarsko) při teplotě 25 ± 1 °C.

Zjištěné hodnoty počtu KTJ.g^{-1} byly logaritmicky transformovány s použitím dekadického logaritmu (log KTJ.g^{-1}) a vyjádřeny pomocí průměru a střední chyby průměru. K vyhodnocení vlivu teploty, délky narušení chladícího řetězce a doby vyšetření vzorku na celkový počet mikroorganismů a počet psychrotrofních mikroorganismů byl použit obecný lineární model (GLM) – faktorová ANOVA s interakcí všech tří faktorů následovaná Tuckeyho post hoc testem a to samostatně pro vzorky lososa balené v prostém balení a pro vzorky balené ve vakuovém balení. Všechny testy byly vyhodnoceny na hladině významnosti 0,05. Ke zpracování dat byl využit software Statistica, verze 13.5.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky stanovení celkového počtu mikroorganismů jsou součástí jiného příspěvku. V následující části je věnována pozornost ostatním ukazatelům.

Tabulka č. 1, Počet psychrotrofních mikroorganismů (log KTJ.g^{-1}) v závislosti na délce a teplotě porušení a době vyšetření vzorků (průměr ± střední chyba průměru, n = 3) – filety lososa obecného, prosté balení

	Délka porušení					
	1 hod	1,5 hod	2 hod	3 hod	3,5 hod	4 hod
Teplota						
Vyšetření ihned po porušení						
0 °C		2,78 ± 0,09		2,58 ± 0,10		
3 °C		3,08 ± 0,12		2,95 ± 0,10		
5 °C	3,38 ± 0,06		3,22 ± 0,19	3,05 ± 0,18	2,48 ± 0,25	3,53 ± 0,10
8 °C	3,00 ± 0,00		3,16 ± 0,16	3,46 ± 0,09	3,10 ± 0,10	3,16 ± 0,16
11 °C	2,68 ± 0,08		2,78 ± 0,08	2,79 ± 0,14	2,78 ± 0,04	2,83 ± 0,10
14 °C	3,29 ± 0,09		3,09 ± 0,22	3,52 ± 0,07	3,35 ± 0,06	3,54 ± 0,03
17 °C	3,23 ± 0,13		3,51 ± 0,18	3,89 ± 0,06	3,52 ± 0,03	3,68 ± 0,22
20 °C	3,16 ± 0,16		3,46 ± 0,09	3,20 ± 0,20	3,92 ± 0,08	3,42 ± 0,06
25 °C	2,79 ± 0,05		2,76 ± 0,07	2,65 ± 0,08	2,82 ± 0,06	2,85 ± 0,08
Vyšetření 3 h po porušení						
0 °C		3,19 ± 0,10		2,96 ± 0,09		3,01 ± 0,03
3 °C		3,45 ± 0,14		3,18 ± 0,10		2,60 ± 0,30
5 °C	3,12 ± 0,08		2,95 ± 0,05	3,00 ± 0,11	2,75 ± 0,03	2,82 ± 0,06
8 °C	3,26 ± 0,14		3,00 ± 0,00	3,10 ± 0,10	3,30 ± 0,17	3,90 ± 0,06
11 °C	2,71 ± 0,05		2,78 ± 0,10	2,74 ± 0,06	2,81 ± 0,08	2,89 ± 0,01
14 °C	3,24 ± 0,13		3,50 ± 0,02	3,61 ± 0,05	3,57 ± 0,10	3,14 ± 0,15
17 °C	3,14 ± 0,13		3,56 ± 0,15	3,55 ± 0,03	3,38 ± 0,11	3,59 ± 0,13
20 °C	3,00 ± 0,00		3,26 ± 0,26	3,00 ± 0,00	3,79 ± 0,18	3,46 ± 0,16
25 °C	2,72 ± 0,03		2,75 ± 0,05	2,87 ± 0,09	2,85 ± 0,08	2,79 ± 0,06
Vyšetření 24 h po porušení						
0 °C	3,73 ± 0,03		3,36 ± 0,24			3,48 ± 0,07
3 °C	4,34 ± 0,32		3,78 ± 0,16			4,25 ± 0,09
5 °C	3,42 ± 0,16		3,63 ± 0,11	3,93 ± 0,01	3,71 ± 0,08	4,06 ± 0,10
8 °C	3,33 ± 0,20		3,10 ± 0,10	4,03 ± 0,18	3,20 ± 0,10	3,10 ± 0,10
11 °C	2,71 ± 0,13		2,61 ± 0,07	2,71 ± 0,11	2,72 ± 0,03	2,77 ± 0,04
14 °C	3,68 ± 0,17		3,34 ± 0,21	3,42 ± 0,04	3,58 ± 0,07	3,85 ± 0,15
17 °C	3,78 ± 0,07		3,91 ± 0,26	3,91 ± 0,06	3,84 ± 0,16	4,54 ± 0,11
20 °C	3,54 ± 0,33		3,52 ± 0,31	3,39 ± 0,21	4,10 ± 0,08	3,79 ± 0,19
25 °C	2,75 ± 0,07		2,78 ± 0,05	2,80 ± 0,08	2,85 ± 0,13	2,83 ± 0,09

Pozn.: Výchozí počet je 3,39 ± 0,11 log KTJ.g^{-1} (pro 0, 3 a 5 °C), 3,50 ± 0,13 log KTJ.g^{-1} (pro 8 a 20 °C), 2,82 ± 0,03 log KTJ.g^{-1} (pro 11 a 25 °C) a 3,41 ± 0,06 log KTJ.g^{-1} (pro 14 a 17 °C).

U chlazeného lososa baleného v prostém balení se počet psychrotrofních mikroorganismů pohyboval od 2,48 ± 0,25 do 4,54 ± 0,11 log KTJ.g^{-1}, nad hodnotou 4 log KTJ/.g^{-1} to bylo v 6 případech (viz tabulka č. 1). Statisticky významný vliv na počet psychrotrofních mikroorganismů měla teplota ($F(7,270) = 67,844$, $P < 0,001$), délka porušení

(F(5,270) = 10,544, P < 0,001), doba vyšetření po porušení (F(2,270) = 72,914, P < 0,001) a také interakce všech tří faktorů (F(77,270) = 3,512, P < 0,001).

Tabulka č. 2, Počet psychrotrofních mikroorganismů (log KTJ.g^{-1}) v závislosti na délce a teplotě porušení a době vyšetření vzorků (průměr ± střední chyba průměru, n = 3) – filety lososa obecného, vakuové balení

	Délka narušení					
	1 hod	1,5 hod	2 hod	3 hod	3,5 hod	4 hod
Teplota						
Vyšetření ihned po porušení						
3 °C		3,13 ± 0,06		3,17 ± 0,15		
5 °C	3,01 ± 0,11		2,85 ± 0,00	3,11 ± 0,04	3,09 ± 0,14	3,02 ± 0,10
8 °C	3,36 ± 0,22		2,70 ± 0,27	3,26 ± 0,30	3,63 ± 0,04	2,97 ± 0,23
11 °C	2,63 ± 0,18		3,02 ± 0,10	2,99 ± 0,12	3,56 ± 0,25	3,56 ± 0,20
14 °C	2,32 ± 0,32		2,66 ± 0,28	2,61 ± 0,31	2,60 ± 0,24	3,81 ± 0,12
17 °C	2,57 ± 0,27		2,53 ± 0,39	2,76 ± 0,22	2,43 ± 0,22	2,89 ± 0,08
20 °C	3,60 ± 0,12		3,60 ± 0,10	3,66 ± 0,18	3,06 ± 0,24	3,11 ± 0,10
25 °C	3,25 ± 0,06		2,87 ± 0,13	2,98 ± 0,12	3,27 ± 0,05	3,60 ± 0,06
Vyšetření 3 h po porušení						
3 °C		3,10 ± 0,04		2,93 ± 0,09		3,03 ± 0,01
5 °C	3,00 ± 0,06		2,79 ± 0,08	3,13 ± 0,06	3,27 ± 0,06	3,03 ± 0,07
8 °C	3,48 ± 0,04		2,94 ± 0,24	3,11 ± 0,20	2,82 ± 0,18	3,62 ± 0,20
11 °C	3,39 ± 0,20		2,87 ± 0,09	2,88 ± 0,16	3,61 ± 0,14	2,91 ± 0,11
14 °C	2,79 ± 0,16		3,06 ± 0,15	3,09 ± 0,04	2,89 ± 0,24	3,36 ± 0,11
17 °C	3,22 ± 0,07		3,25 ± 0,07	3,49 ± 0,17	3,42 ± 0,25	3,17 ± 0,01
20 °C	3,37 ± 0,12		3,70 ± 0,18	3,52 ± 0,09	3,63 ± 0,10	3,76 ± 0,17
25 °C	3,40 ± 0,14		3,46 ± 0,08	3,18 ± 0,02	3,61 ± 0,10	3,01 ± 0,27
Vyšetření 24 h po porušení						
3 °C	3,13 ± 0,16		3,17 ± 0,17			2,95 ± 0,08
5 °C	3,18 ± 0,08		3,29 ± 0,06	3,31 ± 0,03	2,96 ± 0,13	3,38 ± 0,12
8 °C	3,26 ± 0,24		3,54 ± 0,17	3,63 ± 0,13	3,19 ± 0,28	3,26 ± 0,18
11 °C	3,18 ± 0,00		2,93 ± 0,17	3,40 ± 0,13	3,37 ± 0,11	3,76 ± 0,07
14 °C	2,91 ± 0,12		2,85 ± 0,24	3,53 ± 0,03	2,76 ± 0,26	4,51 ± 0,26
17 °C	3,27 ± 0,14		3,32 ± 0,18	4,31 ± 0,13	4,05 ± 0,12	3,90 ± 0,15
20 °C	4,05 ± 0,06		3,74 ± 0,03	3,83 ± 0,11	3,36 ± 0,03	3,79 ± 0,06
25 °C	3,48 ± 0,21		3,57 ± 0,12	3,29 ± 0,20	4,23 ± 0,16	3,28 ± 0,04

Pozn.: Výchozí počet je 3,12 ± 0,23 log KTJ.g^{-1} (pro 3 a 5 °C), 3,43 ± 0,10 log KTJ.g^{-1} (pro 8 a 20 °C), 3,42 ± 0,12 log KTJ.g^{-1} (pro 11 a 25 °C) a 2,95 ± 0,15 log KTJ.g^{-1} (pro 14 a 17 °C).

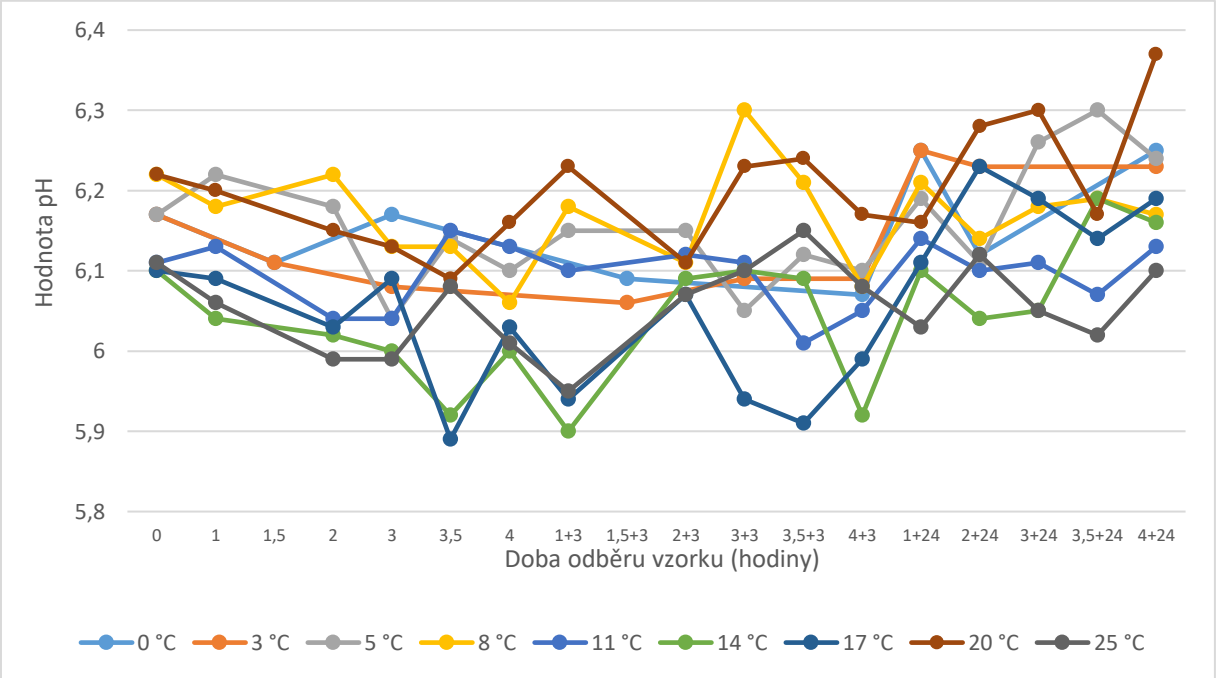
U chlazeného lososa baleného ve vakuovém balení se počet psychrotrofních mikroorganismů pohyboval od 2,32 ± 0,32 do 4,51 ± 0,26 log KTJ.g^{-1}; nad hodnotou 4 log KTJ.g^{-1} to bylo v 5 případech. Počet psychrotrofních mikroorganismů byl významně ovlivněn

teplotou ($F(7,254) = 12{,}749$, $P < 0{,}001$), délkou porušení chladícího řetězce ($F(5,254) = 5{,}608$, $P < 0{,}001$), dobou vyšetření po porušení ($F(2,254) = 34{,}948$, $P < 0{,}001$) i interakcí všech tří faktorů ($F(70,254) = 2{,}251$, $P < 0{,}001$).

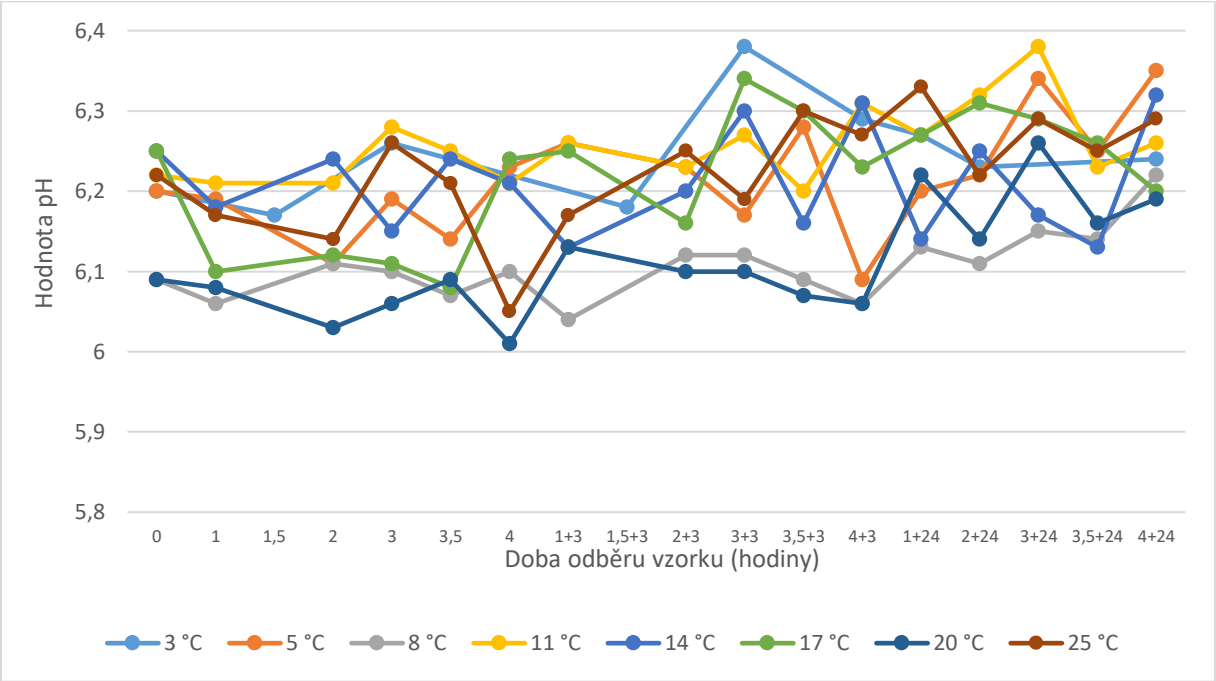
U všech testovaných vzorků byl stanoven počet *E. coli* < 1,699 log KTJ.g^{-1}, tj. pod mezí detekce použité plotnové metody (bez nárůstu charakteristických kolonií při roztěru 0,2 ml výchozího ředění vzorku 10^{-1}). Podobně v žádném ze vzorků nebyly prokázány bakterie rodu *Salmonella*.

Hodnoty pH vzorků filetů v prostém balení se souhrnně pohybovaly v rozmezí 5,89 až 6,37, během skladování vzorků docházelo ve většině případů k mírnému zvýšení oproti výchozí hodnotě (viz obrázek č. 1). Významné rozdíly v závislosti na teplotě porušení chladicího řetězce nebyly zaznamenány. U vzorků vakuově zabalených bylo kolísání hodnoty pH ještě méně výrazné, obecně v rozsahu 6,03 až 6,38 (obrázek č. 2), opět bez prokázané statistické významnosti.

Obrázek č. 1, Dynamika změn průměrné hodnoty pH (n = 3) v závislosti na teplotě porušení chladicího řetězce a době skladování – filety lososa obecného, prosté balení



Obrázek č. 2, Dynamika změn průměrné hodnoty pH (n = 3) v závislosti na teplotě porušení chladicího řetězce a době skladování – filety lososa obecného, vakuové balení



Pokles hodnoty pH svaloviny po poražení či usmrcení závisí na množství zbytkové glukózy anebo glykogenu, které jsou anaerobně redukovány na kyselinu mléčnou za současné produkce ATP. Protože ryby mívají v porovnání se savci relativně malé množství reziduálního glykogenu, obvykle se uvádí obsah karbohydrátů pod 0,5 %, pokles hodnoty pH je méně výrazný, hodnoty po proběhnutí *rigor mortis* se obvykle pohybují v rozmezí 5,8 – 6,5 (Fernandes, 2009). Naměřené hodnoty u balených filetů lososa jsou plně v korelaci s uvedenými údaji.

Aktivita vody jednotlivých vzorků kolísala v poměrně úzkém rozmezí 0,978 – 0,985 (prosté balení), respektive 0,976 – 0,988 (vakuové balení). Tato skutečnost odráží obecně deklarovanému vysokému obsahu vody v rybách (průměrně 80 hm. %), díky kterému dochází k jejich rychlému kažení zejména psychrofilními mikroorganismy (Golian et al., 2021).

ZÁVĚR

Z uvedených výsledků je zřejmé, že počet psychrotrofních mikroorganismů v rybích filetech je ovlivněn teplotou skladování. Přerušení chladírenského řetězce může mít vliv na výsledek následného mikrobiologického vyšetření, a to zejména při vyšší míře expozice zvýšené teplotě. Vliv má také způsob balení čerstvých ryb. Výsledky jsou dílčí části komplexní studie vedoucí k vytvoření certifikované metodiky a uživatelského softwaru, umožňujících

aktuální posouzení konkrétní situace vzniklé v souvislosti s odběrem a transportem úředně odebraných vzorků. Sjednocení pravidel by mělo vést ke snížení množství vzorků nepřijatých ke zpracování v důsledku nesprávného transportu a minimalizovat možnost zpochybnění výsledků analýz v rámci probíhajících správních řízení.

PODĚKOVÁNÍ

Práce byla finančně podpořena projektem NAZV QK21020245.

POUŽITÁ LITERATURA

1. BRUCKNER, S. et al. Influence of cold chain interruptions on the shelf life of fresh pork and poultry. *International Journal of Food Science and Technology*, 2012, vol. 47, no. 8, p. 1639–1646
2. FERNANDES, R. *Microbiology handbook – Fish and Seafood.* 3th ed. Leatherhead, UK: Leatherhead Food International Ltd. 2009. 258 p. ISBN: 978-1-905224-76-0.
3. GOLIAN, J. et al. *Selected attributes of fish quality intended for the slovak market*. Nitra : 2 Theta, 2021. 116 p. ISBN 978-80-88279-11-2.
4. KADLEC, P. – MELZOCH, K. – VOLDŘICH, M. *Procesy a zařízení v potravinářství a biotechnologiích*. Ostrava: Key Publishing, 2013. 497 p. ISBN 978-80-7418-163-4.
5. MASNIYOM P. Deterioration and shelf-life extension of fish and fishery products by modified atmosphere packaging. In *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, ISSN 0125-3395, 2011, vol. 33, no. 2, p. 181-192.
6. NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 853/2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu. Úřední věstník L 139, 30.4.2004, s. 55.
7. ROBERTSON, G.L. *Food packaging: principles and practice*. 3rd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2013. 733 p. ISBN 978-1-4398-6241-4.
8. SIVERTSVIK, M. et al. A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products – significance of microbial growth, activities and safety. In *International Journal of Food Science and Technology*, ISSN 1365-2621, 2002, vol. 37, p. 107-127.

Kontaktní adresa: Bursová Šárka, Department of Animal Origin Food and Gastronomic Sciences, Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology, University of Veterinary Sciences Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Czech Republic; E-mail: bursovas@vfu.cz

KRITICKÉ BODY Z HĽADISKA WELFARE HYDINY NA BITÚNKU

CRITICAL POINTS IN TERMS OF ANIMAL WELFARE FOR POULTRY AT THE SLAUGHTERHOUSE

Dalmau Antoni

Animal Welfare Program, IRTA, Veinat de Sies, s/n, 17121. Monells, Spain

ABSTRACT

In the slaughterhouse, a critical point when considering animal welfare is how the animals are killed. In fact, there are several ways of killing animals, but very few are free of pain and suffering. Therefore, an animal welfare assessment at the slaughterhouse must ensure that this process is performed in all cases inside this second group of procedures, and this includes a good stunning, good sticking and an excellent checking of all the process trying to avoid any sign of recovery of consciousness in an animal that is dying. However, the points to monitor in a slaughterhouse goes by far beyond than just the moment of killing. It begins for instance at the arrival of the animals. In this moment you can assess, especially in birds that are transported in cages, if they are adequate for the animals, they have a good state of conservation, the space allowance is enough or even more important, how the animals arrive, i.e. they are panting? Shivering? Huddling? Ill? Exhausted? Dirty? It's a good moment to check as well the fasting times they had according to the registers. Is the unloading bay properly designed, is the management of the cages correct? Are the animals allocated in a good lairage area before being stunned? It has enough light or ventilation? It's noisy? Are there animals escaped or risk of damage for the animals? Later you can check how the animals are handled before being stunned. They are introduced to a gas system directly with the cages or they are dumped on a sliding belt? In case they are hoisted, how this process is performed? The animals are gently allocated without damaging their legs or not? How long the animals are hoisted before arriving to the electrical bath? Are there electric schocks before the stunning process? Even after the slaughtering it is possible to check injuries on the animals, such as broken wings or legs, that allows to assess the conditions of catching and transportation. Therefore, the key animal welfare points to take into account in a poultry slaughterhouse will comprise everything that can occur with the animal in this last phase of its life, including a proper stunning and killing process.

Key words: killing, poultry, slaughterhouse, stunning, welfare

Contact address: Dalmau, Antoni, Animal Welfare Program. IRTA. Veïnat de Sies s/n, Monells, 17121. Spain; E-mail: antoni.dalmau@irta.es

AKČNÍ PLÁN REALIZACE STRATEGIE BEZPEČNOSTI POTRAVIN A VÝŽIVY 2030

ACTION PLAN FOR FOOD SAFETY AND NUTRITION STRATEGY 2030

Horák Ondřej

Ministerstvo zemědělství, Odbor bezpečnosti potravin

Těšnov 65/17, 110 00 Praha 1, Česká republika

ABSTRACT

Since 2001, the main visions and objectives regarding food safety in the Czech Republic are formed into a complex documents - strategies. Current strategy is already the sixth food safety framework document in a row. Food Safety and Nutrition Strategy 2030 is the key strategic document that aims to set the priorities of the Czech Republic with respect to ensuring food safety and nutrition for the period 2021-2030. According to this document which has been approved by Czech Government (Resolution of the Government of the Czech Republic No 323 of 29 March 2021), food safety is an important objective and component of Czech policy. Moreover, there is an increased number of requirements with respect to scientific assessment, reduction of food-related risks, and effective food risk communication that must be fulfilled. All specific actions that lead towards desired objectives are defined by the Action plan for Food Safety and Nutrition Strategy 2030. The specific objectives, responsibility for their implementation, indicators and various deadlines are found in this plan. Well-functioning food safety and nutrition system are perceived as the responsibility of the Government – especially of the Ministry of Agriculture in cooperation with the Ministry of Health.

Keywords: The Ministry of Agriculture of the Czech Republic, Food Safety and Nutrition Strategy 2030, Action plan for Food Safety and Nutrition Strategy 2030

STRATEGIE BEZPEČNOSTI POTRAVIN A VÝŽIVY 2030

Již od roku 2001 jsou základními řídícími dokumenty České republiky v oblasti bezpečnosti potravin dokumenty - tzv. "Strategie bezpečnosti potravin". Aktuálně platí v pořadí již šestá strategie, "Strategie bezpečnosti potravin a výživy 2030", která byla schválena usnesením vlády České republiky č. 323 ze dne 29. března 2021. Hlavním cílem strategie je zajištění výroby a uvádění pouze bezpečných a kvalitních potravin na trh včetně poskytování ověřených informací o potravinách a tím i posílení ochrany spotřebitelů. Aby byl systém

bezpečnosti potravin dlouhodobě funkční a udržitelný, je důležité dále posilovat efektivní spolupráci mezi všemi organizacemi a subjekty, které jsou do systému zapojeny. Strategickým cílem v oblasti výživy je prioritní zaměření na správnou výživu podporující zdraví populace a vybraných rizikových skupin obyvatelstva se zvýšením efektivnosti podpory a ochrany zdraví, zdravotní osvěty a prevence nemocí, které souvisejí s výživou a stravováním. Strategie podporuje zájmy veřejnosti/spotřebitelů, tzn. potraviny jsou na trhu bezpečné; spotřebitelé mají přístup k dostupným, kvalitním a bezpečným potravinám; spotřebitelé mají možnost výběru na základě dostupných informací a znalostí faktů atd. Proto by měl tento strategický dokument také přispět k posílení důvěry veřejnosti v celý systém zajištění bezpečnosti potravin. Realizace cílů Strategie je rozpracována do dokumentu s názvem „Akční plán realizace Strategie bezpečnosti potravin a výživy 2030“, v němž jsou blíže popsány specifické cíle, odpovědnost za jejich realizaci, ukazatele a termíny plnění.

AKČNÍ PLÁN REALIZACE STRATEGIE BEZPEČNOSTI POTRAVIN A VÝŽIVY 2030

Akční plán realizace Strategie bezpečnosti potravin a výživy 2030 rozpracovává již zmíněnou Strategii bezpečnosti potravin a výživy 2030. Cílem tohoto dokumentu je stanovit konkrétní opatření k naplňování Strategie v průběhu sledovaného období. Dokument byl zpracován pracovní skupinou, kterou tvoří zástupci relevantních resortůa dalších organizací pod vedením Ministerstva zemědělství. Návrh akčního plánu diskutovala a připomínkovala Koordinační skupina bezpečnosti potravin (KSBP), která slouží jako tzv. platforma pro průběžnou konzultaci pokroku v implementaci opatření uložených Akčním plánem Strategie. Dokument byl schválen vládou České republiky dne 16. 3. 2022 a definuje celkem 83 opatření, která mají do roku 2030 přispět k posílení bezpečnosti potravin a oblasti výživy v České republice. Do konce roku 2025 již však bude vládě předloženo vyhodnocení průběžného naplňování stanovených úkolů a současně proběhne vyhodnocení a revidování všech opatření.

Celý dokument je rozdělen na 2 strategické cíle. Strategický cíl 1, obsahující celkem 66 opatření, se zabývá bezpečnými potravinami na trhu, poskytováním ověřených informací o bezpečnosti a kvalitě potravin, čímž dochází k posílení ochrany spotřebitelů, jejich oprávněných zájmů a důvěry v celý systém bezpečnosti potravin, včetně jeho udržitelnosti. Oproti tomu strategický cíl 2, který obsahuje celkem 17 opatření, se zabývá výhradně oblastí výživy, která podporuje zdraví české populace. Existuje totiž celá řada současných negativních trendů, například: nutričně nevyvážená strava, nadváha/obezita, podvýživa v podobě

nedostatku energie a některých živin či jiných biologicky významných živin, nebo také nedostatek pohybových aktivit, což představuje určité riziko ve smyslu rozvoje chronických neinfekčních onemocnění. Změnit však tyto trendy vyžaduje trvalou péči prostřednictvím strategických aktivit.

Kontaktní adresa: Ing. Ondřej Horák, Odbor bezpečnosti potravin, Ministerstvo zemědělství, Těšnov 65/17, Praha 1, Česká republika; E-mail: ondrej.horak@mze.cz

MINISTRY OF AGRICULTURE
OF THE CZECH REPUBLIC

MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ

VPLYV HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA VYBRANÉ PARAMETRE PRSNEJ SVALOVINY BROJLEROV

THE EFFECT OF HUMIC SUBSTANCES ON SELECTED PARAMETERS OF BREAST MUSCLE OF BROILERS

Karaffová Viera[1], Mudroňová Dagmar[2], Popelka Peter[3], Boris Semjon[3], Marek Ratvaj[2], Erik Hudec[1], Marcinčák Slavomír [3]

[1]Katedra morfologických disciplín

[2]Katedra mikrobiológie a imunológie

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

ABSTRACT

The productivity of broiler chickens depends to a large extent on breeding technology, including the use of biologically active feed additives such as humic substances. Humic substances affect the digestion and absorption of nutrients, which has a direct impact on the quantity and quality of meat products. In our study, we focused on monitoring the effect of 0.5% addition of humic substances in Humac Natur on gene expression of selected growth and myogenic regulatory factors as well as on selected slaughter parameters of broilers. 80 one-day-old broiler chickens were divided into two groups: control (K) and 0.5% Humac natur AFM supplemented from the first day of fattening (HL). Pectoral muscle samples were taken on day 38 of fattening. At the same time, the slaughter parameters of broilers were determined. The humic substances administered at a concentration of 0.5% in the preparation of Humac natur AFM had a significantly positive effect on the gene expression of myogenic regulatory and transcription factors and at the same time influenced selected carcass parameters to a lesser extent.

Key words: humic substances, myogenic regulatory factors, pectoral muscle, broiler

ÚVOD

V posledných rokoch vo svete prevláda zvýšený záujem o konzumáciu hydinového mäsa, ktorého kvalita je významným ukazovateľom manažmentu chovu hydiny. Kvalita hydinového mäsa je priamo závislá od podávaného krmiva a rôznych aditív. Humínové látky, ktoré vznikajú najmä činnosťou mikroorganizmov v pôde sa v medicíne používajú ako prírodné antivirotiká alebo ako alternatívna náhrada antibiotík. Ich blahodarný účinok na organizmus sa prejavuje

cez inhibíciu rastu patogénnych baktérii, stimulovanie rastu prospešnej črevnej mikrobioty (Kocabagli a kol., 2002). Ich zaradenie do výživy brojlerových kurčiat môže ovplyvniť rastové parametre hydinového mäsa a tým významne prispieť k zlepšeniu kvality produkovaného mäsa. Navyše, používanie týchto látok vo výžive viacerých druhov zvierat, ako prírodných aditív je v súčasnosti predmetom mnohých experimentov (Semjon a kol., 2020; Hudák a kol., 2021; Islam a kol., 2005). Avšak, doteraz neboli publikované štúdie, ktoré by boli zamerané na sledovanie vplyvu humínových látok na myogénne rastové a transkripčné faktory, ktorých génová expresia moduluje rast prsnej svaloviny kurčiat. Cieľom našej práce bolo sledovať vplyv 0,5 % prídavku humínových látok v prípravku Humac natur AFM na génovú expresiu myogénnych regulačných a transkripčných faktorov ako sú IGF-1 (*insulin like growth factor*) , MYF-5 (*myogenic factor 5),* PAX-7 (*paired box protein),* Myod-1(*myoblast determination protein 1*) a jatočných parametrov (jatočná hmotnosť, jatočná výťažnosť, prsná svalovina bez kostí, stehno nekostené).

MATERIÁL A METÓDY

160 kusov jednodňových brojlerových kurčiat plemena Cobb 500 (Hydina Slovensko s.r.o.) bolo rozdelených do dvoch skupín: kontrola (K) a experimentálna skupina (H). Kontrole bola podávaná komerčná kŕmna zmes (BR1, BR2, BR3). H skupine bol okrem komerčnej kŕmnej zmesi od 1. dňa experimentu podávaný 0,5 % prídavok humínových látok do krmiva ráno a večer. Počas celej doby pokusu mala hydina prístup k vode a krmivu *ad libitum.* Odber vzoriek (prsná svalovina) a stanovenie jatočných parametrov bolo vykonané na 38. deň experimentu.

Homogenizácia vzoriek, izolácia total RNA, Kvantitatívna Real Time PCR

Odobraté vzorky boli prenesené do RNA- lateru a skladované pri teplote -70°C až do purifikácie RNA. Na purifikáciu RNA bol použitý RNAeasy mini kit podľa inštrukcií výrobcu (Qiagen). Čistota a koncentrácia total RNA bola kontrolovaná spektrofotometricky (Labnet) a 1 µg total RNA bol reverzne transkribovaný použitím Maxima first strand cDNA synthesis kit (Thermofisher) a oligo-dT primerov. Výsledná cDNA bola riedená v sterilnej destilovanej vode a použitá ako templát alebo skladovaná pri teplote -20°C. Relatívna expresia vybraných génov (IGF-1, MYF-5, PAX-7, Myod-1) bolo stanovené pomocou kvantitatívnej RealTime-PCR použitím kitu Maxima SYBR green qPCR Master Mix (Thermofisher) a špecifických primerov (Tabuľka 1). Amplifikácia a detekcia špecifických produktov prebehla na C1000 Thermal Cycler –CSX Real time system (Bio-Rad) podľa preddefinovaného teplotného

programu. Cq hodnoty sledovaných génov boli vyjadrené ako priemer Cq hodnôt referenčného génu a relatívna expresia každého génu bola vyjadrená matematicky ako $2^{-\Delta Cq}$.

Tabuľka. 1 Sekvencie primerov pre mRNA vybraných faktorov

Primer	**Sekvencia 5'–3'**	**Referencia**
IGF-1 Fw	GAGCTGGTTGATGCTCTTCAGTT	Xiao a kol., 2017
IGF-1 Rev	CCAGCCTCCTCAGGTCACAACT	
MYF-5 Fw	CAGAGACTCCCCAAAGTGGAGAT	
MYF-5 Rev	GTCCCGGCAGGTGATAGTAGTTC	
PAX-7 Fw	AGGCTGACTTCTCCATCTCTCCT	Adhikari a kol., 2019
PAX-7 Rev	TGTAACTGGTGGTGCTGTAGGTG	
Myod-1 Fw	CCGACGGCATGATGGAGTACA	
Myod1 Rev	GTCGAGGCTGGAAACAACAGAA	
GAPDH Fw	CCTGCATCTGCCCATTT	De Boever a kol., 2008
GAPDH Rev	GGCACGCCATCACTATC	

Stanovenie jatočných parametrov

Na stanovenie jatočnej výťažnosti kurčiat boli kurčatá zvážené pred zabitím a následné telá po jatočnom opracovaní. Jatočná výťažnosť tela bola stanovená ako podiel hmotnosti tela po jatočnom opracovaní a hmotnosti kurčiat pred zabitím. Na stanovenie podielu prsnej svaloviny a stehna k celkovej hmotnosti jatočne opracovaného tela boli tieto časti oddelené od tela a následne zvážené. Podiel prsnej svaloviny a stehna k jatočne opracovanému telu bol vypočítaný ako podiel hmotnosti jednotlivých partií a hmotnosti tela po jatočnom opracovaní.

Štatistická analýza

Štatistická analýza údajov bola vykonaná pomocou Tukeyho testu v softvéri GraphPad In Stat. Rozdiely medzi hodnotami pre skupiny sa považovali za štatisticky významné pri P^{*} <0,05, P^{**} <0,01, P^{***} <0,001.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na molekulárnej úrovni sú svalové bunky extrémne vnímavé na mitogénne stimuly rastových faktorov a cytokínov. Najmä rastové faktory urýchľujú aktiváciu a proliferáciu svalových buniek a spolu s IGF zvyšujú myogenézu vo svaloch (Syverud a kol., 2016). Charakteristická je pre nich expresia myogénnych regulačných a transkripčných faktorov ako sú Pax7, Myf5 a MyoD1, ktoré sú základné regulátory embryonálneho vývoja kostrového svalstva (Yamamoto a kol., 2018). V našom experimente 0,5 % prídavok humínových látok v prípravku Humac

AFM Natur pôsobil stimulačne na relatívnu expresiu všetkých vybraných myogénnych regulačných faktorov (P<0,01, P <0,001) ako aj na expresiu rastového faktora IGF-1 v prsnej svalovine experimentálnej skupiny oproti kontrole. Navyše, IGF-2 hrá veľmi dôležitú úlohu v postnatálnom vývoji organizmu a teda má výrazné účinky na rozvoj kostrového a svalového systému. Podobne autori Weber a kol. (2014) zaznamenali zvýšenie sérového IGF-1 u ošípaných, ktorým bol podaný prípravok Menefee obsahujúci 0,25 % humínových látok. Na druhej strane pri hodnotení vybraných jatočných parametrov sme nezaznamenali výrazné rozdiely medzi experimentálnou skupinou a kontrolou (Tabuľka 2). Avšak v našom predošlom experimente, suplementácia humínových látok v 0,8 a 1% koncentrácii v strave brojlerov pozitívne ovplyvnila fyzikálno-chemické a organoleptické vlastnosti mäsa (prsia a stehná) (Semjon a kol., 2020). Zároveň, Nagaraju a kol. (2014) zistili, že pridanie humínových látok do krmiva bez antibiotík zlepšilo úžitkovosť a imunitný stav brojlerov.

Tabuľka 2. Vybrané jatočné parametre brojlerov

parameter	**Kontrola (K)**	**H skupina**
Jatočná hmotnosť (g)	2464± 224,5	2418,7 ± 203,5
Hmotnosť tela po vypitvaní (g)	1868,6 ± 185,6	1863,8 ± 203,9
Jatočná výťažnosť (%)	76,6 ± 10,3	77,6 ± 11,1
Prsná svalovina bez kostí (g)	480,5 ± 56,5	510,7 ± 61,9
Stehno nekostené (g)	517,9 ± 46,5	538,6 ± 50,7

ZÁVER

Záverom môžeme konštatovať, že 0,5% prídavok humínových látok v prípravku Humac Natur AFM stimuloval génovú expresiu rastových a transkripčných myogénnych faktorov v prsnej svalovine a zároveň mal vplyv na zvýšenie hmotnosti prsnej svaloviny bez kostí.

POĎAKOVANIE

Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny, Drive4SIFood 313011V336, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja (100%).

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. KOCABAĞLI, N. et al. The effects of dietary humate supplementation on broiler growth and carcass yield. *Poultry Science*, 2002, vol. 81, no. 2, p. 227-230.
2. SEMJON, B. et al. Multiple factorial analysis of physicochemical and organoleptic properties of breast and thigh meat of broilers fed a diet supplemented with humic substances. *Poultry Science*, 2020, vol. 99, no. 3, p. 1750-1760.
3. HUDÁK, M. et al. Effect of broilers chicken diet supplementation with natural and acidified humic substances on quality of produced breast meat. *Animals*, 2021, vol. 11, no. 4, 1087.
4. ISLAM, K. et al. Humic acid substances in animal agriculture. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2005, vol. 4, no. 3, p. 126-134.
5. XIAO, Y. et al. Association of growth rate with hormone levels and myogenic gene expression profile in broilers. *Journal of Animal Science and Biotechnol*ogy, 2017, vol. 8, no. 1, p. 43.
6. ADHIKARI, R. et al. Isolation and differentiation of mesenchymal stem cells from broiler chicken compact bones. *Frontiers in Physiol*ogy, 2019, vol. 9, p. 1892.
7. DE BOEVER, S. et al. Identification and validation of housekeeping genes as internal control for gene expression in an intravenous LPS inflammation model in chickens. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2008, vol. 122, no. 3, p. 312-317.
8. SYVERUD, B.C. et al. Growth factors for skeletal muscle tissue engineering. *Cells, tissues, organs*, 2016, vol. 202, p. 169-179.
9. YAMAMOTO, M. et al. Loss of MyoD and Myf5 in skeletal muscle stem cells results in altered myogenic programming and failed regeneration. *Stem cell reports*, 2018, vol. 10, no. 3, p. 956-969.
10. WEBER, T.E. et al. Effects of dietary humic and butyric acid on growth performance and response to lipopolysaccharide in young pigs. *Journal of Animal Sci*ence, 2014, vol. 92, no. 9, p. 4172-4179.
11. NAGARAJU, R. et al. Effect of dietary supplementation of humic acids on performance of broilers. *Indian Journal of Animal Science*, 2014, vol. 84, no. 4, p. 447-452.

Kontaktná adresa: Karaffová Viera, Department of Morphological disciplines, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: viera.karaffova@uvlf.sk

NÁRODNÍ PROGRAMY TLUMENÍ SALMONEL V ČESKÉ REPUBLICE – ZVÝŠENÍ KVALITY ŽIVOČIŠNÝCH PRODUKTŮ, A POHODY A WELFARE ZVÍŘAT

THE NATIONAL PROGRAMS FOR SALMONELLA DECREASING IN POULTRY FARM IN CZECH REPUBLIC - INCREASING THE QUALITY OF FOOD PRODUCTS AND ANIMAL WELFARE

Macháček Miroslav

Veterinární univerzita Brno, Ústav ochrany a welfare zvířat a veřejného veterinárního lékařství Palackého třída 1, 612 42 Brno

ABSTRACT

The Czech Republic is under the way of The national programs for salmonella decreasing in poultry farm. The aim of this programs is getting healthy chickens (*Gallus gallus*), laying hens (*Gallus gallus*), broilers and turkeys kept for meat and hatching eggs. In this national programs are the animals monitored for *Sallmonella spp*. The poultry is protected too from disease introduction by disinfection, disinsection and rodent control. For increasing the protective effect are the poultry vaccinated against *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis* and *S. Gallinarium*. From the monitoring results we can confirm the positive effect of this steps and then increasing of food safety and poultry welfare.

Key words: prevention, animal health, human health

ÚVOD

Salmonelóza je významné alimentární onemocnění zvířat a člověka. Přibližně 99 % onemocnění způsobené salmonelami jsou způsobené *Salmonellou enteritica* subspecies *enteritica*. Do této skupiny patří až 1 500 sérotypů, ale zdravotní problémy nejčastěji způsobují sérovary *S. Enteritidis* a *S. Typhymurium*. (Chlebicz and Śliżewska, 2018, Lamas et al., 2018, The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016, 2017)

Nejčastější zdroje salmonel pro člověka jsou kontaminované potraviny jako například vejce, nedostatečně tepelně opracované maso, mražené výrobky z nepasterovaných vajec (zmrzlina) nebo z nepasterované mléko. Vejce mohou být kontaminované nejenom na povrchu (skořápka), ale salmonely také mohou prostoupit dovnitř vajíčka. (Chlebicz and Śliżewska,

2018, Beneš, J., 2009) V grafu 1 je zobrazen počet nahlášených infekcí onemocněním salmonelou u lidí v letech 2012 – 2021 (přepočet na 100 000 obyvatel). (www.szu.cz)

Nejčastější místa, kde dojde ke konzumaci kontaminovaných potraviny jsou veřejné stravovací zařízení, školní a závodní jídelny, restaurace a dětské tábory. Důvody vzniku epidemií salmonelóz jsou hlavně nedodržení pravidel správné hygienické praxe, porušení teplotního řetězce během přípravy pokrmu nebo během jeho distribuce. (www.szu.cz)

Vzhledem k tomu, že salmonelóza patří mezi významné onemocnění zvířat a lidí, tak se v roce 2007 Česká republika připojila ke státům Evropské unie, jejichž cílem je snížení výskytu salmonel v chovech drůbeže. V současnosti probíhá Národní program tlumení výskytu salmonel v reprodukčních chovech kura domácího (*Gallus gallus*), nosnic produkujících konzumní vejce kura domácího (*Gallus gallus*), chovech kuřat chovaných na maso a ve výkrmových a chovných chovech krůt. (www.svscr.cz)

SALMONELY

Salmonelly spp. jsou gram negativní, fakultativně anaerobní bakterie, které netvoří spory. V současnosti známe více jak 2 500 sérotypů salmonel. Salmonely se vyskytují v trávicím traktu zvířat (drůbež, skot, prasata, mořští živočichové) a člověka. (Chlebicz and Śliżewska, 2018, Beneš, J., 2009, Horáček, 2000, Julák, 2006)

Většina salmonel není pro drůbež nebezpečná a drůbež zde slouží pouze jako hostitel. Se zdravotními problémy u drůbeže se setkáváme pouze při infekci *S. Typhimurium* a *S. Enteritidis*. Závažnější problémy mohou salmonely vyvolat v chovech s horšími zoohygienickými podmínkami, kdy vlivem stresu dochází ke snížení obranyschopnosti drůbeže a následně k jejich onemocnění. Přesto salmonely řadíme mezi významné drůbeží patogeny. Zvířata, která onemocní salmonelózou nejčastěji trpí střevními problémy, čímž u nich dochází ke zhoršení welfare a snížení produkce. U drůbeže, se snížení produkce projevuje hlavně poklesem snášky a zpomalením růstu. Tyto faktory mají významný vliv na ekonomiku chovu, a proto je snahou chovatelů výskyt salmonel v chovech drůbeže minimalizovat. (www.cfsph.iastate.edu)

U mladých kuřat ve věku do 2 týdnů se salmonelózy projevují apatií, slabostí, vodnatými průjmy, kdy kuřata sedí se svěšenými křídly a zavřenýma očima poblíž zdrojů tepla. Při akutní infekci salmonelami může u takto mladých kuřat docházet k úhynu.

Organismus dospělé drůbeže se většinou dovede s infekcí vypořádat bez výraznějších klinických příznaků. Salmonely ale následně kolují v krvi a mohou být zdrojem infekce z masa,

nebo se dostávají do vajec, napadají embrya a způsobují sníženou líhnivost, nebo zvýšenou úmrtnost nově vylíhnutých kuřat. (www.sva.se)

ODOLNOST *SALMONELL SPP.*

Salmonely jsou ve volném prostředí relativně hodně odolné. Salmonely dovedou přežívat v suchém nebo ve vlhkém prostředí. Při teplotách pod bodem mrazu (zmražené potraviny) si zachovají svojí infektivitu i po několik měsíců. Salmonely mohou růst v aerobním nebo v anaerobním prostředí. (Horáček, 2000, Julák, 2006)

Bakterie *Salmonell spp.* lze snadno devitalizovat v kyselém prostředí (nakládání potravin), nebo při tepelných úpravách nad 70 °C (vaření, pečení, smažení). Přesto je potřeba pamatovat na možnou rekontaminaci tepelně upravených potravin.

Prostředí kontaminované salmonelami lze snadno dezinfikovat běžně dostupnými dezinfekčními přípravky. (Chlebicz and Śliżewska, 2018, Beneš, J., 2009)

Organizace pro bezpečnost potravin a veřejného zdraví (CFSPH) na prostory kontaminované salmonelami doporučuje 1% chlornan sodný, 70% ethanol, 70% propanol, 2% glutaraldehyd a 4% formaldehyd. Dobrý dezinfekční efekt byl také zjištěn u fenolu, kyseliny peroctové, peroxidu vodíku, KAS a jodoforů. U dezinfekčních přípravků na bázi dusitanů byla u salmonel zjištěna rezistence, a proto se na jejich dezinfekci nedoporučují.

Salmonely lze snadno devitalizovat vlhkým (121 °C po dobu 15 minut), nebo suchým (170 °C po dobu 60 minut) teplem. U přístrojů na bázi ozónu nebyl prokázán dostatečný dezinfekční účinek. (www.cfsph.iastate.edu)

NÁRODNÍ PROGRAMY TLUMENÍ SALMONEL V ČESKÉ REPUBLICE – METODIKA KONTROLY ZDRAVÍ A NAŘÍZENÉ VAKCINACE NA ROK 2022

Národní programy tlumení salmonel v České republice jsou zaměřeny na reprodukční chovy kura domácího, chovy nosnic s produkcí konzumních vajec, chovy kuřat na maso, reprodukční chovy krůt a chovy krůt ve výkrmu. V rámci národních programů se provádí vakcinace proti salmonelózám drůbeže, monitoring v chovech drůbeže a také preventivní opatření bránící šíření salmonel mezi chovy, nebo minimalizující riziko onemocnění nově naskladněného hejna.

Vakcinace

V chovech drůbeže se provádí vakcinace živými nebo inaktivovanými vakcínami proti *S. Enteritidis, S. Typhimurium* a *S. Infantis*, nebo živými vakcínami proti *S. Enteritidis, S. Typhimurium* a *S. Gallinarium*. Vakcinace je povinná pouze v chovech nosnic, a to pouze proti

S. Enteritidis. U ostatních druhů a kategorií je vakcinace dobrovolná. Přesto se z důvodu snížení počtu pozitivních chovů doporučuje provádět vakcinaci i u ostatních druhů a kategorií drůbeže. Vakcinace se musí provádět povolenou vakcínou (tabulka 1) a v případě vyšetřování trusu je nutné tuto informaci uvést v žádance.

Monitoring

V rámci monitoringu se podle druhu, kategorie a počtu zvířat odebírají úřední vzorky, nebo si vzorky může odebírat sám proškolený chovatel, proškolená osoba pověřená chovatelem, nebo veterinární lékař.

Mezi odebírané vzorky patří kadávery, vzorky trusu, stěry z krabic nebo stěry z prostředí získané pomocí stíracích manžet.

Odebrané vzorky musí být chráněny před slunečním svitem a musí být uskladněny v chladu (při přepravě nesmí teplota přesáhnout 25 °C).

Odebrané vzorky jsou následně odeslány na vyšetření do laboratoří Státních veterinárních ústavů, které jsou pod kontrolou národní referenční laboratoře. Odebrané vzorky musí být vyšetřeny do 48 od jejich doručení do laboratoře, nejpozději však 96 hodin od jejich odběru. Vyšetření vzorků se provádí dle normy ČSN EN ISO 6579-1:2017 Mikrobiologie potravního řetězce – Horizontální metoda průkazu.

Pozitivní nález

V případě pozitivního nálezu *Salmonella Enteritidis* nebo *Salmonella Typhimurium* (jiné kmeny *Salmonella Enteritidis* a *Salmonella Typhimurium*, než které byly očkovány), nebo pozitivního nálezu antimikrobiálních látek (nemusí být prokázána přítomnost salmonel), je hejno vyhodnoceno jako pozitivní. Pro potvrzení pozitivního nálezu se musí ještě provést konfirmační vyšetření a do vyloučení kontaminace, nebo v případě potvrzení kontaminace salmonelami se musí provádět veškerá opatření k ochraně zdraví lidí. Vejce z takovéhoto chovu jsou označeny za vejce třídy B a mohou být použity k lidské spotřebě pouze po ošetření, které zaručí jejich zdravotní nezávadnost. U drůbeže chované na maso, se tato informace uvede při jejich vyskladnění na jatka do systému „Informace o potravinovém řetězci“ a maso se následně zpracovává tak, aby nedošlo k infekci lidí, nebo kontaminaci potravinového řetězce.

Jelikož zdrojem Salmonel pro drůbež mohou být také krmiva, tak na podnět Státní veterinární správy může být ve výrobnách krmiva odebrán vzorek na vyloučení nebo potvrzení tohoto zdroje kontaminace.

Po ukončení zástavu se musí provést důkladná mechanická očista, dezinfekce dezinsekce a deratizace (včetně dekontaminace trusu a podestýlky), která zaručí likvidaci přeživších salmonel. Před naskladněním nového hejna je nutné stěrovou metodou provést

kontrolu účinnosti dezinfekce. Teprve po negativním vyšetření na přítomnost salmonel může být naskladněno nové hejno.

Preventivní opatření

V rámci preventivních opatření má každý chovatel povinnost vytvořit a dodržovat sanitační řád. Tento sanitační řád musí obsahovat:

- Způsob ochrany před vnesením salmonel lidmi (dezinfekce vozidel na vjezdech, dezinfekce obuvi, používání ochranných prostředků), pomocí používání dezinfekčních rohoží včetně výměny dezinfekčních roztoků a střídání dezinfekčních přípravků
- Způsoby ochrany před vnesením salmonel zvířaty (údržba zeleně, zabránění výskytu hlodavců, hmyzu a volně žijících ptáků)
- Způsob nakládání s podestýlkou, ochrany zdrojů krmiva a likvidace uhynulých ptáků včetně případného čištění a dezinfekce míst, kde se krmivo nebo kadávery skladují
- Způsob provádění dezinsekce a deratizace včetně umístění jedových staniček, frekvence jejich kontroly a stanovení účinnosti deratizace
- Způsoby provádění mechanické očisty a dezinfekce hal po vyskladnění hejna
- Způsob údržby ventilačního systému
- V chovech produkujících konzumní vejce způsob nakládání s konzumními vejci v případě pozitivního nálezu na *Salmonella Enteritidis* nebo *Salmonella Typhimurium* (www.svscr.cz)

Organizace pro bezpečnost potravin a veřejného zdraví v rámci preventivních opatření před zavlečením salmonel doporučuje nákup drůbeže a vajec z chovů salmonel prostých, dodržování turnusového systému včetně důkladné dezinfekce, dezinsekce a deratizace. V případě pozitivního nálezu salmonel je potřeba zjistit zdroj a po utracení zvířat nebo ukončení turnusu zabránit opětovné kontaminaci. Mezi nejčastější zdroje salmonel označila krmivo, vodu, člověka a kontaminované pomůcky. V rámci ochrany chovu je také vhodné vakcinovat zvířata schválenými vakcínami. (www.cfsph.iastate.edu)

VLIV NÁRODNÍCH PROGRAMŮ TLUMENÍ SALMONEL V ČESKÉ REPUBLICE NA ZDRAVÍ DRŮBEŽE

Z výsledku monitoringu zoonóz prováděného Státní veterinární správou v chovech drůbeže vyplívá, že za období 2014 – 2020 došlo ke snížení počtu pozitivních hejn na salmonelu z 13,43 % na 5,8 % (graf 2). Toto snížení má pozitivní vliv nejen na snížení rizika nakažení salmonelózou, ale také na zlepšení pohody a welfare drůbeže chované v České republice.

Z výsledků monitoringu je zřejmé, že prováděním opatření v rámci Národního programu tlumení salmonel v České republice, jako jsou monitoring, vakcinace a ochrana před zavlečením původců salmonel, dochází k postupnému ozdravování chovů drůbeže v České republice. Toto snížení počtu pozitivních chovů má i pozitivní vliv na snížení množství používání antibiotik ať už v rámci léčby drůbeže, tak lidí v případě nakažení salmonelami. Vzhledem k narůstajícímu počtu rezistentních kmenů a snahou o snížení používání antibiotik u zvířat dochází v chovech drůbeže k naplnění těchto cílů. (www.svscr.cz)

ZÁVĚR

Chov drůbeže je významné odvětví jak z hlediska zemědělství, tak z hlediska potravinářství. Potraviny získávané z drůbeže (vejce, maso) mají své nezastupitelné místo ve výživě člověka. Pro zajištění maximální produkce zdravotně nezávadných potravin je ale nutné, aby byla zvířata zdravá a chována v co nejlepších podmínkách. Mezi jednu z možností, jak zlepšit kvalitu drůbežích produktů a zvýšit pohodu, zdraví a welfare drůbeže je snížit výskyt salmonel v chovech drůbeže. Z tohoto důvodu probíhá v České republice Národní program na tlumení výskytu salmonel v chovech kura domácího (*Gallus gallus*), nosnic produkujících konzumní vejce kura domácího (*Gallus gallus*), chovech kuřat chovaných na maso a ve výkrmových a chovných chovech krůt. Tento program je zaměřen na vyhledávání pozitivních chovů (monitoring) a provádění preventivních opatření bránících kontaminaci zdravých chovů. V rámci tohoto programu je v chovech drůbeže prováděn monitoring, vakcinace a důkladná dezinfekce, dezinsekce a deratizace prostor, kde je drůbež chována.

LITERATURA

1. BENEŠ, J. (2009) *Infekční lékařství*. Praha: Galén.
2. HORÁČEK, J. (2000). *Základy lékařské mikrobiologie*. Praha: Karolinum
3. CHLEBICZ, A., ŚLIŻEWSKA, K. (2018). Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis as Zoonotic Foodborne Diseases: A Review. International Journal of Environmental Research and Public Health, 15(5), 863.
4. JULÁK, J.(2006) *Úvod do lékařské bakteriologie*. Praha: Karolinum.
5. LAMAS, A., MIRANDA, J. M., REGAL, P., VÁZQUEZ, B., FRANCO, C. M., CEPEDA, A. (2018). A comprehensive review of non-enterica subspecies of Salmonella enterica. Microbiological Research, 206, 60–73.
6. Metodika kontroly zdraví zvířat a nařízené vakcinace na rok 2022. (2022) www.svscr.cz

7. Seznam všech registrovaných vakcín proti salmonelóze drůbeže 2021. (2022). www.svscr.cz
8. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. (2017). EFSA Journal, 15(12).
9. www.cfsph.iastate.edu
10. www.sva.se
11. www.svscr.cz
12. www.szu.cz

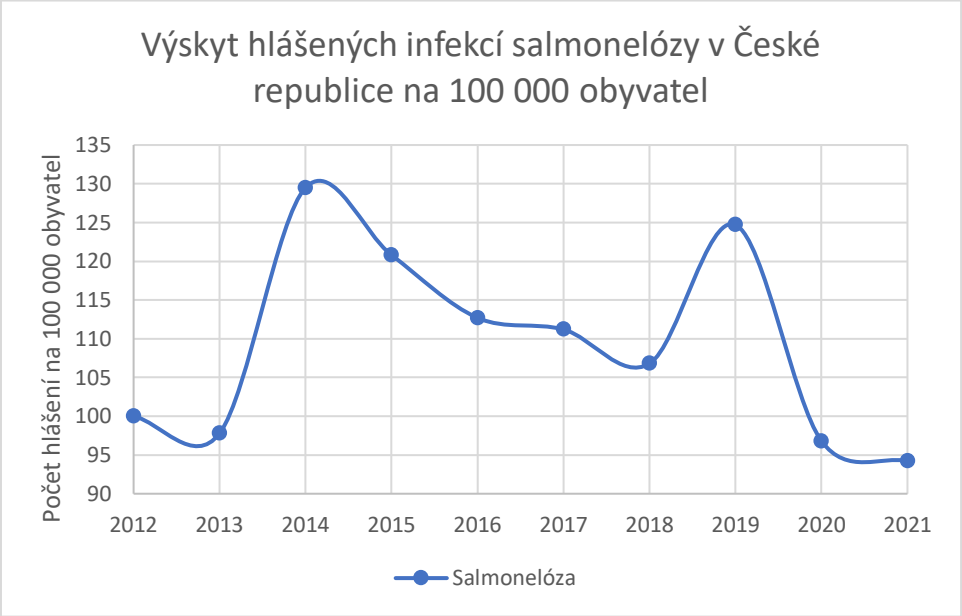
TABULKY

Tab. 1. Schválené vakcín pro drůbež na rok 2022 v České republice v rámci národního programu tlumení salmonel (www.svscr.cz)

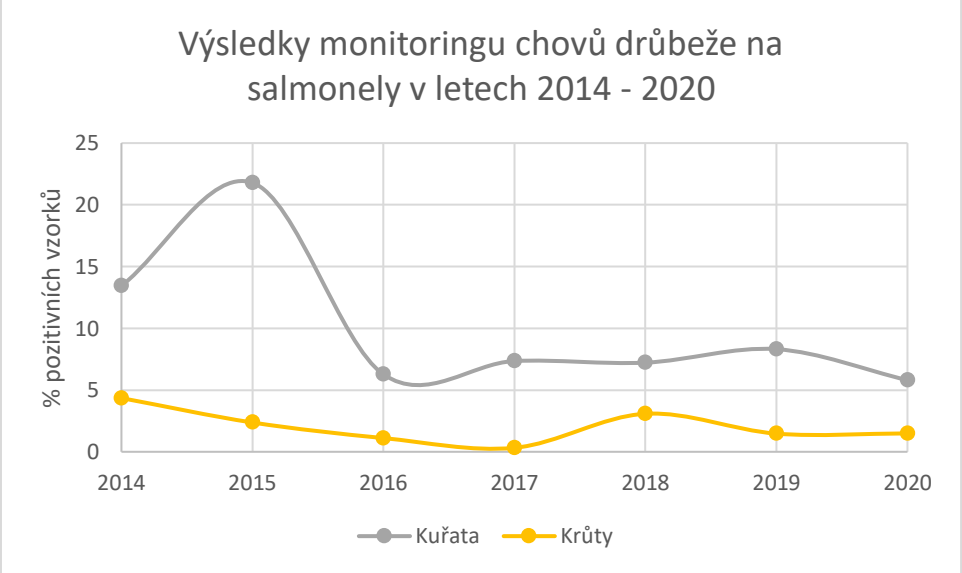
Schválené vakcín pro drůbež na rok 2022 v České republice v rámci národního programu tlumení salmonel					
Typ vakcíny	Sérotypy	Druh drůbeže			
		Kur domácí	Krůty	Kachny	Bažanti, holuby, husy
Živá	*S. Enteritidis*	X	X	X	
	S. Typhimurium	X	X	X	X
	S. Gallinarium	X			
Inaktivovaná	*S. Enteritidis*	X			
	S. Typhimurium	X			
	S. Infantis	X			

GRAFY

Graf. 1 Výskyt hlášených infekcí salmonelózy v České republice na 100 000 obyvatel v letech 2012 - 2021. (www.szu.cz)



Graf. 2 Výsledky monitoringu chovů drůbeže na salmonely v letech 2014 - 2020. (www.svscr.cz)



Kontaktní adresa: Macháček Miroslav Veterinární univerzita Brno, Ústav ochrany a welfare zvířat a veřejného veterinárního lékařství Palackého třída 1, 612 42 Brno, Česká republika; E-mail: machacekm@vfu.cz

KVALITA STEHENNEJ SVALOVINY BROJLEROVÝCH KURčIAT PO SKRMOVANÍ FERMENTOVANÉHO PRODUKTU OBOHATENÉHO O VÝZNAMNÉ MASTNÉ KYSELINY

QUALITY OF THIGH MEAT IN BROILERS AFTER FEEDING A FERMENTED PRODUCT ENRICHED WITH IMPORTANT FATTY ACID

Makiš Andrej[1], Semjon Boris[1], Marcinčáková Dana[1], Bartkovský Martin[1], Mesarčová Lýdia[1], Reitznerová Anna[1], Klempová Tatiana[2], Marcinčák Slavomír[1]

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

[2]Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenska republika

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effect of fermentation product (10%) and humic substances (HS, 0.7%) in chicken nutrition and its impact on produced chicken meat. Fermented product (FF) was prepared by solid-state fermentation from wheat bran and cornmeal using microscopic fibrous fungi, which are suitable for polyunsaturated fatty acids (PUFA) production. A 120 one-day-old COBB 500 chickens were used in this study, which were randomly divided into 3 equal groups, K (control group), FP (experimental group enriched with 10% FF) and FH (experimental group enriched with 10% FF and 0.7% of HS). The results confirmed that addition of FF and HS into diet has positively improved n-6/n-3 PUFA ratio in chicken meat ($p < 0.05$). We observed statistically significant decrease in malondialdehyde content values by analysis between fresh and stored meat in each experimental groups ($p < 0.05$).

Key words: fatty acids, fermented product, chicken meat

ÚVOD

Fermentácia je jedna z najstarších techník konzervácie potravín. Je to dynamický proces zahŕňajúci mikroorganizmy, substráty a podmienky prostredia, tieto tri zložky sú veľmi dôležité na premenu zložitých substrátov na jednoduchšie (Niba a kol.2009). Na fermentáciu je možné použiť viacero druhov mikroorganizmov, napríklad baktérie, kvasinky a mikroskopické vláknité huby, ktorých pôsobením prebieha v danom substráte premena uhľohydrátov na konečné produkty, ako sú kyseliny, alkoholy a oxid uhličitý (Bamforth and Cook 2019).

Fermentované krmivá sú krmivá, ktoré boli vystavené pôsobeniu mikroorganizmov v kontrolovanom prostredí. Tieto fermentačné procesy spôsobujú, že daná potravina je môže byť vo výsledku výživnejšia, stráviteľnejšia a chutnejšia.

Fermentované krmivá (FF), ktoré sme používali ako doplnok komerčne vyrábaného krmiva, boli pripravené pomocou technológie fermentácie na tuhom substráte (SSF). Pri výrobe FF touto technológiou sú využívané mikroorganizmy, ktoré dokážu rásť na tuhom substráte bez prítomnosti voľne viazanej vody a v kontrolovaných podmienkach. Hlavnou výhodou SSF je produkcia organických kyselín, enzýmov a iných metabolitov mikroorganizmov, ktoré sa tvoria počas ich rastu (Semjon a kol. 2020). Medzi ďalšie výhody SSF patrí znižovanie antinutričných faktorov čo v konečnom dôsledku zvyšuje stráviteľnosť živín a umožňuje zaradenie druhotných potravinárskych produktov medzi plnohodnotné krmivá (Olukomaiya 2019).

Niektoré druhy mikroskopických vláknitých húb z čeľadí *Mucoraceae, Mortierellaceae, Umbelopsidaceae, Cunninghamellaceae* dokážu nakumulovať veľké množstvo triacylglycerolov s vysokým obsahom polynenasýtených mastných kyselín (PUFA). Biomasa produkovaná týmito mikroskopickými vláknitými hubami obsahuje oleje s vysokým podielom esenciálnych n-3 a n-6 PUFA a je považovaná za hodnotný fermentovaný produkt s aplikáciou v potravinárskom a krmovinárskom priemysle (Slaný a kol. 2020).

Mastné kyseliny (MK), ktoré hydina príjme ako zložku krmiva, sú priamo vstrebávané z gastro-intestinálneho traktu do krvi a prenášané do tukových tkanív. Koncentrácia a zloženie MK v krmive priamo ovplyvňuje zloženie tukov v mäse (Koniecka a kol. 2017). Takýmto nepriamym spôsobom je možné modifikovať zloženie tukov, ktoré sa nachádzajú v mäse zvierat v prospech zvýšeného obsahu PUFA. Prostredníctvom tejto modifikácie sa PUFA stávajú dostupnejšie aj vo výžive ľudí. Technika SSF predstavuje možnosť obohatenia výživy bez akéhokoľvek zásahu do genómu rastlín alebo živočíchov (Marcinčák a kol. 2018).

Cieľom tejto štúdie bolo zistiť vplyv 10 % prídavku fermentovaného produktu obohateného o významné MK do komerčných kŕmnych zmesí na profil mastných kyselín, oxidačnú stabilitu tukov a kvalitu stehennej svaloviny brojlerových kurčiat.

MATERIÁL A METODIKA

Pokus bol realizovaný v priestoroch experimentálneho zverinca UVLF KE. 120 kusov 1-dňových kurčiat plemena COBB 500 bolo privezených od dodávateľa (Hydina Slovensko s.r.o.). Následne boli náhodne rozdelené do troch rovnomerných skupín po 40 zvierat (1 kontrolná K a 2 experimentálne FP a FH). Zvieratá boli kŕmené základnými kŕmnymi zmesami BR1 (1. – 10 deň), BR2 (11. – 30. deň) a BR3 (31. – 37. deň) (De Heuss.r.o., Česká republika).

Prístup k vode mali zvieratá zabezpečený *ad libitum*. Kontrolnej skupine (K) boli počas celej doby výkrmu podávané len základné kŕmne zmesi. Prvá experimentálna skupina (FP) dostavala od 11. dňa kŕmenia do základných KZ BR2 a BR3 prídavok fermentovaných krmív (FF) v množstve 10 % (50 % pšeničné otruby fermentované s prostredníctvom kmeňa *Cunninghamella elegans* CCF 2591 – zdroj kys. γ – linolénovej a 50 % kukuričný šrot fermentovaný s použitím kmeňu *Mortierella alpina* CCF 2861– zdroj kys. α – linolénovej a eikozapentaénovej). FP skupina mala takto suplementované krmivo až do konca výkrmu. Druhej experimentálnej skupine (FH) boli do základných kŕmnych zmesí od 2. dňa pridávané humínové látky (HL; Humac®Natur AFM Mycotoxisorb, Humac s.r.o. Košice) a od 11. dňa výkrmu aj 10 % FF. Vo všetkých experimentálnych skupinách bol objem základných kŕmnych zmesi znížený, o objem pridaných zložiek (FF a HL). Po ukončení výkrmu, na 38. deň, boli zvieratá omráčené, usmrtené a stehenná svalovina bola skladovaná v chladničke po dobu 7 dní pri teplote 4 °C a následne analyzovaná.

Chemické stanovenie prsnej svaloviny bolo vykonané podľa metód AOAC (1990). Obsah vody bol stanovený rozdielom hmotnosti, medzi surovou vzorkou a vzorkou po vysušení pri 105 °C. Obsah bielkovín sme stanovovali pomocou Kjeldahlovej metódy pomocou automatického analyzátora VELP UDK 159 (VELP, Taliansko) a obsah tukov bol analyzovaný prostredníctvom Soxhletovej metódy v extraktore (DetGras J.P. Selecta S.A., Barcelona, Španielsko) s použitím petroléteru. Rozkladné zmeny tukov boli stanovované podľa metódy Reitznerová a kol. (2017). Oxidácia lipidov bola hodnotená, ako látky reagujúce s kyselinou tiobarbiturovou (TBA). Hodnoty TBA boli merané spektrofotometricky pri vlnovej dĺžke 532 nm (Helios γ, v. 4. 6. Thermospectronic, Cambridge, UK). Hodnoty TBA sme stanovili do 24 hodín po zabití a po 7 dňoch skladovania v chladničke (4 °C). Výsledky obsahu TBA boli následné prepočítané a stanovené ako obsah malóndialdehydu (MDA) v miligramoch na kilogram vzorky. Profil mastných kyselín (MK), bol stanovený plynovou chromatografiou podľa Semjon a kol. (2020) na plynovom chromatografe GC-6890 N, (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) a vyhodnocovaná pomocou programu ChemStation software B0103 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA).

Štatistické spracovanie výsledkov bolo urobené prostredníctvom štatistického programu GraphPadPrism 9.0.0 (GraphPad Software, San Diego, California, USA).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tabuľke č.1 sú uvedené výsledky chemického zloženia stehennej svaloviny. Najvyšší obsah vody bol stanovený v kontrolnej skupine (71,89 % ± 1,69) a naopak najnižší obsah vody bol zaznamenaný v experimentálnej skupine FH (68,64 % ± 2,90). Najvyšší obsah tuku stehennej svaloviny bol stanovený v experimentálnej skupine FH (10,61 % ± 3,06). Najvyšší obsah bielkovín bol zaznamenaný v experimentálnej skupine FP (19,74 ± 0,76). Rozbor chemického zloženia mäsa nám síce poukazuje na najnižší obsah vody v experimentálnej skupine FH a najvyšší obsah bielkovín v experimentálnej skupine FP avšak medzi týmito a ostatými skupinami sme nezaznamenali štatistický významný rozdiel ($p < 0,05$).

Tabuľka č. 1, Chemické zloženie mäsa stehennej svaloviny (% priemer ± SD)

Skupina / zložka	Voda %	Tuk %	Bielkoviny
K	71,89 ± 1,69	8,53 ± 1,79	19,43 ± 0,72
FP	71,03 ± 1,77	9,06 ± 2,52	19,74 ± 0,76
FH	68,64 ± 2,90	10,61 ± 3,06	19,68 ± 0,76
***p* – hodnota**	0,1154	0,3785	0,4611

K – kontrolná skupina, FP – experimentálna skupina s prídavkom 10 % fermentovaných produktov, FH – experimentálna skupina s prídavkom 10 % fermentovaných produktov a 0,7 % humínových látok.

V tabuľke č. 2, sú uvedené výsledky stanovenia oxidácie tukov 24 hodín po usmrtení a po 7 dňoch skladovania stehennej svaloviny v chladničke pri teplote do 4 °C. Hodnoty stanovenia malondialdehydu medzi jednotlivými skupinami nie sú štatisticky významné ($p < 0,05$). Štatistická významnosť ($p < 0,05$) bola v experimentálnych skupinách zaznamenaná medzi jednotlivými dňami. Na 7. deň hodnoty MDA poklesli. V štúdií Guo a kol. (2020) opisuje, že prídavok 7,5 % fermentovaného krmiva mal pozitívny účinok na zníženie MDA v mäse brojlerových kurčiat, oproti naším výsledkom, kde sme pridávali 10 % fermentovaných krmív a obsah MDA stanovovaný do 24 hodín od usmrtenia bol najnižší v kontrolnej skupine s obsah MDA stanovovaný po 7 dňoch bol takmer rovnaký vo všetkých skupinách. Z tohto pohľadu môžeme konštatovať, že prídavok fermentovaných krmív má iba minimálny vplyv na obsah MDA, ale ďalším skúmaním treba nájsť správne množstvo a druh fermentovaného krmiva.

Tabuľka č. 2, Stanovenie oxidácie tukov, vyjadrených ako množstvo malóndialdehydu, počas skladovania vzoriek mäsa kuracích stehien v chladničke pri teplote 4 °C (mg/kg priemer ± SD)

deň / skupina	K	FP	FH	*p* – hodnota
1. deň	0,169 ± 0,048	0,220 ± 0,053^{b}	0,248 ± 0,022^{b}	0,8287
7. deň	0,118 ± 0,028	0,115 ± 0,034^{a}	0,124 ± 0,021^{a}	0,1203
***p* - hodnota**	0,1219	0,0031	0,0001	

Hodnoty zahŕňajúce rovnaký horný index (a, b, c) nie sú štatisticky významné (*Tukeyho test, p < 0,05*).

Výsledky stanovenia profilu vybraných MK v surovej stehennej svalovine sú uvedené v tabuľke č. 3. Môžeme konštatovať že suplementácia krmiva, či už FF, alebo FF s humínovými látkami, má vplyv na profil PUFA obsiahnutých v tuku stehennej svaloviny brojlerových kurčiat. V oboch pokusných skupinách došlo k poklesu obsahu niektorých nasýtených mastných kyselín. Za významné považujeme nárast dôležitých PUFA (GLA, ALA, ARA a EPA) vo vzorkách FP, aj FH experimentálnej skupiny. Marcinčák a kol. (2018), vo svojej štúdii tiež pozoruje zníženie obsahu stredne dlhých nasýtených mastných kyselín C14; C16 a celkových SFA, ktoré majú negatívny vplyv na metabolizmus brojlerov. Taktiež v našej aj jeho štúdii bolo v experimentálnych skupinách zaznamenané významné zvýšenie obsahu GLA a ALA. U obidvoch pokusných skupín došlo tiež k zlepšeniu pomeru n-6/n-3 PUFA v tuku stehennej svaloviny. Tento pozitívny vplyv fermentovaných produktov na zlepšenie pomeru n-6/n-3 PUFA potvrdzujú aj štúdie Marcinčák a kol. (2018) a Gao a kol. (2020).

Tabuľka č.3, Percentuálny obsah a zastúpenie vybraných mastných kyselín (MK) v surovej stehennej svalovine brojlerových kurčiat

MK / skupina	K	FP	FH	*p* - hodnota
C14:0	0,605 ± 0,010^{a}	0,550 ± 0,008^{b}	0,594 ± 0,010^{a}	<0,0001
C16:0	23,581 ± 0,125^{b}	23,690 ± 0,181^{b}	24,367 ± 0,228^{a}	<0,0001
C16:1 – 9c	6,631 ± 0,103^{a}	6,432 ± 0,093^{b}	6,549 ± 0,52^{a}	0,003
C18:0	5,532 ± 0,175	5,619± 0,113	5,480 ± 0,469	0,5124
C18:1 – 9c	39,333 ± 0,362^{b}	39,884 ± 0,184^{a}	39,355 ± 0,320^{b}	0,0007
C18:1 – 11c	2,447 ± 0,164^{a}	2,407 ± 0,75^{a}	1,843 ± 0,303^{b}	<0,0001
C18:2 – 9c, 12 LA	17,417 ± 0,132^{a}	16,245 ± 0,117^{b}	16,817 ± 0,92^{c}	<0,0001
C18:3 – 6c, 9c, 12c GLA	0,124 ± 0,003^{b}	0,164 ± 0,003^{c}	0,171 ± 0,003^{a}	<0,0001
C18:3 – 9c, 12c, 15c ALA	1,191 ± 0,009^{c}	1,625 ± 0,021^{b}	1,694 ± 0,012^{a}	<0,0001
C20:4 – 5c, 8c, 11c, 14c ARA	0,855 ± 0,093^{b}	1,036 ± 0,106^{a}	0,905 ± 0,045^{b}	0,0007

C20:5 – 5c, 8c, 11c, 14c, 17c EPA	0,052 ± 0,005^{c}	0,101 ± 0,008^{a}	0,088 ± 0,004^{b}	<0,0001
C22:6 – 4c, 7c, 10c, 13c, 16c, 19c DHA	0,092 ± 0,011	0,105 ± 0,052	0,079 ± 0,006	0,2254
ΣSFA	30,118 ± 0,172^{b}	30,271 ± 0,215^{b}	30,857 ± 0,312^{a}	<0,0001
ΣMUFA	49,472 ± 0,313^{c}	49,763 ± 0,255^{a}	48,753 ± 0,247^{b}	<0,0001
ΣPUFA	20,410 ± 0,285^{a}	19,966 ± 0,291^{a}	20,390 ± 0,147^{b}	0,0009
Σn – 6	18,846 ± 0,247^{a}	17,897 ± 0,219^{b}	18,305 ± 0,128^{c}	<0,0001
Σn – 3	1,564 ± 0,039^{b}	2,069 ± 0,077^{a}	2,085 ± 0,021^{a}	<0,0001
Σn – 6 / Σn – 3	12,053 ± 0,161^{a}	8,657 ± 0,209^{b}	8,780 ± 0,045^{b}	<010001

LA – kys. linolová, GLA – kys. gamma-linolénová, ALA – kys. alfa-linolénová, ARA – kys. arachidónová, EPA – kys. eikosapentaénová DHA – kys. dokosahexaenová

Hodnoty zahŕňajúce rovnaký horný index (a, b, c) nie sú štatisticky významné (*ANOVA, $p < 0,05$*).

ZÁVER

Výsledky tieto štúdie poukazujú na pozitívny vplyv fermentovaných krmív samostatne, ako aj v kombinácii s humínovými látkami, pridanými do základných krmív brojlerov. Prostredníctvom prídavku fermentovaných krmív dokážeme zastabilizovať oxidačné zmeny tukov pri skladovaní, ale aj pozitívne ovplyvniť zloženie MK v stehennej svalovine brojlerových kurčiat. Dosiahnuté výsledky nám poukázali na význam výskumu fermentovaných krmív, avšak výskum v tejto oblasti je potrebné rozvíjať.

POĎAKOVANIE

Štúdia vznikla vďaka podpore Agentúry na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-18-0039

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AOAC, M. Association of official analytical chemists. Official methods of analysis. 1990.
2. Bamforth, W.CH., Cook, J.D. *Food, Fermentation and Micro-organisms*. New York : John Wiley & Sons, Inc., 2019. s. 5 – 6. ISBN 9781119557432.
3. Gao, M. a kol. 2020. Effects of Raw and Fermented Rapeseed Cake on Growth Performance, Methane Production, and Breast Meat Fatty Acid Composition in Broiler Chickens. In *Animals*, ISSN 2076-2615, 2020, vol. 10, no. 12.
4. Guo, S. a kol. Partial substitution of fermented soybean meal for soybean meal influences the carcass traits and meat quality of broiler chickens. In *Animals*. ISSN 2076-2615, 2020 vol. 10, no. 2.

5. Ibrahim, D. a kol. 2020. Impact of feeding anaerobically fermented feed supplemented with acidifiers on its quality and growth performance, intestinal villi and enteric pathogens of mulard ducks. In *Livestock Science* [online]. 2020, vol. 242, no. 104299. [cit. 2022-02-04]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104299>. ISSN 1871 – 1413.
6. Konieczka, P. a kol. 2017. Interactive effects of dietary lipids and vitamin E level on performance, blood eincosanoids, and response to mitogen simulation in broiler chickens of different ages. In *Poultry Science* [online]. 2017 vol. 96, no. 2 [cit. 2022-10-04]. Dostupné na: <https://doi.org/10.3382/ps/pew219>. ISSN 0032-5791.
7. Marcinčák, S. a kol. 2018. Effect of fungal solid-state fermented product in broiler chicken nutrition on quality and safety of produced breast meat. In *BioMed Research International*. [online]. 2018, Art. ID 2609548. [cit. 2022-10-04]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1155/2018/2609548>. ISSN 2578-8892.
8. Niba, A.T. a kol. 2009. Potential of bacterial fermentation as a biosafe method of improving feeds for pigs and poultry. In *African Journal of Biotechnology*. ISSN 1684-5315, 2009, vol. 8, no. 9, p1758 – 1767.
9. Olukomaiya, O. a kol. Solid-state fermented plant protein sources in the diets of broiler chickens: A review. In *Animal Nutrition*. [online]. 2019, vol. 5, no. 4, p. 319-330. [cit. 2022-10-04]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2019.05.005>. ISSN 2405-6545.
10. Reitznerová, A. a kol. 2017. Lipid Peroxidation Process in Meat and Meat Products: A Comparison Study of Malondialdehyde Determination between Modified 2-Thiobarbituric Acid Spectrophotometric Method and Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography. In *Molecules* [online]. 2017, vol. *22*, no. 11. [cit. 2022-11-04]. Dostupné na <https://doi.org/10.3390/molecules22111988>. ISSN 1420-3049.
11. Slaný, O. a kol. Biotransformation of Animal Fat-By Products into ARA-Enriched Fermented Bioproducts by Solid-State Fermentation of Mortierella alpina. In *Journal of Fungy*. [online]. 2020, vol. 6, no. 4. [cit. 2022-11-04]. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/jof6040236>. ISSN 2309-608X.
12. Semjon, B. a kol. 2020. Effect of Solid-State Fermented Wheat Barn Supplemented with Agrimony Extract on Growth Performance, Fatty Acid Profile, and Meat Quality of Broiler Chickens, In *Animals*. [online]. 2020 vol. 10, no. 6 [cit. 2022-11-04]. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/ani10060942>. ISSN 2076-2615.

13. Zhu. F. a kol. Effects of fermented feed on growth performance immune response, and antioxidant capacity in laying hen chicks and the underlying molecular mechanism involving nuclear factor-κB. In *Poultry Science.* [online]. 2020 vol. 99, no. 5, p. 2573 – 2580 [cit. 2022-11-04]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.044>. ISSN 0032-5791.

Kontaktná adresa: Makiš Andrej, Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; E-mail: andrej.makis@student.uvlf.sk

PROBIOTICKÝ PRÍPRAVOK PRE LOSOSOVITÉ RYBY – JEHO VÝVOJ A VPLYV NA ZDRAVIE RÝB

PROBIOTIC PREPARATION FOR SALMONIDS – ITS DEVELOPMENT AND IMPACT ON FISH HEALTH

Mudroňová Dagmar[1], Popelka Peter[1], Koščová Jana[1], Fečkaninová Adriána[1], Cingeľová Maruščáková Ivana[1], Ratvaj Marek[1], Chomová Natália[1], Viswanath Kiron[2], Sørensen Mette[2]

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

[2]Faculty of Biosciences and Aquaculture, Nord University, Universitetsalléen 11, 8026 Bodø, Norway

ABSTRACT

Salmonids represent a very healthy food, but when kept in aquaculture, infectious diseases, which spread easily with high fish concentrations, as well as the medicines used to treat or prevent them have a negative effect on meat quality. The aim of our research was therefore to develop a product based on autochthonous probiotic bacteria, which would increase the fish's immunity against infections and stress factors. Lactic acid bacteria were isolated from the digestive tract of healthy rainbow trout, and were tested for their inhibitory activity against serious salmonid bacterial pathogens, for their ability to survive in the digestive tract conditions of fish and in the aquatic environment, and for susceptibility to ATB. *Lactobacillus plantarum* R2 Biocenol™ and *Lactobacillus fermentum* R3 Biocenol™, which showed the best properties, were tested on cell cultures and then on trout and salmon. They have been found to be able to modulate both the immune response of fish and the intestinal microbiota. Their testing continues under real farm conditions.

Key words: salmonids, immunity, microbiota, probiotics

ÚVOD

Lososovité ryby predstavujú veľmi zdravú potravinu, či už sa jedná o tučnejšie mäso z lososov atlantických alebo o chudšie mäso zo pstruhov či gorbuší. V posledných rokoch narastá spotreba rybacieho mäsa, s čím súvisí aj rozvoj farmových chovov rýb (Van Doan et al,

2020). Chov rýb v akvakultúre však môže mať negatívny vplyv na kvalitu mäsa, k čomu prispievajú na jednej strane infekčné ochorenia, ktoré sa ľahko šíria pri vysokej koncentrácii rýb, na druhej strane liečivá, ktoré sa používajú na ich terapiu či prevenciu. Okrem toho opakovaná manipulácia, zmeny teploty, zlá kvalita vodného prostredia a zlá výživa prispievajú k vytváraniu stresu, ktorý spôsobuje imunosupresiu a tým znižuje odolnosť rýb voči chorobám (Awad a Awaad, 2017). Hlavnými rizikami sú vírusové a bakteriálne ochorenia, ktoré sú zodpovedné za vážne straty v akvakultúre (Mardones a kol., 2011). Proti niektorým z chorôb boli vyvinuté opatrenia na prevenciu, napríklad vakcinácia, ale antibiotická medikácia zostáva najbežnejším spôsobom boja proti akútnym bakteriálnym infekciám. Za najvýznamnejšie bakteriálne patogény spôsobujúce značné ekonomické straty v rybnom hospodárstve lososovitých rýb na celom svete sú považované gramnegatívne enterobaktérie *Yersinia ruckeri,* ktoré spôsobujú yersiniózu (enteric redmouth disease) a baktérie rodu *Aeromonas* sp., pričom najvyššie úmrtnosti sa vyskytujú počas inkubácie vajíčok a v období odchovu plôdika (Kumar a kol., 2015; Munro a Midtlyng, 2011). Masívne používanie antimikrobiálnych látok pri liečbe a prevencii chorôb zvyšuje selektívny tlak na mikroorganizmy a povzbudzuje vznik bakteriálnej rezistencie. Rezistentné patogénne baktérie rýb predstavujú problém tak v sektore akvakultúry, ako aj v prípade transferu génov rezistencie na baktérie patogénne pre ľudí. Keďže v súčasnosti sa kladie čoraz väčší dôraz na produkciu zdravých a bezpečných potravín, bez reziduí antimikrobiálnych látok a taktiež na minimalizáciu negatívnych vplyvov na životné prostredie pri produkcii potravín, bolo navrhnutých niekoľko alternatívnych stratégií pre použitie antibiotík, pričom medzi nové bezpečné riešenia zaraďujeme aj využitie probiotických mikroorganizmov, ktorých perspektíva v akvakultúre je sľubná. Probiotiká pre vodné živočíchy sú definované ako živé mikrobiálne suplementy, ktoré pozitívne ovplyvňujú mikrobióm hostiteľa alebo jeho prostredia, zvýšením odolnosti hostiteľa voči chorobám, zvýšením využiteľnosti krmiva alebo jeho nutričnej hodnoty, alebo zlepšením kvality okolitého vodného prostredia (Panigrahia et al., 2004). Vo všeobecnosti, najčastejšie používanými a skúmanými sú baktérie produkujúce kyselinu mliečnu (LAB) (Hagi a kol., 2004). Záujem o LAB vychádza zo skutočnosti, že tieto baktérié sú súčasťou prirodzenej mikrobioty gastrointestinálneho traktu (GIT) rýb, ktorej zloženie dokážu optimalizovať. Takisto bol potvrdený ich imunomodulačný účinok, pričom bolo zaznamenané zvýšenie fagocytárnej aktivity, metabolickej aktivity fagocytov, aktivity komplementu, hladiny lyzozýmu, počtov Ig+ buniek v čreve, či expresie génov pre imunologicky významné molekuly (napr. cytokíny), čoho výsledkom bolo nielen zlepšenie funkcie tráviaceho traktu rýb, ale aj odolnosti rýb voči infekciám (Nayak, 2010).

Cieľom nášho výskumu preto bolo vyvinúť prípravok na báze autochtónnych probiotických baktérií, ktorý by zvyšoval obranyschopnosť rýb voči infekciám aj voči stresovým faktorom.

MATERIÁL A METODIKA

Z tráviaceho traktu zdravých pstruhov dúhových boli izolované baktérie mliečneho kvasenia, ktoré boli následne testované na ich inhibičnú aktivitu voči významným bakteriálnym patogénom lososovitých rýb – *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* CCM 1307 a *Yersinia rückeri* CCM 6093. U izolátov, ktoré vykazovali antagonistickú aktivitu voči testovaným patogénom rýb bola stanovená antibiotická rezistencia pomocou E-testu, pričom všetky kmene vyhoveli požiadavkám príručky Európskeho úradu pre bezpečnosť potravín (EFSA) a z pohľadu možnosti šírenia antibiotickej rezistencie (ampicilín, erytromycín, gentamicín, chloramfenikol, kanamycín, klindamycín, tetracyklín a vankomycín) sú vhodnými kandidátmi probiotík pre využitie v akvakultúre. Následne bola prežívateľnosť izolátov analyzovaná na prietokovom cytometri v podmienkach GIT pstruha v *in vitro* podmienkach žalúdočnej šťavy s rôznym pH a za prítomnosti rybej žlče a rovnako aj vo vodnom prostredí pri rôznych teplotách v sladkej aj morskej vode. Zohľadnením predchádzajúcich výsledkov boli vybrané dva kmene – *Lactobacillus plantarum* R2 Biocenol™ a *Lactobacillus fermentum* R3 Biocenol™, ktoré vykazovali najvyššiu mieru tolerancie voči rôznym hodnotám pH, pôsobeniu žlče, vody a mali aj najlepšie rastové vlastnosti pri nižšej teplote, zodpovedajúcej vodnému prostrediu rýb (12 °C) a vysokú inhibičnú aktivitu voči bakteriálnym patogénom. Tieto dva kmene sú uložené v České sbírce mikroorganismů (CCM) Masarykovy Univerzity v Brně podľa Budapeštianskej zmluvy o medzinárodnom uznaní uloženia mikroorganizmov k účelom patentového konania (Fečkaninová et al., 2019). Kmeň *L. plantarum* R2 bol otestovaný na primokultúre črevných buniek pstruhov, ktoré boli infikované patogénmi *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* CCM 1307 a *Yersinia rückeri* CCM 6093. Boli vyvinuté dve vhodné aplikačné formy pre aplikáciu do vodného prostredia. V ďalšom kroku bol *L. plantarum* R2 otestovaný na zdravých pstruhoch dúhových a *L. plantarum* R2 ako aj *L. fermentum* R3 na lososoch atlantických.

Do experimentu bolo zaradených 1000 jedincov pstruha dúhového *(Oncorhynchus mykiss)* s hmotnosťou približne 100 g, rozdelených do troch skupín. Každá skupina bola z priestorových dôvodov rozdelená do troch nádrží so samostatnou cirkuláciou a biologickou filtráciou. Ryby boli chované na Mendelovej univerzite v Brne, na Ústave zoológie, rybárstva, hydrobiológie a včelárstva. Probiotické krmivo bolo vyrobené vyššie uvedeným spôsobom, pričom bolo použité komerčné krmivo (EFICO Enviro 921BioMar, Dánsko) s priemerom

peletiek 3 mm. Prvá skupina (n=333) dostávala obohatené krmivo kontinuálne počas celej doby trvania experimentu. Druhá skupina (n=333) bola probiotikami kŕmená cyklicky; počas priebehu experimentu mala po mesiaci kŕmenia probiotickým krmivom na tri týždne len krmivo s ochranným médiom a následne opäť dostávala krmivo s probiotikami až do skončenia experimentu. Tretia skupina (n=334) bola kontrolná a bola kŕmená komerčným krmivom pripraveným rovnako ako probiotické krmivo, avšak bez pridania probiotického kmeňa. Ryby prijímali probiotické krmivo ochotne. Odber vzoriek sa uskutočnil po 4,7, 9 a 11 týždňoch od začiatku experimentu. Pre odbery bolo vybratých vždy 15 jedincov z každej z troch nádrží, v ktorej boli jednotlivé skupiny chované (n=45/skupinu). Pre imunologické analýzy boli pri pitve odoberané vzorky kože, žiaber, sleziny, hlavy obličky a čreva. V týchto tkanivách je sledovaná úroveň relatívnej génovej expresie (ΔΔct) molekúl typických pre lymfocyty (CD4,CD8, IgM), cytokínov (TGF-β, TNF-α, IL-1), chemokínu IL-8 a vzory rozpoznávajúceho receptoru TLR-9. Ďalej boli sledované produkčné parametre, hematologický a biochemický profil, mikrobiológia a morfológia čreva.

Štatistické analýzy boli urobené v programe GraphPad Prism verzia 9 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

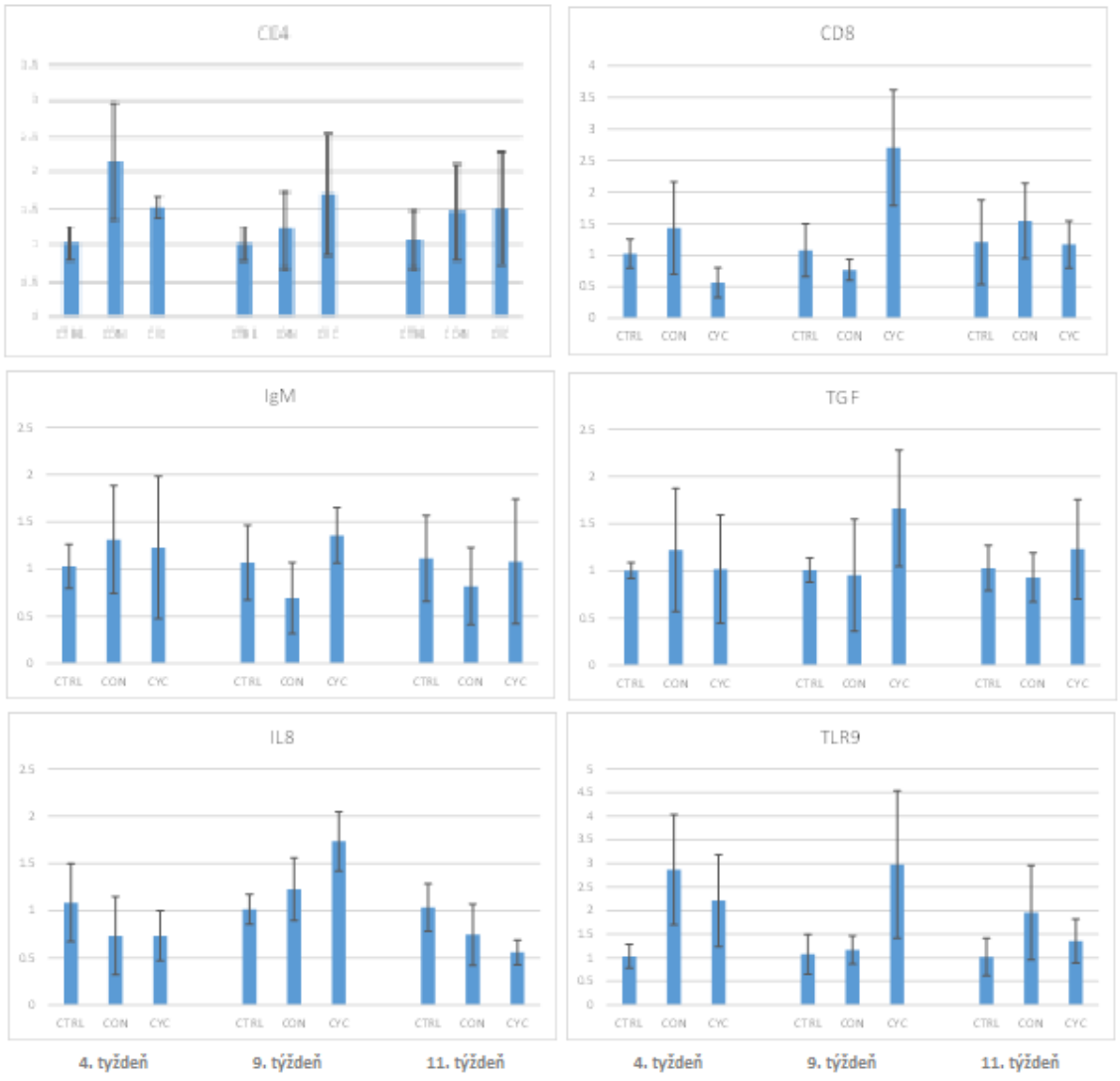
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Priebeh patogenézy pri infekciách patogénmi *Y. ruckeri* a *A. salmonicida* sa líši. Infekcie vysoko patogénnymi kmeňmi *Y. ruckeri* majú na organizmus imunosupresívny účinok, čím sa zvyšuje miera prežívania patogénov a mortalita rýb (Liu et al., 2019). Rovnako v našom experimente, črevné bunky z primokultúry po infekcii *Y. ruckeri* vykazovali odlišnú úroveň expresie niektorých génov kódujúcich imunologicky významné molekuly v porovnaní s bunkami infikovanými *A. salmonicida*. Génová expresia IL-1β, TNF-α a IL-8 bola znížená a expresia IL-10 signifikantne zvýšená po infekcii *Y. ruckeri*, čo potvrdzuje imunosupresívny účinok kmeňa. Ak boli bunky primokultúry ošetrené *L. plantarum* R2 a následne infikované uvedenými patogénnymi baktériami, výsledky ukázali pozitívny vplyv probiotického kmeňa, keďže došlo k zníženiu expresie prozápalových cytokínov po infekcii *A. salmonicida* a naopak k stimulácii expresie prozápalových cytokínov po imunosupresívnej liečbe *Y. ruckeri*. Toto poukazuje na imunomodulačný potenciál kmeňa, kedy pri infekcii *A. salmonicida* znižuje nežiaduci zápal v čreve a naopak stimuluje imunitnú odpoveď v čreve pri infekcii imunosupresívnym kmeňom *Y. ruckeri*.

Súčasne boli vyvinuté dve aplikačné formy vhodné pre aplikáciu do vodného prostredia. Pri jednej bolo probiotické krmivo pripravené zmiešaním komerčne vyrábaného peletovaného krmiva, určeného pre ryby chované v akvakultúre s látkou zväčšujúcou povrch a adhezivitu

povrchu granúl a s ochranným médiom, v ktorom bol resuspendovaný autochtónny kmeň *L. plantarum* R2. Pre druhú formu je potrebné zariadenie pre vysokotlakový nástrek na povrch peliet (Coulter), ktorým sa suspenzia probiotického kmeňa v protektívnom médiu nastrekuje na pelety. Obidve formy pri ich testovaní preukázali dostatočnú stabilitu pri 6 mesačnom skladovaní pri chladničkovej teplote, kde probiotický kmeň prežíval vo vysokých počtoch. Ďalej boli vykonané ďalšie testovania, kde bolo potvrdené, že naviazanie baktérií mliečneho kvasenia (LAB) nemalo negatívny vplyv na ani jeden parameter sledovaný v rámci liekopisných skúšok, ani na nutričné a chemické zloženie krmiva.

Obrázok č. 1, Úroveň relatívnej génovej expresie (ΔΔct) molekúl typických pre lymfocyty (CD4,CD8, IgM), cytokínov (TGF-β, TNF-α), chemokínu IL-8 a vzory rozpoznávajúceho receptoru TLR-9 v čreve pstruhov dúhových po kontinuálnej (CON) a cyklickej (CYC) aplikácii probiotického krmiva (CTRL-kontrola; n=10).



CTRL – kontrolná skupina; CON – kontinuálne kŕmené ryby; CYC – cyklicky kŕmené ryby

Takto pripravené krmivá boli otestované v *in vivo* experimentoch na pstruhoch dúhových a lososoch atlantických. Relatívna expresia sa u väčšiny sledovaných génov po tom, čo obe experimentálne skupiny dostávali mesiac probiotické krmivo, približne vyrovnala a bola mierne vyššia než u kontrolnej skupiny. Výnimkou bol chemokín IL-8, u ktorého sme zaznamenali pokles u oboch experimentálnych skupín pod úroveň kontrolnej skupiny po tomto období. Rovnako môžeme u väčšiny génov vidieť zvýšenie expresie v cyklickej skupine po opätovnom začatí podávania probiotického krmiva. Podobný trend ako v čreve (Obr. č. 1) sme zaznamenali aj v hlave obličky a v slezine. Tieto výsledky potvrdzujú, že dlhodobá aplikácia probiotika zdravým rybám nespôsobuje zbytočnú stimuláciu imunitného systému a súčasne, ak sa probiotiká aplikujú rybám, ktoré ich neprijímali, krátkodobo stimulujú imunitný systém. Tieto zistenia sú veľmi dôležité pre reálne využitie prípravku v praxi, kde ak je potrebné udržiavať stále zloženie črevnej mikrobioty (napr. pri zlej kvalite vodného prostredia), môže byť prípravok podávaný dlhodobo bez negatívneho vplyvu na organizmus a naopak, ak je potrebná okamžitá stimulácia imunity (napr. v stresových obdobiach: pri transporte, manipulácii, zmene krmiva, zvýšenom riziku nákazy a pod.) je lepšie ho podávať len krátkodobo a po eliminácii stresového faktoru ho opäť vysadiť.

V rámci experimentov realizovaných v spolupráci s Nord University v Bodo v Nórsku, sme probiotické kmene testovali na lososoch v chovných zariadeniach univerzity. Probiotické krmivo pre lososy bolo pripravené pomocou nastreknutia čerstvej bakteriálnej kultúry na povrch kŕmnych peliet pomocou coulteru. V pilotných experimentoch sme zistili, že kombinácia kmeňov *L. plantarum* R2 a *L. fermentum* R3 je účinnejšia oproti použitiu len 1 kmeňa. V nasledujúcom experimente sme sledovali vplyv takejto kombinácie na črevnú slizničnú bariéru, imunitnú odpoveď, črevný mikrobióm ako aj rastové parametre. Lososom boli aplikované rôzne typy diét – prirodzená diéta s obsahom rybej múčky a rybieho oleja (BG1), diéta s obsahom rastlinných zložiek a rybích zložiek v pomere 70:30 (BG5) a diéta na báze sójovej múčky a menšieho množstva rybích zložiek s prozápalovým potenciálom (BG2). Napriek prozápalovým účinkom diéty založenej na sójovej múčke, práve táto diéta sa najviac používa vo veľkochovoch lososov v Nórsku, z čoho vyplývajú aj mnohé zdravotné problémy rýb. Preto bolo pre nás najdôležitejším zistením, že probiotické baktérie signifikantne potláčajú zápalové zmeny v čreve a súčasne stimulujú lokálnu črevnú imunitu, najmä na úrovni zvýšenia génovej expresie antimikrobiálnych peptidov (defenzínov a cathelcidinu-1), čo je predpokladom vyššej obranyschopnosti rýb.

ZÁVER

Prezentované výsledky potvrdzujú, že probiotický prípravok na báze autochtónnych baktérií mliečneho kvasenia má imunomodulačný potenciál, pričom pri dlhodobej aplikácii znižuje nežiaduci zápal v čreve, a pri zdravých jedincoch zbytočne dlhodobo nestimuluje imunitný systém, avšak pri krátkodobej aplikácii má stimulačný účinok na imunitu, čo môže využité v obdobiach pôsobenia stresových faktorov. V nasledujúcich experimentoch bude hodnotený jeho účinok na produkčné parametre vrátane kvality mäsa a účinnosť v reálnych podmienkach farmových chovov pstruhov aj lososov.

POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla vďaka podpore grantu APVV-19-0234.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AWAD, E. – AWAAD, A. Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. In *Fish Shellfish Immunol.* 2017, vol. 67, p. 40–54.
2. FEČKANINOVÁ, A. a kol. Characterization of two novel lactic acid bacteria isolated from the intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) in Slovakia. In *Aquaculture*, 2019, vol. 506, p. 294–301.
3. HAGI, T. a kol. Diversity and seasonal changes in lactic acid bacteria in the intestinal tract of cultured freshwater fish. *Aquaculture*, 2004, 234, 335-346.
4. KUMAR, G. a kol. *Yersinia ruckeri*, the causative agent of enteric redmouth disease in fish. Veterinary Research, 2015, 46:103 DOI 10.1186/s13567-015-0238-4.
5. LIU a kol. *Yersinia ruckeri* TIR Domain-Containing Protein (STIR-2) Mediates Immune Evasion by Targeting the MyD88 Adaptor. Int. J. Mol. Sci. 2019, vol. 20, p. 4409.
6. MARDONES, F.O. a kol. Farm-level reproduction number during an epidemic of infectious salmon anemia virus in southern Chile in 2007-2009. Prev. Vet. Med., 102 (3) (2011), pp. 175–184
7. MUNRO, E. S. – MIDTLYNG, P. J. Infectious Pancreatic Necrosis and Associated Aquatic Birnaviruses, Vol. 3 Wallingford, UK: CABI. 2011, s. 1–65.
8. NAYAK, S.K.: Probiotics and immunity: A fish perspective. Fish Shellfish Immunol., 2010, vol. 29, p. 2–14.

9. PANIGRAHIA, A. a kol. Immune responses in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* induced by a potential probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* JCM 1136. In *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2004, vol. 102, p. 379–388.
10. VAN DOAN, H. a kol. Host-Associated Probiotics: A Key Factor in Sustainable Aquaculture. In *Rev. Fish. Sci. Aquac.* 2020, vol. 28, p.16-42.

Kontaktná adresa: Mudroňová Dagmar, Department of Microbiology and Immunology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: dagmar.mudronova@uvlf.sk

FAKTORY OVPLYVŇUJÚCE RIZIKO ZAMORENIA ALARIA ALATA U DIVIAKOV

FACTORS INFLUENCING THE RISK OF ALARIA ALATA INFESTATION IN WILD BOAR

Nowicki Marek[1], Klich Daniel[2], Didkowska Anna[1], Bełkot Zbigniew[3], Popczyk Bartłomiej[2], Wiśniewski Jan[1], Anusz Krzysztof[1]

[1] Department of Food Hygiene and Public Health Protection, Institute of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW (WULS – SGGW), Nowoursynowska 159, 02-776 Warsaw, Poland

[2] Department of Animal Genetics and Conservation, Institute of Animal Science, Warsaw University of Life Sciences, Ciszewskiego 8, 02-786, Warsaw, Poland

[3] Department of Food Hygiene of Animal Origin, Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin, Akademicka 12, 20-950, Lublin, Poland

ABSTRACT

Alaria alata is a parasite that is a potential threat for persons eating game, pork, snails or frogs. Earlier research confirms the role of wild boar as a paratenic host involved in spreading of allariosis. There are insufficient data evaluating the influence of the aquatic environment and other intermediate hosts on the incidence of Alaria alata in wild boar. This publication combines a small-scale analysis based on hunting districts in the Mazowieckie voivodship with a large-scale analysis based on data for whole area of Poland. Various modeling approaches have been used including logistic regression and a generalized linear model to estimate the presence, intensity and prevalence of A. alata. The small-scale analysis confirms that there is low influence of presence of predators such as red fox (Vulpes vulpes) and racoon dog (Nyctereutes procyinoides) on A. alata infestation of wild boar. Probably this is a result of the large home range size of these species. The large-scale analysis confirmed that wetlands influence the prevalence of A. alata in wild boar. Achieved results indicate that the occurrence of A. alata in wild boar requires complex analysis on many levels and that environmental factors play crucial role in risk assessment.

Keywords: Alaria alata, wild boar, red fox, raccoon dog.

INTRODUCTION

Alaria alata may pose a potential risk for human consumers of game, pork, snails and frogs. The life cycle of this parasite is complex and includes the definitive hosts - carnivores such as red foxes (Vulpes vulpes), wolves (Canis lupus) and racoon dogs (Nyctereutes procyinoides), intermidiate hosts - such as snails, tadpoles and frogs and atypical, paratenic hosts - wide range of species including human and wild boar. The parasite produces its eggs in the digestive system of the definitive host, and they are spread in the environment. If by intermediate hosts they will develop into miracidia. In the organism of paratenic host, the parasite will not reach the adult stage, but it can stay alive in tissues for many months. When tissues of paratenic host will be consumed by typical definitive host it will become infested and life cycle will continue. In the context of public health, it must be noted that A. alata poses a potential risk to consumers of wild boar meat.

MATERIAL AND METHODS

Samples were collected from 576 hunted wild boar from 14 of the 16 Polish voivodeships. Samples of muscles, adipose and connective tissue were tested with the Alaria mesocercariae migration technique (AMT). The characteristic movement and morphological features of this parasite were used to assess its presence in tissues. All samples were tested within a maximum of seven days after material collection.

Data elaboration and statistics

The small scale analysis was carried out using the results obtained in the Mazowieckie Voivodeship in 2017. The density of red foxes and raccoon dogs in hunting districts were calculated on the basis of data delivered by the Polish Hunting Association. For each hunting district, land cover data was also obtained from the Corine Land Cover database (CLC) for 2018 (https://land.copernicus. eu). The type of land cover was determined using open source geographic information system (GIS) Quantum GIS (version 3.4.5), All cover types within the boundaries of each hunting district were calculated with regard to their percentage.

Areas covered by water, wetlands, arable land and forests were selected for further analysis. Areas covered by water and wetlands were expected to have an impact on A. alata infection, while arable lands and forests dominated in the hunting districts.

The impact of environmental characteristics on the occurrence of A. alata mesocercariae in wild boars was determined using a logistic regression model which included all six known explanatory variables for the hunting districts as covariates: density of red foxes as number of

individuals per 10,000 km2 (FOX); density of raccoon dogs as number of individuals per 10,000 km2 (RACOON); percentage of areas covered by water (WATER); percentage of wetlands (WETLANDS); percentage of arable land (ARABLE); percentage of forested areas (FORESTS). All A. alata-infected samples were marked as 1; all negative samples were marked as 0. The explanatory variables were verified based on Pearson's correlation coefficient: all values were lower than |r| = 0.7. The quality of the model was verified according to the percentage of correctly classified cases and AUC (area under the ROC curve). The impact of similar environmental characteristics on the intensity of A. alata mesocercariae in wild boar was evaluated using a generalized linear model with gamma distribution and the log link function. In this model, the dependent variables were the number of A. alata mesocercarie in wild boar (only infected cases); the explanatory variables were (FOX), (RACOON), (WATER), (WETLANDS), and (FORESTS). The variable for arable land (ARABLE) was not included because it was closely correlated with FORESTS (Pearson's r = □ 0.809, p = 0.000). Model selection was performed according to Burnham and Anderson (2002), where the model presenting the lowest AIC value was chosen as the best one. Akaike weights (ωi) were calculated for each model, and the sum of Akaike weights (Σωi) for each variable included in the models was within ΔAIC = 2.

The large scale analysis was carried out using the results obtained in this study, our previous research and data from the literature. The prevalence of A. alata was evaluated against land cover types and red fox density for all vovodeships. There was insufficient data regarding raccoon dog density. All sources employed similar methods of A. alata detection which allowed us to increase the number of samples in a given province and minimize bias due to low sample size. The prevalence of A. alata was determined based on three sources, with the final prevalence being calculated as a weighted mean of these sources, based on the number of studied samples. The selected cover types of each province were also determined with regard to the four cover-type percentages outlined above, in a similar way as for the small-scale analysis. A generalized linear model was used with Tweedie distribution and the identity link function, which presented the best values for overdispersion. Model selection was similar to small-scale analysis for infected cases according to Burnham and Anderson (2002) using the following explanatory variables: (FOX), (WATER), (WETLANDS) and (FORESTS).
ARABLE was omitted because it was highly correlated with FORESTS (Pearson's r = □ 0.748, p = 0.001). All models were verified (including the null model) with regard to the AICc value

(for small sample size); again, the model that presented the lowest AICc value was chosen as the best one. Akaike weights (ωi) were calculated for each model, and the sum of Akaike weights (Σ ωi) for each variable included in the models were within 95% confidence intervals (Σωi = 0.95).

The risk of A. alata prevalence in wild boar was also estimated for given voivodeships in Poland. The prevalence was compared on the basis of the data from the present study, as well as literature values and the prevalence predicted by the model. When predicting the prevalence, only WETLANDS values that significantly explain the prevalence of A. alata were used. It was also assumed that the prevalence could not exceed 100%; where the predicted prevalence was higher, the value was lowered to 100%.

RESULTS

The occurrence of A. alata mesocrecarie in wild boar was significantly predicted only by raccoon dog density (RACOON) (Table 1).

Table 1. The effect of FOX, RACOON, FORESTS, ARABLE, WATER and WETLANDS on the probability of occurrence of A. alata mesocercariae in wild boar in the logistic regression model (B – beta coefficient, SE – standard error, OR – odds ratio, N = 196).

Source	B	SE	Wald X^2	P	OR
Intercept	-0.333	1.107	4.439	0.035	0.097
FOX	-0.023	0.020	1.133	0.249	0.997
RACOON	0.328	0.157	4.369	0.037	1.388
FORESTS	1.816	1.546	1.379	0.240	6.144
ARABLE	1.872	1.417	1.744	0.187	6.500
WATER	-4.855	9.722	0.249	0.617	0.008
WETLANDS	-70.818	74.034	0.915	0.339	0.000

All other explanatory variables were statistically insignificant (P > 0.05). The B coefficient of RACOON was positive, indicating that the probability of A. alata mesocercarie in wild boar increases at higher raccoon dog densities. The model, however, had weak parameters: only 73% of all cases were correctly classified, and the AUC value was 0.614, indicating the model had low accuracy.

The highest-ranked generalized linear model of intensity of A. alata in wild boar was statistically significant ($\chi 2 = 5.144$, df = 1, p = 0.023) and included only FOX (Table 2). All other variables (RACOON, WATER, WETLANDS and FORESTS) were excluded during the selection procedure. Nevertheless, the difference in the explanatory power of the given variables was low because six models were included within the $\Delta AIC = 2$

Table 2. The effect of FOX on the number of A. alata mesocercariae in wild boar in the highest-ranked generalized linear model (B – beta coefficient, SE – standard error, CI – confidence intervals, N = 53)

Source	B	SE	Wald X^2	P	Lower CI	Upper CI
Intercept	2.063	0.202	114.157	0.000	1.766	2.560
FOX	0.034	0.016	4.505	0.034	0.003	0.065

In the large-scale analysis the highest-ranked generalized linear model for the prevalence of A. alata in wild boar was statistically significant and included only WETLANDS. The estimated prevalence of A. alata increased with the percentage of wetland cover in voivodeships. The calculated trends of A. alata prevalence in Poland as a whole were similar to the predicted values; however, differences can be observed in particular voivodeships. On the basis of literature values and data from the present study, our calculations indicated an increase in the prevalence of A. alata in wild boar in the north and north-east (higher percentage of wetlands). These values ranged from 0% in Opolskie in the south-west to 54.6% in Warmińsko-Mazurskie (lakes) in the north-east, but higher values were also observed in the Zachodniopomorskie (in the north-west, 42.9%) and Podlaskie (north-east, 41.7%) voivodeships. Our model did predict a higher prevalence of A. alata in the north, with values ranging from 6.8% in Małopolskie, 7.5–7.7% for Śląskie and Opolskie voivodeshis in the south, to 100% in Podlaskie in the northeast.

SUMMARY

This research shows that the occurrence of A. alata in wild boar depends from many factors and it is necessary to use multifactorial analysis. Environmental factors such as presence of wetlands play a crucial role in risk assessment of A. alata in wild boar. Therefore they should be taken into consideration in establishing meat inspection strategies. Additionally it may has influence on possible recommendations to hunters in the face of a potential public threat.

Meat inspection procedures may differ depending on the region and the level of risk. More strict procedures may be used in regions abundant with water and wetlands as well as those with higher local densities of foxes and raccoon dogs (northern voivodeships of Poland). A significant limitation occurs when predicting the risk of A. alata infection in small areas, which is probably the result of the large size of the home range of the studied animals.

Contact address: Nowicki M., Department of Food Hygiene and Public Health Protection, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences-SGGW (WULS-SGGW), Nowoursynowska 159, 02-776 Warsaw, Poland. E-mail: marek_nowicki@sggw.edu.pl

HYGIENICKÉ POSTUPY PRI PRODUKCII MÄSA ZO ZVERINY – AKÝ JE "NAJLEPŠÍ POSTUP"?

HYGIENIC PRACTICES IN GAME MEAT PRODUCTION – WHAT IS "BEST PRACTICE"?

Paulsen Peter

Department for Farm Animals and Veterinary Public Health, Institute of Food Safety, Food Technology and Veterinary Public Health, Unit of Food Hygiene and Technology. University of Veterinary Medicine Vienna, Veterinärplatz 1, A-1210 Vienna, Austria

ABSTRACT

Hygiene practices aim to ensure that food maintains its safety and wholesomeness for some period of time. For hunted wild game, this can be broken down into 3 sections. First, to establish a framework similar to *ante-* and *post-mortem* inspection of slaughter animals; second, to avoid contamination or other deterioration of edible tissues, and finally, to ensure that the mode of meat processing corresponds to potential risks that could not be /(had not been detected during inspection. The food hygiene legislation of the EU addresses the first two points in some detail, but suggests that Guides to Good Practice are prepared by the member states. The third issue, i.e. safe processing (of ready-to-eat products) and safe handling and preparation procedures in the consumer´s kitchen, also will require some guideline on national level. Due to regional differences in hunting practices, hunted animal species and environmental factors, different practices in handling of hunting wild game have evolved. Some of them have been suspected to be critical for meat hygiene (i.e. drawing of intestines in wild game birds), but scientific study presented no evidence for microbiological issues, whereas for others (e.g. washing of the body cavities of eviscerated carcasses), evidence for microbiological problems has been presented. In such studies, the design, in particular sampling procedure, and the selected parameters (e.g., which indicator bacteria) need to be critically considered. In addition, it can make a difference if a certain practice is studied alone one or if an analysis of the entire game meat chain identifies a certain practice at a certain step of the chain as a risk factor. In the lecture, selected practices during processing of game meat will be discussed in detail, e.g. washing of eviscerated carcasses; skinning (contamination of knives when cutting skin and hairs) and cleaning and disinfection of knives.

Key words: wild game, hygiene, bacteria, washing of carcasses, skinning

Contact address: Paulsen Peter, Department for Farm Animals and Veterinary Public Health, Institute of Food Safety, Food Technology and Veterinary Public Health, Unit of food Hygiene and Technology. University of Veterinary Medicine Vienna, Veterinärplatz 1, A-1210 Vienna, Austria; E-mail: Peter.Paulsen@vetmeduni.ac.at

KVALITA MEDU V ČESKÝCH KRAJÍCH

HONEY QUALITY IN CZECH REGIONS

[1]Pospiech Matej, [2]Kružík Vojtěch, [3]Titěra Dalibor, [1]Javůrková Zdeňka,
[1]Ljasovská Simona, [1]Tremlová Bohuslava

[1]Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika
[2]Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, Česká republika
[3]Výzkumný ústav včelařský, Dol 94, 252 66 Máslovice, Česká republika

ABSTRACT

The quality of honey is an issue that is monitored worldwide, not only because of the improved added properties of some honeys, but also to protect the health of the consumer. This study compared selected results of a three-year monitoring period of physicochemical parameters and melissopalynological analysis of honey (n=486) in selected regions of Czech Republic. The sum of glucose and fructose was 70.2 % on averae, sucrose content 0.22 mg/kg, HMF content 3.03 mg/kg, water content 17.6, average acidity 23.8 meq/kg, diastase activity 25 deg, Shade respectively. The average abundance of the dominant taxon was 26.4%. Statistically significant differences ($p < 0.05$) were confirmed among the regions, except for HMF content, where the content was generally low and no statistically significant differences were confirmed.

Key words: Bohemia, Moravia, melissopalynology, HMF, *Brassica sp*.

ÚVOD

Kvalitě medu se věnuje mnoho studií z různých oblastí světa (Al-Farsi et al. 2018; De Beer et al. 2021; Mititelu et al. 2022). Pro Českou republiku je však komplexních studií věnujících se problematice kvality medu už menší množství (Lachman et al. 2007; Bartáková et al. 2007). Kromě velkého množství studií je také mnoho přístupů k hodnocení kvality medu. Nejčastěji je kvalita medu hodnocena na základě fyzikálně chemických a biochemických parametrů (Pita-Calvo et al. 2017). Podle těchto autorů lze kvalitativní parametry rozdělit na:

- Parametry spojené s údržností (obsah vody, pH, kyselost)
- Parametry spojené s čerstvostí (aktivita diastázy, invertázy a hydroxymethylfurfural (HMF)
- Parametry spojené se zralostí (obsah prolinu, vlhkost, obsah sacharózy)

- Parametry spojené s botanickým původem (popel, vlhkost, barva, vodivost, specifická otáčivost, poměr F/G a G/vlhkost, pH, kyselost, obsah prolinu, sacharidové složení)
- Parametry spojené s falšováním (sacharóza, profil glukóza-fruktóza-sacharóza, obsah prolinu, HMF)
- Parametry spojené s krystalizací (poměr F/G a G/vlhkost)

Kontrolou těchto parametrů lze potvrdit pravost a adekvátní kvalitu medu, co je základním předpokladem pro pozitivní biologické vlastnosti medu. Med falšovaný, nebo med s nízkou kvalitou, má výrazně nižší biologickou aktivitu, které jsou přisuzovány pozitivní zdravotní účinky na spotřebitele (Giorgi et al. 2011; Šedík et al. 2018).

Cílem této studie je přinést shrnutí základních fyzikálně chemických parametrů medů v jednotlivých krajích ČR a také zastoupení hlavních botanických taxonů jako ukazatelů kvality spojených s botanickým původem medu.

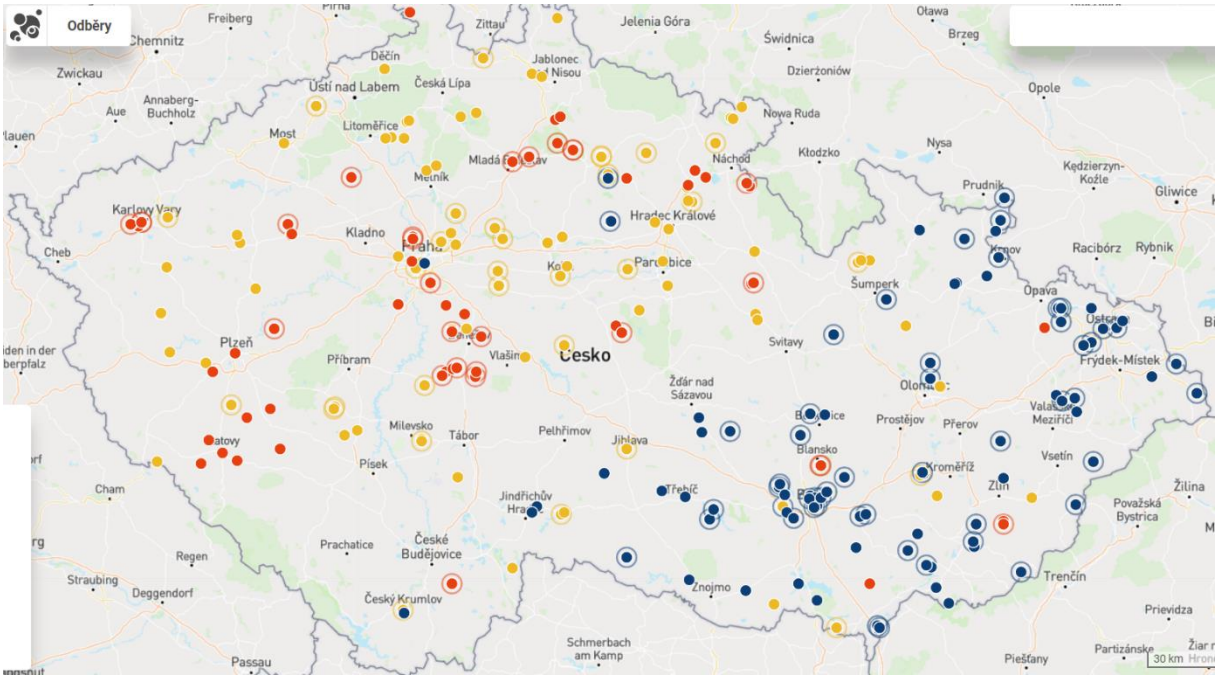
MATERIÁL A METODIKA

Použito bylo 486 autentických medů od hobby včelařů z ČR (Obrázek 1.). Zahrnuty byly kraje: Jihočeský (n=21), Jihomoravský (90), Karlovarský (n=21), Vysočina (n=27), Královohradecký (n=48), Liberecký (n=9), Moravskoslezský (n=69), Olomoucký (n=25), Pardubický (n=14), Plzeňský (n=20), Středočeský (n=82), Ústecký (n=20), Zlínský (n=26) a hlavní město Praha (n=14).

Fyzikálně chemické parametry byly vyšetřeny podle postupů uznávaných mezinárodní medovou komisí (Bogdanov 2009). Vzorky pro pylovou analýzu byly zpracovány podle uznané metodiky pro ČR (Pospiech et al. 2021). Pro každý vzorek bylo počítáno 300 pylových zrn.

Data byly statisticky zpracována v programu Xlstat 2021. Použit byl Shapiro-Wilk test normality. Pro porovnání jednotlivých krajů byl použit neparametrický Kruskal-Wallisův test s Dunneho postupem pro mnohonásobné srovnání.

Obrázek 1. Odběrová místa autentických medů, soukruží znamená více odběrů na jednom stanovišti.



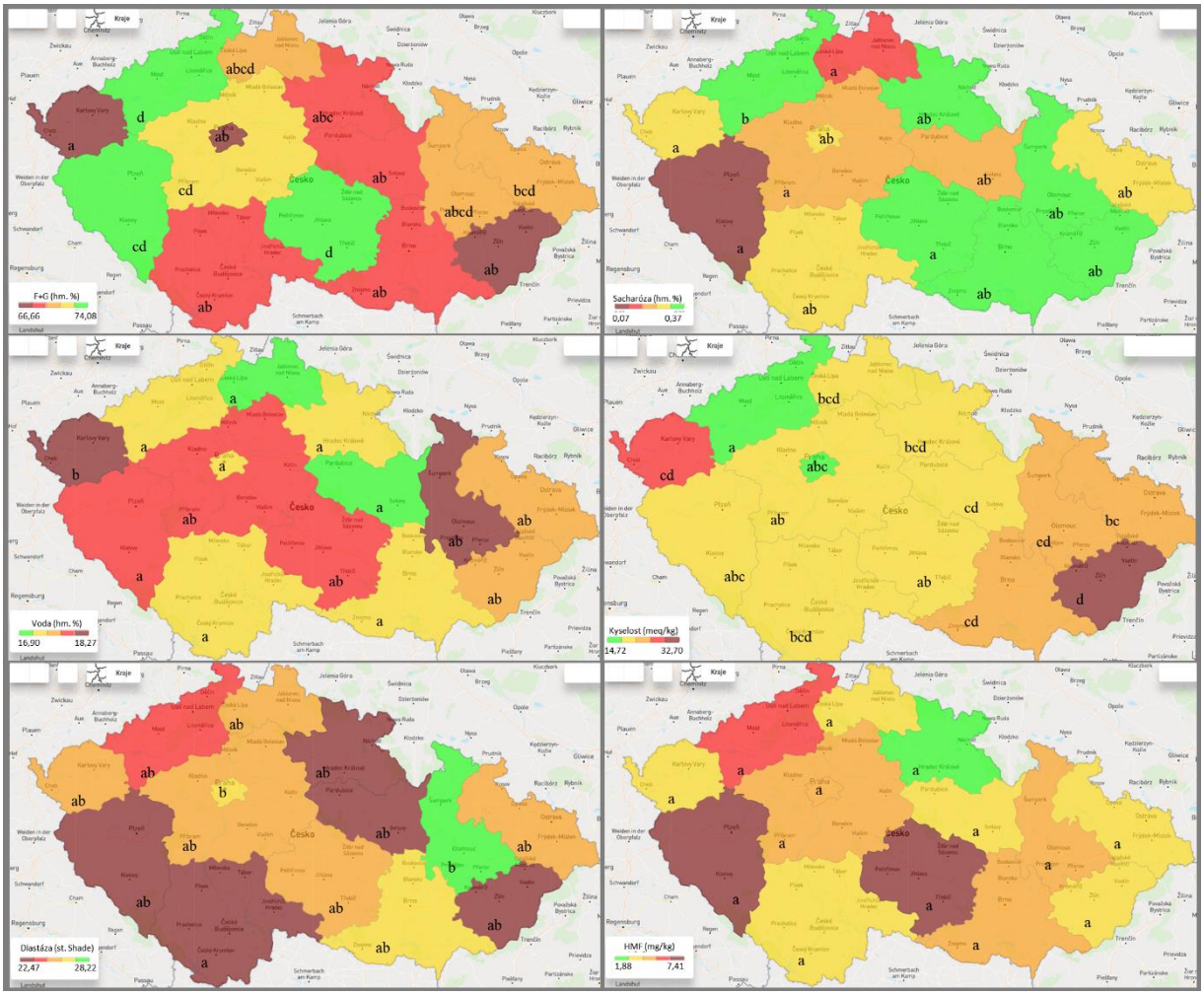
VÝSLEDKY A DISKUZE

Základní požadavky pro med jsou v ČR definovány komoditní vyhláškou (Vyhláška č. 76/2003 Sb, Ministerstvo Zemědělství ČR). Z fyzikálně-chemických parametrů mají na kvalitu vliv zejména tyto parametry: součet fruktózy a glukózy, obsah sacharózy, obsah vody, kyselost, aktivita diastázy a obsah HMF. Výsledky těchto parametrů za sledované období jsou uvedeny na obrázku 2. Parametr elektrická vodivost je sice také důležitý, zejména pro rozlišení medů květových od medovicových, nejedná se však přímo o parametr kvalitativní a není v této studii popisován.

Z výsledků je zřejmé (Obrázek 2.), že mezi jednotlivými kraji jsou statisticky významné rozdíly ve fyzikálně chemických parametrech, kromě obsahu HMF, kde rozdíly nebyly potvrzeny. Obsah HMF u čerstvých medů je běžně nízký, k jeho vyšší koncentraci dochází až v průběhu skladování, nebo po tepelném ohřevu (Tornuk et al. 2013). Medy použité v této studii nebyli starší 3 měsíců, čemuž odpovídá také nízký obsah HMF, který byl v průměru pro ČR 3,03 mg/kg. Obsah HMF je tedy výrazně nižší u čerstvých medů než maximální hodnota 40 mg/kg, kterou připouští vyhláška 76/2003 (Zemědělství 2003). Dalším analyzovaným parametrem čerstvosti je aktivita diastázy. Průměrně pro ČR byla 25 (st. Shade), přičemž vyhláška 76/2003 připouští minimálně 8 (st. Shade). Při srovnání krajů ČR byly ale potvrzeny statisticky významné rozdíly mezi Olomouckým krajem a Prahou ve srovnání s Jihočeským

krajem. Rozdíly mohou mít různou příčinu, přičemž z přirozených důvodů jsou nejvýznamnější doba vytáčení medu, taxony podílející se na medové snůšce a stáří včel (Persano Oddo et al. 1999). Nízká aktivita diastázy je také ukazatelem falšování medu, kdy je aktivita diastázy snížená zejména tepelným ohřevem nebo ředěním (Naila et al. 2018).

Obrázek 2. Fyzikálně – chemické parametry autentických medů v krajích ČR.



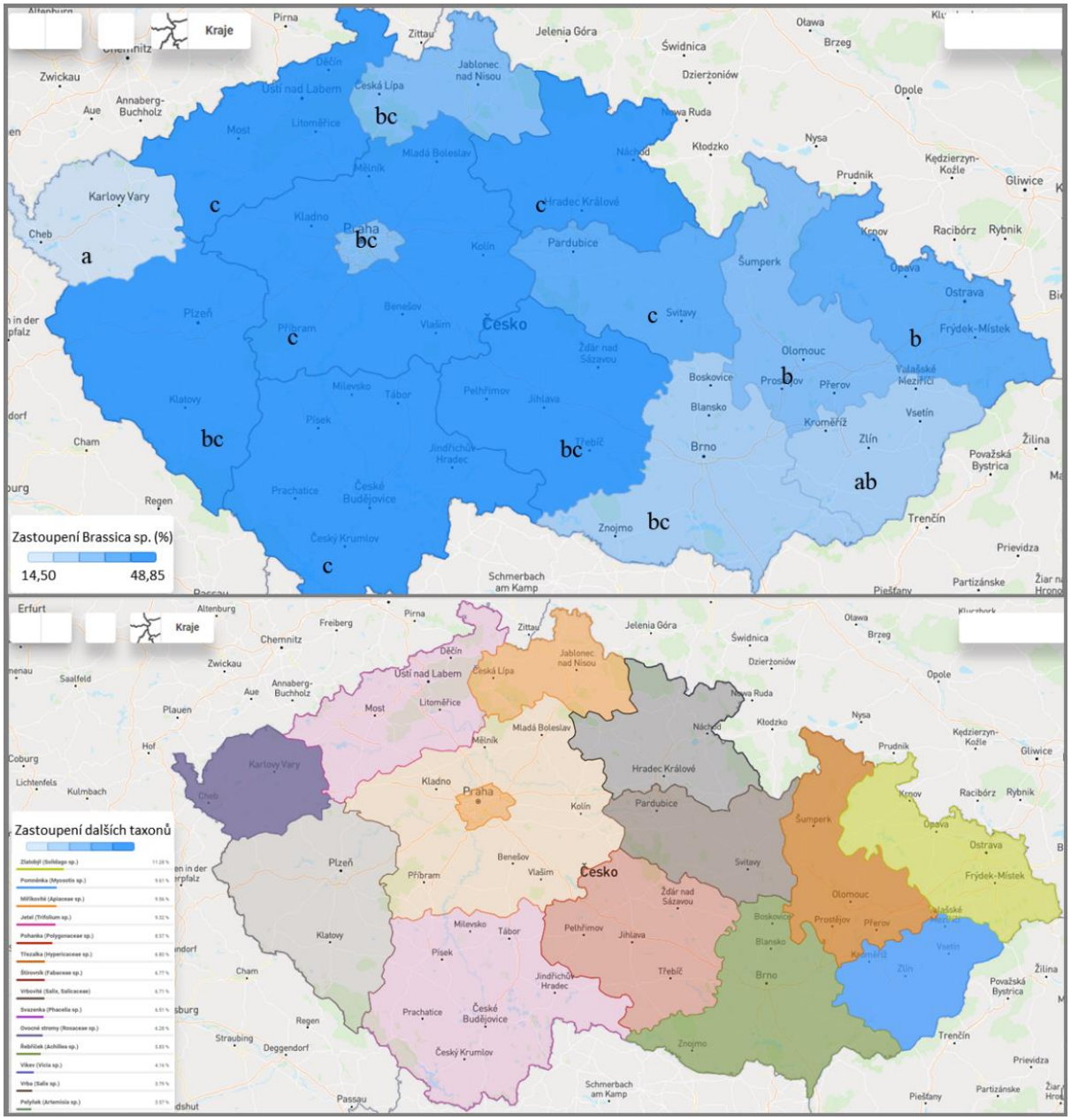
Kvalitativní parametry spojené s údržností medu jsou zejména obsah vody a kyselost. Obojí jsou indikátory kvašení medu, což je nejběžnější forma kažení medu činností mikroorganismů. Obsah vody byl průměrně u českých medů 17,6 %, tedy nižší než je maximální obsah vody (20 %) přípustný vyhláškou 76/2003 (Zemědělství 2003) ale také normou pro český med (Kemler et al. 1999) která definuje limit pro obsah vody 19 %. Rozdíly mezi kraji byl potvrzeny (Obrázek 2.), přičemž vyšší obsah vody byl zejména v krajích s vyšší průměrnou nadmořskou výškou. V souvislosti s obsahem vody je důležitým ukazatelem kažení medu také vyšší kyselost, která je způsobena fermentací sacharidů na organické kyseliny (Da

Silva et al. 2016). Z tohoto důvodu je kyselost limitovaná vyhláškou 76/2003 na maximálně 50 meq/kg. Průměrně byla kyselost v ČR 23,8 meq/kg přičemž rozdíly mezi kraji byly potvrzeny. Nejnižší kyselost byla Ústeckém kraji, a nejvyšší ve Zlínském kraji. S ohledem na nízké hodnoty nelze předpokládat, že rozdíly v kyselosti byly způsobeny fermentačními pochody, ale přirozenými rozdíly v složení organických kyselin v medu, které mohou být ovlivněny geografickými a taxonomickými rozdíly medu (Tornuk et al. 2013; Alves et al. 2013).

Kvalitativní parametry spojené se zralostí a botanickým původem jsou spojovány zejména s obsahem sacharidů. V této studii prezentujeme součet glukózy a fruktózy (F+G) a obsah sacharózy. Průměrný F+G pro ČR byl 70,16 %, což koresponduje s převážně zastoupenými květovými medy v této studii. Rozdíly mezi kraji byly potvrzeny, nejnižší hodnoty byly v krajích Karlovarském, Zlínském a v Praze. Rozdíly jsou způsobeny především vyšším zastoupením medovicových medů v těchto krajích kromě Prahy. Medovicové medy mají obecně nižší F+G než medy květové (Bentabol Manzanares et al. 2011). V Praze se naopak projevuje vliv městské krajiny, kdy snůška je různorodá a tvořena převážně okrasnými rostlinami, které v další krajích představují menší podíl na medové snůšce. Obsah sacharózy je limitován vyhláškou 76/2013 (Zemědělství 2003) na maximálně 5 %, a to z důvodu, že vysoký obsah sacharózy je indikátorem falšování medu (Da Silva et al. 2016). V naší studii byl pro ČR průměrný obsah 0,22 %. Nízká hodnota sacharózy poukazuje ale také na fakt, že odebrané medy byly vyzrálé a nejednalo se o předčasně vytočené medy, protože již došlo ke snížení přirozeně obsažené sacharózy činností diastázy v průběhu vyzrávání medu (Anklam 1998).

Med představuje kromě zdrojů sacharidů také zdroj bioaktivních látek, kterým jsou připisovány jeho léčivé účinky. Jedná se o polyfenoly, antioxidanty, proteiny a vitamíny (Can et al. 2015; Al et al. 2009; Da Silva et al. 2016). Zdrojem bioaktivních látek v medu jsou zejména botanické taxony podílející se na medové snůšce, ale také produkty slinných žláz včel. Informaci o zastoupených botanických taxonech na pylové snůšce poskytuje zejména melissopalynologická analýza. V ČR byla dominantně zastoupeným taxonem v medu Řepka olejka (*Brassica sp.*) s průměrným zastoupením 26,4 %. Ze srovnání jednotlivých krajů vyplývá, že i když je pyl řepky přítomen na většině stanovišť, tak mezi jednotlivými kraji byly potvrzeny statisticky významné rozdíly. Nejméně bylo pylu řepky v Karlovarském kraji a v menším množství byla řepka zastoupena také v Olomockém a Moravskoslezkém kraji (Obrázek 3.).

Obrázek 3. zastoupení hlavních pylových taxonů v medech z ČR.



Další botanické taxony se v obsahu pylu v medu už projevily v menší míře. Nicméně v jednotlivých krajích byly potvrzeny také další sekundární (15-45 %) a významné taxony (3-15 %). Konkrétně Moravskoslezský kraj (*Solidago sp.*), Zlínský kraj (*Myosotis*), Olomoucký, Liberecký kraj a Praha (*Apiaceae*), Pardubický a Plzeňský kraj (*Salix sp.*), Královohradecký kraj (*Asteraceae*, mimo slunečnice), Jihočeský a Ústecký kraj (*Trifolium sp.*), Karlovarský kraj (Ovocné stromy). Zejména tedy v zastoupení sekundárních a významných taxonů jsou mezi jednotlivými kraji ČR potvrzeny ve sledovaném období rozdíly. Rozdílný botanický původ medu tedy také koresponduje s rozdílnými fyzikálně-chemickými ukazateli diskutovanými výše.

ZÁVĚR

Kvalita českých medů od hobby včelařů je vysoká, průměrné hodnoty v jednotlivých krajích ani v jednom případě nepřesahovaly povolené limity v národní legislativě ani v dobrovolné normě pro Český med. Naopak výsledky této studie potvrdily vysokou kvalitu Českých medů od hobby včelařů, kdy v klíčových ukazatelích byly hodnoty výrazně nižší (sacharóza 0,22 %, HMF 3,03), nebo naopak výrazně vyšší (aktivita diastázy 25 st. Shade). Medy v jednotlivých krajích ČR se od sebe lišily jak ve fyzikálně-chemických ukazatelích tak v zastoupení sekundárních a významných pylových taxonech, což potvrzuje rozdíly v botanické a klimatické diverzitě České republiky. Právě potvrzené rozdíly mezi jednotlivými kraji, potažmo stanovišti, otevírají možnost v přesnější specifikaci medů v některých regionech s možností využití ochranných známek kvality právě na základě rozdílnosti těchto medů.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce byla podpořena programem aplikovaného výzkumu Ministerstva zemědělství na období 2017 - 2025, ZEMĚ, číslo QK1920344 a projektem ERASMUS + FOODINOVO číslo 2020-1-SK01-KA203-078333.

POUŽITÁ LITERATURA

1. AL-FARSI, Mohamed, Sharifa AL-BELUSHI, Abeer AL-AMRI, Ahlam AL-HADHRAMI, Mahfoodha AL-RUSHEIDI a Amani AL-ALAWI, 2018. Quality evaluation of Omani honey. *Food Chemistry* [online]. **262**, 162–167. ISSN 18737072. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2018.04.104
2. AL, Mărghitaş Liviu, Dezmirean DANIEL, Adela MOISE, Otilia BOBIS, Laura LASLO a Stefan BOGDANOV, 2009. Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry* [online]. **112**(4), 863–867. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2008.06.055
3. ALVES, Andreia, Adalgiza RAMOS, Maria Margarida GONÇALVES, Maria BERNARDO a Benilde MENDES, 2013. Antioxidant activity, quality parameters and mineral content of Portuguese monofloral honeys. *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. **30**(2), 130–138. ISSN 08891575. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfca.2013.02.009
4. ANKLAM, Elke, 1998. *A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey* [online]. 1998. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/S0308-8146(98)00057-0

5. BARTÁKOVÁ, Klára, Lenka VORLOVÁ, Dalibor TITĚRA a Miroslava LUTZOVÁ, 2007. Physicochemical parameters and botanical origin of Czech honeys. *Journal of Food and Nutrition Research* [online]. **46**(4), 167–173 [vid. 2021-04-14]. ISSN 13368672. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/289661885_Physicochemical_parameters_and_botanical_origin_of_Czech_honeys
6. BENTABOL MANZANARES, A, Z. Hernández GARCÍA, B. Rodríguez GALDÓN, E. Rodríguez RODRÍGUEZ a C. Díaz ROMERO, 2011. Differentiation of blossom and honeydew honeys using multivariate analysis on the physicochemical parameters and sugar composition. *Food Chemistry* [online]. **126**(2), 664–672. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2010.11.003
7. BOGDANOV, Stefan, 2009. *Harmonised methods of the international honey commission*.
8. CAN, Zehra, Oktay YILDIZ, Huseyin SAHIN, Emine AKYUZ TURUMTAY, Sibel SILICI a Sevgi KOLAYLI, 2015. An investigation of Turkish honeys: Their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Food Chemistry* [online]. **180**, 133–141. ISSN 18737072. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2015.02.024
9. DA SILVA, Priscila Missio, Cony GAUCHE, Luciano Valdemiro GONZAGA, Ana Carolina Oliveira COSTA a Roseane FETT, 2016. *Honey: Chemical composition, stability and authenticity* [online]. 2016. ISSN 18737072. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2015.09.051
10. DE BEER, Tersia, Margot OTTO, Beulah PRETORUIS a Hettie C SCHÖNFELDT, 2021. Monitoring the quality of honey: South African case study. *Food Chemistry* [online]. **343**, 128527. ISSN 18737072. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2020.128527
11. GIORGI, Annamaria, Moira MADEO, Johann BAUMGARTNER a Giuseppe Carlo LOZZIA, 2011. The Relationships between Phenolic Content, Pollen Diversity, Physicochemical Information and Radical Scavenging Activity in Honey. *Molecules* [online]. **16**(1), 336–347. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules16010336
12. KEMLER, František, Miloslav PEROUTKA, Václav ŠVAMBERK, Libor DUPAL a Ladislav ŠPAČEK, 1999. *Svazová norma ČESKÝ MED*.
13. LACHMAN, J, D KOLIHOVÁ, D MIHOLOVÁ, J KOŠATA, D TITĚRA a K KULT,

2007. Analysis of minority honey components: Possible use for the evaluation of honey quality. *Food Chemistry* [online]. **101**(3), 973–979. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2006.02.049

14. MITITELU, Magdalena, Denisa Ioana UDEANU, Mirela NEDELESCU, Sorinel Marius NEACSU, Anca Cecilia NICOARA, Eliza OPREA a Manuela GHICA, 2022. Quality Control of Different Types of Honey and Propolis Collected from Romanian Accredited Beekeepers and Consumer's Risk Assessment. *Crystals* [online]. **12**(1), 87 [vid. 2022-04-22]. ISSN 20734352. Dostupné z: doi:10.3390/cryst12010087
15. NAILA, Aishath, Steve H. FLINT, A. Z. SULAIMAN, Azilah AJIT a Zuben WEEDS, 2018. *Classical and novel approaches to the analysis of honey and detection of adulterants* [online]. srpen 2018. B.m.: Elsevier Ltd. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2018.02.027
16. PERSANO ODDO, Livia, Maria Gioia PIAZZA a Patrizio PULCINI, 1999. Invertase activity in honey. *Apidologie* [online]. **30**(1), 57–65. ISSN 00448435. Dostupné z: doi:10.1051/apido:19990107
17. PITA-CALVO, Consuelo, María Esther GUERRA-RODRÍGUEZ a Manuel VÁZQUEZ, 2017. *Analytical methods used in the quality control of honey* [online]. 1. únor 2017. B.m.: American Chemical Society. [vid. 2022-04-22]. ISSN 15205118. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jafc.6b04776
18. POSPIECH, Matej, Pavel ŠTARHA, Josef BEDNÁŘ, Helena ČÍŽKOVÁ, Pavel HRABEC, Vojtěch KRUŽÍK, Zdeňka JAVŮRKOVÁ a Dalibor TITĚRA, 2021. *Metodika semiautomatického stanovení pylového profilu – melissopalynologická analýza medu*. Brno: VETUNI Brno. ISBN 978-80-7305-858-6.
19. ŠEDÍK, Peter, Gregorz ZAGULA, Eva IVANIŠOVÁ, Vladimíra KŇAZOVICKÁ, Elena HORSKÁ a Miroslava KAČÁNIOVÁ, 2018. Nutrition marketing of honey: Chemical, microbiological, antioxidant and antimicrobial profile. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences* [online]. ISSN 13370960. Dostupné z: doi:10.5219/988
20. TORNUK, Fatih, Safa KARAMAN, Ismet OZTURK, Omer Said TOKER, Bilge TASTEMUR, Osman SAGDIC, Mahmut DOGAN a Ahmed KAYACIER, 2013. Quality characterization of artisanal and retail Turkish blossom honeys: Determination of physicochemical, microbiological, bioactive properties and aroma profile. *Industrial Crops and Products* [online]. **46**, 124–131 [vid. 2022-04-23]. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2012.12.042

21. ZEMĚDĚLSTVÍ, Ministerstvo, 2003. 76/2003 Sb. Vyhláška, kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony. *Vyhláška* [online] [vid. 2021-05-30]. Dostupné z: https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2003-76

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

DYNAMIKA IMUNITNEJ ODPOVEDE PSTRUHA DÚHOVÉHO PO PODÁVANÍ PROBIOTICKÉHO KRMIVA S AUTOCHTÓNNYMI LAKTOBACILMI

THE DYNAMICS OF IMMUNE RESPONSE OF RAINBOW TROUT AFTER FEEDING WITH PROBIOTIC FEED CONTAINING AUTOCHTONOUS LACTOBACILLI

[1]Ratvaj Marek, [1]Cingeľová Maruščáková Ivana, [1]Schusterová Petra, [3] Popelka Peter
[2]Fečkaninová Adriána, [4]Mareš Jan, [5]Žitňan Rudolf, [1]Mudroňová Dagmar

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

[2]Katedra farmaceutickej technológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmáciefarmakognózie a botaniky, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

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

[4] Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, Mendelova univerzita, Zemědělská 1/1665, 613 00 Brno, Česká republika

[5]Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum - Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky, Slovenská republika

ABSTRACT

Our aim was to study the dynamics in gene expression after feeding the fish with feed enriched by Lactobacillus plantarum R2 BiocenolTM to prove its probiotic potential. This is a partial work and samples are still being analysed. The experimental fish were divided into three groups based on their diet and reared in separate tanks. One group received probiotic feed continually, second group cyclically with pause during which they received just commercial feed and control group. Samples of head kidney were collected from 10 fish from each group after 4th, 7th, 9th and 11th week. CD4+ and CD8+ lymphocytes and immunoglobulin T were studied in this part of experiment. Relative gene expression was assessed by qPCR. Dynamics in expression of all selected molecules showed increase in group that had started receiving probiotic feed after three-week break with levels of expression of all molecules eventually returning to that of control group in following weeks. This proves probiotic potential of said probiotic bacteria although further testing is needed.

Key words: fish, probiotic, feed, gene expression

ÚVOD

Produkcia zdravotne nezávadných a nutrične hodnotných potravín pre rastúcu ľudskú populáciu si vyžaduje neustále hľadanie nových alternatív.

Jednou z ciest, ako sa vyrovnať s vysokým dopytom, je produkcia rýb v akvakultúre. Podľa analýz FAO (*Food and Agriculture Organization*) je práve toto odvetvie živočíšnej produkcie momentálne na vzostupe a v nasledujúcich rokoch je očakávaný stabilný rast (FAO 2020).

Samozrejme, ako v každom odvetví, aj v tomto predstavuje snaha o zvyšovanie produkcie nevyhnutný nárast koncentrácie jedincov v chovoch, ktorý je spojený so zhoršením produkčných parametrov a vyšším stresom vyvíjaným na tieto jedince. Navyše v akvakultúre je často preferovaná monokultúra. Toto sú podmienky, ktoré zvyšujú náchylnosť na infekčné ochorenia, či už ide o bakteriálne, vírusové alebo parazitárne patogény (Billard et al. 1981; Pickering a Pottinger 1989; Conde-Sieira et al. 2018) .

Snaha Európskej únie bojovať so vznikom nových rezistentných kmeňov mikroorganizmov viedla k prijatiu niekoľkých akčných plánov a legislatívy, ktorej cieľom je cez zníženie rezíduí inhibičných látok v potravinách dosiahnuť ochranu zdravia na základe princípu *One health* (European comission 2003).

Vzhľadom na to, že používanie liečiv je obmedzované, no chovy pribúdajú a zväčšujú sa, je potrebné vyvíjať nové prostriedky na ochranu zdravia rýb a zlepšenie ich obranyschopnosti, ako aj produkčných parametrov.

Probiotické preparáty, používané dlhé roky v humánnej, ako aj veterinárnej medicíne, predstavujú jednu z možností stimulácie imunity rýb, ktorá nepredstavuje zdravotné riziko pre konzumenta (Nayak 2010).

Naším cieľom je vývoj takéhoto preparátu, ktorým by mohli byť ryby kŕmené dlhodobo, a ktorý by zlepšoval ich imunitné ako aj produkčné parametre (Fečkaninová et al. 2019).

MATERIÁL A METODIKA

Probiotické krmivo bolo pripravené na UVLF v Košiciach zmiešaním komerčne dostupného peletovaného krmiva pre ryby, ochranných látok a nočnej kultúry probiotických baktérií *Lactobacillus plantarum R2* (podľa novej nomenklatúry *Lactiplantibacillus plantarum).* Jednotlivé zložky boli rovnomerne zmiešané a krmivo bolo dosušené. Po dosušení bolo pripravené krmivo skladované pri teplote 4°C v chlade a suchu. Výsledná koncentrácia baktérií bola stanovená pomocou kultivácie na selektívnom médiu (MRS agar, Merck, Nemecko) na 10^7-10^8 KTZ/g krmiva.

Do experimentu bolo celkovo zaradených 1000 jedincov pstruha dúhového. Experimentálne ryby boli rozdelené do troch skupín podľa režimu kŕmenia. Každá skupina bola ďalej umiestnená do troch samostatných nádrží s nezávislou cirkuláciou. Prvá experimentálna skupina dostávala probiotické krmivo kontinuálne (CON), druhá cyklicky, s prestávkami (CYC) a posledná skupina bola kontrolná (CTRL) a dostávala len komerčné krmivo s ochrannými látkami. Všetky ryby prijímali krmivo ochotne a dosahovali adekvátne prírastky.

Odber vzoriek sa uskutočnil po 4,7, 9 a 11 týždňoch od začiatku experimentu. Od začiatku experimentu dostávali obe skupiny probiotické krmivo. Pri odbere po 7. týždni mala CYC skupina 3 týždňovú prestávku v podávaní probiotík. Následne dostávali obe skupiny probiotické krmivo do konca experimentu. Do ďalších analýz boli z každej skupiny vybrané ryby, ktoré dosahovali približne rovnaké telesné rozmery. Pri pitve boli odobraté vzorky kože, žiaber, sleziny, hlavy obličky a čreva. V tejto práci sú prezentované výsledky z analýzy expresie na úrovni hlavy obličky, do ktorej bolo vybratých 10 jedincov z každej skupiny. Každý jedinec predstavoval samostatnú vzorku.

Po izolácii RNA pomocou kitu Omega E-Z Total RNA Kit (Omega Bio-tek, Norcross, Georgia USA) bola spektrofotometricky určená jej čistota a koncentrácia pomocou Nanodrop 8000 (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) a následne bol uskutočnený prepis do cDNA kitom Quantitect Reverse Transcription Kit (Qiagen, Hilden, Germany). Kvantitatívna PCR bola vykonaná na termocykleri iCycler CFX96 (BioRad, Hercules, CA, USA) a každá vzorka bola analyzovaná v triplikáte. Ako referenčný gén bol použitý β-aktín. V tejto práci uvádzame zmenu relatívnej génovej expresie pre znak CD4, CD8 na lymfocytoch a imunoglobulín T (IgT). Sekvencia primerov je uvedená v Tabuľke č. 1.

Tabuľka č. 1. Sekvencia primerov použitých na qPCR

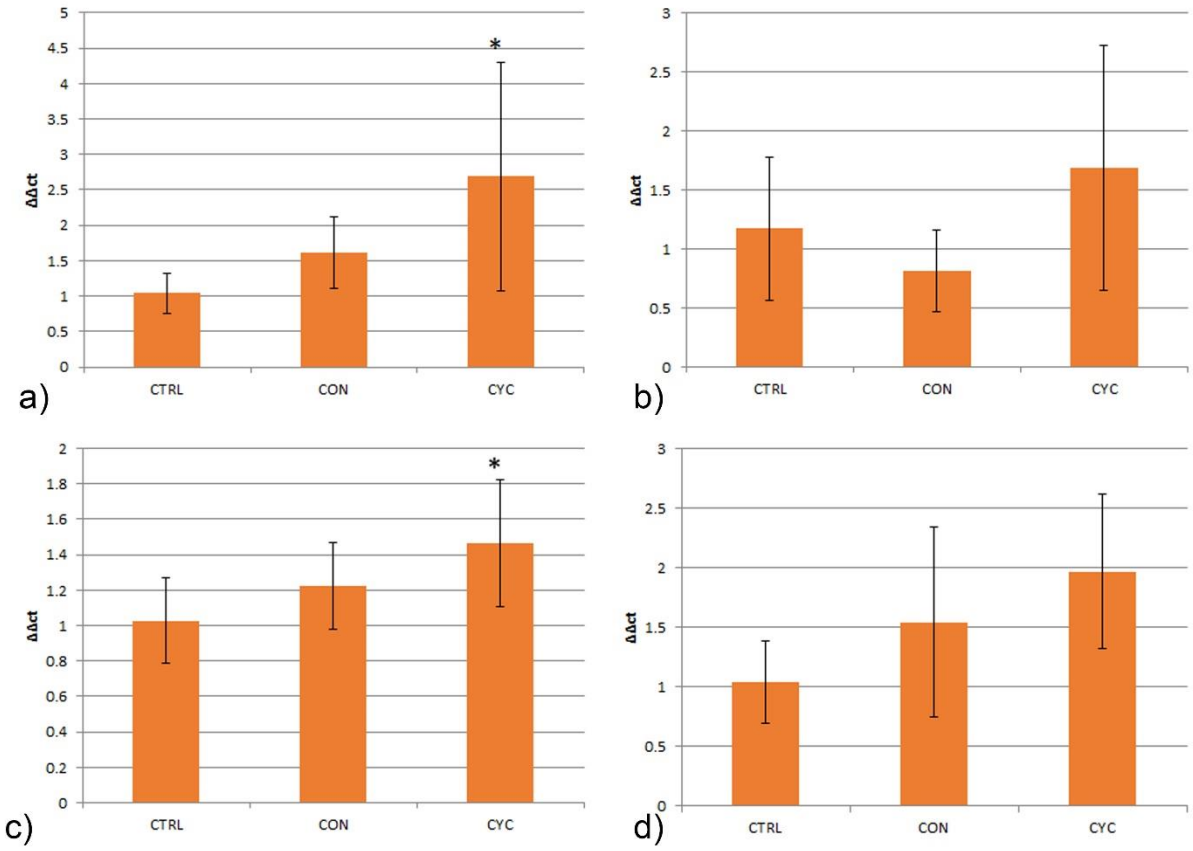
	Sekvencia primerov
β-actin F	GGACTTTGAGCAGGAGATGG
β-actin R	ATGATGGAGTTGTAGGTGGTCT
CD4 F	CCTGCTCATCCACAGCCT
CD4 R	CTTCTCCTGGCTGTCTGA
CD8 F	AGTCGTGCAAAGTGGGA
CD8 R	GGTTGCAATGGCATACAG
IgT F	AGCACCAGGGTGAAACC
IgT R	GCGGTGGGTTCAGAGTC

Výstup z termocyklera bol hodnotený v programe MS Excel a na štatistickú analýzu bol využitý jednocestný ANOVA test s doplnkovým Tukeyho testom v softvéri GraphPad Prism ver. 3.0.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

CD4 a CD8 sú molekuly prítomné na povrchu imunitných buniek a slúžili na analýzu celulárnej imunitnej odpovede.

Obrázok č.1, Relatívna génova expresia molekuly CD4



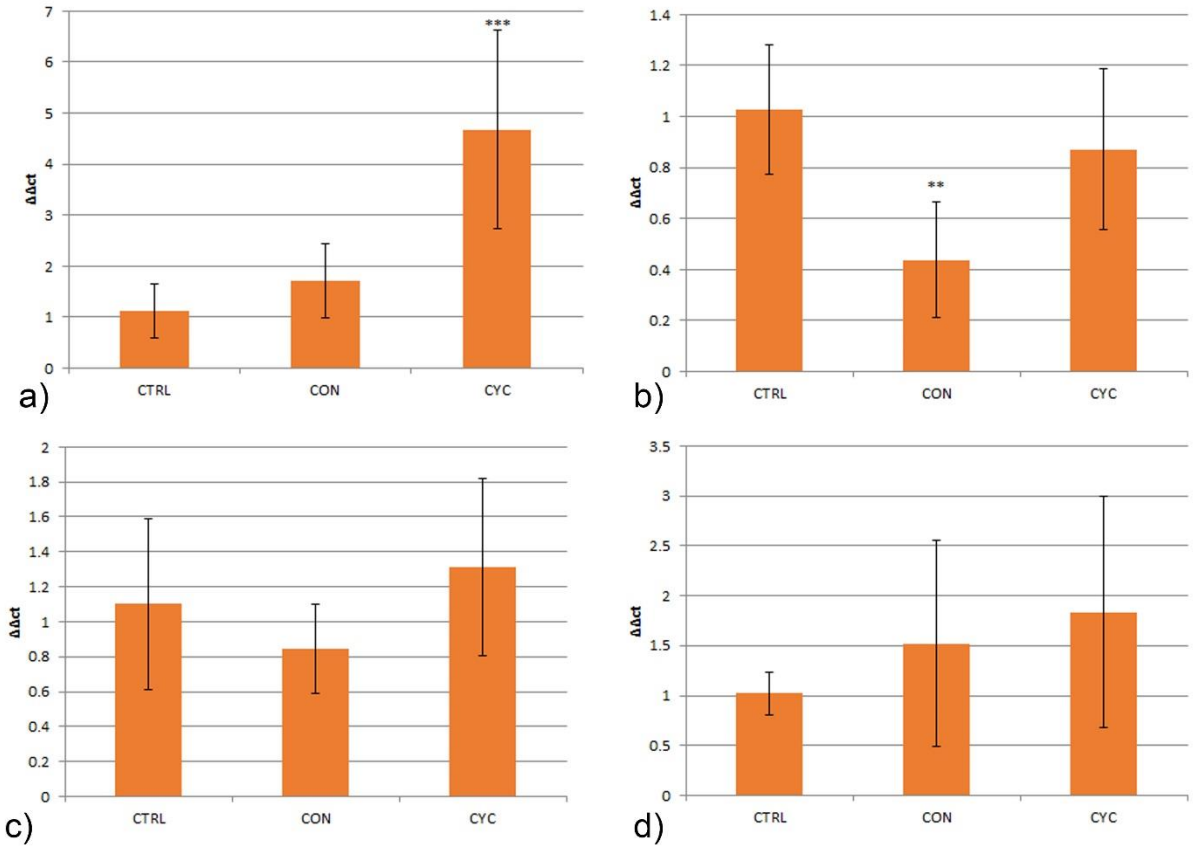
Legenda: a) - 1.odber, b) – 2.odber, c) – 3.odber, d) – 4.odber. Signifikantný rozdiel oproti CTRL *p<0,05

CD4 je prítomná na povrchu Th lymfocytov, kde funguje ako koreceptor pri rozoznávaní patogénov. Th lymfocyty sú zodpovedné za produkciu cytokínov a reguláciu imunitnej odpovede.

Relatívna génová expresia bola signifikantne zvýšená oproti kontrole už na začiatku experimentu u cyklickej skupiny a toto zvýšenie bolo zistené aj pri ďalších odberoch (obrázok č.1). Pri druhom odbere, keď cyklická skupina nedostávala probiotické krmivo počas 3 týždňov,

došlo k miernemu poklesu a opätovnému nárastu došlo pri 3. odbere, keď dostávali ryby opäť probiotiká. Toto zvýšenie bolo štatisticky významné oproti kontrole. Pri poslednom odbere, keď obe experimentálne skupiny dostávali 4 týždne probiotické krmivo neboli zaznamenané signifikantné rozdiely medzi experimentálnymi skupinami, no obe vykazovali mierne zvýšené hodnoty expresie oproti kontrole. Celkovo sa úroveň CD4 nemenila počas experimentu u CON skupiny a pri CYC dochádzalo k zvýšeniu po pridaní probiotík do krmiva rýb. Tento výsledok vnímame ako dôkaz stimulácie imunitného systému sledovaných jedincov probiotikami, navyše mierne zvýšená úroveň v CON skupine môže pôsobiť do istej miery protektívne pri infekcii organizmu.

Obrázok č.2, Relatívna génova expresia molekuly CD8

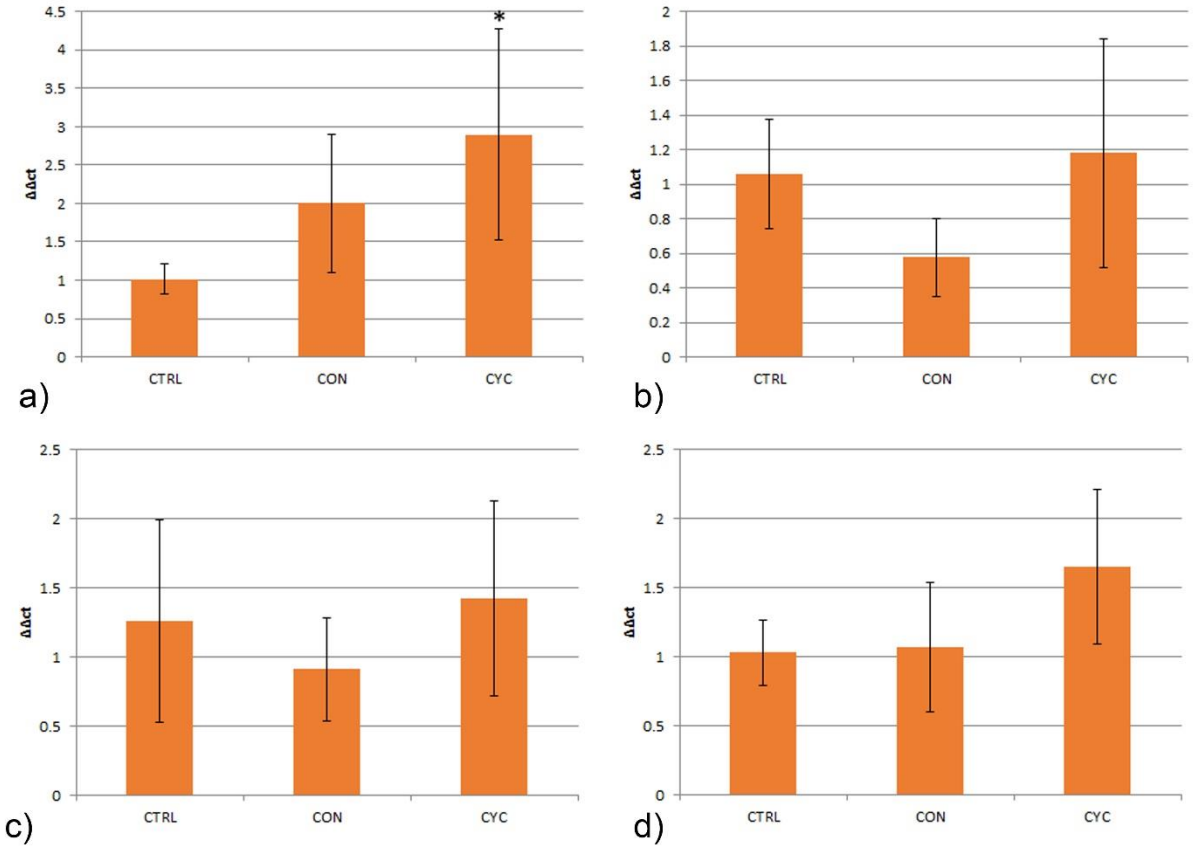


Legenda: a) - 1.odber, b) – 2.odber, c) – 3.odber, d) – 4.odber. Signifikantný rozdiel oproti CTRL *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001

CD8 sa nachádza na povrchu cytotoxických T lymfocytov a ich funkcia u rýb je podobná tej u cicavcov, ciže obrana voči intracelulárnymi patogénmi infikovaným bunkám a poškodeným bunkám. Okrem toho, časť populácie týchto buniek sa podieľa na imunitnej tolerancii.

Podobne ako pri CD4 aj v tomto prípade vykazovala CYC skupina signifikanté zvýšenie expresie voči kontrole (Obrázok č.2). Príčinu tohto fenoménu nevieme vysvetliť, nakoľko CON skupina, ktorá dostávala to isté krmivo v tomto čase nevykazuje takýto nárast. Pri druhom odbere, keď bolo prerušené podávanie probiotík došlo k poklesu expresie u CYC na úroveň CTRL. CON skupina vykazovala zníženie, ktoré bolo signifikantné voči CTRL. Po opätovnom podávaní probiotík došlo k miernemu zvýšeniu expresie u CYC a po 4 týždňoch, keď obe experimentálne skupiny dostávali probiotické krmivo bola expresia u oboch, napriek vyššej štandardnej odchýlke, približne rovnaká a mierne zvýšená oproti CTRL. Aj v tomto prípade je pozorovateľná zvýšená expresia závislá na podávaní probiotík, ktorá sa po určitom čase ustáli.

Obrázok č.3, Relatívna génova expresia IgT



Legenda: a) - 1.odber, b) – 2.odber, c) – 3.odber, d) – 4.odber. Signifikantný rozdiel oproti CTRL *p<0,05

Imunoglobulín T u rýb sa nachádza najmä v mukóze a v črevnom trakte, kde sa viaže mikroorganizmy, čím prispieva k ich eliminácii. K jeho tvorbe dochádza po bakteriálnej stimulácii.

Pri IgT bola zistená zvýšená expresia pri prvom odbere v oboch experimentálnych skupinách, pričom pri CYC bolo toto zvýšenie signifikantné oproti CTRL. Pri druhom odbere došlo k poklesu u CYC na úroveň CTRL a u CON sme zaznamenali nesignifikantný pokles. Pri 3 odbere u CYC skupiny došlo k zvýšeniu expresie a u CON bola stále znížená. Na konci experimentu bola stále expresia zvýšená u CYC, čo pripisujeme pomalšej odozve organizmu v prípade tejto molekuly, keďže u CD4 a CD8 došlo v tomto bode k poklesu na úroveň CON.

Celkovo tieto výsledky korelujú s výsledkami expresie zistenej na úrovni čreva, kde bola zaznamenaná podobná dynamika u CYC skupiny; po opätovnom zaradení probiotík do diéty došlo k zvýšeniu expresie sledovaných molekúl a postupnému poklesu hodnôt na úroveň CON na konci experimentu. Rozdiely v rámci experimentálnych skupín na začiatku experimentu si vysvetľujeme vyššou citlivosťou mladých jedincov na probiotiká prítomné v potrave, ako aj vo vode, v ktorej boli chované, a tiež individualitou jedincov v týchto skupinách. Pri dlhodobom skrmovaní probiotického krmiva nebolo pozorované signifikantné zvýšenie ani zníženie v expresii sledovaných molekúl, čo je dôležité z hľadiska záťaže organizmu pri neustálej stimulácii.

ZÁVER

Probiotická baktéria *Lactobacillus plantarum* R2 pridaná do krmiva bola rozpoznaná organizmom rýb ako neškodná a nestimulovala nežiaducu imunitnú odpoveď. Organizmus rýb bol preukázateľne stimulovaný po opätovnom podávaní probiotického krmiva, čo môže slúžiť ako obrana voči patogénom, a to najmä v kritickom období rastu. Keďže ide o čiastkové výsledky, je potrebné tento bakteriálny kmeň študovať ďalej.

POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla vďaka podpore grantu APVV-19-0234.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BILLARD, Roland, Christian BRY a Christian GILLET, 1981. *Stress, environment and reproduction in teleost fish* [online]. 1981. [cit. 7.7.2021]. ISBN 0-12-554550-9. Dostupné na: https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01600274
2. CONDE-SIEIRA, Marta, Mauro CHIVITE, Jesús M. MÍGUEZ a José L. SOENGAS, 2018. *Stress effects on the mechanisms regulating appetite in teleost fish* [online]. 23.

október 2018. B.m.: Frontiers. [cit. 7.7.2021]. Dostupné na: doi:10.3389/fendo.2018.00631

3. EUROPEAN COMISSION, 2003. REGULATION (EC) No 1831/2003 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. *Official Journal of the European Union L 268* [online]. 2003, s. 29–43 [cit. 21.1.2022]. Dostupné na: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/TXT/?uri=CELEX%3A32003R1831
4. FAO, 2020. The state of world fisheries and aquaculture 2020. Sustainability in action. ISBN 978-92-5-132692-3.
5. FEČKANINOVÁ, Adriána, Jana KOŠČOVÁ, Dagmar MUDROŇOVÁ, Petra SCHUSTEROVÁ, Ivana CINGEĽOVÁ MARUŠČÁKOVÁ a Peter POPELKA, 2019. Characterization of two novel lactic acid bacteria isolated from the intestine of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss, Walbaum) in Slovakia. *Aquaculture* [online]. 2019, roč. 506, s. 294–301. ISSN 00448486. Dostupné na: doi:10.1016/j.aquaculture.2019.03.026
6. NAYAK, S. K., 2010. *Probiotics and immunity: A fish perspective* [online]. 1. júl 2010. B.m.: Academic Press. Dostupné na: doi:10.1016/j.fsi.2010.02.017
7. PICKERING, A. D. a T. G. POTTINGER, 1989. Stress responses and disease resistance in salmonid fish: Effects of chronic elevation of plasma cortisol. *Fish Physiology and Biochemistry* [online]. 1989, roč. 7, č. 1–6, s. 253–258 [cit. 7.7.2021]. ISSN 09201742. Dostupné na: doi:10.1007/BF00004714

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@student.uvlf.sk

KVALITA MÄSA KURČIAT PO APLIKÁCII HUMÍNOVÝCH LÁTOK A PROBIOTÍK VO VÝŽIVE

QUALITY OF CHICKEN MEAT AFTER DIET SUPPLEMENTATION WITH HUMIC SUBSTANCES AND PROBIOTICS

Reitznerová Anna[1], Makiš Andrej[1], Bartkovský Martin[1], Semjon Boris[1], Marcinčáková Dana[2], Mudroňová Dagmar[3], Nagy Jozef[1], Marcinčák Slavomír[1]

[1]Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín,

[2]Katedra farmakológie a toxikológie,[3]Katedra mikrobiológie a imunológie,

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

ABSTRACT

The aim of the published work was to evaluate the effect of the adding of probiotics and humic substances (HS) in broiler chickens on the final weight, carcass yield, chemical composition and colorimetric parameters of the breast muscle meat. In the PRO experimental group, where probiotic strains *of Lactobacillus fermentum 3I2* were applied to water from the 1st day of fattening broiler chickens, higher final weight, higher fat content were recorded compared to the control group. In the HL experimental group, which had a feed enriched with 0.6% HS from the 2nd day of fattening, higher carcass yields of the breasts and thighs, lower water losses and lower protein content was achieved compared to the other experimental groups. The change in color parameters L* and a* of breast muscle was determined in all experimental groups of broiler chickens during storage ($p < 0.01$).

Key words: meat quality, colorimetric, probiotic, humac substances

ÚVOD

Nárast spotreby hydinového mäsa je dosiahnutý vďaka jeho dostupnosti, nutričnej hodnote a jemnej chuti. Tieto vlastnosti umožňujú pripraviť s použitím korenín a iných prísad množstvo rôznych jedál a produktov pre čoraz náročnejších spotrebiteľov (Przybylski et al., 2021). Vysoká spotreba hydinového mäsa si vyžaduje jeho zvýšenú produkciu, ktorá je závislá od kvality prijímaného krmiva a welfare chovu kurčiat. Za účelom celosvetovej eliminácie spotreby a používania antibiotík Európska únia rozhodla od roku 2006 zakázať antibiotiká, ako rastových stimulátorov (Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady 1831/2003). To viedlo

k hľadaniu alternatívneho prístupu k chovu zdravých zvierat. Eliminácia používania antibiotík vyvolávala značné dôsledky, ako je zhoršená úžitkovosť a zvýšený výskyt chorôb zvierat (Jha et al., 2019). Od zákazu skrmovania krmív antibiotikami je predmetom výskumu pridávanie aditív vyrobených z extraktov, rastlinných olejov z rôznych korenín, bylín, biofermentovaných krmív a humínových látok (Skalická et al., 2019; Arif et al., 2019) a kŕmnych doplnkových látok (prebiotiká, probiotiká, organické kyseliny, atď.) za účelom zlepšenia zdravia a rastu brojlerových kurčiat (Jha et al., 2020). Probiotiká sú živé mikroorganizmy, ktoré pri správnom podaní poskytujú hostiteľovi zdravotné výhody. Používanie probiotík v chove hydiny sa v posledných rokoch zvyšuje pre pozitívny vplyv na produkciu a zdravie čriev hydiny. Používaním probiotických kmeňov sa dosahuje úprava črevnej mikrobiálnej flóry, stimulácia imunitného systému, zníženie zápalových reakcií, prevencia kolonizácie patogénov, zvýšenie rastu, zvýšená konverzia krmiva a zníženie vylučovania amoniaku a močoviny (Jha et al., 2020). Aplikáciou prípravkov na báze prírodných humínových látok do krmiva zvierat sa podporuje prirodzená imunita zvierat a schopnosť zvieraťa vysporiadať sa s negatívnymi účinkami, hlavne črevných patogénnych mikroorganizmov bez použitia antibiotík. Prírodné humínové látky sú nerozpustné, majú chelatovú štruktúru, obsahujú takmer všetky mikro a makro elementy vo využiteľnej forme a môžu účinne podporovať rôzne fyziologické funkcie zvierat, čoho výsledkom je lepši produkčný a zdravotný stav zvierat, spokojný chovateľ a ekonomický prosperujúci podnik (Karahuta, 2019).

Pre významný vplyv probiotík a humínovýych látok v chove brojlerových kurčiat ako možnej alternatívy za antibiotiká bolo cieľom pokusu zhodnotiť vplyv podávania probiotík vo vode a humínových látok v krmive brojlerových kurčiat na ich finálnu hmotnosť, jatočnú výťažnosť, chemické zloženie a farebnú stabilitu prsnej svaloviny získanej z pokusných brojlerových kurčiat.

MATERIÁL A METODIKA

V experimente bolo chovaných 160 kusov brojlerových kurčiat (mäsový hybrid, COBB 500). Jednodňové kurčatá boli privezené priamo od dodávateľa (Hydina Slovensko s.r.o.) a rovnomerne rozdelené do štyroch skupín (jedna skupina pozostávala zo 40 kurčiat). Kurčatá boli chované na hlbokej podstielke za dodržiavania odporúčaných požiadaviek pre výživu, kŕmenie a welfare hybridu COBB 500. Všetky skupiny kurčiat boli kŕmené dvakrát denne rovnakými priemyselne vyrábanými kŕmnymi zmesami BR1 (1. – 10. deň), BR2 (11. – 30. deň) a BR3 (31. – 37. deň). Prístup k vode mali kurčatá *ad libitum*. Kontrole (K)

boli podávané len základné kŕmne zmesi. V prvej pokusnej skupine (PRO) boli od 1. dňa výkrmu do vody podávaný probiotický kmeň *Lactobacillus fermentum* 2I3 v dávke 1ml/kura/deň. Druhej pokusnej skupine (HL) boli v KZ podávané humínové látky v dávke 0,6 % vo forme prípravku Humac Natur AFM Mycotoxsorb (Humac s.r.o., Košice), pričom o dané množstvo bolo znížené množstvo KZ. V tretej pokusnej skupine (HLAPRO) boli kurčatám podávané vo vode probiotický kmeň (*Lactobacillus fermentum*; 1 ml/kurča/deň) a podávané humínové látky (Humac Natur AFM Mycotoxsorb; 0,6 %) spolu s krmivom, pričom o uvedené množstvo bolo znížené množstvo KZ. Na 38. deň výkrmu boli kurčatá omráčené, usmrtené a vypitvané. Jednotlivé vzorky prsnej a stehennej svaloviny boli analyzované 24 hodín po zabití a po siedmych dňoch skladovania v chladiacej komore pri teplote do 4 °C. Fyzikálno-chemická analýza experimentálnych vzoriek prsnej a stehennej svaloviny bola vykonaná podľa metód AOAC (1990). Vo vzorkách bol stanovený obsah tuku, vody a obsah bielkovín. Straty vody odkvapom po chladení boli merané v prvý deň experimentu. Straty vody odkvapom boli vyjadrené v percentách na základe rozdielu hmotností surových vzoriek.

Meranie kolorimetrických parametrov pokusných vzoriek prsnej svaloviny boli vykonané prístrojom Chroma meter CR-410 (meracia plocha Ø 50 mm, osvetlenie D65, štandardný pozorovací uhol 2°, Konica Minolta, Sensing, Inc., Japonsko). Výsledky kolorimetrických parametrov boli spracované v programe Color Data Software CM-S100w SpectraMagic™ NX (Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japonsko). Kolorimetrické parametre analyzovaných vzoriek boli vyjadrené vo farebnom priestore CIE L*a*b*. Hodnota L* predstavuje jas (v rozsahu od 0 – čierna po 100 – biela), a* červenosť (farbu medzi červenou a zelenou) a b* žltosť (farbu medzi modrou a žltou). Pred analýzou bola vykonaná kalibráciu prístroja pomocou priloženého príslušenstva, tzv. kalibračnej doštičky (CR-A43, Konica Minolta), pomocou ktorej sa kalibruje prístroj na štandard bielej farby.

Štatistická analýza bola vykonaná v štatistickom programe Graph Pad Prism 9.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Výsledky boli vyjadrené ako priemery a smerodajná odchýlka (SD) šiestich meraní. Pre štatistické vyhodnotenie dosiahnutých výsledkov bola použitá štatistická metóda jednocestnej analýzy rozptylov hodnôt a Tukeyho test pre viacnásobné porovnávanie priemerov. Za štatisticky významnú hladinu významnosti bola zvolená hodnota $p < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Hodnoty finálnej hmotnosti, výťažnosti jednotlivých jatočných častí a straty vody odkvapom v jednotlivých pokusných skupinách brojlerových kurčiat sú uvedené v tabuľke 1.

Vyššie hodnoty finálnej hmotnosti kurčiat a jatočnej výťažnosti tiel boli zaznamenané v pokusných skupinách PRO a HL oproti kontrolnej skupine, pričom najvyššia výťažnosť bola zistená v pokusnej skupine HLAPRO (75,3 ± 1,6 %). Jadhav et al. (2015) uvádza, že probiotiká napomáhajú pri zvýšenej absorbcii živín a zlepšujú rastovú výkonnosť zvierat. Awad et al. (2010) a Timmerman et al. (2006) uvádzajú, že probiotiká kmeňa *Lactobacillus* viedli k zlepšeniu hmotnostných prírastkov a miery produktivity brojlerových kurčiat.

Prídavok probiotík *Lactobacillus fermentum* do vody a humínových látok Humac Natur AFM Mycotoxsorb v krmive nemalo vplyv na percentuálny podiel prsnej svaloviny pokusných skupín a bol porovnateľný s kontrolnou skupinou, pričom výťažnosť pŕs a stehien sa pohybovala na úrovni 27,7; resp. 25,2 %. Viacerí autori (Kocabagli, 2002; Karaoglu, 2004; Vaško, Vajda, 2009) uvádzajú zvýšenie intenzity rastu a jatočnej výťažnosti vďaka skrmovaniu humínových látok. Straty vody odkvapom prsnej svaloviny boli najnižšie v pokusnej skupine HL ($p > 0,05$).

Tabuľka 4, Finálna hmotnosť kurčiat, percentuálna výťažnosť jednotlivých jatočných častí a straty vody odkvapom

	K	*PRO*	*HL*	*HLAPRO*	*p - hodnota*
Finálna hmotnosť kurčiat (g)	2335,0 ± 231,8	2352,5 ± 283,4	2254,1 ± 268,1	2183,7 ± 211,8	0,2861
Jatočná výťažnosť tela (%)	73,9 ±1,7	74,4 ± 1,0	74,5 ± 1,7	75,3 ± 1,6	0,1226
Prsia (%)	27,9 ± 2,4	27,7 ± 1,7	28,0 ± 1,8	27,3 ± 2,4	0,8026
Stehná (%)	25,0 ± 1,6	25,2 ± 1,2	25,4 ± 1,2	25,4 ± 1,2	0,6662
Krídla (%)	9,1 ± 2,1	10,6 ± 1,8	10,2 ± 0,7	10,5 ± 0,8	0,0587
Trup (%)	36,2 ± 1,7	35,9 ± 1,9	35,3 ± 1,6	34,3 ± 1,7	0,0294
Tuk (%)	1,0 ± 0,5	1,1 ± 0,4	1,2 ± 0,4	1,0 ± 0,4	0,4761
Strata vody odkvapom - prsia (%)	1,8 ± 0,9	1,8 ± 0,6	1,2 ± 0,2	1,8 ± 0,7	0,3883

K – kontrolná skupina; PRO – pokusná skupina s prídavkom probiotickým kmeňov *Lactobacillus fermentum* 2I3; HL – pokusná skupina s prídavkom 0,6 % Humac® Natur AFM Mycotoxisorb; HALPRO – pokusná skupina s prídavkom probiotickým kmeňov *Lactobacillus fermentum* 2I3 a humínových látok 0,6 % Humac® Natur AFM Mycotoxisorb

Priemerné hodnoty chemického zloženia prsnej svaloviny pokusných skupín brojlerových kurčiat uvádza tabuľka 2. Po aplikácii probiotík *Lactobacillus fermentum* 2I3 vo vode bol stanovený vyšší obsah tuku a porovnateľný obsah bielkovín v porovnaní s kontrolnou skupinou ($p > 0,05$). Po skrmovaní humínových látok Humac Natur AFM Mycotoxisorb bol zaznamenaný vyšší obsah tuku a nižší obsah bielkovín v porovnaní s kontrolou ($p > 0,05$), avšak Semjon et al. (2020) uvádzajú, že po skrmovaní humínových látok dochádza k zníženiu obsahu tuku a zvýšeniu obsahu bielkovín. Nami získané hodnoty tuku v prsnej svalovine (0,8 – 1,6%) sú výrazne nižšie, ako hodnoty uvádzané Semjonom et al. (2020) v prsnej svalovine 2,76 %, resp. 2,69 % pri skrmovaní 0,8 % a 1,0 % humínových látok v krmive a tiež Hudákom et al. (2021) obsah tuku 2,28 % pri 0,7 % zastúpení humínových látok v krmive. Kombinácia probiotík a humínových látok v strave brojlerových kurčiat spôsobila zníženie obsahu tuku oproti kontrolnej skupine ($p > 0,05$).

Tabuľka 5, Chemické zloženie prsnej svaloviny (%) pokusných skupín brojlerových kurčiat

	Voda	***Sušina***	***Tuk***	***Bielkoviny***
K	74,3 ± 0,8	25,7 ± 0,8	0,9 ± 0,4	22,6 ± 0,7
PRO	74,6 ± 0,1	25,4 ± 0,1	1,6 ± 0,2	22,0 ± 0,4
HL	74,9 ± 0,4	25,0 ± 0,5	1,5 ± 0,7	21,7 ± 0,8
HLAPRO	74,8 ± 1,1	25,2 ± 1,1	0,8 ± 0,2	22,5 ± 0,8
p – hodnota	0,5864	0,5864	0,1316	0,3183

K – kontrolná skupina; PRO – pokusná skupina s prídavkom probiotickým kmeňov *Lactobacillus fermentum* 2I3; HL – pokusná skupina s prídavkom 0,6 % Humac® Natur AFM Mycotoxisorb; HALPRO – pokusná skupina s prídavkom probiotickým kmeňov *Lactobacillus fermentum* 2I3 a humínových látok 0,6 % Humac® Natur AFM Mycotoxisorb

Hodnoty kolorimetrického merania pokusných vzoriek prsnej svaloviny brojlerových kurčiat pred a po skladovaní pri teplote 4 ± 2 °C zobrazuje tabuľka 3. Kolorimetrické meranie preukázalo štatistickú významnosť medzi jednotlivými pokusnými skupinami prsnej svaloviny na reze pred a po skladovaní v kolorimetrických parametrov L* a a*. Hodnota kolorimetrického parametra L* bola vo všetkých pokusných skupinách nižšia v porovnaní s kontrolnou skupinou a medzi skupinami bola zistená štatisticky významná rozdielnosť v tomto analyzovanom parametri ($p < 0,01$). Počas skladovania došlo k zmene hodnoty L* kolorimetrického parametra v pokusnej skupine PRO s prídavkom probiotík *Lactobacillus fermentum* ($p < 0,05$).

V a* kolorimetrickom parametri došlo štatistickému nárastu hodnoty a* len v kontrolnej skupine pred a po skladovaní ($p < 0,001$). Kolorimetrický parameter b* bol vo všetkých pokusných skupinách nižší v porovnaní s kontrolnou skupinou a medzi skupinami bola zistená štatistická významnosť $p < 0,01$ pred skladovaním a $p < 0,05$ po skladovaní. Pokusná skupina HL s prídavkom Humac natur AFM Mycotoxsorb vykazovala štatistickú významnosť kolorimetrického parametra b* pred a po skladovaní ($p < 0,05$).

Tabuľka 6, Farba mäsa prsnej svaloviny na reze pred a po skladovaní

	skladovanie	*K*	*PRO*	*HL*	*HLAPRO*	*p - hodnota*
L*(D65)	pred	$59,1 \pm 2,4^{a}$	$58,6 \pm 1,1^{a2}$	$58,8 \pm 1,2^{a}$	$56,2 \pm 1,7^{b}$	**0,0042**
	po	$58,9 \pm 3,0^{a}$	$59,0 \pm 1,7^{a1}$	$59,4 \pm 2,0^{a}$	$55,7 \pm 1,1^{b}$	**0,0078**
a*(D65)	pred	$12,9 \pm 0,7^{2}$	$13,0 \pm 0,8$	$12,7 \pm 1,3$	$13,5 \pm 1,2$	0,2860
	po	$13,7 \pm 0,6^{1}$	$12,6 \pm 1,4$	$12,1 \pm 1,5$	$13,4 \pm 1,3$	0,0505
b*(D65)	pred	$12,4 \pm 1,1^{a}$	$11,0 \pm 0,6^{b}$	$10,9 \pm 0,9^{b2}$	$10,9 \pm 1,2^{ab}$	**0,0047**
	po	$12,8 \pm 1,7^{a}$	$11,2 \pm 0,8^{ab}$	$11,4 \pm 0,7^{ab1}$	$10,6 \pm 1,3^{b}$	**0,0101**

K – kontrolná skupina; PRO – pokusná skupina s prídavkom probiotickým kmeňov *Lactobacillus fermentum* 2I3; HL – pokusná skupina s prídavkom 0,6 % Humac®Natur AFM Mycotoxisorb; HALPRO – pokusná skupina s prídavkom probiotickým kmeňov *Lactobacillus fermentum* 2I3 a humínových látok 0,6 % Humac®Natur AFM Mycotoxisorb; Priemery zdieľajúce zhodný horný index (a-b) v stĺpci (faktor: pokusná skupina) nie sú vzájomne štatisticky významne rozdielne (Tukeyho test, $p < 0,05$). Priemery zdieľajúce zhodný horný index (1,2) v stĺpci (faktor: doba skladovania) nie sú vzájomne štatisticky významne rozdielne v danom čase skladovania.

ZÁVER

Z dosiahnutých výsledkov možno konštatovať, že pridávanie *Lactobacillus fermentum* 2I3 do vody a humínových látok vo forme prípravku Humac natur AFM Mycotoxysorb v krmive brojlerových kurčiat má svoje opodstatnenie, ako alternatívy k antibiotikám, pre zlepšenie zdravotného stavu, hmotnostných prírastkov, jatočnej výťažnosti. Analýza chemického zloženia preukázala vplyv na obsah tuku a celkových bielkovín v jednotlivých pokusných skupinách. Z kolorimetrického merania vyplýva, že probiotiká a humínové látky ovplyvnili farbu mäsa prsnej svaloviny brojlerových kurčiat počas skladovania.

POĎAKOVANIE

Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny, Drive4SIFood 313011V336, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AOAC. Official Methods of Analysis, 15th ed. 1990. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
2. Arif, M., Alagawany, M., Abd El-Hack, M. E., Saeed, M., Arain, M. A., & Elnesr, S. S. Humic acid as a feed additive in poultry diets: a review. In *Iranian journal of veterinary research,* 2019. 20(3), 167–172.
3. Awad, W.A.; Ghareeb, K.; Böhm, J. Effect of addition of a probiotic micro-organism to broiler diet on intestinal mucosal architecture and electrophysiological parameters: Addition of probiotic micro-organism to broiler diet. In *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 2010, *94*, 486–494.
4. Hudák, M., Semjon, B., Marcinčáková, D., Bujňák, L., Naď, P., Koréneková, B., Nagy, J., Bartkovský, M., Marcinčák, S. 2021. Effect of Broilers Chicken Diet Supplementation with Natural and Acidified Humic Substances on Quality of Produced Breast Meat. In *Animals* (Basel). Apr 10;11(4):1087.
5. Jadhav, K.; Katoch, S.; Sharma, V.K.; Mane, B.G. Probiotics in Broiler Poultry Feeds: A Review. *J. Anim. Nutr. Physiol.* 2015, *1*, 4–16.
6. Jha, R., Das, R., Oak, S., Mishra, P. Probiotics (Direct-Fed Microbials) in Poultry Nutrition and Their Effects on Nutrient Utilization, Growth and Laying Performance, and Gut Health: A Systematic Review. In *Animals* 2020, 10, 1863.
7. Jha, R.; Fouhse, J.M.; Tiwari, U.P.; Li, L.; Willing, B.P. Dietary Fiber and Intestinal Health of Monogastric Animals. In *Front. Vet. Sci*. 2019, *6*, 48.
8. Karahuta, J. Prírodné humínové kyseliny – reálna alternatíva. In *Roľnícke noviny.* 2019. 30, str.7, ISSN 0231-6617.
9. Karaoglu, M. Effect of supplemental humate at different levels on the growth perfomance, slauhter and carcass traits of broilers. In *International Journal of Poultry Science.* 2004. vol.3, no. 6, p. 406-410.

10. Kocabagli, N., Alp, M., Acar, N., Kahraman, R. The effects of dietary humate supplementation on broiler growth and carcass yield. In *Poultry science*, 2002. 81, 227 – 230.
11. Nariadenie (ES) č. 1831/2003 Európskeho parlamentu a Rady z 22. septembra 2003 o doplnkových látkach určených na používanie vo výžive zvierat. 2003R1831 — SK — 30.12.2015 — 006.001 — 1.
12. Przybylski W, Jaworska D, Kajak-Siemaszko K, Sałek P, Pakuła K. Effect of Heat Treatment by the Sous-Vide Method on the Quality of Poultry Meat. In *Foods*. 2021 Jul 12;10(7).
13. Semjon, B., Marcinčáková, D., Koréneková, B., Bartkovský, M., Nagy, J., Turek, P., Marcinčák, S. 2020. Multiple factorial analysis of physicochemical and organoleptic properties of breast and thigh meat of broilers fed a diet supplemented with humic substances. In *Poultry Science*. Mar; 99(3):1750-1760.
14. Skalická, M., Naď, P., Bujňák, L., Hudák, M. 2019. Effect of humic substances on the mineral composition of chicken meat. In *Anim Husb Dairy Vet Sci*. 3, 2-5.
15. Timmerman, H.M.; Veldman, A.; van den Elsen, E.; Rombouts, F.M.; Beynen, A.C. Mortality and Growth Performance of Broilers Given Drinking Water Supplemented with Chicken-Specific Probiotics. In *Poult. Sci.* 2006, *85*, 1383–1388.
16. Vaško, L., Vajda, V. Humínové kyseliny vo výžive a ich vplyv na metabolizmus a produkčné zdravie. UVLF v Košiciach, 2009. dostupné online 20. 4. 2022: https://www.vetservis.sk/media/object/434/huminove_kyseliny_vo_vyzive_a_ich_vplyv_na_metabolizmus_a_produkcne_zdravie.pdf.

Kontaktná adresa: Anna Reitznerová, MVDr., PhD., Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika, E-mail: anna.reitznerova@uvlf.sk.

CHEMICKÉ ZLOŽENIE A BEZPEČNOSŤ MÄSA Z VOĽNE ŽIJÚCICH ZVIERAT ULOVENÝCH V POĽSKU

THE CHEMICAL COMPOSITION AND SAFETY OF GAME MEAT FROM WILD SPECIES HUNTED IN POLAND

Rutkowska-Mazur Alicja[1], Bartyzel Kinga[1], Niedziółka Jerzy[2], Migdał Łukasz[3], Walczycka Maria[1], Migdał Władysław[1]*

[1]Department of Animal Products Technology, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Kraków, Balicka 122, 31-149 Kraków, Poland

[2]Department of Zoology and Animal Welfare, Faculty of Animal Sciences, University of Agriculture in Krakow, Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków, Poland

[3]Department of Animal Genetics, Breeding and Ethology Faculty of Animal Sciences, University of Agriculture in Krakow, Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków, Poland

Abstract

Poland, Hungary, Slovenia and Austria belong to the leading producers of game meat in Europe, whereas the consumption of game meat is very low in Poland. There is a lack of tradition and nutritional habits of game consumption and the high prices of game meat and game products and also the fear for product safety discourage the game meat purchase. The main purpose of the study was to compare the meat of deer, roe deer, fallow deer and wild boar hunted in various regions of Poland. The meat of deer, roe deer, fallow deer and of wild boar was characterized by a good quality as the basic chemical composition of tissue. The high content of protein at average above 24% deserves special attention. The saddles and legs of deer, fallow deer and roe deer were characterized by low fat content from 0.46 to 1.46 % (at average). The fatty acids profile of intermuscular fat, of estimated game animals species was valuable from a nutritional point of view. The levels of heavy metals in analysed meats of wild animals obtained at the Polish territory did not exceed the acceptable boundary limits. The analysed game meat was safe for consumers consumption.

Key words*:*Game meat, deer, roe deer, fallow deer, wild boar, quality, safety

INTRODUCTION

Game is the edible meat of farmed game animals (Sadowski et al. 2014) or the game animals and their meat. (Dzierżyńska-Cybulko and Fruziński 1997, Florek and Drozd 2013, Krupka

1989). The population of game animals is combined from free living (wild animals) and farm game animals. According to the Regulation of Ministry of Environment (11th March 2005) the game animals is assembled of 31 species big and small game animal, where 3 species of stag (red deer, Sika deer, fallow deer), from 2001 year, are also the farm animals, what means that they can be breed at farms (Act on the organization of breeding and reproduction of farm animals, 2001). Each of above species (31; wild) is under whole year round species protection, has strictly defined hunting periods (Regulation of Minister of Environment issued 16th March 2005, with further amendments in 2009 and 2014), whereas the slaughter of farm game deer animals can be performed all year round. To big game belong, among other, red deer (*Cervus elaphus*), fallow deer (*Dama dama*), roe deer(*Capreolus capreolus*), described as game (fawn) deer and wild boar (*Sus scrofa*). Sources and acquisition of above mentioned species of game animals, from 1990 to 2021, in Poland, is presented in Tables 1-4. In the analysed period there was observed a meaningful growth of red deer, fallow deer and roe deer population, and for wild boar the growth was observed up to 2013/2014 season. Taking into account hares and partridges which populations lowered, at the same time, the shooting was limited as a consequence, so the boarder for obtaining game meat was moved towards deer.

Red deer *(Cervus elaphus L.)* is a hunted species and numerous occurrences in Polish forests allows for its shooting out. In the country population, there are distinguished, basing on differences in body mass and dimensions, coloration and antlers shape, many regional , different ecotypes as: Mazurian red deer, Carpathian red deer, Lublin red deer or Greater Poland red deer (Przybylski, 2003; Pielowski, 2002). Resources and acquisition of red deer, in Poland, is presented in Table 1

Table 1. Resources and acquisition of red deer in Poland (Statistical Yearbook of Forestry; www.pzlow.pl/hodowla-gospodarka-polowanie/statystyki-lowieckie/)

Hunting economic year	Hunting deer (heads)	Population deer (heads) as 10 of March
1990/1991	54 000	92 200
1999/2000	41 000	117 500
2010/2011	54 300	180 200
2012/2013	69 000	217 200
2013/2014	77 000	217 900
2014/2015	83 000	213 500
2015/2016	89 300	214 400
2018/2019	95 400	270 500
2019/2020	98 900	276 000
2020/2021	102 800	281 900

Red deer was one of the main hunter game animals from Medieval ages in our country, and up till XVIIth century was perceived as a common game. Starting from the end of XVIIIth century its abundance was drastically lowered to the levels that, in our land, red deer as present to the west from Vistula river only. Because of still lowering red deer population the process of reintroduction was started by the species resettlement. The resettlement concerned the deer originating from different European territories to Warmia and Mazury regions. The activity covered almost the whole territory of Poland and brought the very good results and the abundance (numbers) of species had grown in a meaningful speed. Unfortunately for a period of the Ist and IInd World Wars and poaching the number of red deer again was lowered. The aftermath of these was undertaking of a few subsequent activities connected to resettlement of deer. Starting from early 50-ties the next resettlement was performed up till the end of 60-ties of XXth century. The result of above is the constant growth of deer population which obtained level of 280 thousand heads. The deer present in Poland can be as wide as 2.5 meter and the height at the withers can be 1.5 m. The average body weight of deer is ranging from 150 to 160 kg, where the biggest mass and dimensions are obtained by the individuals 10-14 years of age – at around 224kg. The allowed hunting periods are: bulls –from 21st of August till the end of February (next year); does - from 1st of September to 15th of January, and calves from the end of September to the end of February.

Roe (European) deer (*Capreolus capreolus*)

The roe deer is, at present, one of the most abundant representatives of stag family, not only in Poland but also in Europe. Sarna obecnie jest jednym z najliczniejszych przedstawicieli rodziny jeleniowatych nie tylko w Polsce, ale i w Europie. Roe deer as an Eurotope species is characterised by big biological plasticity – as inhabited environments it can be met from dense forest complexes to forestless plains and farming lands [Pielowski,1999], that is why there are distinguished two ecotypes of roe deer – one lives in forests and borders between forts and fields whereas the other lives in plains (meadows). The allowed hunting periods are: roebucks –from 11th of May till 30th of September; roe goats and roe kids - from 1st of October to 15th of January. Resources and acquisition of roe deer, in Poland, is presented in Table 2.

Table 2. . Resources and acquisition of roe deer in Poland (Statistical Yearbook of Forestry; www.pzlow.pl/hodowla-gospodarka-polowanie/statystyki-lowieckie/)

Hunting economic year	Hunting roe deer (heads)	Population roe deer (heads) as 10 of March
1990/1991	166 000	560 800
1999/2000	155 000	597 100
2010/2011	160 700	822 000
2012/2013	172 000	875 900
2013/2014	187 000	873 500
2014/2015	195 000	867 000
2015/2016	203 400	870 600
2018/2019	210 100	906 100
2019/2020	192 900	885 500
2020/2021	202 700	916 900

Follow deer (*Dama dama*)

The follow deer is a species which, from the Medieval times (from XIIIth century at Silesian Lowland as park animal), was breed at the Polish land. The bigger scale introduction was started in the second half of XIXth century and at the beginning of XXth century. After end of IInd World War a few individuals of fallow deer were moved to eastern and medium Poland from too numerous population living in western and northern part of the country. Despite the large number of treatments (activities) aiming in increasing numbers of heads the amount of animals did not grow significantly. The tendency of growth has been observed in recent years, and the number of fallow deer, according to official statistics, has obtained level of 35 000 of individuals (Table 3). The allowed hunting periods are: bulls and calves –from 1st of September till the end of February; does - from 1st of September to 15th of January.

Table 3. Resources and acquisition of fallow deer in Poland (Statistical Yearbook of Forestry www.pzlow.pl/hodowla-gospodarka-polowanie/statystyki-lowieckie/)

Hunting economic year	Hunting fallow deer (heads)	Population fallow deer (heads) as 10 of March
1990/1991	1 700	5 384
1999/2000	2 300	9 050
2010/2011	6 400	23 319
2012/2013	7 500	28 198
2013/2014	8 400	28 107
2014/2015	8 600	27 542
2015/2016	9 600	28 324
2018/2019	9 000	29 681
2019/2020	8 700	29 346
2020/2021	10 000	34 936

Wild boar(*Sus scrofa*)

Wild boar is (*Sus scrofa*) a member of family *Suidae* and only one wild living representative of this family in Europe. In Poland is very often pointed as a wild animal, which is causing many problems nowadays. The wild boar from the typical forest animals becomes a species living in fields especially in the fields of cereals, corn, where aside the feed it finds the cover up till the winter time. Parallel with the change of wild boar biology there can be observed the growth in heads numbers from, at about, 46 000, in 1985/1986, to 284 600 in 2013/2014 (Table 4).

Table 4. Resources and acquisition of wild boar in Poland (Statistical Yearbook of Forestry; www.pzlow.pl/hodowla-gospodarka-polowanie/statystyki-lowieckie/)

Hunting economic year	Hunting wild boars (heads)	Population wild boars (heads) as 10 of March
1930	No data	16 000
1985/1986	No data	46 018
1990/1991	122 000	79 900
1999/2000	93 000	118 300
2005/2006	138 000	173 500
2009/2010	218 000	251 000
2012/2013	219 000	255 800
2013/2014	242 000	284 600
2014/2015	260 000	258 170
2015/2016	310 000	264 000
2016/2017	341 000	229 000
2017/2018	308 600	214 000
2018/2019	242 200	66 100
2019/2020	331 900	75 200
2020/2021	249 117	67 900

The density of wild boar population, in Poland is differentiated – the most numerous density is in: West Pomerania, Lubuskie and Lower Silesia Voivodeships, whereas the smallest population is in: Malopolska, Podlaskie, Łódzkie, Świętokrzyskie and Mazowieckie Voivodeships. Starting from the season 2013/2014 there raised the level of shooting of wild boar because of the presence of African Swine Fever (ASF), as a consequence of above the wild boar population diminished, in 2020/2021 season, to 67 900 heads. The allowed hunting periods is, nowadays, the all year round. African swine fever virus (ASFV) is non-infectious for humans but lethal for both wild boars and domestic pigs, therefore it poses a serious threat to European pig breeding (Pejsak et al. 2018). The first ASF outbreak was reported by the General Veterinary Inspectorate of Poland on 17th February 2014. The first case of ASF outbreak in domestic pigs was detected in a small backyard farm (five animals) in Grodek Commune (Bialystok County, Podlaskie Voivodeship) on 19th July 2014. ASF's virus causes morbidity at about 40 - 65% and mortality at about 85 - 100% (Pejsak and Woźniakowski, 2017).

Poland, Hungary, Slovenia and Austria belong to the leading producers of game meat in Europe. In Poland, in the structure of shooting off the biggest share have wild boars, roe deers and pheasants. From 90-ties of last century some meaning in increasing of game meat supply gathers the farm breeding of stags (Borys et al. 2012, Janiszewski et al. 2014, Kuba et al. 2015, Kilar et al. 2016). The level of consumption of game meat, in Poland, stays, from a long time, so low that the game meat is not taken into account in statistics data of consumers research (Kwiecińska et al., 2016). The published data reveal that the statistic Polish consumer eats at about 0.08 kg per head per year of game meat (Górecka and Szmańko, 2010). The biggest levels of game meat consumption is noticed in Sweden – at about 2.5kg per capita (Janiszewski and Daszkiewicz 2010), in Norway – at about 1.1 kg, in Germany 0.8 kg and in Great Britain 0.25kg (Kwiecińska et al., 2016). In Chechia the game meat consumption is estimated at 0.4 – 0.8 kg level (Dominik et al. 2012), whereas in Croatia at about 0.55kg per capita (Tolušić et al. 2006). Also gourmands of game meat are Austrians, French, Luxembourgers, Slovenes and Italian people (Siminska et al. 2011). According to available data the biggest amounts of game meat is eaten by hunters and their families and the smallest amounts by persons who have to search for this type of meat (special shops are not everywhere available)and its products on their own (Chardonnet et al., 2002).

The game meat is characterized by a great amount and quality of proteins, the advantageous amounts of unsaturated fatty acids, vitamins and minerals and by a low caloric value (Cordain 2002, Medeiros et al. 2002, Hoffman and Wiklund 2006, Williams 2007, Kilar and Ruda 2014,

Schulp et al. 2014, Strazdina 2014, Valencak et al. 2015). Also the game meat has a specific odor and taste (Hutchison et al. 2010, Postolache et al. 2011, Kwiecińska et al. 2016) and plays an important role in pro-health prevention (Lecocq 1997, Cordain et al. 2002, Skorupski and Wierzbicka 2014). But the lack of tradition and nutritional habits of game meat consumption and also the high prices of that meat and its products discourage buying of game what concludes in a low consumption. The important factor is consumer's fear about game meat product safety. There are arising suggestions that the game meat can be the source of heavy metals in the human diet so the diminishing of consumption is recommended to breast feeding women and children (Meltzer et al. 2013). But the research and monitoring have led to conclusion that the levels of heavy metals present in game meat, obtained in Poland, have not exceeded the limits and is not dangerous for consumers (Szkoda et al. 2011).

The main purpose of the study was to compare the meat of deer, roe deer, fallow deer and wild boar hunted in various regions of Poland.

MATERIALS AND METHODS

The research material were leg and saddle of red deer, fallow deer, roe deer and wild boar. All the individuals – game animals were shot out in autumn, what allowed for comparisons of obtained results.

The obtained samples of meat were comminuted and subjected to physico chemical analyses. The following items were estimated in the raw meat samples:

- water content according to the standard PN-ISO 1442:2000,
- fat content according to the standard PN-ISO 1444:2000,
- protein content by Kjeldahl method PN-75/A-04018,
- total ash content according to the standard PN-ISO 936:2000,
- total carbohydrates content was calculated assuming that the all total solids and water stand for 100%,
- The content of heavy metals (As, Cd, Pb, and Hg) was also determined. Analyses were conducted according to the Polish Standard PN-EN 15763:2010, with the inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS).

Fatty acid profile was determined by two analytical methods: lipid extraction from meat according to Folch et al. (1957) and esterification according to AOAC (1995). The fatty acid methyl esters were separated by gas chromatography using a TRACE GC ULTRA (Thermo Electron Corporation, Milano, Italy) with a flame ionization detector (FID) using SUPELCOWAX 10 column (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm). The separation conditions were as

follows: helium as the carrier gas, 1 ml/min; FID detector temp. 250ºc; injector temp. 220ºc; oven temp. Was held at 160ºc and increased (3ºc/min) to 210ºc (35 min); split ratio 10 ml/min. To the obtained fat (around 10 mg), 0.5 ml of 0.5M KOH in methanol was added and heated at 85ºc, after which 1 ml of 12% BF_3 in methanol was added and reheated at. 85ºc. After cooling to room temperature, 1 ml of hexane and 5 ml of saturated NaCl solution were added. 1 µl of the solution was injected on the chromatograph. Individual fatty acid methyl esters (FAME) were identified by comparing with a standard mixture of 37 FAME components (Supelco, Sigma-Aldrich Co.) And CLA isomers (Sigma-Aldrich Co.).

Statistical analysis

All samples were obtained at least in duplicates. All results were analysed with ANOVA and present as means with standard deviation. The calculations were performed with licensed Statistica version 13.1.

RESULTS AND DISCUSSION

The game meat of red deer, fallow deer, roe deer and of wild boar was characterized by good quality as the chemical composition – Table 5 and 6. The special attention is worth to be paid on high levels of protein (24.75% at average in red deer saddle).

Table 5. Chemical composition of saddle of assessed game animals.

	Species				Standard
	Deer	Roe deer	Fallow deer	Wild boar	deviation
Total solids %	26.59[a]	24.21[b]	27.92[a]	27.83[a]	1.88
Protein %	24.75[a]	21.5[b]	24.5[a]	22.47[b]	1.81
Fat %	0.7[a]	0.84[a]	0.76[a]	4.03[b]	1.54
Ash %	1.04	1.08	1.01	1.12	0.04
Carbohydrates %	0.1[a]	0.79[b]	0.65[b]	0.21[a]	0.36
Caloric value kcal/100g	105.7[a]	96.72[a]	105.58[a]	126.99[b]	13.12

a, b, c – means in rows with different letters differ statistically; P≤0,05

Table 6. Chemical composition of leg of assessed game animals

	Species				Standard deviation
	Deer	Roe deer	Fallow deer	Wild boar	
Total solids %	25.55^{ab}	26.95^{b}	24.73^{a}	28.54^{c}	1.12
Protein %	22.63^{a}	24.44^{b}	22.69^{a}	22.32^{a}	1.03
Fat %	1.15^{a}	0.99^{a}	0.46^{b}	4.85^{c}	1.86
Ash %	1.01	1.03	1.14	1.1	0.07
Carbohydrates %	0.76^{a}	0.494^{b}	0.44^{b}	0.27^{c}	0.17
Caloric value kcal/100g	103.91^{a}	108.65^{a}	96.66^{a}	134.01^{b}	16.23

a, b, c – means in rows with different letters differ statistically; P≤0,05

Daszkiewicz et al. (2013) stated that in roebucks saddle and leg 22.02 – 22.43% of protein is present, whereas Cygan-Szczegielniak and Janicki (2012) from 23.12 to 24.06%. Cygan-Szczegielniak and Janicki (2012) did not confirmed the influence of age and sex of roe deer on the content of protein in the saddle. Daszkiewicz et al. (2013) showed 22.09 – 22.93 % of protein in red deer leg and saddle, whereas Volpellia et al. (2003), in the saddles of fallow deer, breed at the experimental farm in Italy, obtained lower levels of protein (21.56 – 21.78%). The highest content of fat was obtained for wild boar leg – up to 4.85%. The saddles and legs of red deer, fallow deer and roe deer were characterized by lower amounts of fat – from 0.46 to 1.15%. Polak et al. (2008) obtained values of 1.14 to 1.72% of fat in legs and saddles of red deer, fallow deer and roe deer, whereas Daszkiewicz et al. (2009) found, in the meat of red deer, free living in northern-east Poland hunting areas, the lower amounts of fat (0.56 – 0.96%). The meat of fallow deer contained from 0.46 to 0.76% of fat, whereas according to Piaskowska et al. [2015], in meat of fallow deer, there was from 0.30% (doe) to 0.50% (bull) of fat.

Red deer, fallow deer, roe deer and wild boars analyzed for meat quality originated from different hunting areas so the differentiation in chemical composition of individual carcasses cuts. The influence of place of origin (hunting area) on chemical composition of red deer bulls was observed by Daszkiewicz et al. (2013). They have showed that meat originating from roe deer roebucks, from north-east Poland hunting area contained less fat in comparison to meat obtained of roebucks of south-east Poland hunting area. It was combined to different accessibility to feed and the free living animals population density. The individual cuts of free living animals differ in chemical composition, especially in protein and fat levels [Daszkiewicz et al. 2013], so these cuts are differentiated also in prices. The caloric value of analyzed game meat mainly depended on fat content and ranged from 96.66 kcal/100g of fallow deer leg to 134.01 kcal/100g of wild boar leg. Similarly Dzierżyński-Cybulko and Fruziński (1997)

reported the low caloric value of wild game meat – 98 to 120 kcal/100g of meat. The advantage of game meat is the favorable fatty acid profile of meat fat tissue. There is presented the fatty acid profile of estimated, hunted animal species.

Table 7. Fatty acid profile of saddle of fat in assessed game animals (%)

Fatty acids	Species				Standard deviation
	Deer	Fallow deer	Roe deer	Wild Boar	
C-10:0	0.08^{a}	0.17^{b}	0.10^{a}	0.14^{b}	0.047
C-12:0	0.20^{b}	0.36^{c}	0.21^{b}	0.12^{a}	0.089
C-14:0	3.74^{a}	5.27^{b}	2.28^{c}	1.78^{c}	1.495
C-14:1	0.70^{a}	1.35^{b}	0.08^{c}	0.28^{c}	0.635
C-15:0	0.65^{a}	0.67^{a}	0.30^{b}	0.12^{c}	0.208
C-16:0	24.75^{a}	33.53^{c}	29.25^{b}	36.83^{c}	4.390
C-16:1*n9*	0.67	0.65	0.49	0.73	0.099
C-16:1*n7*	4.40^{a}	5.64^{a}	0.74^{c}	1.97^{b}	2.547
C-17:0	0.68	0.70	0.82	0.47	0.076
C-17:1	0.27	0.27	0.19	0.19	0.046
C-18:0	22.90^{ab}	19.98^{a}	24.09^{b}	16.87^{a}	2.115
C-18:1 *n-9*	20.60^{b}	16.98^{a}	15.55^{a}	35.01^{c}	2.645
C-18:1*n-7*	5.02^{a}	3.46^{ab}	2.62^{b}	3.23^{ab}	1.217
C-18:2 *n-6*	8.52^{b}	5.99^{c}	12.42^{d}	1.15^{a}	3.239
C-18:3*n-6*	0.15^{a}	0.13^{a}	0.12^{a}	0.04^{b}	0.015
C-18:3*n-3*	2.10^{a}	1.14^{b}	1.53^{b}	0.05^{c}	0.483
CLA	0.17^{a}	0.22^{a}	0.26^{a}	0.07^{b}	0.045
C-20:0	0.30	0.23	0.23	0.16	0.040
C-20:1	0.22^{a}	0.20^{a}	0.12^{a}	0.56^{b}	0.053
C-20:2	0.08^{a}	0.09^{a}	0.16^{b}	0.07^{a}	0.044
C-20:3 *n-6*	0.19^{b}	0.24^{b}	0.51^{c}	0.02^{a}	0.172
C-20:4*n-6*	1.87^{b}	1.75^{b}	4.71^{c}	0.03^{a}	1.675
C-20:4*n-3*	0.05	0.04	0.05	0.01	0.006
C-20:5 *n-3*	0.38^{c}	0.18^{b}	0.88^{d}	0.01^{a}	0.360
C-22:4 *n-6*	0.06^{a}	0.09^{ab}	0.14^{b}	0.02^{a}	0.040
C-22:5 *n-3*	0.96^{c}	0.46^{b}	1.74^{d}	0.03^{a}	0.645
C-22:6 *n-3*	0.19^{c}	0.11^{b}	0.21^{c}	0.02^{a}	0.053
other	0.10^{b}	0.10^{b}	0.20^{c}	0.02^{a}	0.058
PUFA *n-3*	3.68	1.93	4.43	0.12	1.283
PUFA *n-6*	10.79^{b}	8.20^{b}	17.90^{c}	1.26^{a}	2.022
PUFA *n6/n3*	2.93^{a}	4.25^{b}	4.04^{b}	10.5^{c}	0.709

a, b, c, d – means in rows with different letters differ statistically; P≤0,05

The fatty acid profile of assessed game meat was valuable from a nutritional point of view. The ratio of n-6/n-3 deserves special attention, which ranged from 2.92 (red deer) to 4.25 (fallow deer). Similar values for intramuscular fat of red deer was observed by Polak et al. (2008). Cygan-Szczegielniak and Janicki (2011) also reported standard pattern, in accordance with norms, levels of favorable for human fatty acids. The profiles of fatty acids for intramuscular fat of red deer, fallow deer and roe deer are similar to those of lamb and veal meats. Among the opponents of game meat, there are present suggestions that game animals meat can be the source of heavy metals. In Table 8, there are presented contents of arsenic, cadmium, lead and mercury in the tissues of deer, roe deer and wild boar.

Table 8. Content of arsenic, cadmium, lead and mercury in the tissues of game animals

	Gatunek		
	Deer	Roe deer	Wild boar
Arsenic (As) µg/kg	6.88	5.6	11.47
	(1.4 - 20.3)	(4.0 - 7.8)	(3.7 - 38.5)
Cadmium (Cd) µg/kg	13.74	4.88	5.33
	(1.5 - 39.7)	(2.0 - 8.7)	(2.0 - 12.4)
Lead (Pb) µg/kg	37.66	47.28	45.2
	(18.1 - 72.1)	(21.5 - 70.2)	(10.7 - 70.0)
Mercury (Hg) µg/kg	< 1.0	< 1.16	4.14
		(< 1 - 1.8)	(1.0 - 7.7)

The content of arsenic in game meat ranged from 1.4 µg/kg (red deer) to µg/kg (wild boar). The highest amount of cadmium was reported in red deer meat (39.7 µg/kg). The content of mercury in red deer meat was lower than 1 µg/kg, whereas in wild boar meat it ranged from 1.0 to 7.7 µg/kg. The high content of lead in meat may be of concern: in red deer meat 37.66 µg/kg, in roe deer 47.28 µg/kg and wild boar 45.2 µg/kg. The lead content ranged from 10.7 to 72.1 µg/kg. Zowczak et al. (2016) reported the influence of carcass mass on lead concentration in meat tissue – the highest concentration of that element was observed in wild boars with body mass up to 20 kg (0,0735 mg/kg), whereas the lowest in boars weighing above 60 kg(0,0267 mg/kg). According to low regulations concerning the permissible levels of contamination of foodstuffs the maximum lead level in the meat tissue cannot exceed 0.10 mg/kg (EC Regulation, 2011). Earlier research of Szkoda and Żmudzki (2001) showed much higher content of lead in wild boar meat tissue – 4.342 mg/kg, and the actual maximum limit of lead in the meat was exceeded, in 25% of examined samples. The authors concluded that such high concentration of

toxic elements was rather connected to carcasses pollution by the gunshot wounds that the actual contamination of the environment.

The highest allowance limits (NDP) of pollutants described in the Commission Regulation (EC) no 1881/2006 (issued 16th December 2006 with later amendments) are, respectively: Pb – 0,10 mg/kg in meat, 0.50 mg/kg in liver and kidneys; Cd – 0.05 mg/kg in meat, 0.50 mg/kg in liver, 1.00 mg/kg in kidneys. The results for arsenic and mercury levels of contamination were compared to guidelines concerning meat and meat products of National Food Safety Standards: for arsenic – 0.5 mg/kg, for mercury – 0.05 mg/kg. The amounts of heavy metals present in the analyzed game meat obtained in Poland do not exceed the allowance limits and the meat is not dangerous for consumers. The substantial factor deciding of low game meat consumption is uncertainty about the level of its safety. According to Kwiecińska et al.(2015) in the consumers opinion the most important threats are: trichinosis (mainly in wild boar), genetic modifications of meat, presence of hormones and toxoplasmosis. Meat from wild boars is mandatory analyzed by veterinarians for *Trichinella spiralis*. In Table 9. are presented data about *Trichinella spiralis* presence in meat from wild boars.

Table 9. *Trichinella spiralis* in meat from wild boars in Poland

Year	Number of examinated animals	Number of infected animals	% infected animals	References
1996	51 738	145	0.28	Cabaj et al. 2004
1997	33 713	105	0.31	Cabaj et al. 2004
1998	41 868	69	0.16	Cabaj et al. 2004
2000	44 378	80	0.18	Cabaj et al. 2004
2007	103 305	296	0.29	Flis, 2012
2010	162 802	558	0.34	Flis, 2012
2011	145 129	465	0.32	Flis, 2012

The wild boar meat obtained from animals shot out in autumn, characterized by higher content of intramuscular fat it is perfect as a raw material for the production of ripening hams and medium minced sausages. According to many authors the wild boar meat can be attractive to consumers because in comparison to meat obtained from farm animals contains lower amounts of cholesterol and fat and higher amounts of protein (Korzeniowski et al. 1991, Werpachowski and Zalewski 2012, Kasprzyk 2015, Piaskowska 2015). Consumers are interested in buying of wild boar meat but the main obstacle is its high price and availability at the market. Also the wild boar meat is firm with higher level of hardness (when chewing) so it demands the proper

treatment – crushing and brining – much more time and efforts consuming when prepared. There should be undertaken the nutritional education among consumers in scope of meat safety, especially of game meat, because the product is characterized by a high nutritional value.

CONCLUSIONS

Red deer, fallow deer and roe deer meat were characterized by good quality as the chemical composition of tissues. Particularly noteworthy is the high protein content of over 24%. The saddles and legs of red deer, fallow deer and roe deer meat were characterized by low amounts of fat from 0.46 to1.46 %.The fatty acids profile of intramuscular fat in estimated game meat was beneficial from a nutritional point of view. Particularly noteworthy is the ratio of n-6 / n-3 acids, which ranged from 2.92 (deer) to 4.25 (fallow deer). The caloric value of the analyzed venison depended mainly on the fat content. The analyzed meat of deer, fallow deer, roe deer and wild boar were characterized by a very good chemical composition and deserves the recommendation for consumers.

REFERENCES

1. Act of August 20, 2001on the organization of breeding and reproduction of farm animals. (Ustawa z dnia 20 sierpnia 1997 r. o organizacji hodowli i rozrodzie zwierząt gospodarskich). Dz.U. 1997 nr 123 poz. 774
2. Borys B., Bogdaszewska Z., Bogdaszewski M. 2012: Dynamic growth of farm breeding of fallow deer and deer in Poland. (Dynamiczny wzrost fermowej hodowli danieli i jeleni w Polsce). Wiadomości Zootechniczne, **1**, 33-44 (in Polish).
3. Cabaj W., Moskwa B., Pastusiak K., Malczewski A. 2004: Trichinellosis in wild animals and domestic pigs in Poland. (Włośnica u zwierząt wolno żyjących i świń w Polsce). Medycyna Wetrynaryjna, **60**, 80-83 (in Polish).
4. Chardonnet, Ph., des Clers B., Fischer J.R.,Gerhold R., Jori F., Lamarque F. 2002: The value of wildlife. Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics). **21,** 15-51. 10.20506/rst.21.1.1323.
5. Commission Regulation (EC) no 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs.
6. Commission Regulation (EU) No 420/2011 of 29 April 2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs.
7. Commission Regulation (EU) No. 836/2011 of 19th August 2011 amending Regulation (EC) No. 333/2007 laying down the methods of sampling and analysis for the official

control of the levels of lead, cadmium, mercury, inorganic tin, 3-MCPD and benzo(a)pyrene in foodstuffs

8. Cordain L., Watkins B.A., Florant G.L., Kelher M., Rogers L., Li Y. 2002: Fatty acid analysis of wild ruminant tissues: evolutionary implications for reducing diet-related chronic disease. European Journal of Clinical Nutrition, **56**(3), 181-191.
9. Cygan-Szczegielniak D., Janicki B. 2011: Infulence of Age and Sex on the CLA and Other Fatty Acids Content in Roe Deer Meat (Capreolus capreolus L.). Folia Biologica, **59** (1-2), 19-24.
10. Cygan-Szczegielniak D., Janicki B. 2012: Effect of age and sex of roe deer on tenderness and other quality characteristics of *longissimus lumborum* muscle. (Wpływ wieku i płci saren na kruchość oraz inne cechy jakości mięśnia *longissimus lumborum*). ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość, **6** (85), 127 – 137 (in Polish).
11. Daszkiewicz T., Janiszewski P., Wajda S. 2009: Quality characteristics of meat from wild red deer (*Cervus elaphus L.*) hinds and stags. J. Muscle Foods, **20** (4), 428-448.
12. Daszkiewicz T., Wilga K., Janiszewski P., Śmiecińska K., Kubiak D. 2013: Quality comparison of meat from red deer *(Cervus elaphus* L.) harvested in Poland and Hungary. (Porównanie jakości mięsa jeleni szlachetnych *(Cervus elaphus* L.) pozyskanych na terenie Polski i Węgier). Żywność Nauka Technologia Jakość, **4** (89), 77 – 89 (in Polish).
13. Dominik P., Saláková A., Buchtová H., Steinhauser L. 2012: Quality indicators of roe deer (*Capreolus capreolus L.*) venison in relation to sex Pol. J. Food Nutr. Sci., **62**, 3, 185-191.
14. Dzierżyński-Cybulko B., Fruziński B. 1997: Venison as a food source (Dziczyzna jako źródło żywności). PWRiL, Poznań 1997 (in Polish).
15. Flis M. 2011: Incidence of trichinosis in wild boars and swine in Poland in 2003-2009. (Występowanie włośnicy u dzików i świń w Polsce w latach 2003-2009). Medycyna Wetrynaryjna, **67(**7), 470-473 (in Polish).
16. Flis M. 2012: Trichinosis in pigs and wild boars in Poland in years 2007–2011. (Włośnica u świń i dzików w Polsce w ciągu ostatnich 5 lat). Życie Weterynaryjne, **87**(7), 602-604 (in Polish).
17. Florek M., Drozd L. 2013: Bioactive compounds in deer meat (review). Medycyna Weterynaryjna, **69** (9): 535-539.
18. Folch J., Lees M., Stanley G.H.S. 1957: Asimple method for the isolation and purification of lipids from animal tissue. J. Biol. Chem., **226**, 497–509

19. Górecka J., Szmańko T. 2010: Nutritional values of game. (Walory żywieniowe dziczyzny). Magazyn Przemysł Mięsny, nr 1-2, 20-21 (in Polish).
20. Hoffman L. C., Wiklund E. 2006: Game and venison – meat for the modern consumer. Meat Science **74**: 197-208.
21. Hutchison C.L., Mulley R.C., Wiklund E., Flescha J.S. 2010: Consumer evaluation of venison sensory quality: Effects of sex, body condition score and carcase suspension method. Meat Science, **86**(2), 311–316.
22. Janiszewski P., Bogdaszewska Z., Bogdaszewski M., Bogdaszewski P., Ciulko-Dołęga J., Nasiadka P., Steiner Ż. 2014: Breeding and farm breeding of deer family. (Chów i hodowla fermowa jeleniowatych). Wydawnictwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie (in Polish).
23. Janiszewski P., Daszkiewicz T. 2010: Game animals, rules of proper acquisition and management. (Zwierzęta łowne, zasady prawidłowego pozyskiwania i zagospodarowania), Wyd. UWM, Olsztyn (in Polish).
24. Kasprzyk A. 2015: Porównanie parametrów chemicznych i fizycznych mięśnia longissimus dorsi dzików i tuczników. Journal of Animal Science, Biology and Bioeconomy, **33**(1), 1-9.
25. Kilar J., Ruda M. 2014: The nutritional value organic meat from the loin of deer and fallow deer. 6th International Conference on the „Quality and Safety in Food Production Chain". Wrocław, 26-27 June 2014, s. 72.
26. Kilar J., Ruda M., Kilar M. 2015: Consumer interest in game. (Konsumenckie zainteresowanie dziczyzną). W: Trendy w żywieniu człowieka, M. Karwowska, W. Gustaw (red.), Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków (in Polish).
27. Kilar J., Ruda M., Kusz D. 2016: Ecological breeding and use of farmed deer animals. (Ekologiczny chów i użytkowanie gospodarskich zwierząt jeleniowatych). Wydawnictwo RUTHENUS, Krosno (in Polish).
28. Korzeniowski W., Bojarska U., Cierach M. 1991: Nitritive value of the wild boar meat. (Wartość odżywcza mięsa dzików). Medycyna Weterynaryjna, **47**(6): 279-281 (in Polish).
29. Krupka J. (red.). 1989. Hunting (Łowiectwo). Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne. Warszawa, 1-528 (in Polish).
30. Kuba J., Landete-Castillejos T., Udała J. 2015: Red deer farming: Breeding practice, trends and potential in Poland – A Review. Annals of Animal Science, **15** (3): 591-599.

31. Kwiecińska K., Kosicka - Gębska M., Gębski J. 2015: Poziom bezpieczeństwa jako czynnik warunkujący konsumpcję dziczyzny. Probl. Hig. Epdemiol., **96** (3), 594–597 (in Polish).
32. Kwiecińska K., Kosicka-Gębska M., Gębski J. 2016: Ocena preferencji konsumentów związanych z wyborem dziczyzny, Handel wewnętrzny; **1** (360):53-64 (in Polish).
33. Kwiecińska K., Kosicka-Gębska M., Gębski J. 2016: Challenges for the development of the venison market in Poland. **(**Wyzwania dla rozwoju rynku dziczyzny w Polsce). Zeszyty Naukowe Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Problemy Rolnictwa Światowego **16** (3): 251-260 (in Polish).
34. Lecocq Y. 1997: A European perspective on wild game meat and public health. Revue Scientifique et Technique, **16**(2), 579-585.
35. Medeiros L.C., Busboon J.R., Field R.A., Williams J.C., Miller G.J., Holmes B. 2002: Nutritional Content of Game Meat. Departments of Family and Consumer Sciences and Animal Sciences, Cooperative Extension Service, College of Agriculture, University of Wyoming.
36. Meltzer H.M., Dahl H., Brantsæter A.L., Birgisdottir B.E., Knutsen H.K., Bernhoft A., Oftedal B., Lande U.S., Alexander J., Haugen M., Ydersbond T.A. 2013: Consumption of lead-shot cervid meat and blood lead concentrations in a group of adult Norwegians. Environmental research, **127**, 29-39.
37. National Food Safety Standards. Maximum levels of contaminants in food products. Warszawa 11/13/ 2013
38. Pejsak Z., Niemczuk K., Frant M., Mazur M., Pomorska-Mól M., Ziętek-Barszcz A., Bocian Ł., Łyjak M., Borowska D., Woźniakowski G. 2018: Four years of African swine fever in Poland. New insights into epidemiology and prognosis of future disease spread. Pol. J. Vet. Sci., **21**, 835–841.
39. Pejsak Z., Woźniakowski G. 2017: Wild boar as a reservoir of African swine fever virus and source of infection for swine. (Dziki rezerwuarem wirusa afrykańskiego pomoru świń i źródłem zakażenia świń). Życie Weterynaryjne, **92**(9), 648-651 (in Polish).
40. Piaskowska N. 2015: Venison as a health food. (Dziczyzna jako zdrowa żywność) Gospodarka Mięsna **9,** 36–37 (in Polish).
41. Piaskowska N., Daszkiewicz T., Kubiak D., Janiszewski P. 2015: The Effect of Gender on Meat (Longissimus Lumborum Muscle) Quality Characteristics in the Fallow Deer (Dama dama L.). Italian Journal of Animal Science, **14**(3), 289-393.

42. Pielowski Z. 2002: Individual quality of the deer. (Jakość osobnicza jelenia). Brać Łowiecka, **12** (57): 22-23 (in Polish).
43. Polak T., Rajar A., Gašperlin L., Zlender B. 2008: Cholesterol concentration and fatty acid profile of red deer (Cervus elaphus) meat. Meat Science, 80(3), 864-869.
44. Polish Committee for Standardization. (2013). PN-ISO 1442:2000, Meat and meat products. Water contents determination. Polish Committee for Standardization, Warsaw, Poland.
45. Polish Committee for Standardization. (2013). PN-ISO 1444:2000, Meat and meat products. Free fat contents determination. Polish Committee for Standardization, Warsaw, Poland.
46. Polish Committee for Standardization. (2002). PN-75/A-04018:1975/Az3:2002, Agricultural food products. Nitrogen contents determination with Kjeldahl's method and recalculation into protein. Polish Committee for Standardization, Warsaw, Poland.
47. Polish Committee for Standardization. (2013). PN-ISO 936:2000, Meat and meat products. Determination of total ash content. Polish Committee for Standardization, Warsaw, Poland.
48. Polish Standard PN-EN 15763:2010 Foodstuffs - Determination of trace elements - Determination of arsenic, cadmium, mercury and lead in foodstuffs by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after pressure digestion. (Oznaczanie zawartości arsenu, kadmu, rtęci i ołowiu metodą spektrometrii mas z plazmą wzbudzoną indukcyjnie (ICP-MS) po mineralizacji ciśnieniowej).
49. Postolache A.N, Boişteanu P.C., Lazăr R. 2011: Red deer meat (Cervus elaphus l.): between hunting and necessity. Lucrări Ştiinţifice, Seria Zootehnie, **56**, 265-269.
50. Przybylski A. 2003: Deer - a repetition of history. (Jeleń - powtórka z historii). Zachodni Poradnik Łowiecki, **2** (6): 8-9 (in Polish).
51. Regulation of the Minister of the Environment of March 11, 2005 on the list of game species. (Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 11 marca 2005 r. w sprawie ustalenia listy gatunków zwierząt łownych). Dz.U. 2005 nr 45 poz. 433
52. Regulation of Minister of Environment issued 16th March 2005, with further amendments in 2009 and 2014 on the determination of hunting seasons for game animals. (Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 16 marca 2005 r. w sprawie określenia okresów polowań na zwierzęta łowne). Dz.U. 2005 nr 48 poz. 459

53. Sadowski J., Sojka F., Kośka K. 2014: Selected problems of placing on the market and management of game. (Wybrane problemy wprowadzania do obrotu oraz zagospodarowania dziczyzny). SiM CEPL, **16**, 38/1, 162–170 (in Polish).
54. Schulp C.J.E., Thuillerb W., Verburga P.H. 2014: Wild food in Europe: A synthesis of knowledge and data of terrestrial wild food as an ecosystem service. Ecological Economics, **105**, 292-305.
55. Siminska E., Bernacka H., Sadowski T. 2011: The situation on the world and domestic venison market. (Sytuacja na światowym i krajowym rynku dziczyzny). Annals of Warsaw University of Life Sciences – SGGW, Animal Science, **50**, 89-96.
56. Skorupski M., Wierzbicka A. 2014: Dziczyzna jako źródło zdrowej żywności – problemy i perspektywy. Studia i Materiały CEPL w Rogowie, **16**(38/1), 171-174.
57. Statistica 13.1. StatSoft. Available online: https://www.statsoft.pl/statistica_13/
58. Statistical Yearbook of Forestry (GUS) Statistics Poland, Warszawa
59. Strazdina V. 2014. Biochemical evaluation of game meat in Latvia. Summary of Doctoral Thesis for the Academic Degree in Engineering and Food Science, Latvia University of Agriculture.
60. Szkoda J., Nawrocka A., Kmiecik M., Żmudzki J. 2011: Monitoring study of toxic elements in food of animal origin. (Badania kontrolne pierwiastków toksycznych w żywności pochodzenia zwierzęcego). Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych, **48**, 475-489 (in Polish).
61. Szkoda J., Żmudzki J. 2001: Toxic elements in tissues of game animals (Pierwiastki toksyczne w tkankach zwierząt łownych). Medycyna Weterynaryjna, **57**, 12, 883-886 (in Polish).
62. Tolušić Z., Florijančić T., Kralik I., Sesar M., Tolušić M. 2006: Game meat market in Eastern Croatia. Poljoprivreda Journal Agriculture, **12**(2), 58-63.
63. Valencak T.G., Gamsjäger L., Ohrnberger S., Culbert N.J., Ruf T. 2015: Healthy n-6/n-3 fatty acid composition from five European game meat species remains after cooking. BMC Research Notes, 8, 273.
64. Volpellia L.A., Valussoa R., Morgantea M., Pittiab P., Piasentiera E. 2003: Meat quality in male fallow deer (Dama dama): effects of age and supplementary feeding. Meat Sci. **65** (1): 555-562.
65. Werpachowski M., Zalewski D. 2012: Dziczyzna – mięso niedoceniane przez polskich konsumentów. Przegląd Hodowlany, 3-4, 29-31 (in Polish).

66. Williams P.G. 2007: Nutritional composition of red meat. Nutrition & Dietetics, **64**(4), 113-119.
67. www.pzlow.pl/hodowla-gospodarka-polowanie/statystyki-lowieckie/
68. Zowczak M., Niedziałek G., Miler R., Salamończyk E. 2016: The concentration of lead in muscle tissue of wild boars (Sus scrofa) in selected voivodeships in Poland. (Koncentracja ołowiu w tkance mięśniowej dzików (Sus scrofa) w wybranych województwach w Polsce). Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego, **12** (1), 2016, 39-45 (in Polish).

Contact address: prof. Władysław Migdał, DSc., Department of Animal Product Technology University of Agriculture in Krakow, Balicka 122, 31-149 Kraków, Poland; E-mail: wladyslaw.migdal@urk.edu.pl

TRENDY PRODUKCIE AKVAKULTÚRY V NÓRSKU

TRENDS IN NORWEGIAN AQUACULTURE PRODUCTION

Sørensen Mette

Faculty of Biosciences and Aquaculture, Nord University, 8026 Bodø, Norway

ABSTRACT

Aquaculture is the fastest growing food sector in the world, with an impressive increase in production from approximately 43 to 120 million tonnes during the last two decades. Around 71% of the global production is fish or aquatic animals and the rest is aquatic plants. The main share of aquaculture production is centred around just 22 species. The estimated farmed fish production in Europe in 2020 was 2.6 million tons, with Norway dominating the market and responsibly providing 58% of the total supply. Salmonids are the dominant species in Norwegian aquaculture; the current production is 1.47 and 0.09 million tons of Atlantic salmon and rainbow trout, respectively. Norway has witnessed a three-fold increase in production volume since the turn of the millennium but the growth rate has shown a declining trend for the last decade. This reduction is mainly explained by the strong regulatory framework as well as the emphasis on fish welfare and sustainable development of the aquaculture industry. New licenses are only awarded for development of new production technologies that address the key challenges associated with sustainability issues and fish welfare. Shortage of high-quality ingredients is a threat for farming of carnivorous species such as Atlantic salmon. A recent report (NOFIMA report 2/2022) shows that the Norwegian aquaculture industry consumed 1.977 million tons of feed ingredients and of this only 8% were produced in Norway. Marine ingredients accounted for 22.3% of the feed formulation. Catering to the needs of the industry and to address the sustainability issues, 40.5 and 20.1% of plant protein and plant oil, respectively are included in salmon feeds. The replacement of fish oil with plant oil has changed the lipid profile in the feeds; unfavourable n-6/n-3 ratio, low content of EPA + DHA as well as phospholipids and cholesterol. This nutritional shift has an impact on the fish performance, fish welfare and also the quality of the final product for human consumption. More sustainable ingredient solutions are also warranted to improve the climate footprint of the salmon product, mainly due to the import of the feed ingredients.

The presentation given at the conference will address the trends in the Norwegian aquaculture production with the main focus on advancements in production technology, fish welfare and choice of feed ingredients and product quality for the end user.

Key words: Fish production**,** salmonids, welfare, sustainability

Contact address: Sørensen Mette, Faculty of Bioscience and Aquaculture, Nord University, Post box 1490, 8049 Bodø; E-mail: mette.sorensen@nord.no

MÔŽE HYDINOVÉ MÄSO OBSAHUJÚCE ZVYŠKY ANTIBIOTÍK SKONČIŤ NA VAŠOM STOLE ?

MAY POULTRY MEAT CONTAINING THE ANTIMICROBIAL SUBSTANCES BE SERVED AT YOUR TABLE?

Škuntová Oľga, Cabanová Lenka, Vieriková Michaela

Štátny veterinárny a potravinový ústav v Dolnom Kubíne

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

ABSTRACT

Consumers consider that at retail they buy good and healthy foodstuff which do not pose any risk for them. But the reality and results of many official controls show that there is unhealthy food which occurs at retail level in spite of the fact that EU and national legislation lays down the rules for the producers to control their production. In our study we would like to present poultry meat analyzed for residues of veterinary substances which are commonly used in treatment of bacterial infections, for improving the health conditions and production. With no adequate using, not keeping the protection periods, these antibiotics can persist in meat and so can be potential risky for human health.

Keywords: residues, veterinary substances, poultry meat, screening tests

ÚVOD

V štátnych úradných laboratóriách sa vyšetrujú reziduá veterinárnych liečiv v hydinovom mäse (aj v iných druhoch mias) akreditovanými a validovanými metódami. Používajú sa screeningové testy: PREMItest, mikrobiologická päť-platňová metóda STAR, CHARM II a konfirmačné metódy LC/MS/MS. Používanie antimikrobiálnych látok je prísne regulované legislatívou EÚ. Hydinové mäso nesmie byť uvedené na trh, ak obsahuje reziduá antibiotík v množstve, ktoré prekračujú hodnotu povolenú podľa Nariadenia Európskeho Parlamentu a Rady (ES) č. 470/2009 zo 6. mája 2009 o stanovení postupov Spoločenstva na určenie limitov rezíduí farmakologicky účinných látok v potravinách živočíšneho pôvodu a Nariadenia Komisie (EÚ) č. 37/2010 z 22. decembra 2009 o farmakologicky účinných látkach a ich klasifikácií, pokiaľ ide o maximálne limity rezíduí v potravinách živočíšneho pôvodu.

MATERIÁL A METÓDY

Vyšetrované vzorky boli odoberané v rámci samokontroly a úradnej kontroly v zmysle Metodického pokynu : Postup odberu vzoriek a laboratórneho vyšetrovania produktov živočíšneho pôvodu, ktoré sú rozdelené na kontrolu potravín:

- odber vzoriek surovín a potravín u výrobcov
- odber vzoriek surovín a potravín v obchodnej sieti
  - domáceho pôvodu
  - ostatných členských krajín a tretích krajín

u ktorých sa vykonali vyšetrenia na prítomnosť rezíduí veterinárnych liečiv screenigovými metódami: PREMItest a mikrobiologickou päť-platňovou metódou STAR

VÝSLEDKY

Od januára 2019 do konca roku 2021 bolo vo VPÚ Dolný Kubín vyšetrených spolu 131 vzoriek hydinového mäsa: zabitá hydina, hydinové diely v chladenom, mrazenom a hlbokomrazenom stave. Z toho screeningovými metódami sa zistili 3 prípady s pozitívnym nálezom a konfirmačnou metódou LC/MS/MA sa potvrdila prítomnosť tetracyklínových ATB.

ZÁVER

Kontrola u výrobcov ako aj v obchodnej sieti je veľmi dôležitá a potrebná. Mnohí výrobcovia si neuvedomujú, že nedodržaním správnej výrobnej praxe môžu ohroziť zdravie spotrebiteľov.

Výsledky a literatúra u autorov

Kontaktná adresa: Ing. Škuntová Oľga, MVDr. Cabanová Lenka, PhD. , RNDr. Vieriková Michaela, PhD., Veterinárny a potravinový ústav Dolný Kubín, Jánoškova 1611/58, 026 01 Dolný Kubín, Slovenská republika; E-mail: olga.skuntova@svpudk.sk; lenka.cabanova@svpu.sk; michaela.vierikova@svpu.sk

POSTERY

POSTERS

VLIV ZPŮSOBU BALENÍ NA DYNAMIKU TEPLOTNÍCH ZMĚN FILETŮ LOSOSA OBECNÉHO

INFLUENCE OF PACKAGING METHOD ON THE DYNAMICS OF TEMPERATURE CHANGES OF SALMON FILLETS

[1]Bartáková Klára, [1]Bursová Šárka, [1]Skočková Alena, [1]Necidová Lenka, [2]Haruštiaková Danka, [3]Klimešová Marcela

[1]Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno, Česká republika

[2]Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita Brno, Česká republika

[3]Výzkumný ústav mlékárenský Praha, Česká republika

ABSTRACT

In this study, temperature changes in the core of salmon fillets (*Salmo salar*) packed in a simple package in a bowl and in a vacuum package caused by changes in temperature in the external environment were monitored. The aim of the work was to determine the time needed to heat and subsequently cool the fillet core to an elevated temperature. The temperatures tested were 8, 11, 14, 17, 20 and 25 °C. Monitoring was performed using a puncture temperature sensor connected to a Testo temperature recorder. A total of 70 fillet samples were monitored.

It was found that the way salmon fillets are packaged has a very significant effect on the dynamics of temperature changes. After placing the cooled fillet in the ambient at the highest test temperature (25 ± 0.4 °C), the vacuum packed fillet was tempered to this temperature in as little as 1 hour and 45 minutes, while the simply packed fillet was tempered in as little as 4 hours. In a simple package, the air present around the fillet acts as a thermal insulator, thereby reducing the rate of temperature changes in the fillet core, while in the core of fillets packaged in a vacuum package, the temperature changes occur much faster.

Key words: vacuum package, packed in air, monitoring, storage

ÚVOD

Vzhledem k nutričním vlastnostem a benefitům pro zdraví spotřebitelů se konzumace ryb včetně lososa obecného v poslední době zvyšuje, s čímž souvisí rostoucí poptávka po lososu pro hospodářské účely i světový obchod s lososem (FAO, 2016). Čerstvý losos však velmi rychle podléhá kažení, což omezuje jeho distribuci a uvádění na trh (Gómez-Estaca, 2018).

Rychlost kažení je vysoce závislá na teplotě. Lze ji potlačit použitím nízké skladovací teploty a také vhodného způsobu balení lososa. V současné době se vedle prostého balení v praxi běžně využívá balení ryb v modifikované atmosféře, které zahrnuje balení ve vakuu či v ochranné atmosféře. Čerstvé mořské ryby mohou být uváděny do oběhu v tajícím ledu, tedy při teplotě od -1 do +2 °C, čerstvé chlazené ryby se uvádí do oběhu balené ve vakuu nebo v ochranné atmosféře při teplotě od -1 do +5 °C. Pokud při transportu ryb dojde k porušení chladírenského řetězce, může být kvalita čerstvých ryb velmi rychle negativně ovlivněna. Výška i délka působení zvýšené teploty hraje velmi významnou roli. Je třeba si však uvědomit, že doba působení zvýšené teploty v jádře filetu není shodná s dobou působení zvýšené teploty v prostředí skladování filetů. Tuto časovou prodlevu je třeba zohlednit při vyhodnocování negativního vlivu zvýšené teploty na kvalitu filetů ryb (Golian et al., 2021; Jia et al., 2021; Masniyom, 2011; Nařízení 853/2004/ES; Pereira de Abreu et al., 2010; Shumilina et al., 2018).

Cílem této práce bylo stanovit dobu potřebnou k ohřátí a následnému ochlazení jádra filetů lososa obecného (*Salmo salar*) na zvýšenou teplotu působící v prostředí skladování filetů. Teplota v prostředí byla cíleně zvýšena tak, aby imitovala porušení chladírenského řetězce při přepravě čerstvých filetů lososa obecného.

MATERIÁL A METODIKA

Jako materiál byly zakoupeny čerstvé filety lososa obecného (*Salmo salar*) s kůží dopravené do laboratoře v tajícím ledu. Ihned po nákupu byly filety naporcovány na cca 170 g porce, z nichž polovina byla po jedné porci zabalena do prostého balení v podobě plastové misky z polypropylenu překryté průtažnou polyetylenovou folií (obrázek č. 1). Druhá polovina naporcovaných filetů byla po jedné porci zabalena vakuově v sáčku z kombinované folie polyamid/polyetylen (obrázek č. 2) s využitím vakuové baličky TekVac 411 (Distform, Španělsko).

Do každého zabaleného filetu bylo zapíchnuto vpichové teplotní čidlo NTC spojené se záznamníkem teploty Testo 175 T2 (Testo SE & Co. KGaA, Německo), který disponuje funkcí záznamu teploty v prostředí i v jádře výrobku současně. Poté byly filety uloženy v termostatu k vychlazení na teplotu tajícího ledu (1 ± 1 °C).

Vychlazené filety byly vloženy do termostatu vytemperovaného na zvýšenou teplotu imitující porušení chladírenského řetězce dle tabulky č.1. Po uplynutí doby uložení v termostatu byly filety vráceny ke zchlazení zpět do termostatu vytemperovaného na teplotu tajícího ledu. Po celou dobu uložení filetů byla pomocí záznamníku teploty monitorována a zaznamenávána teplota v jádře filetu i v prostředí termostatu každých 20 sekund.

Pro každou teplotu porušení a každý typ balení bylo monitorováno 5 paralelních vzorků, celkem bylo tedy vyhodnoceno 70 vzorků.

Obrázek č. 1 a 2, Prosté (1) a vakuové (2) balení filetů lososa se zapíchnutým teplotním čidlem a záznamníkem Testo

1. **2.**





Tabulka č. 1, Doba působení zvýšené teploty na filety lososa imitující teplotu porušení chladírenského řetězce

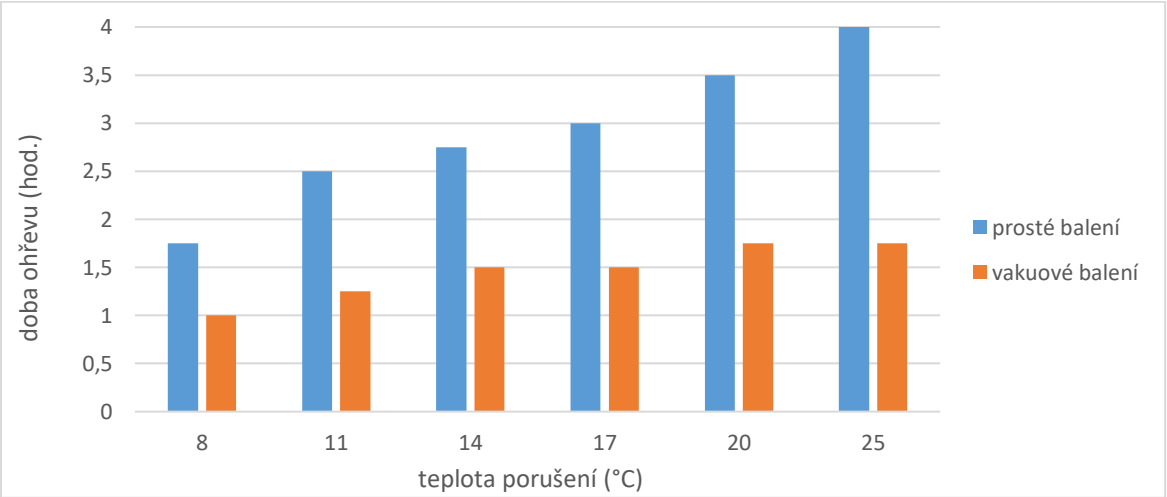
teplota porušení (°C)	doba uložení v termostatu (hod.)
8 ± 0,4	4
11 ± 0,4	5
14 ± 0,4	5
17 ± 0,4	6
20 ± 0,4	6
25 ± 0,4	6

VÝSLEDKY A DISKUSE

Průběh monitoringu teploty v jádře zabalených filetů je znázorněn na obrázcích č. 3 a 4. Obrázek č. 3 znázorňuje dobu potřebnou k ohřátí jádra filetů na teplotu porušení, která působí na balený filet z vnějšího prostředí. Obrázek č. 4 pak znázorňuje dobu potřebnou k ochlazení jádra filetů zpět na teplotu tajícího ledu. Z obou grafů je zřejmé, že způsob balení filetů velmi výrazně ovlivňuje rychlost změny teploty filetů. Filety balené ve vakuu jsou ohřívány či ochlazovány na teplotu působící z vnějšího prostředí výrazně rychleji než filety balené

v prostém balení v misce přetažené plastovou folií. Lze předpokládat, že vzduch přítomný uvnitř prostého balení kolem filetu lososa působí jako teplotní izolant a výrazně snižuje rychlost změny teploty filetu, zatímco v případě balení ve vakuu folie sáčku těsně obepíná filet a teplota působící z vnějšku prostupuje skrz folii přímo do filetu. Rozdíl v rychlosti dynamiky změny teploty mezi filety balenými v prostém a vakuovém balení se zvyšuje spolu se zvyšující se působící teplotou porušení. Z obrázku č.3 je zřejmé, že po vložení vychlazeného filetu do prostředí o teplotě 25 ± 0,4 °C je jádro filetu baleného ve vakuu vytemperováno na tuto teplotu již za 1 hodinu a 45 minut, zatímco jádro filetu baleného v prostém balení až za 4 hodiny. Podobně po návratu filetů do prostředí o teplotě tajícího ledu dle obrázku č.4 doba chlazení filetu baleného ve vakuu ohřátého na teplotu 25 °C činí 2 hodiny, zatímco filet balený v prostém balení je zchlazen až za 3 hodiny a 45 minut.

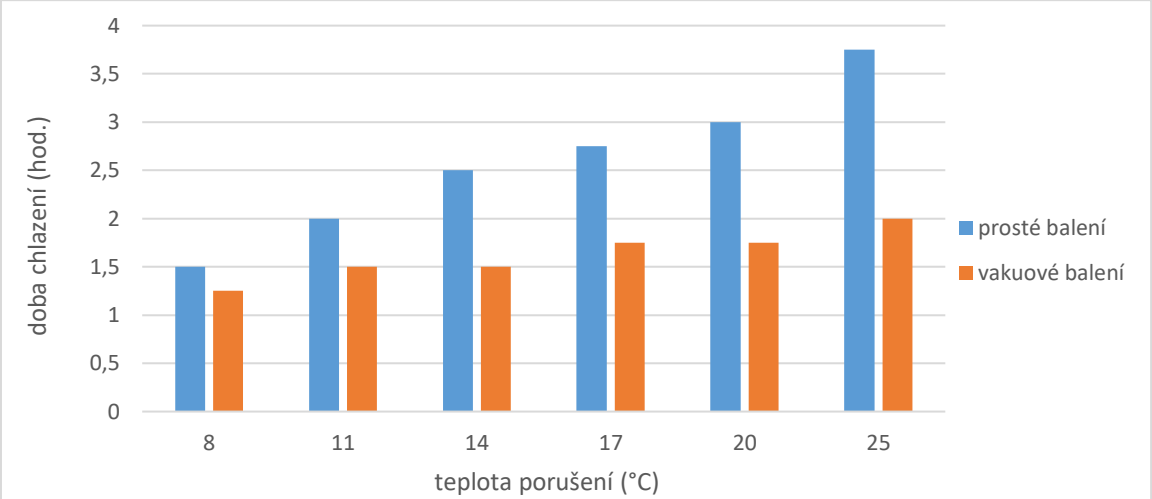
Obrázek č. 3, Doba ohřevu jádra balených filetů lososa na teplotu porušení působící z vnějšího prostředí



Obrázky č. 5 a 6 demonstrují záznam monitoringu teploty pomocí záznamníků Testo v obou typech balených filetů při působení teploty porušení 17 °C. Ze strmosti teplotních křivek je zřetelně viditelný rozdíl v rychlosti temperace filetů (červená křivka). Teplotní křivka filetu baleného ve vakuu je strmější a rychleji dosahuje konstantní hodnoty shodné s teplotní křivkou vyjadřující teplotu porušení působící z vnějšího prostředí (modrá křivka). Podobně při chlazení filetu je z teplotních křivek zřejmé rychlejší ochlazení filetu baleného ve vakuu (červená křivka strmeji klesá k teplotě chlazení představované modrou křivkou) oproti filetu balenému v prostém balení. Přiložené tabulky v obrázcích č. 5 a 6 jsou ukázkou části číselného záznamu monitoringu teploty, z nichž je opět zřejmý rychlejší nárůst teploty v jádře filetu baleného ve

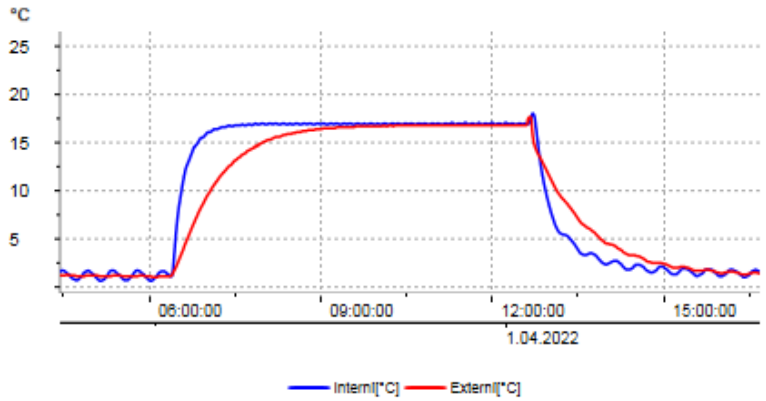
vakuu, protože přibližně po 2 hodinách působení teploty porušení 17 °C je jádro filetu baleného ve vakuu na tuto teplotu vytemperováno, zatímco v jádře filetu baleného v prostém balení ve stejnou dobu od začátku působení teploty 17 °C je teplota pouhých 15,6 °C.

Obrázek č. 4, Doba chlazení jádra balených filetů lososa ohřátých na teplotu porušení zpět na teplotu tajícího ledu



Obrázek č. 5, Příklad záznamu monitoringu teploty prostředí a jádra filetu baleného v prostém balení (pro teplotu porušení 17 °C)

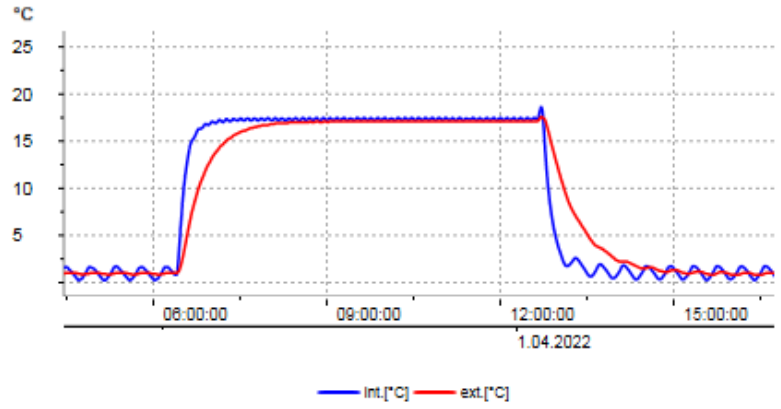
modrá křivka = interní ... záznam teploty prostředí



id	Datum/Čas	Interní[°C]	Externí[°C]
16600	01.04.2022 8:09:25	16,9	15,4
16601	01.04.2022 8:09:45	16,9	15,4
16602	01.04.2022 8:10:05	16,9	15,4
16603	01.04.2022 8:10:25	16,9	15,4
16604	01.04.2022 8:10:45	16,9	15,5
16605	01.04.2022 8:11:05	16,9	15,5
16606	01.04.2022 8:11:25	16,9	15,5
16607	01.04.2022 8:11:45	17,0	15,5
16608	01.04.2022 8:12:05	17,0	15,5

červená křivka = externí ... záznam teploty jádra filetu

Obrázek č. 6, Příklad záznamu monitoringu teploty prostředí a jádra filetu baleného ve vakuovém balení (pro teplotu porušení 17 °C)



id	Datum/Čas	int.[°C]	ext.[°C]
16597	01.04.2022 8:08:44	17,2	16,9
16598	01.04.2022 8:09:04	17,2	16,9
16599	01.04.2022 8:09:24	17,2	16,9
16600	01.04.2022 8:09:44	17,2	16,9
16601	01.04.2022 8:10:04	17,2	16,9
16602	01.04.2022 8:10:24	17,2	16,9
16603	01.04.2022 8:10:44	17,3	16,9
16604	01.04.2022 8:11:04	17,3	16,9
16605	01.04.2022 8:11:24	17,3	16,9

modrá křivka = interní ... záznam teploty prostředí

červená křivka = externí ... záznam teploty jádra filetu

ZÁVĚR

Z uvedených výsledků je zřejmé, že způsob balení filetů lososa velmi výrazně ovlivňuje dynamiku teplotních změn v jádře filetů způsobených změnami teploty vnějšího prostředí. V prostém balení působí vzduch přítomný kolem filetu jako teplotní izolant, čímž snižuje rychlost teplotních změn v jádře filetu, zatímco v jádře filetů balených ve vakuovém balení probíhají teplotní změny výrazně rychleji.

PODĚKOVÁNÍ

Práce byla finančně podpořena projektem NAZV QK21020245.

POUŽITÁ LITERATURA

1. FAO. *The state of world fisheries and aquaculture 2016. Contributing to Food Security and Nutrition For All.* Rome : FAO, 2016. 200 p. ISBN 978-92-5-109185-2. Dostupné na internetu: http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf.

2. GOLIAN, J. et al. *Selected attributes of fish quality intended for the slovak market*. Nitra : 2 Theta, 2021. 116 p. ISBN 978-80-88279-11-2.
3. GÓMEZ-ESTACA, J. et al. The effect of the combined use of high pressure treatment and antimicrobial edible film on the quality of salmon carpaccio. In *International Journal of Food Microbiology*, ISSN 0168-1605, 2018, vol. 283, p. 28–36.
4. JIA Z. et al. Comparison of freshness prediction method for salmon fillet during different storage temperatures. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, ISSN 0022-5142, 2021, vol. 101, no. 12, p. 4987-4994.
5. MASNIYOM P. Deterioration and shelf-life extension of fish and fishery products by modified atmosphere packaging. In *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, ISSN 0125-3395, 2011, vol. 33, no. 2, p. 181-192.
6. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu. Úřední věstník L 139, 30.4.2004, s. 55.
7. PEREIRA DE ABREU, D.A. et al. Evaluation of the effectiveness of a new active packaging film containing natural antioxidants (from barley husks) that retard lipid damage in frozen Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). In *Food Research International*, ISSN 0963-9969, 2010, vol. 43, no. 5, p. 1277-1282.
8. SHUMILINA E. et al. Development of a statistical model to detect quality and storage conditions of Atlantic salmon. In *Food Chemistry*, ISSN 0308-8146, 2018, vol. 258, p. 381-386.

Kontaktní adresa: Bartáková Klára, Department of Animal Origin Food and Gastronomic Sciences, Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology, University of Veterinary Sciences Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Czech Republic; E-mail: bartakovak@vfu.cz

MOŽNOSTI DRUHOVEJ IDENTIFIKÁCIE ZVERINY VYUŽITÍM MOLEKULÁRNYCH METÓD

POSSIBILITIES OF GAME MEAT IDENTIFICATION USING MOLECULAR METHODS

Belej Ľubomír, Bobko Marek, Bobková Alica, Čapla Jozef, Jurčaga Lukáš, Demianová Alžbeta, Poláková Katarína, Mesárošová Andrea, Lidiková Judita

Ústav potravinárstva, Fakulta Biotechnológie a potravinových zdrojov, Slovenská Poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra

ABSTRACT

We focused on comparing the use of the MEAT 5.0 chip, which is a commercial kit suitable for detecting the presence of animal DNA from the domestic pig (*Sus scrofa domestica*) and the wild boar (*Sus scrofa*). We subjected meat samples of both species to several heat treatments as well as in the raw state. In all cases, we were able to demonstrably distinguish the wild boar from the domestic pig. By the monitored method, we can quickly and reliably distinguish meat from domestic species from wild species even after heat treatment.

Key words: DNA, meat, identification, chip, meat products

ÚVOD

Mäso je jednotný pojem, ktorý zahŕňa celý rad druhov a opisuje konzumné tkanivá, ktoré tvoria množstvo bezpečných, zdravých, výživných a žiaducich produktov pre verejnosť (Seman et al. 2018). Zverina, t. j. mäso z divo žijúcich zvierat, nedostáva sa na náš stôl príliš často. Zverina sa vyznačuje celou radou vlastností, ktoré ju zaraďujú medzi dieteticky najhodnotnejšie potraviny. V podstate je to veľmi chutné mäso, i keď je čo do chuti i vône svojrázne. Všeobecne platí, že zverina z mladých kusov je chutnejšia a krehkejšia (Bureš et al., 2018). Identifikácia druhov v potravinách živočíšneho pôvodu je dôležitým aspektom kontroly potravín. Na detekciu mäsa a mäsových výrobkov pochádzajúcich z rôznych živočíšnych druhov boli vyvinuté metódy založené na analýze špecifických komponentov, ako sú bielkoviny a DNA (Keyvan et al., 2017). Vývoj v oblasti druhovej identifikácie ide veľmi rýchlo vpred a smeruje k zavedeniu takých metód, ktoré by boli schopné identifikovať mäso z akéhokoľvek zvieraťa vrátane mäsa rybích druhov (Přívětivá et al., 2004). Pokročilé metódy hodnotenia, techniky a technológie využívajú moderný prístup na identifikáciu analýzy druhového zloženia mäsa a mäsových výrobkov (Biswas and Mandal, 2019).

Molekulárne metódy založené na DNA sa vďaka vysokej presnosti a opakovateľnosti stali obľúbenou metódou druhovej identifikácie mäsa a mäsových výrobkov. Tieto techniky sa môžu využiť pri identifikácii druhov čerstvých a spracovaných mäsových výrobkov ako aj vedľajších produktov získaných zo zvierat (Girish and Karabasanavar, 2020, Xing et al., 2020). Vzhľadom na to, že DNA má vyššiu termostabilitu ako väčšina proteínov, metódy založené na identifikácií nukleových kyselín, majú nižšiu šancu byť ovplyvnené metódami spracovania potravín. Dokážu identifikovať druhy aj v silne spracovaných potravinách, kde je bielkovinová analýza problematická, keďže pri tepelných úpravách, ako je varenie a pečenie dochádza k denaturáciá bielkovín (Lubis et al., 2018). Súprava Meat (LCD) Array Kit umožňuje analýzu fragmentov v rozmedzí 115 až 125 bázových párov 16S rRNA mitochondriálnych génov až 25 druhov stavovcov. Tento kit je navrhnutý na detekciu domácich aj voľne žijúcich druhov zvierat určených na ľudskú spotrebu. Štúdie vyhodnotili tento kit ako efektívny a spoľahlivý pri identifikovaní mäsa (Beltramo, 2017).

MATERIÁL A METÓDY

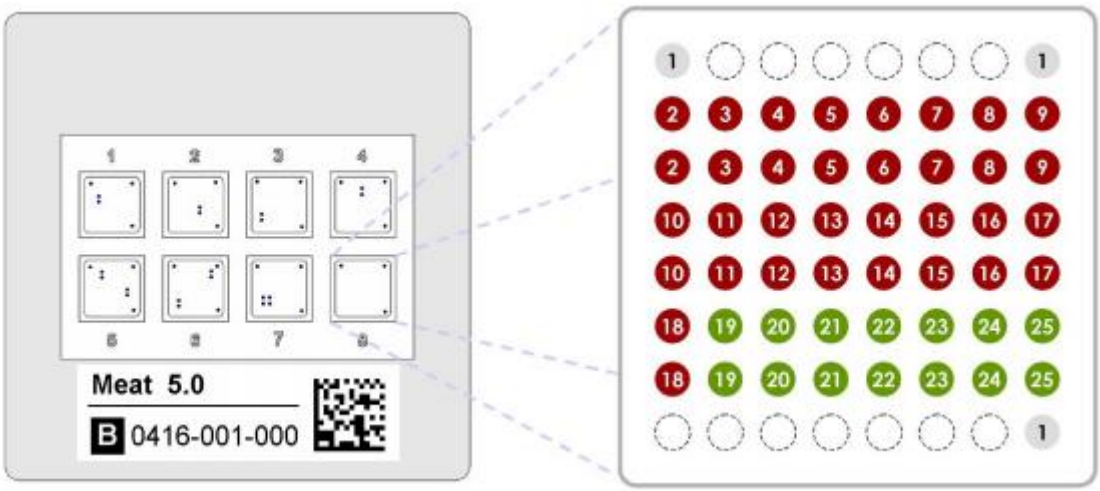
Z dvoch druhov mäsa (bravčové a diviačie) sme si pomocou jednorazového sterilného skalpela narezali 4 kocky o veľkosti cca 2cm x 2 cm. Na samotnú analýzu sa jedna vzorka použila surová, druhú sme tepelne ošetrovali mikrovlnným ohrevom, tretia bola autoklavovaná štvrtú sme fritovali vo fritéze s pridaním rastlinného oleja. Mikrovlnný ohrev prebiehal pri maximálnom mikrovlnnom výkone 900W 5 minút. Autoklávovanie: vzorky sme obalili alobalom a autoklávovali prii teplote 121°C ±1 °C po dobu 15 min. Fritovanie sme vykonali vo fritéze s požitím slnečnicového oleja vhodného na fritovanie pri teplote 180°C ±1 °C 10 minút.

Tabuľka 1 Označenie vzoriek

Vzorka	Popis vzorky
K1	Kontrolná vzorka – surové bravčové mäso (*Sus scrofa domestica)*
1.1	Mikrovlnný ohrev
2.1	Autoklávovanie
3.1	Fritovanie
K2	Kontrolná vzorka – surové diviačie mäso (*Sus scrofa)*
1.2	Mikrovlnný ohrev
2.2	Autoklávovanie
3.2	Fritovanie

Z pripravených kociek sme sterilným skalpelom odobrali 2 g svaloviny. Pomocou NucleoSpin®Food Isolation Kit (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG) sme podľa inštrukcií izolovali DNA, ktorú sme použitím LCD array kitu MEAT 5.0 (Chipron, Germany) analyzovali. PCR produkty sme podľa pokynov výrobcu identifikovali na LCD poli. Biotinylované amplikóny sa hybridizovali pri 35 °C so sondami na poli a potom sa spojili s konjugátom streptavidín-peroxidáza. Peroxidázový substrát sa pridal na zvýraznenie bodov hybridizáciou s amplikónovou sondou: tmavá zrazenina sa vizualizovala pomocou PF3650u LCD-array skenera s použitím softvéru SlideReader V12 (Chipron).Meat 5.0 LCD Array je detekčná sada zložená z ôsmich čipov, a každý čip obsahuje 25 druhovo špecifických zachytávacích prób. Sondy sú v schéme 8 × 8 umiestnené ako vertikálne duplikáty.

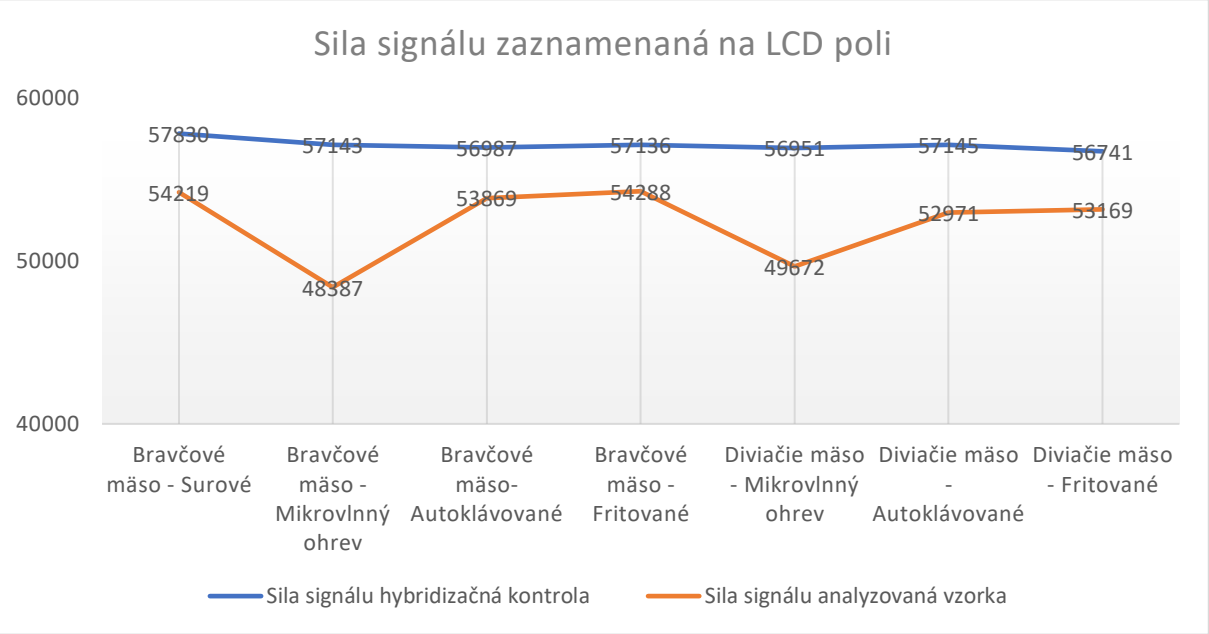
Obrázok 1 Schéma Meat 5.0 LCD Array zloženého z ôsmich čipov s 25 duplikátnymi špecifickými próbami.(Používateľská príručka Meat 5.0 LCD Array).



VÝSLEDKY A DISKUSIA

Využitím Meat 5.0 LCD Array kitu sme vo všetkých sledovaných vzorkách bezpečne odlíšili vzorky bravčového a diviačieho mäsa pri všetkých spôsoboch tepelného ošetrenia. Testovacia sada spoľahlivo zachytila aj intenzívne tepelné ošetrenie jednotlivých vzoriek mäsa pri vysokých teplotách s dostatočnou silou detekčného signálu pričom najnižšiu silu signálu sme zaznamenali u vzoriek ošetrených mikrovlnným ohrevom (Graf.1).

Graf 1 Grafické znázornenie sily hybridizačnej kontroly a sily detekčného signálu bravčového a diviačieho mäsa



Beltramo et al. (2017) vo svojej práci validovali MEAT 5.0 LCD Array kit podľa pokynov SWGDAM na 18 vzorkách mäsa. Vzorky boli kontaminované inými druhmi mäsa v pomere 1 %, 0,5 % a 0,1 % a analýzu vykonali v surovom i uvarenom stave v dvoch opakovaniach pre lepšie zhodnotenie citlivosti a opakovateľnosti testu. Pri všetkých vzorkách výsledky potvrdili správnosť špecificity testu bez falošne pozitívnych a falošne negatívnych výsledkov. Správne boli identifikované všetky živočíšne druhy až po detekčný limit 0,5 %. Pri vzorkách obsahujúcich 0,1 % kontaminantu neboli niektoré druhy zistené v oboch opakovaniach rovnako, čo autori pripisujú nižšej citlivosti prób. Drdolová et al., (2017) rovnakou metódou (MEAT 5.0) analyzovali mäsové výrobky, konkrétne šunku a salámu, s cieľom overiť či ich zloženie zodpovedá označeniu. Testovali 29 vzoriek získaných zo slovenských obchodov a supermarketov. Z celkového počtu vzoriek až 20 nezodpovedalo tomu, čo na obale deklaroval výrobca. Z testovaných salám (15 vzoriek) sa až u 60 % (9 vzoriek) dokázali, že je výrobok klamlivo označený. Čo sa týka vzoriek šunky, zo štrnástich vzoriek takmer 80 % čo zodpovedá 11 vzorkám požiadavkám testu nevyhoveli, teda mali rozdielne zloženie ako deklaroval výrobca. Z molekulárnych metód Matsunaga et al (1999) boli prví, ktorí vyvinuli multiplexný PCR test detekujúci päť druhov mäsa, konkrétne kozieho, ovčieho, konského, bravčového a hovädzieho. Použili primery pre mitochondriálny gén cytochróm b. Zhang et al., (2013) predstavili efektívny mPCR test schopný detekcie bravčového, kuracieho, hovädzieho a baranieho mäsa v spracovaných potravinách s limitom detekcie 1 pg DNA. Vaithiyanathan a Vishnuraj (2018) vo svojej štúdii overovali Meat 5.0

(Chipron), konkrétne druhovú špecifickosť a detekčný limit. Pre overenie použili zmes hovädzieho a byvolieho mäsa. Druhy vopred potvrdili nukleotidovým sekvenovaním mitochondriálnych 12S r-RNA amplikónov a špecifickej PCR. Na kontrolu detekčného limitu hovädzieho a byvolieho mäso pripravili rôzne zmesi s hmotnosťou 50 g, ktoré obsahovali kontaminanty v pomere 1 % a 2 %. Kvôli špecifickosti metódy pracovali s falšovanými i kontrolnými vzorkami s hmotnosťou 200 mg. Bolo publikovaných mnoho štúdií zameraných na využitie molekulárnych metód na identifikáciu mäsa v potravinárskom priemysle. Napríklad Kesmen et al. (2007) vyvinuli druhovo špecifický PCR test na kvalitatívnu detekciu nízkych hladín bravčového, konského a somárskeho mäsa vo varených párkoch pomocou druhovo špecifických sekvencií.

ZÁVER

Základom kontroly živočíšnych produktov a výrobkov je druhová identifikácia. Hlavne u príbuzných druhov je identifikácia častokrát veľmi náročná. Najvhodnejšími metódami sú metódy založené na analýze DNA. V rámci rýchleho a spoľahlivého odlíšenia druhov svine domácej a diviaka lesného je analyzovaná súprava LCD Array Kit MEAT 5.0 (Chipron) spoľahlivým nástrojom na ich odlíšenie aj po rôznom tepelnom ošetrení vzoriek.

POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla vďaka podpore Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu SR, projekt č.APVV-19-0180 a projekt KEGA 024SPU-4/2021.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BELTRAMO, C. – RIINA, M.V. – COLUSSI, S. – CAMPIA, V. – MANIACI, M.G. – BIOTATTI, C. – TRISORIO, S. – MODESTO, P. – PELETTO, S. – ACUTIS, P.L. 2017. Validation of a DNA biochip for species identification in food forensic science. In *Food Control* [online] vol 78. 366-373p.
2. BISWAS, A. K. − MANDAL, P. 2019. *Meat Quality Analysis*. Academic Pres : USA. 458 s. ISBN: 978-01-28192-34-4.
3. BUREŠ, D et al. 2018. Maso divokých zvířat a jeho role v lidské výživě. In *Výživa a potraviny* [online] [cit.2022-03-12]. Dostupné na: <https://www.vyzivaspol.cz/wp-content/uploads/2018/02/maso1.pdf>.
4. DRDOLOVÁ, Z. – BELEJ, Ľ. – GOLIAN, J. – BENEŠOVÁ, L. – ČURLEJ, J. – ZAJÁC, P. 2019. Comparison of specificity and sensitivity of biochip and real-time

polymerase chain reaction for pork in food. In *Journal of Food and Nutrition Research.* . [online] vol. 58, no 3. 225-235p.

5. GIRISH, P.S. – KARABASANAVAR, N.S. 2020. *Meat Quality Analysis: Advanced Evaluation Methods, Techniques, and Technologies.* Academic Press, 2020. 458p. HELLBER, R.S. – HERNANDEZ, B.C. – HERNANDEZ, E.L. 2017. Identification of meat and poultry species in food products using DNA barcoding. In *Food Control* [online] vol. 80.
6. KEYVAN, E. - İPLİKÇİOĞLU ÇİL, G - ÇINAR KUL, B – BİLGEN, N. – ŞİRELİ, U. 2017. Identification of meat species in different types of meat products by PCR. In Veterinary Journal of Ankara University [online], vol. 64, 261-263p.
7. LUBIS, H. - SALIHAH, N. T. - NORIZAN, N. A. - HOSSAIN, M. M. - AHMED, M.U. 2018. Fast and sensitive real-time PCR-based detection of porcine DNA in food samples by using EvaGreen Dye. Food Sci. Technol. Res., 24(5): 803-810.
8. MATSUNAGA, T. – CHIKUNI, K. – TANABE, R. – MUROYA, S. –SHIBATA, K. – YAMADA, J. - SHINMURA, Y. 1999. A quick and simple method for the identification of meat species and meat products by PCR assay. *Meat Science*, 51:143-148.
9. PŘÍVĚTIVÁ, L et al., 2004. Identifikace živočišného druhu a konkrétního kusu v masných výrobcích při využití PCR. In *Sborník mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně* [online], vol. 52, no. 5, pp. 61-72 Dostupné na: <https://acta.mendelu.cz/pdfs/acu/2004/05/06.pdf>.
10. SEMAN, D. L et al. 2018. Meat and Muscle Biology. In *Meat Science Lexicon* [online], vol. 2, no. 3, pp. 874 [cit.2022-04-12]. ISSN 2575-985X. Dostupné na: <https://doi.org/10.22175/mmb2017.12.0059>.
11. VAITHIYANATHAN, S. – VISHNURAJ, M.R. 2018. Validation of DNA macro array chip (Chipron MEAT 5.0) for forensic meat analysis. In *National Seminar on Food Sovereignty: Innovations at Intersection of Technology, Quality and Production.* [online] [cit. 2020-03-15]. Dostupné na: <https://www.researchgate.net/publication/329962785_VALIDATION_OF_DNA_MACRO_ARRAY_CHIP_CHIPRON_MEAT_50_FOR_FORENSIC_MEAT_ANALYSIS>.
12. XING, R.R. – HU, R.R. – HAN, J.X – DENG, T.T. – CHEN, Y. 2020. DNA barcoding and mini-barcoding in authenticating processed animal-derived food: A case study involving the Chinese market. In *Food Chemistry*. [online] vol. 309.

13. ZHANG, C. 2013. Semi-nested multiplex PCR enhanced method sensitivity of species detection in further-processed meats. *Food Control*. 31 (2):326–30. doi: 10.1016/j.foodcont.2012.11.002.
14. KESMEN, Z et al. 2013. Detection of seagull meat in meat mixtures using real-time PCR analysis. In *Food Control* [online], vol. 34, no. 1, pp. 47-49 ISSN 0956-7135. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.04.006>.

Kontaktná adresa: Belej Ľubomír, Institute of Food Science, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra, Slovak Republic, E-mail. lubomir.belej@uniag.sk

STANOVENIE CELKOVÉHO OBSAHU PROTEÍNOV PRI VYBRANÝCH SPÔSOBOCH IZOLÁCIE PROTEÍNOV Z RÝB

DETERMINATION OF TOTAL PROTEIN CONTENT IN SELECTED METHODS OF PROTEIN ISOLATION FROM FISH

Benešová Lucia[1], Jakabová Silvia[1], Ondruš Ladislav[1], Semjon Boris[2], Zajác Peter[1], Čapla Jozef[1], Čurlej Jozef[1], Golian Jozef[1]

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

In this work, we determined the total protein content extracted by different isolation procedures. We analysed protein isolates from fish samples (Atlantic salmon, rainbow trout, Alaska pollock, and herring) from homogenates after thawing, after heat treatment, and after thermosterilization using a formal analytical method. We further isolated proteins from each variant using desalting columns and a commercial kit. The highest protein content of Atlantic salmon sample was obtained after isolation of samples by AOAC method (94.50 $mg.ml^{-1}$) and heat treatment of homogenate (56.12 $mg.ml^{-1}$). The lowest protein content was obtained during isolation using commercial kit where the losses ranged from 94.03 to 99.17%. The highest protein content in rainbow trout sample was obtained after isolation of samples by AOAC method (51.57 $mg.ml^{-1}$) and heat treatment of homogenate (37.13 $mg.ml^{-1}$). The highest decrease in protein content was observed during isolation using commercial kit, where the losses ranged from 95.04 to 98.85%. In the isolation of Atlantic cod proteins by AOAC method and heat treatment of homogenate, we found the protein content of 9.58 $mg.ml^{-1}$ and 8.17 $mg.ml^{-1}$, respectively. A significant decrease in protein content was observed in the case of using commercial kit and it was 96.67 – 97.13%. In herring, the highest protein content of 16.84 $mg.ml^{-1}$ was found in the case of isolation by the AOAC method and 9.03 $mg.ml^{-1}$ in the case of heat treatment of the homogenate. The highest decrease in protein content of 96.39 to 98.41% was observed when the commercial kit was used. Protein required for the use of analytical methods for food authentication can be obtained in several ways. Protein isolations from fish flesh in both raw and heat-treated state give different concentrations of proteins extracted from

the sample. Our selected protein extraction methods for fish species identification are recommended for application in the analysis of fish meat in its raw state and after heat treatment.
Key words: fish, extraction of proteins, heat treatment, total protein content

ÚVOD

Stabilita rybích bielkovín je dôležitá vo vzťahu k vlastnostiam spracovaných rybích výrobkov. Mrazenie, teplo a infúzia soľných roztokov môžu ovplyvniť funkčné vlastnosti bielkovín, čo vedie k zvýšeniu alebo zníženiu organoleptickej prijateľnosti. Je známe, že bielkoviny cicavčieho pôvodu, najmä myozín a kolagén, sú stabilnejšie ako bielkoviny získané z rýb. Napríklad Connell (l961) v práci skúmal myozíny prítomné v niekoľkých rôznych druhoch studenovodných rýb a porovnával ich s myozínmi nájdenými vo volovi, králikovi, kurčati a žabe. Hoci sa medzi myozínmi jednotlivých druhov rýb zistili len malé rozdiely v stabilite, všetky tieto proteíny boli oveľa menej stabilné ako proteíny pochádzajúce zo svalov volov, králikov alebo kurčiat; žabí myozín sa zdal byť stabilitou na pomedzí medzi myozínmi cicavcov a studenovodných rýb. Connell (1961) dospel k záveru, že myozíny rôznych druhov sa prispôsobili rôznym telesným teplotám a že existuje súvislosť medzi týmto javom a odolnosťou svalu voči zmenám spôsobeným procesmi, ako je zmrazenie a skladovanie v mrazničke alebo dehydratácia. Je tiež dobre známe, že bielkoviny spojivového tkaniva (kolagény) rôznych druhov zvyšujú svoju stabilitu so zvyšovaním ich telesných teplôt in vivo (Menashi et al., 1976). Ryby sa môžu loviť vo vodách s priemernými teplotami od teploty blízkej bodu mrazu až po 17 °C. Na základe výsledkov Connella (1961) a iných (Cheng, Hamann a Webb, 1979) by sa dalo očakávať, že stabilita bielkovín rýb nachádzajúcich sa vo vodách s takými veľmi rozdielnymi teplotami sa bude tiež líšiť. To môže ovplyvniť optimálne podmienky spracovania konečného výrobku, či už ide o teplotu skladovania v zmrazenom stave, teplotu údenia alebo sušenia, alebo koncentráciu soli potrebnú na získanie uspokojivého gélu. Jones a Disney (1977) skutočne naznačili, že v niektorých ohľadoch by technológia teplovodných druhov mohla mať bližšie k technológii mäsa ako k technológii studenovodných rýb.

Predúprava je zameraná na narušenie a/alebo zmenu štruktúry biologickej látky, napr. odstránenie nečistôt, oddelenie analytu od vzorky s komplexnými matricami. Techniky predbežnej úpravy vzoriek sú často prácne a môžu predstavovať prekážku v analytickom reťazci. Výber a optimalizácia vhodnej schémy prípravy vzorky (predúprava) je zvyčajne najkritickejším a najnákladnejším krokom pri spracovaní komplexných substrátov a má veľmi dôležitý vplyv na presnosť experimentálneho výsledku (Hyotylainen, 2009; Li et al., 2016).

MATERIÁL A METODIKA

V práci sme použili filety 4 druhov rýb: losos atlantický (*Salmo salar*), pstruh dúhový (*Oncorhynchus mykiss*), treska aljašská (*Gadus chalcogrammus*) a sleď obyčajný (*Clupea harengus*). Vzorky uvedených druhov rýb sme získali z maloobchodnej predajne Metro s.r.o. (Žilina, Slovensko) a od spoločnosti Ryba Žilina (Slovensko). Filety rýb sme rozmrazovali pri 8 °C/4 hodiny. Proteíny zo vzoriek sme izolovali v 9 variantoch. Analyzovali sme teda izoláty proteínov z homogenizátov po rozmrazení, po tepelnej úprave a po termosterilizácii s použitím oficiálnej analytickej metódy. Z každej varianty sme izolovali proteíny ešte pomocou odsoľovacích kolón a komerčného kitu. Použili sme oficiálnu analytickú metódu AOAC (1990). Supernatant pripravený podľa metodiky AOAC sme odsoľovali pomocou Zeba™ Spin Desalting Columns, 7K MWCO, 5 mL (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) a zo vzoriek rýb sme izolovali proteíny pomocou komerčného kitu Mammalian Nuclear and Cytoplasmic Protein Extraction kit (Serva, Heidelberg, Nemecko). Vzorky sme tepelne zahrievali vo vodnom kúpeli na teplotu 50 °C/30 min. a termosterilizácia prebehla pri teplote 121 °C/60 min pri tlaku 93 ±1 kPa. Po extrakcii proteínov sme zo všetkých typov izolácií stanovili celkový obsah proteínov vo vzorkách pomocou Pierce™ BSA Protein Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA). Dvojlúčový spektrofotometer (T80 UV/VIS Spectrometer; PG Instruments Ltd., OK Service, Česká republika) vybavený držiakom na 8 kyviet sme využili na spektrofotometrickú analýzu. Meranie prebehlo s použitím sklenených kyviet (typ S/G/10; Exacta+Optech GmbH, Mníchov, Nemecko). Celý experiment sme dvakrát opakovali a jednotlivé vzorky boli merané v troch opakovaniach. Výsledky analýz sme vyhodnotili použitím štatistického balíčka programu MS Excel XLSTAT (v. 2020.4.1 Addinsoft, Francúzsko).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

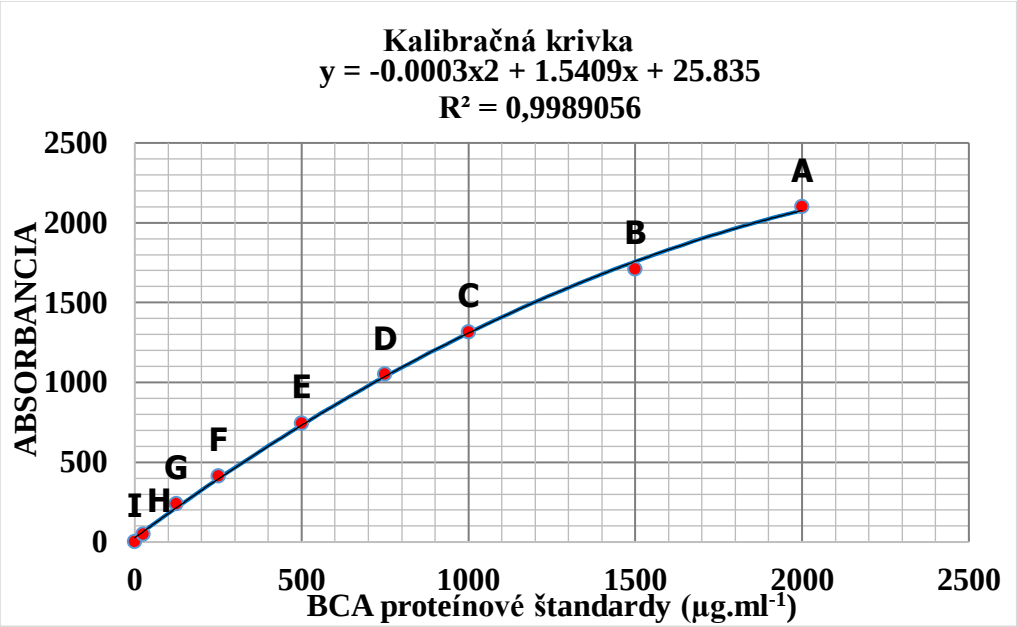
Výsledky absorbancie pripravených štandardov sú uvedené v tabuľke 1. Výslednú hodnotu absorbancie pre štandardy A – H sme získali odčítaním absorbancie slepého pokusu (roztok I) od priemeru absobancií pre jednotlivé štandardy. Na základe výsledkov absorbancie pripravených štandardov sme vytvorili kalibračnú krivku (Obrázok 1) a odmerali hodnoty absorbancie pre všetky spôsoby izolácie proteínov zo 4 druhov analyzovaných rýb. Výslednú hodnotu absorbancie pre vzorky rýb sme získali odčítaním absorbancie slepého pokusu (roztok I) od priemeru absorbancií jednotlivých vzoriek a následne prerátali faktorom riedenia (losos atlantický a pstruh dúhový: 50 násobné riedenie; treska aljašská a sleď obyčajný: 20 násobné riedenie).

Tabuľka č. 1, Výsledky absorbancie štandardov

	Proteínové štandardy ($\mu g.ml^{-1}$)	Priemer ABS	Výsledná hodnota ABS	
A	2000	2,306	2,161	A
B	1500	1,890	1,745	B
C	1000	1,475	1,330	C
D	750	1,196	1,051	D
E	500	0,886	0,741	E
F	250	0,561	0,416	F
G	125	0,380	0,234	G
H	25	0,191	0,045	H
I	0	0,141	0,000	I

Poznámka: ABS – absorbancia.

Obrázok č. 1, Kalibračná krivka vytvorená z nameranej absorbancie pripravených štandardov



Kalibračná krivka opisuje kvadratickú funkciu závislosti koncentrácie bielkovín a ich absorbancie.

Tabuľka č. 2, Číselné vyjadrenie zmeny obsahu proteínov pri jednotlivých typoch izolácie proteínov z tresky aljašskej a sleďa obyčajného (mg.ml^{-1})

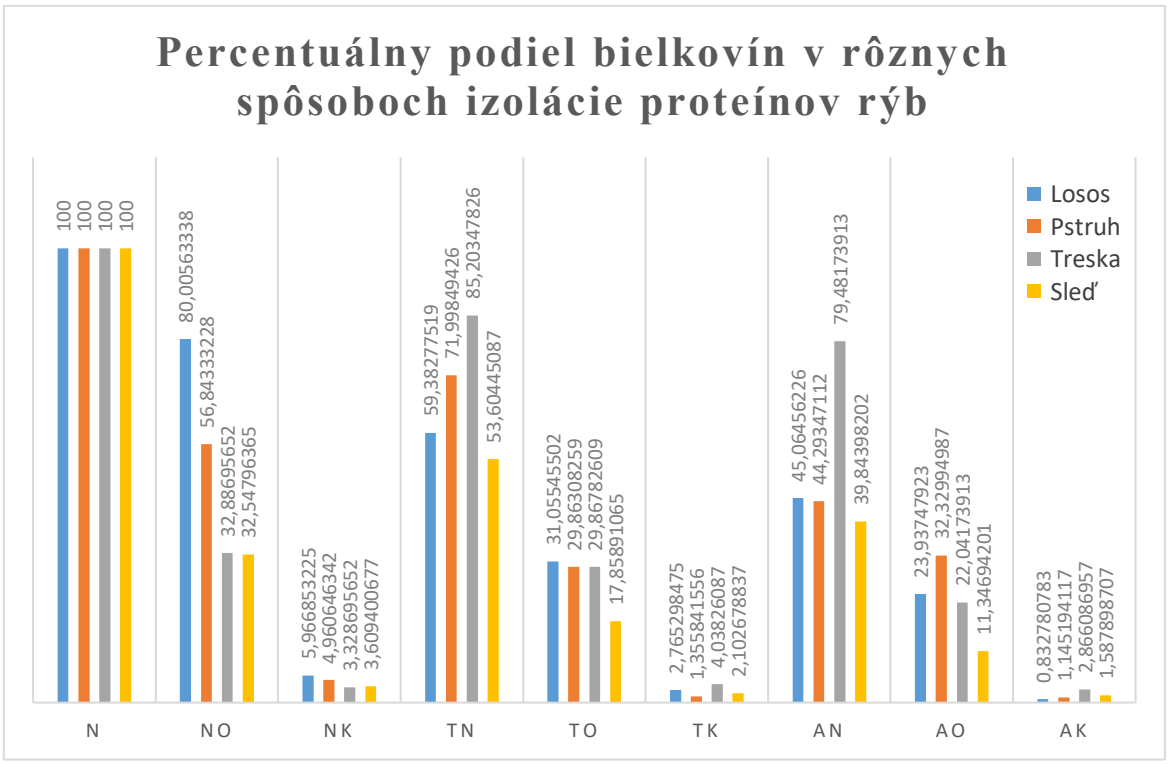
Druh		Spôsob izolácie								
		N	NO	NK	TN	TO	TK	AN	AO	AK
Losos atlantický	x̄	94,50	75,61	5,64	56,12	29,35	2,61	42,59	22,62	0,79
	± SD	0,270	0,100	0,070	0,086	0,019	0,026	0,030	0,008	0,004
Pstruh dúhový	x̄	51,57	29,32	2,56	37,13	15,40	0,700	22,84	16,67	0,59
	± SD	0,086	0,023	0,083	0,049	0,034	0,019	0,122	0,085	0,048
Treska aljašská	x̄	9,58	3,15	0,32	8,17	2,86	0,39	7,62	2,11	0,28
	± SD	0,071	0,029	0,003	0,062	0,096	0,002	0,009	0,016	0,058
Sleď obyčajný	x̄	16,84	5,48	0,61	9,03	3,01	0,35	6,71	1,91	0,27
	± SD	0,082	0,017	0,004	0,038	0,021	0,002	0,009	0,008	0,004

Celková koncentrácia proteínov vybranými spôsobami izolácie vo vzorkách rýb je uvedená v tabuľke 2 (NN – izolácia podľa AOAC; NO – izolácia podľa AOAC s odsolením vzorky; NK – izolácia podľa AOAC s následnou izoláciou proteínov pomocou komerčného kitu; TN – izolácia z homogenizátu po tepelnej úprave; TO – izolácia z homogenizátu po tepelnej úprave odsolením vzorky; TK – izolácia z homogenizátu po tepelnej úprave s pomocou komerčného kitu; AN – izolácia z homogenizátu termosterilizáciou; AO – izolácia z homogenizátu termosterilizáciou a následným odsolením; AK – izolácia z homogenizátu termosterilizáciou s následnou izoláciou pomocou komerčného kitu).

U rýb s červenou svalovinou (losos atlantický a pstruh dúhový) sa celkový obsah proteínov pohyboval vo vyšších hodnotách ako u rýb s bielou svalovinou (treska aljašská a sleď obyčajný). Izoláciu podľa AOAC (NN), pri ktorej bol dosiahnutý najvyšší obsah proteínov u všetkých druhov rýb sme určili ako 100 % (Obrázok 2). Najvyšší obsah proteínov u vzorky lososa atlantického bol získaný po izolácii vzoriek metódou AOAC (94,50 mg.ml^{-1}) a tepelným ošetrením homogenizátu (56,12 mg.ml^{-1}). Termosterilizáciou homogenizátu došlo k redukcii proteínov o 54,84 %. V prípade odsolenia vzorky došlo k poklesu o 19,99 až 76,06 %. Najvyšší pokles obsahu proteínov sme zistili pri izolácii pomocou komerčného kitu kde boli straty v rozmedzí 94,03 až 99,17 %. Najvyšší obsah proteínov u vzorky pstruha dúhového bol získaný po izolácii vzoriek metódou AOAC (51,57 mg.ml^{-1}) a tepelným ošetrením homogenizátu (37,13

mg.ml^{-1}). Termosterilizáciou homogenizátu došlo k redukcii proteínov o 55,71 %. V prípade odsolenia vzorky došlo k poklesu o 43,16 až 70,14 %. Najvyšší pokles obsahu proteínov sme zistili pri izolácii pomocou komerčného kitu kde boli straty v rozmedzí 95,04 až 98,85 %. Pri izolácii proteínov tresky atlantickej metódou AOAC sme zistili obsah proteínov 9,58 mg.ml^{-1} a tepelným ošetrením homogenizátu 8,17 mg.ml^{-1}. Termosterilizáciou homogenizátu sa obsah proteínov znížil o 20,52 %. Odsolením homogenizátu došlo k poklesu obsahu o 67,11 až 77,96 %. Výrazný pokles v obsahu proteínov bol v prípade použitia komerčného kitu a to o 96,67 až 97,13 %. U sleďa obyčajného bol najvyšší obsah proteínov 16,84 mg.ml^{-1} zistený pri izolácii metódou AOAC a 9,03 mg.ml^{-1} v prípade tepelného ošetrenia homogenizátu. Odsolením homogenizátu došlo k poklesu o 67,45 až 88,65 %. Najvyšší pokles obsahu proteínov 96,39 – 98,41 % bol pri použití komerčného kitu.

Obrázok č. 2, Percentuálny pokles v obsahu bielkovín v závislosti od rôznych spôsobov izolácie proteínov



Väčšina bielkovín sú zlúčeniny, ktoré podliehajú kvalitatívnym a kvantitatívnym zmenám počas tepelného spracovania. Strata rozpustnosti bielkovín citlivých na teplotu sa môže využiť ako ukazovateľ času a teploty, ktoré boli použité pri tepelnom spracovaní rôznych druhov rýb a rybích výrobkov **(Alipour et al., 2010; Sarker et al., 2012; Abraha et al., 2018)**. Autori **Xu et al. (2020)** realizovali gélovú elektroforézu s dodecylsulfátom sodným a polyakrylamidom

(SDS-PAGE) s cieľom určiť zmeny myozínového profilu počas tepelného spracovania kapra veľkohlavého. Vzorky bielkovín boli tepelne spracované pri 90 °C a stredná teplota vzoriek bola udržiavaná pri 90 °C počas 1, 2, 5, 10, 20 a 30 min. Zmeny pri tepelnom ošetrení poukázali na skutočnosť, že myozín kapra veľkohlavého obsahoval ťažký reťazec myozínu (MHC, 200 kDa), ľahký reťazec myozínu (MLC, 16 kDa), malé množstvo aktínu (44 kDa) a tropomyozín (Tm, 32 kDa). S predlžovaním času zahrievania sa pozoroval pokles intenzity frakcie MHC. Medzitým sa tvorilo čoraz viac vysokomolekulárnych polymérov (nad 200 kDa), ktoré sa objavili na vrchole gélu (Xu et al., 2020). Výsledky autorov korešpondujú s našimi výsledkami, v našom experimente boli vzorky rýb zahrievané na 50 °C počas 30 minút a proteíny sme extrahovali aj pomocu odsoľovacích kolón a komerčného kitu, pričom v prípade lososa atlantického a pstruha dúhového došlo k poklesu intenzity frakcií o 3,0 – 46,4 %. U tresky aljašskej a sleďa obyčajného bol zaznamenaný pokles o 2,1 – 46,8 %. Pri druhom spôsobe tepelného ošetrenia termosterilizáciou pri 121 °C/60 minút sme zaznamenali pokles intenzity frakcií u lososa atlantického a pstruha dúhového o 27,3 – 48,2 %. V prípade tresky aljašskej a sleďa obyčajného bol tento pokles o 37,1 – 49,1 %. Ljøkjel, Harstad a Skrede (2000) sledovali vplyv tepelného ošetrenia počas spracovania rybej múčky. Tepelné spracovanie rybej múčky pri 120 °C spôsobilo pokles degradovateľnosti hrubého proteínu a celkových aminokyselín. Ďalší vplyv na degradovateľnosť nemalo ani ošetrenie rybej múčky pri 130 °C. Kyselina glutámová a histidín, najviac ovplyvnené aminokyseliny, sa v rybej múčke po tepelnom spracovaní pri 120 °C degradovali o 25,1 a 20,3 % (Ljøkjel, Harstad a Skrede, 2000). Autori Etienne et al. (1999) zistili, že v prípade extraktov pomocou extrakčného činidla roztoku močoviny s koncentráciou 8 $mol.dm^{-3}$ poklesol obsah bielkovín z vyše 16 $mg.ml^{-1}$ na menej ako 8 $mg.ml^{-1}$, čo predstavuje viac ako 50 % pokles celkového podielu bielkovín v extrakte. U pstruha dúhového sa tepelné ošetrenie prejavilo poklesom z 15 $mg.ml^{-1}$ na približne 9,5 $mg.ml^{-1}$, čo predstavuje zhruba 33 % pokles obsahu bielkovín po tepelnom ošetrení pri 80 °C. Využiteľnosť parvalbumínov pre identifikáciu druhov rýb lososa (*Salmo salar*) a pstruha dúhového (*Oncorhynchus mykiss*), ktoré obsahujú malé množstvo parvalbumínov, je nízka a nemožno ju pre identifikáciu použiť. Naše výsledky korešpondujú s uvedenými autormi, nakoľko aj v našom prípade nastal pokles v celkovom obsahu lososa atlantického o 38,38 $mg.ml^{-1}$ čo predstavuje pokles o 42,62 % po tepelnom ošetrení pri teplote 50 °C a o 51, 91 $mg.ml^{-1}$ čo je 54,94 % po termosterilizácii pri teplote 121 °C/60 minút. V prípade pstruha dúhového bol po tepelnom ošetrení pokles o 14,44 $mg.ml^{-1}$ (28 %) a po termosterilizácii bol pokles o 28,73 $mg.ml^{-1}$ (55,71 %).

ZÁVER

V práci sme sa zamerali na stanovenie celkového obsahu proteínov pri vybraných spôsoboch izolácie proteínov. Na stanovenie celkového obsahu proteínov bolo potrebné vytvoriť kalibračnú krivku zo štandardov BCA. Na výpočet bolo potrebné vzorky lososa atlantického a pstruha dúhového zriediť v pomere 1:50; tresku aljašskú a sleďa obyčajného v pomere 1:20. Najvyšší obsah proteínov u vzorky lososa atlantického bol získaný po izolácii vzoriek metódou AOAC (94,50 $mg.ml^{-1}$) a tepelným ošetrením homogenizátu (56,12 $mg.ml^{-1}$). Najnižšiu výťažnosť proteínov sme získali pri izolácii pomocou komerčného kitu, kde boli straty v rozmedzí 94,03 až 99,17 %. Najvyšší obsah proteínov u vzorky pstruha dúhového sme získali po izolácii vzoriek metódou AOAC (51,57 $mg.ml^{-1}$) a tepelným ošetrením homogenizátu (37,13 $mg.ml^{-1}$). Najvyšší pokles obsahu proteínov sme zistili pri izolácii pomocou komerčného kitu, kde boli straty v rozmedzí 95,04 až 98,85 %. Pri izolácii proteínov tresky atlantickej metódou AOAC sme zistili obsah proteínov 9,58 $mg.ml^{-1}$ a tepelným ošetrením homogenizátu 8,17 $mg.ml^{-1}$. Výrazný pokles v obsahu proteínov sme zaznamenali v prípade použitia komerčného kitu a to o 96,67 až 97,13 %. U sleďa obyčajného sme najvyšší obsah proteínov 16,84 $mg.ml^{-1}$ zistili pri izolácii metódou AOAC a 9,03 $mg.ml^{-1}$ v prípade tepelného ošetrenia homogenizátu. Najvyšší pokles obsahu proteínov 96,39 až 98,41 % sme zaznamenali pri použití komerčného kitu.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-17-0508". Táto práca bola podporená projektom VEGA 1/0239/21.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ABRAHA, B. et al. Effect of processing methods on nutritional and physico-chemical composition of fish: a review. In *MOJ Food Process Technol.* ISSN 2381-182X, 2018, vol. 6, p. 376-382
2. ALIPOUR, H. J. et al. Effects of cooking methods on physico–chemical and nutritional properties of Persian sturgeon Acipenser persicus fillet. In *Internaional Aquatic Resource*. ISSN 2008-6907. 2010, vol. 2, p. 15-20.
3. AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis.* 15th ed. Arlington, USA : AOAC International.
4. CONNELL, J. J. The relative stabilities of the skeletal muscle myosins of some animals. In *Biochemical Journal*. ISSN 0264-6021, 1961, vol. 80, p. 503-509.

5. ETIENNE, M. et al. Identification of fish species after cooking by SDS-PAGE and urea IEF: a collaborative study. In *J Agric Food Chem*. ISSN 1520-5118, 2000, vol. 48, p. 2653-2658.
6. HYOTYLAINEN, T. Critical evaluation of sample pretreatment techniques. In *Anal. Bioanal. Chem.* ISSN 1618-2642, 2009, vol. 394, no. 3, p. 743-758.
7. CHENG, C. S. – Hamann, D. D. – Webb, N. B. Effect of thermal processing on minced fish gel texture. In *Journal of Food Science*. ISSN , 1979, vol. 44, p. 1080- 1086.
8. JONES, N. R. – DISNEY, J. G. Technology in fisheries development in the tropics. In P*roceedings of the Conference on the Handling, Processing and Marketing of Tropical Fish*. 1977. London, UK : Tropical Products Institute, p. 27-31.
9. LI, K. et al. Comparison of dilute acid and alkali pretreatments in production of fermentable sugars from bamboo: effect of tween 80. In Ind. Crops Prod. ISSN 9266-690, 2016, vol. 83, p. 414-422.
10. LJØKJEL, K. – HARSTAD, O. M. – SKREDE, A. Effect of heat treatment of soybean meal and fish meal on amino acid digestibility in mink and dairy cows. In *Animal feed science and technology*. ISSN 3778-401X, 2000, vol. 84, p. 83-95.
11. MENASHI, S. et al. Enthalphy changes associated with the denaturation of collagens of different imino acid content. In *Biochimica at Biophysica Acta*. ISSN 0006-3002, 1976, vol. 444, p. 623-625.
12. SARKER, Z. I. et al. Effect of some biopolymers on the rheological behavior of surimi gel. In *Molecules*. ISSN 1420-3049, 2012, vol. 17, p. 5733-5744.
13. XU, Y. et al. Effect of heat treatment duration on the interaction between fish myosin and selected flavor compounds. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*. ISSN 2381-182X, 2020, vol. 100, p. 4457-4463.

Kontaktná adresa: Benešová Lucia, Institute of Food Science, Slovak university of Agricultural in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic; E-mail: xbenesova@uniag.sk

POTRAVINOVÉ PODVODY S MORSKÝMI RYBAMI A METÓDY ICH ODHAĽOVANIA

FOOD FRAUD WITH SEAFOOD AND METHODS OF THEIR DETECTION

Čapla Jozef, Zajác Peter, Čurlej Jozef, Golian Jozef, Benešová Lucia, Jakabová Silvia, Bobková Alica, Ševcová Katarína

Ústav potravinárstva FBP, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika

ABSTRACT

Food fraud prevention and risk mitigation has become a fast-evolving area for both regulatory agencies and auditing bodies, as well as the laboratory testing field. Although fraud is economically motivated, it can also have major public health consequences, for example, when unapproved substances or unlabeled food allergens are introduced into the food supply. Various forms of seafood fraud are known to occur, including species substitution, illegal transshipment, mislabeling country of origin and/or production method, overtreatment, undercounting, and short-weighting. These forms of fraud are conducted globally and have serious consequences for consumers, the seafood industry, international trade, and protected species. Species-specific features, such as size, color, and texture, can be used for differentiation, but this often requires individuals with expert training. In processed seafood products, many of the identifying features are missing and it can be nearly impossible to properly identify a specific seafood product. Important advances have been made to the analytical methods available for detection of fraud, especially with regards to species substitution. These advances have enhanced the capability of regulatory agencies in the monitoring and detection of seafood fraud. Major seafood scandals and market surveys have highlighted the need for increased scrutiny and enforcement of regulations surrounding seafood fraud.

Key words: food fraud, adulteration, seafood

ÚVOD

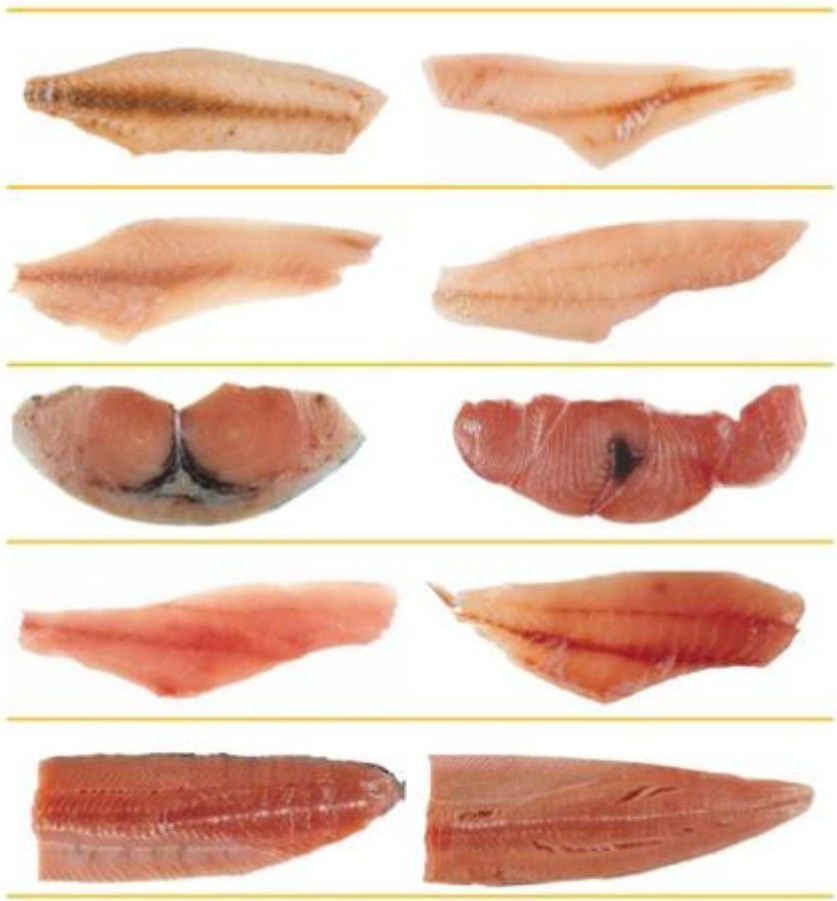
Morské ryby sú základom celosvetovej ponuky potravín, pričom sa odhaduje, že v roku 2018 sa vyprodukovalo 177,7 milióna ton rýb a mäkkýšov (FAO, 2019). Celosvetová spotreba morských rýb v roku 2018 bola v priemere 20,4 kg na osobu: 9,5 kg z lovísk a 10,9 kg z produkcie akvakultúry (FAO, 2019). Najvýznamnejšími druhmi produkovanými

prostredníctvom lovu v roku 2016 boli treska tmavá, sardela peruánska, tuniak pruhovaný, *Sardinella* spp. a makrela, zatiaľ čo hlavnými druhmi produkovanými prostredníctvom akvakultúry boli kapor, tilapia, krevety a ustrice (FAO, 2018b). Morské ryby sú jednou z celosvetovo najobchodovanejších potravín, pričom vývoz rýb a rybích produktov v roku 2016 predstavoval celkovo 60 miliónov ton (FAO, 2018a). Hlavným svetovým exportérom morských rýb bola v roku 2016 Čína, po ktorej nasledovali Nórsko, Vietnam a Thajsko. Najväčším trhom s produktmi z morských rýb bola v roku 2016 Európska únia (EÚ), nasledovaná Spojenými štátmi a Japonskom. Od konca 80. rokov zostala produkcia z lovných oblastí relatívne nezmenená; produkcia akvakultúry však naďalej rástla (FAO, 2018b). V skutočnosti je akvakultúra najrýchlejšie rastúcim z hlavných svetových sektorov výroby potravín, pričom produkcia v roku 2016 dosiahla približne 80 miliónov ton potravinových rýb. Z akvakultúry sa celosvetovo vyprodukovalo 54,1 milióna ton plutvových rýb, 17,1 milióna ton mäkkýšov a 7,9 milióna ton kôrovcov (FAO, 2018b). Morské ryby sa vyrábajú na ľudskú spotrebu v rôznych formách, pričom najbežnejšie sú živé, čerstvé alebo chladené produkty (45 %) a mrazené produkty (31 %) (FAO, 2018a). Menšia časť morských rýb sa predáva v pripravenej alebo konzervovanej forme (12 %) alebo ako konzervovaný (sušený, solený, v slanom náleve, fermentovaný alebo údený) produkt (12 %). Živé a čerstvé ryby sú široko využívané vo východnej a juhovýchodnej Ázii, zatiaľ čo väčšina spotreby morských rýb v Európe a Severnej Amerike zahŕňa mrazené, pripravené a konzervované formy rýb (FAO, 2019). Morské ryby sa považujú za vysokokvalitné bielkovinové potraviny, ktoré tvoria 17 % z celkového množstva živočíšnych bielkovín skonzumovaných ľuďmi (Domingo, 2016). Morské ryby tiež obsahujú niekoľko základných živín, vrátane retinolu, vitamínu D, vitamínu E, ako aj esenciálnych omega-3 mastných kyselín kyseliny eikozapentaénovej (EPA) a kyseliny dokosahexaénovej (DHA) (Jacobs et al., 2015). EPA a/alebo DHA sú spojené s množstvom zdravotných výhod, vrátane zníženého rizika kardiovaskulárnych ochorení, zlepšeného zrakového a kognitívneho vývoja, zmiernenia určitých zápalových stavov a zníženia špecifických duševných porúch (Hellberg et al., 2016). Morské ryby sú veľmi náchylné na podvody z mnohých dôvodov, vrátane podobného výskytu mnohých druhov, rastúceho globálneho obchodu, zložitých dodávateľských reťazcov, nestálych cien a kolísania kvality, ponuky a dopytu po špecifických morských produktoch. Výsledky vyšetrovania INTERPOL - u Europol v roku 2015 odhalili, že medzinárodne obchodované ryby boli treťou najrizikovejšou kategóriou potravín na základe potenciálu podvodu (FAO, 2018a). Medzinárodný obchod s rybami často zahŕňa veľmi zložité dodávateľské reťazce s mnohými bodmi, v ktorých môže dôjsť k podvodom (obr. 1). Okrem

toho obchod so spracovanými rybami, ktorým chýbajú morfologické ukazovatele, sťažuje vizuálne určenie, kedy bola ryba podvodne označená (Naaum a Hanner, 2016).

Okrem úmyselného nesprávneho označovania existujú aj obavy týkajúce sa nezrovnalostí v globálnych požiadavkách na označovanie morských rýb. Tie sa môžu v jednotlivých krajinách líšiť a ďalej komplikujú medzinárodný obchod s morskými rybami. Napríklad EÚ vyžaduje na všetkých etiketách morských rýb obchodné aj vedecké názvy, no regulačné agentúry pre morské ryby v Spojených štátoch a Kanade požadujú iba obchodný názov (Roebuck et al., 2017). Okrem toho sa prijateľné obchodné názvy priradené konkrétnemu druhu môžu líšiť v závislosti od krajiny (Shehata et al., 2019). Tieto rozdiely môžu viesť k nesprávnemu označovaniu morských rýb a zmätku ohľadom skutočnej identity rýb.

Obrázok 1 Prehľad globálneho dodávateľského reťazca morských rýb so substitúciou druhov.



Escolar verzus atlantická treska

Ostrież nílsky verzus kanica

Mečiar verzus žralok mako

Chňapal červený verzus skalník

Chovaný losos verzus divoký losos

Tabuľka 1 Príklady bežne nahradených morských rýb

Druhy rýb na etikete	**Región**	**Nahradené**
Chňapaly	Severná Amerika, Afrika	ostatné chňapaly (*Lutjanus* spp.), tilapia (*Oreochromis* spp.), pražma (*Pagrus* spp.), treska (*Gadus* spp.), ostrież (*Lates* spp.), pražma zlatá (*Sparus aurata*), platýz letný (*Paralichthys dentatus*)
Losos	Brazília, Taliansko, Severná Amerika	ostatné lososy (*Oncorhynchus* spp. or *Salmo salar*), pstruh dúhový (*Oncorhynchus mykiss*), tuniak dlhoplutvý (*Thunnus alalunga*)
Morský vlk	Severná Amerika	Zubáč (*Dissostichus* spp.), tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Pangasius* spp.
Kaviár	Severná Amerika	Šťuka severná (*Esox lucius*), ikry pádlových r. (*Polyodon spathula*), kaluga (*Huso dauricus*), beluga (*Huso huso*)
Treska	Francúzsko, Brazília, Taliansko, Severná Amerika, Európa	treska tmavá (*G. chalcogrammus*), treska jednoškvrnná (*Melanogrammus aeglefinus*), treska merlang (*Merluccius productus*), *Liparis* spp., *Talismania bifurcata*, *Sebastes* spp., tilapia (*Oreochromis* spp.), *Pangasius* spp., Tichomorský halibut (*Hippoglossus stenolepis*)
Krab	Malajzia, Severná Amerika	Pražma vláknitá (*Nemipterus mezoprion*), pleskáč (*N. mesoprion*), *Priacanthus macracanthus*
Tuniak	Francúzsko, Brazília, Taliansko, Severná Amerika, Európa	ostatné tuniaky (*Thunnus* spp.), mozambická tilapia (*Oreochromis mossambicus*), morský kohút, escolar (*Lepidocybium flavobrunneum*), *Seriola zonata*, losos (*S. salar*), žltochvost (*Seriola lalandi*)

Existuje celý rad potenciálnych dôsledkov spojených s podvodmi a nesprávnym označovaním morských rýb, vrátane vystavenia alergénom a toxínom, ktoré môžu byť život ohrozujúce, porušovania náboženských práv, dopadov na životné prostredie a ekonomického podvodu. Zmiernenie podvodov s morskými rybami si vyžaduje spoločné úsilie priemyslu, obchodných organizácií, výskumníkov a vládnych agentúr v oblastiach, ako je vývoj noriem a testovacích metód, presadzovanie a dodržiavanie predpisov a vzdelávanie nákupcov morských rýb.

DRUHY PODVODOV S MORSKÝMI RYBAMI

Je známe, že dochádza k rôznym formám podvodov s morskými rybami, vrátane nahrádzania druhov, nezákonnej prekládky, nesprávneho označovania krajiny pôvodu a/alebo výrobného postupu, nadmerného zaobchádzania, podhodnotenia a nízkej váhy. Tieto formy podvodov sa uskutočňujú celosvetovo a majú vážne dôsledky pre spotrebiteľov, priemysel morských rýb, medzinárodný obchod a chránené druhy.

Substitúcia druhov

Nahradenie druhov morských rýb nastáva vtedy, keď sa vysoko cenený druh nahradí lacnou alternatívou bez vedomia kupujúceho, čo vedie k nesprávnemu označeniu produktu. Napríklad chňapal obyčajný (*Lutjanus campechanus*) je často nahradený lacnejšími druhmi, ako sú iné chňapaly, tilapia alebo treska (Warner et al., 2013). Druhy morských rýb boli tiež nahradené s cieľom vyhnúť sa zdaneniu alebo utajiť nezákonne ulovené morské ryby. Náhradu morských rýb môže byť ťažké rozpoznať kvôli podobnostiam medzi rôznymi druhmi, vrátane chuti, vzhľadu a textúry (FAO, 2018b). Okrem ekonomického podvodu môže nahrádzanie druhov morských rýb viesť k nespočetným zdravotným, náboženským a ochranným problémom. K inej forme nesprávneho označovania druhov morských rýb dochádza v dôsledku nedodržiavania regulačných usmernení pre označovanie druhov; táto časť je však primárne zameraná na zámerné nahrádzanie jedného druhu morských rýb iným. Viaceré nezávislé štúdie preukázali dôvod na obavy zo substitúcie morských rýb v celom globálnom dodávateľskom reťazci morských rýb (Carvalho et al., 2017b). Súhrn bežne substituovaných druhov je uvedený v tabuľke 1. V celej Európe rôzne štúdie uvádzajú výskyt nesprávneho označovania morských rýb (Armani et al., 2015). V jednej štúdii Pardo et al., (2018) skúmali trhy s morskými rybami v 23 európskych krajinách a odhalili, že každé tretie zariadenie verejného stravovania podávalo nesprávne označené produkty. Celková miera nesprávneho označovania bola 26 %, pričom najčastejšie boli nahradené ostrieže a tuniak žltoplutvý. Medzi bežne nesprávne označené ryby identifikované v rôznych európskych štúdiách patria treska, halibut, atlantická treska, sumec a tilapia, pričom miera nesprávneho označenia sa pohybuje od 17 % do 66 % (Tinacci et al., 2018).

Nelegálna prekládka

Prekládka zahŕňa prepravu tovaru na medzimiesto pred príchodom do konečného miesta určenia. Počas prekládky môže byť kontajner vyložený z pôvodného plavidla a preložený na iné plavidlo v medziľahlom prístave. Zatiaľ čo prekládka je bežný postup v medzinárodnom

obchode, považuje sa za nezákonnú, ak je jej cieľom obchádzať clá a iné obchodné obmedzenia. Napríklad prekládka sa môže použiť na vyhnutie sa antidumpingovým clám, ktoré sa uplatňujú na zahraničných výrobcov, ktorí predávajú tovar v inej krajine za nižšiu ako reálnu hodnotu (Upton, 2015). Špecifický príklad toho nastal medzi rokmi 2016 a 2018, keď sa krevety prepravovali z Číny do Spojených štátov cez Kambodžu a Malajziu, pravdepodobne s cieľom vyhnúť sa antidumpingovým clám (Upton, 2015).

Nesprávne označenie krajiny pôvodu a spôsobu výroby

Mnohé krajiny vyžadujú, aby produkty z morských rýb boli označené krajinou pôvodu a/alebo krajinou poslednej podstatnej zmeny, ako aj spôsobom výroby (chované na farme alebo ulovené vo voľnej prírode). Európske nariadenia vyžadujú, aby sa spotrebiteľom poskytol spôsob výroby, použitý rybársky výstroj a zemepisnú oblasť, v ktorej bol výrobok ulovený alebo chovaný [nariadenie (EÚ) č. 1379/2013]. Zatiaľ čo nesprávne nahlásenie krajiny pôvodu a/alebo výrobnej metódy môže byť spojené s nedostatočnými znalosťami o správnom označovaní na maloobchodnej úrovni, mohlo by sa tiež vykonávať podvodným spôsobom z dôvodov, ako je falšovanie informácií o produkte za účelom ekonomického zisku, predaj NNN morských rýb a/alebo zakrývanie nezákonnej prekládky. Rozdiely v predpisoch týkajúcich sa označovania krajiny pôvodu oproti krajine poslednej podstatnej transformácie môžu problém ďalej skomplikovať a sťažiť overenie krajiny pôvodu pomocou analytického testovania.

METÓDY ODHAĽOVANIA PODVODOV S MORSKÝMI RYBAMI

Detekčné metódy pre substitúciu druhov

Morfologické charakteristiky sa tradične používajú na identifikáciu rôznych druhov morských rýb. Druhovo špecifické vlastnosti, ako je veľkosť, farba a textúra, sa môžu použiť na rozlíšenie, ale to si často vyžaduje odborníkov s odborným školením. V spracovaných produktoch z morských rýb mnohé z identifikačných znakov chýbajú a môže byť takmer nemožné správne identifikovať konkrétny produkt z morských rýb (Pardo et al., 2018). Našťastie je k dispozícii množstvo analytických testovacích metód na druhovo špecifickú identifikáciu morských rýb, pričom najbežnejšie sú metódy založené na DNA a proteínoch.

Proteínové metódy

Izoelektrické zaostrovanie

Izoelektrické zaostrovanie (IEF) sa historicky používalo na identifikáciu druhov morských rýb kvôli jeho ekonomickej efektívnosti a celkovej jednoduchosti. Táto metóda zahŕňa separáciu vo vode rozpustných sarkoplazmatických proteínov v polyakrylamidovom géli, ktorý má rozsah pH 3 - 10 a je pripojený k elektrickému poľu (Verrez-Bagnis et al., 2018). V dôsledku rozdielu v obsahu aminokyselín v proteínoch sa celkový náboj každej molekuly mení, čo umožňuje separáciu rôznych proteínov korelujúce s každým konkrétnym druhom. Polohy špecifické pre proteín, definované ako izoelektrické body (pI), vytvárajú proteínové vzory, ktoré sú podobné čiarovému kódu. Hodnoty pí identifikovaných pásov sa vypočítajú pomocou známeho markerového proteínu a za použitia vizualizačného systému so schopnosťou analýzy údajov. Niekoľko štúdií účinne využívalo IEF ako druhovo špecifickú identifikačnú techniku (Berrini et al., 2006). Rôzne metódy spracovania, ako je ohrievanie, vyprážanie alebo údenie, však môžu denaturovať proteíny a viesť k neefektívnym pásom na identifikáciu druhov.

Čipová kapilárna elektroforéza

Vedci z NOAA Fisheries (Walker et al., 2017) vyvinuli metódu založenú na proteínoch na identifikáciu druhov morských rýb pomocou čipovej kapilárnej elektroforézy kombinovanej s analýzou proteínového vzoru. Metóda analyzuje vo vode rozpustné sarkoplazmatické proteíny z morských rýb pomocou mikrofluidnej elektroforézy na identifikáciu druhovo špecifických proteínových vzorcov. Na identifikáciu druhov na základe porovnania s databázou sa používajú algoritmy na porovnávanie proteínov. Walker et al., (2017) efektívne identifikovali viac ako 300 vzoriek rýb pomocou tejto techniky založenej na bielkovinách. Nevýhodou tejto techniky je komplexná analýza údajov a algoritmy potrebné na identifikáciu druhov, napriek tomu je účinná pri rozlišovaní často uvádzaných substitúcií vrátane sumca a tilapie (Walker et al., 2017). Autori tiež uviedli, že táto technika je použiteľná v spojení s metódami identifikácie druhov na báze DNA tým, že poskytuje lacný, vysoko výkonný a nákladovo efektívny nástroj na overovanie morských rýb.

Imunoanalýzy (enzýmová imunoanalýza)

Na identifikáciu druhov morských živočíchov je možné použiť reakcie antigén - protilátka, pri ktorých sa využívajú antigény svalových bielkovín a poly/monoklonálne protilátky (pAbs/mAbs). Produkty na báze Surimi boli testované na možnú substitúciu druhov

pomocou metód dot-blot, vrátane lososa atlantického, tuniaka žltoplutvého a tilapie. Enzýmovo viazaný imunosorbentový test bol účinný aj pri kvantifikácii surimi tresky v krabích tyčinkách pomocou pAbs.

Metódy založené na DNA

Sangerove sekvenovanie

Dve hlavné metódy založené na sekvenovaní používané na identifikáciu druhov morských rýb sú čiarové kódovanie DNA a forenzné informatívne sekvenovanie nukleotidov (FINS) (Hellberg et al., 2016). Obidve techniky sa spoliehajú na Sangerovo sekvenovanie štandardizovaného génového cieľa, ktorý vykazuje nízku divergenciu v rámci druhu a vysokú variáciu medzi druhmi. Tieto metódy využívajú referenčné databázy obsahujúce sekvencie z overených vzoriek, ktoré možno porovnať so sekvenciou z neznámej vzorky, aby sa umožnila identifikácia druhu. Tieto metódy sú vysoko informatívne, spoľahlivé a široko používané (Shehata et al., 2018). Hlavnými genetickými cieľmi využívanými metódami založenými na sekvenovaní sú mitochondriálne gény cytochróm *b* (FINS) a COI (čiarové kódovanie DNA) (Hellberg et al., 2016). Použitie mitochondriálnej DNA (mtDNA) na identifikáciu druhov morských rýb sa uprednostňuje kvôli vysokej miere mutácií.. Limitujúcim faktorom pre techniky založené na DNA je spoliehanie sa na referenčnú databázu pre informácie o sekvencii. Zatiaľ čo verejné databázy obsahujú veľké množstvo sekvenčných informácií, niekedy existujú neúplné referenčné knižnice pre daný druh a chyby, ako je nesprávna identifikácia vzorky. Spravované databázy, ako napríklad referenčná štandardná sekvenčná knižnica FDA, ktorá obsahuje sekvencie spojené s overenými vzorkami,

PCR real time

PCR real time je rýchly prístup k identifikácii druhov morských rýb, ktorý zaznamenáva údaje v reálnom čase pomocou technológie založenej na fluorescencii (Hulley et al., 2019). Táto vysokovýkonná metóda je účinná pri použití špecifických primerov a fluorescenčných sond, ktoré detegujú cieľovú oblasť DNA buď jednodruhovým alebo multiplexným prístupom. Na túto aplikáciu sa používajú rôzne fluorescenčné technológie, najjednoduchšia je SYBR green I, ktorá sa viaže na malé drážky dvojvláknovej DNA (dsDNA) (Pappalardo et al., 2019). Široko používané sú aj vysoko špecifické sondy, ako napríklad TaqMan, ktoré sa viažu na cieľovú oblasť DNA. PCR real time sa vo všeobecnosti zameriava na krátke fragmenty (300 bp) DNA a mnohé štúdie preukázali, že táto technika je účinná pri identifikácii druhov morských rýb v spracovaných produktoch (Feng et al., 2017).

Polymorfizmus dĺžky reštrikčného fragmentu PCR

Polymorfizmus dĺžky reštrikčného fragmentu PCR (RFLP) je technika, ktorá zahŕňa amplifikáciu špecifického fragmentu DNA s univerzálnymi primérmi, štiepenie reštrikčnými endonukleázami a separáciu pomocou gélovej elektroforézy (Verrez-Bagnis et al., 2018). Táto metóda je ekonomicky výhodná a dobre zavedená na identifikáciu druhov morských rýb (Xu et al., 2016). Rôzne štúdie použili túto techniku v kombinácii s DNA čiarovým kódovaním na druhovú autentifikáciu morských rýb (Panprommin et al., 2019; Xu et al., 2016). Podobne ako pri real-time PCR, PCR-RFLP je cielená metóda, ktorá vyžaduje referenčné informácie o sekvenovaní, aby bolo možné navrhnúť druhovo špecifický test (Lago et al., 2014).

ZÁVER

Globálny morský priemysel je veľmi náchylný na podvodné aktivity, čiastočne kvôli rozsiahlemu medzinárodnému obchodu s morskými rybami, zložitým dodávateľským reťazcom, podobnému vzhľadu mnohých druhov morských rýb, kolísaniu ponuky a dopytu a zvýšenému obchodu so spracovanými morskými produktmi. Zatiaľ čo podvody s morskými rybami sú vo svojej podstate motivované ekonomickými faktormi, existujú vážne riziká pre verejné zdravie, ktoré sa môžu vyskytnúť, keď sa morské ryby obsahujúce určité toxíny alebo alergény predávajú pod falošným alebo zavádzajúcim názvom. Okrem toho zlé hygienické postupy spojené s niektorými podvodnými udalosťami predstavujú zdravotné riziko pre spotrebiteľov. Významný pokrok sa dosiahol v dostupných analytických metódach na odhaľovanie podvodov, najmä pokiaľ ide o substitúciu druhov. Tieto pokroky zvýšili schopnosť regulačných agentúr pri monitorovaní a odhaľovaní podvodov s morskými rybami. Veľké škandály s morskými rybami a prieskumy trhu zdôraznili potrebu zvýšenej kontroly a presadzovania predpisov týkajúcich sa podvodov s morskými rybami. Používanie rôznych trhových názvov v jednotlivých krajinách ďalej komplikuje správne označovanie morských rýb. Nariadenia by sa mali aktualizovať v celosvetovom meradle, aby vyžadovali používanie vedeckých názvov v celom dodávateľskom reťazci morských rýb. Okrem toho sa odporúča pravidelná kontrola morských rýb z hľadiska podvodu na viacerých miestach v rámci dodávateľského reťazca, a to aj v mieste dovozu, ako aj na veľkoobchodnej a maloobchodnej úrovni. Inšpekcie by mali zahŕňať testovanie na druhy, ako aj skúmanie dokumentov o vysledovateľnosti s cieľom overiť krajinu pôvodu a identifikovať prípady nezákonnej prekládky.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Slovenskou Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v rámci grantu: zmluva č. APVV-19-0180.

This publication was supported by the Operational program Integrated Infrastructure within the project: Demand-driven research for the sustainable and innovative food, Drive4SIFood 313011V336, co-financed by the European Regional Development Fund.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ARMANI, A., GUARDONE, L., LA CASTELLANA, R., GIANFALDONI, D., GUIDI, A., CASTIGLIEGO, L.. DNA barcoding reveals commercial and health issues sold on the Italian market in ethnic seafood. 2015, *Food Control* 55, p. 206-214. Available from: https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.02.030.
2. BERRINI, A., TEPEDINO, V., BORROMEO, V., SECCHI, C. Identification of freshwater fish commercially labelled "perch" by isoelectric focusing and two-dimensional electrophoresis. 2006, *Food Chem.* 96 (1), p. 163-168. Available from: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.007.
3. CARVALHO, D.C., GUEDES, D., GLORIA TRINDADE, M. DA, SARTORI COELHO, R.M., DE LIMA ARAUJO, P.H., Nationwide Brazilian governmental forensic programme reveals seafood mislabelling trends and rates using DNA barcoding. 2017b, *Fish. Res.* 191, p. 30-35. Available from: https://doi.org/10.1016/j.fishres.2017.02.021.
4. CAWTHORN, D.M., DUNCAN, J., KASTERN, C., FRANCIS, J., HOFFMAN, L.C. Fish species substitution and misnaming in South Africa: an economic, safety and sustainability conundrum revisited. 2015. *Food Chem.* 185, p.165-181. Available from: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.113.
5. DOMINGO, J.L., Nutrients and chemical pollutants in fish and shellfish. Balancing health benefits and risks of regular fish consumption. 2016, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 56 (6), p. 979-988. Available from: https://doi.org/10.1080/ 10408398.2012.742985.
6. FAO. Overview of food fraud in the fisheries sector, by Alan Reilly. Fisheries and aquaculture circular. 2018a.
7. FAO. The state of world fisheries and aquaculture 2018b. [Online] Available from: http://www.fao.org/ 3/i9540en/I9540EN.pdf (accessed 17.12.19.).
8. FAO. Globefish highlights April 2019 issue, with Jan.-Dec. 2018 statistics - a quarterly update on world seafood markets. Globefish highlights no. 2-2019. [Online] Available

from: http://www.fao.org/in-action/ globefish/fishery-information/resource-detail/en/c/1199620/ (accessed 06.09.19.).

9. FENG, J., WU, Z., XIE, X., DAI, Z., LIU, S. A real-time polymerase chain reaction method for the identification of four commercially important salmon and trout species. 2017, *Mitochondrial DNA*, 28 (1-2), p. 104-111. Available from: https://doi.org/10.3109/19401736.2015.1111346.
10. HELLBERG, R.S., POLLACK, S.J., HANNER, R.H. Seafood species identification using DNA sequencing. 2016, In: *Seafood Authenticity and Traceability: A DNA-Based Pespective, Elsevier*, p. 113-132, https://doi.org/10.1016/b978- 0-12-801592-6.00006-1.
11. HULLEY, E.N., THARMALINGAM, S., ZARNKE, A., BOREHAM, D.R. Development and validation of probe-based multiplex real-time PCR assays for the rapid and accurate detection of freshwater fish species. PLoS One 14 (1). 2019. Available from: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210165.
12. INTERPOL. Eur 230 million worth of fake food and beverages seized in global OPSON operation targeting food fraud. 2017.
13. JACOBS, S., SIOEN, I., PIENIAK, Z., DE HENAUW, S., MAULVAULT, A.L., REUVER, M., et al., Consumers' health risk- benefit perception of seafood and attitude toward the marine environment: insights from five European coun- tries. 2015, *Environ. Res.* 143, p. 11-19. Available from: https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.02.029.
14. LAGO, F.C., ALONSO, M., VIEITES, J.M., ESPINEIRA, M., Fish and seafood authenticity - species identification. 2014, SEAFOOD PROCESS.: *Technol. Qual. Saf.* 16, 419-452. [Online] Available from: http://WOS:000362569300017.
15. NAAUM, A., HANNER, R. Seafood authenticity and traceability: a DNA-based perspective. 2016. In: *Seafood Authenticity and Traceability: A DNA-Based Perspective, Elsevier,* pp. 47-76.
16. PANPROMMIN, D., SOONTORNPRASIT, K., PANGESON, T., Comparison of three molecular methods for species iden- tification of the family Cichlidae in Kwan Phayao, Thailand. 2019, *Mitochondrial DNA*, 30 (1), p.184-190. Available from: https://doi.org/10.1080/24701394.2018.1472248.
17. PAPPALARDO, A.M., PETRACCIOLI, A., CAPRIGLIONE, T., FERRITO, V. From fish eggs to fish name: caviar species dis- crimination by COIBar-RFLP, an efficient molecular approach to detect fraud in the caviar trade. 2019, *Molecules* 24 (13). Available from: https://doi.org/10.3390/molecules24132468.

18. PARDO, M.A., JIMENEZ, E., PEREZ-VILLARREAL, B. Misdescription incidents in seafood sector. 2016, *Food Control* 62, p. 277-283. Available from: https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.10.048.
19. PARDO, A.M., JIMENEZ, E., VIDARSSON, J.R., OLAFSSON, K., OLAFSDOTTIR, G., DANIELSDOTTIR, A.K., ET AL. DNA bar- coding revealing mislabeling of seafood in European mass caterings. 2018, *Food Control* 92, p. 7-16. Available from: https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.04.044.
20. ROEBUCK, TURLO, C., SULLER, S.D. Canadians eating in the dark: a report card of international seafood labelling requirements. Living Oceans Society, Vancouver, BC, CA. 2017 [Online] Available from: https://www.seachoice. org/wp-content/uploads/2017/03/Seafood-Labelling-Report-Online.pdf (accessed 26.02.20.).
21. SHEHATA, H.R., NAAUM, A.M., GARDUNO, R.A., HANNER, R.. DNA barcoding as a regulatory tool for seafood authentication in Canada. 2018, *Food Control* 92, p. 147-153. Available from: https://doi.org/10.1016/j. foodcont.2018.04.045.
22. SHEHATA, H.R., BOURQUE, D., STEINKE, D., CHEN, S., HANNER, R. Survey of mislabelling across finfish supply chain reveals mislabelling both outside and within Canada. 2019. *Food Res. Int.* 121, 723-729. Available from: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.047.
23. TINACCI, L., STRATEV, D., VASHIN, I., CHIAVACCINI, I., SUSINI, F., GUIDI, A., et al.. Seafood labelling compliance with European legislation and species identification by DNA barcoding: a first survey on the Bulgarian mar- ket. 2018, *Food Control* 90, p. 180-188. Available from: https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.03.007.
24. UPTON, H.F., Seafood fraud. 2015 14. [Online] Available from: https://nationalaglawcenter.org/wp-content/ uploads/assets/crs/RL34124.pdf (accessed 27.07.19.).
25. VERREZ-BAGNIS, V., SOTELO, C.G., MENDES, R., SILVA, H., KAPPEL, K., SCHRODER, U. Methods for seafood authen- ticity testing in Europe. 2018, In: *Bioactive Molecules in Food*, pp. 1-55.
26. WALKER, C.C., LASSITTER, C.L., LYNN, S.N., FORD, C.B., RADEMACHER, K.R., RUPLE, A.D.. Rapid seafood species identification using chip-based capillary electrophoresis and protein pattern matching. 2017, *J. AOAC Int.* 100 (5), p. 1500-1510. Available from: https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0178.

27. WARNER, K., TIMMS, W., LOWELL, B., HIRSHFIELD, M. Oceana study reveals seafood fraud nationwide. 2013 [Online] Available from: https://oceana.org/sites/default/files/reports/National_Seafood_Fraud_Testing_Results_FINAL. pdf (accessed 17.07.19.).
28. XU, K.H., FENG, J.L., MA, X.T., WANG, X., ZHOU, D., DAI, Z.Y. Identification of tuna species (Thunnini tribe) by PCR-RFLP analysis of mitochondrial DNA fragments. 2016. *Food Agric. Immunol.* 27 (3), p. 301-313. Available from: https://doi.org/10.1080/09540105.2015.1086978.

Kontaktná adresa: Čapla Jozef, Institute of Food Sciences, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic; E-mail: jozef.capla@uniag.sk

KVALITA A ZDRAVOTNÁ BEZPEČNOSŤ MÄSOVÝCH VÝROBKOV V KONTEXTE VYUŽITIA ALTERNATÍVNYCH PRÍSTUPOV PRI PRODUKCII

QUALITY AND HEALTH SAFETY OF MEAT PRODUCTS IN THE CONTEXT OF THE USE OF ALTERNATIVE PRODUCTION APPROACHES

Čurlej Jozef, Zajác Peter, Čapla Jozef, Jakabová Silvia, Benešová Lucia, Golian Jozef

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

ABSTRACT

Meat products represent an important place in the human diet, being an important source of energy and selected nutrients. However, in particular, frequent meat consumption is associated with the risk of several diseases. Meat product manufacturers and the scientific community are looking for ways to improve the nutritional value and remove potentially hazardous compounds in order to obtain healthier products without adversely affecting the sensory quality and safety of meat products. In this study, we present recent trends in meat product production to improve the quality and safety of meat products. In this direction, bioactive compounds of plant origin (antioxidants, fiber) probiotics, practices leading to the reduction of risky ingredients (salt, nitrates/nitrites, N-nitrosamines) or the use of alternative food treatments (high pressure processing, cold plasma, ultrasound) are strategies to achieve this goal.

Key words: quality of meat products; antioxidants; fibre; probiotics; processing technology

ÚVOD

Všeobecne známa definícia hovorí o mäse ako o kostrovej svalovine a pridružených tkanivách zvierat. V súlade s európskou legislatívou mäso predstavuje požívateľné časti získané z tiel jatočných zvierat (domáce kopytníky vrátane ošípaných, hovädzí dobytok, ovce a kozy, domáce nepárnokopytníky, hydina, zajacovité, farmová zver, divo žijúce zvieratá) (EC, 2004) [1]. Mäsové produkty sú definované ako výrobky, u ktorých bolo čerstvé mäso podrobené spracovateľským postupom (fermentácia, konzervovanie, dehydratácia, údenie, tepelná úprava a i.) (Simonin et al. 2012). Konzumácia mäsa je etablovanou súčasťou vo výžive ľudí v modernej spoločnosti, považuje sa za nevyhnutnú pre optimálny vývoj organizmu (Higgs, 2000). Mäso je významným zdrojom energie a živín, vrátane vysokokvalitných bielkovín, minerálnych látok a vitamínov. Pokiaľ ide o nutričné zloženie na 100 g mäsa, to môžu

obsahovať 17,3-24,1 g bielkovín, 0,3-2 µg vitamínu B12 a minerálne látky (24-77 mg sodíka, 145-221 mg fosforu, 0,6-2 mg železa a 0,9-2 mg zinku), pričom energetická hodnota môže byť v rozmedzí 105 až 176 kcal (Pereira a Vicente, 2013). Viaceré štúdie poukazujú na to, že mäso a mäsové výrobky sú okrem makroživín (bielkoviny a lipidy), bohaté aj na niektoré bioaktívne zložky s antioxidačnými vlastnosťami (Kulczynski et al., 2019). Antioxidačné vlastnosti L-karnitínu a L-karnosínu potvrdili nedávne štúdie prostredníctvom ich radikálovej čistiacej aktivity a schopnosti chelatovať ióny kovov. Iné štúdie vykonané na živočíšnych modeloch uvádzajú, že príjem týchto zlúčenín prispieva k významnému zníženiu hladiny triglyceridov a celkového cholesterolu v sére (Kulczynski et al., 2019). Okrem antioxidačných vlastností kyseliny lipoovej známy je jej hypotenzný a imunomodulačný účinok (Skibska a Goraca, 2015). Ďalej, taurín znižuje hladinu voľného a esterifikovaného cholesterolu. Peptidy extrahované z mäsa vykazujú antitrombotické vlastnosti a cytotoxický účinok proti rôznym rakovinovým bunkám (Albenzio et al., 2017). Na strane druhej, napriek spomínaným nutričným vlastnostiam, niektoré štúdie poukazujú na súvislosť medzi častou konzumáciou červeného mäsa a zvýšeným rizikom vzniku rôznych typov rakoviny, najmä kolorektálnej (McBey et al., 2019). Konzumácia spracovaného mäsa môže súvisieť aj s rizikom vzniku srdcových ochorení a rôznych metabolických porúch (cukrovka, obezita) (Domingo a Nadal, 2017). Súvislosť medzi konzumáciou mäsa a zdravotným rizikom podmieňuje viacero mechanizmov. Vzhľadom na to, že spracované mäso je bohaté na nasýtené mastné kyseliny a soľ, v priebehu spracovateľských fáz sa môžu formovať karcinogénne a mutagénne zložky, ako aj N-nitrózo zlúčeniny, biogénne amíny, heterocyklické aromatické amíny či polycyklické aromatické uhľovodíky (Bouvard et al., 2015). Z uvedených dôvodov, v oblasti výskumu sa viacerí zameriavajú na vývoj mäsových výrobkov s nižším obsahom niektorých nežiaducich prídavných látok, tukov, cholesterol, chloridu sodného a so zlepšeným zložením nenasýtených mastných kyselín či iných bioaktívnych látok (Gagaoua a Picard, 2020).

SUPLEMENTÁCIA MÄSOVÝCH VÝROBKOV

Probiotiká

Podľa Organizácie Spojených národov pre výživu a poľnohospodárstvo (FAO), Svetovej zdravotníckej organizácie (WHO) a podľa Medzinárodnej vedeckej asociácie pre probiotiká a prebiotiká (ISAPP) sa probiotiká vzťahujú na nepatogénne živé mikroorganizmy, ktoré, ak sú prítomné v primeranom množstve, prinášajú konzumentovi zdravotné benefity (Fijan, 2014). Probiotiká sa podieľajú na normalizácii narušenej mikrobioty (udržiavanie integrity črevnej bariéry), kompetitívnym vylúčením patogénov (Hill et al., 2014). Hlavné

probiotické kultúry v potravinárskych výrobkoch predstavujú *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*, množstvo iných druhov baktérií (*Lactococcus, Enterococcus, Propionibacterium*) prípadne kvasinky (*Saccharomyces*) (Didari et al., 2014). Probiotické mäsové výrobky sú súčasťou tzv. funkčných potravín, vďaka obsahu probiotických mikroorganizmov. Požadované vlastnosti probiotických mikrobiálnych kultúr sú rezistetnosť voči gastrointestinálnym podmienkám (kyselina, pankreatické enzýmy), schopnosť kolonizovať sliznicu čreva a inhibovať potenciálne patogénne baktérie, nepatogenita, schopnosť prežívať podmienky technologických procesov (fermentácia, sušenie, prítomnosť inhibítorov: soľ alebo dusitany, nízka aktivita vody, kyslé pH) (Gandhi a Shah, 2015) a neprítomnosť špecifickej rezistencie na antibiotiká (Sun et al., 2016). V rámci spektra mäsových výrobkov sú fermentované suché salámy najvhodnejšie na inkorporáciu probiotických baktérií, vzhľadom na ich konzumáciu bez tepelnej úpravy, čím sa zvyšuje prežívateľnosť probiotík (Vuyst et al., 2008). Okrem iného, mäsová matrica sa považuje za protektívnu pre probiotické baktérie počas ich prechodu gastrointestinálnym traktom (Pasqualin Cavalheiro et al., 2015). Viaceré štúdie preukázali využiteľnosť druhov *Lactobacillus* ako potenciálnych probiotík vo fermentovaných mäsových výrobkoch. Štúdia týkajúca sa prežívateľnosti baktérii mliečneho kysnutia (štartovacie kultúry) pre mäsové výrobky poukazuje, že *Lactobacillus sakei* a *Pediococcus acidilactici* majú vysokú prežívateľnosť v podmienkach kyslého pH a vysokej koncentrácie soli (Erkkilä a Petäjä, 2000). *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus casei, Lactobacillus rhamnosus* a *Lactobacillus paracasei* sa tiež uvádzajú ako potenciálne probiotiká v mäsových výrobkoch (Sameshima et al., 1998). Rovnováha medzi technologickými výzvami a zdravotnými prínosmi by mala byť vyvážená senzorickými vlastnosťami. Niektoré štúdie uvádzajú nízke prežívanie probiotických mikroorganizmov vo fermentovaných mäsových výrobkoch (Fernández-Ginés et al., 2005). Na zvýšenie ich schopnosti prežívať v nepriaznivom prostredí, ako sľubná metóda sa ponúka tzv. mikroenkapsulácia. Táto technika spočíva v obaľovaní buniek mikroorganizmov do polymérnych kapsúl, ktoré zabezpečujú ochrannú bariéru pre živé bunky (Chávarri et al., 2010). Najpoužívanejšími materiálmi na enkapsuláciu probiotík sú: alginát, škrob, glycerol, k-karagenan, xantánová guma, želatína, srvátkové bielkoviny, mastné kyseliny a chitosan (Călinoiu et al., 2019). Song et al. [2018] vo svojej štúdii potvrdzujú význam enkapsulácie na príklade *Bifidobacterium longum* vo fermentovaných klobásach, pri zachovaní životaschopnosti približne u polovice probiotických baktérií vo výrobku po fermentácii a 22 dňoch zrenia. Inokulovaný výrobok vykauje najnižšiu úroveň oxidácie lipidov, vyšší obsah nenasýtených mastných kyselín a lepšie senzorické parametre (farba, vôna a chuť) v porovnaní s neinokulovanou kontrolnou vzorkou. Ďalším dôležitým aspektom probiotických

mikroorganizmov je ich schopnosť produkovať vysoké výťažky bakteriocínov, ktoré pôsobia ako bioprotektíva. Prídavok enkapsulovaného *Lactobacillus casei* do fermentovaných klobás zabezpečuje vysokú odolnosť voči kazeniu a výrazné zníženie počtu baktérií Pseudomonas, Enterobaktérií a Stafylokokov (Sidira et al., 2014). Prídavok voľných buniek *Enterococcus faecalis* do mletého hovädzieho mäsa (4 log CFU g^{-1}) inhibuje rast *Escherichia coli, Clostridium perfringens* a *Listeria monocytogenes* (Sparo et al., 2013), zatiaľ čo zapuzdrené a voľné bunky *Lactobacillus reuteri* inaktivujú patogénne baktérie *Escherichia coli* O157:H7 a významne zvyšujú trvanlivosť suchých fermentovaných klobás (Muthukumarasamy a Holley, 2007).

Antioxidanty

Oxidácia lipidov, bielkovín alebo pigmentov predstavuje jednu z hlavných príčin zhoršenej kvality mäsa a mäsových výrobkov, nakoľko ovplyvňuje ich farbu, chuť, štruktúru a výživovú hodnotu. Okrem toho, oxidačné reakcie sa podieľajú na produkcii niektorých potenciálne cytotoxických a genotoxických zlúčenín, ako sú peroxy-radikály, peroxidy mastných kyselín, hydroperoxid cholesterolu, malonaldehyd (Fernández-López et al., 2004). Rýchlosť oxidačných procesov možno účinne spomaliť použitím antioxidantov. V tomto smere sa v mäsovom priemysle už dlhšiu dobu úspešne využívajú antioxidanty syntetického pôvodu (butylovaný hydroxytoluén-BHT, butylovaný hydroxyanizol-BHA, propylgalát-PG, terciárny butylhydrochinón-TBHQ), ktoré kontrolujú oxidačné reakcie. Alternatívou k menovaným zložkám je využívanie prírodných antioxidantov pre potlačenie oxidácie lipidov a bielkovín (fenolové zlúčeniny: fenolové kyseliny, fenolové diterpény, flavonoidy; prchavé oleje; karotenoidy; vitamíny: vitamín A, vitamín C a vitamín E; bioaktívne peptidy) (Sohaib et al., 2017). Viaceré štúdie dokázali účinnosť bylín a korenín ako prírodných antioxidantov (klinček, rozmarín, oregano, muškátový oriešok, šalvia, škorica), listov zeleného čaju, aloe vera, hrozna, tmavých bobuľovín alebo citrusov pri prevencii oxidácie mäsových výrobkov (Kausar et al., 2019). Okrem zlepšenia trvanlivosti, oxidačnej stability a senzorických vlastností môžu tieto prírodné zlúčeniny prispieť k zlepšeniu vlastností a zdravotných benefitov mäsových výrobkov (Hathwar et al., 2012).

Vláknina

V posledných rokoch sa súčasťou stratégie zlepšenia kvality mäsových výrobkov stalo pridávanie niektorých funkčných alebo bioaktívnych zložiek (vláknina, antioxidanty, probiotiká a prebiotic) pre zvýšenie výživovej hodnoty. Negatívne účinky niektorých zložiek

(nasýtené mastné kyseliny, cholesterol, triglyceridy) na ľudské zdravie (Hathwar et al., 2012) možno minimalizovať prídavkom vlákniny do mäsových výrobkov. Európsky úrad pre bezpečnosť potravín definuje vlákninu ako nestráviteľné sacharidy plus lignín, vrátane všetkých sacharidových zložiek vyskytujúcich sa v potravinách, ktoré sú nestráviteľné v tenkom čreve človeka a prechádzajú do hrubého čreva (EFSA, 2010). Vlákninu možno klasifikovať podľa niekoľkých kritérií:

a) podľa chemických vlastností hlavnými typmi vlákniny sú neškrobové polysacharidy (celulóza, hemicelulóza, pektín, hydrokoloidy), rezistentné oligosacharidy (fruktooligosacharidy, galaktooligosacharidy, iné rezistentné oligosacharidy), rezistentný škrob a lignín (Dai a Chau, 2017).
b) podľa pôvodu vlákninu možno rozdeliť na rastlinné, živočíšne a syntetické polysacharidy (Meht et al., 2015).
c) podľa rozpustnosti vo vode a správaní sa pri fermentácii sa vláknina klasifikuje na

-nerozpustnú vlákninu a menej fermentovanú vlákninu (celulóza, časť hemicelulóz a lignín)
- rozpustná vláknina alebo dobre fermentovaná vláknina (pektíny, pentozány, gumy) (Meht et al., 2015).

Zapracovanie vlákniny do mäsových výrobkov je v súčasnosti rozšírené vzhľadom na ich výživové, funkčné a technologické vlastnosti. Je dokázaný účinok vlákniny pri prevencii vstrebávania mastných kyselín a cholesterol, znižovaní rizika obezity, kardiovaskulárnych ochorení, rakoviny hrubého čreva a iných ochorení (Hathwar et al., 2012). Ďalej, vláknina poskytuje zdravotné benefity, akými sú antidiabetické a antioxidačné účinky, zároveň je stimulátorom imunitného systému konzumenta. Prídavok vlákniny do mäsových výrobkov môže zlepšiť aj niektoré technologické vlastnosti, napríklad zlepšiť stabilitu emulzie, zlepšiť schopnosť mletého mäsa zadržiavať vodu, znížiť straty pri varení, zlepšiť textúru a reologické vlastnosti mäsových výrobkov (Kim a Paik, 2012).

Antioxidačná vláknina

V roku 1998 Saura-Calixto predstavil pojem antioxidačná vláknina (ADF) (Saura-Calixto, 1998). Charakteristickým znakom ADF je významný obsah antioxidantov a vlákniny v jednej zložke. Začlenenie ADF do mäsovej zmesi spomaľuje oxidáciu lipidov, zlepšuje senzorické vlastnosti a zvyšuje výživovú hodnotu mäsových výrobkov (Madane et al., 2019). Minimálne požiadavky pre antioxidačnú vlákninu: schopnosť väzby voľných radikálov ekvivalentný 50 mg vitamínu E; schopnosť blokovania oxidácie lipidov ekvivalentný 200 mg

vitamínu E; obsah vlákniny vyšší ako 50 %, v pomere k sušine (Das et al., 2020). Niektoré vedľajšie produkty rastlinnej výroby (šupky, listy, semená, stonky, výlisky a i.) spĺňajú kritériá ADF a možno ich považovať za významný zdroj bioaktívnych zložiek. Viaceré štúdie poukazujú na potenciál vedľajších rastlinných produktov, ako lacnejšieho zdroja ADF (jablčné výlisky a šupky (Skinner et al., 2018); výlisky z červeného hrozna (Rivera et al., 2019); čučoriedkové výlisky (Tagliani et al., 2019); použitá kávová usadenina (Perța-Crișan et al., 2019) a i.).

REDUKCIA ŠKODLIVÝCH LÁTOK

Redukcia dusičnanov a dusitanov

Dusitan sodný a dusičnan sa už desaťročia používajú v rôznych mäsových výrobkoch pre ich konzervačný účinok, tvorbu charakteristickej farby údeného mäsa, dodanie špecifických chutí alebo na zabránenie oxidácie lipidov (Jin et al., 2018). V kombinácii so soľou sa dusitan sodný stáva účinným inhibítorom rastu niektorých anaeróbnych baktérií, ako je *Clostridium botulinum* a iných patogénov (*Bacillus cereus, Clostridium perfringens, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus*) (Herrman et al., 2015). Antimikrobiálne účinky dusitanov sa vysvetľujú obmedzením príjmu kyslíka, prerušením elektrónového transportného reťazca a inaktiváciou niektorých metabolických enzýmov (Flores et al., 2021). Dusitan sodný je zodpovedný aj za formovanie farby konzervovaného mäsa. V kyslých podmienkach sa premieňa na kyselinu dusitú vo svalovom tkanive. Oxid dusnatý, ktorý vzniká z kyseliny dusičnej, reaguje s myoglobínom a vytvára nitrózo myoglobín, tmavočerveno sfarbený pigment. Pri tepelnom spracovaní sa nitrózomyoglobín mení na nitrózhemochróm, stabilnú ružovú farebnú zlúčeninu. Ďalšou vlastnosťou dusitanov je ich schopnosť znižovať oxidáciu lipidov. Oxid dusnatý reaguje s kyslíkom, čím blokuje proces oxidácie lipidov. Okrem toho oxid dusnatý viaže a stabilizuje železo v heme, čím obmedzuje jeho prooxidačnú aktivitu. Antioxidačný účinok dusitanov bol zaznamenaný pri hladinách do 40 ppm (Alahakoon et al., 2015). Napokon je známe, že dusitany významne prispievajú k chuti mäsových výrobkov. Villaverde et al. (2014) dospeli k záveru, že dusitany vyvolávajú tzv. Streckerovu reakciu a tvorbu aromatických aldehydov. Dusičnany a dusitany majú rozdielne účinky na zdravie človeka. Epidemiologické a klinické štúdie spájajú ich príjem z potravy so zvýšeným rizikom niektorých ochorení (Gassara et al., 2016). V prvej fáze sú dusičnany redukované na dusitany endogénnymi baktériami. Dusitany sú mimoriadne reaktívna zlúčenina, najmä v kyslých podmienkach. Môže reagovať s viacerými zložkami mäsa, ako sú aminokyseliny, amíny, myoglobín a fenolové zlúčeniny. Ako nitrozujúce činidlo reaguje dusitan so sekundárnymi

amínmi a vytvára silné karcinogénne nitrozamíny (Laranjo et al., 2019). Okrem toho produkty rozkladu dusitanov reagujú aj s hemovými skupinami hemoglobínu, čím sa znižuje schopnosť krvi prenášať kyslík do tkanív (methemoglobinémia) (Ferysiuk a Wojciak, 2020). Naopak, existujú štúdie, ktoré poukazujú na viaceré pozitívne účinky dusitanov na ľudské zdravie (schopnosť oxidu dusnatého kontrolovať krvný tlak, redukovať zápal, zlepšovať funkciu ciev a predchádzať kardiovaskulárnym ochoreniam) (Raubenheimer et al., 2019).

Alternatívne zlúčeniny, ktoré možno použiť ako náhrady dusitanov, musia zabezpečiť zlepšenie kvality a bezpečnosti, ktoré spotrebitelia v súčasnosti očakávajú bez toho, aby sa zmenili špecifické vlastnosti spracovaných mäsových výrobkov. Možnosť čiastočnej alebo úplnej náhrady dusitanu sodného v mäsových výrobkoch spočíva v použití rastlinných extraktov bohatých na dusičnany (Sebranek et al., 2012). Hlavnou zeleninou používanou ako zdroj dusičnanov je zeler, ktorý predstavuje potravinový alergén (EK, 2011). V podstate existujú dve možnosti využitia rastlinných extraktov pri spracovaní mäsa. Prvá spočíva v priamom pridaní rastlinných extraktov do mäsovej zmesi alebo soľného nálevu spolu so štartovacou kultúrou mikroorganizmov redukujúcich dusičnany (*Staphylococcus carnosus, Staphylococcus xylosus*). Tento postup sa uplatňuje najmä pri produkcii suchých mäsových výrobkov (Jin et al., 2018). Druhá zahŕňa pridanie predfermentovanej alebo kultivovanej zeleninovej šťavy alebo prášku s merateľným obsahom dusitanov (po konverzii dusičnanov) počas riadeného fermentačného procesu. Táto metóda sa uplatňuje najmä pri tepelne spracovaných mäsových výrobkov (Flores et al., 2021). V inej štúdii Ko et al. (2017) uvádzajú, že prídavok mladej reďkovky do klobás (prírodný zdroj dusičnanov) zvýšuje oxidačnú stabilitu lipidov a bráni rastu *Listeria monocytogenes a Staphylococcus aureus*.

Prevencia tvorby N-nitrozamínov

N-nitrozodetylamín (NDMA), N-nitrozodietylamín (NDEA), N-nitrozopyrolidín (NPYR) a N-nitrozopiperidín (NPIP) sú jedny z najbežnejších nitrozamínov, ktoré sa nachádzajú v mäsových výrobkoch (Flores et al., 2019). Tvorba týchto zlúčenín predstavuje zložitý proces, ktorý je ovplyvnený viacerými faktormi, ako je zloženie mäsa, koncentrácia dusitanov, tepelné spracovanie a údenie, aktivita dekarboxylázy, hodnota pH, aktivita vody, prítomnosť prekurzorov (napr. pyrroperín, pyrolidín, piperín a piperidín z čierneho korenia), katalyzátorov (Fe (III)) alebo inhibítorov (napr. antioxidanty) (Sallan et al., 2020). Nitrozamíny sú relatívne stabilné zlúčeniny, ale môžu sa metabolicky aktivovať a stať sa karcinogénnymi. V zmysle prevencie kyselina askorbová a jej deriváty (askorbát, erytorbát) prezentujú silné inhibičné schopnosti voči N-nitrozamínom (Cantwell a Elliott, 2017). Walters et al. (1976)

dospeli k záveru, že ošetrenie slaniny 300 mg/kg askorbátu, významne znížilo tvorbu N-nitrozopyrolidínu po vyprážaní.

Zníženie obsahu soli

Mäsový priemysel, ako aj celý potravinársky priemysel sa usilujú o dosiahnutie nižšieho obsahu soli v spracovaných potravinách. Svetová zdravotnícka organizácia odporučila znížiť dávku soli u dospelých na menej ako 5 g/deň (WHO, 2013). Vysoký príjem sodíka (soľ ako hlavný zdroj) sa spája s viacerými zdravotnými problémami, ako sú osteoporóza, ochorenia obličiek, rakovina žalúdka a vysoký krvný tlak, ktoré predstavujú hlavný rizikový faktor pre vznik kardiovaskulárnych ochorení (He et al., 2019). Avšak, chlorid sodný zohráva dôležitú úlohu v spracovaných mäsových výrobkoch, jednak z hľadiska senzorického a technologického (Petit et al., 2019). Viaže vodu, čím zabezpečuje mikrobiologickú bezpečnosť produktov (Yotsuyanagi et al., 2016). Po chlebe a potravinách na báze obilnín predstavujú spracované mäsové výrobky najväčší zdroj sodíka (Kloss et al., 2015). Z uvedených dôvodov, mäsový priemysel a viaceré výskumné aktivity sa zameriavajú na hľadanie analógov soli. Jednou z najjednoduchších možností zníženia množstva pridanej soli je tzv. skrytá metóda, spočíva v postupnom dlhodobom znižovaní obsahu soli v mäsových výrobkoch tak, aby spotrebitelia nevnímali zmeny v slanosti. Táto metóda má určité limity, nakoľko soľ prispieva ku konzervácii. V dôsledku zníženia jej obsahu sa skracuje trvanlivosť výrobkov, negatívne môžu byť ovplyvnené aj chuťové vlastnosti výrobku. Pri hľadaní konsenzu v tomto smere, Delgado-Pando et al. (2018) stanovili najnižšiu prijateľnú úroveň v zastúpení soli u slaniny a varenej šunky bez použitia iných zložiek alebo prísad. Rôzne štúdie sa v princípe zhodujú v tom, že množstvo soli v slanine je možné znížiť až o 34 %, v šunke o 19 % bez toho, aby to významne ovplyvnilo fyzikálno-chemické, mikrobiologické a senzorické vlastnosti výrobkov. V inej štúdii sa uvádza, že mierne zníženie obsahu soli v bežnej receptúre je možné aj v prípade šunky (z 2,3 % na 1,8 %) a salám (z 2,2 % na 1,7 %) bez toho, aby sa výrazne zmenili ich senzorické vlastnosti, bezpečnosť a trvanlivosť (Aaslyng et al., 2014). Alternatívna metóda znižovania obsahu soli v mäsových výrobkoch spočíva v nahradení chloridu sodného inými minerálnymi soľami (chlorid draselný, chlorid vápenatý, chlorid horečnatý, mliečnan draselný, síran horečnatý a askorbát vápenatý (Gaudette a Pietrasik, 2017). KCl je najpoužívanejšou náhradou NaCl, pretože má podobné vlastnosti, pokiaľ ide o inhibíciu proteázovej aktivity, rozpúšťanie bielkovín a konzervačný účinok (Nachtigall et al., 2019). Chlorid draselný sa však môže používať v rozpätí 40 - 50 %, vo vyšších koncentráciách vytvára horkú a kovovú chuť (Inguglia et al., 2017). Niektoré štúdie poukazujú, že senzorické chyby mäsových výrobkov spôsobené

náhradou NaCl za KCl možno znížiť prídavkom zvýrazňovačov chuti, ako sú aminokyseliny (lyzín, histidín, arginín), inozinát disodný, guanylát disodný (Dos Santos et al., 2014), výťažky z kvasníc, morské riasy, hydrolyzát rastlinných bielkovín a glutaman sodný (Inguglia et al., 2017). Iná štúdia preukázala, že prídavok arginínu (1 %) a histidínu (0,2 %), jednotlivo alebo v kombinácii, výrazne zlepšujú senzorické vlastnosti, textúru a stabilitu emulzie, pri 60 % nahradení NaCl za KCl v emulgovaných mäsových výrobkoch (Da Silva et al., 2020). Jedlé morské riasy ďaka vysokému obsahu minerálnych látok (Na, K, Ca, Mg, P, Mn, I, Fe a Zn) a bioaktívnych zlúčenín predstavujú atraktívne náhrady soli v reformulovaných mäsových výrobkoch. V tejto súvislosti, Choi et al. (2015) dospeli k záveru, že pridanie jedlých morských rias do párkov so 60 % zníženým obsahom soli dodáva výrobku lepšiu farbu, chuť, šťavnatosť a krehkosť v porovnaní s kontrolnou vzorkou (štandard). Na strane druhej, iné štúdie zaoberajúce sa využitím jedlých morských rias (*Undaria pinnatifida, Porphyra umbilicalis, Himanthalia elongata* a *Palmaria palmata*) u párkov so zníženým obsahom NaCl o 50 % poukazujú na zhoršené senzorické a chuťové vlastnosti týchto výrobkov (Vilar et al., 2020).

ALTERNATÍVNE TECHNOLÓGIE

Ultrazvuk

Ultrazvuk (UZ) sa považuje za netermálnu technológiu so širokými možnosťami využitia v potravinárskom priemysle. UZ využíva zvukové vlny s vyššími frekvenciami (20 - 100 kHz) (Bhargava et al., 2020). Keď sa UZ vlny šíria médiom, vyvolávajú tzv. kavitáciu, vzniká veľké množstvo nestabilných mikroskopických bublín, čím vznikajú vysoké lokálne teploty a tlaky (implózia kavitačných bublín) (Alarcon-Rojo et al., 2019). Tieto javy vyvolávajú zmeny v biologických materiáloch (narušenie bunkovej membrány, zmena štruktúry bielkovín, tvorba emulzie a i.). Cichoski et al. (2019) vo svojej štúdii poukazujú, že sonikácia (25 kHz, 60 % amplitúda, 5,5 min) má pozitívny vplyv na kvalitu mäsovej emulzie (lepšia stabilita a zlepšenie textúrnych parametrov) bez negatívneho vplyvu na zastúpenie bielkoviny či oxidáciu lipidov. Barretto et al. (2018) vo svojej štúdii hodnotili účinky redukcie NaCl cestou ošetrenia ultrazvukom (20 kHz, 600 W/cm^2, 10 min) u varenej bravčovej šunky – reduckia NaCl až o 32 % pri zlepšení textúry varenej šunky.

Pôsobenie vysokého tlaku

Vysokotlakové spracovanie (HPP) sa považuje za ekologickú netepelnú technológiu, ktorá spočíva v spracovaní potravín vysokým tlakom za izostatických podmienok (Pinton et al., 2019). Tlak rovnomerne pôsobí na výrobok pomocou kvapalného vysielača bez toho, aby bol

ovplyvnený jeho veľkosťou alebo tvarom. Parametre HPP charakterizujú: úroveň hydrostatického tlaku medzi 300 a 800 MPa, izbová teplota, doba ošetrenia od niekoľkých sekúnd do 20 min (O'Neill, 2018). HPP prezentuje alternatívu k metódam konzervácie tepelným ošetrením. HPP možno aplikovať na kvapalné či tuhé potraviny s cieľom predĺžiť ich trvanlivosť, zachovať ich výživovú hodnotu, zlepšiť senzorické vlastnosti a kvalitu (produkcia zdravších potravín) (Huang et al., 2017). Mäso a mäsové výrobky sú vhodné na HPP vzhľadom na ich vnútornú štruktúru a chemické zloženie (vysoký obsah bielkovín a vody). Vo viacerých štúdiách prispievanie HPP k zlepšeniu parametra mäkkosti, ako jedného z hlavných ukazovateľov kvality mäsa. Aplikácia HPP na post-rigor mäso pri izbovej teplote vedie k zvýšeniu húževnatosti úmerne so zvyšujúcou sa úrovňou tlaku (Warner et al., 2017). Aplikáciou HPP na mäso po stuhnutí sa preukázal optimálny zmäkčujúci účinok pri použití tlaku 150 - 200 MPa a teploty 60 - 70 °C (Sikes a Warner, 2016). Viaceré štúdie dospeli k záveru, že HPP predstavuje technológiu uplatňovanú v stratégii priameho znižovania obsahu soli v mäsových výrobkoch.. Pietrasik et al (2017) pri posudzovaní vplyvu vysokotlakového ošetrenia klobás so zníženým obsahom sodíka identifikovali, že pri pôsobení tlaku 600 MPa počas 3 min pri nízkej teplote (8 °C) neboli zaznamenané negatívne účinky na senzorickú kvalitu výrobkov, naopak dosiahnutý bol priaznivý efekt v podobe zvýšenej trvanlivosti a schopnosti zadržiavať vodu.

Studená plazma

Studená plazma predstavuje ionizovaný plyn získaný v podmienkach atmosférického alebo nízkeho tlaku, ktorý obsahuje zmes biologicky reaktívnych častíc, ako sú kladné a záporné ióny, elektróny, fotóny a voľné radikály v závislosti od zloženia plynu, vlhkosti, vlastností zdroja plazmy, výkonu výboja a času expozície (Misra a Jo, 2017). Niektoré štúdie sa zamerali na potenciálne využitie studenej plazmy ako metódy netepelnej pasterizácie alebo sterilizačnej metódy pre rôzne potravinárske výrobky (mäso, syr, zelenina a i.) (Rudy et al., 2020). Viaceré štúdie preukázali, že ošetrenie mäsa a mäsových výrobkov studenou plazmou je účinné pri inaktivácii niektorých patogénov, napr. *Staphylococcus aureus* (sušené hovädzie mäso) (Kim et al., 2014), *Salmonella enterica* a *Campylobacter jejuni* (kuracie prsia bez kože a kuracie mäso) (Dirks et al., 2012), *Escherichia coli* a *Listeria monocytogenes* (surová bravčová panenka) (Kim et al., 2013) a *Salmonella typhimurium* (slanina) (Jayasena et al., 2015). Jung et al. (2017) posudzovali vplyv ošetrenia mäsovej zmesi studenou plazmou. Výsledky poukázali na postupné zvyšovanie hladiny dusitanov v zložení mäsa o 65,96 ppm, po 30 minútach ošetrenia plazmov. Dosiahnutá hladina dusitanov zabezpečila vznik špecifickej

ružovej farby po zahriatí, ošetrenie studenou plazmou teda do iste miery nahrádza pridávanie dusitanov u mäsových výrobkov.

ZÁVER

V posledných rokoch bolo prezentovaných niekoľko stratégií v oblasti produkcie zdravších mäsových výrobkov. Jednotlivé metódy prípadne ich kombinácia poukázali na potenciál produkcie lepších mäsových výrobkov (výživová hodnota, senzorické vlastnosti, trvanlivosť). Ovocie, zelenina a vedľajšie produkty rastlinnej výroby môžu predstavovať vhodný a cenovo výhodný alternatívny zdroj bioaktívnych látok (antioxidanty, vláknina). Za účelom redukcie množstva soli, dusičnanov a dusitanov pridávaných do mäsových výrobkov sa preukázalo, že niektoré alternatívne zlúčeniny a technológie sú účinné pri zachovaní požadovaných špecifických vlastností výrobku. Alternatívne technológie ako ošetrenie metódou vysokého tlaku, studená plazma či ultrazvuk, prezentujú metódy pre zachovanie či zlepšenie vlastností mäsových výrobkov (alternácia pôsobenia vysokých teplôt pri ošetrení). Ďalej, môžu prispievať k zvýšeniu bezpečnosť a predĺženiu trvanlivosť výrobkov, vďaka ich antimikrobiálnemu účinku, či zlepšeniu textúry mäsa a mäsových výrobkov.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Slovenskou Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v rámci grantu: zmluva č. APVV-19-0180.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AASLYNG, M. D. et al. The effect of salt reduction on sensory quality and microbial growth in hotdog sausages, bacon, ham and salami. In *Meat Sci.* ISSN 0309-1740, 2014, vol. 96, p. 47–55.
2. ALAHAKOON, A. U. et al. Alternatives to nitrite in processed meat: Up to date. In *Trends Food Sci. Technol.* ISSN 0924-2244, 2015, vol. 45, p. 37–49.
3. ALARCON-ROJO, A. D. et al. Ultrasound and meat quality: A review. In *Ultrason. Sonochem.* ISSN 1350-4177, 2019, vol. 55, p. 369–382.
4. ALBENZIO, M. et al. Bioactive Peptides in Animal Food Products. In *Foods.* ISSN 2304-8158, 2017, vol. 6, p. 35.
5. BARRETTO, T. L. et al. Improving sensory acceptance and physicochemical properties by ultrasound application to restructured cooked ham with salt (NaCl) reduction. In *Meat Sci.* ISSN 0309-1740, 2018, vol. 145, p. 55–62.

6. BHARGAVA, N. et al. Advances in application of ultrasound in food processing: A review. In *Ultrason. Sonochem.* ISSN 1350-4177, 2020, vol. 70, p. 105293.
7. BOUVARD, V. et al. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. In *Lancet Oncol.* ISSN 1470-2045, 2015, vol. 16, p. 1599–1600.
8. CĂLINOIU, L. F. Chitosan Coating Applications in Probiotic Microencapsulation. In *Coatings.* ISSN 2079-641, 2019, vol. 9, p. 194.
9. CANTWELL, M. - ELLIOTT, C. Nitrates, Nitrites and Nitrosamines from Processed Meat Intake and ColorectalCancer Risk. In *J. Clin. Nutr. Diet.* ISSN 1938-3207, 2017, vol. 3, p. 27–30.
10. CHÁVARRI, M. et al. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. In *Int. J. Food Microbiol.* ISSN 1879-3460, 2010, vol. 142, p. 185–189.
11. CHOI, Y. S. et al. Effects of Edible Seaweed on Physicochemical and Sensory Characteristics of Reduced-salt Frankfurters. In *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* ISSN 1225-8563, 2015, vol. 35, p. 748–756.
12. CICHOSKI, A. J. et al. Ultrasound: A promising technology to improve the technological quality of meat emulsions. In *Meat Sci.* ISSN 0309-1740, 2019, vol. 148, p. 150–155.
13. DA SILVA, S. L. et al. Application of arginine and histidine to improve the technological and sensory properties of low-fat and low-sodium bologna-type sausages produced with high levels of KCl. In *Meat Sci.* ISSN 0309-1740, 2020, vol. 159, p. 107939.
14. DAI, F. J. - CHAU, C. F. Classification and regulatory perspectives of dietary fiber. In *J. Food Drug Anal.* ISSN 1021-9498, 2017, vol. 25, p. 37–42.
15. DAS, A. K. et al. A comprehensive review on antioxidant dietary fibre enriched meat-based functional foods. In *Trends Food Sci. Technol.* ISSN 0924-2244, 2020, vol. 99, p. 323–336.
16. DELGADO-PANDO, G. et al. Salt content and minimum acceptable levels in whole-muscle cured meat products. In *Meat Sci.* ISSN 0309-1740, 2018, vol. 139, p. 179–186.
17. DIDARI, T. et al. A systematic review of the safety of probiotics. In *Expert Opin. Drug Saf.* ISSN 1474-0338, 2014, vol. 13, p. 227–239.
18. DIRKS, B. P. et al. Treatment of Raw Poultry with Nonthermal Dielectric Barrier Discharge Plasma To Reduce Campylobacter jejuni and Salmonella enterica. In *J. Food Prot.* ISSN 0362-028X, 2012, vol. 75, p. 22–28.

19. DOMINGO, J. L. - NADAL, M. Carcinogenicity of consumption of red meat and processed meat: A review of scientific news since the IARC decision. In *Food Chem. Toxicol.* ISSN 0278-6915, 2017, vol. 105, p. 256–261.
20. DOS SANTOS, B. A. et al. Monosodium glutamate, disodium inosinate, disodium guanylate, lysine and taurine improve the sensory quality of fermented cooked sausages with 50% and 75% replacement of NaCl with KCl. In *Meat Sci.* ISSN 0309-1740, 2014, vol. 96, p. 509–513.
21. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for carbohydrates and dietary fibre. In *EFSA J.* ISSN 1831-4732, 2010, vol. 8, p. 1462.
22. ERKKILÄ, S. - PETÄJÄ, E. Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use. In *Meat Sci.* ISSN 0309-1740, 2000, vol. 55, p. 297–300.
23. EUROPEAN COMMISSION. Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific hygiene rules for food of animal origin. In *J. Eur. Union.* 2004, vol. 139, p. 55–205.
24. FERNÁNDEZ-GINÉS, J. M. et al. Meat Products as Functional Foods: A Review. In *J. Food Sci.* ISSN 1750-3841, 2005, vol. 70, R37–R43.
25. FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. et al. Application of functional citrus by-products to meat products. In *Trends Food Sci. Technol.* ISSN 0924-2244, 2004, vol. 15, p. 176–185.
26. FERYSIUK, K. - WOJCIAK, K. M. Reduction of Nitrite in Meat Products through the Application of Various Plant-Based Ingredients. In *Antioxidants.* ISSN 2076-3921, 2020, vol. 9, p. 711.
27. FIJAN, S. Microorganisms with claimed probiotic properties: An overview of recent literature. In *Int. J. Environ. Res. Public Health.* ISSN 660-4601, 2014, vol. 11, p. 4745–4767.
28. FLORES, M. et al. Risk assessment of chemical substances of safety concern generated in processed meats. In *Food Sci. Hum. Wellness.* ISSN 2213-4530, 2019, vol. 8, p. 244–251.
29. FLORES, M. - TOLDRA, F. Chemistry, safety, and regulatory considerations in the use of nitrite and nitrate from natural origin in meat products—Invited review. In *Meat Sci.* ISSN 0309-1740, 2021, vol. 171, p. 108272.
30. GAGAOUA, M. - PICARD, B. Current Advances in Meat Nutritional, Sensory and Physical Quality Improvement. In *Foods.* ISSN 2304-8158, 2020, vol. 9, p. 321.

31. GANDHI, A. - SHAH, N. P. Effect of salt on cell viability and membrane integrity of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium longum* as observed by flow cytometry. In *Food Microbiol.* ISSN 0740-0020, 2015, vol. 49, p. 197–202.
32. GASSARA, F. et al. Green Alternatives to Nitrates and Nitrites in Meat-based Products–A Review. In *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* ISSN 1549-7852, 2016, vol. 56, p. 2133–2148.
33. GAUDETTE, N. J. - PIETRASIK, Z. The sensory impact of salt replacers and flavor enhancer in reduced sodium processed meats is matrix dependent. In *J. Sens. Stud.* ISSN 1745-459X, 2017, vol. 32, p. e12247.
34. HATHWAR, S. C. et al. Characteristics and consumer acceptance of healthier meat and meat product formulations-a review. In *J. Food Sci. Technol.* ISSN 0022-1155, 2012, vol. 49, p. 653–664.
35. HE, F. J. et al. Reducing population salt intake—An update on latest evidence and global action. In *J. Clin. Hypertens.* ISSN 1751-7176, 2019, vol. 21, p. 1596–1601.
36. HERRMANN, S. S. et al. Formation and mitigation of N-nitrosamines in nitrite preserved cooked sausages. In *Food Chem.* ISSN 0308-8146 2015, vol. 174, p. 516–526.
37. HIGGS, J. D. The changing nature of red meat: 20 years of improving nutritional quality. In *Trends Food Sci. Technol.* ISSN 0924-2244, 2000, vol. 11, p. 85–95.
38. HILL, C. et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. In *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* ISSN 1759-5045, 2014, vol. 11, p. 506–514.
39. HUANG, H. W. et al. Current status and future trends of high-pressure processing in food industry. In *Food Control.* ISSN 0956-7135, 2017, vol. 72, p. 1–8.
40. INGUGLIA, E. S. et al. Salt reduction strategies in processed meat products—A review. In *Trends Food Sci. Technol.* ISSN 0924-2244, 2017, vol. 59, p. 70–78.
41. JAYASENA, D. D. et al. Flexible thin-layer dielectric barrier discharge plasma treatment of pork butt and beef loin: Effects on pathogen inactivation and meat-quality attributes. In *Food Microbiol.* ISSN 0740-0020, 2015, vol. 46, p. 51–57.
42. JIN, S. K. et al. Natural curing agents as nitrite alternatives and their effects on the physicochemical, microbiological properties and sensory evaluation of sausages during storage. In *Meat Sci.* ISSN 0309-1740, 2018, vol. 146, p. 34–40.

43. JUNG, S. et al. Direct infusion of nitrite into meat batter by atmospheric pressure plasma treatment. In *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* ISSN 1466-8564, 2017, vol. 39, p. 113–118.
44. KAUSAR, T. et al. A review on functional ingredients in red meat products. In *Bioinformation.* ISSN 0973-2063, 2019, vol. 15, p. 358–363.
45. KIM, H. J. et al. Corrigendum to "Effects of dielectric barrier discharge plasma on pathogen inactivation and the physicochemical and sensory characteristics of pork loin". In *Curr. Appl. Phys.* ISSN 1567-1739, 2013, vol. 13, p. 1420–1425.
46. KIM, H. J. - PAIK, H. D. Functionality and Application of Dietary Fiber in Meat Products. In *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* ISSN 1225-8563, 2012, vol. 32, p. 695–705.
47. KIM, J. S. et al. Inactivation of Staphylococcus aureus on the beef jerky by radio-frequency atmospheric pressure plasma discharge treatment. In *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* ISSN 1466-8564, 2014, vol. 22, p. 124–130.
48. KLOSS, L. et al. Sodium intake and its reduction by food reformulation in the European Union—A review. In *NFS J.* ISSN 2352-3646, 2015, vol. 1, p. 9–19.
49. KO, Y. M. et al. Nitrite formation from vegetable sources and its use as a preservative in cooked sausage. In *J. Sci. Food Agric.* ISSN 1097-0010, 2017, vol. 97, p. 1774–1783.
50. KULCZYNSKI, B. et al. Characteristics of Selected Antioxidative and Bioactive Compounds in Meat and Animal Origin Products. In *Antioxidants.* ISSN 2076-3921, 2019, vol. 8, p. 335.
51. LARANJO, M. et al. Role of Starter Cultures on the Safety of Fermented Meat Products. In *Front. Microbiol.* ISSN 1664-302X, 2019, vol. 10, p. 853.
52. MADANE, P. et al. Drumstick (Moringa oleifera) Flower as an Antioxidant Dietary Fibre in Chicken Meat Nuggets. In *Foods.* ISSN 2304-8158, 2019, vol. *8*, p. 307.
53. MCBEY, D. et al. Nudging, formulating new products, and the lifecourse: A qualitative assessment of the viability of three methods for reducing Scottish meat consumption for health, ethical, and environmental reasons. In *Appetite.* ISSN 0195-6663, 2019, vol. 142, p. 104349.
54. MEHTA, N. et al. Novel trends in development of dietary fiber rich meat products-a critical review. In *J. Food Sci. Technol.* ISSN 0022-1155, 2015, vol. 52, p. 633–647.
55. MISRA, N. N. - Jo, C. Applications of cold plasma technology for microbiological safety in meat industry. In *Trends Food Sci. Technol.* ISSN 0924-2244, 2017, vol. 64, p. 74–86.

56. MUTHUKUMARASAMY, P. - HOLLEY, R. A. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in dry fermented sausages containing micro-encapsulated probiotic lactic acid bacteria. In *Food Microbiol.* ISSN 0740-0020, 2007, vol. 24, p. 82–88.
57. NACHTIGALL, F. M. et al. Substitution effects of NaCl by KCl and CaCl2 on Lipolysis of Salted Meat. In *Foods.* ISSN 2304-8158, 2019, vol. 8, p. 595.
58. O'NEILL, C. *High Pressure Processing as a Hurdle Technology for Development of Consumer-Accepted, Low-Salt Processed Meat Products with Enhanced Safety and Shelf-Life*; University College Cork : Cork, Ireland, 2018, p. 343.
59. PASQUALIN CAVALHEIRO, C. et al. Application of probiotic delivery systems in meat products. In *Trends Food Sci. Technol.* ISSN 0924-2244, 2015, vol. 46, p. 120–131.
60. PEREIRA, P. M. - VICENTE, A. F. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. In *Meat Sci.* ISSN 0309-1740, 2013, vol. 93, p. 586–592.
61. PERȚA-CRIȘAN, S. et al. Trends in valorisation of spent cofee grounds: A review. In *Sci. Tech. Bull. Ser. Chem. Food Sci. Eng.* ISSN 2668-4764, 2019, vol. 16, p. 31–42.
62. PETIT, G. et al. Salt Intake from Processed Meat Products: Benefits, Risks and Evolving Practices. In *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* ISSN 1541-4337, 2019, vol. 18, p. 1453–1473.
63. PIETRASIK, Z. et al. The impact of high hydrostatic pressure on the functionality and consumer acceptability of reduced sodium naturally cured wieners. In *Meat Sci.* ISSN 0309-1740, 2017, vol. 129, p. 127–134.
64. PINTON, M. B. et al. Ultrasound: A new approach to reduce phosphate content of meat emulsions. In *Meat Sci.* ISSN, 0309-1740 2019, vol. 152, p. 88–95.
65. RAUBENHEIMER, K. et al. Effects of dietary nitrate on inflammation and immune function, and Regulation (EU) No 1169/2011 of the European Parliament and of the Council of 25 October 2011 on the Provision of Food Information to Consumers. [online] [cit. 2022-03-20] https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32011R1169.
66. RIVERA, K. et al. Red Wine Grape Pomace Attenuates Atherosclerosis and Myocardial Damage and Increases Survival in Association with Improved Plasma Antioxidant Activity in a Murine Model of Lethal Ischemic Heart Disease. In *Nutrients.* ISSN 2072-6643, 2019, vol. 11, p. 2135.

67. RUDY, M. et al. Unconventional Methods of Preserving Meat Products and Their Impact on Health and the Environment. In *Sustainability*. ISSN 2071-1050, 2020, vol. 12, p. 5948.
68. SALLAN, S. et al. Nitrosamine formation in a semi-dry fermented sausage: Effects of nitrite, ascorbate and starter culture and role of cooking. In *Meat Sci.* ISSN 0309-1740, 2020, vol. 159, p. 107917.
69. SAMESHIMA, T. et al. Effect of intestinal Lactobacillus starter cultures on the behaviour of Staphylococcus aureus in fermented sausage. In *Int. J. Food Microbiol*. ISSN 0168-1605, 1998, vol. 41, p. 1–7.
70. SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant dietary fiber product: A new concept and a potential food ingredient. In *J. Agric. Food Chem.* ISSN 0021-8561, 1998, vol. 46, p. 4303–4306.
71. SEBRANEK, J. G. et al. Beyond celery and starter culture: Advances in natural/organic curing processes in the United States. In *Meat Sci.* ISSN 0309-1740, 2012, vol. 92, p. 267–273.
72. SIDIRA, M. et al. Evaluation of Lactobacillus casei ATCC 393 protective effect against spoilage of probiotic dry-fermented sausages. In *Food Control*. ISSN 0956-7135, 2014, vol. 42, p. 315–320.
73. SIKES, A. L. - Warner, R. Application of High Hydrostatic Pressure for Meat Tenderization. In *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Innovative Food Processing Technologies*; Knoerzer, K.J.P., Smithers, G., Eds.; Woodhead Publishing : Cambridge, UK, 2016; p. 259–290. ISBN 97-8008-100-294.
74. SIMONIN, H. et al. New Insights into the High-Pressure Processing of Meat and Meat Products. In *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* ISSN 1541-4337, 2012, vol. 11, p. 285–306.
75. SKIBSKA, B. - GORACA, A. The protective effect of lipoic acid on selected cardiovascular diseases caused by age-related oxidative stress. In *Oxid. Med. Cell. Longev*. ISSN 1942-0994, 2015, vol. 2, p. 1–11.
76. SKINNER, R.C. et al. A comprehensive analysis of the composition, health benefits, and safety of apple pomace. In *Nutr. Rev*. ISSN 0029-6643, 2018, vol. 76, p. 893–909.
77. SOHAIB, M. et al. Antioxidant proteins and peptides to enhance the oxidative stability of meat and meat products: A comprehensive review. In *Int. J. Food Prop.* ISSN 1532-2386, 2017, vol. 20, p. 2581–2593.

78. SONG, M. Y. et al. Quality Characteristics of Functional Fermented Sausages Added with Encapsulated Probiotic *Bifidobacterium longum* KACC 91563. In *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* ISSN 1225-8563, 2018, vol. 38, p. 981–994.
79. SPARO, M. D. et al. Bio-preservation of ground beef meat by Enterococcus faecalis CECT7121. In *Braz. J. Microbiol.* ISSN 1678-4405, 2013, vol. 44, p. 43–49.
80. SUN, Q. et al. Biogenic amine inhibition and quality protection of Harbin dry sausages by inoculation with Staphylococcus xylosus and Lactobacillus plantarum. In *Food Control.* ISSN 0956-7135, 2016, vol. 68, p. 358–366.
81. TAGLIANI, C. et al. Blueberry pomace, valorization of an industry by-product source of fibre with antioxidant capacity. In *Food Sci. Technol.* ISSN 0101-2061, 2019, vol. 39, p. 644–651.
82. VILAR, E. G. et al. Effect of salt reduction and inclusion of 1% edible seaweeds on the chemical, sensory and volatile component profile of reformulated frankfurters. In *Meat Sci.* ISSN 0309-1740, 2020, vol. 161, p. 108001.
83. VILLAVERDE, A. et al. Nitrite promotes protein carbonylation and Strecker aldehyde formation in experimental fermented sausages: Are both events connected? In *Meat Sci.* ISSN 0309-1740, 2014, vol. 98, p. 665–672.
84. VUYST, L. D. et al. Probiotics in fermented sausages. In *Meat Sci.* ISSN 0309-1740, 2008, vol. 80, p. 75–78.
85. WALTERS, C. L. et al. The effect of antioxidants on the production, of volatile nitrosamines during the frying of bacon. In *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung.* ISSN 1438-2377, 1976, vol. 162, p. 377–385.
86. WARNER, R. D. et al. Systematic review of emerging and innovative technologies for meat tenderisation. In *Meat Sci.* ISSN 0309-1740, 2017, vol. 132, p. 72–89.
87. WHO. *Global Action Plan for the Prevention and Control of Noncommunicable Diseases 2013–2020*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2013.
88. YOTSUYANAGI, S. E. et al. Technological, sensory and microbiological impacts of sodium reduction in frankfurters. In *Meat Sci.* ISSN 0309-1740, 2016, vol. 115, p. 50–59.

Kontaktná adresa: Čurlej Jozef, Katedra Hygieny a Bezpečnosti Potravín, Ústav Potravinárstva FBP, Slovenská Poľnohospodárska Univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská Republika; E-mail: jozef.curlej@uniag.sk

VPLYV STREČKOVITOSTI (*H. DIANA, H. ACTAEON, CEPHENEMYIA STIMULATOR*) NA STRATU HMOTNOSTI U SRNČEJ A JELENEJ ZVERI

EFFECT OF WABLE FLY AND BOTFLY(*H.DIANA, H. ACTAEON, CEPHENEMYA STIMULATOR*) ON THE WEIGHT LOSS IN ROE DEER AND RED DEER GAME

Čurlík Ján[1], Iglódyová Adriána[1], Barbušinová Eva[1], Šmiga Ľubomír[1], Humeník Filip[2]

[1]*Katedra chovu a chorôb zveri, rýb a včiel, ekológie a kynológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika*

[2] *Centrum experimentálne a Klinickej Regeneračnej Medicíny, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika*

ABSTRACT

Cloven-hoofed game significantly affects the life cycles of parasites; as hosts and intermediate hosts, they play an important role in the circulation and spread of parasitic diseases. Emerging infectious diseases are a global and significant health problem. In our work, we also dealt with subcutaneous warble fly disease (deer and roe deer, in deer and nasopharyngeal botfly disease. Which are highly frequented parasitosis in the conditions of Slovak and European hunting grounds, causing a negative impact on the quality of the game population. An average weight loss of roe deer (21.8 %) and red deer (11.8%) population were observed.

Key words: warble fly, botfly, weight, game meat, roe deer, red deer

ÚVOD

Podkožná strečkovitosť (hypodermatóza) jelenej zveri je ochorenie, ktoré je zaraďované medzi parazitózy. Zástupcovia tohto rodu cudzopasia v štádiu lariev. V našich klimatických podmienkach parazituje pod kožou jelenej zveri strečok jelení (*Hypoderma acteon*) a strečok srnčí (*Hypoderma diana*), ktorý je parazitom srnčej zveri, ale aj zveri jelenej, danielej, a výnimočne je zisťovaný aj u kamzíka a muflóna.

Tento druh patrí do rodu *Hypoderma*, podčeľade *Hypodermatin*ae, čeľade *Hypodermatidae*, túto čeľaď zaraďujeme do podradu muchy *Brachycera*, radu dvojkrídlovce *Diptera* a triedy hmyz *Insect*a. Druhy strečkov rozdeľujeme podľa napadnutých hostiteľov a miesta napadnutia.

Strečky patria medzi hmyz a v štádiu lariev cudzopasia v podkoží hostiteľov. Dospelý strečok pripomína vonkajším vzhľadom muchu. Telo strečkov je pokryté bledožltými chĺpkami

a veľkosť tela je 12 – 14 mm. Hlava je priečne guľatá a rovnako široká ako je hruď a na nej sa nachádzajú veľké oči okolo, ktorých sa nachádzajú očnice (orbity). Na hlave medzi očami je oblúkovitý val, zvaný mesiačik (*lunula*), pod ktorým sú umiestnené tykadlá. Tykadlá sú členité, najväčší je druhý článok a menší tretí článok, zaopatrený silnou štetinou (*aristou*). Dýchacie otvory strečkov sa nachádzajú na stredo a zadohrudi (Chroust a Forejtek, 2011).

Nosohltanová strečkovitosť je ochorenie raticovej zveri spôsobené vývojovými štádiami strečkov Cephenemyia a Pharyngomyia. Strečok hltanový (*C. stimulator*) je typickým a veľmi častým parazitom srnčej zveri v strednej Európe, ale napr. vo Fínsku u srnčej zveri dosiaľ nebol zaznamenaný (Nilssen, Isomursu a Oksanen, 2008). Oplodnené samičky rodia živé larvy, ktoré vstrekujú za letu do nosových otvorov hostiteľa, odkiaľ larvy prenikajú do nosových dutín a do hltana. Po kľudovej fáze v zimnom období sa postupne cez larvu II. štádia vyvíjajú na zrelé larvy III. štádia, ktoré dospievajú v apríli až júli, kedy sa ich hostiteľ snaží fŕkaním a kašľaním odstrániť z tela. Strečok červenohlavý. Larvy tohto strečka boli zistené aj u muflónej zveri. Migrujúce larvy nosohltanových strečkov môžu preniknúť do priedušiek a pľúcneho parenchýmu (Anderson, 2011), ale aj do mozgových dutín s následnými poruchami pohyblivosti a chovania postihnutého jedinca.

Podkožná strečkovitosť je globálne rozšírenou nákazou a podľa Rajského, Forejtka a Sugára (2013) a zahŕňa celé mierne pásmo severnej pologule. Strečok jelení bol u nás v minulosti považovaný za vzácne sa vyskytujúci druh, ktorý sa vyskytoval na západnom Slovensku. Strečok srnčí bol u nás rozšírený na prelome 80/90 rokov na celom území Slovenska. Gustáv Buček uvádza rozšírenie strečka srnčieho nasledovne: „Podľa našich pozorovaní v rokoch 1995-1999, je možný v niektorých rokoch spoločný výskyt strečka jelenieho *Hypoderma actaeon* (Ciberej 2013) so strečkom srnčím *Hypoderma diana*, čo zvyšuje parazitáciu raticovej zveri. Strečok jelení začína lietať zvyčajne pri teplote 21-22 °C, niekedy už pri 17-18 °C. Maximum výskytu môže byť posunuté o týždeň až 10 dní skôr (Čurlík a kol. 2002) V porovnaní so strečkom srnčím, strečok jelení sa nachádza v lokalitách výskytu ďalej od okraja lesa a väčšinou dodržuje presné rozhranie výskytu medzi nim a strečkom srnčím. Strečok jelení sadá nielen na apikálne listy vratiča, ale aj na listy ostružiny, ďateliny, tráv (steblá) a zriedkavo na láskavec (kvety) (Ciberej 2013).

Podľa Cibereja a kol. (2001) je najvhodnejším obdobím liečby október alebo november, kým larvy strečkov nedosiahli miechový kanál. Po odstrele srnca napadnutého strečkami sa musia zničiť všetky larvy najvyššieho štádia, ktoré by sa mohli zakukliť v pôde. Uvedený autor našiel na srncovi ulovenom pri Zemplínskej Teplici až 228 lariev (resp. malých otvorov v koži) strečka srnčieho. Podávanie liečiv proti strečkovitosti v dobe lovu však naráža na problém

reziduí liečiva v mäse ulovenej zveri, ktoré nevyhovuje z pohľadu hygieny zveriny a požívateľnosti pri spotrebe ľuďmi.

V súčasnosti sa na trhu vyskytujú kvalitné prípravky, ktorými možno hypodermatózu ovplyvňovať v prospech voľne žijúcej zveri. Ide o liečiva Rafendazol a Cermix premix, ktoré sú dostupné a osvedčili sa v boji s touto parazitózou. Tieto prípravky obsahujú účinné látky ivermektin, rafoxanid a mebendazol. Ide o liečivá, ktoré sa rozmiešajú s jadrovým krmivom v pomere 1:9. Takto namiešaná zmes sa podáva zveri po dobu 2 – 4 dní ako jediné krmivo podľa početnosti stavu zveri. Po konzumácii krmiva zverou majú obidva tieto prípravky ochrannú dobu na mäso (v divine sa nachádzajú stopy po medikamentoch preto divinu nemožno konzumovať), preto sa to odporúča vykonávať mimo doby lovu (Čurlík a kol. 2004)
Cieľom výskumu bolo sledovať vplyv strečkovitosti na stratu hmotnosti u srnčej a jelenej zveri.

MATERIÁL A METODIKA

V priebehu mája až decembra 2006-2016 sme premietali 2 387 vzoriek jelenej zveri a 1 968 vzoriek srnčej zveri. Materiál sa zbieral pri poľovačkách na východe Slovenska. Larvy sa zbierali a triedili podľa druhov.

V rokoch 2006-2016 v období lovu (16. mája – 31. decembra) spolu 71 jeleňov a 202 srnčia zver bola pozorovaná na zamorenie nosom. Hlavy samíc a mláďat boli označené a odovzdané v spracovateľských závodov. Hlavy boli tienené (prepláchnutím nosovej dutiny a rezom v strednej rovine) pre larvy a boli zoradené podľa druhov

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Prevalencia *Hypoderma diana* u jeleňa lesného bola 47,22 %. Priemerný počet lariev bol 84,13 jedincov. Bola pozorovaná vysoká intenzita strečkovitosti o 194 jedincov jeleňa lesného (<100 lariev / hlava) s prevalenciou 8,13 %. U srnčej zveri bola prevalencia *Hypoderma diana* 57,98 %, pričom intenzita napadnutia sa pohybovala na úrovni 67,43 lariev. U srnčej zveri sme taktiež zachytili výskyt *Cephenemyia stimulator* ked bola prevalencia 45,05 %. Intenzita napadnutia bola 15,24 lariev (Tabuľka 1).

Tabuľka 7 Počet vzoriek a prevalencia *H.diana a C. stimulator* u jeleňej a srnčej zveri

		***Hypoderma diana* - jeleň lesný**		
roky	**počet vzoriek**	**počet pozitívnych vzoriek**	**prevalencia %**	**priemerný počet lariev**
2006-07	579	284	49,05	82,10
2008-10	1756	793	45,16	93,05
2011-12	19	10	52,63	81,13
2013-14	21	10	47,62	79,21
2015-16	12	5	41,67	85,14
		***Hypoderma diana* - srnec lesný**		
roky	**počet vzoriek**	**počet pozitívnych vzoriek**	**prevalencia %**	**priemerný počet lariev**
2006-07	999	559	55,96	57,28
2008-10	872	520	59,63	64,32
2011-12	33	20	60,61	68,19
2013-14	35	20	57,14	71,56
2015-16	29	15	51,72	75,82
		***Cephenemyia stimulator* - srnec lesný**		
roky	**počet vzoriek**	**počet pozitívnych vzoriek**	**prevalencia %**	**priemerný počet lariev**
2006-07	77	35	45,45	17,35
2008-10	57	23	40,35	11,07
2011-12	52	24	46,15	13,21
2013-14	9	5	55,56	18,14
2015-16	7	4	57,14	16,42

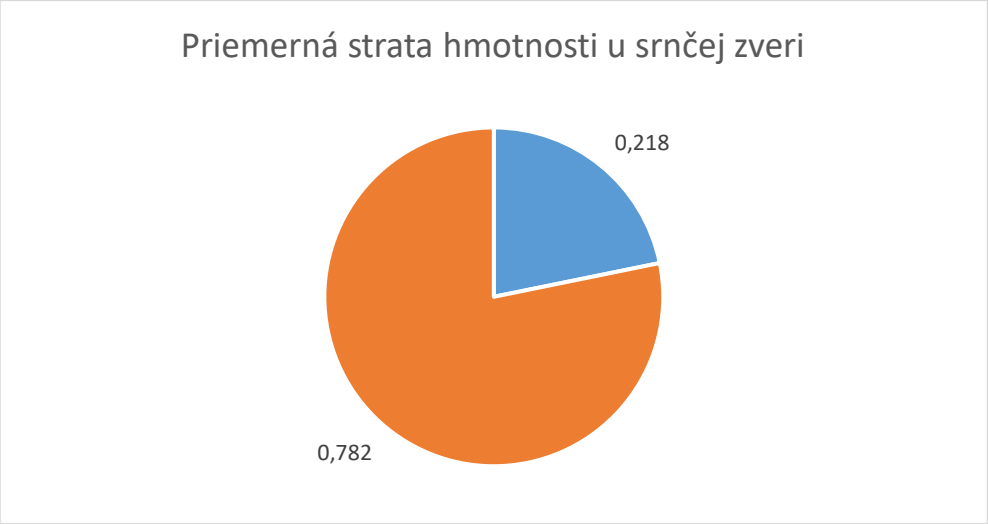
V grafoch č. 1 a 2 je percentuálna strata hmotnosti u vybraných druhov jelenej a srnčej zveri. U jelenej zveri sme zaznamenali priemerný úbytok 11,8 % hmotnosti v porovnaní jedincami negatívne vyšetrenými na strečkovitosť.

Graf 1 Priemerná strata hmotnosti u jelenej zveri



U srnčej zveri sme zaznamenali priemerný úbytok 21,8 % hmotnosti v porovnaní s negatívne testovanými jedincami srnčej zveri na strečkovitosť.

Graf 2 Priemerná strata hmotnosti u srnčej zveri



ZÁVER

Sledovanie prevalencie *H. diana* a *C. stimulator* u jelenej a srnčej zveri v regióne Východného Slovenska vysoko aktuálnou témou aj v súčasnej dobe. Napriek pomerne vysokému stupňu prevalencie sme zaznamenali pomerne nízke hodnoty úbytku na hmotnosti (11,8% a 21,8%). Aj keď sa tieto straty nejavia extrémne vysoké pri dlhodobom hospodárení v poľovných revíroch a zvyšovaní tlaku na rozširovanie strečkovitosti u voľne žijúcej zveri, by v budúcnosti mohlo toto parazitárne ochorenie predstavovať významné ekonomické straty v populácii jelenej a srnčej zveri. Možnosti použitia antiparazitárnzch prípravkov predstavujú vhodný spôsob prevencie proti výskytu strečkovitosti, ale ich použitie u voľne žijúcej zveri je problematické. Použitie antiparazitárnyh prípravkov je preto ideálne vo farmových chovoch a zverniciach, nakoľko je možné regulovať podávanie účinnej látky- ivermektín.

POĎAKOVANIE

Tento výskum bol spolufinancovaný projektom KEGA č. 017UVLF-4/2020.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ANDERSON, J.R. 2011. Corrected misidentification of first instars of the bot flies Cephenemyia apicata and C. jellisoni, with a review of the biology and life history of both species. Medical and Veterinary Entomology, 2011, doi: 10.1111/j.1365-2915.2011.00994.x.
2. CIBEREJ, J., RAJSKÝ, D. a kol.: III. Starostlivosť o zver a choroby zveri. Technická univerzita vo Zvolene, 2013, 116 s.

3. CIBEREJ, J., TRÁVNIČEK, M., KOVÁČ, G., RAJSKÝ, D., LAZAR, P., ZUBRICKÝ, P.: Starostlivosť o zver a choroby zveri. PaRPRESS, 2001, 204 s.
4. ČURLÍK, J. – LETKOVÁ, V. – CIBEREJ, J. – LAZAR, P. – GOLDOVÁ, M. – TRÁVNIČEK, M. – BHIDE, M. – KOČIŠOVÁ, A. – LAZAR, G. – POŠIVÁK, J. – KONJEVIĆ, D. 2004. Warble fly and botfly in deer in Slovakia. Proceeding of 2nd International Seminar on Wild fauna. Košice – Vysoké Tatry, June 18-21, 2004, p. 46-49.
5. ČURLÍK, J. – LETKOVÁ, V. – LAZAR, P. – GOLDOVÁ, M. – CIBEREJ, J. 2002. Dynamika výskytu imág strečkov raticovej zveri. Folia venatoria, vol. 32, 2002, p. 71-78.
6. FOREJTEK, P., RAJSKÝ, D., VODŇANSKÝ, M., RAJSKÝ, M., 2013: Zdravotní problematika zvěře (Příručka pro mysliveckou praxi). VFU Brno – SIEZ Brno, 232 s.
7. CHROUST, K. – FOREJTEK P. 2011. Parazitární choroby zveře. Myslivost 3/2011, s. 30-33.
8. NILSSEN, A.,C. – ISOMURSU, M. – OKSANEN A. 2008. The moose throat bot fly Cephenemyia ulrichii larvae (Diptera: Oestridae) found developing in roe deer (Capreolus capreolus) for the first time. Acta Vet. Scand., 2008, vol. 50, no. 1, p. 14.

Kontaktná adresa: Čurlík Ján, Katedra chovu a chorôb zveri, rýb a včiel, ekológie a kynológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; E-mail: jan.curlik@uvlf.sk

VPLYV HUMÍNOVÝCH LÁTOK AKO ORGANICKEJ PRÍSADY NA BIOCHEMICKÉ PARAMETRE V KRVI KRÁLIKOV

THE EFFECT OF HUMIN SUBSTANCES AS ORGANIC ADDITIVE ON BIOCHEMICAL PARAMETERS IN BLOOD OF RABBITS

Farkašová Zuzana, Zigo František, 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 the work was to supplement the feed mixture of rabbits with humic substances and its effect on selected biochemical parameters in rabbit blood. The study included 24 rabbits of the Saris giant rabbit breed at the age of 35 days, they were divided into two groups, the control and the group with 1% addition of HS. Despite expectations, HS supplementation in the feed ration in rabbits did not increase weight gain (25.6 g) compared to the control group (27.9 g). Lower daily increments in the supplemented group were also reflected in the lower final weight of rabbits ($P < 0.05$) at the age of 120 days. HS supplementation positively affected blood lipid parameters, decreased ALP and ALT activity ($P < 0.05$) and increased calcium ($P < 0.05$) and phosphorus in rabbit blood serum in the experimental group. The results make it possible to assume that HS administration could be introduced as a supplementation in rabbit nutrition in order to improve both biochemical indicators in the blood, and in the increase in serum concentrations of essential trace elements as an important part of energy metabolism.

Key words: humic acids, Saris giant rabbit, biochemical parameters

ÚVOD

Chov hospodárskych zvierat pre produkciu mäsa patrí medzi hlavné sektory živočíšnej výroby. Okrem tradičných druhov ako je ošípaná, hovädzí dobytok a hydina sa tento priemysel vyvíja pridružením nových druhov, ako sú napríklad králiky (Fik a kol., 2021). Králiky sa chovajú hlavne pre mäso a kožušinu, ale v mnohých prípadoch sa využívajú aj ako laboratórne zvieratá. Preferovanie chovu králikov je odôvodnené vysokou nutričnou kvalitou mäsa s nízkym obsahom kalórií a skutočnosťou, že je nenáročný a dostatočne prispôsobivý do extenzívnych chovov so samozásobiteľskou funkciou (Zotte a Szendro, 2011).

Tabuľka 1: Porovnanie chemického zloženia mias rôznych druhov hospodárskych zvierat

Druh	Bielkoviny %	Tuk %	Cholesterol (mg/100g)	Energia (J/100g)
Králičie	20 - 23	2,5 - 6	30 - 40	600 - 700
Bravčové	14 - 17	12 - 16	70 - 105	5000 - 8000
Hovädzie	12 - 15	5 - 13	70 - 125	3500 - 4500
Kuracie	20 - 22	6 - 7	60 - 90	700 - 1000
Morčacie	21 - 23	5 - 8	20 - 30	1500 - 2000
Jahňacie	16 - 20	10 - 14	65 - 80	400 - 700
Teľacie	19 - 21	3 - 5	85 - 100	2000 - 3000

Pre zlepšenie imunity a produkčných vlastností hospodárskych zvierat sa v posledných rokoch začali obohacovať kŕmne zmesi o rôzne organické zlúčeniny. Ich suplementáciu potencuje aj fakt, že od januára 2022 sa uplatňuje vo všetkých členských štátoch EU legislatíva, ktorá zakázuje preventívne a hromadné podávanie antibiotík a oxidu zinku pre všetky skupiny chovaných zvierat. Nastupujúce legislatívne zmeny spojené s vyradením využívania antibiotických stimulátorov rastu a iných chemických prípravkov vo výžive hospodárskych zvierat otvárajú priestor pre hľadanie alternatívnych riešení (Mudroňová a kol., 2020).

Jedným z možných alternatív je prídavok humínových kyselín (HK), ktoré patria k najrozšírenejším prírodným organickým zlúčeninám. Humáty vznikajú chemickým a biologickým rozkladom organických látok, najmä rastlín a živočíchov. Vďaka svojmu unikátnemu zloženiu a vynikajúcim vlastnostiam HK dokážu komplexne pôsobiť v organizme zvierat a tým zvyšovať jeho obranyschopnosť proti ochoreniam a stimulovať vyššiu úžitkovosť (Ondruška a kol., 2012; Jaďuttová a kol., 2019).

Cieľom práce bola suplementácia kŕmnej zmesi králikov humínovými látkami a jej vplyv na vybrané biochemické parametre v krvi králikov.

MATERIÁL A METÓDY

Do štúdie boli zaradené králiky plemena šarišský obrovitý králik. Šarišský obrovitý králik so svojou špecifickou kresbou je doposiaľ neuznané plemeno králikov avšak v drobnochovateľských podmienkach dosahuje dobré reprodukčné a rastové ukazovatele, dobrú plodnosť, rýchly raný vývoj, výborné mesačné prírastky s vysokou finálnou hmotnosťou (5 kg v šiestom mesiaci).

Králiky boli chované v typicky drobnochovateľských podmienkach chovu s drevenými králikárňami v chovateľskom zariadení Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach. Spolu 24 králikov zo štyroch vrhov plemena šarišský obrovitý králik, oboch pohlaví vo veku 35 dní bolo rozdelených do dvoch skupín a to kontrolnú a skupinu s 1% prídavkom HK. Každú skupinu tvorilo 6 boxov, do ktorých boli umiestnené 2 králiky vo veku 35 dní. Králikom bola počas celého obdobia výkrmu (35. do 120. dňa) podávaná experimentálna granulovaná KZ s prídavkom kŕmneho doplnku s vysokým podielom humínových kyselín (HUMAC® Natur AFM; 65% podiel HK v sušine) v množstve 1 kg na 100 kg KZ. HK kyseliny do granúl boli zakomponované priamo výrobcom (Humac s.r.o. SK) pri ich lisovaní s ostatnými zložkami. Zvieratám z kontrolnej skupiny bola predkladaná KZ rovnakého zloženia, ale už bez prídavku HK. Experiment trval 85 dní a počas celého obdobia zvieratám boli skrmované granulované zmesi *ad libitum* a mali voľný prístup k pitnej vode. Obsah živín bol analyzovaný štandardnými metódami podľa AOAC (2000) a s obsahom: 17,3 % vlákniny, 16,5 % proteínu, 6,9 % popola, 4,5 % tuku, 0,8 % vápnika, 0,75% lyzínu, 0,55% fosforu, 0,38 % metionínu a 0,20 % sodíka.

Hmotnosť králikov bola zisťovaná vážením vo veku 35, 60, 90 a 120 dní. Pre vyhodnotenie biochemických ukazovateľov bolo vybraným králikom pred porážkou odobratých 10 ml krvi pomocou jednorazových sterilných striekačiek a následne získané sérum centrifugáciou pri 3000 ot./min. po dobu 15 min. Celkové hladiny cholesterolu, triglyceridy a koncentrácia HDL a LDL cholesterolu boli stanovené z krvného séra podľa Hammand a kol. (1998).

Namerané hodnoty sme vyhodnotili analýzou ANOVA a rozdiely medzi jednotlivými rastovými a biochemickými ukazovateľmi v sledovaných skupinách sme hodnotili T testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tabuľke 1 sú uvedené základné ukazovatele úžitkovosti králikov v priebehu výkrmu. Zaznamenali sme nižšie priemerné denné prírastky na úrovni 25,6 g u suplementovanej skupiny králikov HK v porovnaní s kontrolou na úrovni 27,9 g. Nižšie denné prírastky u suplementovanej skupiny sa prejavili aj na nižšej finálnej hmotnosti králikov ($P < 0,05$) vo veku 120 dní.

Tabuľka 2: Porovnanie jednotlivých ukazovateľov počas výkrmu králikov

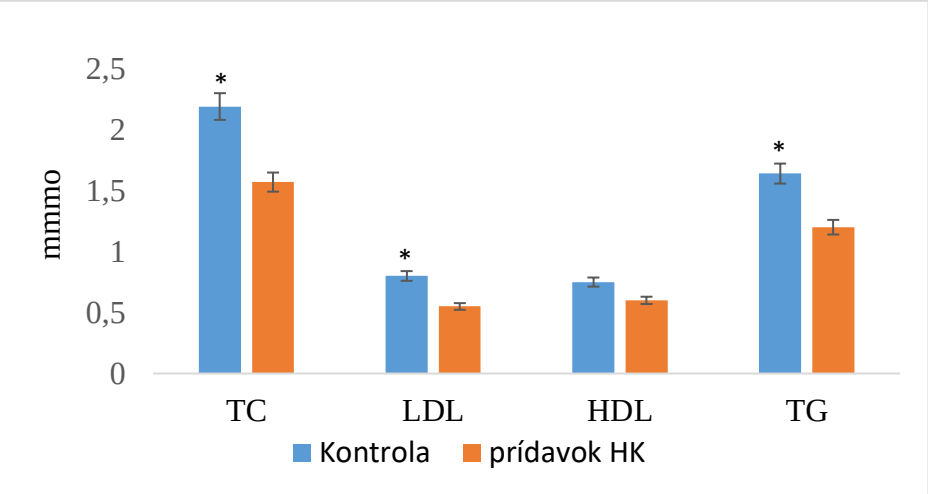
Skupina/výkrm	Kontrola	Prídavok HK
	x±SD	x±SD
35 dní (kg)	0,680±0,13	0,63±0,17
60 dní (kg)	1,10±0,28	1,07±0,32
90 dní (kg)	2,26±0,22	2,14±0,35
120 dní (kg)	3,35±0,14[a]	3,07±0,19[b]
Priem. prírastok (g/ks/deň)	27,9	25,6
Jatočná výťažnosť (%)	58,7	56,2

Poznámka: [a,b] Štatistická významnosť pri P < 0,05

Znížená telesná hmotnosť a obsah tuku v mäse v suplementovanej skupine HK môže byť spôsobená zvýšeným metabolizmom tukov vďaka priaznivým detoxikačným účinkom humátov na pečeň (Farkašová a kol. 2021).

V dôsledku zvýšeného metabolizmu tukov boli v suplementovanej skupine HK v porovnaní s kontrolou pozorované nižšie hladiny cholesterolu v krvi. Okrem zníženého cholesterolu bol medzi kontrolnou a suplementovanou skupinou potvrdený znížený obsah LDL-cholesterolu a triglyceridov v krvnom sére (Graf 1).

Graf 1: Porovnanie vybraných biochemických ukazovateľov v krvnom sére králikov



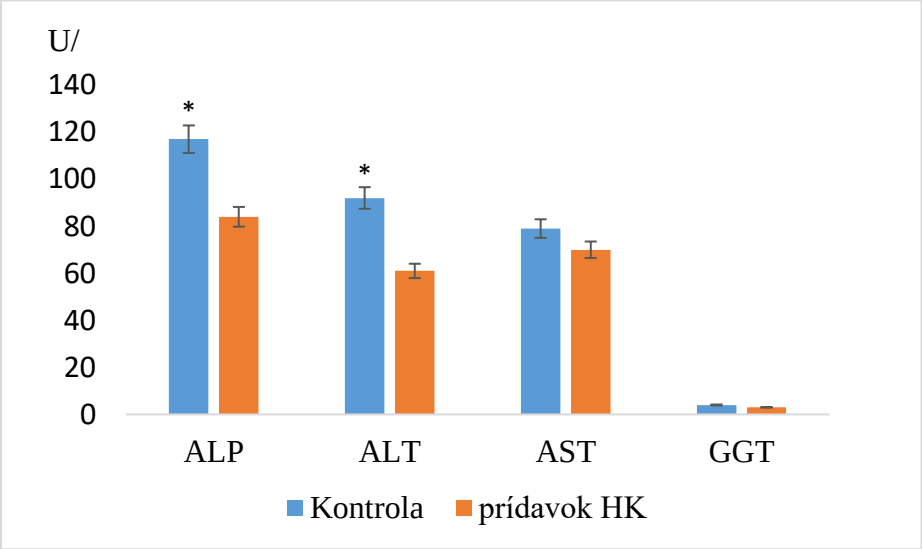
Poznámka: * Štatistická významnosť pri P < 0,05.

Výsledky aktivity pečeňových enzýmov a hladiny vybraných minerálnych látok v krvnom sére sú znázornené v Grafe 2 (ALP, ALT, AST a GGT) a Grafe 3 (hladina vápnika,

fosforu a zinku). Signifikantné zníženie aktivity ALP a ALT ($P < 0,05$) bolo zaznamenané v experimentálnej skupine s prídavkom HK.

Jaďuttová a kol. (2019) zaznamenali signifikantné zníženie AST a zvýšenie ALT v experimentálnej skupine H0.8, kým v skupine H1.0 s vyšším obsahom HK bola hodnota ALP singifikantne nižšia. Celková hodnota lipidov (TL) bola vyššia v oboch experimentálnych skupinách v porovnaní s kontrolou. Hladina sérového cholesterolu bola nižšia rovnako ako u nás v skupine s prídavkom HK ($P < 0,05$).

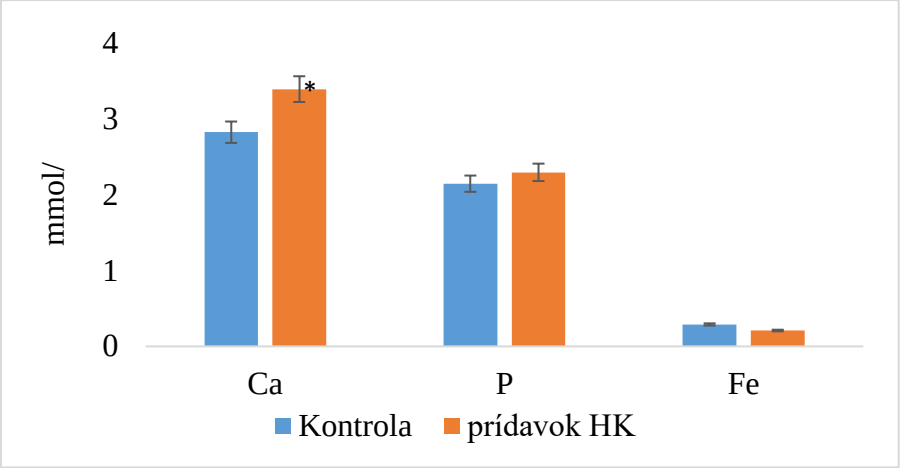
Graf 2: Porovnanie aktivity pečeňových enzýmov



Poznámka: * Štatistická významnosť pri $P < 0,05$.

Vápnik a fosfor sú nevyhnutné makroelementy pre kosti, ako aj pre energetický metabolizmus. Suplementácia HK v našom experimente bola spojená so zvýšením vápnika ($P < 0,05$) a fosforu v krvnom sére králikov. Bahadori a kol. (2017) a Ozturk a kol. (2012) takisto pozorovali zvýšenie vápnika a fosforu v krvi. Naopak, Rath a kol. (2006), Jaďuttová a kol. (2019), zaznamenali pokles vápnika v krvi aj fosforu po pridaní HS do krmiva pre brojlery, čo môže byť spôsobené schopnosťou HS chelátovať kovy, ktoré sú ovplyvnené veľkým počtom vedľajších reťazcov kyseliny karboxylovej (Rath et al. 2006). Na druhej strane Arif et al. (2018) nezaznamenal žiadne zmeny hladín týchto krvných prvkov v krvi u prepeličiek. Účinok HS na koncentráciu vápnika a fosforu v krvi môže byť ovplyvnený množstvom pridaným do krmiva.

Graf 3 **Porovnanie hladín Ca, P a Fe v krvnom sére králikov**



Poznámka: * Štatistická významnosť pri P < 0,05.

Autor Mista a kol. (2012) hodnotil účinok perorálneho prípravku humínových kyselín pre mladé králiky na vybrané hematologické a biochemické parametre krvného séra. Jeho štúdia potvrdila zvýšenie niektorých hematologických parametrov (RBC, HGB a HCT) ako aj zníženie hladiny cholesterolu v krvnom sére, najmä jeho frakcie LDL.

ZÁVER

Aj napriek očakávaniam, suplementácia HK v kŕmnej dávke u králikov nezvýšila hmotnostné prírastky (25,6 g) v porovnaní s kontrolnou skupinou (27,9 g). Nižšie denné prírastky u suplementovanej skupiny sa prejavili aj na nižšej finálnej hmotnosti králikov (P < 0,05) vo veku 120 dní. Suplementácia HK však pozitívne ovplyvnila lipidové parametre v krvi, čo sa prejavilo nižším obsahom celkového cholesterolu a jeho LDL frakciou. Rovnako bol zaznamenaný pozitívny vplyv na zníženie aktivity ALP a ALT (P < 0,05) v experimentálnej skupine s prídavkom HK. Suplementácia HS v našom experimente bola spojená so zvýšením vápnika (P < 0,05) a fosforu v krvnom sére králikov.

Súčasné výsledky umožňujú predpokladať, že podávanie HK by mohlo byť zavedené ako suplementácia vo výžive králikov za účelom zlepšenia biochemických ukazovateľov v krvi predovšetkým v znížení hladín tukov a cholesterolu, aktivity pečeňových enzýmov a v pozitívnom smere aj vo zvýšení sérových koncentrácií esenciálnych mikroprvkov predovšetkým vápnika a fosforu.

POĎAKOVANIE

Realizácia experimentu bola finančne podporená grantom KEGA 009UVLF-4/2021.

LITERATÚRA

1. AOAC 2000. Oficial methods of analysis, 17th edition. Association of official analytical
2. ARIF M, et al.: Growth, carcass traits, cecal microbial counts, and blood chemistry of meat-type quail fed diets supplemented with humic acid and black cumin seeds. Asian-Aust J Anim Sci. 2018, 31: 1930-1938
3. BAHADORI Z, et al.: The effect of earthworm (Eisenia foetida) meal with vermi-humus on growth performance, hematology, immunity, intestinal microbiota, carcass characteristics, and meat quality of broiler chickens. Livest Sci. 2017, 202: 74-81
4. FARKAŠOVÁ, Z, et al.: Vplyv humínových látok ako organickej prísady na rast a jatočné parametre králikov : The effect of humin substances as organic additive on rabbit growth and slaughter parameters. HYGIENA ALIMENTORUM XLI: Nové trendy zvyšovania kvality a zdravotnej bezpečnosti mäsa a mäsových výrobkov : 1. vyd. - Košice : UVLF v Košiciach, 2021., 181-187.
5. Fik M, et al.: Analysis of production and reproductive indicators of rabbit of Saris giant breed. *Acta fyt. et zoot*., 2021;24(2), 155-160.
6. HAMMAD SM, et al.: Total cholesterol, total triglycerides, and cholesterol distribution among lipoproteins as predictors of atherosclerosis in selected lines of Japanese quail. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 1998;119 (2), 485-492.
7. JAĎUTTOVÁ I, et al.: The effect of dietary humic substances on the fattening performance, carcass yield, blood biochemistry parameters and bone mineral profile of broiler chickens. *Acta veterinaria Brno.* 2019; 88 (3), 307-313.
8. MIŚTA D, et al.: The effect of humic-fatty acid preparation on selected haematological and biochemical serum parameters of growing rabbits. *Polish Jour of Vet. Sciences.* 2012,15 (2), 395-397.
9. MUDROŇOVÁ D, et al.: The effect of humic substances on gut microbiota and immune response of broilers. *Food and Agricultural Immunology*. 2020; 31(1), 137-149.
10. ONDRUŠKA Ľ, et al.: Effect of humic substances and probiotics on growth performance and meat quality of rabbits. *Potravinarstvo*, 2012;6 (2), 39-41.
11. OZTURK E, et al.: Performance, carcass, gastrointestinal tract and meat quality traits, and selected blood parameters of broilers fed diets supplemented with humic substances. J Sci Food Agric. 2012, 92: 59-65

12. RATH NC, HUFF E, WAND HUFF GR: Effects of humic acid on broiler chickens. Poult Sci. 2006, 85: 410-414
13. ZOTTE DA, SZENDRO Z. The role of rabbit meat as functional food. *Meat Sci*. 2011;88(3), 319-331.

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

HODNOTENIE KVALITATÍVNEHO A KVANTITATÍVNEHO ZLOŽENIA MASTNÝCH KYSELÍN U TRESKY ALJAŠSKEJ

EVALUATION OF THE QUALITATIVE AND QUANTITATIVE COMPOSITION OF FATTY ACIDS IN ALASKA POLLOCK

Golian Jozef, Samson Škrada Michal, Benešová Lucia, Ondruš Ladislav, Jakabová Silvia

Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva,

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko

ABSTRACT

The fatty acid composition of Alaska Pollock (*Gadus chalcogrammus*) fillets intended for the Slovak market was investigated in fillets by GC-FID method for the content of 41 fatty acids. Fillets originated from 4 different countries (USA, Russia, China, and Poland). 15 fatty acids were statistically compared and significant differences were observed in the case of oleic, arachidonic, eicosapentaenoic, behenic, docosapentaenoic and docosahexaenoic acids. The content of 26 fatty acids was found on levels below 0,5g.100g^{-1} fat. Three most abundant fatty acids in the samples were palmitic acid (25,30 - 40,60 g.100g^{-1} fat), eicosapentaenoic acid (9,65 – 30,40 g.100g^{-1} fat), and docosahexaenoic acid (9,04 – 23,30 g.100g^{-1} fat). The variability in values of fatty acids was the highest in the samples from Poland. Content of saturated fatty acids was comparable in all samples analysed. The quality of fish fillets from other three distributors were comparable by means of individual groups of monounsaturated, polyunsaturated, trans-fatty acids and n-3 and n-6 fatty acids.

Key words: fatty acids, Alaska pollock fillets, composition

ÚVOD

V ľudskej výžive predstavujú ryby dôležitý zdroj bielkovín, minerálnych látok, vitamínov a lipidov (Tocher, 2016). Ryby sú okrem bielkovín bohatým zdrojom tukov najmä n-3 polynenasýtených mastných kyselín. Okrem toho, že sú bohatým zdrojom bielkovín olejov a tukov, tak hlavne malé druhy rýb sú bohaté na mikroživiny a môžu zohrávať dôležitú úlohu pri eradikácii chorôb z nedostatku mikroživín v rozvojových krajinách. Ryby obsahujú väčšie množstvo mikronutrientov, ako mäso cicavcov, ako je napr. vitamín D, minerálne látky ako jód, selén, zinok, horčík a vápnik. Okrem toho, že ryby sú výživnou zložkou potravy, majú

jedinečnú výhodu oproti iným živočíšnym a rastlinným produktom z dôvodu, že je veľký počet druhov rýb, ktoré sa výrazne líšia svojou cenou a preto sú prístupné všetkým skupinám ľudí či už z vyššej alebo nižšej vrstvy (Mohanty et al., 2019). Z hľadiska obsahu lipidov môžu byť ryby jednou z najdôležitejších funkčných potravín pre ľudskú spotrebu (Hornstra, 1999).
Ryby sú dôležitým zdrojom esenciálnych mastných kyselín a vitamínov rozpustných v tukoch. Obsah tuku a jeho zloženie je druhovo veľmi špecifické (Golian et al., 2021). Nutričná a kalorická hodnota rýb sa mení podľa druhu, veľkosti, stravy a tiež aj od sezóny. Morské plody majú vo všeobecnosti nižší obsah tuku a menej energie, ako hovädzie, hydinové alebo bravčové mäso. Väčšina chudých rýb s nízkym obsahom tuku, ako je treska, platesa obyčajná, jazyk morský obsahujú menej, ako 100 kalórií na 100 g (418 kJ) a dokonca aj tučné mastné ryby ako makrela, sleď a losos obsahujú len okolo 250 kcal (1 045kJ) prípadne aj menej v 100 g porcii. Väčšina kôrovcov obsahuje menej, ako 1 % v chvostovom svale, pretože podkožný tuk je uložený v hepatopankrease (Ariño et al., 2013). Väčšina nenasýtených mastných kyselín ako je kyselina eikozapentaénová (EPA) a dokozahexaénová (DHA) sa nachádzajú v morských a sladkovodných rybách, ale aj v ľanovom oleji, vlašských orechoch a repke. Tieto kyseliny by mali tvoriť 0,5 – 2 % z celkového odporúčaného energetického príjmu (Vollmanová, 2018).

Ryby a morské plody sú najbohatším zdrojom kyseliny eikozapentaénovej (EPA) a dokosahexaénovej (DHA), zatiaľ čo rastlinné tuky a oleje ich neobsahujú. Krajiny s vysokou spotrebou rýb, ako je Japonsko, Nórsko a Island, majú najvyšší príjem polynenasýtených mastných kyselín (PUFA), zatiaľ čo Francúzsko a USA uvádzajú nižší príjem, pod 200 mg.deň$^{-1}$. Obsah n-3 mastných kyselín sa v rybách líši. Mastné ryby, ktoré žijú v chladných oblastiach, ako losos, tuniak a sardinky, obsahujú veľké množstvo týchto kyselín. Chované ryby v akvakultúrach majú zvyčajne vyššie hladiny EPA a DHA ako voľne žijúce ryby, pretože je to ovplyvnené aj stravou rýb (Sprague et al., 2016). Mnohé štúdie preukázali pozitívny vplyv polynenasýtených mastných kyselín na ľudské zdravie, prispievajú k správnemu vývoju nervového systému, vykazujú protizápalové účinky, uplatňujú sa v liečbe alebo prevencii kardiovaskulárnych ochorení (Kris-Etherton et al., 2002; Undeland et al., 2004; Delgado-Lista et al., 2012; Hammad et al., 2016) vrátane neurodegeneratívnych ochorení (Liu et al., 2015), pri liečbe autoimunitných ochorení (Pestka et al., 2014) a diabetes (Risérus et al., 2009). Z hľadiska ochrany zdravia sa v ľudskej výžive odporúča zvýšiť príjem n-3 mastných kyselín a znížiť príjem trans-mastných kyselín, ktoré prispievajú k zvýšeniu cholesterolu a výskytu kardiovaskulárnych chorôb (Angelovičová et al., 2021)

Chemické zloženie rýb je druhovo charakteristické a závisí od environmentálnych faktorov ako aj od zloženia potravy, ktorou sa ryby živia (Araujo et al., 2015). Asi 80% z

celkového obsahu tuku je vo forme nenasýtených mastných kyselín. Morské ryby obsahujú viac polynenasýtených mastných kyselín v porovnaní so sladkovodnými rybami a obsahujú viac n-3 PUFA v pomere k n-6 mastné kyseliny (Strobel et al., 2012).

Treska aljašská (*Gadus chalcogrammus*) je morský druh tresky rodu *Gadus* a čeľade *Gadidae*. Je to polopelagická húfová ryba široko rozšírená v severnom Pacifiku, pričom najväčšie koncentrácie sa nachádzajú vo východnej časti Beringovho mora.

Cieľom tejto práce bolo zistiť a porovnať hladiny mastných kyselín a ich variabilitu u tresky aljašskej, pochádzajúcej od štyroch rôznych distribútorov, ktorí surovinu distribuujú na Slovenskom trhu.

MATERIÁL A METODIKA

Na experiment boli použité vzorky tresky aljašskej, pochádzajúcich od štyroch dodávateľov, ktoré boli určené na slovenský trh. Na analýzu použili bloky Aljašskej tresky z USA, Číny a Ruska a vzorky tresky balenej v Poľsku. Na stanovenie mastných kyselín sme z každého bloku odobrali 4 vzorky, zodpovedajúce rôznym jedincom. Vzorky predstavovali filety bez kože. Stanovenie 41 mastných kyselín vo vzorkách rýb bolo realizované v akreditovanom laboratóriu plynovou chromatografiou spojenou s plameňovým ionizačným detektorom (GC-FID) podľa normy STN EN 14103 - Deriváty tukov a olejov - Metylestery mastných kyselín (FAME) - Stanovenie obsahu esterov a metylesterov kyseliny linolénovej a ČSN EN ISO 12966-2 (588767) - Plynová chromatografia metylesterov mastných kyselín - Časť 2: Príprava metylesterov mastných kyselín. Výsledky boli vyjadrené v gramoch na 100 g tuku.

Sumarizácia údajov a príprava tabuliek sa realizovala v programe Excel (Microsoft, Redmond, WA, USA), na štatistickú analýzu sa použil Tukeyov párový test vo voľne šíriteľnom softvéri Past 4.03 (softvér vyvíjaný autormi Hammer et al. (2001), https://www.softpedia.com). Štatistické porovnanie sa realizovalo pre 15 mastných kyselín pričom sa porovnali obsahy v rámci jedného parametra medzi všetkými štyrmi dodávateľmi. Úroveň štatistickej významnosti bola stanovená na $p < 0,05$ pre všetky analyzované mastné kyseliny,

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky v tabuľke 1 vyjadrujú priemerné obsahy pre jednotlivé mastné kyseliny vo vzorkách tresky aljašskej pochádzajúcej od štyroch distribútorov. Obsahy mastných kyselín sú uvedené ako priemery ± smerodajná odchýlka $g.100g^{-1}$ tuku. Na vizualizáciu a preukaznosť rozdielov vo výsledkoch boli použité indexy, ktoré vyjadrujú v rámci riadkov signifikantnosť

rozdielov porovnania pre jednotlivé mastné kyseliny medzi vzorkami od jednotlivých distribútorov. U mastných kyselín: k. butánová (C4:0), k. kaprónová (C6:0), k. kaprylová (C8:0), k. kaprínová (C10:0), k. undekánová (C11:0), k. laurová (C12:0), k. tridekánová (C13:0), k. myristoolejová (C14:1 n5c), k. pentadekánová (C15:0), k. pentadecénová (C15:1n5c), k. heptadekánová (C17:0), k. heptadecénová (C17:1 n7c), k. petroselaidová (C18:1n6t), k. elaidová (C18:1n9t), k. vakcénová (C18:1n11t), k. linolelaidová (C18:2n6t), k. gama-linolénová (C18:3n6c), k. eikozatriénová (C20:3n3c), k. heneikozánová (C21:0), k. eruková (C22:1n9c), k. dokozadiénová (C22:2n6c), k. trikozánová (C23:0), k. lignocerová (C24:0) a k. nervónová (C24:1n9c) boli zistené obsahy nižšie ako 0,5 g.100g^{-1} tuku, tieto mastné kyseliny neboli zahrnuté v štatistickom hodnotení.

Tabuľka č. 1, Obsah jednotlivých mastných kyselín vo vzorkách tresky aljašskej a významnosť ich rozdielov vzhľadom na pôvod vzoriek

Zložka	Reťazec	USA	Rusko	Čína	Poľsko
		$\bar{x}\pm s_D$	$\bar{x}\pm s_D$	$\bar{x}\pm s_D$	$\bar{x}\pm s_D$
		g.100g^{-1} tuku	g.100g^{-1} tuku	g.100g^{-1} tuku	g.100g^{-1} tuku
Kyselina myristová	C14:0	3,90±0,40^a	2,73±0,18^a	3,35±0,29^a	3,42±1,31^a
Kyselina palmitová	C16:0	32,15±5,49^a	30,45±1,17^a	31,03±1,74^a	31,66±6,53^a
Kyselina palmitoolejová	C16:1 n7c	2,07±0,21^a	1,47±0,08^a	1,59±0,05^a	2,08±0,62^a
Kyselina stearová	C18:0	6,59±1,32^a	4,04±0,36^a	5,05±0,62^a	6,39±1,65^a
Kyselina olejová	C18:1n9c	6,91±0,91^a	4,37±1,39^a	5,98±0,72^a	**18,61±8,49^b**
Kyselina asklepová	C18:1n11c	2,78±0,27^a	2,03±0,20^a	2,02±0,16^a	2,66±0,92^a
Kyselina linolová	C18:2n6c	1,48±0,19^a	0,99±0,31^a	1,42±0,26^a	3,73±2,33^a
Kyselina alfa-linolénová	C18:3n3c	1,40±0,28^a	0,84±0,11^a	1,01±0,16^a	1,69±0,74^a
Kyselina arachidová	C20:0	<0,5^a	<0,5^a	<0,5^a	0,56±0,10^a
kyselina eikozénová	C20:1n11c	0,64±0,14^a	<0,5^a	0,54±0,02^a	0,73±0,23^a
Kyselina arachidónová	C20:4n6c	0,83±0,10^a	0,74±0,05^a	0,87±0,05^a	**<0,5^b**
Kyselina eikozapentaénová	C20:5n3c	22,41±3,40^a	28,59±1,20^a	24,69±2,46^a	**14,75±4,52^b**
Kyselina behenová	C22:0	<0,5^a	<0,5^a	<0,5^a	**0,63±0,18^b**
Kyselina dokozapentaénová	C22:5n3c	**<0,5^a**	**1,30±0,13^b**	**0,85±0,04^c**	**<0,5^a**
Kyselina dokozahexaénová	C22:6n3c	18,87±4,27^a	21,94±1,24^a	21,86±0,90^a	**9,37±3,03^b**

Poznámka: hodnoty a, b, c indexov v riadku vyjadrujú štatistickú odlišnosť (Tukey test, $p < 0,05$)

Štatisticky preukazné rozdiely sme zistili u kyselín: k. olejovej, k. arachidónovej, k. eikozapentaénovej, k. behenovej, k. dokozapentaénovej a k. dokozahexaénovej, pričom vo väčšine prípadov, okrem k. dokozapentaénovej sa týkala štatisticky významná rozdielnosť filetov tresky, ktoré pochádzali od poľského distribútora. V prípade kyseliny

dokozapentaénovej bol rozdiel zistený medzi vzorkami pochádzajúcimi z USA a Poľska vs. Vzorky z Ruska a Číny a významná rozdielnosť bola aj medzi vzorkami Rusko vs. Čína.

Najvyšší obsah zo skupiny nasýtených mastných kyselín sme zistili u kyseliny palmitovej, z mononenasýtených mastných kyselín bola najviac zastúpená kyselina olejová a polynenasýtené mastné kyseliny boli zastúpené najvyšším podielom kyseliny eikozapentaénovej, nasledovanou kyselinou dokozahexaénovou. Najvyššia variabilita u jednotlivých mastných kyselín bola zistená v treske od distribútora z Poľska, čo sa ukázalo najviac u kyselín olejovej, linolovej, eikozapentaénovej a dokozahexaénovej, ktoré v porovnaní so vzorkami od ďalších distribútorov boli buď štatisticky vyššie (k. olejová, behenová, linolová) alebo naopak nižšie (k. arachidónová a k. dokozahexaénová).

Sumárny podiel jednotlivých skupín mastných kyselín je uvedený v tabuľke 2. Sledovali sme tiež štatistické rozdiely v rámci jednotlivých skupín mastných kyselín. Tieto sú výsledkom príspevku jednotlivých vyššie uvedených mastných kyselín. Štatistiky významné rozdiely sme zaznamenali u skupín mononenasýtených, polynenasýtených a n-3 mastných kyselín, pričom rozdiely boli opäť medzi surovinou pochádzajúcou od poľského distribútora vs. ostatné vzorky.

Tabuľka č. 2, Obsah jednotlivých skupín mastných kyselín vo vzorkách tresky aljašskej

Zložka	**Krajina pôvodu**			
	USA	**Rusko**	**Čína**	**Poľsko**
	g.100g^{-1} vzorky	g.100g^{-1} vzorky	g.100g^{-1} vzorky	g.100g^{-1} vzorky
Nasýtené mastné kyseliny	0,25±0,06^{a}	0,24±0,01^{a}	0,24±0,01^{a}	0,28±0,05^{a}
Mononenasýtené mastné kyseliny	0,08±0,01^{a}	0,06±0,02^{a}	0,06±0,01^{a}	**0,14±0,04^{b}**
Polynenasýtené mastné kyseliny	0,26±0,04^{ab}	0,35±0,03 ^{a}	0,30±0,03 ^{a}	**0,18±0,05^{b}**
Transmastné kyseliny	<0,01^{a}	<0,01^{a}	<0,01^{a}	<0,01^{a}
Transmastné kyseliny v tuku	<0,5^{a}	<0,5^{a}	<0,5^{a}	<0,5^{a}
Omega-3 mastné kyseliny	0,25±0,04^{a}	0,34±0,03^{a}	0,29±0,03^{a}	**0,15±0,05^{b}**
Omega-6 mastné kyseliny	0,013±0,004^{a}	0,01±0,0^{a}	0,012±0,004^{a}	0,023±0,010^{a}

Poznámka: hodnoty a, b, c indexov v riadku vyjadrujú štatistickú odlišnosť (Tukey test, $p < 0,05$)

Nasýtené mastné kyseliny boli najviac zastúpené kyselinou palmitovou, myristovou a stearovou, ostatné kyseliny (butánová, kaprónová, kaprylová, kaprinová, undekánová, laurová, tridekánová, heptadekánová, arachidová, heneikozánová, trikozánová a lignocerová) boli pod úrovňou 0,5 g.100g^{-1} tuku. Mononenasýtené mastné kyseliny mali zastúpenie kyseliny palmitolejovej, olejovej a asklepovej, údaje pod 0,5 g.100g^{-1} tuku mali ostatné mononenasýtené mastné kyseliny (konkrétne kyselina pentadecénová, heptadecénová, petroselaidová, elaidová,

vakcénová, eruková a nevrónová). Na úrovni medze stanovenia sa u niektorých vzoriek pohybovala kyselina eikozénová. Polynenasýtené mastné kyseliny boli zastúpené jednotlivými n-3 a n-6 mastnými kyselinami. Suma kyselín alfa-linolénovej, eikozatriénovej, eikozapentaénovej, dokozapentaénovej a dokozahexaénovej predstavujú celkové n-3 mastné kyseliny. n-6 mastné kyseliny predstavujú sumu obsahov kyselín linolelaidovej, linolovej, gama-linolénovej, eikozadiénovej, dihomo-gama-linolénová, arachidónovej a dokozadiénovej. Z n-3 mastných kyselín mali najvyššie zastúpenie kyselina dokózahexaénová 23,30 g.100 g^{-1} vo vzorke pôvodom z Ruska. Taktiež aj obsah kyseliny eikózapentaénovej bol najvyšší vo vzorke pôvodom z Ruska 30,40 g.100 g^{-1}. Z výsledkov sú zrejmé rozdiely v obsahu n-3 mastných kyselín v rámci 7,5 kg bloku zmrazených filiet. Ostatné n-3 mastné kyseliny sme zistili v menšom zastúpení v jednotlivých vzorkách. Z n-6 mastných kyselín sme vyššie hodnoty zaznamenali najmä u kyseliny arachidónovej a kyseliny linolovej. Najvyšší obsah kyseliny arachidónovej sme zaznamenali vo vzorke pôvodom z USA 0,94 g.100 g^{-1} tuku. U kyseliny linolovej sme najvyšší obsah zistili vo vzorke pôvodom z Číny 1,87 g.100 g^{-1} tuku. Vo vzorke pôvodom z Poľka sme zistili z n-6 mastných kyselín len kyselinu linolovú s priemerným obsahom 3,73 g.100 g^{-1} tuku.

Podľa autorov Strobel et al. (2012), Vranić et al. (2012) a Krstić et al. (2016) sa optimálny pomer n-3/n-6 v ľudskej výžive pohybuje v rozmedzí 1:1–1:5 Gormaz et al. (2014) popisujú, že na zvýšený obsah n-6 mastných kyselín v rybách má vplyv vyšší podiel vodných rastlín vo výžive rýb.

ZÁVER

Analýza profilu mastných kyselín vo filetoch tresky aljašskej, pochádzajúcej od štyroch rôznych dodávateľov (USA, Rusko, Čína a Poľsko), poukázala na prítomnosť 41 mastných kyselín s najhojnejším zastúpením kyseliny palmitovej, eikozapentaénovej a dokozahexaénovej. Štatisticky významné rozdiely v obsahu mastných kyselín boli zistené u kyselín olejovej, arachidónovej, eikozapentaénovej, behenovej, dokozapentaénovej a dokozahexaénovej. Obsah jednotlivých skupín mastných kyselín poukázal na štatisticky významný rozdiel v surovine pochádzajúcej z Poľska, kde boli zistené štatisticky významné rozdiely aj na úrovni piatich analyzovaných mastných kyselín. Vzorky pochádzajúce z USA, Ruska a Číny boli z hľadiska obsahu jednotlivých mastných kyselín ako aj ich skupín porovnateľné s jedinou výnimkou u kyseliny dokozapentaénovej, ktorej obsah bol štatisticky odlišný medzi všetkými dodávateľmi.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-17-0508 a projektom VEGA 1/0239/21.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Angelovičová, M., Angelovič, M., Zeleňáková, L. Profil mastných kyselín jahňacieho mäsa v systéme pasienkového chovu. Český Těšín: Ing Václav Helán – 2 THETA. ISBN 978-80-88279-08-2, 2021, p. 107.
2. Araujo, M., Alves, R. C., Pimentel, F. B., Costa, A. S. G., et al., New approach for vitamin E extraction in rainbow trout flesh: Application in fish fed commercial and red seaweed-supplemented diets. In *European Journal of Lipid Science and Technology*. ISSN 14387697, 2015, vol. 117, p. 1398–1405.
3. Ariño, A., Beltrán, J. A., Herrera, A., Roncalés, P. Fish and seafood: Nutritional Value. In *Encyclopaedia of Human Nutrition* (Third Edition). ISBN 978-0-12-384885-7, 2013, p. 254-261.
4. ČSN EN ISO 12966-2 (588767) Živočišné a rostlinné tuky a oleje - Plynová chromatografie metylesterů mastných kyselin - Část 2: Příprava metylesterů mastných kyselin. ČUTN, 2017.
5. Delgado-Lista, J., Perez-Martinez, P., Lopez-Miranda, J., Perez-Jimenez, F. Long chain omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: A systematic review. In *British Journal of Nutrition*. ISSN 1475-2662, 2012, vol. 107, p. S201.
6. Golian, J., Jakabová, S., Benešová, L., Ondruš, L. 2021. Selected Attributes Of Fish Quality Intended For The Slovak Market. Český Těšín: Ing Václav Helán – 2 THETA. ISBN 978-80-88279-11-2, 2021, p. 115.
7. Gormaz, J. G., Fry, J. P., Erazo, M., Love, D. C. Public health perspectives on aquaculture. In *Current Environmental Health Reports*. ISSN 21965412, 2014, vol. 1, p. 227–238.
8. Hammad, S., Pu, S., Jones, J. P. Current evidence supporting the link between dietary fatty acids and cardiovascular disease. In *Lipids*. ISSN 1558-9307, 2016, vol. 51, p. 507–517.
9. Hornstra, G. Lipids in functional foods in relation to cardiovascular disease. In *European Journal of Lipid Science and Technology*. ISSN 1438-9312, 1999, vol. 101, p. 456–466.

10. Kris-Etherton, P. M., Harris, W. S., Appel, L. J. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. In *Circulation*. ISSN 1524-4539, 2002, vol. 106, p. 2747–2757.
11. Krstić, M. P., Mitrović, R. R., Marković, R. V., Ivanović, J. S., Ćirković, M. A., Djordjević, V. Ž., Baltić, M.Ž. Fatty acid composition in the fillets of rainbow trout grown in different conditions. In *European Journal of Lipid Science and Technology*. ISSN 14387697, 2017 vol. 119, no. 4, p. 1600082.
12. Liu, J. J., Green, P., Mann, J. J., Rapoport, S. I., Sublette, E. M. Pathways of polyunsaturated fatty acid utilization: Implications for brain function in neuropsychiatric health and disease. In *Brain Research*. ISSN 0006-8993, 2015, vol. 1597, p. 220–246.
13. Mohanty, B. P., Mahanty, A., Ganguly, S., Mitra, T., Karunakaran, D., Anandan, R. Nutritional composition of food fishes and their importance in providing food and nutritional security. In. *Food Chemistry*. ISSN 0308-8146, 2019, vol. 293, no. 1, p. 293-561.
14. PAST 4.03 for Windows. (2021). Softpedia. https://www.softpedia.com/get/Science-CAD/PAST.shtml
15. Pestka, J. J., Vines, L. L., Bates, M. A., He, K., Langohr, I. Comparative effects of n-3, n-6 and n-9 unsaturated fatty acid-rich diet consumption on lupus nephritis, autoantibody production and CD4þ T cell-related gene responses in the autoimmune NZBWF1 mouse. In *PLoS ONE*. ISSN 1932-6203, 2014, vol. 9, p. e100255.
16. Risérus, U., Willett, W. C., Hu, F. B. Dietary fats and prevention of type 2 diabetes. In *Progress in Lipid Research.* ISSN 0163-7827, 2009, vol. 48, p. 44–51.
17. Sprague, M., Dick, J. R., Tocher, D. R. 2016. Impact of sustainable feeds on omega-3 long-chain fatty acid levels in farmed Atlantic salmon, 2006–2015. In *Scientific Reports*, ISSN 2045-2322, 2016, vol. 6, no. 1, p. 1-9.
18. STN EN 14103 Fat and oil derivatives - Fatty Acid Methyl Esters (FAME) - Determination of ester and linolenic acid methyl ester contents, SUTN, 2020.
19. Strobel, C., Jahreis, G., Kuhnt, K. Survey of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids in fish and fish products. In *Lipids in Health and Disease*. ISSN 1476511X, 2012, vol. 11, p. 144–154.
20. Tocher, D. R.. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and aquaculture in perspective. In *Aquaculture*. ISSN 0044-8486, 2016, vol. 449, p. 94–107.

21. Undeland, I., Ellegard, L., Sandberg, A. S. Fish and cardiovascular health. In *Scandinavian Journal of Nutrition*. ISSN 1748-2984, 2004, vol. 48, p. 119–130.
22. Vranić, D., Baltić, Z. M., Trbović, D., Dinović-Stojanović, J., et al. Fingerlings and marketable size rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Proximate composition, cholesterol content and fatty acid profile in fillets. In *Tehnologija Mesa*. ISSN 0494-9846, 2012, vol. 53, p. 26–35.
23. Vollmanová, Alena et al. *Chémia potravín.* Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre. ISBN 9788055218144, 2018, p. 543.

Kontaktná adresa: Jozef Golian, Institute of Food Sciences, Slovak university of agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic; E-mail: jozef.golian@uniag.sk

PILOTNÁ ŠTÚDIA HODNOTENIA NOVÝCH PRÍDAVNÝCH LÁTOK DO PODSTIELKY V CHOVE HYDINY NA ZNÍŽENIE EMISIÍ SKLENÍKOVÝCH PLYNOV

PILOT STUDY OF EVALUATION OF NEW AVIAN COATING ADDITIVES TO REDUCE GREENHOUSE GAS EMISSIONS

Gregová Gabriela, Dančová Nikola, *Marcinčák Slavomír, Szabóová Tatiana

Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat

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

ABSTRACT

Intensive poultry farming produces harmful gases, such as ammonia and carbon dioxide, to a lesser extent nitrous oxide and methane, which adversely affect the environment.

The aim of this pilot study was to investigate the effect of the addition of humic substances to litter in broiler chickens on the reduction of carbon dioxide and ammonia emissions.

No significant differences in ammonia emissions were found throughout the rearing period (5 ppm in the humic acid litter and 5.6 ppm in the control holding). The hydrogen sulfide concentration in the medium was 0 ppm. The detected carbon dioxide emissions were slightly higher in the breeding environment without the addition of humic substances to the litter (2500 ppm). In farms with the addition of humic substances, the CO_2 concentration was 2200 ppm.

The addition of humic substances, which are good absorbent material in animal litter, can play an important role in reducing the moisture content of the litter and thus in reducing the incidence of infectious diseases, subdermatitis and, overall, in maintaining good health and poultry welfare.

Key words: broiler, amonia, carbon dioxide, emission

ÚVOD

Intenzívny chov brojlerových kurčiat sprevádza vznik škodlivých plynov, predovšetkým amoniaku a oxidu uhličitého, v menšej miere oxidu dusného a metánu, ktoré negatívne ovplyvňujú životné prostredie (Jie a kol. 2022).

Predpokladá sa, že emisie amoniaku z podstielky hydiny tvoria asi 27 % celkových atmosférických emisií NH_3 v USA z chovu zvierat (USEPA, 2004). Amoniak vzniká

mikrobiálnou a enzymatickou degradáciou moču a výkalov v podstielke, ktoré obsahujú nemetabolizovaný dusík (Han a kol., 2021). Oxid uhličitý je produktom metabolických pochodov organizmu, pričom určitá časť vzniká aj pri rozklade kyseliny močovej v podstielke (Cândido a kol., 2018).

K hlavným faktorom ovplyvňujúcim koncentrácie týchto plynov patrí typ, pH a manipulácia s podstielkou, množstvo a aktivita brojlerov, podmienky prostredia – pohyb vzduchu, teplota, relatívna vlhkosť (Price, 2019).

Expozícia zvýšeným koncentráciám amoniaku a oxidu uhličitého je pre zvieratá škodlivá. Dochádza k podraženiu očí a respiračného systému, k zníženiu hmotnostných prírastkov a výkonnosti, k negatívnemu ovplyvneniu jatočných vlastností, ako aj k zhoršeniu celkových životných podmienok zvierat, čím sa zvyšuje miera morbidity až mortality. Vysoké emisie týchto plynov nepriaznivo ovplyvňujú aj verejné zdravie a životné prostredie (Oliveira a kol., 2021; Jie a kol., 2022).

Podľa Nariadenia vlády SR č. 275/2010 Z.z., ktorým sa ustanovujú minimálne pravidlá ochrany kurčiat chovaných na produkciu mäsa, koncentrácia amoniaku v ustajňovacom priestore nesmie prekročiť úroveň 20 ppm a koncentrácia oxidu uhličitého 3 000 ppm.

Redukovať obsah škodlivých plynov, ako aj toxínov či ďalších nebezpečných zlúčenín z prostredia ustajňovacieho objektu je možné prostredníctvom aplikácie humínových látok do podstielky, ktoré sa vyznačujú výraznou adsorpčnou kapacitou (Ondruška a kol., 2012).

Humínové látky sú prírodné heterogénne organické látky žltého až hnedočierneho sfarbenia, ktoré vznikli prirodzeným rozkladom živočíšneho a rastlinného materiálu (Bezuglova a Klimenko, 2022). Okrem adsorpčnej aktivity preukazujú aj antimikrobiálne, detoxikačné, imunitu stimulujúce, zdravie a produkciu podporujúce vlastnosti, čím sú bežne aplikované v hydinárskom priemysle (Aristimunha a kol., 2019).

Cieľom tejto pilotnej štúdie bolo skúmanie vplyvu prídavku humínových látok do podstielky v pokusnom chove brojlerových kurčiat na zníženie emisií CO_2 a NH_3.

MATERIÁL A METODIKA

Na túto štúdiu sa použili dva samostatné kŕdle, po 160 ks jednodňových brojlerových kurčiat plemena ROSS 308, ktoré boli umiestnené v samostatných miestnostiach rozdelených do štyroch kotercov. Kurčatá boli odchovávané počas 42 dní na podstielke z hoblín v prostredí s kontrolovaným riadením mikroklímy (prirodzený svetelný režim, teplota a podtlaková ventilácia). Teplota miestnosti bola regulovaná od 32°C na začiatku po 22°C na konci odchovu kurčiat. Do jednej z miestností (experimentálna skupina kurčiat) bol do podstielky pridaný

prípravok (v troch dávkach) na báze humínových kyselín (HumacMycosorb s koncentráciu 0,7%) s konečnou dávkou 900 g/m^2. V druhej miestnosti (kontrolná skupina kurčiat) bola použitá len podstielka bez prídavku humínových kyselín.

Kurčatá boli kŕmené ad libitum klasickými kŕmnymi zmesami (BR1, BR2, BR3) v prepočítanej dávke od 295-1588 g krmiva na deň.

Počas celej doby chovu bola meraná teplota, vlhkosť vzduchu a emisie plynov CO_2 a amoniaku a sírovodíku. Emisie plynov boli merané z podstielky s použitím plastovej komory na ktorú bol pripojený merací prístroj s infračervený analyzátor plynov uniTOX.CO2 G/IR/S, s elektrochemickým analyzátorom plynov uniTOX NH3 a Multirae.

Z podstielky sa na začiatku a na konci analyzovala vlhkosť, pH, koncentrácia celkového a amoniakálneho dusíka.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Manipulácia s podstielkou, skladovanie a spracovanie hydinového trusu v chovoch hydiny významne prispieva k produkcii emisií skleníkových plynov. Počas výkrmu vyprodukuje jedno kurča približne 1,05 kg podstielky a hnoja (Moore, a kol., 2011).

V oboch sledovaných experimentálnych chovných zariadeniach brojlerových kurčiat boli emitované koncentrácie CO_2 v rozpätí od 1000 ppm (1. týždeň výkrmu) do 2850 ppm (v 6. týždni výkrmu). Zistené emisie oxidu uhličitého boli o niečo vyššie v prostredí chovu kontrolnej skupiny kurčiat, bez prídavku humínových látok do podstielky (do 2850 ppm). V chove s prídavkom humínových látok bola najvyššia koncentrácia CO_2 v posledných troch týždňoch výkrmu 2300-2500 ppm.

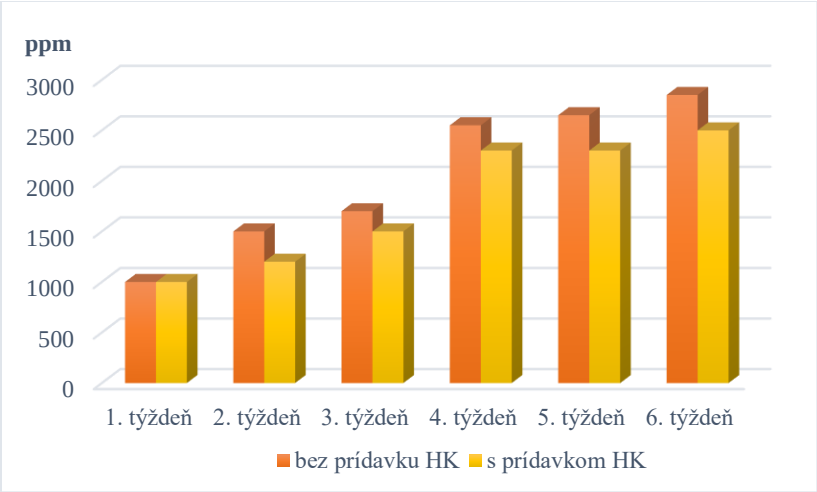
Emisie oxidu uhličitého z hydinového trusu vznikajú pri aeróbnom rozklade kyseliny močovej, ako aj iných organických zlúčenín (Carlile, 1994). Calvet a kol. (2011) uvádzajú, že podstielka predstavuje 20 % z celkovej produkcie CO_2 vyprodukovanej v chove brojlerových kurčiat.

Štúdia Milesa a kol. (2006) tiež uviedli zvýšené hladiny CO_2 v halách pre brojlery v priebehu času s rastom a dýchaním vtákov.

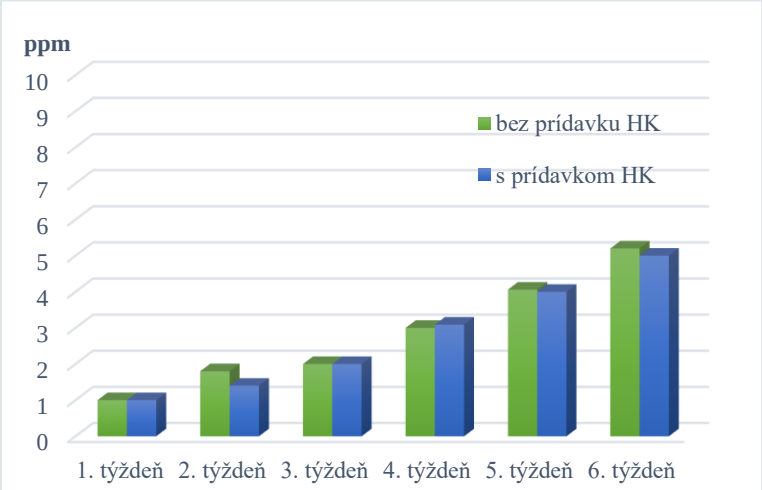
Počas celej doby výkrmu neboli zistené významné rozdiely v priemerných emisiách amoniaku z podstielky. Koncentrácia amoniaku mala stúpajúcu tendenciu v oboch chovoch. Hodnoty NH_3 boli zaznamenané maximálnej koncentrácii 5 ppm pri podstielke s prídavkom humínových kyselín a 5,2 ppm v kontrolnom chove. Koncentrácia sírovodíku v prostredí bola 0 ppm.

Vučemilo a kol. (2007) zistili signifikantný vzťah zvyšovania koncentrácie amoniaku vo vzduchu so zvyšovaním veku zvierat a vlhkosti vzduchu.

Graf č. 1, Porovnanie koncentrácií CO_2 s a bez použitia prípravku na báze humínových kyselín v podstielke v chove brojlerových kurčiat



Graf č. 2, Porovnanie koncentrácií amoniaku s a bez použitia prípravku na báze humínových kyselín v podstielke v chove brojlerových kurčiat



Podľa Agentúry pre ochranu životného prostredia USA (USEPA, 2020) sa sektor poľnohospodárstva podieľa na produkcii 9,3 % celkových emisiách skleníkových plynov. Predpokladá sa, že emisie NH3 z hydinového odpadu tvoria 27 % celkových atmosférických emisií NH_3 v USA z chovu zvierat (USEPA, 2004).

Emisie oxidu dusného a metánu sa z hydinového hnoja uvoľňujú hlavne po skončení chovu v procese nitrifikácie a denitrifikácie, počas jeho skladovania a poľnej aplikácie (Sommer, 1999). Skladovanie hydinového trusu v aeróbnych podmienkach vedie k

odparovaniu N2O, zatiaľ čo hydinový trus skladovaný v prevažne anaeróbnych podmienkach vedie k produkcii metánu (Malomo, 2018).

Z chemických ukazovateľov je zaujímavý obsah vlhkosti v podstielke, ktorý sa po 6. týždňoch výkrmu kurčiat zvýšil na 30% v kontrolnej a na 22% v experimentálnej podstielke. Prídavok humínových látok do podstielky v chove hydiny môže mať významnú úlohu pri znižovaní obsahu vlhkosti podstielky, a tým znižovania výskytu infekčných ochorení (pododermatitíd) a celkovo pri udržiavaní dobrého zdravotného stavu a welfare hydiny.

Tabuľka č. 1, Výsledky fyzikálno-chemických parametrov z podstielky na začiatku a konci chovu hydiny

Ukazovateľ	pH	Vlhkosť	Celk-N (g/kg)	NH_3-N (g/kg)
Bez prídavku HK do podstielky				
1. týždeň	5,73	10%	9,705	3,08
6.týždeň	6,34	30%	17, 48	8,22
S prídavkom HK do podstielky				
1. týždeň	5,73	10%	9,65	3,34
6.týždeň	6,85	25%	10,62	560

ZÁVER

Cieľom tejto štúdie bolo zhodnotiť vplyv prídavku humínových látok do podstielky hydiny za účelom zníženia plynov CO_2 a amoniaku. Koncentrácia emisií plynov sa úmerne zvyšovala v závislosti od veku hydiny. V pokuse v experimentálnych podmienkach sa celkovo nepreukázali významné rozdiely v emisiách skleníkových plynov a nepotvrdilo sa významné zníženie skleníkových plynov pri prídavku humínových kyselín. Keďže ide len o pilotnú štúdiu je potrebné to ešte overiť a skúsiť podanie inej koncentrácie prídavných látok.

POĎAKOVANIE

Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny, Drive4SIFood 313011V336, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ARISTIMUNHA, P. a kol. Effect of dietary organic acids and humic substance supplementation on performance, immune response and gut morphology of broiler chickens. In *The Journal of Applied Poultry Research.* ISSN 1056-6171, 2019, vol. 29, no. 1, p. 85-94.
2. BEZUGLOVA, O. – KLIMENKO, A. Application of humic substances in agricultural industry. In *Agronomy*. ISSN 2073-4395, 2022, vol. 12, no. 3, p. 584.
3. CALVET, S. – CAMBRA-LÓPEZ, M. – ESTELLÉS, F. – TORRES, A.G. Characterization of gas emissions from a Mediterranean broiler farm. Poult. Sci. 2011, 90, 534–542.
4. CÂNDIDO, M.G.L. a kol. Effects of carbon dioxide on turkey poult performance and behavior. In *Poultry Science*. ISSN 0032-5791, 2018, vol. 97, no. 8, p. 2768-2774.
5. CARLILE, F.S. Ammonia in poultry houses: A literature review. Worlds Poult. Sci. J. 1984, 40, 99–113.
6. HAN, H. a kol. Effects of ammonia on gut microbiota and growth performance of broiler chickens. In *Animals*. ISSN 2076-2615, 2021, vol. 11, no. 6, p. 1716.
7. JIE, D. a kol. Impact of waste tea litter on NH_3 and CO_2 emissions during broiler rearing. In *Applied Sciences*. ISSN 2076-3417, 2022, vol. 12, no. 5, p. 2559.
8. MALOMO, G.A. – BOLU, S.A. – MADUGU, A.S. – USMAN, Z.S. Nitrogen Emissions and Mitigation Strategies in Chicken Production. In Animal Husbandry and Nutrition; Yücel, B., Ta¸skin, T., Eds.; Intech Open: London, UK, 2018; pp. 43–62.
9. MILES, D.M. – OWENS, P.R. – ROWE, D.E. Spatial variability of litter gaseous flux within a commercial broiler house: Ammonia, nitrous oxide, carbon dioxide, and methane. Poult. Sci. 2006, 85, 167–172.
10. NARIADENIE VLÁDY SLOVENSKEJ REPUBLIKY č. 275/2010 Z.z., ktorým sa ustanovujú minimálne pravidlá ochrany kurčiat chovaných na produkciu mäsa.
11. OLIVEIRA, M. D. a kol. Ammonia emission in poultry facilities: A review for tropical climate areas. In *Atmosphere*. ISSN 2073-4433, 2021, vol. 12, no. 9, p. 1091.
12. ONDRUŠKA, Ľ. a kol. Effect of humic substances and probiotics on growth performance and meat quality of rabbits. In *Potravinárstvo*. ISSN 1337-0960, 2012, vol. 6, no. 2, p. 39-41.
13. PRICE, K. Be Air-Aware: The impact of ammonia. In *Canadian Poultry* [online]. 2019. Dostupné na internete: <https://www.canadianpoultrymag.com/be-air-aware-the-impact-of-ammonia-31089/>

14. SOMMER, S.G. – DAHL, P. Nutrient and carbon balance during the composting of deep litter. J. Argic. Eng. Res. 1999, 74, 145–153.
15. USEPA. Inventory of U.S. Greenhouse Gas Emissions and Sinks: 1990–2018; USEPA: Washington, DC, USA, 2020
16. USEPA. National Emission Inventory: Ammonia Emissions from Animal Husbandry; Revised Draft Report; USEPA: Washington, DC, USA, 2004.
17. VUČEMILO, M. – MATKOVIĆ, K. – VINKOVIĆ, B. – JAKSIĆ, S. – GRANIĆ, K. – MAS, N. The effect of animal age on air pollutant concentration in a broiler house. In: Czech Journal of Animal Science, 2007, 52, p. 170-174.

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

AEROMONAS SALMONICIDA A *YERSINIA RUCKERI*: PÔVODCOVIA BAKTERIÁLNYCH OCHORENÍ RÝB

AEROMONAS SALMONICIDA A *YERSINIA RUCKERI*: PATHOGENS OF FISH DISEASES

Hajdučková Vanda, Koščová Jana

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

ABSTRACT

Fish meat is one of the most valuable foods for its nutritional value and dietary effects. Due to the demand for a healthier lifestyle, the consumption of fish and fish products is also rising. Aquaculture (fish farming) is the fastest growing food production sector. Increased demand for fish is often reflected in deteriorating fish farming conditions, resulting in the outbreak and spread of diseases. *Aeromonas salmonicida* and *Yersinia ruckeri* are the cause of major bacterial diseases in fish and their occurrence leads to significant economic losses in farming. *A. salmonicida* is the cause of salmonid furunculosis, which is manifested by bleeding on the fins, skin lesions, abscesses in the muscles, often ending in the death of fish. In acute form, fish die within a few days without significant specific symptoms. *Y. ruckeri* causes severe septicemia in intensive salmonid farms.This disease is known as Enteric Red Mounth (ERM). Typical symptoms of the disease are bleeding on the mucous membrane of the climate and on the gills, impaired nutritional status, darkening of the skin and redness around the fins.

Key words: fish, aquaculture, bacterial diseases, furunculosis, ERM

ÚVOD

Potraviny musia spĺňať dve základné požiadavky – bezpečnosť a kvalitu. Všetky bezpečné potraviny sa nedajú považovať za kvalitné a dlhodobejšia konzumácia nekvalitných potravín môže byť riziková. Bezpečnosť potravín je podľa definície vedecká disciplína popisujúca výrobu a skladovanie potravín, tak ako i zaobchádzanie s nimi spôsobom, ktorý zabraňuje vzniku ochorení z potravy. Zahŕňa postupy, ktoré by mali byť dodržiavané s cieľom vyhnúť sa potencionálne nebezpečným ohrozeniam zdravia. Potraviny môžu byť kontaminované baktériami alebo ich toxínmi a po konzumácii môžu predstavovať zdravotné riziko (Cortés-Sánchez et al., 2011). V posledných rokoch sa rybie mäso považuje za alternatívu ku konzumáciu hovädzieho, bravčového a hydinového mäsa z dôvodu dopytu po zdravšom

životnom štýle. Ryby a výrobky z rýb patria k najvýznamnejším potravinám živočíšneho pôvodu. Rybie mäso pre svoju výživovú hodnotu a dietetické účinky patrí medzi najhodnotnejšie potraviny. Ryby predstavujú hlavný zdroj bielkovín, mastných kyselín, vitamínov, minerálov a základných mikroprvkov. Akvakultúra (rybné hospodárstvo) je najrýchlejšie rastúcim odvetvím výroby potravín. Ohniská chorôb sú hlavnou prekážkou rozšírenia akvakultúry a majú významný vplyv na hospodársky rozvoj mnohých krajín (Wrobel et al., 2019). Zvýšený dopyt po rybách sa odráža v zhoršených podmienkach chovu rýb. Vysoká koncentrácia rýb v rybníkoch im spôsobuje stres, zvýšené nároky na organizmus, dochádza k zníženiu imunitnej odpovede, ľahšie dochádza k vypuknutiu a šíreniu chorôb a následne k vysokým ekonomickým stratám. *Aeromonas salmonicida* a *Yersinia ruckeri* sú významnými pôvodcami ochorení rýb vedúce k významným ekonomickým dopadom.

Aeromonas salmonicida subsp. *salmonicida*

Patrí do čeľade Aeromonadaceae, je Gram-negatívna baktéria, nepohyblivá, v preparátoch ofarbených podľa Grama tvorí v pároch, retiazkach alebo zhlukoch usporiadané koky, je fakultatívne-anaeróbna. Rastie pri teplote 22-25 °C. Je kataláza a oxidáza pozitívna, produkuje širokú škálu extracelulárnych hydrolytických enzýmov, fermentuje glukózu bez tvorby plynu, je indol negatívna, na krvnom agare rastie v podobe malých kolónií, beta-hemolýza sa tvorí až po 48 hodinovej kultivácii. Typickou vlastnosťou je produkcia hnedého pigmentu (Pilipčinec et al., 2018).

K hlavným faktorom virulencie patrí sekrečný systém typu III (T3SS), ktorý je závislý na priamom kontakte s hostiteľskou bunkou. Zabezpečuje priame vpravovanie efektorových proteínov bakteriálnej bunky do cytosolu cieľovej hostiteľskej bunky (Ledouble et al, 2016). Skladá sa z 30 rôznych proteínov, ktoré sa podieľajú na stavbe základného tela T3SS ukotveného vo vonkajšej membráne bakteriálnej bunky, vonkajšej molekulovej ihly a translokátora, zloženého z dvoch hydrofóbnych a jednej hydrofilnej domény. Súčasťou sekrečného systému sú efektorové molekuly a toxíny. Okrem translokácie bakteriálnych proteínov má T3SS schopnosť vyvolať u hostiteľskej bunky apoptózu. Predpokladá sa, že T3SS sa zúčastňuje taktiež na prvej fáze tvorby biofilmu, kde zaisťuje prichytenie baktérií k povrchu hostiteľských buniek. Ďalším faktorom virulencie patria fimbrie typu I a IV, ktoré sa podieľajú na adherencii baktérií k hostiteľským bunkám a fimbrie typu IV aj na invázii do tkanív. Sideroféry ako amonobaktín a enterobaktín slúžia na príjem železa z prostredia. Vap proteín je hlavný proteín S vrstvy na povrchu bakteriálnej bunky, ktorá zvyšuje rezistenciu k bakteriofágom, komplementu a proteázam, zvyšuje adhéziu baktérií k makrofágom, prienik do nich a následné prežívanie v ich vnútornom prostredí. Glycerolfosfolipid cholesterol

acetyltransferáza je enzým zo skupiny lipáz s hemolytickou aktivitou. ADP ribozyltransferáza toxín má cytotoxickú aktivitu (Pilipčinec a kol, 2018).

Je pôvodcom furunkulózy lososovitých rýb a výskyt v chovoch má za následok značné problémy a ekonomické straty. Ochorenie spôsobuje sepsu, krvácanie, svalové lézie, zápal čreva, zväčšenie sleziny a často končí smrťou rýb. Je to celosvetovo rozšírené ochorenie s výnimkou Južnej Ameriky. Nízka kvalita vody a jej organické znečistenie, vysoká teplota vody a jej nedostatočné okysličenie, výživa, hustota obsádky ako aj nešetrná manipulácia a jedinci s oslabenou imunitou, stres sú hlavné faktory podieľajúce sa na rozvoji a šírení ochorenia. Akútna forma má rýchly priebeh, po 3-4 dňovej inkubačnej dobe dochádza úhynu infikovaných rýb bez vývinu výraznejších špecifických príznakov. Pre chronickú formu krvácaniny na plutvách, tvorba abscesov vo svaloch, kožné vredy – furunkuly, zápal čreva, zväčšenie sleziny a často končí smrťou rýb. K prenosu ochorenia dochádza vodou, ikrami, infikovanými rybami bez príznakov, ektoparazitmi, vtákmi, náradím a personálom (Dallaire-Dufresne et al., 2014).

Yersinia ruckeri

Yersinia ruckeri patrí do čeľade Yersiniaceae, je Gram negatívna tyčinka, fakultatívne anaeróbna. Na krvnom agare netvorí hemolýzu. Je oxidáza negatívna a kataláza pozitívna. Produkuje enzým želatinázu a rastie pri teplote 0 – 45 ^{o} C. Bolo identifikovaných niekoľko mechanizmov virulencie, ktoré sa líšia v závislosti od geografického pôvodu izolátu (Pilipčinec a kol, 2018). K hlavným faktorom virulencie patria extracelulárne produkty, k virulencii týchto produktov prispievajú viaceré molekuly, napríklad železom regulovaný hemolyzín YhIA, ktorý má cytolytickú a hemolytickú aktivitu, azokazeínová proteáza, metaloproteáza Yrp1 účinná pri degradácii fibronektínu, aktínu a myozínu. YrpAB proteáza je indukovaná v čreve pstruha dúhového. Ukázalo sa, že gény zapojené do systému získavania železa katecholátovým siderofórom ruckerbaktínom sú nadmerne exprimované baktériou počas infekčného procesu rýb. Alkylsulfatázový enzým YraS produkuje faktor citlivý na teplo HSF (Kumar et al, 2015). K ďalší faktorom virulencie patrí sekréčný systém typuI, II, III, IV, V a VI. Významným faktorom virulencie je schopnosť tvorby biofilmu, čo zohráva kľúčovú úlohu pri opakujúcich sa infekciách v akvakultúre pstruha dúhového, v podobe biofilmu baktérie pretrvávajú v cirkulujúcich vodných systémoch (Wrobel et al, 2019).

Vyvoláva závažné septikémie – Enteric Red Mouth (ERM) v intenzívnych chovoch lososovitých rýb. Kmene sa na základe motility a produkcie lipázy rozdeľujú do dvoch biotypov. Kmene biotypu 1 sú pohyblivé a lipáza pozitívne, kmene biotypu 2 sú nepohyblivé

a lipáza negatívne. Na základe O antigénu sú kmene *Y.ruckeri* rozdelené do štyroch sérologických skupín s rôznymi podskupinami a sérovarmi. Séroty O1 je rozdelený do podskupín O1a a O1b. Sérotyp O2 je rozdelený do podskupiny O2a, O2b a O2c. Sérotyp O3 a sérotyp O4 nie je rozdelený do podskupín (Pilipčinec et al, 2018).

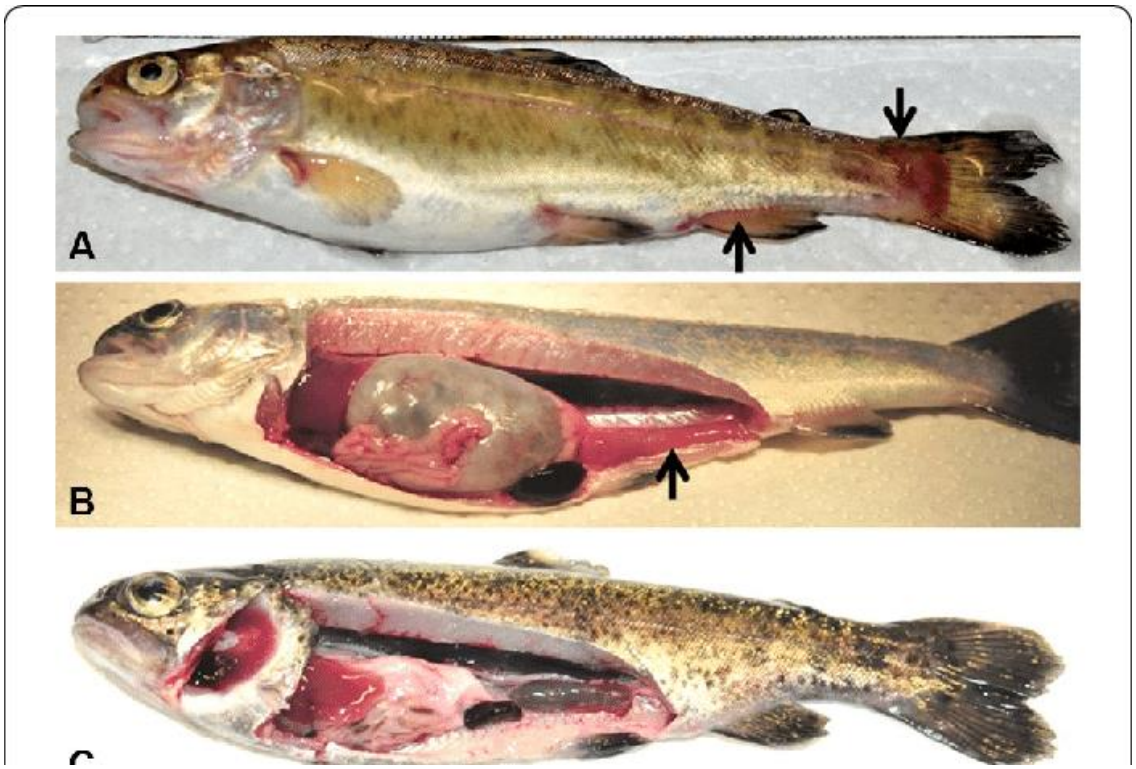
K infekcii sú najvnímavejšie ryby do jedného roka. Choroba môže prebiehať buď v akútnej (septikemickej) alebo v chronickej forme. U postihnutých rýb je pozorovaný obojstranný exoftalmus, zhoršený výživný stav, apatia, anorexia, krvácaniny na sliznici podnebia a na žiabrach, stmavnutie kože a začervenanie v okolí plutiev. Akútna septikemická forma môže prebiehať aj asymptomaticky, keď dochádza k hromadnému úhynu rýb bez zjavných klinických príznakov (Pilipčinec et al., 2018).

Obrázok č. 1, Furunkulóza lososovitých rýb



https://www.chytej.cz/clanky/1421/nemoci-ryb-6-nemoci-zpusobene-bakteriemi/

Obrázok č. 2, Yersinióza lososovitých rýb



https://www.researchgate.net/figure/Rainbow-trout-showing-clinical-signs-of-enteric-redmouth-disease-A-Hemorrhages-in-the_fig1_334520150

ZÁVER

Aeromonas salmonicida a *Yersinia ruckeri* sú celosvetovo rozšírené patogény rýb ovplyvňujúce akvakultúru. Hlbšie pochopenie mechanizmov virulencie je základom pre vývoj nových antimikrobiálnych stratégií proti dôležitým rybím patogénom, ktoré dopĺňajú existujúce vakcíny a vyhýbajú sa nadmernému používaniu antibiotík.

POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla za podpory Vedeckej grantovej agentúry VEGA 1/0731/21.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Cortés-Sánchez et al. Plesiomonas: A Review on Food Safety, Fish-Borne Diseases, and Tilapia The Scientific World Journal 2021, 10, doi 10.1155.

2. Dallaire-Dufresne et al. Virulence, genomic features, and plasticity of Aeromonas salmonicida subsp. salmonicida, the causative agent of fish furunculosis. Veterrinary microbiology 2014, 1-7, doi 10.1016.
3. Kumar et al. Yersinia ruckeri, the causative agent of enteric redmouth disease in fish. Veterinary Research (2015) 46:103
4. Ledouble et al. Aeromonas salmonicida: updates on an old acquaintance. Diseases of aquatic organisms 2016, 49-68, doi: 10.3354.
5. Pilipčinec et al. Špeciálna bakteriológia. Gram-negatívne bakterie. ISBN 978-80-8077-571-1, 2018.
6. Wrobel at al. Overcoming Fish Defences: The virulence factors of *Yersinia ruckeri*. Genes 2019 10, doi 10.3390.

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

EKOLÓGIA MLIEKA A ANTIBIOTICKÁ REZISTENCIA

MILK ECOLOGY AND ANTIBIOTIC RESISTANCE

Hanzelová Zuzana, Dudriková Eva, Maľová Jana, Kováčová Mariana, Výrostková Jana

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

ABSTRACT

Antibiotic resistance is a global health challenge that involves the transfer of bacteria and genes between humans, animals and the environment. Raw milk as a raw material for the production of dairy products may in certain circumstances become an animal by-product, if it cannot be used for human consumption due to, that it unmet hygiene requirements and cannot be used for further processing. Biofilm formation is a risk in food processing plants and thus in dairies. Microbial biofilms are a major source of most pathogenic and food spoilage bacteria. Wastewater is the most important reservoir of antibiotic-resistant bacteria as well as the resistance genes themselves. Indeed, the spread of faecal material around the globe (for example, via sewage effluents, animal waste, and bird transporting bacteria from urban sites) has contributed to antibiotic resistance gene contamination of almost the entire planet, including freshwater system, estuaries, farmlands soils, arctic areas, and air, as a few example.

Key words: milk, ecology, antibiotic resistance, wastewater

ÚVOD

Mlieko a mliečne výrobky sú súčasťou každodenného jedálnička väčšiny populácie a predstavujú tiež významný zdroj esenciálnych látok. Napriek ich dlhej histórií konzumácie, súčasná vedecká obec prichádza stále s novými informáciami, ktoré sa týkajú mlieka. Mnohé z nich prinášajú výstupy, ktoré sú pozitívne pre ľudské zdravie, no menej potešujúce sú tie, ktoré nachádzajú súvislosti medzi mliekom a mliečnymi výrobkami v riziku prenosu antibiotickej rezistencie prostredníctvom génov rezistencie, ktorých nositeľmi sú mikroorganizmy bežne sa vyskytujúce v spomínaných komoditách. Pri šírení antibiotickej rezistencie je potrebné brať do úvahy taktiež životné prostredie, ako prirodzenú súčasť celého procesu, a preto je spojenie ekológie pri spracovávaní mlieka a antibiotickej rezistencie opodstatnené.

POŽIADAVKY NA SUROVÉ MLIEKO

Surové mlieko ako vstupná surovina na výrobu mliečnych výrobkov sa za určitých okolností môže stať vedľajším živočíšnym produktom, v prípade, že nie je možné ho použiť na ľudskú spotrebu z dôvodu, že nespĺňa hygienické požiadavky a nemôže byť použité na ďalšie spracovanie. Hygienické požiadavky na potraviny živočíšneho pôvodu, a teda aj surové mlieko upravuje Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 z 29. apríla 2004. Spomínané nariadenie stanovuje kritéria na surové mlieko a mledzivo, tak aby surové mlieko spĺňalo kritériá, ktoré sú okrem iných aj sledovanie celkového počtu mikroorganizmov v surovom kravskom mlieku a mlieku nebovinných druhov. Taktiež sú v tomto nariadení stanovené požiadavky týkajúce sa rezíduí inhibičných látok v surovom mlieku, ktoré musia byť nepreukázané. Ak surové mlieko nespĺňa podmienky podľa bodov 3 a 4 tohto nariadenia časti III. Kritérií na surové mlieko a mledzivo, musí to prevádzkovateľ potravinárskeho podniku oznámiť príslušnému orgánu a prijať opatrenia na nápravu tohto stavu. Surové mlieko v prípade zistenia prítomnosti rezíduí inhibičných látok sa podľa Nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009, ktorým sa stanovujú zdravotné predpisy týkajúce sa živočíšnych vedľajších produktov a odvodených produktov neurčených na ľudskú spotrebu radí medzi materiál kategórie 1, ktorý je zadefinovaný ako vedľajšie živočíšne produkty s obsahom rezíduí povolených látok alebo kontaminantov prekračujúcich povolené limity v zmysle článku 15 ods. 3 smernice 96/23/ES. V prípade potvrdenia „pozitívneho“ výsledku na výskyt rezíduí antibiotík mliekarenský podnik mlieko neprijme a pošle ho na zneškodnenie. Samotná likvidácia musí byť v súlade s Nariadením ES č. 1069/2009. Odstraňovanie materiálu prebehne tak, že sa surové mlieko pridá do pôdy bez spracovania, ďalej sa môže zneškodniť kompostovaním alebo transformáciou na bioplyn. Takáto likvidácia je možná len v tom prípade, ak príslušný orgán nepredpokladá, že by predstavovalo riziko akejkoľvek choroby prenosnej prostredníctvom tohto produktu na ľudí alebo zvieratá.

ODPADOVÉ VODY AKO RIZIKOVÝ FAKTOR REZISTENCIE

Do skupiny odpadových vôd sa radí aj odpadová vody z mliekarní (Sasáková a Gregová 2018). Odpadové vody predstavujú najvýznamnejšie rezervoáre baktérií rezistentných voči antibiotikám, ako aj samotných génov rezistencie (Bírošová et al. 2014).

Rizikom v prevádzkach, ktoré spracúvajú potraviny, a teda aj mliekarňach, je tvorba biofilmu. Táto vrstva vytváraná predovšetkým v potravinárskych prevádzkach, je zložená z bielkovín, tukov a iných ingrediencií, ktoré sa vo výrobe používajú. Baktérie tvoriace biofilm adherujú na rôzne povrchy a uprednostňujú drsné nepolárne (hydrofóbne) povrchy.

Mikrobiálne biofilmy sú veľkým zdrojom väčšiny patogénnych a potraviny kaziacich baktérií (Sasákova a Gregová 2018). Z technickej stránky, inštalovanie základného ošetrenia odpadových vôd, či priemyselných, komunálnych alebo živočíšnych zdrojov by malo mať vysokú prioritu, pretože je adresné ku mnohým typom rizika, v neposlednom rade k riziku prenosu určitých patogénov (zahŕňajúcich rezistentné baktérie) a zhoršeniu cenných vodných zdrojov (Graham et al. 2018). Dodatočné čistenie odpadových vôd pokročilejšími metódami ako sú ozonácia a aktívne uhlie, je sekundárny spôsob, ktorý by mohol odstrániť nie iba selektívne látky, ale aj veľké množstvá ďalších kontaminantov (Margot et al. 2013).

ANTIBIOTICKÁ REZISTENCIA V ŽIVOTNOM PROSTREDÍ

Antibiotická rezistencia predstavuje globálnu zdravotnú výzvu, ktorá zahŕňa prenos baktérií a génov medzi ľuďmi, zvieratami a životným prostredím. Kvantifikácia ciest a identifikácia vplyvu na enviromentálny rozvoj a prenos antibiotickej rezistencie je kľúčovým komponentom pre pochopenie a zvládnutie krízy rezistencie ako celku (Larsson a Flach 2021).

Antibiotiká sa dostanú do životného prostredia prostredníctvom exkrementov (moč a fekálie) ľudí a domácich zvierat (Tran et al. 2018, Szymańska et al. 2019, Wang et al. 2020), nesprávnou likvidáciou alebo manipuláciou s nepoužitými liekmi (Anwar et al. 2020), priamo kontamináciou životného prostredia v akvakultúre (Cabello et al. 2013, Cabello et al. 2016) alebo rastlinnou výrobou (Taylor a Reeder 2020), taktiež prostredníctvom odpadových vôd pri výrobe antibiotík (Bielen et al. 2007, Larsson et al. 2007, Fick et al. 2009, Larsson 2014). Hoci koncentrácia antibiotík a množstvo génov antibiotickej rezistencie často koreluje so vzorkami zo životného prostredia, v mnohých prípadoch je možné vysvetliť túto situáciu rôznou úrovňou znečistenia prostredia ľudskými exkrementami, ktoré sú zdrojom skôr na strane selekcie rezistentných baktérií v prostredí rezíduí antibiotík (Bengtsson-Palme a Larsson 2016). Napriek tomu, že koncentrácie antibiotík poukazujú na selekciu rezistencie, sú zvýšené na mnohých miestach, ako sú čističky odpadových vôd (Bengtsson-Palme a Larsson 2016, Chow et al. 2021). To naznačuje, ale nie je to dokázané, že antibiotické znečistenie zohráva úlohu pri rozvoji rezistencie. Metabolity antibiotík môžu byť biologicky aktívne, výsledkom čoho je ich transformácia späť na pôvodnú zlúčeninu po vylúčení z organizmu. Z toho vyplýva, že vysoké percento podávaných antibiotík sa môže dostať do životného prostredia v aktívnej forme (Sarmah et al. 2006).

PRENOS GÉNOV ANTIBIOTICKEJ REZISTENCIE V ŽIVOTNOM PROSTREDÍ

Šírenie materiálu fekálneho pôvodu po celom svete (napríklad prostredníctvom odpadových vôd, odpadom živočíšneho pôvodu, vtákmi prenesených baktérií z miest) skutočne prispelo ku kontaminácii génmi antibiotickej rezistencie takmer celej planéty, zahŕňajúcej sladkovodný systém (Pruden et al. 2016, Bengtsson-Palme a Larsson 2016, Karkman et al. 2019), ústia riek (Zhu et al. 2017), poľnohospodársku pôdu (Knapp et al. 2010, Zhu et al. 2013, Nesme a Simonet 2015), arktické plochy (Sjölund et al. 2008, Finley et al. 2013) a ovzdušie (Pal et al. 2016, Zhu et al. 2020).

Enviromentálna kontaminácia fekálnymi baktériami je sprostredkovaná fyzickým kontaktom, a tým narastá príležitosť pre zmenu génov rezistentnými enviromentálnymi baktériami a baktériami adaptovanými v intestinálnom trakte ľudí a domácich zvierat. Veľa intestinálnych baktérií je tiež nositeľmi genetických elementov (plazmidy, integratívné konjugatívne elementy, sekvencie inzercie, transpozóny alebo integróny), ktoré môžu uľahčiť získanie génov a ich transfer na patogény (Klumper et al. 2015, Gillings et al. 2017).

Súčasné štúdie sú zamerané na patogénne baktérie, ale aj na potenciálne patogénne fekálne indikátorové mikroorganizmy vrátane predstaviteľov čeľade Enterobacteriaceae, rodu *Aeromonas* a *Acinetobacter* a tiež druhu *E. coli*, ktoré sú prítomné v odpadových vodách a majú tendenciu prijímať gény kódujúce rezistenciu voči antibiotikám od iných baktérií (Bouki a Venieri 2013, Zhang et al. 2015).

Charakterizácia enviromentálneho rezistómu, mobilizovanej a teda ľahšie prenosnej frakcie je dôležitá pre pochopenie úlohy životného prostredia ako zdroja pre ďalšie faktory rezistencie. To zahŕňa pochopenie hostiteľského rozsahu a ekológiu zahrnutých vektorov. Identifikácia týchto génov antibiotickej rezistencie, ktoré predstavujú riziko možností objavenia sa alebo sa už objavili u patogénov, umožňuje ich skorú detekciu. Identifikácia takýchto génov môže tiež informovať o intervenciách na obmedzenie ich šírenia a umožňuje génovú diagnostiku. V budúcnosti by takéto poznatky mohli viesť k vývoju liekov, ktoré by vychádzali z poznatkov o mechanizme rezistencie (Sommer et al. 2017).

ZÁVER

Kauzalita vzťahov jednotlivých zložiek životného prostredia vo vývoji a šírení antibiotickej rezistencie je v súčasnej dobe dobre preskúmaná a je potrebné tieto výstupy vedeckých prác efektívne preniesť do praktického života vo všetkých oblastiach, ktorých sa dotýka. Technológie požívané v mliekarenskom priemysle zahŕňajú jednotlivé kroky, v ktorých je pozornosť na životné prostredie viac ako žiaduca, pretože môžu predstavovať riziko pre

šírenie antibiotickej rezistencie prostredníctvom mikroorganizmov v tomto prostredí, ktoré sa potom následne môžu stať zdrojom génov antibiotickej rezistencie pre ľudí i zvieratá.

POĎAKOVANIE

Práca bola finančne podporená projektom KEGA č. 007UVLF-4/2020.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ANWAR, M. – IQBAL, Q. – SALEEM, F. 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. BENGTSSON-PALME, J. – LARSSON, D. G. J. Concentrations of antibiotics predicted to select for resistant bacteria: proposed limits for environmental regulation. In *Environ. Int*. ISSN 0160-4120, 2016, vol. 86, p. 140-149.
3. BIELEN, A. et al. Negative environmental impacts of antibiotic-contaminated effluents from pharmaceutical industries. In *Water Res*. ISSN 2212-3717, 2017, vol. 126, p. 79-87.
4. BÍROŠOVÁ, L. – MACKULAK, T. – BODÍK, I. – RYBA, J. – SKUBÁK, J. – GRABIC, R. Pilot study of seasonal occurrence and distribution of antibiotics and drug resistant bacteria in waste water treatment plants in Slovakia. In *Sci. Total Environ*. ISSN 0048-9697, 2014, vol. 490, p. 440-444.
5. BOUKI, C. – VENIERI D, DIAMADOPOULOS E. Detection and fate of antibiotic resistant bacteria in wastewater treatment plants: a review. In *Ecotoxicol Environ Saf*. ISSN 01476513, 2013, vol. 9, p. 1-9.
6. CABELLO, F. C. – GODFREY, H. P. – BUSCHMANN, A. H. – DÖLZ, H. J. Aquaculture as yet another environmental gateway to the development and globalisation of antimicrobial resistance. In *Lancet Infect. Dis*. ISSN 1473-3099, vol. 16, p. 127-133.
7. CABELLO, F. C. et al. Antimicrobial use in aquaculture re-examined: its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. In *Environ. Microbiol*. ISSN 1462-2920, 2013, vol. 15, p. 1917-1942.
8. FICK, J. et al. Contamination of surface, ground, and drinking water from pharmaceutical production. In *Environ. Toxicol. Chem*. ISSN 1552-8618, 2009, vol. 28, p. 2522-2527.
9. FINLEY, R. L. et al. The scourge of antibiotic resistance: the important role of the environment. In *Clin. Infect. Dis*. ISSN 1537-6591, 2013, vol. 57, p. 704-710.

10. GILLINGS, M. R. – PAULSEN, I. T. – TETU, S. G. Genomics and the evolution of antibiotic resistance. In *Ann. N. Y. Acad. Sci*. ISSN 1749-6632, 2017, vol. 1388, p. 92-107.
11. GRAHAM, D. – GIESEN, M. – BUNCE, J. Strategic approach for prioritising local and regional sanitation interventions for reducing global antibiotic resistance. In *Water*. ISSN 2073-4441, 2018, vol. 11, p. 27.
12. CHOW, L. K. M. – GHALY, T. M. – GILLINGS, M. R. A survey of sub-inhibitory concentrations of antibiotics in the environment. In *J. Environ. Sci*. ISSN 1001-0742, 2021, vol. 99, p. 21-27.
13. KARKMAN, A. – PÄRNÄNEN, K. – LARSSON, D. G. J. Fecal pollution can explain antibiotic resistance gene abundances in anthropogenically impacted environments. In *Nat. Commun*. ISSN 2041-1723, 2019, vol. 10, p. 80.
14. KLUMPER, U. et al. Broad host range plasmids can invade an unexpectedly diverse fraction of a soil bacterial community. In *ISME J*. ISSN , 2015, vol. 9, p. 934-945.
15. KNAPP, C. W. – DOLFING, J. – EHLERT, P. A. I. – GRAHAM, D. W. Evidence of increasing antibiotic resistance gene abundances in archived soils since 1940. In *Environ. Sci. Technol*. ISSN 1520-5851, 2010, vol. 44, p. 580-587.
16. LARSSON, D. G. J. – DE PEDRO, C. – PAXEUS, N. Effluent from drug manufactures contains extremely high levels of pharmaceuticals. In *J. Hazard. Mater*. ISSN 3043894,2007, vol. 148, p. 751-755.
17. LARSSON, D. G. J. – FLACH, C. F. Antibiotic resistance in the environment. In *Nat Rev Microbiol*. ISSN 1740-1534, 2021, vol. 4, p. 1-13.
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.
19. MARGOT, J. et al. Treatment of micropollutants in municipal wastewater: ozone or powdered activated carbon? In *Sci. Total. Environ*. ISSN 1879-1026, 2013, vol. 461-462, p. 480-498.
20. Nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009, ktorým sa ustanovujú zdravotné predpisy týkajúce sa vedľajších živočíšnych produktov a odvodených produktov neurčených na ľudskú spotrebu a ktorým sa zrušuje nariadenie (ES) č. 1774/2002 (nariadenie o vedľajších živočíšnych produktoch).
21. Nariadenie Európskeho Parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 z 29.4.2004, ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu.

22. NESME, J. – SIMONET, P. The soil resistome: a critical review on antibiotic resistance origins, ecology and dissemination potential in telluric bacteria. In *Environ. Microbiol*. ISSN 1462-2920, 2015, vol. 17, p. 913-930.
23. PAL, C. – BENGTSSON-PALME, J. – KRISTIANSSON, E. – LARSSON, D. G. J. The structure and diversity of human, animal and environmental resistomes. In *Microbiome.* ISSN 20492618 , 2016, vol. 4, p. 54.
24. PRUDEN, A. – ARABI, M. – STORTEBOOM, H. N. Correlation between upstream human activities and riverine antibiotic resistance genes. In *Environ. Sci. Technol*. ISSN 1520-5851, 2012, vol. 46, p. 11541-11549.
25. SARMAH, A. K. – MEYER, M. T. – BOXALL, A. B. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. In *Chemosphere.* ISSN 1879-1298, 2006, vol. 65, p. 725-59.
26. SASÁKOVA, N. – GREGOVÁ, G. *Voda v potravinárstve*. Košice: Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, 2018, 90 p. ISBN 978-80-8077-609-1.
27. SJÖLUND, M. et al. Dissemination of multidrug-resistant bacteria into the Arctic. In *Emerg. Infect. Dis*. ISSN 1080-6059, 2008, vol. 14, p. 70-72.
28. SOMMER, M. O. A. – MUNCK, C. – TOFT-KEHLER, R. V. – ANDERSSON, D. I. Prediction of antibiotic resistance: time for a new preclinical paradigm? In *Nat. Rev. Microbiol*. ISSN 1740-1534, 2017, vol. 15, p. 689-696.
29. SZYMAŃSKA, U. et al. Presence of antibiotics in the aquatic environment in Europe and their analytical monitoring: recent trends and perspectives. In *Microchem. J*. ISSN 1095-9149, 2019, vol. 147, p. 729-740.
30. TAYLOR, P. – REEDER, R. Antibiotic use on crops in low and middle-income countries based on recommendations made by agricultural advisors. In *CABI Agric. Biosci*. ISSN 2662-4044, 2020, vol. 1, p. 1.
31. TRAN, N. H. – REINHARD, M. – GIN, K. Y. Occurrence and fate of emerging contaminants in municipal wastewater treatment plants from different geographical regions-a review. In *Water Res*. ISSN 2212-3717, 2018, vol. 133, p. 182-207.
32. WANG, J. – CHU, L. – WOJNÁROVITS, L. – TAKÁCS, E. 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*. ISSN 1879-1026, 2020, vol. 744, p. 140997. Dostupné na internete: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32755790/.

33. ZHANG S, HAN B, GU J, WANG C, WANG P, MA Y, CAO J, HE Z. Fate of antibiotic resistant cultivable heterotrophic bacteria and antibiotic resistance genes in wastewater treatment processes. In *Chemosphere*. ISSN 1879-1298, 2015, vol. 135, p. 138-45.
34. ZHU, G. et al. Air pollution could drive global dissemination of antibiotic resistance genes. In *ISME J*. ISSN 1751-7370, 2020, vol. 15, p. 270-281.
35. ZHU, Y.-G. et al. Continental-scale pollution of estuaries with antibiotic resistance genes. In *Nat. Microbiol*. ISSN 2058-5276, 2017, vol. 2, p. 16270.
36. ZHU, Y.-G. et al. Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chinese swine farms. In *Proc. Natl Acad. Sci*. ISSN 1091-6490, 2013, vol. 110, p. 3435-3440.

Kontaktná adresa: Hanzelová Zuzana, Department of Food Hygiene, Technology and Safety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: zuzana.hanzelova@student.uvlf.sk

AFRICKÝ MOR OŠÍPANÝCH U DIVIAČEJ ZVERI V OKRESE KOŠICE-OKOLIE

AFRICAN SWINE FEVER IN WILD BOAR POPULATION IN KOŠICE-OKOLIE REGION

Humeník Filip[1], Čurlík Ján[2], Bartkovský Martin[3], Čížek Milan[4], Hagyari Soňa[5], Somoš Jozef[5], Čížková Daša[1]

[1]Centrum experimentálnej a klinickej regeneračnej medicíny, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

[2]Katedra chovu a chorôb zveri, rýb a včiel, ekológie a kynológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

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

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

[5]Regionálna veterinárna a potravinová správa Košice-okolie, Kukučínova 103, 040 01 Košice

ABSTRACT

African swine fever is a highly contagious infectious disease affecting domestic pigs and wild boars. The first documented case in the Slovak Republic comes from the village of Strážne, Trebišov dvistrict, from domestic pig (July 25, 2019). 20 days later,the first case was documented in a wild boar population in the same district, too. In the district of Košice-okolie, the first positive case was confirmed January 17, 2020 in the wild boar hunted in the Domaška hunting company based in Trstená pri Hornáde. Active monitoring and hunting of wild game has been taking place in the Košice-okolie district since 2019. In the period from 2019 to February 2022, in cooperation with the State Veterinary and Food Administration of the Slovak Republic, we performed an investigation of 9 276 cases originating from wild boars from the Košice-okolie district. Of the total number of examined samples, 810 were positive, which represents a positivity of 8.73%.

Key words: african swine fever, wild boar population, Košice-okolie

ÚVOD

Africký mor ošípaných (AMO) je letálne infekčné ochorenie postihujúce domáce ošípané a diviaky. Môže sa prenášať priamym kontaktom so zvieratami alebo šírením kontaminovaných potravín alebo zariadení. Toto ochorenie má vážne ekonomické dôsledky pre produkciu bravčového mäsa a súvisiace sektory vrátane nepriamych nákladov súvisiacich s obmedzeniami obchodu. Napriek aktívnemu prebiehajúcemu výskumu neexistuje žiadna vakcína ani liek. Pretrvávanie choroby v diviačej populácii a obmedzený počet dostupných kontrolných opatrení predstavujú výzvu pre celý poľnohospodársky sektor EÚ, najmä pre odvetvie chovu ošípaných.

Od začiatku roka 2014 až doteraz bol genotyp II vírusu AMO hlásený v Belgicku, Bulharsku, Českej republike, Estónsku, Nemecku,1 Grécku, Maďarsku, Lotyšsku, Litve, Poľsku, Rumunsku a na Slovensku, čo spôsobuje veľmi vážne obavy. Ochorenie bolo hlásené aj v Bielorusku, Moldavsku, Srbsku, Rusku a na Ukrajine, čo predstavuje neustále riziko pre všetky členské štáty, ktoré majú spoločnú hranicu s týmito tretími krajinami (Sauter-Louis et al., 2021) Česká republika bola oficiálne uznaná bez AMO v marci 2019 (Havlíček and Rajtr, n.d.). Na území SR bol AMO prvýkrát potvrdený v chove domácich ošípaných, 25. júla 2019 v okrese Trebišov. O 20 dní neskôr bolo ochorenie potvrdené aj u diviaka ulovené v poľovnom revíri rovnakého okresu. Po prijatí potrebný opatrení zo strany štátnej správy sa darilo výskyt ochorenie pomerne úspešne izolovať v danom okrese. Prvý potvrdený prípad z okresu Košice-okolie pochádza zo 17. januára 2020. Ochorenie sa vyskytlo u diviaka ulovené v poľovnom revíri Domaška v katastri obce Trstená pri Hornáde, v tesnej blízkosti maďarských hraníc. Od tohto dátumu bolo AMO hlásené z každého poľovného revíru v pôsobnosti RVPS Košice-okolie, s výnimkou PZ Lovena, kde nebolo ochorenie v populácii diviakov do dnešného dňa potvrdené.

MATERIÁL A METODIKA

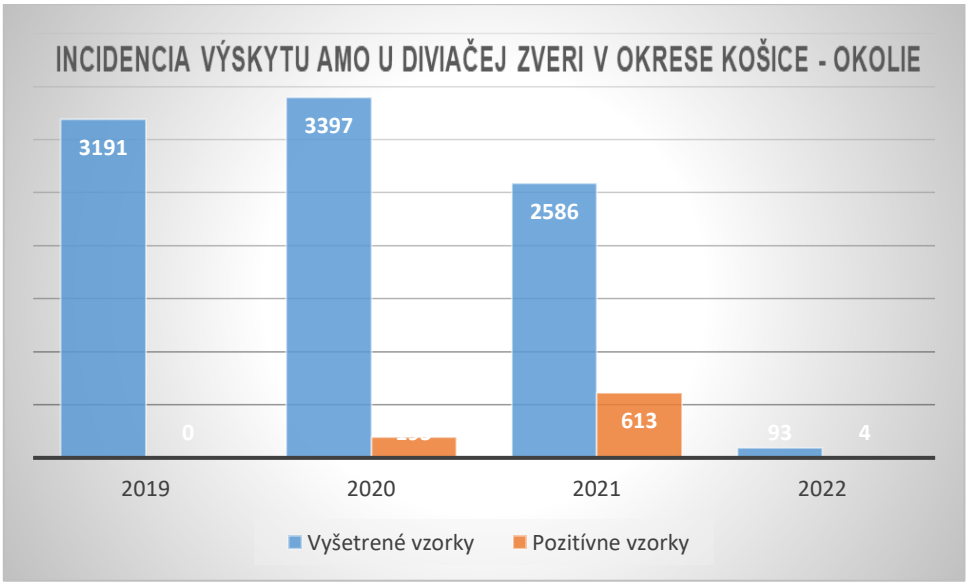
Štandardný postup pri podozrení na výskyt spočíva v nahlásení podozrenia na výskyt AMO a odobratí vzoriek. Poľovné združenia majú legislatívnu povinnosť pri ulovení každého kusa diviačej zveri, ulovený kus dôsledne označiť a odobrať vzorky, ktoré sú následne zaslané na príslušnú regionálnu a veterinárnu potravinovú správu. Až po obdržaní výsledkom PCR je ulovený kus diviačej zveri uznaný ako vhodný pre ľudskú spotrebu alebo ako konfiškát. Počas obdobia 1/2019 až 2/2022 sme v spolupráci so Štátnou veterinárnou a potravinou správou Slovenskej republiky – Košice okolie postupne zozbierali a prostredníctvom PCR vyšetrili

spolu 9 276 vzoriek pochádzajúcich od ulovených alebo nájdených uhynutých diviakov (r. 2019 – 3191 vyšetrených vzoriek, r. 2020 – 3397 vyšetrených vzoriek, r. 2021 – 2586 vyšetrených vzoriek a za prvé dva mesiace roku 2022 – 93 vzoriek). Vzorky boli vyšetrené prostredníctvom PCR metódy na prítomnosť vírusu AMO Genotype II v Národným referenčným pracoviskom vo Zvolene.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Od prvého potvrdeného prípadu u diviačej zveri v okrese Košice-okolie bolo ochorenie potvrdené (17.1.2020) bolo doposiaľ (24.2.2022) zaznamenaných 810 pozitívnych prípadov. Za sledované obdobie bolo v spolupráci S RVPS Košice-okolie a národným referenčným laboratóriom vo Zvolene vyšetrených 9276 vzoriek. Najvyšší výskyt ochorenia bol zaznamenaný v roku 2020 a to v priebehu celého roka s miernym nárastom na prelome zima/jar a jeseň/zima (Graf č.1.). Ochorenie postihovalo všetky vekové triedy diviakov, bez rozdielu pohlavia a malo pre diviačiu populáciu v danom regióne fatálne následky.

Graf č.1.: Incidencia výskytu AMO u diviačej zveri v okrese Košice-okolie



Výnimku predstavuje poľovné združenie Lovena kde nebolo ochorenie doposiaľ potvrdené a to aj napriek vysokým stavom diviačej zveri, čo dokazujú počty kusov ulovených diviakov: poľovná sezóna 2019/2020 – 176ks diviačej zveri, poľovná sezóna 2020/2021 – 155 kusov diviačej zveri, poľovná sezóna 2021/2022 – cez 200 kusov diviačej zveri (presné čísla budú známe až po konaní oblastnej chovateľskej prehliadky). O príčinách, ktoré napomohli a zabránili rozšíreniu AMO do PZ Lovena je možné polemizovať. Významnú úlohu zohráva

poľovnícky manažment, dôsledná príprava plánov lovu a chovu ako aj intenzívny lov diviačej zveri, samozrejme bez rozdielu veku a pohlavia (Cadenas-Fernández et al., 2019). Úplne vylúčené prikrmovanie jadrovým krmivom s výnimkou vnadenia ako aj dodržiavanie všetkých epizootologických zásad – dezinfekcia odevu a obuvi pri prechode z oblastí z potvrdeným výskytom AMO, z vnadenia sú vylúčené zbytky ľudských pokrmov (Jurado et al., 2018) (Aliro et al., 2022) (Danzetta et al., 2020). Na druhej strane je nutné spomenúť, že súčasnej situácii v PZ Lovena výrazne dopomohla aj geografická situácia v regióne (Obr. č.1). Zo západu poľovný revír hraničí so sídliskom Dargovských hrdinov a Ťahanovce. Z východu a severo-východu a východu tvorí takmer nepriechodnú bariéru rieka Torysa charakteristická hlbokým riečnym profilom a strmým vysokými brehmi spolu s diaľnicou D1 a novopostavenou rýchlostnou cestou R4 a v severnej časti bolo poľnohospodárskym družstvom vybudované oplotenie, ktoré malo zabrániť nájazdom zveri na plochy husto siatych obilnín.

Obrázok č.1.: Geografická situácia PZ Lovena, hranice revíru vyznačené červenou farbou.



ZÁVER

Aj napriek celosvetovej absencii účinnej vakcíny a liečby AMO, existujú účinné možnosti ako šíreniu AMO v populácii diviačej zveri účinne zabrániť čoho príkladom je aj PZ Lovena v regióne Košice-okolie. Ako najefektívnejšie sa ukazuje zníženie denzity populácie diviačej zveri na akceptovateľnú hranicu 0,5 ks/km^2.

POĎAKOVANIE

Experiment bol vykonaný vďaka finančnej podpore Agentúry na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-19-0193 a v spolupráci so Štátnou a veterinárnou a potravinovou správou Slovenskej republiky – Košice-okolie.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Aliro, T., Chenais, E., Odongo, W., Okello, D.M., Masembe, C., Ståhl, K., 2022. Prevention and Control of African Swine Fever in the Smallholder Pig Value Chain in Northern Uganda: Thematic Analysis of Stakeholders' Perceptions. Frontiers in Veterinary Science 8.
2. Cadenas-Fernández, E., Sánchez-Vizcaíno, J.M., Pintore, A., Denurra, D., Cherchi, M., Jurado, C., Vicente, J., Barasona, J.A., 2019. Free-Ranging Pig and Wild Boar Interactions in an Endemic Area of African Swine Fever. Frontiers in Veterinary Science 6.
3. Danzetta, M.L., Marenzoni, M.L., Iannetti, S., Tizzani, P., Calistri, P., Feliziani, F., 2020. African Swine Fever: Lessons to Learn From Past Eradication Experiences. A Systematic Review. Frontiers in Veterinary Science 7.
4. Havlíček, P., Rajtr, J., n.d. Digital political advertising in the Czech Republic 32.
5. Jurado, C., Martínez-Avilés, M., De La Torre, A., Štukelj, M., de Carvalho Ferreira, H.C., Cerioli, M., Sánchez-Vizcaíno, J.M., Bellini, S., 2018. Relevant Measures to Prevent the Spread of African Swine Fever in the European Union Domestic Pig Sector. Frontiers in Veterinary Science 5.
6. Sauter-Louis, C., Forth, J.H., Probst, C., Staubach, C., Hlinak, A., Rudovsky, A., Holland, D., Schlieben, P., Göldner, M., Schatz, J., Bock, S., Fischer, M., Schulz, K., Homeier-Bachmann, T., Plagemann, R., Klaaß, U., Marquart, R., Mettenleiter, T.C., Beer, M., Conraths, F.J., Blome, S., 2021. Joining the club: First detection of African swine fever in wild boar in Germany. Transboundary and Emerging Diseases 68, 1744–1752. https://doi.org/10.1111/tbed.13890

Kontaktná adresa: Humeník Filip, Centre for Experimental and Clinical Regenerative Medicine, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: filip.humenik@gmail.com

VPLYV HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA RAST BAKTÉRIí MLIEčNEHO KVASENIA S PROBIOTICKýM POTENCIáLOM

INFLUENCE OF HUMIC SUBSTANCES ON THE GROWTH OF LACTIC ACID BACTERIA WITH PROBIOTIC POTENTIAL

Chomová Natália [1], Nemcová Radomíra [1], Koščová Jana [1], Fečkaninová Adriána [2], Popelka Peter [3], Žitňan Rudolf, [4] Mudroňová Dagmar [1]

[1]Katedra mikrobiológie a imunológie, UVLF, Košice, Slovensko

[2]Katedra farmaceutickej technológie, farmakognózie a botaniky, UVLF, Košice, Slovensko

[3]Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, UVLF, Košice, Slovensko

[4] Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra, Slovensko

ABSTRACT

The aim of our study was to explore the effect of humic substances (HS) on growth of five distict strains of lactic acid bacteria (*Lactobacillus plantarum* (R2 Biocenol™ CCM 8674 and L81 Biocenol™ CCM 7512), *Lactobacillus fermentum* (R3 Biocenol™ CCM 8675 and 2I3 Biocenol™ CCM 7514*), Lactobacillus reuteri* (B2/6)) and on pathogenic strain of *Escherichia coli* (EC2 0199). We cultivated lactic acid bacteria in MRS broth supplemented with radiant sterilisated HS in concentrations 0 %, 0.4 %, 0.6 %, 0.8 % and 1 %. After 18 hours of incubation we evaluated number of bacteria from each strain ($\log_{10}$ CFU/ml). We can state that higher concetrations of HS (0.8 % and 1 %) had inhibitory effect on the growth of probiotic strains. Concentrations of 0.4 % and 0.6 % had the most beneficial influence on growth of these strains, that is why we choose them for next *in vitro* testing. The tested concentrations of HS had a weak positive effect on multiple strains (*L. plantarum* R2, *L. fermentum* R3 and *L. reuteri* B2/6), but no stastically significant differences were observed. In the case of of *L. plantarum* L81 was noticed significant growth in case of 0.6 % concentration of humic substances against our control (0 %). Quantity of pathogenic strain of *E. coli* decreased with higher concentration of humic substances. This experiment could be lead to determination of the approptiate concentration of HS and suitable probiotic strain for subsequent *in vivo* experiments.

Key words: humic substances, lactic acid bacteria, probiotic, growth affection

ÚVOD

Rozšíreným problémom intenzifikácie chovov zvierat je výskyt chorôb, ktorý potláča hospodársky rozvoj v jednotlivých krajinách, a to sa týka aj produkcie rýb. Často býva riešením tejto situácie masívne využívanie antibiotík, či už v prípade prevencie alebo liečby jednotlivých ochorení (Popelka a kol. 2019). Tento trend však rapídne zvyšuje vznik bakteriálnej rezistencie. Rezistentné bakteriálne kmene nepredstavujú hrozbu len v jednotlivých chovoch, ale aj v ľudskej populácii prihliadnuc na prenos prostredníctvom transferu génov rezistencie. Potenciálne riešenie by malo byť bezpečné, šetrné k životnému prostrediu a nezanechávať rezíduá škodlivé pre ľudskú a zvieraciu konzumáciu (Ipek et al. 2007). Čoraz väčší záujem vedcov v tejto oblasti priťahujú substancie prírodného pôvodu, medzi nimi aj humínové látky (HS) (Weber et al. 2018). Tieto látky disponujú všetkými potrebnými vlastnosťami spomenutými vyššie a zároveň neznižujú kvalitu produktov v akvakultúre a v poľnohospodárstve (Popelka a kol. 2019). HS sú v prírode hojne rozšírené a vyskytujú sa najmä v pôde, vodných sedimentoch, rašeline a hnedom uhlí (Weber et al. 2018). Ich štruktúra je rozmanitá a tvorí ju mnoho heterogénnych skupín a molekúl ako sacharidy, mastné kyseliny, či polypeptidy (Shah et al. 2018). Vďaka ich štruktúre a ďalším špecifickým vlastnostiam je týmto látkam pripisovaných mnoho prínosných účinkov ako antimikrobiálny, imunostimulačný, analgetický, či antivírusový (Rath, Huff, Huff 2006). Navyše mnoho z ich vlastností má potenciálne využitie aj v ľudskom organizme. Práve z dôvodu viacerých pozitívnych účinkov na zdravie zvierat a ľudí, bolo cieľom tejto práce študovanie vplyvu HS na rôzne bakteriálne kmene *in vitro*, s následným potenciálom pre využitie *in vivo*.

MATERIÁL A METODIKA

Počas *in vitro* testovania vplyvu HS boli využité kmene *L. fermentum* (nová nom. *Limosilactobacillus fermentum (R3* Biocenol™ CCM *8675 a 2I3* Biocenol™ CCM 7514*), L. plantarum (nová nom. Lactiplantibacillus plantarum (*R2 Biocenol™ CCM 8674 a L81 Biocenol™ CCM 7512), *L. brevis (nová nom. Levilactobacillus brevis (B50* Biocenol™ CCM 8618*) L. reuteri (nová nom. Limosilactobacillus reuteri (B2/6) a Escherichia coli (EC2 O199) pochádzajúce z rôznych zdrojov. Kmene L. plantarum R2 a L. fermentum R3 boli izolované z čriev pstruhov. Izolát kmeňa L. brevis B50 pochádza z tráviaceho traktu včiel, zatiaľ čo L. reuteri B2/6 má bažantí pôvod. Z črevného obsahu ošípaných boli izolované dva kmene – L. plantarum L81 a E. coli EC2. Izolát kmeňa L. fermentum 2I3 pochádza z hydiny. Baktérie mliečneho kvasenia (LAB) boli kultivované v MRS bujóne (Biolife, Taliansko), do ktorého boli pridané HS (Humac Natur AFM, Humac, Slovensko) v koncentrácii 0 %, 0,4 %, 0,6 %, 0,8 %*

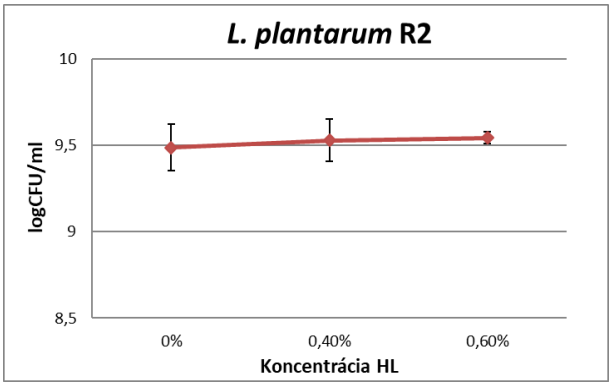
a 1 %. V rámci pilotného experimentu boli koncentrácie 0,4 % a 0,6 % vyhodnotené ako najpriaznivejšie pre rast jednotlivých kmeňov a z tohto dôvodu boli zvolené ako pre ďalšie *in vitro* testovania. *Pred pridaním boli HS ošetrené radiačnou sterilizáciou (Bioster, Veverská Bítýška). Kultivácia patogénneho kmeňa E.coli prebehla v PYG bujóne pozostávajúceho z peptónu (HiMedia, India), kvasničného extraktu (Pronadisa, Španielsko) a glukózy (SLAVUS, Slovensko), ktorý mal pH 6,8. Do takto upraveného média boli následne pridané rovnaké koncentrácie HS. Všetky živné bujóny boli naočkované pripraveným inokulom s koncentráciou 1,0 McFarland (Biosan SIA, Lotyšsko). 200* µl *z každej bakteriálnej suspenzie bolo inokulovaných do príslušného bujónu* a následne boli tieto roztoky kultivované na trepačke 18 hodín pri 37 °C. Po uplynutí inkubačnej doby bola v jednotlivých roztokoch zmeraná hodnota pH (HI-221 Hanna instruments, Rumunsko) ako indikácia rastu baktérií a z každej suspenzie pripravené decimálne riedenie. Počty baktérií z každého kmeňa boli stanovené platňovou metódou na MRS agare *(Biolife, Taliansko)* v prípade LAB a na MacConkey agare *(HiMedia, India)* v prípade *E.coli*. Následná kultivácia LAB kmeňov trvala 48 h a bola uskutočnená v anaeróbnych podmienkach pri teplote 37 °C. Kultivácia *E.coli* prebehla za aeróbnych podmienok v trvaní 24 h pri 37 °C. Počet zistených baktérií bol vyjadrený ako logaritmus kolónií tvoriacich jednotiek (CFU) na ml. Experiment bol vykonaný v triplikátoch a výsledky boli štatisticky vyhodnotené v programe GraphPad Prism pomocou jednorozmernej analýzy rozptylu s doplnkovým Dunnettovým testom.

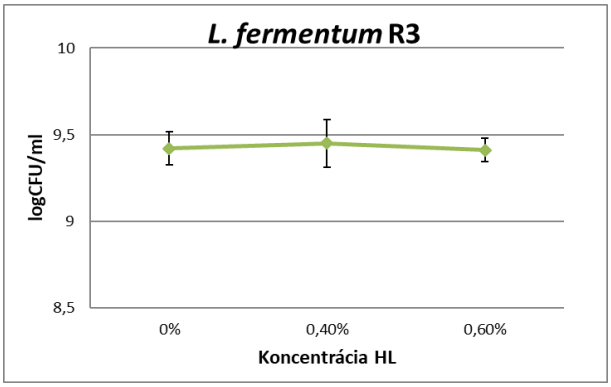
VÝSLEDKY A DISKUSIA

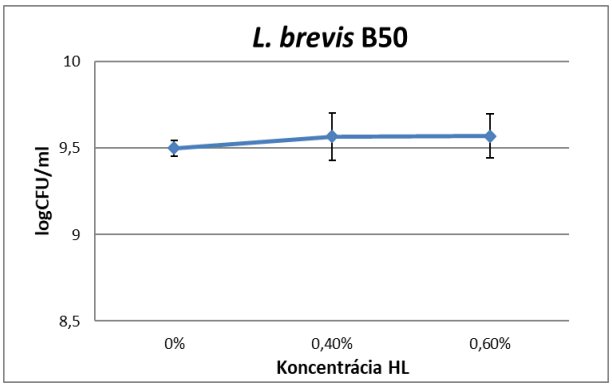
Viaceré publikované štúdie predpokladajú ovplyvňovanie rastu rôznych druhov baktérií. Verillo et al. (2022) vo svojom experimente skúmali vplyv HS na rôzne grampozitívne (*Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis*) a gramnegatívne (*Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae*) bakteriálne kmene. Z ich výsledkov vyplýva, že 0,2 % koncentrácia HS má schopnosť inhibovať rast uvedených patogénnych kmeňov. V ďalšom experimente boli podávané HS za účelom pozorovania ovplyvnenia črevnej mikrobioty a imunitnej odpovede u brojlerov. Zaznamenané výsledky naznačujú podporu nešpecifickej imunitnej odpovede a zníženie enterobaktérií v čreve, za súčasného nárastu probiotických kmeňov (Mudroňová et al. 2020). Na základe týchto, ale aj ďalších štúdií sa predpokladá, že HS majú schopnosť podporovať rast prospešných baktérií a súbežne potláčať patogénne baktérie, avšak tento účinok je závislý od koncentrácie HS, ako aj konkrétneho bakteriálneho kmeňa. Táto skutočnosť bola podporená aj našimi pilotnými štúdiami, v ktorých vyššie koncentrácie (0,8 % a 1%) inhibovali rast väčšiny pozorovaných probiotických kmeňov, pričom k výraznej zmene

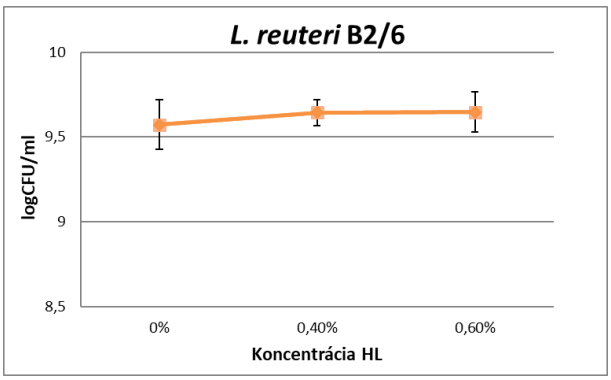
nedošlo iba v prípade kmeňa *L. plantarum* R2 a *L. brevis* B50. Najpriaznivejší vplyv na rast LAB mali koncentrácie 0,4 % a 0,6 %, čo bolo dôvodom ich zvolenia do ďalších *in vitro* experimentov. Vybrané koncentrácie spôsobili mierne zlepšenie v raste v prípade kmeňov *L. plantarum* R2, *L. fermentum* R3, *L. brevis* B50 a *L. reuteri* B2/6, avšak tento nárast nebol štatisticky významný. V prípade *L. fermentum* 2I3 došlo po prídavku 0,4 % koncentrácie HS k nesignifikantnému poklesu a následnému nárastu po prídavku 0,6 %. Štatisticky významný nárast CFU bol zaznamenaný po prídavku 0,6 % HS u kmeňa *L. fermentum* L81. U patogénneho kmeňa *E. coli* bolo po prídavku HS zaznamenané klesanie CFU so stúpajúcou koncentráciou tejto látky (Graf č. 1).

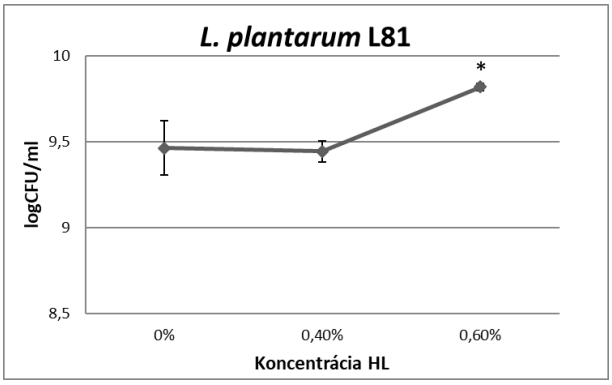
Graf č. 1, Vplyv prídavku 0,4 % a 0,6 % HS na rast vybraných kmeňov baktérií

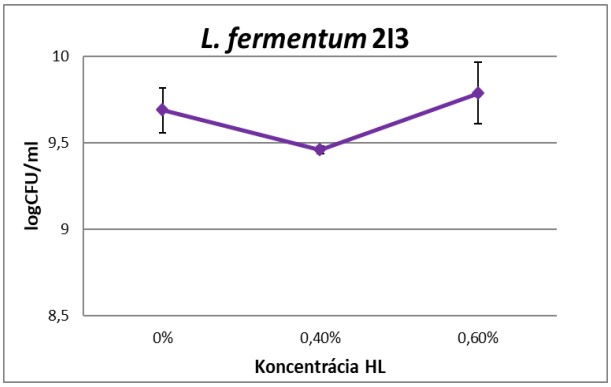


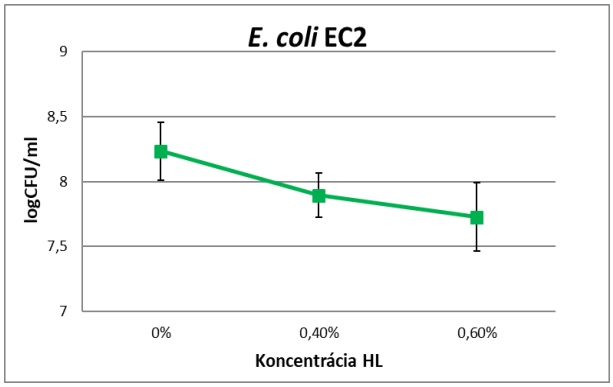












Hviezdička označuje štatisticky významný rozdiel oproti kontrole; * - p<0,05

ZÁVER

Z pozorovania antimikrobiálnej aktivity HS sa predpokladá, že stimulujú rast najmä prospešných mikroorganizmov, a naopak rast patogénnych mikróbov je potlačený, avšak účinok je závislý od koncentrácie HS. Toto potvrdili aj naše pilotné štúdie, kedy koncentrácie 0,8 % a 1 % potláčali rast väčšiny sledovaných kmeňov. Z tohto dôvodu boli pre ďalšie testovania *in vitro* vybrané koncentrácie 0,4 % a 0,6 %. K signifikantnému nárastu došlo iba v prípade 0,6 % HS u kmeňa *L. fermentum* L81. Prídavok týchto látok potláčal rast patogénneho kmeňa *E. coli*. Z našich výsledkov môžeme vidieť, že HS pôsobia rôzne v závislosti od kmeňa a koncentrácie HS. Na základe tohto experimentu je možné stanoviť vhodnú koncentráciu HS a vybrať vhodný probiotický kmeň pre následné *in vivo* pokusy.

POĎAKOVANIE

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

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. POPELKA P. a kol. *Probiotiká v akvakultúre lososovitých rýb. Význam probiotických baktérií v akvakultúre pstruha dúhového* (*Oncorhynchus mykiss)*. Košice: Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach 2019, 166 p. ISBN 978-80-8077-650-3 p. 70 – 79
2. IPEK, H. et al. Effects of humic acid on some hematological parameters, total antioxidant capacity and laying performance in Japanese quails, In *Archiv fur Geflugelkunde* [online]. 2007, vol. 72., no. 2 [cit. 2022-04-09]. Dostupné na internete: <https://www.researchgate.net/publication/289328811_Effects_of_humic_acid_on_so

me_hematological_parameters_total_antioxidant_capacity_and_laying_performance_in_Japanese_quails> p. 56 – 60

3. WEBER, J. et al. Preface: humic substances in the environment, In *Journal of Soils and Sediments* [online]. 2018, vol. 18, no. 8 [cit. 2022-04-09]. Dostupné na internete: < https://link.springer.com/article/10.1007/s11368-018-2052-x#article-info> p. 2665 – 2667
4. SHAH, Z.H. et al. Humic Substances: Determining Potential Molecular Regulatory Processes in Plants, In *Frontiers in Plant Science* [online]. 2018, vol. 9 [cit. 2022-04-09]. Dostupné na internete: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11368-018-2052-x#article-info> p. 2665 – 2667
5. RATH, N.C. – HUFF, W.E. – HUFF, G.R. Effects of humic acids on broiler chickens, In *Poultry Science* [online]. 2006, vol. 85, no. 3 [cit. 2022-04-09]. Dostupné na internete: <doi:10.1093/ps/85.3.410> p. 410 – 414
6. VERILLO, M. et al. Antibacterial and antioxidant properties of humic substances from composted agricultural biomasses, In *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* [online]. 2022, vol. 9, no. 28 [cit. 2022-04-11]. Dostupné na internete: <https://link.springer.com/article/10.1186/s40538-022-00291-6> p. 410 – 414
7. MUDROŇOVÁ, D. a kol. The effect of humic substances on gut microbiota and immune response of broilers, In *Food and Agricultural Immunology* [online]. 2020, vol 31, no. 1 [cit. 2022-04-11]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1080/09540105.2019.1707780> p. 137 – 149

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

VÝSKYT ŤAŽKÝCH KOVOV U VYBRANÝCH DRUHOV RÝB URČENÝCH NA SLOVENSKÝ TRH

OCCURRENCE OF HEAVY METALS IN SELECTED FISH SPECIES INTENDED FOR THE SLOVAK MARKET

Jakabová Silvia[1], Harangozo Ľuboš[1], Benešová Lucia[1], Zajác Peter[1], Čapla Jozef [1], Semjon Boris[2], Čurlej Jozef[1], Zeleňáková Lucia[1], Golian Jozef[1]

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

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

ABSTRACT

The content of selected heavy metals (Cu, Zn, Mn, Fe, Cr, Ni, Co, Pb, Cd, and Hg) was investigated in two fish species – rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Alaska pollock (*Gadus chalcogrammus*), intended for the Slovak market. The content of metals was in general higher in rainbow trout in case of Cu, Zn, Mn, Fe, and Cr. Similar levels in both, trout and pollock were found in the case of Co. The content of Pb was 4-times higher in Alaska Pollock from compared to trout especially from two producers. Similarly, Cd was also higher in those two producers compared to trout samples. Mercury was almost double in pollock fish in comparison with trout samples. Concentrations of individual metals were statistically compared and significant differences were observed in the case Mn, Fe, Ni, Co, Pb, Cd and Hg. In the most cases differences between trout and Pollock from different distributors was observed and within the Pollock samples, those distributed from China significantly differed.

Keywords: heavy metals, rainbow trout, Alaska pollock

ÚVOD

Ťažké kovy sú prirodzene sa vyskytujúce prvky, hoci ich priemyselné, poľnohospodárske, farmaceutické a technologické uplatnenie viedlo k ich širokej distribúcii v životnom prostredí, čo vyvoláva obavy z ich potenciálnych účinkov na ekosystémy a ľudské zdravie (Tchounwou et al., 2012). Niektoré ťažké kovy (Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Se, Zn) sú pre organizmy nevyhnutné prvky, nakoľko sú súčasťou niektorých kľúčových enzýmov a hrajú dôležitú úlohu v rôznych oxidačno-redukčných reakciách (WHO, 1996). Nadmerné

množstvo týchto kovov však môže spôsobiť poškodenie buniek a tkanív (Chang a kol., 1996, Tchounwou a kol., 2008, Tchounwou a kol., 2012). Iné kovy, ako napríklad Hg, Pb, Cd, As, nemajú určené biologické funkcie a sú považované za neesenciálne a potenciálne toxické (Chang et al., 1996, Inoue, 2013) v relatívne nízkych koncentráciách.

Ťažké kovy uvoľnené z prírodných a antropogénnych zdrojov sa môžu dostať do vodného prostredia, pohybovať sa rôznymi biogeochemickými cyklami a byť bioakumulované a zakoncentrované v potravovom reťazci (Atwell et al., 1998). Kvôli ich perzistencii, dlhému biologickému polčasu a potenciálnej toxicite môžu pri pravidelnej konzumácii v potrave predstavovať vážne riziko pre ľudí (Bortey-Sam et al., 2015). Ich nahromadenie v organizme môžu ovplyvniť tráviaci, kardiovaskulárny a tiež centrálny nervový systém (Crespo-Lopez et al., 2007). U niektorých prvkov (t.j. As, Cd, Pb, Hg) boli zistené mutagénne, teratogénne a karcinogénne účinky u živých organizmoch (Wong, 1988).

Akumulácia ťažkých kovov v rybách závisí od koncentrácie a biologickej dostupnosti kontaminantov v morskej vode. Okrem toho fyzikálne a chemické faktory ovplyvňujú adsorpčné a zrážacie procesy, kinetiku tvorby komplexov, chemickú špeciáciu, rozpustnosť lipidov a pod. (Hamelink et al., 1994). Dôležitú úlohu zohrávajú aj biologické faktory, ako sú druhy, trofické interakcie a biochemická/fyziologická adaptácia (Verkleji, 1993).

Rozličná chemická afinita jednotlivých kovov k tkanivám rýb, rôzne rýchlosti príjmu, depozície a vylučovania sú významné pre pochopenie distribúcie tejto triedy kontaminantov v morských organizmoch, čo je významné pre skúmanie ich vplyvu na životné prostredie (Jezierska & Witeska, 2006; Bonsignore et al., 2018).

Pstruh dúhový (*Oncorhynchus mykiss*) patrí do čeľade lososovitých (*Salmonidae*) a na základe doterajších poznatkov vykazuje v tkanivách vysoké množstvo nenasýtených mastných kyselín, 72,6 – 75,3 % celkových mastných kyselín (Vranić et al., 2012), čím sa odlišuje od ostatných rýb. Tieto ryby obsahujú aj významné množstvo cholesterolu, ktorý je nevyhnutný pre správne biologické funkcie v ľudskom organizme. Chov pstruhov je tiež nákladovo efektívny spôsob výroby potravín na ľudskú spotrebu (Krstić et al., 2016).

Treska aljašská (*Gadus chalcogrammus*) je morský druh tresky rodu *Gadus* a čeľade *Gadidae*. Je to polopelagická húfová ryba široko rozšírená v severnom Pacifiku, pričom najväčšie koncentrácie sa nachádzajú vo východnej časti Beringovho mora.

Cieľom tejto práce bolo zistiť a porovnať koncentrácie vybraných ťažkých kovov a ich variabilitu u tresky aljašskej a pstruha dúhového, ktoré sú distribuované na Slovenskom trhu.

MATERIÁL A METODIKA

Do štúdie boli použité vzorky pstruhov dúhových, pochádzajúcich z jedného intenzívneho chovu na Slovensku. Pre analýzu sa použilo 6 jedincov rovnakého veku, z ktorých analyzovali surové filety s kožou. Vzorky tresky aljašskej boli získané od 3 rôznych distribútorov (Rusko, Čína, USA). Zo 7,5 kg blokov mrazených filetov sa odobrali 2 vzorky. Vzorky rýb sa upravili sušením a homogenizáciu materiálu a následnou mikrovlnnou mineralizáciou mokrou cestou v prostredí kyseliny dusičnej. Stanovenie ťažkých kovov Cu, Zn, Mn, Fe, Cr, Ni, Co, Pb, Cd, a Hg vo vzorkách rýb bolo realizované technikou atómovej absorpčnej spektrometrie s elektrotermickou atomizáciou v grafitovej kyvete (ET-AAS).

Sumarizácia údajov a príprava tabuliek sa realizovala v programe Excel (Microsoft, Redmond, WA, USA), na štatistickú analýzu sa použil Tukeyov párový test vo voľne šíriteľnom softvéri Past 4.03 (softvér vyvíjaný autormi Hammer et al., 2001). Štatistické porovnanie sa realizovalo pre 10 ťažkých kovov, pričom sa porovnali obsahy v rámci jedného parametra medzi obomi lokalitami. Úroveň štatistickej významnosti bola stanovená na $p < 0,05$ pre všetky analyzované ťažké kovy.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky stanovenia sú sumarizované v tabuľke 1.

Tabuľka č. 1, Obsah jednotlivých ťažkých kovov vo vzorkách pstruhov dúhových a tresky aljašskej a významnosť ich rozdielov vzhľadom na lokalitu pôvodu vzoriek

Druh		**Pstruh dúhový**		**Treska aljašská**		**Treska aljašská**		**Treska aljašská**	
Pôvod vzoriek		Slovensko		Rusko FAO 61		Čína FAO 61		USA FAO 61	
		Priemer	±SD	Priemer	±SD	Priemer	±SD	Priemer	±SD
Cu	**mg/kg**	0,560^{a}	± 0,035	0,452^{a}	± 0,037	0,342^{a}	± 0,025	0,366^{a}	± 0,004
Zn	**mg/kg**	4,152^{a}	± 0,246	2,517^{a}	± 0,051	2,370^{a}	± 0,057	2,260^{a}	± 0,018
Mn	**mg/kg**	0,367^{a}	± 0,035	0,103^{b}	± 0,004	0,083^{b}	± 0,010	0,075^{b}	± 0,009
Fe	**mg/kg**	4,899^{a}	± 0,489	2,401^{ab}	± 0,032	2,213^{ab}	± 0,035	1,846^{b}	± 0,050
Cr	**mg/kg**	0,061^{a}	± 0,023	0,017^{a}	± 0,003	0,020^{a}	± 0,002	0,040^{a}	± 0,000
Ni	**mg/kg**	0,118^{a}	± 0,018	0,219^{b}	± 0,016	0,130^{bc}	± 0,022	0,134^{c}	± 0,009
Co	**mg/kg**	0,109^{a}	± 0,013	0,155^{b}	± 0,006	0,095^{c}	± 0,001	0,113^{bc}	± 0,002
Pb	**mg/kg**	0,068^{a}	± 0,010	0,306^{b}	± 0,050	0,079^{a}	± 0,041	0,327^{b}	± 0,036
Cd	**mg/kg**	0,044^{a}	± 0,013	0,087^{b}	± 0,017	0,028^{a}	± 0,011	0,072^{b}	± 0,011
Hg	**µg/kg**	7,410^{a}	± 0,230	12,90^{b}	± 0,170	13,30^{c}	± 0,230	14,10^{c}	± 0,316

Poznámka: hodnoty a, b, c indexov v riadku vyjadrujú štatistickú odlišnosť (Tukey test, $p < 0,05$)

Meď je esenciálny stopový prvok potrebný pre fungovanie buniek všetkých živých organizmov. Metaloenzýmy medi sa podieľajú na metabolizme železa, bunkovej produkcii COX (cytochróm c oxidáza), ochrana buniek pred poškodením voľnými radikálmi, syntéza kolagénu, produkcia dopamínu a melanínu (Linder, 2002). V našom prieskume sa obsah medi pohyboval vo vzorkách pstruhov od 0,449 do 0,698 mg/kg vzorky. Vzorky tresky obsahovali meď v rozpätí od 0,315 do 0,489 mg/kg. Rozdiely v obsahoch medi neboli štatisticky významné na zvolenej hladine významnosti (α=0,05).

Železo je jedným z najviac skúmaných základných stopových prvkov a je prítomné v celom organizme stavovcov (Lall, 2021). Je nevyhnutný pre fungovanie niekoľkých biochemických procesov, ktoré zahŕňajú reakciu prenosu elektrónov, génovú reguláciu, transport kyslíka a reguláciu rastu a diferenciáciu buniek. Najdôležitejšie zlúčeniny obsahujúce železo sú hemové proteíny, hemoglobín, myoglobín a cytochrómy (Bury et al., 2003). Obsah železa sa u pstruha dúhového pohyboval medzi 2,601 a 5,803 mg/kg v čerstvej hmote. Treska mala obsah železa v rozpätí od 1,797 do 2,432 mg/kg. Štatistické porovnanie poukázalo na rozdiel v obsahu železa medzi pstruhom dúhovým a treskou s pôvodom USA. Medzi ostatným vzorkami štatisticky významné rozdiely neboli zistené.

Mangán zohráva dôležitú úlohu v metabolizme bielkovín a energie, pri kalcifikácii kostí, syntéze GAG, ochrane buniek, proti voľný radikálom a látkovej výmene (Aschner & Aschner, 2005).U pstruhov sa jeho hodnoty pohybovali od 0,238 do 0,496 mg/kg. Treska obsahovala mangán v rozpätí od 0,066 do 0,107 mg/kg. Štatistický rozdiel bol stanovený medzi vzorkami pstruhov vs. tresky.

Zinok je po železe druhým najrozšírenejším stopovým prvkom, ktorý je nevyhnutný pre všetky bunky a živé organizmy (Vallee, 1993). Katalytická úloha zinku je nevyhnutná pre biologickú funkciu všetkých šiestich tried viac ako 300 enzýmov. U pstruhov sme zistili jeho koncentrácie od 3,391 do 4,971 mg/kg. Treska obsahovala zinok od 2,242 do 2,568 mg/kg. Štatisticky významný rozdiel medzi vzorkami nebol zistený.

Chróm je neesenciálny minerálny prvok, ktorý sa vyskytuje v potravinách a životnom prostredí v dvoch oxidačných stavoch ako Cr^{3+} a Cr^{6+}, ktoré sa významne líšia v ich biologickej dostupnosti a toxicite. Predpokladá sa, že trojmocný chróm sa podieľa na regulácii metabolizmu sacharidov a lipidov, zvýšením účinnosti inzulínu (Vincent, 2000). Vzorky pstruha dúhového obsahovali chróm v rozpätí od 0,002 až 0,135 mg/kg a vzorky tresky od 0,014 do 0,040 mg/kg, pričom nebola zistená štatisticky významné rozdielnosť medzi vzorkami.

Nikel je 22. najrozšírenejší prvok a je všadeprítomný v morských a sladkovodných ekosystémoch. Jeho akútna toxicita je spojená s branchiálnymi léziami, čo vedie k zhoršenej respiračnej funkcii. V obličkách spôsobuje lézie v obličkových tubuloch a antagonisticky pôsobí na reabsorpciu Mg (Pyle & Couture, 2011). Vo vzorkách pstruhov sa našiel tento prvok v koncentráciách od 0,055 po 0,152 mg/kg. U tresky sa jeho koncentrácie pohybovali od 0,108 po 0,235 mg/kg. Štatisticky významný rozdiel bol zistený medzi všetkými distribútormi s výnimkou vzoriek s pôvodom Čína, ktoré boli podobné ostatným vzorkám tresky.

Kobalt je súčasťou vitamínu B_{12}, spoločne nazývaný ako „kobalamín“. Mikroorganizmy tráviaceho traktu a rias sú známe tým, že syntentizujú vitamín B_{12} z anorganického kobaltu. Zvieratá a ryby, ktoré majú monogastrický organizmus potrebujú vitamín B_{12}, pretože im chýba schopnosť syntetizovať tento vitamín zo stravy. Kobalt je absorbovaný sladkovodnými rybami cez žiabre a črevá (Baudin et al., 2000). Vo vzorkách pstruhov sa kobalt pohyboval od 0,058 po 0,141 mg/kg, treska ho obsahovala od 0,094 do 0,161 mg/kg. Štatisticky významný rozdiel bol zistený medzi vzorkami pstruha a tresky z Ruska a Číny. Treska z USA bola v obsahu Co podobná ostatným vzorkám tresky od spomínaných distribútorov.

Olovo sa prirodzene vyskytuje v zemskej kôre, avšak jeho zvýšený výskyt v životnom prostredí je výsledkom antropogénnych aktivít. Oxidačný stres z expozície Pb indukuje u rýb neurotoxicitu a pôsobí u rýb ako imunotoxická látka. Pb tvorí pružnú väzbu s atómami kyslíka a síry v proteínoch a jeho schopnosť vytvárať stabilný komplex s týmito prvkami zvyšuje afinitu Pb k danému proteínu (Verstraeten et al., 2008). Okrem toho akumulácia Pb v rybách spôsobuje hypokalcémiu (Lee et al., 2018). Vzorky pstruhov obsahovali olovo v koncentráciách od 0,035 po 0,097 mg/kg. Tresky mali obsah olova na úrovni od 0,121 po 0,363 mg/kg. Štatisticky podobné vzorky boli z hľadiska obsahu olova pstruhy a tresky od distribútora z Číny. Tresky z Ruska a USA boli tiež vzájomne podobné v obsahu olova, ale štatistická odlišnosť bola preukázaná vo vzťahu k ostatným dvom skupinám vzoriek.

Kadmium je ťažký kov, ktorý nemá jasnú fyziologickú funkciu a ako prvok je považovaný za jedovatý pre ryby. Toxicita kadmia spôsobuje narušenie homeostázy vápenatých iónov a do určitej miery aj sodíka a horčíka (McGeer et al., 2012). V analyzovaných vzorkách pstruhov sa obsah kadmia pohyboval od 0,004 po 0,08 mg/kg. Obsah kadmia v treskách sa pohyboval od 0,016 po 0,104 mg/kg. Štatisticky významný rozdiel sme zistili u vzoriek tresky z USA a Ruska vs. vzorky pstruhov a tresiek z Číny.

Ortuť je známa ako významný kontaminant prostredia. Venuje sa jej pozornosť vzhľadom na jej toxicitu možné dôsledky na vodný ekosystém a ľudské zdravie, nakoľko je silným imunitným modulátorom a supresorom v rámci celého radu druhov stavovcov (Okpala

et al., 2018). V našom prieskume obsahovali vzorky pstruhov koncentrácie tohto prvku v rozpätí od 6,9 po 8,4 µg/kg a vzorky tresky mali jej koncentrácie od 13 po 14 µg/kg. Štatisticky preukazný rozdiel bol zistený medzi všetkými vzorkami s výnimkou podobných koncentrácií vo vzorkách tresky z Číny a USA.

Limitné hodnoty obsahov podľa Nariadenia komisie EU (Commission Regulation (EU) 2021/1323) v čerstvej svalovine rýb (mg/kg) boli stanovené pre Cd na 0,05 mg/kg. Z analyzovaných vzoriek boli priemerné obsahy sledovaného kontaminantu podlimitné, avšak nadlimitné hodnoty boli zaznamenané v prípade kadmia u 3 analyzovaných vzoriek pstruha dúhového a v 4 prípadoch vzoriek tresky.

ZÁVER

Obsah desiatich vybraných ťažkých kovov bol sledovaný u dvoch druhov rýb – pstruha dúhového a tresky aljašskej, určených pre obchodnú sieť SR. Obsah kovov bol vo všeobecnosti vyšší u pstruha dúhového v prípade Cu, Zn, Mn, Fe a Cr. Podobné hladiny u pstruhov aj tresky aljašskej boli zistené v prípade Co. Obsah Pb bol 4-krát vyšší v tresky v porovnaní so pstruhom, najmä v prípade dvoch distribútorov (Rusko a USA). Podobne aj Cd bolo vyššie u týchto dvoch distribútorov v porovnaní so vzorkami pstruhov. Ortuť bola vo vzorkách tresky takmer dvojnásobná v porovnaní so vzorkami pstruhov. Štatisticky boli porovnávané koncentrácie jednotlivých kovov a boli pozorované významné rozdiely v prípade siedmich kovov. Vo väčšine prípadov boli štatisticky významné rozdiely medzi pstruhom a treskou od rôznych distribútorov. Vzorky tresky s pôvodom z Číny sa u viacerých kovov štatisticky líšili od vzoriek tresky od ďalších dvoch distribútorov.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-17-0508 a projektom VEGA 1/0239/21.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Aschner, J. L., Aschner, M., Nutritional aspects of manganese homeostasis. In. *Molecular Aspects of Medicine*. ISSN 0098-2997, 2005, vol. 26, no. 4-5, p. 353-362.
2. Atwell, L., Hobson, K.A., Welch, H.E., Biomagnification and bioaccumulation of mercury in an arctic marine food web: insights from stable nitrogen isotope analysis. In *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. ISSN 0706652X, 1998, vol. 55, no. 5, p.1114-1121.

3. Baudin, J.P., Adam, C. and Garnier-Laplace, J., Dietary uptake, retention and tissue distribution of 54Mn, 60Co and 137Cs in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss walbaum*). In. *Water Research*. ISSN 0043-1354, 2000, vol. 34, no. 11, p. 2869-2878.
4. Bonsignore, M., Manta, D.S., Mirto, S., Quinci, E.M., Ape, F., Montalto, V., Gristina, M., Traina, A. and Sprovieri, M., Bioaccumulation of heavy metals in fish, crustaceans, molluscs and echinoderms from the Tuscany coast. In *Ecotoxicology and environmental safety*. ISSN 1090-2414, 2018. 162, pp.554-562.
5. Bortey-Sam, N., Nakayama, S.M., Ikenaka, Y., Akoto, O., Baidoo, E., Yohannes, Y.B., Mizukawa, H., Ishizuka, M., Human health risks from metals and metalloid via consumption of food animals near gold mines in Tarkwa, Ghana: Estimation of the daily intakes and target hazard quotients (THQs). In *Ecotoxicology and environmental safety*. ISSN 1090-2414, 2015, vol. 111, p.160-167.
6. Bury, N. R., Walker, P.A., Glover, CH. N., Nutritive metal uptake in teleost fish. In. *Journal of Experimental Biology*. ISSN 0022-0949, 2003, vol. 206, no. 1, p. 11-23.
7. Commission Regulation (EU) 2021/1323 of 10 August 2021 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of cadmium in certain foodstuffs.
8. Crespo-López, M.E., De Sa, A.L., Herculano, A.M., Burbano, R.R. and do Nascimento, J.L.M., Methylmercury genotoxicity: a novel effect in human cell lines of the central nervous system. In *Environment international*. ISSN 0160-4120, 2007, vol. 33, no. 2, p.141-146.
9. Hamelink, J., Landrum, P.F., Bergman, H., Benson, W.H., *Bioavailability: physical, chemical, and biological interactions*. 1994, CRC press, 256 p.
10. Chang, L.W., Magos, L. and Suzuki, T. eds., *Toxicology of metals.* 1996, Boca Raton, FL: CRC. 1232 p.
11. Inoue, K., Heavy metal toxicity. In *Journal of Clinical Toxicology*. ISSN 2161-0495 JCT, 2013. vol.3, p.2161-0495.
12. Jezierska, B., Witeska, M., The metal uptake and accumulation in fish living in polluted waters. In *Soil and water pollution monitoring, protection and remediation.* ISBN 978-1-4020-4728-2, 2006, vol. 69, p. 107-114.
13. Krstić, M.P., Mitrović, R.R., Marković, R.V., Ivanović, J.S., Ćirković, M.A., Djordjević, V.Ž., Baltić, M.Ž. Fatty acid composition in the fillets of rainbow trout grown in different conditions. In *European Journal of Lipid Science and Technology*. ISSN 14387697, 2017 vol. 119, no. 4, p. 1600082.

14. Lall, S. P., The Minerals. In. *Fish Nutrition*. ISBN 978-0-12-819587-1, 2021, vol. 4, p. 469-554. Academic Press.
15. Lee, J.W., Choi, H., Hwang, U.K., Kang, J.C., Kang, Y.J., Kim, K.I., Kim, J.H., Toxic effects of lead exposure on bioaccumulation, oxidative stress, neurotoxicity, and immune responses in fish: A review. In *Environmental toxicology and pharmacology*. ISSN 1382-6689 2019, vol. 68, p.101-108.
16. Linder, M. C., Biochemistry and molecular biology of copper in mammals. In *Handbook of Copper Pharmacology and Toxicology*. ISBN 978-1-59259-288-3, 2002, p. 3-32,
17. McGeer, J. C., Niyogi, S., Smith, D.S., 3 – Cadmium. In. *Fish Physiology*. ISSN 1546-5098, 2012, vol. 31, p. 125-184.
18. Okpala, C.O.R., Sardo, G., Vitale, S., Bono, G., Arukwe, A., Hazardous properties and toxicological update of mercury: From fish food to human health safety perspective. In *Critical reviews in food science and nutrition*. ISSN 1549-7852, 2018, vol. 58, no. 12, p.1986-2001.
19. PAST 4.03 for Windows. (2021). Softpedia. https://www.softpedia.com/get/Science-CAD/PAST.shtml
20. Pyle, G. and Couture, P., Nickel. In *Fish physiology*, 2011. vol. 31, part A, p. 253-289. Academic Press.
21. Tchounwou, P.B., Newsome, C., Williams, J., Glass, K., Copper-induced cytotoxicity and transcriptional activation of stress genes in human liver carcinoma (HepG2) cells. In *Metal ions in biology and medicine: proceedings of the International Symposium on Metal Ions in Biology and Medicine*. 2008, vol. 10, p. 285. NIH Public Access.
22. Tchounwou, P.B., Yedjou, C.G., Patlolla, A.K. and Sutton, D.J., Heavy metal toxicity and the environment. In *Molecular, clinical and environmental toxicology*, ISBN 978-3-7643-8340-4, 2012, p.133-164.
23. Vallee, B.L., Falchuk, K.H., The biochemical basis of zinc physiology. In. *Physiological reviews*. ISSN 1522-1210, 1993, vol. 73, no. 1, p. 79-118.
24. Verkleji, J.A.S., The effects of heavy metals stress on higher plants and their use as bio monitors. In *Plant as bioindicators: indicators of heavy metals in the terrestrial environment*. 1993, VCH, New York, p.415-424.
25. Verstraeten, S.V., Aimo, L. and Oteiza, P.I., Aluminium and lead: molecular mechanisms of brain toxicity. In *Archives of toxicology*. ISSN 1432-0738, 2008, vol.82, no. 11, p.789-802.

26. Vincent, J.B. The biochemistry of chromium. In. *The Journal of nutrition*. ISSN 1541-6100, 2000, vol. 130, no. 4, p. 715-718.
27. Vranić, D., Baltić, Z. M., Trbović, D., Dinović-Stojanović, J., et al. Fingerlings and marketable size rainbow trout (Oncorhynchus mykiss): Proximate composition, cholesterol content and fatty acid profile in fillets. In *Tehnologija Mesa*. ISSN 0494-9846, 2012, vol. 53, p. 26–35.
28. Wong, P.K., Mutagenicity of heavy metals. In *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. ISSN 0007-4861, 1988, vol. 40, no. 4, p.597-603.
29. World Health Organization, 1996. Trace elements in human nutrition and health. World Health Organization.

Kontaktná adresa: Jakabová Silvia, Institute of Food Sciences, Slovak university of agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic; E-mail: jakabova@is.uniag.sk

VAJEČNÁ ŠKRUPINA AKO OCHRANNÁ BARIÉRA PRED KONTAMINÁCIOU VAJEČNÉHO OBSAHU PLESNIVÝCH VAJEC

EGGSHELL AS A BARRIER AGAINST CONTAMINATION OF THE EGG CONTENTS OF MOLDY EGGS

Jevinová Pavlína, Pipová Monika, Regecová Ivana

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

ABSTRACT

The work presents the results of the determination of the number of yeasts and molds on the egg shell and in the egg content of stored for 35 days at 15 °C. We recorded significantly higher numbers of micromycetes on the eggshell surface from the 14th day of storage (3.48 ± 3.53 - 3.68 ± 2.65 log CFU.ml^{-1}). The presence of micromycetes in their egg contents was not confirmed at this time of storage. By day 14, mycelial forms were already visible on the surface of the shells of some of the eggs tested. In the following days of storage, the number of micromycetes on the surface of the shells increased and the number of eggs with their visible growth increased. The number of micromycetes on the surface of the shell on day 35 ranged from 5.97 ± 4.95 - 5.53 ± 5.63 log CFU.ml^{-1} depending on the culture medium. The number of micromycetes in the egg contents from the 21st day of storage ranged from 1.20 ± 1.18 - 1.45 ± 1.26 log CFU.g^{-1} on the DRBC culture medium and 0.93 ± 0.90 - 1, 46 ± 1.28 log CFU.g^{-1} on the DG-18 culture medium. In the tested samples, we did not record penetration of the hyphae through the eggshell into the egg contents. The results of this study confirm the important role of eggshell as a protective barrier against contamination of egg contents by micromycetes.

Keywords: egg, micromycetes, mold, DRBC, DG-18

ÚVOD

Konzumné vajcia sú zdravé potraviny živočíšneho pôvodu, ktoré sa konzumujú, spracúvajú a používajú na celom svete. Vzhľadom na vysokú spotrebu vajec je dôležité zaručiť vysoký štandard bezpečnosti spotrebiteľa počas výrobného procesu. Vedci preto vykonávajú výskum s cieľom identifikovať potenciálne riziká pre zdravie spotrebiteľov. Väčšina ich pozornosti sa sústreďuje na bakteriálnu mikroflóru (De Reu et al., 2006; Gantois et al., 2009; Corry, 2007). Najnovšie štúdie však poukazujú na hrozbu spôsobenú kontamináciou vaječných

škrupín mikroskopickými hubami (Gros, 2015). Cieľom tejto štúdie bolo stanoviť, aké je riziko zaplesnivenia vajec skladovaných v zabalených paletách počas doby minimálnej trvanlivosti (28 dní) a či v uvedenom časovom horizonte sú schopne mikroskopické vláknité huby (plesne) penetrovať do vaječného obsahu.

MATERIÁL A METODIKA

V tejto štúdii sme mikrobiologickému vyšetreniu zameranému na stanovenie počtu kvasiniek a plesni na povrchu vaječnej škrupiny a vo vaječnom obsahu podrobili celkovo 90 ks vajec s bielou škrupinou pochádzajúcich z chovov v obohatených klietkach. Vajcia boli skladované 35 dní pri 15 °C a vyšetrované v 1. deň naskladnenia a následne v 7-dňových intervaloch po 15 ks z rôznych časti palety zabalenej fóliou z PVC (počet vajec na palete 6480 ks). Počty kvasiniek a plesní v testovaných vzorkách boli stanovené podľa pokynov STN ISO 21527 časť 1 a 2. Základnú suspenziu pri stanovení počtu kvasiniek a plesní na povrchu vaječnej škrupiny sme pripravili oplachovou metódou (Cupáková a kol., 2010). V prípade stanovenia počtu mikromycét vo vaječnom obsahu sme vaječnú škrupinu dôkladne dekontaminovali 96 % benzínalkoholom. Aseptickým spôsobom sme oddelili vaječný obsah od vaječnej škrupiny a dôkladne ho zhomogenizovali. Následne sme základnú suspenziu pripravili homogenizáciou 10 g vaječného obsahu s 90 ml riediaceho roztoku. Desaťnásobné riedenia sme pripravili podľa pokynov STN EN ISO 6887-1. Zvolené príslušné riedenia boli inokulované na povrch kultivačných médií DRBC a DG-18 metódou rozteru. Ako riediaci roztok sme použili 0,1 % peptonovú vodu.

VÝSLEDKY

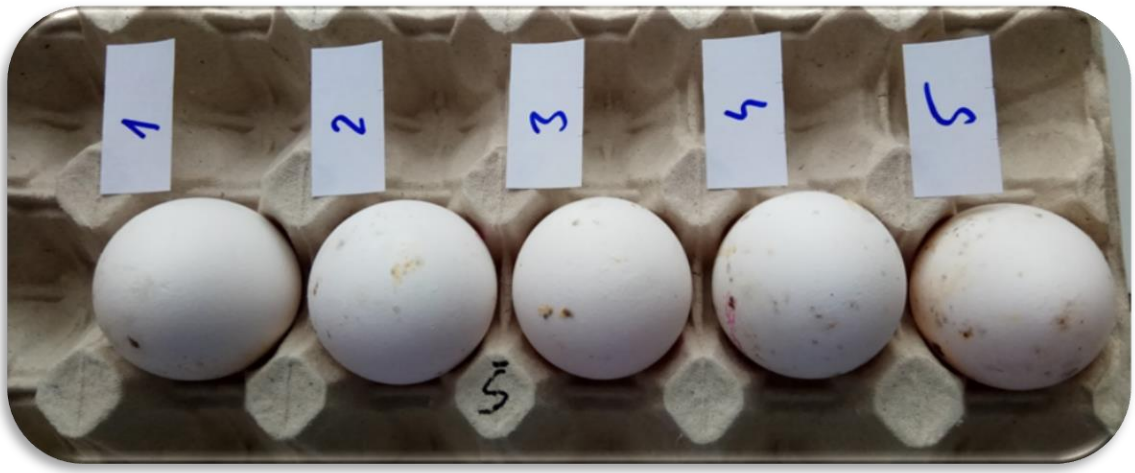
V tabuľke č. 1 sú uvedené výsledky stanovenia počtu mikromycét na vaječnej škrupine a vo vaječnom obsahu skladovaných vajec pri teplote 15 °C. Ako vyplýva z uvedených výsledkov výrazne vyššie počty uvedených mikroskopických húb sme zaznamenali od 14. dňa skladovania (3,48 ± 3,53 – 3,68 ± 2,65 log KTJ.ml^{-1}). Na povrchu škrupín niektorých testovaných vajec nachádzajúcich sa v strednej a spodnej časti palety už boli viditeľné formy mycélia. V nasledujúcich dňoch skladovania sa počty mikromycét zvyšovali a zvyšoval sa počet vajec s ich viditeľným rastom na povrchu vaječnej škrupiny (Obrázok č. 1).

Tabuľka č. 1, Počet mikromycét na povrchu vaječnej škrupiny a vo vaječnom obsahu

Doba skladovania	DRBC		DG-18	
	Vaječná škrupiny (log KTJ.ml^{-1})	Vaječný obsah (KTJ.g^{-1})	Vaječná škrupiny (log KTJ. ml^{-1})	Vaječný obsah (KTJ. ml^{-1})
1.deň	1,57 ± 1,40	< 1	1,11 ± 5,40	< 1
7. deň	1,97 ± 1,97	< 1	2,04 ± 1,88	< 1
14. deň	3,48 ± 3,53	< 1	3,68 ± 2,65	< 1
21. deň	5,30 ± 5,36	1,36 ±1,18	5,51 ± 5,40	1,46 ± 1,28
28. deň	5,79 ± 5,63	1,45 ± 1,26	5,92 ± 5,87	0,93 ± 0,90
35. deň	5,47 ± 4,95	1,20 ± 1,18	5,53 ± 5,63	1,08 ± 0,95

Zdroj: vlastná tabuľka

Obrázok č. 1, Plesnivé testované vajcia

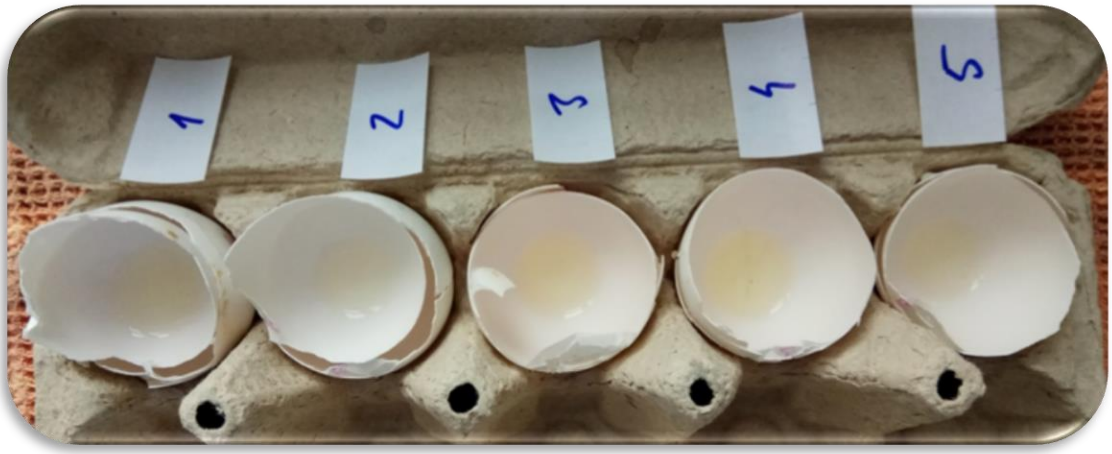


Zdroj: Vlastný obrázok

Počet mikromycét na povrchu škrupiny sa na 35. deň pohyboval v rozsahu 5,97 ± 4,95 – 5,53 ± 5,63 log KTJ.ml^{-1} v závislosti od kultivačného média. Z uvedených výsledkov ďalej vyplýva, že prítomnosť mikromycét nebola potvrdená vo vzorkách vajec skladovaných do14. dňa, kedy sme už na povrchu škrupiny pozorovali ich rast. V nasledujúcich dňoch boli vo vaječnom obsahu stanovené radovo nižšie počty mikromycét v porovnaní s ich počtom na povrchu vaječnej škrupiny. Počet mikromycét sa vo vaječnom obsahu od 21. dňa skladovania pohyboval v rozsahu 1,20 ± 1,18 – 1,45 ± 1,26 log KTJ.g^{-1} na kultivačnom médiu DRBC a 0,93

± 0,90 – 1,46 ± 1,28 log KTJ.g^{-1}. Na DRBC médiu boli stanovené vyššie počty vo vaječnom obsahu a na DG-18 na povrchu vaječnej škrupiny (Tabuľka č. 1). V testovaných vzorkách sme ani na 35. deň nezaznamenali penetráciu hýf cez vaječnú škrupinu do vaječného obsahu (Obrázok č.2).

Obrázok č. 2 Vnútorná strana vaječnej škrupiny testovaných plesnivých vajec



Zdroj: Vlastný obrázok

DISKUSIA

S výnimkou endogénnej kontaminácie obsah čerstvo znesených vajec zvyčajne nevykazuje prítomnosť mikroorganizmov. Riziko kontaminácie obsahu vajec súvisí s prenikaním mikroorganizmov z vonkajšieho prostredia cez prirodzené ochranné bariéry vajec (Vlčková et al., 2018). Vaječná škrupina sa kontaminuje rôznymi mikroorganizmami vrátane spór mikroskopických vláknitých húb bezprostredne po znáške a je výsledkom priameho kontaktu s kontaminovanými povrchmi, podlahovou podstielkou alebo hniezdnymi materiálmi (De Reu et al., 2006). Spóry plesní sú trvalo prítomné na povrchu vaječných škrupín. Pri skladovaní vo vhodných podmienkach (t.j. pri nízkej teplote a vysokej relatívnej vlhkosti) sa pozoruje klíčenie spór a rast kontaminujúcej mykoflóry. Výsledky tejto štúdie potvrdili, že ku zaplesniveniu vajec balených v PVC fólii došlo na 14. deň skladovania a to hlavne vajec nachádzajúcich sa v strede a dolnej časti palety, kde predpokladáme, že došlo k výraznejšiemu zvýšeniu relatívnej vlhkosti. Počas skladovania vajec ako to uvádzajú Yimenu et al. (2018) dochádza k prestupu vodných pár a oxid uhličitého cez póry vaječnej škrupiny. Tým, že vajíčka boli na palete zabalené PVC fóliou v priestore okolo nich došlo k zvýšeniu relatívnej vlhkosti, čo mohlo byť bezprostrednou príčinou ich plesnivenia.

Vaječná škrupina a jej kutikula sú prvou obrannou líniou pred priľnutými a prenikajúcimi mikroorganizmami, poskytujú ochranu pred patogénmi a zároveň robustnú nádobu pre obsah vajíčka. Mikrobiálne patogény sa môžu dostať do vajíčka cez póry, ktoré perforujú škrupinu vajíčka (Muñoz et al., 2015). Avšak vonkajšie otvory dýchacích pórov sú zvyčajne pokryté bielkovinovou kutikulou, ktorá zasahuje do pórov až do 50 µm a obmedzuje vstup bakteriálnych patogénov (Sparks a Board, 1985). Hýfy mikroskopických vláknitých húb sú schopné preniknúť cez póry škrupiny do obsahu vajec. Tento proces je sprevádzaný deštrukciou oboch membrán škrupiny. V konečnom štádiu rozkladu plesní sa pozoruje koagulácia alebo želatinácia vaječného bielka a vzniká nepríjemný „plesňový“ zápach, ktorý pretrváva aj po tepelnom spracovaní (Tančinová et al., 2017). Takýmto spôsobom sa konzumné vajcia znehodnotia a sú nevhodné na ľudskú spotrebu. V tejto štúdii sme nezaznamenali prestup hýf cez neporušenú vaječnú škrupinu ani po 21 dňoch od spozorovania ich rastu na povrchu škrupiny. Z týchto výsledkov vyplýva, že kutikula vaječnej škrupiny obmedzuje aj prienik hýf, pričom hrúbka kutikulovej zátky a dĺžka pórov môže byť ovplyvnená aj spôsobom chovu nosníc. Mikroskopická analýza vaječnej škrupiny odhalila, že hrúbka kutikulovej zátky a dĺžka pórov bola vyššia u vajec z voľného výbehu v porovnaní s vajíčkami s konvenčných chovov (Kulshreshtha et al., 2021). Autori zároveň uvádzajú, že vaječné škrupiny z alternatívneho chovu v obohatenej klietke a z voľného chovu mali vyššiu celkovú kutikulu v porovnaní s konvenčnými klietkami.

ZÁVER

Záverom môžeme konštatovať, že v prípade skladovania vajec na palete zabalenej PVC fóliou existuje reálne riziko klíčenia spór a rastu mikroskopických vláknitých húb (plesní) na povrchu vaječnej škrupiny od 14. dňa skladovania. V nasledujúcich dňoch skladovania sa počty mikromycét na povrchu škrupín zvyšujú a zvyšuje sa aj počet vajec s ich viditeľným rastom. Na základe stanovených počtov mikromycét môžeme ďalej konštatovať, že kontaminácia vaječného obsahu v počiatočnej fáze rastu mikromycét na povrchu škrupiny je veľmi nízka. Výsledky tejto štúdie potvrdzujú významnú úlohu vaječnej škrupiny ako ochrannej bariéry pred kontamináciou vaječného obsahu mikromycétami. V testovaných vzorkách sme nezaznamenali ani po 21 dňoch od spozorovania rastu mikromycét na povrchu škrupiny penetráciu hýf cez neporušenú vaječnú škrupinu a vo vaječnom obsahu sme stanovili radovo nižšie počty mikromycét ako na povrchu škrupiny.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená projektom KEGA č. 013UVLF-4/2021.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. De Reu, K.; Grijspeerdt, W.; Messensa, M.; Heyndrickxa, M.; Uyttendaeleb, J.; Debevereb, L.; Hermana, L. Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including Salmonella enteritidis. Int. J. Food Microbiol. 2006, 112, pp. 2532–2560.
2. Gantois, I.; Ducatelle, R.; Pasmans, F.; Haesebrouck, F.; Gast, R.; Humphrey, T.J.; Van Immerseel, F. Mechanisms of egg contamination by Salmonella enteritidis. FEMS Microbiol. Lett. 2009, 33, pp. 718–738.
3. Corry, J.E.L. Microbiological analysis of eggs and egg products. In Microbiological Analysis of Red Meat, Poultry and Eggs; Mead Red, G.C., Ed.; CRC Press: Cambridge, UK, 2007; pp. 183–201.
4. Gros, R.V.; Nichita, I.; Şereş, M.; Ilie, M.S.; Marcu, A.; Cucerzan, A.; Tîrziu, E. Study of the fungi dynamics in a poultry house with permanent litter. Lucr. St. Med. Vet. 2015, 48, 2572–2662.
5. Vlčková, J.; Tůmová, E.; Ketta, M.; Englmaierová, M.; Chodová, D. Effect of housing system and age of laying hens on eggshell quality, microbial contamination, and penetration of microorganisms into eggs. *Czech J. Anim. Sci.* 2018, pp. 63, 51–60.
6. Cupáková, Š.; Karpíšková, R.; Necidová, L. Mikrobiologie potravin. Praktická cvičení, 2nd ed.; University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences: Brno, Czech Republic, 2010; pp. 30–31. ISBN 978-80-7305-126-6
7. Sparks, N.; Board, R. Bacterial Penetration of the Recently Oviposited Shell of Hens' Eggs. Aust. Vet. J. 1985, 62, pp. 169–170.
8. Muñoz, A.; Dominguez-Gasca, N.; Jimenez-Lopez, C.; Rodriguez-Navarro, A.B. Importance of Eggshell Cuticle Composition and Maturity for Avoiding Trans-Shell Salmonella Contamination in Chicken Eggs. Food Control 2015, 55, pp. 31–38.
9. Kulshreshtha, G.; Benavides-Reyes, C.; RodriguezNavarro, A.B.; Diep, T.; Hincke, M.T. Impact of Different Layer Housing Systems on Eggshell Cuticle Quality and Salmonella Adherence in Table Eggs. Foods 2021, 10, pp. 2559.
10. Tančinová, D.; Mašková, Z.; Felšőciová, S.; Dovičičová, M.; Barboráková, Z. Úvod do potravinárskej mykológie, 1st ed.; Slovak University of Agriculture: Nitra, Slovakia, 2012, pp. 143–244. ISBN 97-880-5520-753-7

11. STN EN ISO 21527-1/O1 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).
12. STN EN ISO 21527-2/O1 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).
13. STN EN ISO 6887-1: 2017 Mikrobiológia potravinárskeho reťazca. Úprava analytických vzoriek, príprava základnej suspenzie a desaťnásobných riedení na mikrobiologické skúšanie. Časť 1: Všeobecné pokyny na prípravu základnej suspenzie a desaťnásobných riedení (ISO 6887-1: 2017).
14. Yimenu, S. M.; Koo, J.; Kim, J.-Y.; Kim, J.-H.; Kim, B.-S. Kinetic modeling impacts of relative humidity, storage temperature, and air flow velocity on various indices of hen egg freshness. *Poult. Sci.* 2018, 97, pp. 4384–4391.

Kontaktná adresa: Pavlína Jevinová, 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

FERMENTOVANÉ KRMIVÁ AKO PROSTRIEDOK ZLEPŠENIA NUTRIČNEJ KVALITY KURACIEHO MÄSA

FERMENTED FEED AS A WAY TO IMPROVE THE NUTRITIONAL QUALITY OF CHICKEN MEET

Klempová Tatiana[1], Slaný Ondrej[1], Čertík Milan[1], Marcinčák Slavomír[2]

[1]Ústav biotechnológie, Fakulta Chemickej a Potravinárskej Technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika

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

ABSTRACT

Lower filamentous fungi belonging to group *Zygomycetes* (*Mortierella*, *Thamnidium*, *Cunninghamella*, *Mucor*, *Rhizopus*, etc.) are well known as excellent producers of polyunsaturated fatty acids - PUFAs (gamma-linolenic acid, arachidonic acid, eicosapentaenoic acid etc.), sterols (ergosterol, desmosterol etc.), carotenoid pigments, coenzyme Q, enzymes (e.g., amylases, proteases, lipases) and amino-polysaccharides (chitin, chitosan). One of the promising natural technologies for production of these metabolites are based on fungal solid-state fermentations (SSF). SSF is fermentation technique employing microorganisms grown on solid substrate with absence of free water. Substrates used in SSF process are mostly wastes from agroindustry (brans, spent malt grains, distiller grains, etc.) what improves economy of the process. *Zygomycetes* fungi are not only able to grow in such conditions but also enrich fermented materials with mentioned bioactive compounds. Our work focuses on the effect of supplementation of fungal solid-state fermented agromaterials into chicken feed and quality of chicken meet.

Key words: fungi, solid-state fermentation, feed, poultry, quality

ÚVOD

Polosuché fermentácie (SSF; z angl. solid-state fermentations) pozná ľudstvo už dlho a považujú sa za najstaršiu fermentačnú technológiu. V uplynulom desaťročí došlo k obnove popularity SSF medzi výskumníkmi na celom svete. Tento fakt môžeme pripísať schopnosti SSF využívať poľnohospodárske odpady ako substrát, tieto odpady sú inak nedostatočne využité, čím sa SSF stáva lacnejšou alternatívou k submerznej fermentácii (SmF). SSF je

definovaná ako fermentácia, ktorá sa uskutočňuje v neprítomnosti alebo v prítomnosti malého množstva voľnej vody na tuhej matrici, ktorá obsahuje dostatok vlhkosti na podporu mikrobiálnej aktivity. Tuhá matrica je buď zdrojom nutrientov alebo môže slúžiť len ako nosič, ktorý je doplnený živinami pre mikrobiálny metabolizmus. SSF možno považovať za simuláciu podmienok prirodzeného prostredia mikroorganizmov, resp. priblíženiu týchto podmienok, najmä pre vláknité huby, čo zabezpečuje vyššiu produktivitu žiadaných metabolitov. SSF sa používa na výrobu tradičných fermentovaných potravín ako napríklad "koji", indonézske "tempeh" a indické "ragi" (1). Existuje mnoho dôležitých faktorov, ktoré vplývajú na úspech konkrétnej technológie, preto je potrebné brať do úvahy vývoj bioprocesov a takisto SSF. Tieto aspekty zahŕňajú výber mikroorganizmov a substrátov, optimálne parametre procesu a tiež čistotu konečného produktu. Huby a kvasinky sú považované za vhodné mikroorganizmy pre SSF z hľadiska vodnej aktivity, kde sú naopak baktérie považované za nevhodné (2). Výhodami oproti iným typom fermentácii sú vyššia produktivita fermentácie, vyššia koncová koncentrácia produktov, vyššia stabilita produktu, nižšia katabolická represia, a v neposlednom rade aj nižší dopyt po sterilite kvôli nízkej aktivite vody v SSF (3).

Nižšie vláknité huby patriace do radu *Mucorles* a *Mortierellales* sú známi ako producenti mnohých biologicky aktívnych látok a to najmä lipofilného charakteru ako sú polynenasýtené mastné kyseliny (PNMK) a karotenoidné pigmenty (4). PNMK ako je kys. arachidónová (ARA) alebo kys. eikosapentaénová (GLA) majú schopnosť regulácie homeostázy a zápalových procesov, ktoré sú spájané s širokou škálou zápalových ochorení, buď ich priamym pôsobením alebo ich transformáciou na lokálne bioaktívne metabolity (5). Kys. gama-linolénová (GLA) patrí rovnako medzi dôležité prekurzory leukotriénov, ktoré ovplyvňujú zápalové procesy v tele. Karotenoidy sú terpenoidné pigmenty pozostávajúce zo 40 atómov uhlíka. Delia sa na karotény a xantofyly. Niektoré karotenoidy obsahujú vo svojej molekule len atómy uhlíka a vodíka, ako napríklad aj β-karotén a torulén, zatiaľ čo v molekulách xantofylov sa tiež vyskytujú atómy kyslíka. Karotenoidy často slúžia ako prekurzory vitamínu A. Táto vlastnosť sa využíva pri ich použití ako výživových doplnkov. Významné sú tiež ich antioxidačné vlastnosti, keďže dvojité väzby, ktoré obsahujú, sú schopné viazať atómy kyslíka (6).

S pojenie týchto vláknitých húb a procesu SSF tak predstavuje jednoduchý spôsob prípravy bioproduktov obohatených o takéto metabolity, ktoré sú zároveň ekonomicky výhodné, keďže využívajú rôzne odpadové materiály a substráty. Ich ekonomická výhoda zároveň spočíva v tom, že takto získaný bioprodukt môže byť celý využití ako aditívum do výživy a odpadá cenovo náročný „down-stream“.

V našej práci sme sa teda zamerali na prípravu rôznych typov fermentovaných produktov pomocou SSF, ich aplikáciu vo výžive hydiny a zároveň na sledovanie vplyvu tejto prímesi na metabolizmus kurčiat.

MATERIÁL A METODIKA

Pri práci boli použité kmene nižších vláknitých získaných zo zbierky kultúr húb v Prahe a to konkrétne: *Thamnidium elegans* CCF1456, *Cunninghamella elegans* CCF2591 ako producenti GLA, *Umbelopsis isabellina* CCF2412 ako producent GLA a zároveň betakaroténu, *Mortierella alpina* CCF2861 ako producent ARA a EPA. Kmene boli udržiavané na Petriho miskách na PDA (zemiakovo-glukózovom agare) pri 4°C a pravidelne pasážované každé 3 mesiace. Na prípravu spórovej suspenzie určenej pre inokuláciu SSF boli tieto kmene naočkované na ryžu, kultivované 7 resp. 10 dní pri teplote 25°C resp. 20°C. Spóry z ryže boli získané premytím sterilnou vodou s Tweenom 80 (0,05% v/v). Výsledná spórová suspenzia bola nariedená na koncentráciu 1 x 10^5 spór/mL.

Ako substráty pre SSF boli použité pšeničné otruby a kukuričný šrot. Tieto substráty boli navážené do HDPE vreciek (30 x 40 cm), zvlhčené vodou (pomer 1:1) a následne sterilizované pri 105°C, počas 1 hodiny. Po vychladnutí boli inokulované pripravenou spórovou suspenziou – 2 mL/10 g substrátu.

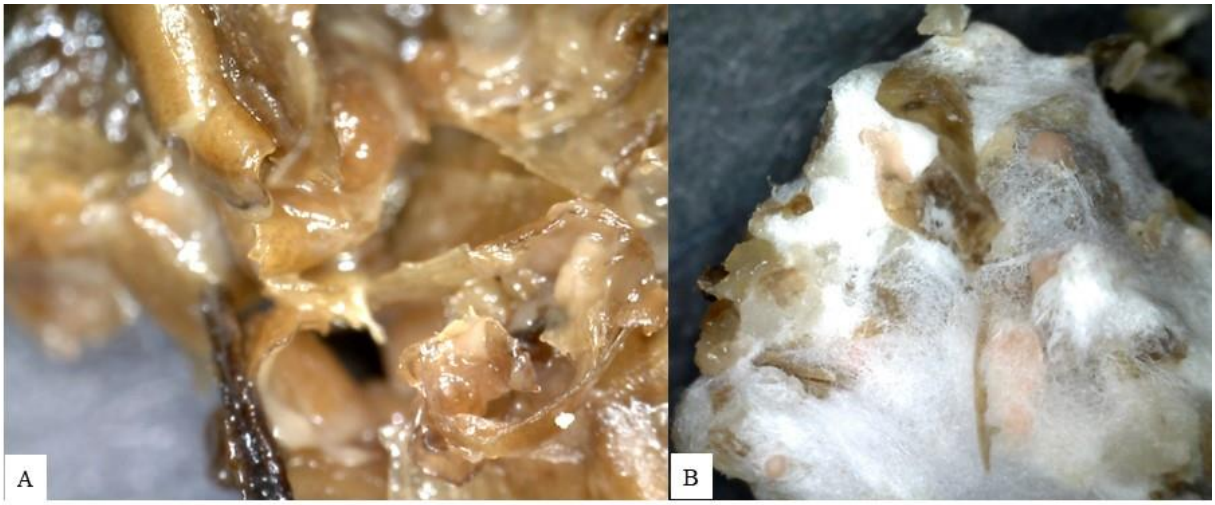
Kultivácia prebiehala 5-14 dní v závislosti od použitého mikrobiálneho kmeňa a po ukončení kultivácie boli získané fermentované produkty vysušené a zhomogenizované na prášok. Takto pripravené fermentované produkty boli pridávané v rôznych pomeroch ku komerčne využívanému krmivu pre brojlerové kurčatá.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Cieľom fermentačných experimentov so zameraním na možnú budúcu komerčnú produkciu fermentovaných aditív do hydinárskeho priemyslu bolo v prvom kroku overiť možnú aplikáciu rôznych zygomycétnych kmeňov vláknitých húb. Úspešne boli v niekoľkých fázach otestované kmeňe *Mortierella alpina*, *Thamnidium elegans*, *Umbelopsis isabellina*, *Cunninghamella elegans*. Fermentácia prebiehala na niekoľkých typoch kultivačných substrátov. Naším cieľom bolo primárne vždy zvýhodniť ekonomickú bilanciu celého procesu, preto bolo snahou aplikovať okrem nutrične bohatých komplexných substrátov (akým je napr. kukuričný šrot) najmä rôzne odpadné frakcie z agroindustriálnych výrob. Majoritným typom takéhoto substrátu boli pšeničné otruby, ktoré vykazovali aj pri makroskopickom pozorovaní výbornú schopnosť poskytnúť kultivovanému mikroorganizmu dostatočnú priestorovú oporu

a naviac poskytovali potrebné množstvo nevyhnutných rastových faktorov. Dôkazom dobrej utilizácie pšeničných otrúb bolo homogénne prerastenie celého povrchu používaných pšeničných otrúb.

Obrázok č. 1 Pšeničné otruby porastené kmeňom A) *Umbelopsis isabellina* B) *Cunninghamella elegans*



Ďalším logickým krokom bolo po úspešnom overení možnej utilizácie vstupných substrátov navýšenie produkcie žiadaných metabolitov – pričom sa jednalo najmä o optimalizačné experimenty zamerané na zvýšenie výťažku vysokohodnotných PNMK – GLA a EPA. V priebehu fermentačných experimentov boli testované rôzne technologické prístupy – odlišná dĺžka kultivácie, kultivačné teploty či miera vlhkosti substrátu, prídavok submerzného mycélia alebo exogénnych olejov (napr. ľanový olej, príp. prídavok surových ľanových výliskov). Vďaka tomu sme dokázali zoptimalizovať celý proces a získať fermentované materiály zo zvýšeným obsahom všetkých žiadaných metabolitov. Priemerné obsahy GLA boli 2 mg/g fermentovaného produktu, ARA 3 mg/g fermentovaného materiálu a EPA 0.4 mg/g fermentovaného materiálu (7, 8).

Získané fermentované krmivo však nedisponovalo len zvýšeným obsahom žiadaných PNMK, ale vďaka procesu SSF s využitím zygomycétnych kmeňov vláknitých húb sme dokázali úspešne ovplyvniť aj celý profil zloženia mastných kyselín, pričom kľúčová bola najmä úprava pomeru n-6/n-3 mastných kyselín, čo sa následne pozitívne prejavilo aj po výkrme testovaných kurčiat, kedy bol sledovaný zlepšený pomer týchto skupín MK v prospech n-3 mastných kyselín v prsnej aj stehennej svalovine. Taktiež bola pozorovaná aj samotná zvýšená akumulácia zdraviu prospešných PNMK – v prsnej aj stehennej svalovine bol zaznamenaný nárast obsahu či už GLA, tak rovnako aj ARA a EPA. Naviac vďaka zvýšenej

aktivite niekoľkých enzýmov, napr. amylázy, dochádzalo pri výkrme kurčiat potenciálne aj k zlepšenej využiteľnosti (vstrebateľnosti) krmiva do organizmu testovaných zvierat, čo viedlo k zvýšenej jatočnej hmotnosti kurčiat, resp. k nižšej spotrebe potrebných kŕmnych zmesí pri zachovaní hmotnosti kurčiat. Získané mäso kurčiat sa vyznačovalo taktiež aj zníženým obsahom cholesterolu.

V neposlednom rade boli skúmané taktiež imunitné charakteristiky vtákov po aplikácii krmiva s prídavkom fermentovaného materiálu. Zlepšená imunitná odpoveď testovaných kurčiat predstavuje sľubný podklad pre ďalšie experimenty, kedy by mohla byť dosiahnutá zlepšená imunita a zdravie kurčiat aj bez aplikácie nežiaducich antibiotík (9, 10, 11, 12, 13, 14).

ZÁVER

Procesom SSF boli úspešne pripravené rôzne fermentované materiály, ktoré boli následne pridávané ako aditívum do kŕmnych zmesí brojlerových kurčiat. Metabolizmus testovaných zvierat bol následne schopný efektívne utilizovať dostupné kŕmne zmesi s prídavkom fermentovaného materiálu, čo viedlo k zvýšenej akumulácii vysokohodnotných a zdraviu prospešných PNMK. Za jeden z najväčších benefitov aplikácie takýchto kŕmnych zmesí považujeme zlepšené imunologické parametre testovaných zvierat.

POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla s finančnou podporou projektu APVV-18-0039 Agentúry pre podporu vedy a výskumu Slovenskej republiky.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. SINGHANIA, R. R. et al. Solid State Fermentation. In Industrial Biotechnology: Products and Processes. (ed. Liao, J.C., Wittmann, Ch., Lee, S.Y., Nielsen, J., Stephanopoulos) G Wiley – VCH Verlag GMBH & Co, ISBN 978-3-527-34181-8, 187-189
2. VIMALA DEVI, P.S. et al. Cost-effective production of Bacillus thuringiensis by solid-state fermentation. Journal of Invertebrate Pathology, ISSN 0022-2011, 2005, vol. 88, p. 163-168
3. SINGHANIA, R.R. et al. Recent advances in solid-state fermentation. Biochemical Engineering Journal, ISSN 1369-703X, 2009, vol. 44, no. 1, p. 13-18

4. ČERTÍK, M. et al. Biotechnology for Functional Improvement of Cereal-based Materials Enriched with Polyunsaturated Fatty Acids and Pigments. *European Journal of Lipid Science and Technology*, ISSN 1438-7697, 2013, vol. 115, p. 1247-1256;
5. BUCZYNSKI, M.W. et al. Thematic Review Series: Proteomics. An integrated omics analysis of eicosanoid biology. *Journal of Lipid Research*, ISSN 0022-2275, 2009, vol. 50, no. 6, p. 1015-1038
6. MATA-GOMÉZ, L. C. Biotechnological production of carotenoids by yeasts: an overview. *Microbial Cell Factories*. ISSN 1475-2859, 2014, vol. 13, art. no. 12
7. SLANÝ, O. et al. Production of high-value bioproducts enriched with gamma-linolenic acid and beta-carotene by filamentous fungi Umbelopsis isabellina using solid-state fermentations. *Annals of Microbiology*. ISSN 1590-4261, 2020, vol. 70, no. 1, art. no. 5
8. KLEMPOVÁ, T. et al. Dual production of polyunsaturated fatty acids and beta-carotene with *Mucor wosnessenskii* by the process of solid-state fermentation using agro-industrial waste. *Journal of Biotechnology*, ISSN 0168-1656, 2020, vol. 311, p. 1-11
9. KARAFFOVÁ, V. et al. Immune Response and Fatty Acid Profile of Eggs from Laying Hens Fed Fermented Feed Rich in Polyunsaturated Fatty Acids. *Fermentation*, ISSN 2311-5637, 2022, vol. 8, no. 3., art. no. 93
10. BARTKOVSKÝ, M. et al. Effect of fungal solid-state fermented product enriched with gamma-linolenic acid and beta-carotene on blood biochemistry and immunology of broiler chickens. *Polish Journal of Veterinary Science*, ISSN 1505-1773, 2020, vol. 23, no. 2, p. 247-254
11. SEMJON, B. et al. Effect of Solid-State Fermented Wheat Bran Supplemented with Agrimony Extract on Growth Performance, Fatty Acid Profile, and Meat Quality of Broiler Chickens. *Animals*, ISSN 2076-2615, 2020, vol. 10, no. 6, art. no. 942
12. MARCINČÁK, S. et al. Effect of Fungal Solid-State Fermented Product in Broiler Chicken Nutrition on Quality and Safety of Produced Breast Meat. ISSN 2314-6133, 2018, art. no. 2609548
13. MUDROŇOVÁ, D. et al. Effect of fungal gamma-linolenic acid and beta-carotene containing prefermented feed on immunity and gut of broiler chicken. *Poultry Science*. ISSN 0032-5791, 2018, vol. 97, no. 12, p. 4211-4218
14. KOVALÍK, P. et al. Effect of feeding of 5% prefermented cereal-based bioproduct enriched with gamma-linolenic acid on production indicators, chemical composition,

fatty acid profile and lipid oxidation of broiler meat. *Italian Journal of Animal Science*. ISSN 1594-4077, 2018, vol. 17, no. 2, p. 408-417

Kontaktná adresa: Klempová Tatiana, Institute of Biotechnology, Faculty of Chemical and Food Technology STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovak Republic; E-mail: tatiana.klempova@stuba.sk

VPLYV HUMÍNOVÝCH LÁTOK A PROBIOTICKEJ KULTÚRY NA ZRECIE PROCESY V MÄSE KURČIAT

EFFECT OF HUMINIC SUBSTANCES AND PROBIOTIC CULTURE ON RIPENING PROCESS IN POULTRY MEAT

Korénekova Beáta[1], Kožárová Ivona[1], Semjon Boris[1], Bartkovský Martin[1], Marcinčák Slavomír[1], Marcinčáková Dana[2]

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach,

Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín[1]

Katedra farmakológie a toxikológie[2]

ABSTRACT

The aim of study was to determine the effect of addition humic substances and probiotic culture on the course of the ripening process of poultry meat. Broiler chickens (160 pc) ROSS 308 were divided into 4 groups. Control group C was fed with complete feed mixtures, group H received extra feed 0.6 % HUMAC® Natur AFM MycotoxiSorb, group P received probiotic *Lactobacillus fermentum* 2I3 (1 ml/chicken/day) and group HP combination of humic substances and probiotic at same concentrations as a supplement. The slaughter of poultry was on the 39th day of experiment. Samples of the breast and thigh muscles were stored at 4 °C. Lactic acid, phosphates and pH values were analysed in muscles on the 1st and 7th day of storage. The highest increase in lactic acid levels was in group P during ripening process and in the comparison between the experimental groups. The HP group followed by the P group. In the case of phosphates, the increase in these groups was less pronounced. The observed changes reflected in a decrease in pH value in the given groups and have a positive effect on maturation processes in poultry meat.

Key words: poultry, muscle, humac substances, probiotic culture

ÚVOD

Na produkciu a kvalitu hydinového mäsa vplývajú rôzne faktory, ako sú plemeno, pohlavie, genetické faktory a výživa. Čoraz viac sa tiež skúmajú vplyvy skrmovania prírodných látok ako prídavku do štandardných krmív pre hydinu. Sem patria aj humínové látky, ktoré sa bežne vyskytujú v prírode v pôde. Humínové látky pozostávajú z humusu, humínových kyselín, humínu a niektorých mikroelementov. Prídavok humínových látok pitnou

vodou alebo v diéte podporuje rast a prírastok hmotnosti u brojlerových kurčiat a zlepšuje sa hmotnosť a produkciu vajec u nosníc (Arif a kol., 2019, Oztruk et al., 2012).

Medzi nové trendy vo výžive kurčiat radíme aj aplikáciu probiotík, kde sa do popredia dostáva sledovanie takých parametrov ako je mäsová úžitkovosť, kvalitatívne a technologické vlastnosti mäsa. Probiotiká sú živé mikroorganizmy, ktoré, ak sa podávajú v primeranom množstve, prinášajú hostiteľovi zdravotné výhody. Účinky probiotík sa prejavujú pri využití živín, ovplyvnení črevnej mikroflóry, pri raste a znáške a zvýšení imunity hydiny (Jha et al., 2020). Probiotiká môžu slúžiť aj ako potenciálna alternatíva k antibiotikám v hydinárskom priemysle (Gupta a Das, 2013). Zmeny v rastovej výkonnosti často ovplyvňujú rôzne kvalitatívne vlastnosti mäsa a v tejto súvislosti čoraz novšie výskumy ukazujú, že používanie probiotík ako doplnkov stravy vykazujú potenciál ako prirodzený spôsob zlepšenia kvality hydinového mäsa (Popová, 2017). Medzi významné ukazovatele kvality mäsa patria hodnota pH ako aj hladiny kyseliny mliečnej a fosfátov. Cieľom práce bolo zistiť vplyv pridaných humínových látok a probiotík na tieto parametre v priebehu zrenia mäsa hydiny.

MATERIÁL A METODIKA

Brojlerové kurčatá mäsového hybridu ROSS 308 (Hydina Slovensko s.r.o.) vo veku 1 deň a v počte 160 kusov boli zahrnuté do experimentu a rozdelené do skupín. Kurčatá boli chované na hlbokej podstielke pri zabezpečení podmienok optimálnej mikroklímy. Všetky skupiny kurčiat boli kŕmené kompletnou kŕmnou zmesou (KKZ) a to BR1 od 1. do 10. dňa, BR2 od 11. do 27. dňa, BR3 od 28. dňa do 38. dňa výkrmu. Prvá kontrolná skupina (K) dostávala len KKZ, v 2. skupine (H) prijímali kurčatá od 2. dňa výkrmu krmivo obohatené s 0.6 % HUMAC® Natur AFM MycotoxiSorb, v 3. skupine (P) dostávali od 1. dňa výkrmu do vody probiotikum *Lactobacillus fermentum* 2I3 v dávke 1 ml na kurča a deň a v 4. skupine (HP) od 2. dňa výkrmu 0.6 % HUMAC® Natur AFM MycotoxiSorb a od 1. dňa výkrmu do vody *Lactobacillus fermentum* 2I3 v dávke 1 ml na kurča a deň. Prístupu kurčiat k vode bol *ad libitum*. Na 39. deň boli kurčatá usmrtené cervikálnou dislokáciou a jatočne opracované. Na analýzu zrecích procesov v mäse brojlerových kurčiat sa odobralo z každej skupiny 8 kusov kurčiat. Vykonal sa odber prsnej a stehennej svaloviny, ktoré boli uskladnené v chladničke pri 4° C. Fyzikálno–chemické parametre boli stanovené 24 h po porážke hydiny a to 1. deň pokusu a na 7. deň pokusu. Na stanovenie hodnôt kyseliny mliečnej a fosfátov v hydinovom mäse sa využívala metóda elektroforetickej analýzy, používaná na kontrolu zrenia mäsa hydiny. Kyselina mliečna (KM) a fosfáty (F) boli extrahované zo vzoriek destilovanou vodou. Filtrát vzoriek sa po zriedení analyzoval na Elektroforetickom analyzátore (EA 102, výrobca: Villa

Labeco s.r.o., SR) s vodivostným detektorom. Použitý bol vodiaci elektrolyt: 10 mmol HCl + β-alanín + 0,1% m-HEC a zakončujúci elektrolytu: 5 mmol kyselina kaprónová + 5 mmol TRIS. Výsledky analýz boli hodnotené programom ITP Pro 32. Hodnoty pH vzoriek boli určené pomocou sklenenej elektródy vo vodnom extrakte svaloviny pH-metrom (InoLab WTW 720). Štatistická analýza bola vykonaná v programe Microsoft Excel, 2013.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Po zabití zvierat anaeróbnym štiepením glykogénu vzniká v mäse konečný produkt kyselina mliečna (Scheffler a kol., 2013). Koncentrácie glykogénu v svalovine kolíšu v závislosti od výživy zvierat ale aj od stresu pred samotným jatočným usmrtením hydiny (Chauhan a kol., 2019). Pri hodnotení dynamiky KM počas zrecieho procesu (Tab. 1) v *prsnej svalovine* bol pozorovaný v pokusnej skupine P signifikantný vzostup ($p \leq 0,01$) hladiny KM na 7. deň oproti 1. dňu pokusu. V stehennej svalovine v pokusnej skupine HP bol zistený nárast KM na 7. deň pokusu.

Pri porovnaní hladín KM medzi pokusnými skupinami navzájom, boli v *prsnej svalovine* zaznamenané na 1. deň pokusu signifikantne ($p \leq 0,05$) vyššie hodnoty v skupine H a HP. Na 7. deň pokusu bola výrazne najvyššia hladina KM v skupine P a za ňou skupina H. V *stehennej svalovine* bola zistená najvyššia hladina KM na 1. deň pokusu v skupine P a za ňou v skupine H. Na 7. deň pokusu bola tiež výrazne najvyššia hladina KM v skupine P a za ňou v skupine HP.

Tab. 1 Hladiny kyseliny mliečnej (g/100g vz.) vo svalovine kurčiat

Parameter	Skupiny	Svalovina	1. deň	7. deň
Kyselina mliečna	K	Prsná	1,131±0,091	1,179±0,120
		Stehenná	0,832±0,106	0,856±0,085
	H	Prsná	1,260±0,086	1,240±0,076
		Stehenná	0,903±0,103	0,888±0,062
	P	Prsná	1,178±0,080	1,314±0,117**
		Stehenná	0,962±0,078	0,922±0,056
	HP	Prsná	1,255±0,095+	1,203±0,137
		Stehenná	0,875±0,112	0,917±0,073

*Signifikantné zmeny medzi 1. a 7. dňom pokusu v rámci jednej skupiny na hladine: * p≤0.05;** p≤0.01; ***p≤0.001*

Signifikantné zmeny medzi kontrolnou a pokusnými skupinou na hladine: + p≤0.05;++ p≤0.01; +++p≤0.001

Pri hodnotení zmien hladín fosfátov (Tab. 2) v priebehu zrecieho procesu v *prsnej svalovine* bolo pozorované vo všetkých skupinách vzostup priemernej hladiny fosfátov na 7. deň oproti 1. dňu. V prípade skupiny P bol tento vzostup signifikantný (p≤0,001). V *stehennej svalovine* bol zistený mierny nárast fosfátov v pokusnej skupine HP. Príčinou týchto postmortálnych zmien mohlo byť rozklad ATP na ADP až na fosfát v dôsledku stresových faktorov pred zabitím zvieraťa, čo spôsobilo vzostup fosfátov v priebehu pokusu.

Pri porovnaní priemerných hladín fosfátov medzi skupinami navzájom boli v *prsnej svalovine* zaznamenané v skupine H signifikantne najvyššie hodnoty (p≤0,05) na 1. deň pokusu v porovnaní so skupinou K. Na 7. deň pokusu bola najvyššia hodnota fosfátov v skupine H a za ňou v skupine HP. V prípade *stehennej svaloviny* bola zistená signifikantne najvyššia hladina fosfátov (p≤0,05) na 1. deň pokusu v skupine P oproti K. Na 7. deň pokusu bola pozorovaná najvyššia hladina fosfátov v skupine K a druhá najvyššia v skupine P.

Tab. 2 Hladiny fosfátov (g/100g vz.) vo svalovine kurčiat

Parameter	Skupiny	Svalovina	1. deň	7. deň
Fosfáty	K	Prsná	0,955±0,080	1,036±0,050
		Stehenná	0,856±0,131	0,878±0,055
	H	Prsná	1,024±0,035*	1,059±0,102
		Stehenná	0,769±0,058	0,756±0,058^{+++}
	P	Prsná	1,001±0,106	1,049±0,060***
		Stehenná	0,994±0,031*	0,842±0,050
	HP	Prsná	1,012±0,110	1,021±0,083
		Stehenná	0,835±0,091	0,869±0,065

Signifikantné zmeny medzi 1. a 7. dňom pokusu v rámci jednej skupiny na hladine: p≤0.05;** p≤0.01;***p≤0.001*

Signifikantné zmeny medzi kontrolnou a pokusnými skupinou na hladine: + p≤0.05;++ p≤0.01; +++p≤0.001

Pri hodnotení dynamiky priemerných hodnôt pH v *prsnej svalovine* (Tab. 3) bol pozorovaný vo všetkých skupinách pokles na 7. deň oproti 1. dňu, ktorý bol signifikantný v skupine H (p≤0,05), skupiny P a HP na hladinách významnosti (p≤0,001). V *stehennej svalovine* bol pozorovaný signifikantný pokles hodnôt pH na 7. deň pokusu oproti 1. dňu pokusu v prípade skupiny H a HP na hladine významnosti (p≤0,001) a skupiny P (p≤0,01).

Pri porovnaní priemerných hodnôt pH medzi skupinami navzájom, boli v *prsnej svalovine* zaznamenané najvyššie hodnoty na 1. deň pokusu v skupine HP a nižšia v skupine H. Signifikantne najvyššia hodnota pH (p≤0,05) bola v skupine HP na 7. deň pokusu. V prípade

stehennej svaloviny bola zistená najvyššia hodnota pH (p≤0,01) v skupine HP. Na 7. deň pokusu bola pozorovaná najvyššia hodnota v K, kým v pokusných skupinách H (p≤0,01) a v skupine HP (p≤0,001) boli hodnoty signifikantne nižšie.

Tab. 3 Hodnoty pH (g/100g vz.) vo svalovine kurčiat

Parameter	Skupiny	Svalovina	1. deň	7. deň
pH hodnota	K	Prsná	5,73±0,09	5,67±0,08
		Stehenná	5,95±0,18	5,96±0,09
	H	Prsná	5,79±0,03	5,69±0,09*
		Stehenná	5,88±0,07	5,83±0,07^{++}
	P	Prsná	5,76±0,11	5,65±0,08***
		Stehenná	5,91±0,08	5,85±0,07
	HP	Prsná	5,81±0,05	5,72±0,05^{***+}
		Stehenná	5,95±0,10	5,82±0,09^{+++}

Signifikantné zmeny medzi 1. a 7. dňom pokusu v rámci jednej skupiny na hladine: p≤0.05;** p≤0.01; ***p≤0.001*

Signifikantné zmeny medzi kontrolnou a pokusnými skupinou na hladine: + p≤0.05;++ p≤0.01; +++p≤0.001

Humínové látky patria medzi iónové meniče redukčného charakteru a tak môžu hrať dôležitú úlohu pri uvoľňovaní, či viazaní rôznych iónov, resp. pri úprave hodnôt pH (Marcinčák a kol., 2014). Na druhej strane probiotiká môžu znižovať hodnotu pH mäsa brojlerových kurčiat (Ali a Yahran, 2010). To môže byť spôsobené preventívnym účinkom probiotík proti rôznym mikroorganizmom hydiny (Khalafalla a kol., 2011) Pokles hodnôt pH medzi skupinou K a P sa potvrdil na 7. deň pokusu.

Mäso kurčiat patrí medzi potraviny, ktoré rýchlo podliehajú kazeniu hlavne kvôli svojmu chemickému zloženiu, hodnote pH a priaznivej vodnej aktivite (Doulgeraki a kol., 2012). Znížením skladovacej teploty mäsa na hodnoty 2–5 °C sa dokáže predĺžiť jeho údržnosť a obmedziť rast baktérií, ktoré pre svoj rast využívajú tiež glukózu obsiahnutú v svalovom tkanive. Pri zvýšených hodnotách glukózy sa začnú objavovať zmeny vyvolávajúce kazenie mäsa. Teplota sa javí ako najdôležitejší faktor bezpečnosti mäsa (Nychas a kol., 2008). Optimálna teplota uskladnenia 4 °C u mäsa brojlerových kurčiat v priebehu pokusu bola stála a bez výkyvov.

Počas celého sledovaného obdobia boli vyššie hladiny kyseliny mliečnej a fosfátov v prsnej než v stehennej svalovine, čo malo za následok nižšie hodnoty pH. Rôznorodosť v kvalite mäsa medzi jednotlivými svalmi vyplýva zo zastúpenia rôznych typov svalových

vlákien a ich rozdielnych kontraktilných, metabolických, fyziologických chemických a morfologických charakteristík (Realini a kol., 2013).

Porovnaním získaných výsledkov bol zistený najvyšší nárast hladín kyseliny mliečnej v skupine P s probiotikami v priebehu zrecieho procesu ako aj medzi pokusnými skupinami navzájom. Za touto skupinou nasledovala v účinnosti skupina HP. V prípade fosfátov bol nárast v týchto skupinách menej výrazný. Zistené zmeny sa odrážali poklesom pH v daných skupinách.

ZÁVER

Záverom môžeme konštatovať, že probiotiká a humínové kyseliny podávané hydine samostatne, alebo v kombinácii ako doplnok vo výžive hydiny majú svoje opodstatnenie v kombinácii s kompletnými kŕmnymi zmesami, nakoľko môžu pozitívne ovplyvniť kvalitu ako aj priebeh zrecích procesov brojlerových kurčiat.

POĎAKOVANIE

Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny, Drive4SIFood 313011V336, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

LITERATÚRA

2. Ali, F.H. a Zahran, D.A.: Effect of growth enhanceres on quality of chicken meat during cold storage. Advance J.Food Sci and Technol., 2010, 2, 219–223.
3. Arif, M., Alagawany, M., Abd El-Hack, M.E., Saeed, M., Arain, M.A., Elnesr, S.S.: Humic acid as feed additive in poultry diets: a review, Iran, J. Vet. Res., 20, 3, 2019, 167–172.
4. Dougleraki, A.I., Nychas, G.- J. E.: Monitoring the succession of the biota grown on selective medium for pseudomonas during storage of minced beef with molecular-baset methods. Food Microb., 2013, 34, 62 – 69.
5. Gupta AR, Das S: The benefits of probiotics in poultry production: an overview. Int J Livest Res. 2013, 3, 18–22.
6. Chauhan, S., LeMaster, M.N., Clark, D., Foster, M.K., Miller, C.E., England, E.M.: Glycolysis and pH decline terminate prematurely in oxidative muscles despite the presence of excess glzcogen, Meat and Muscle,Biology, 2019, 9, 254 – 264.

7. Jha, R. Das,R., Oak, S., Mishra, P.: Probiotics (Direct-Fed Microbials) in Poultry Nutrition and Their Effects on Nutrient Utilization, Growth and Laying Performance, and Gut Health: A Systematic Review, Animals, 2020, 10, 1863, 1–18.
8. Khalaffala, F.H., Ali, F.H.M., Zahran, D.A., Mosa, A.M.: Influence of feed additives in quality of broiler carcasses, J. Wordlś Poult. Res., 2011, 2, 3, 40–47.
9. Marcinčák, S., Nagy, J., Marcinčáková, D., Vašková, J., Turek, P., Mellen, M.: Kvalita produkovaného mäsa po skrmovaní humínových kyselín, XLIV Lenfeldovy a Höklovy dny, Brno, 15-16.10, 2014, 130–133.
10. Nychas, G.J.E., Skandamis, P. N., Tassou, CH.C., Koutsoumanis, K.P.: Meat spoilage during distribution. Meat Sci., 2008, 78, 77 – 89.
11. Ozturk, E., Ocak, N., Turan, A., Erener, G., Altop, A., Cankaya, S. Performance, carcass, gastrointestinal tract and meat quality traits, and selected blood parameters of broilers fed diets supplemented with humic substances. J. Sci. Food. Agric., 2012, 92, 1, 59–65.
12. Popova, T.: Effect of probiotics in poultry for improving meat quality, Current Opinion in Food Science 2017, 14, 72–77.
13. Scheffler, T.S., Scheffler, J.M, Kasten, S.C., Socnicki, A.A., Berrard, D.E.: High glycolytic potential does not predict low ultimate pH in pork. Meat Sci., 2013, 95, 85 – 91.

Kontaktná adresa: Beáta Korénková, Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; E-mail: beata.korenekova@uvlf.sk

VEDĽAJŠÍE ŽIVOČÍŠNE PRODUKTY V HYDINÁRSKOM PRIEMYSLE A PRAVIDLÁ ICH ÚRADNÝCH KONTROL

ANIMAL BY PRODUCTS IN THE POULTRY INDUSTRY AND RULES FOR THEIR OFFICIAL CONTROLS

Koréneková Beáta, Kožárová Ivona

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach,

Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín

ABSTRACT

The work deals with animal by-products (ABP) arising in the poultry industry during slaughter processing of poultry. It states their division into ABP from the processing of poultry intended for human consumption and ABP not intended for human consumption. In the group not intended for human consumption, it points out their division according to the category of generated materials. It also lists the types of materials that fall into these categories. It provides information on the possibilities of using ABP in the food industry but also outside this industry. It points out the specific rules of official controls of ABP and from them derived products and strict compliance with current legislation.

Key words: animal by - products, official controls

ÚVOD

Hydinársky priemysel produkuje okrem hydinového mäsa veľké množstvo vedľajších živočíšnych produktov (VŽP), ktoré je možné využiť ako suroviny aj v iných odvetviach nielen potravinárskeho priemyslu. VŽP sú všeobecne rozdelené na VŽP určené na výživu ľudí a VŽP neurčené na výživu ľudí (Morawicki a kol., 2010). VŽP zo spracovania hydiny určené na výživu ľudí sú tzv. jedlé droby. Získavané sú po vypitvaní hydiny a po vykonaní prehliadky post mortem. Oddeľujú sa ručne alebo poloautomaticky. Patria tu srdce, pečeň, svalnatý žalúdok a krk hydiny. Srdce, môže a nemusí byť s osrdcovníkom. Pečeň musí byť bez žlčníka. Svalnatý žalúdok musí byť bez zrohovatenej výstelky a bez obsahu. Krk hydiny je oddelený od tela. V prípade, že nie je oddelený od jatočného tela nepovažuje sa za droby (Nagy a kol., 2013).VŽP neurčené na ľudskú spotrebu sú podľa Nariadenie EP a Rady č. 1069/2009 celé telá zvierat, alebo ich časti, produkty živočíšneho pôvodu alebo iné produkty získané zo zvierat, ktoré nie sú určené na ľudskú spotrebu vrátane oocytov, embryí a spermy. VŽP vznikajú pri

zabíjaní zvierat na ľudskú spotrebu, pri výrobe produktov živočíšneho pôvodu pri odstraňovaní uhynutých zvierat v priebehu opatrení na kontrolu chorôb. Odvodené produkty (OP) sú získané cez jednorazové alebo opakované ošetrenie a transformáciu jednotlivých krokov spracovania VŽP. Odstránenie všetkých VŽP neurčených na ľudskú spotrebu nie je reálnou možnosťou, keďže by viedlo k neúnosným nákladom a rizikám pre životné prostredie. Preto sa široký okruh týchto VŽP bezpečne využíva na rôzne účely v odvetviach, akými sú farmaceutický, krmivársky priemysel, za predpokladu, že sa minimalizujú zdravotné riziká.

Rozdelenia VŽP neurčených na ľudskú spotrebu do kategórii

VŽP neurčené na ľudskú spotrebu sa rozdeľujú do 3 materiálových kategórii (MK) a to MK 1 určený len na likvidáciu (napr. špecifický rizikový materiál, ktorý sa na zberných kontajneroch označuje čiernym pásom). MK1 sa pri jatočnom opracovaní zdravej hydiny nevyskytuje. MK 2 je nevhodný pre živočíšnu spotrebu a označuje žltým pásom a MK 3 je nevhodný pre ľudskú spotrebu a označuje sa zeleným pásom na zberných kontajneroch. V hydinárskom priemysle sa vyskytuje len MK2 a MK3.

MK 2 v hydinárskom priemysle

Patria sem zvyšky trusu ktoré ostávajú na ložnej ploche dopravného prostriedku, v prepravných kontajneroch a v plastových prepravkách. Uskladňujú sa v nádobách s označením „*trus*“. Tiež sem zaraďujeme všetky živočíšne materiály získané pri spracovaní odpadových vôd z bitúnkov zachytené na sitách a šnekoch.

Do tejto skupiny patria zvieratá, ktoré uhynuli inak, než zabitím na ľudskú spotrebu a zvieratá zabité za účelom eradikácie nákazlivej choroby ako aj uhynutá hydina pri preprave. Vytrieďované sú pri príjme a navešovaní hydiny.

Ďalej sem zaraďujeme aj produkty živočíšneho pôvodu (ŽP), ktoré obsahujú rezídua veterinárnych liekov a znečisťujúcich látok a produkty ŽP dovezené z nečlenských krajín Európskeho spoločenstva a nespĺňajú veterinárne požiadavky na ich dovoz do spoločenstva pokiaľ nie sú vrátené, alebo ak ich dovoz nie je povolený v zmysle legislatívy spoločenstva.

MK 3 v hydinárskom priemysle

Patria sem časti zabitých tiel zvierat, ktoré sú vhodné pre ľudskú spotrebu, ale nie sú určené pre ľudskú spotrebu z rôznych komerčných dôvodov. Tiež sem spadajú časti zabitých zvierat odmietnuté ako nevhodné pre ľudskú spotrebu, ale nie sú postihnuté žiadnymi príznakmi chorôb prenosných na ľudí a zvieratá.

Zaraďujeme sem tiež perie a krv hydiny, hlava, beháky, nepožívateľné vnútorné orgány a nepožívateľné celá telá, prípadne časti hydiny. Ďalej sem patrí kostná drť (kostný podiel) ako

vedľajší produkt pri výrobe mechanicky separovaného mäsa. Potom VŽP pochádzajúce z mäsovej výroby, vrátane kostí. Tiež rôzne časti hydinového mäsa, ktoré vznikajú pri procese sanitácie automatických strojov, baliacich zariadení a pri celkovej sanitácii prevádzkarne.

Produkty ŽP, ktoré už nie sú určené pre ľudskú spotrebu z obchodných dôvodov alebo v dôsledku problémov, ktoré nepredstavujú riziko pre ľudí alebo zvieratá. Patria sem výrobné a technologické chyby pri spracovaní hydiny, ako sú zlomeniny končatín, pomliaždeniny, podliatiny, nedostatočné vykrvenie, oparenie hydiny veľmi vysokou teplotou, potrhané telá dôsledkom poruchy technologických zariadení automatických liniek, či znečistenie tela žlčou.

Tiež sú tu zaradené baliace chyby, ako sú porušený obal hydinového mäsa a rôzne iné príčiny ako sú spadnuté kusy na podlahu počas výroby a znečistené kusy. VŽP vznikajúce pri prehliadke *post mortem* na bitúnku ako sú patologicky zmenené telá v prípade edémovej choroby, exudatívnej diatézy, kachexii, cyanózy svalstva, ikteru, tiež krvavé časti tiel, krídel a stehien či patologicky zmenené vnútorné orgány ako sú hrubé črevo, pľúca, žľaznatý žalúdok.

Využitie VŽP z hydinárskeho priemyslu

Legislatívne je presne vymedzené, ktoré VŽP nesmú byť a ktoré môžu byť použité pri výrobe mäsových výrobkov. Podľa Nariadenia EÚ č. 853/2004 sa v hydinárskom priemysle na výrobu mäsových výrobkov nesmú použiť tieto časti hydiny ako sú hlava (okrem hrebeňa, ušníc, lalokov a karankulov), pažerák, hrvoľ, črevá a pohlavné orgány hydiny.

Na druhej strane sa vo Vyhláške MPaRV SR č. 83/2016 o mäsových výrobkoch (MV) uvádza, že na ľudskú spotrebu možno použiť z hydiny krv husaciu alebo kačaciu krv a krvnú plazmu, ktorú možno používať len do tepelne opracovaného MV, a to do mäkkého MV, vareného MV, mäsovej polokonzervy, mäsovej konzervy v množstve najviac 20 % hmotnostných krvi a najviac 10 % krvnej plazmy z hmotnosti mäsového diela. Krv a krvná plazma sa ihneď schladia a spracujú najneskôr do 24 h od ich získania. Nechladená krv a jej deriváty sa spracujú najneskôr do 4 h od ich získania. Čerstvú krv určenú na spracovanie do tepelne opracovaného MV možno konzervovať jedlou soľou v množstve najviac 10 % hmotnostných skladovať pri teplote 0 °C až 3 °C najviac 36 h od jej získania. Čerstvú krv a krvnú plazmu možno okamžite po získaní zmraziť pri teplote –10 °C až – 40 °C a skladovať pri teplote najviac –18 °C. Zmrazená krv sa spracuje najneskôr do 30 dní od dátumu výroby a zmrazená krvná plazma najneskôr do 3 mesiacov od dátumu výroby. Zmrazená krv, krvná plazma, sušená krv a sušená krvná plazma sa na obale označí druhom zvieraťa z ktorého bola získaná, dátumom výroby, hmotnosťou, obchodným menom, sídlom výrobcu, požiadavkami na skladovanie a dátumom spotreby. Sušenú krvnú plazmu možno použiť do MV v množstve

zodpovedajúcom prepočtu na čerstvú krvnú plazmu. Skladuje sa v suchom sklade a spracuje sa najneskôr do 5 mesiacov od dátumu výroby. Sušenú krv možno použiť do MV v množstve zodpovedajúcom prepočtu na čerstvú krv.

Krv jatočnej hydiny pri vykrvovaní tvorí 50–70 % z celkového množstva krvi z omráčenej hydiny. Predstavuje 4 až 10 % živej hmotnosti. Krv z vodnej hydiny sa môže použiť na potravinárske účely. Získavanie krvi z vodnej hydiny je na súčasných veľkokapacitných linkách problematické a ekonomicky nezaujímavé. Husacia a kačacia krv tak pochádza väčšinou z domácich porážok hydiny. Kačacia a husacia krv je obľúbená pre svoju sladkastú chuť a typickú kačaciu či husaciu vôňu v tradičných krvných zapekaných špecialitách.

Hlava a beháky hydiny sa môžu použiť po tepelnom opracovaní na kŕmenie psov, maximálne však v rozsahu 30–40 % v reprodukčnom období a v čase výmeny srsti len v rozsahu 15–20 %. Aj keď celkovo hydinové mäso je ľahko stráviteľné, beháky a hlava hydiny sú menej stráviteľné. Z behákov sa môže získavať aj potravinárska želatína.

Podmienkou pre získavanie kvalitného peria jeho zrelosť. Perie sa spracováva v špecializovaných závodoch na finálne výrobky ako je napr. lôžkové perie. Z peria sa robia ozdobné predmety, vypchávky telocvičného náradia, matracov a pod. Perie pštrosov sa môže využiť na tanečné či karnevalové kostýmy. Perie sa môže využiť aj ako krmivo. Hydrolyzované hydinové perie je výrobok z čistého peria zabitej hydiny bez aditív. Obsahuje 75 % stráviteľného hrubého proteínu, nízke percento aminokyselín (histidín, lyzín, metionín), vysoké percento Na, S, Se, nízke Ca a K, nízku hodnotu metalizovateľnej energie (Nagy, 2002).

Špecifické pravidlá pre úradné kontroly VŽP

Predmetom úradných kontrol orgánov veterinárnej správy je kontrola dodržiavania podmienok, ktoré sú určené legislatívou pri akomkoľvek nakladaní, zbere, preprave, skladovaní, likvidácii, spracovaní, obchodovaní s VŽP a OP v rámci Európskej únie **uvádzaní na trh** v SR a vývoze do tretích krajín. Úradnej kontrole podliehajú **producenti** VŽP a OP, ku ktorým patria všetky **farmy a majitelia, ktorí držia zvieratá,** všetky **prevádzkarne, ktoré spracúvajú ŽP a celá obchodná sieť, kde sa predávajú potraviny živočíšneho pôvodu.**

V Nariadení EP a RADY (EÚ) 2017/625 sa stanovujú pravidlá vykonávania úradných kontrol a iných úradných činností príslušnými orgánmi členských štátov. Stanovujú sa tiež pravidlá prevencie a minimalizácie rizík pre zdravie ľudí a zvierat vyplývajúcich z VŽP a OP.

Úradné kontroly vykonávané na overenie dodržiavania pravidiel v súvislosti **s** produktmi ŽP určenými na ľudskú spotrebu zahŕňajú overenie dodržiavania požiadaviek stanovených podľa vhodnosti v nariadeniach (ES): č. 852/2004, č. 853/2004, č. 1069/2009 a

č. 1099/2009. Úradné kontroly vykonávané v súvislosti s výrobou mäsa zahŕňajú aj manipuláciu s VŽP a špecifikovaným rizikovým materiálom a ich odstraňovanie.

Špecifické pravidlá pre úradné kontroly a opatrenia, ktoré príslušné orgány prijmú v súvislosti so zvieratami, produktmi ŽP, zárodočnými produktmi, VŽP a OP sú uvedené v Nariadení EP a RADY (EÚ) 2017/625 v čl. 20.

1. Úradné kontroly zahŕňajú kontroly zvierat, produktov ŽP, zárodočných produktov, VŽP a OP a majú sa vykonávať na ktoromkoľvek stupni výroby, spracovania a distribúcie.

2. Komisia stanoví pravidlá vykonávania úradných kontrol zvierat, produktov ŽP, zárodočných produktov, VŽP a OP na overenie dodržiavania pravidiel Únie. Tiež aj pravidlá pre opatrenia, ktoré príslušné orgány prijmú na základe úradných kontrol. V uvedených delegovaných aktoch sa stanovia pravidlá a špecifické požiadavky na vykonávanie úradných kontrol:

a) zvierat, produktov ŽP a zárodočných produktov s cieľom reagovať na známe nebezpečenstvá a riziká pre zdravie ľudí a zvierat prostredníctvom úradných kontrol, ktoré sa vykonávajú na overenie dodržiavania opatrení na prevenciu a kontrolu chorôb uvedenými v čl. 1, ods. 2d. a to týkajúce sa požiadaviek na zdravie zvierat.

b) VŽP a OP s cieľom reagovať na špecifické nebezpečenstvá a riziká pre zdravie ľudí a zvierat prostredníctvom úradných kontrol, ktoré sa vykonávajú na overenie dodržiavania pravidiel uvedených v čl.1 ods. 2e) a tiež c) a to:

- prevencie a minimalizácie rizík pre zdravie ľudí a zvierat vyplývajúcich z VŽP a OP.
- krmív a bezpečnosti krmív na ktoromkoľvek stupni výroby, spracovania a distribúcie krmív a ich používania vrátane pravidiel zameraných na zabezpečenie slušných obchodných praktík a na ochranu zdravia, záujmov a informovanosti spotrebiteľov.

c) Pri podozrení na nedodržiavanie pravidiel je potrebné prijať 1 alebo viacero opatrení (uvedených v čl. 137 ods. 2), kde príslušné orgány uskutočnia v prípade podozrenia na nedodržiavanie pravidiel vyšetrovanie s cieľom potvrdiť alebo vyvrátiť toto podozrenie. Opatrenia podľa potreby zahŕňajú:

a) vykonávanie zintenzívnených úradných kontrol zvierat, tovaru a prevádzkovateľov počas primeraného obdobia;

b) úradné pozastavenie zvierat a tovaru a akýchkoľvek nepovolených látok alebo v náležitom prípade produktov.

Ak sa preukáže nedodržanie pravidiel, príslušné orgány prijmú opatrenia (čl.138 ods.1 a 2).

a) akékoľvek opatrenie potrebné na určenie pôvodu a rozsahu nedodržiavania pravidiel a na určenie zodpovednosti prevádzkovateľa a

b) vhodné opatrenia na zabezpečenie toho, aby dotknutý prevádzkovateľ napravil nedodržiavanie pravidiel a zabránil ďalšiemu výskytu takéhoto nedodržiavania pravidiel.

Príslušné orgány pri rozhodovaní o tom, ktoré opatrenia prijmú, zohľadnia povahu nedodržiavania pravidiel a minulé záznamy prevádzkovateľa ako aj dodržiavanie pravidiel.

3. Komisia môže (čl. 20 ods.3) prostredníctvom vykonávacích aktov stanoviť pravidlá týkajúce sa jednotných praktických opatrení pre vykonávanie úradných kontrol pokiaľ ide o jednotnú minimálnu frekvenciu vykonávania takýchto úradných kontrol:

a) zvierat, produktov ŽP a zárodočných produktov v prípadoch, keď je potrebná minimálna úroveň úradných kontrol s cieľom reagovať na známe jednotné nebezpečenstvá a riziká pre zdravie ľudí a zvierat prostredníctvom úradných kontrol, ktoré sa vykonávajú na overenie dodržiavania opatrení na prevenciu a kontrolu chorôb stanovených v súlade s pravidlami (uvedenými v čl. 1 ods. 2d) týkajúcimi sa požiadaviek na zdravie zvierat.

b) jednotnú minimálnu frekvenciu vykonávania úradných kontrol VŽP a OP v prípadoch, keď je potrebná minimálna úroveň úradných kontrol s cieľom reagovať na špecifické nebezpečenstvá a riziká pre zdravie ľudí a zvierat prostredníctvom úradných kontrol, ktoré sa vykonávajú na overenie dodržiavania pravidiel uvedených v čl.1 ods. 2e týkajúce sa prevencie a minimalizácie rizík pre zdravie ľudí a zvierat vyplývajúcich z VŽP a OP.

4. Povoľuje sa delegovanie určitých úloh úradných kontrol uvedených v tomto článku na jednu alebo viaceré fyzické osoby

ZÁVER

Záverom môžeme konštatovať, že podobne ako mäso hydiny tak aj v prípade VŽP a OP hydinárskeho priemyslu je bezpečnosť a kvalita týchto produktov zabezpečovaná v hydinárskom priemysle pravidelnými úradnými veterinárnymi kontrolami.

LITERATÚRA

1. Morawicki, R.O.: Coproducts and by-products from poultry processing. Poultry meat processing, Second edition, CRP Press, 2010, 381-396.
2. Nagy, J. a kol.: Hygiena a spracovanie vedľajších potravinárskych produktov a odpadov, UVL, Košice, 2002, 122.
3. Nagy, J., a kol.: Hygiena a technológia produkcie a spracovania vedľajších živočíšnych produktov, UVLF Košice, 2013, 456s.
4. Nariadenie EPaR (EÚ) 2017/625 z 15. 3. 2017 o úradných kontrolách a iných úradných činnostiach vykonávaných na zabezpečenie uplatňovania potravinového a krmivového

práva a pravidiel pre zdravie zvierat a dobré životné podmienky zvierat, pre zdravie rastlín a pre prípravky na ochranu rastlín.

5. Nariadenie EPaR (ES) č. 852/2004 z 29. apríla 2004 o hygiene potravín.
6. Nariadenie (ES) č. 853/2004 EPaR z 29. 4. 2004, ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu.
7. Nariadenie rady (ES) č. 1099/2009 z 24. septembra 2009 o ochrane zvierat počas usmrcovania.
8. Nariadenie EPaR č. 1069/2009 z 21. 10. 2009, ktorým sa ustanovujú zdravotné predpisy pre VŽP neurčené na ľudskú spotrebu.
9. Vyhláška MP a RV SR č. 83/2016 Z. z zo 14. januára 2016 o mäsových výrobkoch.

POĎAKOVANIE

Predkladaná práca bola podporená projektom KEGA 015UVLF-4/2021.

Kontaktná adresa: Beáta Korénková, Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; E-mail: beata.korenekova@uvlf.sk

VYUŽITIE LÁTOK NATURÁLNEHO PÔVODU S ANTIBAKTERIÁLNYMI VLASTNOSŤAMI V PREVENCII OCHORENÍ RÝB
USE OF SUBSTANCES OF NATURAL ORIGIN WITH ANTIBACTERIAL EFFECTS IN PREVENTION OF FISH DISEASES

Koščová Jana[1], Hajdučková Vanda[1], Fečkaninová Adriána[2]

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

ABSTRACT

Increasing demands on safe and quality food are associated with increasing requirements on their safety. In recent years, this need has been linked in particular to the ban on the use of antibiotic growth promoters in livestock and also fish. Instead of antibiotics used to increase weight gains and prevent diseases in animals, it was necessary to focus on obtaining substances with similar properties but without negative side effects. In recent years, professional interest has focused on the use of probiotic microorganisms that meet the requirements, but other substances of natural origin, such as plant extracts and essential oils (EOs), have also been tested in field of aquaculture. The aim of their application is to obtain healthy fish and quality fish meat. The advantage of substances of natural origin is their biodegradability, without the formation of residues in foodstuffs of animal origin, and the added value is that they do not burden the environment and do not pose a risk of transmission of antibiotic resistance genes. Plant extracts which are added to feed pellets for fish are referred to as phytoadditives. They have antibacterial properties, which predetermine them for the use in prevention of bacterial fish diseases. The mechanisms of action have still not been studied exactly but pilot studies that have been carried out in the field of aquaculture, possess very promising results. This work presents an overview of the possible application of selected plant extracts or EOs, with confirmation of antibacterial effects against fish pathogens.

Key words: aquaculture**,** phytoadditives, essential oils, antibacterial activity, fish pathogens

ÚVOD

Ochorenia rýb chovaných za účelom produkcie kvalitných a bezpečných potravín predstavujú v oblasti akvakultúry hrozbu, nakoľko intenzívny spôsob chovu rýb súvisí so zvýšenou pravdepodobnosťou ich ochorení, s čím sú následne spojené aj nemalé ekonomické

straty (Palíková et al. 2014). Nadmerné používanie antimikrobiálnych látok vedie ku vzniku vedľajších účinkov, ktoré ovplyvňujú nielen ryby, ale aj prostredie, s ktorým sú ryby v bezprostrednom kontakte. Na základe štúdií bolo dokázané, že 70– 80 % antibiotík podávaných rybám sa uvoľňuje do vodného prostredia, čo môže viesť k vzniku rezistentných bakteriálnych kmeňov (Martinsen et Horsberg 1995; Samuelsen 2006). Jednou zo stratégií na zníženie používania antibiotík v akvakultúre je realizácia postupov, ktoré znižujú hladinu stresu u rýb a pravdepodobnosť infekcií, ktoré si vyžadujú následnú antibiotickú liečbu. Na základe týchto požiadaviek bolo vyvinutých niekoľko alternatívnych spôsobov, resp. náhrad antibiotických substancií. Veľmi sľubnými sa javia fytoaditíva (FA), definované ako kŕmne prídavky na rastlinnej báze, či éterické oleje (EO), ale potrebné sú ďalšie štúdie na presné objasnenie mechanizmu ich účinku voči rybím patogénom. Viaceré, doteraz uskutočnené štúdie, však už potvrdzujú pozitívne účinky látok naturálneho pôvodu na patogény rýb. Na druhej strane, je však potrebné poznamenať aj to, že dané štúdie boli vykonávané prevažne v podmienkach *in vitro* a len čiastočne potvrdené *in vivo* experimentami. Z hľadiska overovania účinkov akýchkoľvek látok sa práve *in vivo* testovanie považuje za kľúčové, keďže mnohokrát sa u sľubne účinkujúcich látok naturálneho pôvodu testovaných *in vitro* ich účinky v *in vivo* podmienkach nepotvrdia.

Chemické zloženie a výťažok éterických olejov môžu ovplyvniť rôzne vonkajšie a vnútorné faktory: fyziologické variácie, podmienky prostredia, geografické a klimatické podmienky, genetické faktory a vývoj, podmienky skladovania, množstvo rastlinného materiálu a priestoru a techniky extrakcie (Figueiredo et al. 2008). Izolácia a identifikácia bioaktívnych zlúčenín sú dôležité pre presné určenie základného mechanizmu biologických účinkov éterických olejov u rýb. Je preto dôležité, aby štúdie, v ktorých sa hodnotí účinnosť fytoaditív, obsahovali podrobné informácie o chemickom zložení, vrátane percentuálneho zastúpenia majoritných, ale aj minoritných účinných látok obsiahnutých v rastline (Steiner et Syed 2015). K lepšiemu pochopeniu mechanizmu účinku fytoaditív prispeje určite aj komplexný prístup k štúdiu mikrobiocenózy črevného traktu u rýb, jednak jeho kompozície ako aj početných funkcií čreva (Zeng et al. 2015). Súčasné skúmanie genómov, metagenómov, transkriptómov, prípadne proteómov črevnej mikrobioty môžu viesť k lepšiemu pochopeniu mechanizmov pôsobenia fytogénnych kŕmnych aditív v črevnom trakte rýb (Durmic et Blache 2012). Navyše, je potrebné mať na pamäti nielen antibakteriálne účinky rastlinných extraktov a EO, ale najmä ich imunomodulačné účinky (Peterfalvi et al. 2019).

NAJVÝZNAMNEJŠIE BAKTERIÁLNE PATOGÉNY RÝB

Patogénmi rýb sú nielen baktérie, ale aj vírusy, plesne či parazity. K bakteriálnym patogénom patria predovšetkým druhy z rodov *Flavobacterium, Vibrio, Edwardsiella, Citrobacter* alebo *Pseudomonas*, ale významnejšími zástupcami, spôsobujúcimi infekcie rýb, sú najmä *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* a *Yersinia ruckeri*.

Rad Aeromonadales pozostáva z dvoch čeľadí, ktorými sú čeľaď Aeromonadaceae a Succinivibrionaceae. Zástupcovia čeľade Aeromonadaceae sú Gram-negatívne tyčinky, aeróbne až fakultatívne anaeróbne a pohyblivé. Druhy rodu *Aeromonas* sú rozdelené do dvoch skupín; 1. pohyblivé mezofilné aeromonády s optimálnou teplotou rastu okolo 37 °C a nepohyblivé psychrofilné kmene s optimálnym rozsahom teplôt rastu 22–28 °C. *Aeromonas bestiarum, Aeromonas sobria, Aeromonas hydrophila* a *Aeromonas veronii*, všetky druhy sú kategorizované ako pohyblivé a mezofilné a spôsobujú akútnu hemoragickú septikémiu a chronické vredy na koži rýb; 2. nepohyblivé psychrofilné aj pohyblivé mezofilné aeromonády, ku ktorým patrí druh *Aeromonas salmonicida*. Druhy rodu *Aeromonas* sa vyskytujú ubikvitárne vo vodnom prostredí, ale zároveň sú aj patogénmi rýb a spôsobujú infekcie aj u človeka a zvierat. *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* je pôvodcom furunkulózy, ekonomicky významnej choroby lososovitých rýb, ktorá sa prejavuje septikémiou, krvácaním, svalovými léziami, zápalmi čreva, prípadne zväčšením sleziny. Virulencia patogénnych kmeňov *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* je spojená s tvorbou adhezínov, produkciou cytokínov, hemolyzínov, lipáz či proteáz. Dôležitou súčasťou faktorov virulencie je schopnosť baktérií tvoriť biofilm, a tiež schopnosť regulovať expresiu faktorov virulencie cestou *quorum sensing*. Navyše, patogénne druhy a kmene aeromonád využívajú na transport a vpravovanie rôznych efektorových molekúl do hostiteľských buniek niektorý zo sekrečných systémov (Mekasha a Linke 2021).

Yersinia ruckeri patrí do čeľade Yersiniaceae a kmene z rôznych biotypov sú uvádzané ako pôvodcovia ochorenia, označovaného ako „enteric redmouth disease“ (ERM disease) alebo jednoducho yersinióza. Toto ochorenie infikuje predominantne lososovité ryby, čo spôsobuje vážnu ekonomické hrozbu pre odvetvie akvakultúry lososovitých rýb v celosvetovom význame (Wrobel, Leo et Linke 2019). *Yersinia ruckeri* je tyčinkovitá, fakultatívne anaeróbna baktéria, ktorá netvorí kapsulu. Medzi typické príznaky yersiniózy patrí septikémia a následný rozvoj krvácanín (hemorágií) na povrchu tela a vnútorných orgánoch (Tobback et al. 2007). Podobne ako niektoré druhy yersínií, ktoré infikujú iné zvieratá a ľudí, aj *Y. ruckeri* obsahuje plazmidy, ktoré kódujú faktory virulencie súvisiace so sekrečnými systémami baktérií, napr. pilus typu IV a T4SS (Wrobel et al. 2018).

Z ďalších patogénov rýb je potrebné spomenúť zástupcov najväčšej čeľade kmeňa Bacteroidetes, a to Flavobacteriaceae. Patogény, spôsobujúce infekcie rýb, patria do rodov Flavobacterium alebo Tenacibaculum (McBride 2014). Tieto Gram-negatívne anaeróbne baktérie spôsobujú vážne choroby, ktoré predstavujú významné ekonomické straty v odvetví akvakultúry a bežne sa izolujú z rôznych chorých rýb. K zástupcom daných rodov patria *Flavobacterium columnare, F. psychrophilum, F. branchiophilum, F. spartansii* a *Tenacibaculum maritimum* (Chen a kol. 2017). Zo skupiny Gram-negatívnych tyčinkovitých baktérií k patogénom rýb zaraďujeme aj vibriá patriace do čeľade Vibrionaceae. Sú ubikvitárne sa vyskytujúcimu baktériami a patogénmi sladkovodných aj morských rýb. Najčastejšie sa vyskytujúcimi patogénmi sú *Vibrio anguillarum, V. harveyi, V. vulnificus, V. parahaemolyticus*, prípadne *V. alginolyticus*. Ryby môžu byť vektorom závažného patogénu ľudí, *Vibrio cholerae* (Halpern et Izhaki 2017). Z čeľade Enterobacteriaceae sa na ochoreniach rýb podieľajú najčastejšie *Edwardsiella piscicida* (známa pod starším označením *E. tarda*) alebo *Citrobacter freundii*, u rýb spôsobujú septikémie prejavujúce sa vznikom lézií na koži, svaloch a vnútorných orgánoch (Kerie 2019). Menej známymi bakteriálnymi patogénmi rýb sú *Piscirickettsia salmonis*, *Moritella viscosa* či *Pseudomonas anguilliseptica* (Mekasha et linke 2021). Navyše, vo vode sa vyskytujú ďalšie mikroorganizmy, ktoré môžu kontaminovať mäso rýb počas jeho spracovania a týmito baktériami sú najmä *Listeria monocytogenes, Clostridium botulinum* či rôzne sérotypy salmonel (Novoslavskij et al. 2016).

RASTLINNÉ EXTRAKTY A ÉTERICKÉ OLEJE

Fytoaditíva (FA) sa považujú za alternatívu antibiotických rastových stimulátorov na základe ich komplexnej bioaktivity, najmä vďaka antimikrobiálnym, antioxidačným a protizápalovým vlastnostiam rastlinných bioaktívnych zlúčenín. Biologické aktivity sekundárnych metabolitov rastlín sa pozitívne odrážajú na chutnosti, tráviacich funkciách a štruktúre črevného mikrobiómu zvierat, ako aj zlepšených produkčných parametrov nielen u rýb, ale aj u hydiny, ošípaných a prežúvavcov (Yang et al. 2015). Mechanizmus účinku bioaktívnych rastlinných metabolitov nie je ešte stále úplne objasnený. Vo všeobecnosti majú FA dvojakú úlohu: zlepšovať kvalitu krmiva a zlepšiť zdravie zvierat a úžitkovosť živočíšnych produktov. Na základe biosyntetického pôvodu fytoaditív môžu byť sekundárne metabolity rastlín rozdelené do nasledujúcich hlavných skupín: fenoly, alkaloidy obsahujúce dusík, síru zlúčeniny a terpenoidy. Všetky tieto metabolity zdieľajú základné funkčné skupiny, vrátane alkylov, benzénových kruhov, hydroxylov, alkoholov a steroidov, zatiaľ čo kombinácia

rôznych chemických skupín vedie k vytvoreniu nových molekúl s unikátnymi chemickými štruktúrami a súvisiacimi biologickými aktivitami (Bakkali et al. 2008).

EO (silice) sú komplexnou zmesou prchavých aromatických biochemických zlúčenín, väčšinou spomínaných terpenoidov a získavajú sa technológiu parnej destilácie. Vysoká reaktivita EO predstavuje ďalšiu prekážku pre ich priamu aplikáciu a začlenenie do potravín a krmív. Stabilita a biologická aktivita EO predstavuje výzvu, rovnako ako potlačenie ich reaktivity a minimalizácia vplyvu na organoleptické vlastnosti krmiva, do ktorého sú inkorporované. Stabilita a bioaktivita EO môže byť ohrozená najmä teplotou, svetlom, kovmi a dostupnosťou vody a kyslíka vo výrobných systémoch. Preto sa v súčasnosti testujú možnosti enkapsulovaných éterických olejov, pričom technológia enkapsulácie zabezpečí výrazne vyššiu stabilitu a uvoľnenie olejov až v cieľovom mieste pôsobenia (El Asbahani et al. 2015). V súvislosti s testovaním antibakteriálnej aktivity EO je zaujímavosťou, že tieto účinky vykazujú buď komplexné éterické oleje alebo aj ich jednotlivé účinné látky. Najvýraznejšie antibakteriálne účinky sú pripisované látkam zo skupiny fenolov a patria ku nim napríklad tymol a karvakrol, ktoré sú obsiahnuté v éterických olejoch z tymiánu a pamajoránu, či eugenol, účinná látka v klinčeku (Stevanovic et al. 2018).

Tabuľka č. 1, Rastlinné EO a ich účinky po podávaní rybám v kŕmnych peletách

Druh ryby	EO alebo účinná látka	Dávka a trvanie	Účinok
Pstruh dúhový (*Oncorhynchus mykiss*)	Karvakrol a tymol	1 g/kg; 8 týždňov	Imunomodulačný, zníženie počtu anaeróbnych baktérií, vyššie prírastky
Pstruh dúhový (*Oncorhynchus mykiss*)	Rasca	1-3 g/kg; 14 dní	Baktericídny
Pstruh dúhový (*Oncorhynchus mykiss*)	Oregano	6 alebo 10 g/kg	Zvýšená aktivita antioxidačných enzýmov
Kapor obyčajný (*Cyprinus carpio* L.)	Oregano	5-20 g/kg; 2 mesiace	Zlepšenie črevných morfometrických parametrov

Zdroj: upravené podľ Dawood et al. 2022

ANTIBAKTERIÁLNE ÚČINKY RASTLINNÝCH EXTRAKTOV A ÉTERICKÝCH OLEJOV

Antibakteriálne účinky voči rybím patogénom boli dokázané u viacerých látok naturálneho pôvodu. Patria ku nim napríklad fytoaditíva na báze cesnaku a rakytníka (obe v koncentrácii 4 %), ktoré boli podávané v krmive pre mláďatá kaprov (*Cyprinus carpio*) a výsledkom bolo zvýšenie rastových prírastkov rýb a zároveň lepšia konverzia krmiva (Mocanu et al. 2019). Fytoaditíva, pridávané do krmiva zvierat, majú vo všeobecnosti biostimulačné účinky, ku ktorým patria najmä imunostimulačné, ale aj antibakteriálne či protizápalové. Priaznivé účinky rastlinných extraktov boli pozorované napríklad pri štúdii s tilapiami (*Oreochromis mossambicus*), kedy Gultepe et al. (2014) použili 1 % extrakt z tymiánu (*Thymus vulgaris*), rozmarínu (*Rosmarinus officinalis*) a senovky gréckej (*Trigonella foenum-graecum*). Po 45 dňoch kŕmenia s primiešanými extraktmi autori zaznamenali štatisticky významné ($P < 0,05$) zvýšenie fagocytárnej aktivity, vyšší počet bielych a červených krviniek, ako aj vyšší hematokrit a v skupine s prídavkom senovky gréckej tiež vyššiu ($P < 0,05$) koncentráciu lyzozýmu a plazmatickej myeloperoxidázovej aktivity, čo súvisí s imunostimulačnými účinkami týchto látok. Zároveň, po infekcii tilapií baktériou *Streptococcus iniae* (100 µl ; 8×10^8 CFU), zaznamenali zníženú mortalitu (22, 27, a 31 % u rýb, ktoré dostávali krmivo s prídavkom 1 % tymiánu, rozmarínu a senovky gréckej, v tomto poradí, v porovnaní so 61 % mortalitou v kontrolnej skupine rýb).

Gulec a kol. (2013) uviedli vyššiu odolnosť voči patogénu rýb, *Yersinia ruckeri*, v pstruhoch po aplikácii krmiva obohateného o rastlinné éterické oleje (*Thymus vulgaris* a *Foeniculum vulgare*; v koncentrácii 10 ml/100 g). Okrem zvýšenej baktericídnej aktivity bol zaznamenaný tiež výrazne vyšší ($P < 0,05$) obsah celkových bielkovín, albumínu, cholesterolu, triglyceridov, bilirubínu, K, Na, Ca a Mg v porovnaní s kontrolnou skupinou. Giannenas a kol. (2012) po aplikácii tymolu a karvakrolu (2 g/kg karvakrolu a 6 g/kg tymolu) v krmive pstruhov dúhových (*Oncorhynchus mykiss*) zistili nielen lepšiu ($P < 0,05$) využiteľnosť krmiva, ale tiež nižší celkový počet anaeróbnych baktérií v črevnom trakte pstruhov, výrazne vyššiu ($P < 0,05$) aktivitu enzýmov na báze glutatiónu (glutatión-reduktáza, glutatión-S-transferáza), vyššiu katalázovú aktivitu a vyššie hladiny koncentrácie lyzozýmu - v skupine rýb so suplementáciou tymolu, v porovnaní s kontrolou. Relatívne nízke koncentrácie karvakrolu a tymolu v krmive pstruhov viedli nielen k zlepšeniu imunitných parametrov a antioxidačnej aktivity, ale aj k zvýšeným hmotnostným prírastkom rýb.

Hlavnou úlohou EO pri optimalizácii zloženia črevnej mikrobioty rýb je inhibícia patogénnych mikroorganizmov a poskytnutie možnosti uplatniť sa iným skupinám baktérií

(prospešná mikrobiota) kolonizovať črevo. Nepriame účinky EO na črevnú mikrobiotu sa môžu prejaviť zmenami v črevnom prostredí, vrátane zmien pH a typu a množstva sekrétov črevnej sliznice. Hydrofóbnosť EO je výrazne ovplyvňovaná hodnotou pH. U pstruhov dúhových (*Oncorhynchus mykiss*) kŕmených potravou obohatenou o EO z *Thymus vulgaris* bola dokázaná výrazná antibakteriálna odpoveď proti *Vibrio anguillarum* v gastrointestinálnom trakte (Navarrete et al. 2010). Zhang a kol. (2020) uvádzajú, že u kaprov obyčajných (*Cyprinus carpio*) kŕmených peletami s prídavkom EO z *Origanum vulgare* došlo k signifikantnému zvýšeniu počtov baktérií z rodov *Propionibacterium, Brevinema* a *Corynebacterium*, zatiaľ čo bol zaznamenaný úbytok baktérií z rodov *Vibrio*. U tilapie nílskej (*Oreochromis niloticus*), kŕmenej peletami s prídavkom EO z citrónovej trávy (*Cymbopogon citratus*) a pelargónie (*Pelargonium graveolens*) došlo k zníženiu počtu celkových aeróbnych baktérií, a taktiež koliformných baktérií, *Escherichia coli* a *Aeromonas* spp. v črevnom trakte rýb (Al-Sagheer et al. 2018).

ZÁVER

Látky naturálneho pôvodu, ku ktorým patria fytoaditíva, predstavujú alternatívne riešenie k antibiotikám používaným v akvakultúre. Mnohé štúdie potvrdzujú ich antimikrobiálne a imunomodulačné účinky. Avšak, sú potrebné ďalšie výskumy, vrátane testovania *in vitro* dosiahnutých výsledkov v podmienkach *in vivo*. Progres je nevyhnutné dosiahnuť aj v technológii prípravy stabilných a účinných foriem EO, napr. metódou enkapsulácie a ich aplikáciou v kŕmnych peletách zabezpečiť dobrý zdravotný stav rýb a prísun bezpečného a kvalitného rybieho mäsa a rybích produktov.

POĎAKOVANIE

Predkladaná práca vznikla s podporou projektu VEGA 1/0731/21.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AL-SAGHEER, A.A., MAHMOUD, H. K., REDA, F. M., MAHGOUB, S. A., AYYAT, M. S., 2018: Supplementation of diets for Oreochromis niloticus with essential oil extracts from lemongrass (Cymbopogon citratus) and geranium (Pelargonium graveolens) and effects on growth, intestinal microbiota, antioxidant and immune activities. Aquac. Nutr., 24, 1006–1014
2. BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., IDAOMAR, M., 2008: Biological effects of essential oils - A review. Food Chem. Toxicol., 46, 446–475.

3. CHEN, S., BLOM, J., LOCH, T. P., FAISAL, M., AND WALKER, E. D., 2017: The emerging fish pathogen *Flavobacterium spartansii* isolated from Chinook salmon: comparative genome analysis and molecular manipulation. Front. Microbiol. 8:2339. doi: 10.3389/fmicb.2017.02339.
4. DAWOOD, M. A. O., EL BASUINI, M. F., YILMAZ, S. et al., 2022: Exploring the Roles of Dietary Herbal Essential Oils in Aquaculture: A Review. Animals, 12, 823. https://doi.org/10.3390/ ani12070823.
5. DURMIC, Z., BLACHE, D., 2012: Bioactive plants and plant products: Effects on animal function, health and welfare. Anim. Feed Sci. Technol. 176, 150–162.
6. EL ASBAHANI, A., MILADI, K., BADRI, W. et al., 2015: Essential oils: From extraction to encapsulation. Int. J. Pharm., 483, 220–243.
7. FIGUEIREDO, A.C., BARROSO, J. G., PEDRO, L. G., SCHEFFER, J. J. C., 2008: Factors affecting secondary metabolite production in plants: Volatile components and essential oils. Flavour Fragr. J., 23, 213–226.
8. GIANNENAS, I. et al., 2012: Assessment of dietary supplementation with carvacrol or thymol containing feed additives on performance, intestinal microbiota and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 350–353, 26–32.
9. GULEC, A. K. et al., 2013: Effect of mixed use of thyme and fennel oils on biochemical properties and electrolytes in rainbow trout as a response to *Yersinia ruckeri* infection. Acta Veterinaria Brno, 82, 297–302.
10. GULTEPE, N. et al., 2014: Effects of herbs and spice on health status of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) challenged with *Streptococcus iniae*. Acta Veterinaria Brno, 83, 125–131.
11. HALPERN, M., IZHAKI, I., 2017: Fish as hosts of Vibrio cholerae. Front. Microbiol. 8:282. doi: 10.3389/fmicb.2017.00282.
12. KERIE, Y., NURU, A., ABAYNEH, T., 2019: *Edwardsiella* species infection in fish population and its status in Ethiopia. Fish. Aquac. J. 10, 1–7.
13. MARTINSEN, B., HORSBERG, T. E., 1995: Comparative single-dose pharmacokinetics of four quinolones, oxolinic acid, flumequine, sarafloxacin, and enrofloxacin, in Atlantic salmon (*Salmo salar*) held in seawater at 10 degrees C., Antimicrob Agents Chemother., 39(5):1059-64.
14. McBRIDE, M. J., 2014: "The family Flavobacteriaceae," in The Prokaryotes: Other Major Lineages Of Bacteria And The Archaea, eds E. Rosenberg, E. F. DeLong, S. Lory, E. Stackebrandt, and F. Thompson (Berlin: Springer), 643–676.

15. MEKASHA, S. and LINKE, D., 2021: Secretion Systems in Gram-Negative Bacterial Fish Pathogens. Front. Microbiol. 12:782673. doi: 10.3389/fmicb.2021.782673.
16. MOCANU, E. et al., 2019: Lucrări Științifice - Universitatea de Științe Agricole şi Medicină Veterinară, Seria Zootehnie, Vol.71 pp.139-145 ref.17.
17. NAVARRETE, P., TOLEDO, I., MARDONES, P., OPAZO, R., ESPEJO, R., ROMERO, J., 2010: Effect of *Thymus vulgaris* essential oil on intestinal bacterial microbiota of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (walbaum) and bacterial isolates. Aquac. Res., 41, e667–e678
18. NOVOSLAVSKIJ, A., TERENTJEVA, M., EIZENBERGA, I. et al., 2016: Major foodborne pathogens in fish and fish products: a review. Ann Microbiol 66, 1–15. https://doi.org/10.1007/s13213-015-1102-5.
19. PALÍKOVÁ, M. et al., 2014: Seasonal occurrence of diseases in a recirculation system for salmonid fish in the Czech Republic. Acta Veterinaria Brno, 83, 201–207.
20. PETERFALVI, A., MIKO, E., NAGY, T., REGER, B., SIMON, D., MISETA, A., CZÉH, B., SZEREDAY, L., 2019. Much More Than a Pleasant Scent: A Review on Essential Oils Supporting the Immune System. Molecules (Basel, Switzerland), 24(24), 4530. https://doi.org/10.3390/molecules24244530.
21. SAMUELSEN, O. B., 2006: Absorption, tissue distribution, metabolism and excretion of ormetoprim and sulphadimethoxine in cod (*Gadus morhua*) after oral administration of Romet, Journal of Applied Ichthyology, Volume 22, Issue 1.
22. STEINER, T., SYED, B., 2015: Phytogenic Feed Additives in Animal Nutrition. In Medicinal and Aromatic Plants of the World. Medicinal and Aromatic Plants of the World; Máthé, Á., Ed.; Springer: Dordrecht, The Netherlands; Volume 1, pp. 403–423, ISBN 978-94-017-9810-5.
23. STEVANOVIC, Z. D. et al., 2018: Essential Oils as Feed Additives-Future Perspectives. Molecules 14; 23(7):1717. doi: 10.3390/molecules23071717.
24. TOBBACK, E. et al., 2007: *Yersinia ruckeri* infections in salmonid fish. J. Fish Dis. 30, 257–268.
25. WROBEL, A., LEO, J. C., LINKE, D., 2019. Overcoming fish defences: the virulence factors of *Yersinia ruckeri*. Genes (Basel) 10:700.
26. WROBEL, A. et al., 2018: pYR4 from a Norwegian isolate of *Yersinia ruckeri* is a putative virulence plasmid encoding both a Type IV pilus and a Type IV secretion system. Front. Cell. Infect. Microbiol. 8:373. doi: 10.3389/fcimb.2018.00373.

27. YANG, C., CHOWDHURY, M. A. K., HOU, Y., GONG, J., 2015: Phytogenic Compounds as Alternatives to In-Feed Antibiotics: Potentials and Challenges in Application. Pathogens, 4, 137–156.
28. ZENG, Z.; ZHANG, S.; WANG, H.; PIAO, X., 2015: Essential oil and aromatic plants as feed additives in non-ruminant nutrition: A review. J. Anim. Sci. Biotechnol. 6.
29. ZHANG, R., WANG, X. W., LIU, L. L., CAO, Y. C., ZHU, H., 2020: Dietary oregano essential oil improved the immune response, activity of digestive enzymes, and intestinal microbiota of the koi carp, Cyprinus carpio. Aquaculture, 518, 734781.

Kontaktná adresa: Koščová Jana, Department of Microbiology and Immunology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: jana.koscova@uvlf.sk

VPLYV SEZÓNNOSTI NA KVALITATÍVNY ASPEKT A FUNKČNOSŤ MLIEKA PRODUKOVANÉHO SLOVENSKÝM STRAKATÝM DOBYTKOM

THE IMPACT OF SEASONALITY ON QUALITATIVE ASPECT AND FUNCTIONALITY OF MILK PRODUCED BY SLOVAK SPOTTED CATTLE

Kováčová Mariana, Maľová Jana, Výrostková Jana, Dudriková Eva, Hanzelová Zuzana

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

ABSTRACT

The aim of this work was to determine the influence of selected external factors (seasonal changes) on the quality of raw cow's milk production, focusing on milk fat content, in practical conditions. The samples were obtained from four production farms (PH1, PH2, PH3 and PH4), which are dedicated to the breeding of Slovak spotted cattle. The results indicate significant statistical changes ($p < 0.05$; $p < 0.01$; $p < 0.001$) in milk fat content in relation to the season's effect and also individuality of production holdings.

Key words: season, milk quality, milk composition, fat content

ÚVOD

Produkcia a kvalita surového kravského mlieka na úrovni farmy závisí od mnohých vonkajších a vnútorných faktorov. Medzi najčastejšie popisované vonkajšie faktory patrí najmä tepelný stres, ročné obdobie, vlhkosť a vnútorné faktory ako štádium laktácie, stav metabolizmu dojníc, zdravotný stav dojníc a vemena dojníc (Tančin et al., 2020). Pochopenie faktorov, ktoré ovplyvňujú zloženie mlieka a jeho následnú technologickú kvalitu si vyžaduje veľkú pozornosť. Potreba maximalizovať efektivitu procesu a jednotnosť produktu vytvorila výskumný impulz na pochopenie zmien v zložení mlieka. Mlieko je komplexný biologický systém, ktorý je výrazne ovplyvnený mnohými faktormi. Obsah tuku, bielkovín, laktózy a minerálov podlieha zmenám súvisiacim s vyššie uvedenými faktormi, ktoré menia nutričnú kvalitu, modulujú interakcie medzi jednotlivými zložkami a ich následnú funkčnosť (Ly et al., 2019).

Mliečny tuk je veľmi cennou zložkou mlieka vďaka jeho použitiu v rôznych mliečnych výrobkoch vrátane smotany, masla, plnotučného syra, sušeného plnotučného mlieka a smotanových jogurtov. Napriek tomuto širokému spektru použitia sa mliečne tuky v minulosti

vnímali negatívne (Timlin et al., 2021). Keysa (1953), ktorý pozoroval vzťah medzi kardiovaskulárnym ochorením a príjmom tukov v strave, konkrétne nasýtených tukov. Úprava zloženia potravín, ako je mlieko, aby obsahovali viac nenasýtených tukov, a tým zlepšili nutričnú kvalitu potravín a vplývali pozitívne na zdravie ľudí sa v súčasnosti stáva čoraz viac aktuálnejšou témou. Faktory súvisiace s kŕmnou dávkou, sezónne alebo regionálne vplyvy, spolu s faktormi súvisiacimi s genetikou dojníc (plemeno a úžitkovosť) a mnoho ďalších faktorov pôsobiacich samostatne alebo v kombinácií má schopnosť modifikovať zloženie mastných kyselín, ako aj celkové množstvo mliečnych lipidov prítomných v mlieku (Timlin et al., 2021).

Cieľom práce bolo sledovať vplyv vybraných vonkajších faktorov (sezónnych zmien) na kvalitatívnu stránku produkcie surového kravského mlieka, so zameraním na obsah mliečneho tuku, v praktických podmienkach na 4 produkčných hospodárstvach (PH1, PH2, PH3 a PH4), ktoré sa venujú chovu slovenského strakatého dobytka.

MATERIÁL A METODIKA

Táto štúdia bola vykonaná na Katedre hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín na Univerzite veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach počas experimentálneho obdobia jeseň 2020/ zima 2020/ jar 2021/ leto 2021. Počas experimentu bolo celkovo vyšetrených (n = 320) individuálnych vzoriek surového kravského mlieka získaného zo štyroch produkčných hospodárstiev (PH1, PH2, PH3 a PH4) nachádzajúcich sa na území Slovenskej republiky. Všetky produkčné hospodárstva sa venujú chovu Slovenského strakatého dobytka. Dojnice boli dojené dvakrát denne, pričom vzorky mlieka boli odoberané počas ranného dojenia. Do doby stanovenie boli vzorky surového kravského mlieka uchovávané pri teplote 6 ± 2 °C. Stanovenie obsahu mliečneho tuku sa vykonalo použitím prístroja Lactoscan MCCW (Milkotronic Ltd., Nova Zagora, Bulgaria).

Štatistické vyhodnotenie výsledkov sa vykonalo jednosmernou analýzu rozptylu ANOVA s využitím Tukeyho testu na viacnásobné porovnanie priemerov pomocou štatistického softvéru GraphPad Prism 8.3.0.538 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) s intervalom spoľahlivosti nastaveným na 95 %. Numerické údaje uvedené v tejto práci sú vyjadrené ako priemerná hodnota ± štandardná odchýlka (Kováčová et al., 2021).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky našej experimentálnej práce (Tabuľka č. 1) poukazujú na významnú zmenu v obsahu tuku vo vzorkách surového kravského mlieka. V PH1 sa obsah tuku v mlieku výrazne

menil vplyvom jednotlivých sezón. Najvyšší obsah tuku bol stanovený počas letnej sezóny (2,05 ± 0,69 %) a najnižší počas jarnej sezóny (1,30 ± 0,48 %) $p < 0,01$. Obsah tuku vo vzorkách mlieka z PH2 bol najvyšší počas zimnej sezóny (1,79 ± 0,62) a najnižší, taktiež ako v PH1, počas jarnej sezóny (1,32 ± 0,42). Štatisticky významný rozdiel bol zistený medzi nasledujúcimi sezónami: jarná (1,32 ± 0,48) *vs.* zimná (1,79 ± 0,62 %) $p < 0,01$; jesenná (1,41 ± 0,29 %) *vs.* zimná (1,79 ± 0,62 %) $p < 0,05$. V PH3 a PH4 sa obsah mliečneho tuku výrazne nemenil počas celého sledovaného obdobia ($p > 0,05$).

Región, sezónne zmeny a individualita každého produkčného hospodárstva ovplyvnili množstvo mliečneho tuku vo vzorkách mlieka v rámci jednotlivých produkčných hospodárstiev (PH1, PH2, PH3 a PH4). Počas jesennej sezóny bol zaznamenaný štatistický významný rozdiel obsahu mliečneho tuku medzi PH2 a PH3 ($p < 0,05$). Počas zimnej sezóny nebola detegovaná výrazná zmena v obsahu tuku v mlieku medzi produkčnými hospodárstvami ($p > 0,05$). Počas jarnej sezónny boli stanovené významné zmeny v obsahu mliečneho tuku medzi: PH1 *vs.* PH4 ($p < 0,001$); PH1 *vs.* PH3 ($p < 0,01$); PH2 *vs.* PH4 ($p < 0,01$) a PH2 *vs.* PH3 ($p < 0,05$). Vplyv letnej sezóny ovplyvnil množstvo mliečneho tuku predovšetkým medzi PH1 *vs.* PH2 ($p < 0,05$).

Tabuľka č. 1, Obsah mliečneho tuku vo vzorkách surového kravského mlieka (PH1, PH2, PH3 a PH4) ovplyvnený sezónnymi vplyvmi

	PH1	PH2	PH3	PH4
Jesenná sezóna	$1,66 \pm 0,84^{ab}$	$1,41 \pm 0,29^{b;\,2}$	$2,02 \pm 0,51^{1}$	$1,79 \pm 0,62$
Zimná sezóna	$1,47 \pm 0,65^{b}$	$1,79 \pm 0,62^{a}$	$1,78 \pm 0,71$	$1,93 \pm 0,58$
Jarná sezóna	$1,30 \pm 0,48^{b;\,2}$	$1,32 \pm 0,42^{b;\,2}$	$1,87 \pm 0,80^{3}$	$1,98 \pm 0,36^{13}$
Letná sezóna	$2,05 \pm 0,69^{a;\,1}$	$1,45 \pm 0,35^{ab;\,2}$	$1,68 \pm 0,79$	$1,87 \pm 0,88$

hodnoty v stĺpcoch s rozdielnym horným indexom $^{(a, b)}$ sú štatisticky rozdielne ($p < 0,05$); hodnoty v riadkoch s rozdielnym horným indexom $^{(1, 2, 3)}$ sú štatisticky rozdielne ($p < 0,05$)

Pôsobenie sezónnych vplyvov na kvalitatívne parametre kravského mlieka zaznamenalo vo svojich štúdiách viacero autorov (Yang et al., 2013; Wagay et al., 2018; Kull et. al. 2019).

Ozrenk a Inci (2008), vo svojej štúdii uvádzajú, že percentuálne zastúpenie mliečneho tuku v mlieku, bolo najvyššie počas zimnej sezóny a najnižšie počas letnej sezóny, pričom zmena v obsahu mliečneho tuku zapríčinená sezónnymi vplyvmi bola stanovená medzi zimnou *vs.* letnou sezónou na úrovni štatistickej významnosti ($p < 0,05$).

Porovnania sezónnych zmien (Yang et al., 2013), ukázali, že obsah mliečneho tuku v mlieku bol najnižší počas letnej sezóny v mesiaci jún. Výsledky našej práce (Tabuľka č. 1) potvrdzujú výsledky vyššie uvedených štúdii, pričom sme zaznamenali najnižší obsah mliečneho tuku počas jarnej sezóny (PH1 a PH2), a taktiež počas letnej sezóny v PH3 a PH4.

ZÁVER

Sledovanie jednotlivých zložiek surového kravského mlieka je významné z dôvodu výroby mliečnych výrobkov, ktorých vlastností (technologické, senzorické) sú ovplyvnené nielen kŕmnou dávkou, ale taktiež predovšetkým sezónnymi zmenami a individualitu manažmentu každého produkčného hospodárstva. Výsledky práce potvrdzujú vplyv sezóny ako jedného z hlavných faktorov ovplyvňujúcich percentuálne zastúpenie mliečneho tuku vo vzorkách surového kravského mlieka ($p < 0,05$) produkovaného Slovenským strakatým dobytkom.

POĎAKOVANIE

Práca bola finančne podporená projektom KEGA č. 007-4/2020.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. KEYS, A. Atherosclerosis: A problem in newer public health. In *Journal of the Mount Sinai Hospital*. 1953, vol. 20, p. 118-139.
2. KOVÁČOVÁ, M – VÝROSTKOVÁ, J. – DUDRIKOVÁ, E. – ZIGO, F. – SEMJON, B. – REGEZOVÁ, I. Assessment of Quality and Safety of Farm Level Produced Cheeses from Sheep and Goat Milk. In *Applied Sciences.* ISSN: 2076-3417, 2021, vol. 11, p. 3196.
3. KULL, E. – SSHIN, A. – ATASEVER, S. – UGURLUTEPE, E. – SOYANDER, M. The effects of somatic cell count on milk yield and milk composition in Holstein cows. In *Veterinarski Arhiv*. ISSN: 1331-8055, 2019, vol. 89, p. 143-154.
4. LI, S. – YE, A. – SINGH, H. Seasonal variations in composition, properties, and heat-induced changes in bovine milk in a seasonal calving system. *In Journal of Dairy Science*. ISSN: 0022-0302, 2019, vol. 102, p. 7747-7759.
5. OZRENK, E. – SELCUK, S. – INCI, S. The effect of seasonal variation on the composition of cow milk in Van Province. In *Pakistan Journal of Nutrition.* ISSN 1994-7984, 2008, vol. 7, no. 1, p. 161-164.

6. TANČIN, V. – MIKLÁŠ, Š. – ČOBIRKA, M. – UHRINČAŤ, M. – MAČUHOVÁ, L. Factors affecting raw milk quality of dairy cows under practical conditions. In *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*. ISSN: 1337-0960, 2020, vol 14, p. 744-749.
7. TIMLIN, M. – TOBIN, J. T. – BRUDKORB, A. – MURPHY, E. G. – DILLON, P. – HENNESSY, D. – O'DONOVAN, M. – PIERCE, K. M. – O'CALLAGHAN, T. F. The Impact of Seasonality in Pasture-Based Production Systems on Milk Composition and Functionality. In *Foods*. ISSN: 2304-8158, 2021, vol.10, p. 607.
8. WAGAY, M. A. – TOMAR, A. K. S. – LONE, S. A. – SINGH, A. K. – CAROLINA, P. 2018. Association of milk quality parameters with teat and udder traits in Tharparkar cows. In *Indian Journal Of Animal Research*. ISSN: 0367-6722, 2018, vol. 52, p. 1368-1372.
9. YANG, L. – YANG, Q. – YI, M. – PANG, Z. H. – XIOONG, B. H. Effects of seasonal change and parity on raw milk composition and related indices in Chinese Holstein cows in northern China. In *Journal of Dairy Sciences*. ISSN: 0022-0302, 2013, vol. 96, p. 6863-6869.

Kontaktná adresa: Kováčová Mariana, Mgr., Department of Hygiene Technology and Food Safety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: mariana.kovacova@student.uvlf.sk

SÚČASNÝ PRÁVNY RÁMEC KONTROLY REZÍDUÍ ANTIMIKROBIÁLNYCH LÁTOK V POTRAVINÁCH ŽIVOČÍŠNEHO PÔVODU
CURRENT REGULATORY FRAMEWORK FOR THE CONTROL OF RESIDUES OF ANTIMICROBIAL SUBSTANCES IN FOODS OF ANIMAL ORIGIN

Kožárová Ivona, Regecová Ivana

Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, UVLF v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

Regulation (EU) 2017/625 of the European Parliament and of the Council and its implementing acts lay down specific rules for official controls on substances, the use of which may lead to residues in animal products. This manuscript approximates 1) specific rules on official controls and for action taken by the competent authorities in relation to the residues of antimicrobials in foodstuffs of animal origin; 2) specific requirements for official controls and applicable measures in cases of non-compliance or suspected non-compliance with Union rules applicable to the use of authorised, unauthorised or prohibited pharmacologically active substances on food-producing animals and to their residues. The relevant rules ensure the harmonised enforcement of the EU food safety legislation and public health protection.

Key words: antimicrobials, residues, control, rules

ÚVOD

Antimikrobikum je každá látka s priamym účinkom na mikroorganizmy používaná na liečbu alebo prevenciu infekcií alebo infekčných chorôb vrátane antibiotík, antivirotík, antimykotík a antiprotozoík. Ich podávanie zvieratám určeným na produkciu potravín je spájané s rizikom pre zdravie ľudí, pokiaľ ide o prítomnosť rezíduí v jedlých tkanivách alebo vajciach, mlieku a mede, ktoré boli získané z liečených zvierat (Nariadenie (EÚ) č. 2019/6).

Snaha o zabezpečenie vysokej úrovne ochrany zdravia ľudí je jedným zo základných cieľov potravinového práva Európskej únie (EÚ) (Nariadenie (ES) č. 178/2002). V kontexte uplatňovania princípov jedného zdravia sa nariadením (EÚ) č. 2017/625 ustanovil nový regulačný rámec ošetrujúci aj špecifické pravidlá pre úradné kontroly a pre opatrenia, ktoré príslušné orgány prijmú v súvislosti s rezíduami príslušných látok v potravinách a krmivách a osobitné pravidlá na úradné kontroly a opatrenia uplatniteľné v prípadoch podozrenia na nedodržiavanie alebo zisteného nedodržiavania pravidiel EÚ, ktoré sa vzťahujú na používanie

povolených, nepovolených alebo zakázaných farmakologicky účinných látok na zvieratách určených na produkciu potravín a na ich rezíduá.

Špecifické pravidlá pre úradné kontroly a pre opatrenia, ktoré prijmú príslušné orgány v súvislosti s rezíduami antimikrobiálnych látok v potravinách živočíšneho pôvodu

Základný regulačný rámec EÚ pre úradné kontroly a iné úradné činností ustanovený nariadením (EÚ) č. 2017/625 zakotvuje aj špecifické pravidlá pre úradné kontroly týkajúce sa antimikrobiálnych (farmakologicky účinných) látok, ktorých použitie môže viesť k rezíduám v potravinách živočíšneho pôvodu. Špecifické pravidlá pre úradné kontroly a pre úkony, ktoré príslušné orgány vykonajú v súvislosti s výrobou produktov živočíšneho pôvodu určených na ľudskú spotrebu zahŕňajú 1) úradné kontroly, ktoré vykonáva na bitúnkoch, v rozrábkarňach a v prevádzkarňach na manipuláciu so zverou úradný veterinárny lekár, alebo sa vykonávajú pod dozorom úradného veterinárneho lekára alebo, ak sú zavedené dostatočné záruky, na zodpovednosť úradného veterinárneho lekára, aby sa overilo dodržanie požiadaviek vzťahujúcich sa na prítomnosť rezíduí veterinárnych liekov v produktoch živočíšneho pôvodu určených na ľudskú spotrebu, 2) úradné kontroly nepovolených, zakázaných a nežiaducich látok, ktorých použitie na výrobu alebo spracovanie potravín alebo ktorých prítomnosť v zvieratách môžu viesť k tomu, že v potravinách zostanú rezíduá týchto látok.

Presadzovanie týchto špecifických pravidiel sa vykonáva prostredníctvom delegovaných a vykonávacích aktov nariadenia (EÚ) č. 2017/625, ktoré stanovujú, resp. v blízkej budúcnosti budú stanovovať špecifické požiadavky na vykonávanie úradných kontrol, pokiaľ ide o a) určenie rozsahu vzoriek a stupňa výroby, spracovania a distribúcie, v ktorom sa vzorky majú odobrať v súlade s metódami, ktoré sa majú používať na odber vzoriek a laboratórne analýzy, b) prípady, keď majú príslušné orgány v súvislosti s nedodržiavaním pravidiel alebo s podozrením na nedodržiavanie pravidiel prijať jedno alebo viacero opatrení, c) prípady, keď majú príslušné orgány v súvislosti s nedodržiavaním pravidiel alebo s podozrením na nedodržiavanie pravidiel týkajúcich sa zvierat a tovaru z tretích krajín prijať jedno alebo viacero opatrení, d) jednotnú minimálnu frekvenciu takýchto úradných kontrol so zreteľom na nebezpečenstvá a riziká súvisiace s látkami, e) špecifické praktické opatrenia pre spustenie mechanizmu administratívnej pomoci a spolupráce.

Príslušné orgány, až do doby prijatia príslušných delegovaných a implementovaných aktov doplňujúcich nariadenie (EÚ) č. 2017/625, naďalej vykonávajú úradné kontroly potrebné na odhalenie výskytu látok a skupín rezíduí uvedených v prílohe I k smernici 96/23/ES vrátane látok zo skupiny A (nepovolené /zakázané/ látky) a skupiny B (antibakteriálne látky,

sulfónamidy, chinolóny, antihelmintiká, antikokcidiká, nitroimidazoly) v súlade s prílohou II (v závislosti od druhu zvieraťa, živočíšneho produktu, krmiva vrátane pitnej vody), prílohou III (v súlade so stratégiou odberu vzoriek) a prílohou IV (v súlade s rozsahom a frekvenciou vzoriek). Jednotné praktické opatrenia na vykonávanie úradných kontrol produktov živočíšneho pôvodu určených na ľudskú spotrebu vrátane kontroly prítomnosti rezíduí a posúdenia vhodnosti/nevhodnosti živočíšneho produktu na ľudskú spotrebu stanovuje vykonávacie nariadenie Komisie (EÚ) č. 2019/627. Donucovacie opatrenia, ktoré majú príslušné orgány prijať v prípade podozrenia na nedodržiavanie alebo zisteného nedodržiavania pravidiel EÚ, ktoré sa vzťahujú na používanie alebo rezíduá antimikrobiálnych látok povolených vo veterinárnych liekoch alebo ako kŕmne doplnkové látky ustanovuje delegované nariadenie Komisie (EÚ) č. 2019/2090.

Osobitné požiadavky na úradné kontroly a opatrenia uplatniteľné v prípadoch nedodržiavania alebo podozrenia na nedodržiavanie pravidiel Únie, ktoré sa vzťahujú na používanie povolených, nepovolených alebo zakázaných farmakologicky účinných látok na zvieratách určených na výrobu potravín a na ich rezíduá

V súlade s vykonávacím nariadením Komisie (EÚ) č. 2019/627 produkty živočíšneho pôvodu (čerstvé mäso, surové mlieko, produkty rybolovu) obsahujúce rezíduá antimikrobiálnych látok presahujúce úrovne maximálnych limitov alebo maximálnych hladín rezíduí stanovených nariadením (EÚ) č. 37/2010 alebo nariadením Komisie (ES) č. 124/2009 sú vyhlásené ako nevhodné na ľudskú spotrebu. V kontexte tohto rozhodnutia sa delegovaným nariadením Komisie (EÚ) č. 2019/2090 stanovujú 1) opatrenia, ktoré sa majú prijať na bitúnku v prípade nedodržiavania alebo podozrenia na nedodržiavanie pravidiel, 2) následné opatrenia v prípade, že rezíduá farmakologicky účinných látok povolených vo veterinárnych liekoch alebo ako kŕmne doplnkové látky prekračujú uplatniteľné maximálne limity rezíduí alebo maximálne hladiny rezíduí, a 3) následné opatrenia v prípade nezákonného ošetrenia a vlastníctva zakázaných alebo nepovolených látok alebo prípravkov.

Prijímanie opatrení sa zakladá na vyšetrovaní, ktoré vykonáva príslušný orgán v súvislosti s predmetným zistením. Ak úradný veterinárny lekár (ÚVL) vykonávajúci úradné kontroly na bitúnku alebo úradný veterinárny asistent (ÚVA) vykonávajúci určité úlohy v rámci týchto kontrol zistia nezákonné ošetrenie, ÚVL prevádzkovateľovi nariadi, aby odstránil jatočné telá, mäso, vedľajšie jatočné produkty a vedľajšie produkty, ako sa stanovuje v nariadení (ES) č. 1069/2009, bez odškodnenia alebo náhrady. Pri podozrení, že zvieratá nachádzajúce sa na bitúnku boli ošetrené povoleným veterinárnym liekom, ale nebola dodržaná

ochranná lehota, ÚVL nariadi, aby sa príslušné zvieratá oddelili od ostatných skupín zvierat nachádzajúcich sa na bitúnku, odloží zabitie na náklady prevádzkovateľa až do uplynutia ochrannej lehoty alebo nariadi, aby boli zvieratá zabité oddelene, a aby jatočné telá, mäso, vedľajšie jatočné produkty a vedľajšie produkty z príslušných zvierat boli bezodkladne identifikované a držané oddelene od ostatných produktov živočíšneho pôvodu, až kým nebude známy výsledok vyšetrenia. Ak však existuje dôkaz, že zvieratá nachádzajúce sa na bitúnku boli ošetrené povoleným veterinárnym liekom, ale nebola dodržaná ochranná lehota, UVL nariadi, aby sa príslušné zvieratá oddelili od ostatných skupín zvierat nachádzajúcich sa na bitúnku, odloží zabitie na náklady prevádzkovateľa až do uplynutia ochrannej lehoty, alebo nariadi prevádzkovateľovi, aby zvieratá zabil oddelene. V takom prípade ich ÚVL vyhlási za nevhodné na ľudskú spotrebu a zároveň prijme všetky potrebné preventívne opatrenia na ochranu verejného zdravia a zdravia zvierat.

Príslušný orgán následne vykoná všetky vyšetrovacie úkony v poľnohospodárskom podniku pôvodu alebo odoslania zvierat s cieľom zistiť rozsah a pôvod nedodržania pravidiel a stanoviť mieru zodpovednosti prevádzkovateľa, vrátane komunikácie so zodpovedným veterinárnym lekárom, preverovania dokumentácie súvisiacej s ošetrením zvierat a držbou farmakologicky účinných látok, úradného odberu vzoriek vody, krmiva, mäsa, vedľajších jatočných produktov, krvi, vedľajších živočíšnych produktov, srsti, moču, výkalov a v prípade zistení rezíduí v iných živočíšnych matriciach (produkty rybolovu, mlieko, vajcia, med) aj v týchto matriciach vrátane vôd, v ktorých sa produkty rybolovu chovajú alebo lovia, a v prípade medonosných včiel aj vzorky z úľov. V prípade opakovaného nedodržania pravidiel tým istým prevádzkovateľom vykonáva príslušný orgán pravidelné dodatočné úradné kontroly počas najmenej šiestich mesiacov odo dňa, keď bol zistený druhý prípad nedodržania pravidiel v prípade, že rezíduá farmakologicky účinných látok povolených vo veterinárnych liekoch alebo ako kŕmne doplnkové látky prekračujú uplatniteľné maximálne limity rezíduí alebo maximálne hladiny rezíduí, resp. počas obdobia najmenej 12 mesiacov v prípade nezákonného ošetrenia a vlastníctva zakázaných alebo nepovolených látok alebo prípravkov.

Úradným kontrolám môže následne podliehať celý výrobný reťazec zvierat a produktov živočíšneho pôvodu. Ak sa nedodržiavanie pravidiel zistí v súvislosti so zvieratami alebo s produktmi živočíšneho pôvodu pochádzajúcimi z iného členského štátu, príslušný orgán, ktorý vykonáva vyšetrovanie, zašle príslušnému orgánu členského štátu pôvodu oznámenie o zistenom nedodržiavaní pravidiel a v prípade potreby požiada príslušný orgán členského štátu pôvodu o administratívnu pomoc a spoluprácu.

ZÁVER

Nariadením Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 2017/625 a jeho vykonávacími aktmi sa stanovujú osobitné pravidlá pre úradné kontroly týkajúce látok, ktorých použitie môže viesť k rezíduám v živočíšnych produktoch. Príslušné pravidlá zabezpečujú harmonizované presadzovanie právnych predpisov EÚ pre zaistenie bezpečnosti potravín a ochranu verejného zdravia.

POĎAKOVANIE

Spracovanie príspevku bolo podporené projektom KEGA č. 015UVLF-4/2021.

LITERATÚRA

1. Delegované Nariadenie Komisie (EÚ) č. 2019/2090 z 19. júna 2019, ktorým sa dopĺňa nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/625, pokiaľ ide o prípady podozrenia na nedodržiavanie alebo zisteného nedodržiavania pravidiel Únie, ktoré sa vzťahujú na používanie alebo rezíduá farmakologicky účinných látok povolených vo veterinárnych liekoch alebo ako kŕmne doplnkové látky, alebo pravidiel Únie, ktoré sa vzťahujú na používanie alebo rezíduá zakázaných alebo nepovolených farmakologicky účinných látok. Ú. v. EÚ L 137, 2019, 28-37.
2. Nariadenie (ES) č. 178/2002 Európskeho parlamentu a Rady z 28. januára 2002, ktorým sa ustanovujú všeobecné zásady a požiadavky potravinového práva, zriaďuje Európsky úrad pre bezpečnosť potravín a stanovujú postupy v záležitostiach bezpečnosti potravín. Ú. v. ES L 31, 2002, 1-24.
3. Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009 z 21. októbra 2009 , ktorým sa ustanovujú zdravotné predpisy týkajúce sa vedľajších živočíšnych produktov a odvodených produktov neurčených na ľudskú spotrebu. Ú. v. ES L 300, 2009, 1-33.
4. Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 2019/6 z 11. decembra 2018 o veterinárnych liekoch a o zrušení smernice 2001/82/ES. Ú. v. EÚ L 4, 2002, 43-167.
5. Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 2017/625 z 15. marca 2017 o úradných kontrolách a iných úradných činnostiach vykonávaných na zabezpečenie uplatňovania potravinového a krmivového práva a pravidiel pre zdravie zvierat a dobré životné podmienky zvierat, pre zdravie rastlín a pre prípravky na ochranu rastlín. Ú. v. EÚ L 95, 7. 4. 2017, s. 1–142.

6. Nariadenie Komisie (ES) č. 124/2009 z 10. februára 2009 , ktorým sa stanovujú najvyššie obsahy prítomnosti kokcidiostatík a histomonostatík v potravinách spôsobenej nevyhnutným prenosom týchto látok do necieľového krmiva. Ú. v. ES L 40, 2009, 7-11.
7. Nariadenie Komisie (EÚ) č. 37/2010 o farmakologicky účinných látkach a ich klasifikácii, pokiaľ ide o maximálne limity rezíduí v potravinách živočíšneho pôvodu. Ú. v. EÚ L 15, 2010, 1-72.
8. Smernica Rady (ES) č. 96/23 o opatreniach na monitorovanie určitých látok a ich rezíduí v živých zvieratách a živočíšnych produktoch a o zrušení smerníc 85/358/EHS, 86/469/EHS a rozhodnutí 89/187/EHS a 91/664/EHS. Ú. v. ES L 125, 1996, 10-32.
9. Vykonávacie nariadenie Komisie (EÚ) č. 2019/627 z 15. marca 2019, ktorým sa stanovujú jednotné praktické opatrenia na vykonávanie úradných kontrol produktov živočíšneho pôvodu určených na ľudskú spotrebu v súlade s nariadením Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/625 a ktorým sa mení nariadenie Komisie (ES) č. 2074/2005, pokiaľ ide o úradné kontroly. Ú. v. EÚ L 131, 17. 5. 2019, s. 51–100.

Kontaktná adresa: Kožárová Ivona, doc. MVDr., PhD., Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; E-mail: ivona.kozarova@uvlf.sk

ZHODNOTENIE SITUÁCIE VÝSKYTU ZOONÓZ, ALIMENTÁRNYCH NÁKAZ A NÁKAZ Z VODY V SR ZA ROK 2020

EVALUATION OF THE SITUATION OF ZOONOSES, ALIMENTARY AND WATER DISEASES IN THE SR IN 2020

Kromerová Katarína, Kotrčová Zuzana, Kuzmiak Theiszová Marica

Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR, Národný kontaktný bod pre vedeckú a technickú spoluprácu s EFSA, Odbor bezpečnosti potravín a výživy, Dobrovičova 12, 812 66 Bratislava, Slovenská republika

ABSTRACT

The protection of human and animal health can only be achieved through the active cooperation of experts in control and research in the human and veterinary fields. Scientific risk assessment is the basis for risk management. The joint national "Report on zoonoses, foodborne diseases and waterborne diseases in the Slovak Republic" (hereinafter "the report") contains data not only from the official control performed in the fields of agriculture, veterinary and health, but also data from research institutes and universities. The preparation of the report is coordinated annually by the National Contact Point for Scientific and Technical Cooperation with EFSA, established at the Department of Food Safety and Nutrition at the Ministry of Agriculture and Rural Development of the Slovak Republic. The number of monitored agents, cooperating organizations and experts is growing every year. 70 experts from 26 scientific, professional and control organizations cooperated in the 2020 report. The report describes the status of 35 zoonotic agents, 5 foodborne infections without zoonotic potential and 4 waterborne pathogens. Of the 44 agents monitored, 23 are bacterial, 10 parasitic, 10 viral and prions.

Keywords: National Focal point EFSA, scientific cooperation, zoonoses

ÚVOD

Ochranu zdravia ľudí i zvierat je možné dosiahnuť iba aktívnou spoluprácou expertov z kontroly a výskumu v humánnej i veterinárnej oblasti. Vedecké hodnotenie rizika je základom pre riadenie rizika. Spoločná národná **„Správa o zoonózach, alimentárnych nákazách a nákazách z vody v SR“** (ďalej „správa“), obsahuje dáta nielen z úradnej kontroly vykonávanej v rezortoch pôdohospodárstva a zdravotníctva, ale i dáta z výskumných pracovísk a univerzít. **Prípravu správy každoročne koordinuje Národný kontaktný bod pre vedeckú**

a technickú spoluprácu s EFSA (NKB EFSA)**, zriadený na odbore bezpečnosti potravín a výživy na Ministerstve pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR** (https://www.mpsr.sk/nkb-efsa/47-111-494). Počet sledovaných pôvodcov, spolupracujúcich organizácií i expertov každoročne narastá. Na správe za rok 2020 spolupracovalo **70 expertov z 26 vedeckých, odborných a kontrolných organizácií.**

Správa popisuje stav u **35 pôvodcov zoonóz, 5 alimentárnych nákaz bez zoonotického potenciálu a 4 pôvodcov nákazy z vody. Zo 44 sledovaných agensov je 23 bakteriálnych, 10 parazitárnych, 10 vírusových a priony.**

V roku 2020 bolo hlásených 17 067 humánnych ochorení spôsobených sledovanými pôvodcami, pričom 29,1 % sa týkalo kampylobakterióz, 20,9 % ochorení spôsobených *Clostridium dificille* a 20,4 % salmonelóz. Vyšším percentom sa na ochoreniach podieľali aj rotavírus 11,6 %, Norwalk vírus 5,1 %, *Borrelia burgdorferi s.l.* 5,6 % a *Escherichia coli* 1,2 %.

Sedem zo sledovaných pôvodcov bolo príčinou **380 humánnych epidémií**, z ktorých 56,6 % boli salmonelózy, 23,2 % boli kampylobakteriózy a 12,6 % epidémií bolo spôsobených rotavírusom. Menším percentom sa na epidémiách podieľali Norwalk vírus 5,5 %, vírus kliešťovej encefalitídy 1,3 %, šigela 0,5 % a yersínie 0,3 %.

Na prítomnosť 15 pôvodcov bolo vyšetrených **35 957 vzoriek potravín** s pozitívnym nálezom v 2,2 % vzoriek. Vyššie percentá pozitívnych nálezov boli u *Yersinia* spp. 48,1 %, *Enterococcus* spp. 46,3 % a *Vibrio* spp. 31,8 %.

Prítomnosť 30 pôvodcov bola sledovaná v **2 483 239 vzorkách** pochádzajúcich od **hospodárskych i divo žijúcich zvierat, domácich miláčikov a zoo zvierat** odobratých v rámci úradnej kontroly, preventívnych monitoringov, výskumu, ako i od chorých či uhynutých zvierat. Pozitívne nálezy tvorili 0,1 % vzoriek. Vyššie percentá pozitívnych nálezov boli zaznamenané u *Aeromonas* spp 59,3 %, *Clostridium* spp. 55,4 %, *Francisella tularensis* 50,4 %, *Babesia* spp. 41,1 %, *Dirofilaria* spp. 34,8 %, *Campylobacter* spp. 18,3 %, *Yersinia* spp. 18,3 %, *Staphylococcus aureus* 18,1 %, vírusu hepatitídy E 14,1 %, *Listeria monocytogenes* 11,8 %, *Toxocara* spp. 10,5 %.

Krmivá – 385 vzoriek bolo vyšetrovaných na prítomnosť *Salmonella* spp. (1,5 % pozitívnych vzoriek), *Escherichia coli* (60,0 % pozitívnych vzoriek) a *Clostridium* spp. (1,7 % pozitívnych vzoriek).

Na prítomnosť 9 pôvodcov bolo vyšetrených **35 746 vzoriek vody**, z ktorých 7,4 % bolo pozitívnych, na čom sa najvyššou mierou podieľali najmä *Legionella* spp. 47,1 % a *Vibrio* spp. 39,5 %.

Na prítomnosť 8 pôvodcov bolo vyšetrených **44 633 vzoriek z prostredia**, z ktorých bolo 2,3 % pozitívnych, na čom sa najvyššou mierou podieľali najmä *Legionella* spp. 36,0 %, *Vibrio* spp. 6,8 %, *E.coli* 3,6 % a *Enterococcus* spp. 2,6 %.

V 1 974 vzorkách kliešťov bola sledovaná prítomnosť 4 patogénov prenášaných vektormi. Z kliešťov cicajúcich na ľuďoch bolo 27,2 % pozitívnych na *Borrelia burgdorferi* s. l. a 7,0 % na *Anaplasma phagocytophilum.* Z kliešťov odobratých z vegetácie bolo 24,2 % pozitívnych na vírus kliešťovej encefalitídy. Všetky kliešte cicajúce na zvieratách boli negatívne na *Borrelia burgdorferi* s. l., *Anaplasma phagocytophilum a Babesia* spp. Okrem kliešťov sa v roku 2020 sledovali aj **komáre** na prítomnosť západonílskeho vírusu, pričom prevalencia bola 0,0 %.

V roku 2020 sa **v porovnaní s rokom 2019 znížil výskyt ochorení u ľudí** spôsobených napr. *Salmonella spp.,* (o 34 %), *Shigella spp.* (o 30 %), *Campylobacter spp.* (o 37 %), *Francisella tularensis* (o 45 %), *Listeria spp.* (o 61 %), *Clostridium spp.* (o 15 %), vírusom hepatitídy E- HEV (o 55,6 %), Toxoplasma gondii (o 22 %), Hantaan vírus (o 45 %), ale aj *E. coli, Yersínia spp., Mycobacterium spp.,* vírusom hepatitídy A- HAV, *Echinococcus spp.*, Trichinella spp., Anisakis spp.

V roku 2020 neboli zaznamenané **žiadne ochorenia ľudí spôsobené** napr. *Cronobacter spp., Vibrio spp., Enterococcus spp.,* západonílskym vírusom, *Babesia spp., Taenia spp.*

Slovenská republika je krajinou úradne bez výskytu bovinnej, ovinnej a kaprinnej brucelózy, bez výskytu bovinnej tuberkulózy. Posledný prípad sneti slezinnej u zvierat bol zaznamenaný v Slovenskej republike v roku 2014 a posledný prípad antraxu u ľudí v roku 2003. Posledný prípad ochorenia na besnotu u ľudí bol na Slovensku zaznamenaný v roku 1990. Besnota u zvierat bola naposledy diagnostikovaná v roku 2015. Posledný pozitívny prípad BSE u zvierat bol na Slovensku diagnostikovaný v roku 2010. Prípady výskytu klasickej formy scrapie boli v SR zaznamenané naposledy v roku 2017.

Súčasťou správy sú i výsledky vyšetrení na rezistenciu mikroorganizmov voči antimikrobiálnym látkam. Mikrobiálna rezistencia bola sledovaná u *Salmonella* spp., *E.coli, Campylobacter* spp., *Staphylococcus aureus* a *Enterococcus* spp.

Komplexná správa, ktorá bola vydaná ako publikácia s prideleným ISBN v tlačenej forme, má rozsah viac ako 130 strán. Súhrny jednotlivých kapitol správy boli preložené do anglického jazyka a vydané v elektronickej verzii ako publikácia s prideleným ISBN. Súhrn správy v slovenskom aj anglickom jazyku je zverejnený takisto na webovej stránke MPRV SR, v časti Bezpečnosť potravín a https://www.mpsr.sk/sprava-o-zoonozach-alimentarnych-nakazach-a-nakazach-z-vody-v-slovenskej-republike-za-rok-2020/506-111-506-17267/.

ZÁVER

Bez úzkej spolupráce s expertmi z rôznych vedeckých a kontrolných inštitúcií by NKB EFSA a tým ani Slovenská republika nemohli plniť úlohy, ktoré v oblasti bezpečnosti potravinového reťazca nám vyplývajú z *acquis communitaire*. NKB EFSA je otvorený a uvíta spoluprácu s každým expertom, ktorý prejaví o túto spoluprácu záujem mailom na efsa.focalpoint@land.gov.sk

POĎAKOVANIE

NKB EFSA vyjadruje poďakovanie 70 expertom z 26 vedeckých, odborných a kontrolných organizácií, ktorí sa v roku 2020 podieľali na príprave správy za rok 2020.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Správa o zoonózach, alimentárnych nákazách a nákazách z vody v Slovenskej republike za rok 2020. Dostupné na internete: https://www.mpsr.sk/sprava-o-zoonozach-alimentarnych-nakazach-a-nakazach-z-vody-v-slovenskej-republike-za-rok-2020/506-111-506-17267/

Kontaktná adresa: Kromerová Katarína, Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR, Národný kontaktný bod pre vedeckú a technickú spoluprácu s EFSA, Odbor bezpečnosti potravín a výživy, Dobrovičova 12, 812 66 Bratislava, Slovenská republika; e-mail: efsa.focalpoint@land.gov.sk

VPLYV PRENYLFLAVONOIDU XANTOHUMOLU PODÁVANÉHO V KRMIVE ALEBO VO VODE NA JATOČNÚ HODNOTU A ZLOŽENIE MÄSA JAPONSKÝCH PREPELÍC

EFFECT OF XANTHOHUMOL PRENYLFLAVONOID ADDED TO FEED OR WATER ON THE CARCASS VALUE AND CHEMICAL COMPOSITION OF MEAT OF JAPANESE QUAILS

Lacková Zuzana, Zigo František, Farkašová Zuzana

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

ABSTRACT

The aim of the study was to monitor the effect of xanthohumol prenylflavonoid added to feed or water on the weight and percentage of valuable carcass parts, Japanese quail meat composition and oxidative stability of meat during the cold storage for 7 days at 4 ° C. Xantohumol administered in feed and water did not affect the weight of Japanese quail, the percentage of valuable carcass parts, the pH of the meat, the water, fat and ash content of the meat. We recorded a higher protein content in the meat in the group of quails with feed supplementation ($P < 0.05$). Xanthohumol administered in water did not affect the protein content of the meat. The fat oxidation processes during refrigeration storage for 7 days at 4 °C, and thus the TBARS values (reactive substances of thiobarbituric acid), were lower in experimental quails with feed and water supplementation compared with the control group ($P < 0.05$).

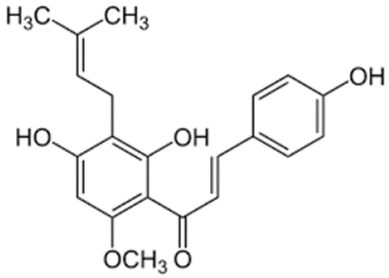
Key words: prenylflavinoid, xanthohumol, Japanese quails, carcass value

ÚVOD

Chmeľ obyčajný obsahuje mnohé látky s priaznivým účinkom na telo a zdravotný stav človeka. Chmeľove hlávky obsahujú pomerne veľké množstvo xantohumolu (Obrázok 1), v sušine chmeľu je ho 0,2 – 1,1 hm. % (Hofta et al., 2004). Xantohumol patriaci medzi polyfenoly, je známy svojimi antibakteriálnymi, antimykotickými a antioxidačnými účinkami (Stevens a Page, 2004; Liu et al., 2015). V posledných rokoch sa neustále zvyšuje záujem o xantohumol pre jeho účinok podporujúci zdravie a imunitu konzumentov. Japonská prepelica má oproti iným druhom hydiny niekoľko výhod, je vhodným laboratórnym zvieraťom, má

rýchly rast, je raná, má krátky generačný interval a ľahko sa s ňou aj v dospelom veku manipuluje (Ichilcik a Austin, 1978).

Obrázok č. 1, Vzorec xantohumolu (A) a chmeľové hlávky (B)





A B

Zdroj: http://fis.org/xanthohumol/

Cieľom práce bolo sledovať vplyv prenylflavonoidu xantohumolu pridaného do krmiva alebo vody na hmotnosť a percentuálne vyjadrenie hodnotných častí jatočného tela, zloženie mäsa japonskej prepelice a oxidačnú stabilitu mäsa počas chladiarenského skladovania počas 7 dní pri 4 °C.

MATERIÁL A METODIKA

Do sledovania bolo zaradených 60 japonských prepelíc plemien Faraon (Farma Malá Ida s.r.o., SR), ktoré boli rozdelené do troch skupín, prvá s prídavkom xantohumolu v krmive, druhá v pitnej vode a tretia kontrolná, bez prídavku xantohumolu. Všetky skupiny boli kŕmené kompletnou kŕmnou zmesou 1557– kompletná kŕmna zmes pre prepelice MINI vo veľkosti granúl 1 – 3 mm (výrobca De Heus a.s., CZ). V priebehu pokusu mali prepelice prístup ku krmivu a vode *ad libitum*. Po ukončení suplementácie boli japonské prepelice po omráčení vykrvené (Marcinčák et al., 2018). Pre získanie hodnoty jatočnej výťažnosti sa jatočné telo po vypitvaní odvážilo. Hmotnosť jatočného tela, prsnej a stehennej svaloviny (s kosťou a bez kosti) bola zaznamenaná osobitne.

V sledovaní bol použitý chmeľový extrakt obsahujúci 75 % xantohumolu. Tento extrakt bol pre zlepšenie jeho rozpustnosti vo vode a biologickej dostupnosti (EP171766458.4) spracovaný pri vyššej teplote pomocou KOLLIDON VA64. Použitý extrudát obsahoval 10 % xantohumolového extraktu.

Pre analýzu nutričného zloženia a oxidačnej stability v mäse sa odobrali vzorky z prsnej a stehennej svaloviny. Obsah sušiny bol stanovený sušením vzoriek svaloviny pri 105° počas

16 hodín. Obsah proteínu sa hodnotil pomocou prístroja KJELTEC AUTO 1030 ANALYZER (TECATOR Co., Švédsko). Podiel tuku sa stanovil extrakčnou metódou podľa Soxhleta (Veterinární laboratórní metodiky, 1990). Hodnota pH bola stanovená priamym vložením sondy pH metra do prsného svalu. pH mäsa sa zaznamenalo okamžite 24 hodín po porážke pomocou pH-metra (inoLab pH 720, WTW) vybaveného elektródou Ingold Messtechnik AG, Udorf, Švajčiarsko). Po každých 20 meraniach bol pH meter kalibrovaný za pomoci štandardných roztokov o pH 4 a 7 (Ingold Messtechnik AG, Udorf, Švajčiarsko). Vzorky svalstva sa vákuovo zabalili do polyetylénových sáčikov a skladovali sa pri 4°C počas 7 dní. Oxidáciu lipidov sme sledovali meraním TBARS spektrometricky pri 532 nm (Helios y v 4,6, Thermospectronic, UK) podľa Marcinčáka et al. (2006).

Získané údaje boli štatisticky analyzované pomocou GraphPad PrismSoftware, verzia 4.00 (Graphpad Prism, 2003). Na vyhodnotenie štatistickej významnosti rozdielov medzi tromi skupinami (XN - krmivo, XN - voda a kontrola) bola použitá jednosmerná analýza rozptylu (ANOVA) s post hoc Tukeyho testom na viacnásobné porovnanie. Výsledky štatistických analýz sú uvedené v tabuľkách ako stredné hodnoty (M) a štandardná odchýlka (SD). Rozdiely medzi strednými hodnotami boli stanovené pri hladine významnosti $P<0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Podľa Babangida a Ubosi (2006) má japonská prepelica potenciál slúžiť ako vynikajúci a cenovo dostupný zdroj živočíšnych bielkovín. Percentuálne vyjadrenie mäsa u japonskej prepelice je pomerne vysoké. Nami získané hodnoty sú podobné iným zverejneným údajom (Mousa et al., 2017; Abou-Kassem et al., 2019).

Tabuľka č. 1, Vplyv suplementácie vody a krmiva xantohumolom na hmotnosť prsnej a stehennej svaloviny

Sledované parametre	Jednotky	XN - krmivo	XN - voda	Kontrola
		M±SD	M±SD	M±SD
Hmotnosť prsnej svaloviny s kosťou	g	76,5±7,1	70,1±5,2	71,7±6,7
Hmotnosť prsnej svaloviny bez kosti	g	55,7±6,3	54,0±4,6	54,3±5,4
Hmotnosť stehennej svaloviny s kosťou	g	46,5±4,5	47,8±2,7	43,5±5,1
Hmotnosť stehennej svaloviny bez kosti	g	32,6±3,6	31,8±2,5	31,2±3,5

Popis: XN – xanhohumol, M – stredná hodnota, SD – štandardná odchýlka

Pri hodnotení % vyjadrenia prsného a stehenného svalu s kosťou sme došli k podobným hodnotám ako Panda a Singh (1990), pri hodnotení vykosteného prsného a stehenného svalu sme však získali nižšie hodnoty. Rozdiely pri sledovaných hmotnostiach, ako aj percentuálnom vyjadrení hodnotných častí, sme medzi suplementáciou vody a krmiva xantohumolom nezistili (Tabuľky 1 a 2).

Tabuľka č. 2, Percentuálne vyjadrenie hmotnosti prsnej a stehennej svaloviny s kosťou a bez kosti k hmotnosti jatočného tela

Sledované parametre	Jednotky	XN - krmivo	XN - voda	Kontrola
		M±SD	M±SD	M±SD
Prsná svalovina s kosťou	%	35,74±4,77	34,61±3,64	35,72±4,80
Prsná svalovina bez kosti	%	28,74±4,24	28,95±3,22	29,48±3,88
Stehenná svalovina s kosťou	%	25,65±3,02	26,78±1,88	25,61±3,64
Stehenná svalovina bez kosti	%	20,96±2,42	21,16±1,74	21,19±2,50

Popis: XN – xanhohumol, M – stredná hodnota, SD – štandardná odchýlka

Tabuľka č. 3, Vplyv suplementácie xantohumolom na pH, zloženie mäsa a zmeny rozkladu v mäse 24 hodín a 7 dní po odporazení.

Sledované parametre	Jednotky	XN - krmivo	XN - voda	Kontrola
		M±SD	M±SD	M±SD
pH		6,01±0,08	6,12±0,10	6,07±0,06
Voda	%	71,84±1,02	72,68±1,15	72,94±1,06
Protein	%	23,87±0,89$^{a, c}$	21,45±1,51^{c}	21,39±1,08^{a}
Tuk	%	3,38±0,25	3,58±0,21	3,46±0,17
Popoloviny	%	2,36±0,08	2,30±0,10	2,28±0,09
TBARS (1 deň)	(mg·kg^{-1})	0,120 ± 0,015	0,128 ± 0,019	0,125 ± 0,015
TBARS (7 deň)	(mg·kg^{-1})	0,138 ± 0,023$^{a, c}$	0,150 ± 0,035$^{b, c}$	0,164 ± 0,038$^{a, b}$

Popis: XN – xanhohumol, M – stredná hodnota, SD – štandardná odchýlka, TBARS – reaktívne látky kyseliny tiobarbiturovej, $^{a, b, c}$ rozdielné písmená sú v riadku pri hladine významnosti $P<0,05$

Choudhary a Mahadevan (1986) zistili obsah bielkovín 23% v prsnej a 18,7% v stehennej svalovine. V porovnaní obsahu proteínov v mäse sme zistili štatisticky významné

rozdiely na hladine P<0,05 (Tabuľka 3), predovšetkým pri prepeliciach so suplementáciou krmiva. Suplementácia vody obsah proteínov v mäse neovplyvnila. Obsah vody, tukov a popolovín v hodnotných častiach jatočného tela nebola suplementáciou krmiva, ani vody ovplyvnená.

Medzi dôležité faktory ovplyvňujúce kvalitu mäsa po porážke patria oxidačné procesy. Proces zrenia je energeticky náročný proces využívajúci degradáciu glykogénu vo svale, vznik kyseliny mliečnej a následné zníženie pH. Pokles pH má veľký vplyv na rôzne chemické a biochemické procesy v mäse (Simpson, 2012). Suplementácia krmiva a vody xantohumolom vplyv na hodnotu pH mäsa v našom prípade nemala.

Výsledky stanovenia TBARS, ktoré sa vyjadruje množstvo MDA (malóndialdehyd) ako hlavného rozkladného produktu polynasýtených mastných kyselín, sú uvedené v tabuľke 3. Pri skupinách prepelíc so suplementáciou krmiva a vody xantohumolom sme zistili po siedmych dňoch chladiarenského skladovania nižšie hodnoty TBARS v mäse v porovnaní s mäsom kontrolnej skupiny (P<0,05).

ZÁVER

Suplementácia krmiva xantohumolom pozitívne ovplyvnila obsah proteínov v hodnotných častiach jatočného tela japonských prepelíc, pri suplementácii vody nedošlo k výraznému nárastu hodnôt proteínov v mäse. Oxidačné procesy tukov počas chladiarenského skladovania boli u kontrolnej skupiny najvýraznejšie, nakoľko suplementácia krmiva a vody xantohumolom znížili oxidačné procesy v mäse (P<0,05). Oxidačné procesy boli pozitívne ovplyvnené predovšetkým pri skupine prepelíc so suplementáciou krmiva. Xantohumol podávaný v krmive a vo vode nemal vplyv na hmotnosť, percentuálne vyjadrenie hodnotných častí svaloviny, pH mäsa, obsah vody, tuku a popolovín.

POĎAKOVANIE

Realizácia experimentu bola finančne podporená grantom KEGA č. 006UVLF-4/2020.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ABOU-KASSEM, D.E. et al. Age and sex-related differences in performance, carcass traits, hemato-biochemical parameters and meat quality in Japanise quails. In *Pountry Science*, [online], 2019, vol. 98, no. 4, pp. 1684-1691. [cit. 2022-04-06]. ISSN: 0032-5791. Dostupné na: https://doi.org/10.3382/ps/pey543

2. BABANGIDA, S. – UBOSI, C.O. Effects of varying dietary protein levels in the performance of laying Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) in a semi-arid environment. In *Nigerian Journal of Animal Production*, [online], 2006, vol. 33, no. 1, pp. 45-52. [cit. 2022-04-12]. Dostupné na: https://doi.org/10.51791/njap.v33i1.1494
3. CHOUDHARY M. – MAHADEVAN, T. Influence of age, storage and type of cuts on the composition of quail meat. In *Indian Poultry Science*, 1986, vol. 21, no. 3, pp. 252-254.
4. HOFTA, P., et. al. Xanthohumol - chmelová priskyřice nebo polyfenol? In *Chemické listy*, [online], 2004, 98, pp. 825-830. [cit. 2022-04-12]. Dostupné na: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2004_09_01.pdf
5. ICHILCIK, R. – AUSTIN, J. C. The Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) as a laboratory animal. In *Journal of the South African Veterinary Association*, [online], 1978, vol. 49, no. 3, pp. 203–207. [cit. 2022-04-05]. ISSN 2224-9435. Dostupné na: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/745199/
6. LIU, M. et al. Pharmacological profile of xanthohumol, a prenylated flavonoid from hops (*Humulus lupulus*). In *Molecules*, [online], 2015, vol. 20, no. 1, pp. 754–779. [cit. 2021-07-06]. ISSN 1420-3049. [cit. 2022-04-12]. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/molecules20010754
7. MARCINČÁK, S. et al. Stanovenie malóndialdehydu v bravčovom mäse s použitím extrakcie na tuhej fáze a HPLC. In *Chemické listy,* [online], 2006, 100, pp. 528-532. [cit. 2022-04-12]. Dostupné na internete: http://chemicke-listy.cz/docs/full/2006_07_528-532.pdf
8. MARCINČÁK, M. et al. Effect of Fungal Solid-State Fermented Product in Broiler Chicken Nutrition on Quality and Safety of Produced Breast Meat. In *BioMed Research International*, [online], 2018, vol. 2018, Article ID 2609548, pp. 8. [cit. 2022-04-12]. ISSN 2314-6133. Dostupné na: https://doi.org/10.1155/2018/2609548
9. MOUSA, S.A. et al. Effect of Dietary Fat Sources and Antioxidant Types on Growth Performance and Carcass Quality of Japanese Quail. In *International Journal of Poultry Science*. [online], 2017, vol. 16, no. 11. pp. 443-450. [cit. 2022-04-06]. ISSN 1994-7992. Dostupné na: https://doi.org/10.3923/ijps.217.443.450
10. SIMPSON, B. K. Food Biochemistry and Food processing. 2th ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2012, pp. 896. ISBN 978-0-8138-0874-1.
11. STEVENS, J.F. – PAGE, J.E. Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: to your good health!. In *Phytochemistry* [online], vol. 65, no. 10, 2004, pp.

1317-1330. ISSN 0031-9422. [cit. 2022-04-12]. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.04.025

12. PANDA, B. – SINGH, R. P. Developments in processing quail meat and eggs. In *World´s Poulry Science Journal,* [online], 1990, vol. 46, no. 3, pp. 219–234. [cit. 2022-04-12]. ISSN 1743-4777. Dostupné na: https://doi.org/10.1079/WPS19900022
13. Veterinární laboratórní metodiky. VI. Hygiena potravín. SVS ČR, ŠVS SR, Bratislava, 1990, 130 s.
14. Xanthohumol. [cit. 2022-04-12]. Dostupné na: http://fis.org/xanthohumol/

Kontaktná adresa: Lacková Zuzana, Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, E-mail: zuzana.lackova@uvlf.sk

ZVERINA NUTRIE RIEČNEJ *(MYOCASTOR COYPUS)* A BOBRA EURÓPSKEHO *(CASTOR FIBER)* NA SLOVENSKU A V NIEKTORÝCH KRAJINÁCH EU

NUTRIA *(MYOCASTOR COYPUS)* AND EUROPEAN BEAVER *(CASTOR FIBER)* VENISON IN SLOVAKIA AND SOME EU COUNTRIES

Lazár Jozef, Lazár Peter, Karolová Renáta

Katedra chovu a chorôb zveri, rýb a včiel, ekológie a kynológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

The river nutria (*Myocastor coypus*) and the European beaver (*Castor fiber*) are among the largest members of the rodent family (*Rodentia*). The beaver is an original, indigenous species that was extinct in most European countries as early as the 18th century. The river nutria comes from South America and was imported to Europe as a farm fur animal (to Czechoslovakia in 1925). Leaked resp. deliberately released nutria in the wild were able to survive and create an expanding population. The river nutria is a non-native, invasive and undesirable species in European nature and the aim of the EU measures taken is to eliminate it completely. Despite the diametrically different status of the river nutria and the European beaver, the venison of both rodent species is suitable for human consumption, but the rules regarding the inspection and examination of harvested individuals are ambiguous. Beaver and nutria can be a source of dangerous zoonoses such as tularemia, leptospirosis, tuberculosis or trichinosis, and therefore, if the venison is used for human consumption, an order to carry out a primary inspection of the hunted beaver or nutria by a certified trained person is necessary.

Key words: nutria, beaver, venison, hunting, examination

ÚVOD

Nutria riečna *(Myocastor coypus)* a bobor európsky *(Castor fiber)* patria medzi najväčších zástupcov radu hlodavce (*Rodentia*). Jedná sa o druhy úzko späté s vodným prostredím a z hľadiska ich úžitkových vlastnosti sú známe hlavne ako kožušinové zvieratá. Ich výskyt a rozšírenie v Európe má úplne odlišnú históriu. Bobor európsky je pôvodným, autochtónnym druhom, ktorý bol vo väčšine európskych krajín vyhubený pre jeho veľmi hodnotnú kožušinu už v 18. storočí. Nutria riečna pochádza z Južnej Ameriky a do Európy bola dovezená ako farmové kožušinové zviera. Československo bolo jednou z prvých krajín, kde sa

nutrie objavili mimo pôvodný areál ich rozšírenia (v roku 1925). Do voľnej prírody sa nutrie dostali po náhodných únikoch z chovných zariadení, po zámerných, nelegálnych „oslobodeniach“ ochrancami zvierat, ale žiaľ, aj po cielenom introdukovaní ako sa stalo napr. v roku 1955 na Hrone pri Želiezovciach. Nutria je na rozdiel od bobra európskeho, v európskej prírode nepôvodný, inváz ny a nežiadúci druh. Status nutrie riečnej a bobra európskeho z hľadiska ich zaradenia medzi poľovnú zver a tým aj manažmentu ich populácii vo voľnej prírode je v jednotlivých krajinách EÚ odlišný. Zverina oboch uvedených druhov hlodavcov je vhodná na ľudskú spotrebu, avšak pravidlá ohľadom jej nadobudnutia, prehliadky a následného využitia sú nejednotné.

Súčasný status a stav populácie bobra európskeho a nutrie riečnej vo vybraných EU krajinách

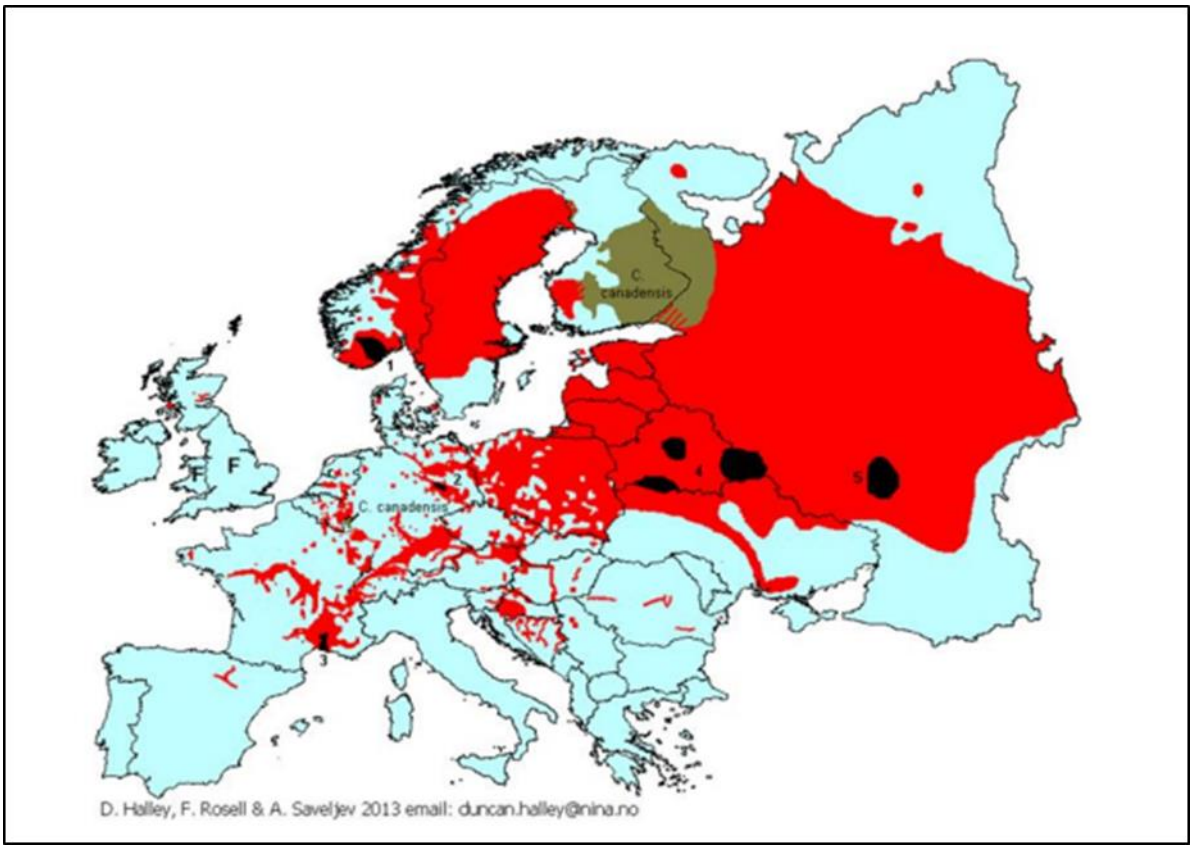
Bobor európsky

Stav populácie bobra v Európe je odhadovaný na viac ako 1,22 milióna jedincov (Wrobel 2020) z toho najväčšia časť pripadá na Rusko, Škandináviu (Švédsko, Nórsko, Fínsko) a Pobaltské republiky (Lotyšsko, Litva, Estónsko). V západnej a strednej Európe sa stavy bobra európskeho výrazne zvýšili najmä v posledných decéniach vďaka rehabilitačným programom a striktnej ochrane. Bobor európsky je v celej Európe stále pod osobitnou ochranou, ako je uvedené v prílohách II a IVa smernice ES o biotopoch (smernica Rady 92/43/EHS o ochrane prírodných biotopov a voľne žijúcich živočíchov a rastlín) a v prílohe III Bernského dohovoru. Lov bobra je prísne kontrolovaný a vo všeobecnosti obmedzený vo väčšine krajín, ale niektoré krajiny majú výnimky z prísnej ochrany bobra v ustanovenej smernici. V súčasnosti môžu byť bobry lovené a/alebo chytané ako druh zveri vo veľkej časti Eurázie, vrátane členských štátov EÚ (Švédsko, Fínsko, Lotyšsko, Litva a Estónsko). Podľa právnych predpisov EÚ lov chránených druhov je možné vykonať len vo veľmi špecifických prípadoch a len ak neexistuje iná alternatívna metóda (vybrané oblasti v Poľsku, v Česku).

Na území Slovenska sa bobry objavili až po dlhej dobe ich absencie v roku 1977 (z Rakúska) a v roku 1981 (z Poľska). Ich početný stav a areál rozšírenia sa stále zväčšuje a je len otázkou času, kedy bude nutné pristúpiť k určitej regulácii vo vymedzených, ich aktivitou ohrozených oblastiach. Na Slovensku je bobor európsky zaradený medzi poľovné druhy zveri s celoročnou ochranou, čo znamená, že nie je možné ho loviť odstrelom ani odchytom. Otázka využitia zveriny bobra európskeho pochádzajúceho zo Slovenska tak nie je aktuálna, nakoľko jedince, ktoré boli usmrtené motorovými vozidlami sú tak ako iná zver, posúdené ako nepožívateľné a tým vylúčené pre ľudskú konzumáciu.

Po návrate bobra na územie Českej republiky sa jeho stavy vďaka ochrane a vhodným prírodným podmienkam (najmä oblasť južných Čiech, južnej Moravy) výrazne zvyšovali a preto v roku 2013 bola Ministerstvom životného prostredia schválená koncepcia manažmentu bobra európskeho v ČR. Uvedený program starostlivosti o bobra rozdelil územie ČR do 3 zón (A, B, C), pričom v zóne C je výskyt bobrov považovaný za nežiadúci. Nakoľko je bobor európsky v ČR druh chránený zákonom, musia pre realizovanie lovu príslušné orgány ochrany prírody vydať v zóne C „plošné“ povolenie prostredníctvom tzv. **„**opatrenia všeobecnej povahy**“.** Dosiaľ vydané opatrenia okrem iného povoľujú celoročný lov bobrov strelnou zbraňou osobám, ktoré splňujú podmienky pre lov zveri stanovené zákonom o poľovníctve. Uloveného bobra môže osoba, ktorá lov vykonala, využiť pre vlastnú potrebu (napr. ho skonzumovať, ponechať si lebku, kožušinu). Ulovený jedinec alebo jeho časť nesmie byť ale predmetom obchodu**.** V opatreniach sú uvedené ďalšie podmienky, za ktorých je možné výnimku pre lov uplatňovať. Okrem iného je tam ustanovená oznamovacia povinnosť pre osoby, ktoré lov realizovali.

Obrázok 1. Rozšírenie bobra európskeho (*Castor fiber*) – červená farba a bobra kanadského (*Castor canadensis*) – zelená farba v Európe v 21. storočí (Halley, R. - Halley et al. 2012)



Nutria riečna

Nutria riečna aj napriek svojmu pôvodu v Južnej Amerike sa dokázala úspešne adaptovať na chladnejšie európske klimatické podmienky. Jej areál rozšírenia zahrňuje hlavne západnú, južnú a strednú Európu, tvrdšie zimy v severnej resp. severovýchodnej časti sú pre ňu nevhodné. K úspešnému prežitiu zimného obdobia, ktoré je pre nutrie limitujúce, napomáha aj globálne otepľovanie s miernejšími zimami, ale aj jej prikrmovanie ľuďmi v intravilánoch miest a obcí, v ktorých sa nutrie často vyskytujú vo vodných tokoch, rybníkoch a jazerách.

Nutria riečna sa dostala na zoznam 66 inváznych nepôvodných druhov vzbudzujúcich obavy EÚ (Komisia EÚ 2016, 2017, 2019) v súvislosti s nariadením EÚ o inváznych nepôvodných druhoch. Členské štáty sú preto povinné zaviesť stratégie, ktoré zahŕňajú prevenciu introdukcie a šírenia, včasnú detekciu a eradikáciu alebo riadenie týchto druhov.

Na Slovensku podľa zákona 543/2002 Z. z. v zn. neskor. predpisov o ochrane prírody a krajiny je nutria riečna inváznym nepôvodným druhom. Medzi poľovnú zver bola zaradená až zákonom č. 274/2009 Z. z. v zn. neskor. predpisov, podľa ktorého je možné loviť ju celoročne. Počty ulovených nutrií vykazované v poľovníckej štatistike narástli zo 181 ks v roku 2010 na 3 408 jedincov v poľovníckej sezóne 2019/20.

Hoci je nutria v Česku trvalou súčasťou vodných ekosystémov, nie je zaradená medzi poľovnú zver. Je však vyhláškou č. 454/2021 Sb. v zn. neskor. predpisov zaradená medzi živočíchov vyžadujúcich reguláciu a od 1.1.2022 ju tak môžu loviť všetci poľovníci, nielen poľovnícky hospodár a poľovnícka stráž ako to bolo možné dovtedy. V súčasnosti sa počet ulovených nutrií pohybuje okolo 9000 jedincov ročne.

Tab. č. 1, Bobor európsky a nutria riečna vo vybraných krajinách EÚ

Krajina EÚ	**Bobor európsky odhad počtu v ks**	**Bobor európsky lov v ks**	**Nutria riečna lov v ks**
Slovensko	7 700 - 9 600	-	3 408
Česko	6 000 – 7 000	60	9 000
Poľsko	125 000		
Maďarsko	4 000 - 5 000	-	
Rakúsko	7 600	-	
Nemecko	35 000	-	101 108
Litva	40 000	19 544 (2015)	
Lotyšsko	100 00 <	30 951 (2019)	
Estónsko	18 000 <	6557 (2015)	

Mäso resp. zverina nutrie a bobra

Aj v časoch, keď boli nutrie chované ako kožušinové zvieratá vo veľkých počtoch, bolo ich mäso využívané na ľudský konzum. Dramatický pokles dopytu po prírodných kožušinách výrazne znížil počty nutrií v chovoch ešte predtým, ako sa začali uplatňovať regulačné opatrenia EÚ ohľadom inváznych, nepôvodných druhov živočíchov, medzi ktoré nutria riečna patrí. Mäso nutrie svojím zložením sa vyznačuje nízkym obsahom tuku a cholesterolu, vysokým obsahom bielkovín, dobrými dietetickými vlastnosťami a vysokou nutričnou hodnotou. Zaraďuje sa medzi veľmi kvalitné druhy mias, ktoré sú ľahko stráviteľné, pomerne diétne a jemné. Mäso z nutrie pokiaľ sa týka chuti, možno prirovnať k mäsu králika, vlákna sú však jemnejšie a mäso je šťavnatejšie. Z hľadiska energetických hodnôt sa tento druh mäsa blíži k hodnotám mäsa jahňacieho. Mäso nutrie sa preto odporúča zaradiť na diétny jedálniček či jedálniček športovcov. Napriek dopytu po mäse z nutrie jeho ponuka klesá z dôvodu regulačných obmedzení, ktoré členské štáty EÚ začali uplatňovať.

Bobor európsky je v niektorých krajinách EÚ považovaný za bežný druh poľovnej zveri. Okrem kožušiny a lebky (tá je v súčasnosti považovaná za trofej a je hodnotená podobne ako lebky šeliem) sa tradične konzumuje aj zverina ulovených bobrov. Bobria zverina je veľmi kvalitné červené mäso, porovnateľné s chudým hovädzím mäsom. Mäso ulovených bobrov sa konzumovalo od dávnych čias a je to bežné v škandinávskych a pobaltských krajinách dodnes. V pobaltských krajinách sa bobria zverina ponúka v reštauráciách ako akákoľvek iná zverina, konzervované bobrie mäso sa vyváža do zahraničia a je tak dostupné na európskom trhu s potravinami.

Bobrie mäso bolo a stále je v Severnej Amerike (hlavne v Kanade a na Aljaške) tradične konzumované pôvodnými obyvateľmi (indiánmi a inuitmi) ako aj zlatokopmi, lovcami apod. Je potrebné uviesť, že sa jedná o bobra kanadského *(Castor canadensis),* ktorý sa žiaľ dostal aj do Európy po nesprávnej introdukcii v roku 1937 a rozmnožil sa najmä vo Fínsku, kde dnes tvorí až 90% populácie bobrov. Zaujímavým faktom je, že mäso bobrov bolo možné v Európe v minulosti konzumovať aj počas pôstneho obdobia, pretože bolo posudzované ako ryba.

Na kvalitu zveriny bobra má veľký vplyv spôsob, akým bolo zviera ulovené. Zverina bobra má najlepšiu kvalitu ak bol bobor ulovený strelnou zbraňou alebo odchytený živý do pasce a následne lovcom usmrtený. Zverina bobrov chytených do pascí v ktorých uhynuli (rôzne typy tzv. „železˮ) obsahovala veľa krvi a rovnako ako zverina z bobrov utopených alebo udusených nie je vhodná na kuchynskú úpravu. Medzi nevyhnutné úkony po ulovení bobra patrí vykrvenie a vyvrhnutie (Sjöberg a Belova 2017).

Vyšetrenie ulovených nutrií a bobrov

Bobor európsky a nutria riečna môžu byť zdrojom nebezpečných zoonóz, ako sú napr. tularémia, leptospiróza, tuberkulóza alebo trichinelóza. V prípade nutrie je riziko chorôb u jedincov pochádzajúcich z prírody väčšie ako u jedincov z domácich, kontrolovaných chovov. V ČR podľa Zákona o veterinárnej starostlivosti (veterinární zákon) 166/1999 Sb. v zn. neskor. predpisov v časti „Predaj malých množstiev vlastných produktov z prvovýroby“ v § 27a bod 6 sa uvádza, že chovateľ nutrií je povinný zabezpečiť vyšetrenie ich mäsa na prítomnosť svalovca (trichinel), a to v laboratóriu, ktorému bolo vydané osvedčenie o akreditácií k vykonávaniu tohto vyšetrenia alebo v SVÚ. Takéto vyšetrenie na trichinelózu musí mať aj zverina ulovenej nutrie riečnej, v prípade, že ju lovec poskytuje inej osobe. Na Slovensku nie je zákonný predpis nariaďujúci vykonať lovcovi ulovenej nutrie na vyšetrenie trichinelózu.

V pobaltských krajinách sa zverina z bobrov, ktorá sa využíva na ľudský konzum musí vyšetriť na trichinelózu. U ulovených nutrií na Slovensku a v ČR a v Česku aj bobrov, ktoré sú určené na ľudskú spotrebu je preto chybou, že sa nevyžaduje prvotná prehliadka ulovenej zveri vyškolenou osobou.

ZÁVER

Stále stúpajúci počet ulovených nutrií riečnych na Slovensku zvyšuje aj riziko ohrozenia zdravia človeka pri manipulácii s nimi. Navyše, ak sa zverina nutrie použije na ľudskú spotrebu je nevyhnutné zaviesť, aby ulovený kus bol vyšetrený osobou oprávnenou vykonať prvotnú prehliadku ulovenej zveri a jej výsledok bol štandardným spôsobom evidovaný.

LITERATÚRA

u autorov

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená projektom KEGA č. 015UVLF-4/2020.

Kontaktná adresa: Lazár Peter, doc. MVDr., PhD., Katedra chovu a chorôb zveri, rýb a včiel, ekológie a kynológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; E-mail: peter.lazar@uvlf.sk

MOŽNOSTI KONZUMÁCIE MLIEČNYCH VÝROBKOV Z POHĽADU INTOLERANCIE LAKTÓZY

POSSIBILITIES OF DAIRY CONSUMPTION FROM THE PERSPECTIVE OF LACTOSE INTOLERANCE
ALTERNATÍVY MLIEČNYCH VÝROBKOV Z POHĽADU INTOLERANCIE LAKTÓZY

Maľová Jana, Výrostková Jana, Dudriková Eva, Kováčová Mariana, Hanzelová Zuzana

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

ABSTRACT

A market research focused on the sale of lactose-free dairy products was carried out. The total number of these products was 52; 5 types of lactose-free butter (9.62%), 7 types of lactose-free milk (13.46%), 3 delactose kefirs (5.77%), 4 types of delactose cream (7.69%), 2 types of delactose whipped cream (3.84%), 5 types of lactose-free cottage cheese (9.62%), 13 types of delactose cheese (25%), 12 types of delactose yoghurt (23.08%) and one type of lactose-free pudding (1.92%) %). As many as 42 types of products came from the Slovak manufacturer (78.85%), 5 types were of German origin (9.62%). Hungarian, Czech, Italian and Polish products are also sold (1.92 - 3.85%).

A comparison of the lactose content of conventional dairy products versus lactose-free products showed that long-keeping hard cheeses (eg Parmesan) contained a minimum amount of lactose, which is comparable to lactose-free products. Butter still showed a lactose value below 1 g / 100 g. On the contrary, milk and yoghurts have a high lactose content, which is in the range of 3.9 - 4.8 g per 100 g of product.

Keywords: lactose, milk, intolerance, allergy

ÚVOD

Medzi najčastejšie zamieňané diagnózy v klinickej praxi patrí intolerancia laktózy a alergia na bielkovinu kravského mlieka. Majú rovnaký klinický obraz, ale ich príčina, diagnostika a liečba sa navzájom odlišujú (Hochwallner, 2014; Fassio et al. 2021). Laktózová intolerancia je stav, kedy jedinec nie je schopný tráviť mliečny cukor a mlieko a mliečne výrobky mu tak spôsobujú tráviace problémy (Valchová 2020). Jej súčasný výskyt je rozdielny

z pohľadu rôznych ľudských rás. Vyskytuje sa približne u 15 % belošskej populácie, u 40 – 90 % ľudí inej farby pleti (žltá, čierna) a takmer u 100 % indiánskeho obyvateľstva amerického kontinentu ((Kopček 2013; Süli a kol. 2019).

Schopnosť štiepiť laktózu je daná geneticky. S rastúcim vekom človeka sa znižuje funkcia a množstvo enzýmu laktáza, preto sú prejavy laktózovej intolerancie častejšie u dospelých.

Zatiaľ čo alergie zvyknú s vyšším vekom človeka zmierňovať svoj priebeh, u intolerancie laktózy je situácia opačná, s vekom jej priebeh býva ťažší (Čierna 2007). Tabuľka č. 1 poukazuje na rozdiely medzi týmto dvoma diagnózami.

Tabuľka č. 1, Rozdiely medzi intoleranciou laktózy a alergiou na bielkovinu kravského mlieka

	Intolerancia laktózy	Alergia na mliečnu bielkovinu
Príčina	nedostatok enzýmu laktáza	nežiadúca reakcia imunitného systému na alergén
Príznaky	iba gastrointestinálne	gastrointestinálne, kožné, respiračné, anafylaxia
Výskyt	najčastejšie u dospelých, vekom výskyt narastá	najčastejšie u dojčiat, vekom výskyt klesá
Diagnostika	laktózo – toleračný test	klinické príznaky, špecifické protilátky, imunologické vyšetrenie
Liečba	eliminácia laktózy	eliminácia akejkoľvek mliečnej bielkoviny vo všetkých potravinách

Zdroj: Čierna 2007, upravené

Podľa Kopáčka (2017) má alergia na bielkovinu mlieka, najmä na kazeín, úplne iné príčiny, a pokiaľ ňou ľudský jedinec trpí, je táto porucha nevratná. Mliečne výrobky so zníženým obsahom laktózy obsahujú do 1 g laktózy na 100 ml alebo 100 g potraviny. Bezlaktózové mliečne výrobky sú tie, ktorých obsah laktózy je do 0,01 g na 100 ml alebo 100 g potraviny v stave určenom na spotrebu, a v ktorých je vylúčená prítomnosť voľnej galaktózy. Tieto výrobky sú označované napríklad MinusL, Lactose free, bez laktózy, so zníženým obsahom laktózy, či symbolmi preškrtnutého pohára mlieka alebo preškrtnutej kravy (Dolanská 2019).

Laktóza nie je alergén na rozdiel od bielkoviny kravského mlieka, preto alergia na laktózu neexistuje (Čierna 2021).

MATERIÁL A METODIKA

V práci bol uskutočnený prieskum trhu zameraný na predaj bezlaktózových mliečnych výrobkov nachádzajúcich sa v domácej obchodnej sieti.

Mliečne produkty s obsahom laktózy/bez laktózy sme zmapovali v rôznych domácich obchodných sieťach a vytvorili prehľad ponúkaných produktov daného charakteru vo forme tabuliek a grafov. Porovnali sme výživové údaje z informácií na etikete, krajinu pôvodu, obalový materiál, objem a hmotnosť výrobku, výrobcu a obsah laktózy. Porovnali sme informácie o zložení produktov s laktózou oproti tým bezlaktózovým. Vo väčšine prípadov boli výrobky ponúkané v plastovom balení a boli predávané v kusovom balení. V každom obchodnom reťazci mala táto kategória výrobkov osobitný chladiaci regál, ktorý bol viditeľne označený. Druhové zastúpenie výrobkov bolo o poznanie menšie, oproti klasickým mliečnym výrobkom, avšak našli sme bezlaktózovú verziu takmer každého mliečneho. Cena bezlaktózových produktov bola o čosi vyššia ako pri klasických mliečnych výrobkoch.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Celkový počet bezlaktózových mliečnych výrobkov dostupných v obchodných sieťach bol 52. Ako uvádza tabuľka č. 2, v obchodných sieťach sa nachádzalo 5 druhov bezlaktózových masiel (9,62 %), 7 druhov bezlaktózových mliek (13,46 %), 3 delaktózované kefíry (5,77 %), 4 druhy delaktózovanej smotany (7,69 %), 2 druhy delaktózovanej šľahačky (3,84 %), 5 druhov bezlaktózových tvarohov (9,62 %), 13 druhov delaktózovaných syrov (25 %), 12 druhov delaktózovaných jogurtov (23,08 %) a jeden druh bezlaktózového pudingu (1,92 %).

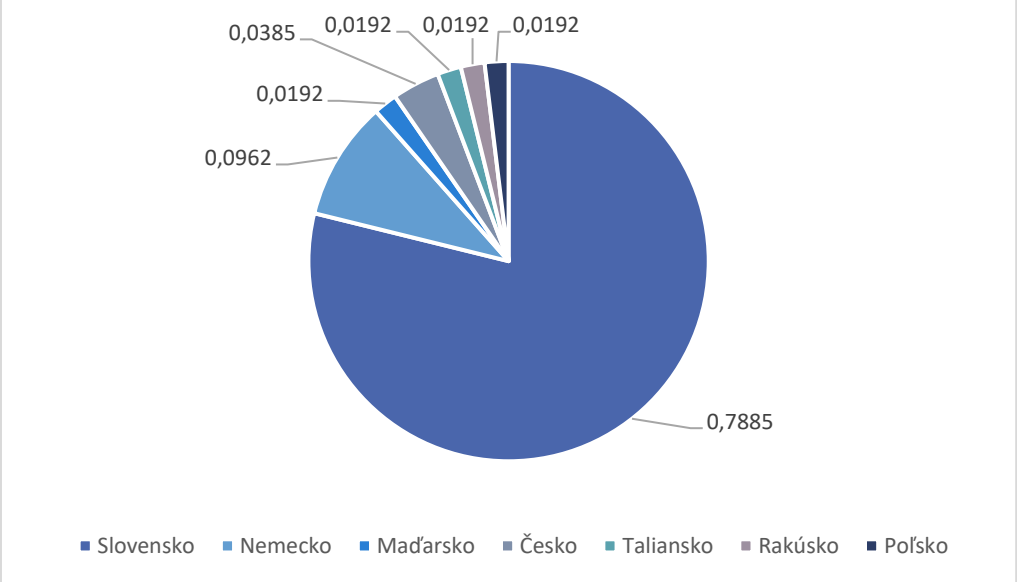
Tabuľka č. 2, Percentuálne zastúpenie bezlaktózových výrobkov

Druh	*Počet kusov*	*Percentuálne zastúpenie*
Maslo	5	9,62 %
Mlieko	7	13,46 %
Kefír	3	5,77 %
Smotana	4	7,69 %
Šľahačka	2	3,84 %
Tvaroh	5	9.62 %
Syr	13	25 %
Jogurt	12	23,08 %

Zdroj: vlastná tabuľka

Ako uvádza graf č. 1, v obchodných sieťach sa nachádzalo 42 druhov výrobkov slovenského pôvodu (78,85 %), 5 druhov nemeckého pôvodu (9,62 %), 1 druh výrobku maďarského pôvodu (1,92 %), 2 druhy českého pôvodu (3,85 %), 1 druh talianskeho pôvodu (1,92 %), 1 druh rakúskeho pôvodu (1,92 %) a jeden druh poľského pôvodu (1,92 %).

Graf č. 1, Percentuálne zastúpenie bezlaktózových výrobkov podľa krajiny pôvodu

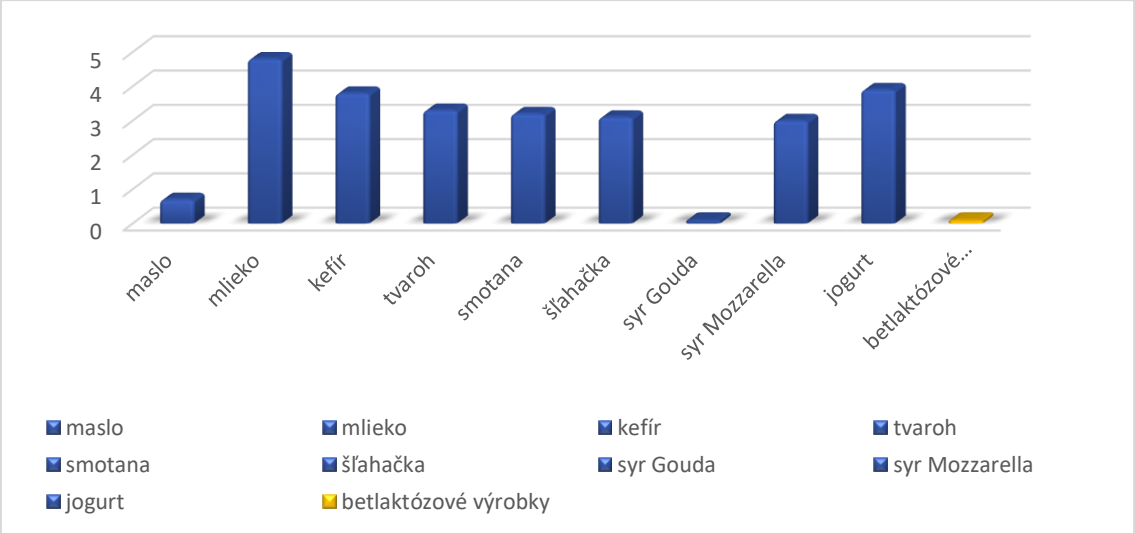


Zdroj: Vlastný graf

Porovnávali sme obsah laktózy v bežných mliečnych výrobkoch oproti výrobkom bezlaktózovým. Graf č. 2 poukazuje na fakt, že dlhozrejúce syry ako napr. syr Gouda obsahujú minimálne množstvo laktózy, ktoré je porovnateľné s bezlaktózovými výrobkami, preto sú

vhodné aj pre ľudí trpiacich laktózovou intoleranciou. Hodnotu laktózy pod 1g/100g ešte vykazovalo maslo. Naopak mlieko a jogurty obsahujú vysoký obsah laktózy, ktorý je v rozmedzí 3,9 – 4,8 g na 100 g výrobku

Graf č. 2, Grafické znázornenie obsahu laktózy v klasických mliečnych výrobkoch oproti výrobkom bezlaktózovým



Zdroj: vlastný graf

Na základe prieskumu trhu sme zistili, že veľkosť balenia bezlaktózových výrobkov nezohráva úlohu v množstve laktózy obsiahnutej vo výrobku. Ďalej sme zistili, že to, či je výrobok bezlaktózový alebo nie, nemá vplyv na množstvo bielkovín vo výrobku.

Najväčšie zastúpenie bezlaktózových výrobkov na trhu pokrývajú jogurty, syry a mlieka. O niečo menej sú zastúpené tvarohy, smotany a maslá. V domácich obchodných sieťach sa nám nepodarilo nájsť bezlaktózovú verziu zahusteného mlieka, kondenzovaného mlieka a zmrzliny.

Z našej analýzy sme zistili, že dlhozrejúce tvrdé syry ako napr. ementál, gouda alebo parmezán obsahujú minimálne množstvo laktózy, ktoré je porovnateľné s bezlaktózovými mliečnymi výrobkami, preto sú vhodné aj pre ľudí trpiacich laktózovou intoleranciou. Rovnako dobre by mali byť znášané aj fermentované mliečne výrobky, o čom svedčia mnohé štúdie.

ZÁVER

V bežnom živote sa často stretávame s tým, že ľudia si z nevedomosti zamieňajú laktózovú intoleranciu s alergiou na bielkovinu kravského mlieka. Ako vyplynulo z nášho prieskumu, mnoho opýtaných síce vedelo aký je rozdiel medzi bezlaktózovým mliekom a mliekom s laktózou, ale mnoho z nich zastávalo názor, že bezlaktózové produkty môžu

konzumovať aj ľudia s alergiou na bielkovinu kravského mlieka. To potvrdzuje fakt, že ľudia si aj v dnešnej dobe tieto diagnózy zamieňajú, a preto je veľmi dôležitá správna diagnostika klinických príznakov.

V dnešnej dobe nájdeme v obchodných sieťach rozsiahle zastúpenie bezlaktózových produktov pre ľudí, ktorí netolerujú laktózu. Tieto produkty majú rovnakú výživovú hodnotu ako klasické mliečne výrobky. Je ich síce o poznanie menej ako klasických mliečnych výrobkov, ale tým, že sa laktózová intolerancia dostáva do povedomia rôznych vekových kategórií, tak každým rokom prichádzajú veľké značky s bezlaktózovými náhradami.

Pre ľudí trpiacich laktózovou intoleranciou sú vhodnou alternatívou aj rastlinné nápoje, ktoré sú však o poznanie drahšie a rozhodne neslúžia ako rovnocenná náhrada mlieka.

Domáce obchodné siete ponúkajú rôzne druhy bezlaktózových mliečnych výrobkov, preto si určite každý jedinec trpiaci laktózovou intoleranciou nájde náhradu svojho obľúbeného mliečneho výrobku.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená projektom KEGA 007UVLF-4/2020.

ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

1. SÜLI, J. a kol. *Zloženie potravín a potravinových surovín*. 1. vyd. Martin : Osveta, 2019. 588 s. ISBN 978-80-8063-475-9.
2. ČIERNA, I. Intolerancia laktózy nie je alergia. Pediatrická prax, s. 129, [online]. 2007. [cit. 2021-07-14]. Dostupné na internete: <https://www.solen.sk/storage/file/article/9606c7d987a9aa760bc85358fdeff546.pdf>.
3. ČIERNA, I. Intolerancia laktózy, [online]. [cit. 2021-11-07] Dostupné na internete: <https://www.bezlepku.sk/2016/03/14/3598/>.
4. DOLANSKÁ, P. *Problematika laktózové intolerance* : bakalárska práca. Praha : Univerzita Karlova, 2019. 84 s.
5. FASSIO, F. - FACIONI, S. M. - GUAGNINI, F. Lactose Maldigestion, Malabsorption, and Intolerance : A Comprehensive Review with a Focus on Current Management and Future Perspectives. In *Nutrients* [online]. 2018, [cit. 2021-07-13]. Dostupné na internete: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6265758/>. ISSN 2072-6643.
6. FUCHS, M. a kol. *Potravinová alergie a intolerance*. Praha: Mladá fronta a. s., 2016. 448 s., ISBN: 978-80-204-3757-0.

7. HOCHWALLNER, H. Cow's milk allergy: From allergens to new forms of diagnosis, therapy and prevention. In *Methods* [online]. 2014, vol. 1, no. 66 [cit. 2022-02-4]. Dostupné na internete: <https://www.researchgate.net/publication/255974966_Cow's_milk_allergy_From_allergens_to_new_forms_of_diagnosis_therapy_and_prevention>.
8. KOPÁČEK J: Laktózová intolerance, její příčiny, přiznaky a nutriční řešení. In *Mlékařské listy*, 2017, č.165, vol. 28, no. 6, s.11-16.
9. KOPČEK, I. *Laktóza, laktáza a laktózová intolerancia - ako ju riešiť?,* [online]. [cit.
10. 2021-11-09] Dostupné na internete: <https://www.fitnesstreneri.sk/zakladneinformacie/37/laktoza-laktaza-a-laktozova-intolerancia-ako-ju-riesit>.
11. VALCHOVÁ, J. *Mléko a mléčné výrobky a jejich vnímání mladými dospělými* : diplomová práca. Praha : Univerzita Karlova, 2020. 81 s.

Kontaktná adresa: Maľová 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.malova@uvlf.sk

DOBRÉ ŽIVOTNÉ PODMIENKY BROJLEROV POČAS PREPRAVY NA BITÚNOK

THE WELFARE OF BROILERS DURING THE TRANSPORT TO THE ABBATOIR

Mesarčová Lýdia[1], Koréneková Beáta[1], Bača Martin[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] Regionálna veterinárna a potravinová správa, Moravská 1343/29, 02001 Púchov, Slovenská republika

ABSTRACT

Poultry meat is considered a dietary and healthy food, but only in cases where improper feeding or handling of live animals does not lead to a loss of nutritional properties of the meat. Live poultry intended for meat production has an essentially monotonous life, and it is most manipulated in the time before slaughter in the slaughterhouse; operations such as catching, loading into transport containers, transporting to the slaughterhouse, unloading and hanging on the technological line, stunning, and bleeding are standard procedures for obtaining poultry meat. These actions cause stress in poultry, with a consequent increase in the concentration of stress hormones in the blood. Energy depletion occurs, and the inability to cope with these unknown situations can have a partial but quite significant effect on the welfare of broilers. One of the above-mentioned meat production steps is the transport of poultry to the slaughterhouse. Approximately 243 million poultry are transported annually within the EU and take more than 8 hours, so this must be done with the utmost care and attention. Various stress factors interact during the transport of broiler chickens. In addition to the unsuitable temperature, inadequate ventilation, air circulation, drafts, vehicle shocks, feeding and drinking regimes during transport, mixing of different groups of animals, noise or injuries, and painful conditions caused by handling or arising during transport are used to create a stress response.

Key words: broiler, slaughterhouse transport, stress, welfare

ÚVOD

Dlhoročnou genetickou selekciou brojlerov sa dosiahlo výrazné zrýchlenie rastu a produkcie kurčiat a za krátky čas sú schopné nabrať na hmotnosti, čo je v tomto priemysle žiaduce, ale nevýhodou tohto procesu je výrazné zníženie odolnosti voči tepelnému stresu, poruchami výmeny tepla a zvýšenou náchylnosťou k zraneniam a kardiovaskulárnym ochoreniam. Tieto jedince citlivejšie vnímajú „*prepravný stres*“, ktorý je súborom viacerých

spolupôsobiacich faktorov a výsledkom je zvýšená mortalita pri preprave brojlerov na bitúnok (Mitchell and Kettlewell 2009).

Ochrana zvierat prepravovaných na bitúnok je národný záujem všetkých európskych krajín a je ukotvený v národnej aj medzinárodnej legislatíve. Prevádzkovatelia potravinárskych podnikov prepravujúci živé zvieratá na bitúnok majú povinnosť zabezpečiť dodržiavanie požiadaviek Nariadenia Rady Európskeho spoločenstva (ES) 1/2005 o ochrane zvierat počas prepravy. Tento predpis stanovuje účinné nástroje monitorovania a prísnejšie pravidlá pre prepravu a špecifické kontroly, ktoré majú úradníci vykonávať.

Prepravu hydiny na bitúnok zabezpečujú oprávnení schválení licencovaní prepravcovia hydiny. Preprava sa zabezpečuje čo najkratšie, priamou cestou, bez zastávok na iných hydinárskych závodoch. Hydina je v prepravných klietkach nakladaná na automobily, ručne alebo pomocou vysokozdvižných vozíkov. Všetky postupy a praktiky spojené s prepravou a mikro-prostredia prevládajúce v kontajneroch a vozidlách môžu predstavovať pre vtáky rôzny stupeň stresovej reakcie v závislosti od prevládajúceho stresového faktora.

Stresový faktor 1: Ľudský faktor (Nakládka do prepravných kontajnerov a manipulácia so živou hydinou)

Zvieratá nesmú byť prepravované spôsobom, ktorý by im mohol zapríčiniť nadmerné utrpenie alebo spôsobiť zranenia (Haščík 2012). Hydina je chytaná pracovníkmi na farme, naložená do špeciálnych prepravných kontajnerov a transportovaná nákladnými autami. Klietky na prepravu musia byť funkčne vyhovujúce a určené na prepravu živej hydiny a po každej preprave vyčistené. Prepravné vozidlá musia byť vybavené krytmi na zabránenie nepriaznivým vplyvom počasia a čistené a dezinfikované, aby sa zabránilo šíreniu infekčných alebo parazitárnych ochorení (Steinhauser 1995).

Chytanie hydiny pred prepravou je zabezpečované buď zamestnancami farmy alebo vyškolenými pracovníkmi, ktorí zabezpečujú prevoz hydiny. Brojlery sú chytané ručne alebo je tento úkon mechanizovaný.

Mechanizovaný spôsob chytania hydiny sa vzhľadom na veľkosť zberného zariadenia môže využívať iba vo veľkých hydinárňach. Na zdvihnutie brojlerov z podlahy sa používajú dopravné pásy alebo rotujúce „gumené prsty“, ktoré zabezpečia presun hydiny na centrálny dopravný pás, a ten ich následne presunie do kontajnerov (Knierim a Gocke 2003). Po naplnení kontajnera sa kontajner presunie na nákladné auto pomocou vysokozdvižného nakladača (Eurogroup for Animals 2020).

Ručne sa vtáky najčastejšie chytajú za behák (jeden alebo oba) a do prepraviek sú nakladané dolu hlavou (tzv. „obrátené nosenie“). Manipulácia s hydinou je stále úkon, ktorý

môže spôsobiť strachové alebo úzkostné reakcie, zranenia ba dokonca smrť, a je kľúčovou fázou pred samotnou prepravou a zabíjaním zvierat na bitúnku. Okrem manipulácie na hydinu pôsobí nepriaznivo aj hluk počas nakládky, zvýšená aktivita, prašnosť, sociálne preskupovanie v kontajneroch, vysoká hustota zvierat, vibrácie prípadne iné stresové faktory (Eurogroup for Animals 2020). Pri chytaní brojlerov spôsobom, ktorý sa bežne používa (obrátené držanie za beháky) vtáky reagujú dvoma spôsobmi: buď tzv. „zamrznú“ (tonická nehybnosť s následnou imobilitou – prirodzená reakcia vtákov na prítomnosť predátora) alebo sa prejavia viditeľnými strachovými reakciami (opačná reakcia, preexponované pohyby, mávanie krídlami) a začnú vokalizovať (Wolff et al. 2019). Behaviorálna reakcia vyvolaná držaním brojlera hore behákmi alebo pri položení na chrbát sa používa pri testovaní strachových reakcií hydiny, a dĺžka trvania tonickej nehybnosti ilustruje intenzitu zažívaného strachu, čím je dlhšia, tým väčšia je intenzita strachovej reakcie. Obrátené držanie hydiny je spojené so zvýšenými koncentráciami kortikosterónu (akútna stresová reakcia) a strachom, čo znamená, že dlhšie trvanie bolo spojené s väčšou stresovou reakciou a väčším strachom (Bedanova et al. 2007). Jones et al. (1992) testovali trvanie tonickej strnulosti u brojlerov. Brojlery držané za beháky a prevrátené v trvaní 30 sekúnd (bežná metóda odchytu), vykazovali trvanie tonickej nehybnosti viac ako 11 minút v porovnaní s takmer 7 minútami u vtákov, ktoré boli držané vzpriamene a boli podrobené pozitívnemu „handlingu“ v trvaní 30 sekúnd. Tieto reakcie a skutočnosť, že brojlery sú relatívne malé v porovnaní s inými hospodárskymi zvieratami, sú teoreticky hlavnými dôvodmi, prečo je tento typ manipulácie a prenášania v hydinárskom priemysle stále široko akceptovaný (Main and Hewson 2012). Tento spôsob manipulácie však nie je nevýhodný len z hľadiska dobrých životných podmienok, ale tiež pri ňom hrozí možnosť zranenia hydiny, vzniku modrín, odrenín, zlomenín alebo škrabancov. Navyše brojlery majú na konci výkrmu značne osvalené časti tela, vrátane prsnej svaloviny, a preto pre nich môže byť poloha dolu hlavou nielen nepríjemná, ale kvôli absencii bránice a následnému tlaku prsnej svaloviny na orgány v telovej dutine aj fatálna (Eurogroup for Animals 2020). Okrem vplyvu na welfare a zvýšenému riziku výskytu poranení brojlerov, vplyvom stresu počas takejto manipulácie môže dôjsť k rýchlemu postmortálnemu poklesu pH v svalovine s nasledovnou myofibrilárnou a sarkoplazmatickou denaturáciou proteínov, čo môže spôsobiť zníženie schopnosti mäsa viazať vodu, negatívnym spôsobom ovplyvniť farbu mäsa a napomôcť vzniku bledej, mäkkej a PSE – podobnej svaloviny (Sams 1999).

Je zrejmé, že je potrebný komplexný výskum zlepšenia podmienok chytania a nakladania brojlerov do transportných kontajnerov pred prepravou, pretože doterajšie štúdie naznačujú zlepšenie welfare týchto zvierat prostredníctvom nakladania vo vzpriamenej polohe

chytaním za brucho v zmysle nižšieho počtu zlomenín krídel, kratšej doby nakladania zvierat a získania konzistentnejšie prehľadu o počte kusov hydiny v prepravných kontajneroch v porovnaní s metódou chytania za beháky (Kittelsen et al. 2018). Značný význam tu zohrávajú rozdiely medzi spoločnosťami zabezpečujúcimi odchyt brojlerov pred prepravou, školenia pracovníkov zabezpečujúcich výkony týchto činností, poznanie prirodzených prejavov správania brojlerov ale aj osobné postoje týchto zamestnancov. Zlepšeniu dobrých životných podmienok brojlerov pri chytaní by mohol prispieť výskum účinných metód školení a vývoj štandardizovanej metódy pre všetky spoločnosti, ktoré zabezpečujú odchyt brojlerov. Postoje a presvedčenia človeka ovplyvňujú jeho správanie, a školenie na úpravu ich presvedčení a postojov k brojlerovým kurčatám by teoreticky mohlo zmeniť ich správanie pri chytaní (Eurogroup for Animals 2020).

Stresový faktor 2: Teplotné podmienky (Neadekvátne vysoká teplota vs. nízka teplota prostredia)

Teplota a klíma vonkajšieho prostredia majú zásadný vplyv na mikroklímu prepravných priestorov, v ktorých sa brojlery premiestňujú na bitúnky. Optimálna teplota na prepravu hydiny je 22 - 24 °C. Pri nízkych teplotách prostredia musí hydina produkovať viac tepla na udržanie teploty tela. Ak telesná teplota poklesne pod 19 °C, predpokladá sa úhyn až 50 %. Preto sa za kritickú pre prepravu považuje teplota 16 °C. Na nízke teploty sú citlivé hlavne morky, u ktorých po zabití dochádza k nežiadúcim zmenám farby v mäse (Nagy et al. 2008). Naproti tomu pri teplote nad 38 °C môže dochádzať k prehrievaniu a tiež k zvýšeným úhynom. Preto sa odporúča preprava hydiny v noci alebo skorých ranných hodinách. Tepelná záťaž počas prepravy pôsobí na vtáky stredne silno až silne stresujúco a to sa prejaví celkovým zhoršením dobrých životných podmienok, s následným zhoršovaním kvality svalov a teda výsledného produktu alebo zvýšenou mierou úmrtnosti spôsobenej vysokou alebo nízkou teplotou (Gregory 1994, Hunter et al. 2001).

Úmrtnosť hydiny počas prepravy teda úzko súvisí s mikroklímou vo vozidle, ktorá je jej najčastejšou príčinou (Schwartzkopf-Genswein et al. 2012). Tu sa však názory odborníkov rozchádzajú. Jedna skupina tvrdí, že rozhodujúca teplota okolitého prostredia je 17 °C a pri jej dosiahnutí v okolitom vzduchu sú potrebné účinné opatrenia na zlepšenie škodlivých účinkov dopravy na dobré životné podmienky vtákov. Podľa tvrdenia Ritz et al. (2005) horúce počasie a zvýšená teplota počas neho predstavuje väčšie riziko úmrtia brojlerov pred zabitím počas úkonov, ako je nakladanie brojlerov a ustajnenie pred zabitím na bitúnku, ako v pohybujúcom sa vozidle. Ako určujúci faktor zvýšenej úmrtnosti v komerčných vozidlách bola aj lokalita umiestenia kontajnera vo vozidle, a k najvyšším úhynom dochádzalo na miestach, kde boli

najvyššie teploty a vlhkosť, alebo kde prenikanie studeného vzduchu a vody viedlo k stresu z chladu (Hunter et al. 1999). Vplyv okolitej teploty a vlhkosti na úmrtnosť počas transportu sa líši v závislosti od regiónu a ročného obdobia (Vecerek et al. 2016).

Warriss et al. (2005) uvádzajú o 30 % vyššiu úmrtnosť v komerčných kŕdľoch pri okolitých teplotách medzi 17 až 19 ˚C v porovnaní s nižšími teplotami (medzi 0 až 16˚C). Tiež uvádzajú za kritickú maximálnu okolitú teplotu asi 17 ˚C pre brojlery, s mierami mortality pri príchode na bitúnok približne 0,10 % pod touto hranicou a 0,13 % (pri 17 až 20 ˚C) až 0,66 % (pri 23 až 27 ˚C) nad touto hranicou.

Možnosťami na zlepšenie neadekvátnej teploty ako jedného z kritérií na zabezpečenie welfare počas prepravy je starostlivé plánovanie prepravy na dni/alebo časti dňa (noc, skoré ranné hodiny), kedy je keď je stres z tepla a chladu menej pravdepodobný najmä u kŕdľov, ktoré môžu byť viac ohrozené. Ďalšou možnosťou je využívanie nákladných vozidiel s riadenou klímou, ktoré si síce vyžadujú počiatočnú investíciu, ale vedú k zlepšeným životným podmienkam zvierat a následne k nižšej úmrtnosti (Warriss et al. 2005) a lepšej kvalite výsledného produktu (Dadgar et al. 2010), čo prispieva k návratnosti počiatočných investícií.

Stresový faktor 3: Trvanie cesty

Aktuálna legislatíva prislúchajúca ochrane zvierat počas prepravy ustanovuje všeobecné podmienky prepravy zvierat a hovorí prijatí všetkých potrebných opatrení na minimalizovanie dĺžky cesty a zabezpečenia potrieb zvierat počas nej (1/2005). Trvanie prepravy na bitúnok sa už dlho považuje za zásadný faktor pri mortalite brojlerov pri príchode na bitúnok (Warriss et al. 1990). Aj novšie štúdie potvrdili, že počas kratšie trvajúcich ciest (približne do tých 50 km) dochádza k nižšej percentuálnej úmrtnosti - 0,15 %, ale cesty nad 300 km sú spájané s mortalitou až v 0,86 % prípadov (Vecerek et al. 2006).

Stresový faktor 4: Kŕmny/pitný režim

Brojlerom sa pred prepravou odoberá krmivo na niekoľko hodín, pričom *SMERNICA RADY 2007/43/ES z roku 2007, ktorou sa stanovujú minimálne pravidlá ochrany kurčiat chovaných na produkciu mäsa* stanovuje, že krmivo sa kurčatám nesmie odobrať skôr ako 12 hodín pred očakávaným časom zabitia. Nijdam et al. (2005) potvrdili, že odobratie krmiva pred transportom predstavuje pre brojlerov stres a je spojené so znížením hmotnosti. Skupina autorov Menconi et al. (2014) zisťovali vplyv pitného režimu a napájania čistou vodou s porovnaní s napájaním vodou obohatenou prídavkom organických kyselín (kyselina mliečna, octová, propionová, oktánová a tanín) na hodnotenie hmotnostných strát počas 10 hodinovej prepravy na bitúnok. Bolo sledovaných 16 brojlerových kurčiat vo veku 47 dní. Polovica z kurčiat dostávala čistú vodu a druhá polovica vodu s prídavkom organických kyselín (OK)

v koncentrácii 4 l/ 1000 l vody. Hmotnostné straty u kontrolnej skupiny predstavovali 36,8 ± 0,1 %. U skupiny brojlerov napájaných počas cesty vodou obohatenou OK boli hmotnostné straty 4,8 ± 0,1% straty. Kŕmenie vodou vedie k chudnutiu brojlerov, ale znižuje sa hladina glykogénu v pečeni už po 3 hodinách. Hmotnostné straty jatočných tiel boli významne znížené obohatením vody prídavkom organických kyselín (Menconi et al. 2014).

Stresový faktor 5: Zdravotný stav brojlerov počas prepravy

Zdravotný stav hydiny pred prepravou je kľúčovým faktorom, ktorý vo významnej miere ovplyvňuje aj vysporiadanie sa so stresom a reakcie zvierat na všetky ostatné stresové faktory (Caffrey et al. 2017). Vplyv stresových faktorov pred zabitím môžu zhoršiť už existujúce patologické stavy brojlerov a predisponovať vtáky k úhynu počas tejto fázy, čo znamená, že choré vtáky uhynú s väčšou pravdepodobnosťou ako zdravé. Napríklad podľa Nijdama et al. (2006) u 65 % vtákov, ktoré uhynuli počas fázy pred zabitím, boli zistené infekčné ochorenia (laryngitída a tracheitída).

Kontroly zdravotného stavu pred prepravou na bitúnok vykonáva úradný veterinárny lekár. Úradný veterinárny lekár vypíše zvieratám, ktoré posúdi ako vhodné na zabitie na spotrebu ľuďmi po *ante mortem* prehliadke zdravotný certifikát. Certifikát zdravia zvierat sa musí sa poslať vopred alebo sprevádza zvieratá na bitúnok. Všetky zistenia relevantné pre následnú prehliadku mäsa sa zaznamenajú do certifikátu zdravia zvierat (Delegované nariadenie komisie EÚ 2019/624). Kontrola zdravotného stavu pred prepravou by mala byť komplexná, pretože aj vtáky so starými zraneniami a/alebo poraneniami vyvolanými odchytom, ako aj vtáky s už existujúcimi patológiami, môžu byť naložené a prepravované, čo taktiež predstavuje riziko zhoršeného welfare počas prepravy (Farm animal welfare compendium 2013).

Stresový faktor 6: Hyperdenzita resp. hypodenzita jedincov v prepravných kontajneroch

Hustota umiestnenia brojlerov v prepravných kontajneroch je ďalším faktorom, ktorý má byť pri preprave na bitúnok primerane zvážený. V štúdii Knowlesa a Brooma (1990) sa uvádza, že prepravné systémy s menším priestorom pre brojlera môžu byť vhodnejšie pri prevencii modrín, čo sa vysvetľuje tak, že vtáky sa navzájom udržiavajú, čím klesá riziko pádu alebo potreba roztiahnuť krídla a beháky na udržanie rovnováhy. Vtáky tiež môžu mať prospech z mierne vyššej hustoty na jar alebo ak sa očakáva chladné počasie (EFSA, 2004; Marahrens et al. 2011). Vysoká hustota brojlerov v prepravných kontajneroch je tiež výhodnejšia z hľadiska priemerných nákladov na prepravu na zviera (Elrom 2000). Na druhej strane sa vysoká hustota brojlerov v kontajneroch počas prepravy ukázala ako významný

stresový faktor, ktorý bol preukázaný zvýšením koncentrácie kortikosterónu v plazme vtákov a zvýšenou rektálnou teplotou, čo poukazovalo na akútnu stresovú reakciu (Saraiva et al. 2020). Okrem toho účinky zvýšenej denzity jedincov v klietkach prevážili účinky odobratia krmiva a efekt transportu brojlerov (Saraiva et al. 2020). Vysoká hustota vtákov v klietkach sa tiež ukázala ako významný faktor zvýšenej mortality jedincov pri príchode na bitúnok (Nijdam et al. 2004). Na strane ďalšej príliš veľa miesta pre zviera zvyšuje riziko neudržania rovnováhy a pohadzovanie brojlerov a môže dochádzať k zraneniam. Okrem toho hustota obsadenia prepraviek závisí od poveternostných podmienok, celkovej hmotnosti živých vtákov a veku vtákov, ktoré sa majú prepravovať (Elrom 2000).

ZÁVER

Brojlery sú pred zabitím podrobené viacerým nevyhnutným technologickým operáciám, ktoré trvajú rôzne dlho a sú pre tieto zvieratá zdrojom stresu s následným zhoršením dobrých životných podmienok. Zásadnou v tomto prípade je preprava brojlerov na bitúnok. Počas prepravy pohodu zvierat spolupôsobia viaceré faktory, ktoré sú príčinou nielen akútnej stresovej reakcie, ale môžu u latentne chorých jedincov spôsobiť smrť. Viac ako jeden hlavný stresový faktor sa uplatňuje ich kombinácia, ktorá predstavuje zásadnú hrozbu pre pohodu a produktivitu zvierat s následným dopadom na kvalitu výsledného produktu – mäsa. V zmysle „*five animal welfare needs*“ boli identifikované hlavné stresové faktory, ktoré pred a počas prepravy ovplyvňujú pohodu prepravovaných zvierat. Ľudský faktor (pozitívny alebo negatívny handling) pri manipulácii pred prepravou, teplotné podmienky a mikroklíma vnútri dopravných prostriedkov, trvanie prepravy, kŕmny resp. pitný režim hydiny, zdravotný stav pred prepravou a denzita (hyper- alebo hypo-) jedincov v prepravnom kontajneri sú zásadnými faktormi vplývajúcimi nielen na welfare brojlerov, ale aj na ich metabolický stav v čase zabíjania na bitúnkoch, a koniec koncov aj na konečnú kvalitu mäsa.

POĎAKOVANIE

Štúdia vznikla vďaka podpore Agentúry na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-18-0039.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BEDANOVA, I. et al. ‘Stress in broilers resulting from shackling’, In *Poultry Science* 2007, vol. 86, no. 6, pp. 1065–1069. doi: 10.1093/ps/86.6.1065

2. CAFFREY, N.P.P. et al. Factors affecting mortality risk during transportation of broiler chickens for slaughter in Atlantic Canada. *Preventive Veterinary Medicine*, 2017, vol. 147, pp. 199–208. doi: 10.1016/j.prevetmed.2017.09.011.
3. DADGAR, S. et al. Effect of microclimate temperature during transportation of broiler chickens on quality of the pectoralis major muscle. In *Poultry Science* 2010, vol. 89, no. 5, pp. 1033–1041. doi: 10.3382/ps.2009-00248
4. DELEGOVANÉ NARIADENIE KOMISIE (EÚ) 2019/624 z 8. februára 2019 o špecifických pravidlách týkajúcich sa vykonávania úradných kontrol výroby mäsa, ako aj produkčných oblastí a oblastí sádkovania živých lastúrnikov v súlade s nariadením Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/625.
5. EFSA. The Welfare of animals during transport - Opinion of the Scientific Panel on Animal Health and Welfare on a request from the Commission, 2004. EFSA J, no. 44, pp. 1–36. http://www.efsa.eu.int/ accessed 2022 apríl.
6. ELROM, K. Handling and transportation of broilers-welfare, stress, fear and meat quality. Part IV: Handling of broilers Israel. In *Journal of Veterinary Medicine* 2000, vol. 55, pp. 121-125.
7. EUROGROUP FOR ANIMALS 2020 https://www.eurogroupforanimals.org/files/eurogroupforanimals/202011/2020_11_19_eurogroup_for_animals_broiler_report.pdf
8. FARM ANIMAL WELFARE COMPENDIUM 2013, https://www.ciwf.org.uk/media/5235309/Welfare-sheet-Broiler-chickens.pdf
9. GREGORY, N.G. Preslaughter handling, stunning and slaughter. In *Meat Science* 1994, vol. 36, pp. 45-56.
10. HAŠČÍK, P. et al. Spracovanie hydiny a minoritných živočíšnych produktov. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2012.160 p. ISBN 978-80-552-0746-9.
11. https://www.europarl.europa.eu/news/sk/headlines/society/20190206STO25113/parlament-chce-obmedzit-dlhe-transporty-zvierat cit: 25.4.2022
12. HUNTER, R. R. et al. Mortality of broiler chickens in transit - correlation with the thermal micro-environment in: Proceedings of the 6th International Livestock Environment Symposium, Louisville, Kentucky, U.S.A., 21st-23rd May 2001. Edited by Stowell, R. R., Bucklin, R. & Bottcher, R. W. pp. 542-549.

13. HUNTER, R.R. et al. Wetting of broilers during cold weather transport; a major source of physiological stress. In *British Poultry Science* 1999, vol. 40: supplement 1, pp. 48-49.
14. KNIERIM, U. AND GOCKE, A. Effect of catching broilers by hand or machine on rates of injuries and dead-on-arrivals. In *Animal Welfare* 2003, vol. 12, no. 1, pp. 63–73.
15. KITTELSEN, K.E. et al. An Evaluation of Two Different Broiler Catching Methods. Animals. In *Multidisciplinary Digital Publishing Institute* 2018, vol. 8, no. 141. doi: 10.3390/ANI8080141.
16. KNOWLES, T. G. AND BROOM, D. M. The handling and transport of broilers and spent hens. In *Applied Animal Behaviour Science* 1990, vol. 28, 75–91. https://doi.org/10.1016/0168-1591(90)90047-H
17. MAIN, D.C.J. AND HEWSON, C.J. Slaughter and killing of animals for disease control. *World Animal Protection* 2012 [Online].
18. MARAHRENS, M. et al. (2011). Risk assessment in animal welfare – Especially referring to animal Transport. In *Preventive Veterinary Medicine* 2011, vol. 102, pp. 157–163. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.04.010.
19. MENCONI, A. et al. Evaluation of a commercially available organic acid product on body weight loss, carcass yield, and meat quality during preslaughter feed withdrawal in broiler chickens: a poultry welfare and economic perspective. *Poultry science* 2014, vol. 93, no. 2, pp. 448–455. https://doi.org/10.3382/ps.2013-03444
20. MITCHELL, M. A. AND KETTLEWELL, P. J. Welfare of poultry during transport – a review. Poultry Welfare Symposium 2009, 90–100 Cervia, Italy, 18-22 May.
21. NAGY, J. et al. Hydina a technológia produkcie hydinového mäsa. Košice: UVLF, 2008. 103 p. ISBN 978-80-8077-098.
22. NARIADENIE RADY (ES) č. 1/2005 z 22. decembra 2004 o ochrane zvierat počas prepravy.
23. NIJDAM, E. et al. Comparison of bruises and mortality, stress parameters, and meat quality in manually and mechanically caught broilers. *Poultry Science* 2005, vol. 84, no. 3, pp. 467–474. doi: 10.1093/ps/84.3.467.
24. NIJDAM, E. et al. Feed withdrawal of broilers before transport changes plasma hormone and metabolite concentrations. *Poultry Science* 2005, vol. 84, no. 7, pp. 1146-1152.

25. NIJDAM, E. et al. Pathological features in dead on arrival broilers with special reference to heart disorders. Poultry Science 2006, vol. 85, no. 1986, pp. 1303-1308.
26. RITZ, C. W. et al. Evaluation of hot weather thermal environment and incidence of mortality associated with broiler live haul. In *Journal of Applied Poultry Research* 2005, vol. 14, pp. 594-602.
27. SAMS, A. Looking for solutions: pale meat, poor yield, In *Broiler Industry* 1999, vol. 62, no. 11, pp. 26-30.
28. SARAIVA, S. et al. "Impact of pre-slaughter factors on welfare of broilers." In *Veterinary and animal science* 2020, vol. 10, doi:10.1016/j.vas.2020.100146.
29. SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K. S. et al. 2012. Road transport of cattle, swine and poultry in North America and its impact on animal welfare, carcass and meat quality: A review. In *Meat Science* 2012, vol. 92, pp. 227-243.
30. SMERNICA RADY 2007/43/ES z 28. júna 2007, ktorou sa stanovujú minimálne pravidlá ochrany kurčiat chovaných na produkciu mäsa.
31. STEINHAUSER, L. et al. Hygiena a technologie masa. Brno : Last, 1995, 643 s. ISBN 80-900260-4-4.
32. VECEREK, V. et al. Effects of travel distance and the season of the year on death rates of broilers transported to poultry processing plants. In *Poultry Science* 2006, 85, 1881–1884. https://doi.org/10.1093/ps/85.11.1881.
33. VECEREK, V. et al. Negative trends in transport-related mortality rates in broiler chickens. In *Asian Australasian Journal of Animal Sciences* 2016, vol. 29, pp. 1796–1804. https://doi.org/10.5713/ajas.15.0996.
34. WARRISS,P.D. et al. Relationship between maximum daily temperature and mortality of broiler chickens during transport and lairage. In *British Poultry Science* 2005, vol. 46, pp. 647-651.
35. WARRISS,P.D. et al. Time spent by broiler chickens in transit to processing plants. In *Veterinary Record* 1990, vol. 127, pp. 617-619.
36. WOLFF, I. et al. Harvesting-induced stress in broilers: Comparison of a manual and a mechanical harvesting method under field conditions. In *Applied Animal Behaviour Science* 2019, vol. 221, 104877. doi: 10.1016/j.applanim.2019.104877.

Kontaktná adresa: Mesarčová Lýdia, Department of Food Hygiene, Technology and Safety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: lydia.mesarcova@uvlf.sk

VPLYV HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA PRODUKCIU VAJEC A IMUNITU NOSNÍC

INFLUENCE OF HUMIC SUBSTANCES ON EGG PRODUCTION AND IMMUNITY OF LAYING HENS

Mudroňová Dagmar, Karaffová Viera, Semjon Boris, Naď Pavel, Koščová Jana, Bartkovský Martin, Makiš Andrej, Bujňák Lukáš, Nagy Jozef, Marcinčák Slavomír

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

ABSTRACT

Humic substances (HL) have many health benefits. Nevertheless, there are not many studies looking at their effects on immunity, intestinal microbiota and egg quality in laying hens. In the experiment, the effect of addition of 0.5% HL on laying eggs and eggshell quality, selected immune parameters (relative gene expression for IgA, IGF-2, MUC-2 in the cecum; phagocytic activity, proportions of lymphocyte subpopulations in blood) and proportions of lactic acid bacteria and enterobacteria in the intestinal contents of laying hens were studied. The results showed a positive effect on egg laying rate, daily egg mass, egg weight, feed conversion and eggshell quality, as well as an immunostimulatory effect which was manifested by increased activity of phagocytes,, IgM+ lymphocytes proportion and IgA gene expression. On the other hand, an increase in the number of enterobacteria in the intestinal contents can be considered as a negative effect of HL. The experimental results confirmed the positive effect of HL on egg production and quality as well as their stimulating potential on phagocytes and B lymphocytes. The effect on the intestinal microbiota should be studied much more comprehensively.

Key words: humic substances, laying hens, immunity, microbiota, eggs

ÚVOD

V súčasnosti je hlavným trendom v poľnohospodárstve a vo výžive zvierat zlepšovať zdravie a produktivitu zvierat, avšak s prvoradým cieľom produkovať zdravé a bezpečné potraviny. Na tieto účely sa využíva široké spektrum rôznych výživových doplnkov, zväčša naturálneho pôvodu , akými sú napríklad probiotiká, prebiotiká, fytoaditíva, vitamíny, stopové prvky či humínové látky (Kulshreshtha a kol., 2020). Produkcia slepačích vajec má pre slovenskú ekonomiku veľký význam. Dlhodobo sa sebestačnosť v produkcii vajec pohybovala medzi 90 až 100 %, čo je najvyššia sebestačnosť spomedzi všetkých živočíšnych komodít.

Avšak v rokoch 2019 až 2021 postupne klesala pod 90 %, čo je spôsobené na jednej strane postupným nárastom spotreby vajec a súčasne znížením ich produkcie. Najdôležitejšími ekonomickými faktormi v chove nosníc sú kvalita a produkcia vajec. Výživa nosníc je považovaná za jeden z kritických faktorov pre optimalizáciu kvality vajec, čo sa nutričného zloženia týka, ale aj celkových ekonomických aspektov produkcie vajec (Wan a kol., 2021). Práve správne vybilancované krmivo a použitie vhodných aditív môžu významne zlepšiť rentabilitu chovu nosníc.

O vplyve humínových látok (HL) na zdravie nosníc a produkciu vajec nie je mnoho údajov, avšak HL sú úspešne využívané pri odchove brojlerov. Nagaraju a kol. (2014) uviedli, že pridanie humínových kyselín do krmiva bez antibiotík zlepšilo úžitkovosť a imunitný stav brojlerov. Konkrétne modulácia imunitných funkcií pomocou HL umožňuje aj podporu zdravotných a produkčných parametrov. Vplyv HL na imunitný systém organizmu súvisí so schopnosťou týchto látok vytvárať pomerne silné komplexy so sacharidmi (Mudroňová a kol., 2020). Následne tieto komplexy umožňujú v tele produkovať glykoproteíny schopné viazať sa na NK bunky a T lymfocyty, pôsobiť ako modulátory a zabezpečiť následnú komunikáciu medzi týmito bunkami. Schopnosť HL ovplyvňovať imunitný systém teda spočíva v regulácii imunitnej aktivity a prevencii nadmernej aktivity (Hanafy a El-Sheikh, 2018). Okrem toho sú HL schopné podporovať aj tvorbu ochrannej mucínovej vrstvy na epiteli čreva a ovplyvňovať zloženie črevného ekosystému (Arif a kol., 2018). Napriek tomu neexistuje mnoho štúdií zameraných na pôsobenie HL na imunitu, črevnú mikrobiotu a kvalitu vajec u nosníc. V experimente bol preto sledovaný vplyv prídavku 0,5 % HL na produkciu vajec, kvalitu vaječných škrupín, vybrané imunitné parametre (relatívna expresia génov pre IgA, IGF-2, MUC-2 v slepom čreve; aktivita fagocytov, zastúpenie subpopulácií lymfocytov v krvi) a zastúpenie baktérií mliečneho kvasenia a enterobaktérií v črevnom obsahu u nosníc.

MATERIÁL A METODIKA

V experimente bolo použitých 60 kusov nosníc plemena Lohman Brown – klasický hybrid (Eggro-farm s.r.o., Košická Polianka, Slovakia) vo veku 17 týždňov (priemerná hmotnosť 1.36 ± 0.15 kg), ktoré boli rozdelené po 30 kusov do kontrolnej a experimentálnej skupiny. Nosnice v kontrolnej skupine (C) boli kŕmené štandardnou kŕmnou zmesou pre nosnice (De Heus, Bučovice, ČR) a pre nosnice v experimentálnej skupine (H) bolo toto krmivo suplementované 0,5 % HL – Humac Natur AFM (Humac s.r.o. Košice, Slovakia). Nosnice boli ustajnené na hlbokej podstielke a mikroklíma bola udržiavaná podľa pokynov pre chovateľov plemena Lohmann Brown (Lohmann Tierzucht, 2016). Nosnice boli kŕmené raz denne

uvedenou diétou, v 17. a 18. týždni dostávali 75 g, v 19. týždni to bolo 81 g, od 20. týždňa do znášky 93 g a vo fáze znášky 100 g krmiva/kus/deň. Nosnice mali neobmedzený prístup k vode. Ich zdravotný stav a hmotnosť boli neustále monitorované. Pokus bol ukončený v 29. týždni veku nosníc, kedy bolo z oboch skupín náhodne vybraných dvanásť sliepok. Tieto zvieratá sa použili na odber krvi a po eutanázii cervikálnou dislokáciou boli jatočne spracované a vzorky boli odobraté na ďalšie laboratórne testy.

V rámci sledovania produkčných parametrov bol zaznamenávaný počet vyprodukovaných vajec, spotreba krmiva na zviera, hmotnosť vajec (g), FCR (Feed conversation ratio – Pomer konverzie krmiva, ktorý vyjadruje množstvo krmiva spotrebovaného na produkciu kilogramu vajec) a úroveň znášky (%; vypočítaná ako počet znesených vajec k počtu nosníc).

Kvalita vaječnej škrupiny bola posúdená na základe jej minerálneho zloženia, ktoré bolo analyzované podľa postupu Skalickej a kol. (2008).

V rámci sledovania parametrov imunity bola analyzovaná relatívna expresia génov pre IgA, IGF-2 a MUC-2 v tkanive céka pomocou kvantitatívnej real-time PCR podľa Karaffovej a kol. (2019). Bunková imunitná odpoveď bola hodnotená v periférnej krvi na základe úrovne aktivity fagocytov a zastúpenia vybraných subpopulácií imunitných buniek. Fagocytárna aktivita bola analyzovaná pomocou komerčného testu pre prietokovú cytometriu – Phagotest® (Celonic, Nemecko). Na identifikáciu vybraných subpopulácií lymfocytov sa použilo priame imunofarbenie pomocou dvoch kombinácií konjugovaných myších anti-kuracích monoklónových protilátok (Southern Biotech, USA): CD4-FITC+CD8a-RPE+CD45-APC a CD3-FITC+IgM-RPE. Izolácia, farbenie a identifikácia buniek bola realizovaná podľa metodiky Mudroňovej a kol. (2020) na prietokovom cytometri BD FACSCanto™ (Becton Dickinson Biosciences, USA) s použitím BD FACS Diva™ softvéru.

V obsahu tenkého čreva a slepého čreva boli analyzované počty baktérií mliečneho kvasenia (LAB) a enterobaktérií štandardnou platňovou metódou na selektívnych kultivačných médiách. Na stanovenie počtu LAB sa použil MRS agar (HiMedia, India), pričom platne boli inkubované anaeróbne (systém GasPak, Becton Dickinson, USA) počas 48 hodín pri 37 °C. Enterobaktérie sa počítali na Endo agare (HiMedia, India) po 24 hodinách inkubácie pri 37 °C. Počty baktérií sú vyjadrené v $\log_{10}$ jednotiek tvoriacich kolónie na gram obsahu (log10 cfu/g) ± smerodajná odchýlka.

Štatistická analýza bola urobená v programe GraphPad Prism 8.3 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) pomocou nepárového T-testu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Suplementácia krmiva nosníc 0,5 % HL mala významný vplyv na nasledujúce produkčné parametre zaznamenané v 29. týždni: úroveň znášky, denná hmotnosť vajec, hmotnosť vajec a FCR v porovnaní s kontrolnou skupinou ($p < 0,05$; Tab. 1). Podobne pozitívny vplyv prídavku HL na znáškové parametre publikovali aj Zhang a kol. (2020). Rovnako aj Arpášová a kol. (2016) zistili, že prídavok 0,5 % humínových kyselín významne zvýšili produkciu vajec ako aj ich bielkovinový index. HL tiež zvýšili liahnivosť vajec bažantov (Sopoliga a kol., 2026).

Tabuľka č. 1, Vplyv humínových látok na vybrané produkčné parametre nosníc

	C	H	T-test (p)
Úroveň znášky, %	84.29 ± 7.87	95.91 ± 6.98*	**0.013**
Vaječná hmota, g/ks/deň	47.50 ± 4.37	57.06 ± 4.05*	**0.001**
Hmotnosť vajec, g	56.36 ± 0.39	59.50 ± 0.67*	**< 0.001**
Spotreba krmiva, g/ks/deň	115.86 ± 2.27	116.00 ± 1.53	0.892
FCR	2.46 ± 0.22	2.04 ± 0.14*	**0.001**

*C – kontrolná skupina; H – nosnice suplementované 0,5 % HL v krmive; FCR – pomer konverzie krmiva; * - signifikantný rozdiel medzi C a H skupinami; p - pravdepodobnosť*

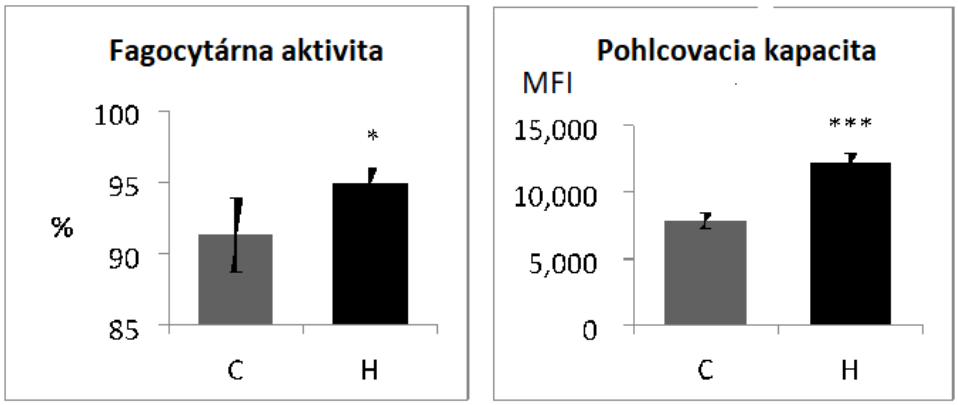
Pri analýze minerálneho zloženia vaječných škrupín bola v experimentálnej skupine zaznamenaná signifikantne vyššia koncentrácia vápnika, zinku, mangánu ($p < 0.05$), fosforu ($p < 0.01$) a medi ($p < 0.001$) v porovnaní s kontrolou. Koncentrácie horčíka, sodíka a draslíka neboli aplikáciou HL významne ovplyvnené. Pre tvorbu vaječnej škrupiny sú najdôležitejšie prvky fosfor a vápnik. Bolo zistené, že pri aplikácii vyšších koncentrácií HL do krmiva dochádza k znižovaniu absorpcie niektorých prvkov, a to práve vápnika a fosforu, ale aj železa a mangánu. Toto je spôsobené hlavne schopnosťou HL viazať na svoje molekuly rôzny látky z prostredia, ale po zmene prostredia často dochádza k ich opätovnému uvoľneniu. K tomuto efektu pravdepodobne dochádza aj v tráviacom trakte (Ergin a kol., 2009). Súčasne, vhodná koncentrácia (0,5 %) bola stanovená na základe predošlých experimentov a zdá sa, že je optimálna a nemá negatívny vplyv na vychytávanie minerálov z črevného obsahu.

U nosníc suplementovaných HL bola pozorovaná signifikantne vyššia génová expresia pre IgA oproti kontrole ($p < 0.05$). Expresia génov pre mucín-2 a insulínu podobný rastový faktor-2 nebola signifikantne ovplyvnená.

Vplyv HL na bunkovú imunitu nosníc sa manifestoval signifikantnou stimuláciou aktivity fagocytov, a to ako vyšším percentom aktívne fagocytojúcich buniek, tak aj ich vyššou pohlcovacou schopnosťou (Obr. 1). Rovnaký vplyv na fagocytózu sme zaznamenali po skrmovaní 0,8 % prídavku HL brojlerovým kurčatám (Mudroňová a kol., 2020). Napriek tomu, že presný mechanizmus vplyvu HL na fagocyty zatiaľ nie je objasnený, predpokladá sa, že obsahujú chemické štruktúry, ktoré dokážu fagocyty rozoznávať a následne ich stimulujú. Takisto bolo potvrdené, že HL stimulujú oxidatívne vzplanutie a adherenčné schopnosti fagocytov (Chen a kol., 2002; Riede a Zeck-Kapp, 1991).

Obrázok č. 1, Vplyv humínových látok na aktivitu fagocytov hodnotenú ako a) percento aktívne fagocytujúcich buniek a b) pohlcovacia kapacita fagocytov vyjadrená ako stredná intenzita fluorescencie – MFI.

a) **b)**

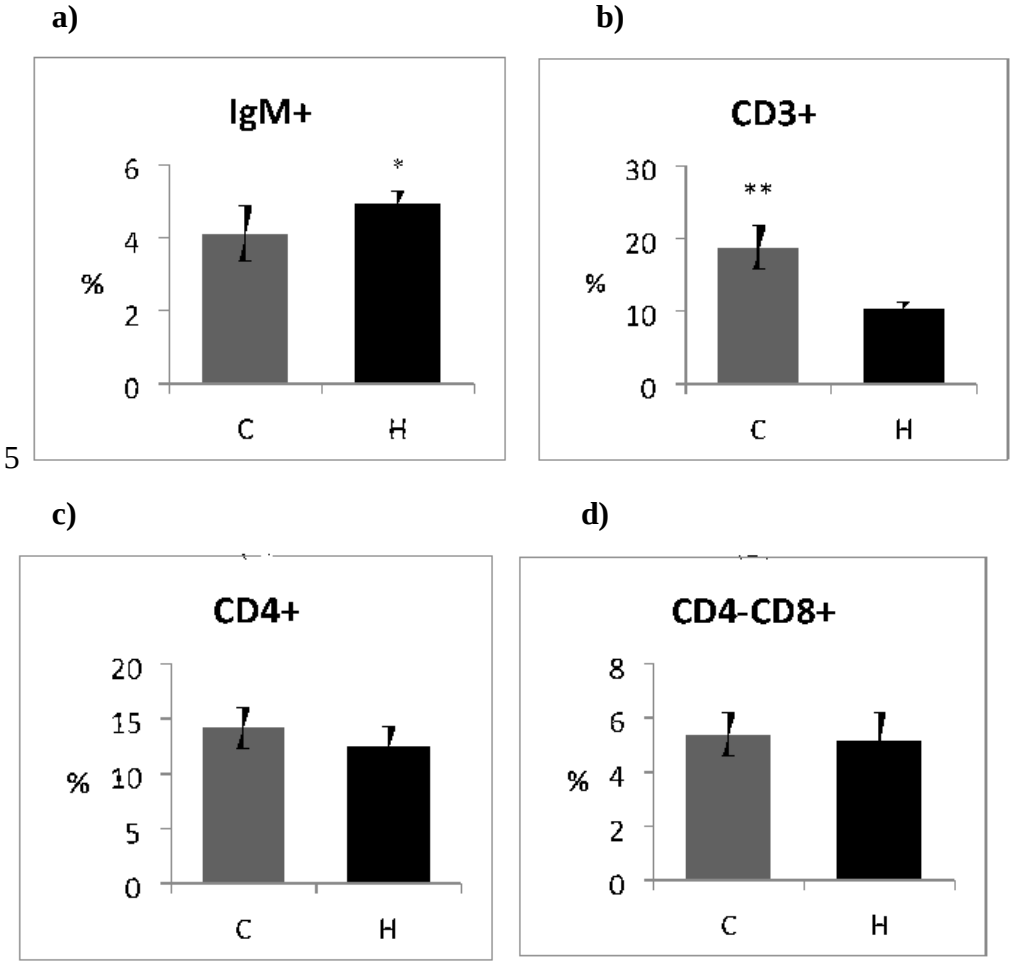


**- označuje signifikantný rozdiel oproti kontrole *p < 0,05; *** p < 0,001*

Výsledky fenotypizácie krvných lymfocytov ukázali, že 0,5 % prídavok HL stimuluje diferenciáciu B lymfocytov, keďže bolo zaznamenané výrazne vyššie zastúpenie IgM+ lymfocytov (Obr. 2a). Toto zistenie podporuje aj zvýšená expresia IgA génov v čreve. Naopak, podiel celkových T buniek (CD3+) sa týmto znížil (Obr. 2b). Súčasne nebol pozorovaný žiadny štatisticky významný účinok HL na subpopulácie T buniek: CD4+ (Obr. 2c) alebo CD4-CD8+ (Obr. 2d). Zhang a kol. (2020) tiež zaznamenal signifikantne zvýšené sérové hladiny IgM a IgG po aplikácii 0,1 aj 0,5 % HL nosniciam, čo potvrdzuje aktiváciu B lymfocytv. Zaujímavé je, že keď sme v predchádzajúcom experimente podávali 0,8 % HL brojlerovým kurčatám od 11. dňa života do konca výkrmu (38. deň), pozorovali sme výrazne vyššie percento T buniek, ako aj Th buniek (CD4+), ale génová expresia pre IgA nebola ovplyvnená (Mudroňová a kol., 2020). Na základe vyššie uvedených výsledkov predpokladáme, že bunková imunitná odpoveď závisí

nielen od použitej koncentrácie a dĺžky aplikácie HL, ale aj od kategórie hydiny, ktorej sú aplikované. Presný mechanizmus účinku, ktorým HL ovplyvňujú subpopulácie imunitných buniek zatiaľ nie je objasnený, no potvrdil sa ich vplyv na produkciu cytokínov. Vetvicka a kol. (2010) zistili významné zvýšenie produkcie IL-5 a IL-6 u myší, ktorým boli intraperitoneálne aplikované HL. Tieto cytokíny stimulujú diferenciáciu a rast B lymfocytov a zvyšujú sekréciu imunoglobulínov.

Obrázok č. 2, Vplyv humínových látok na zastúpenie a) IgM+, b) CD3+, c) CD4+ a d) CD4-CD8+ lymfocytov v krvi nosníc.



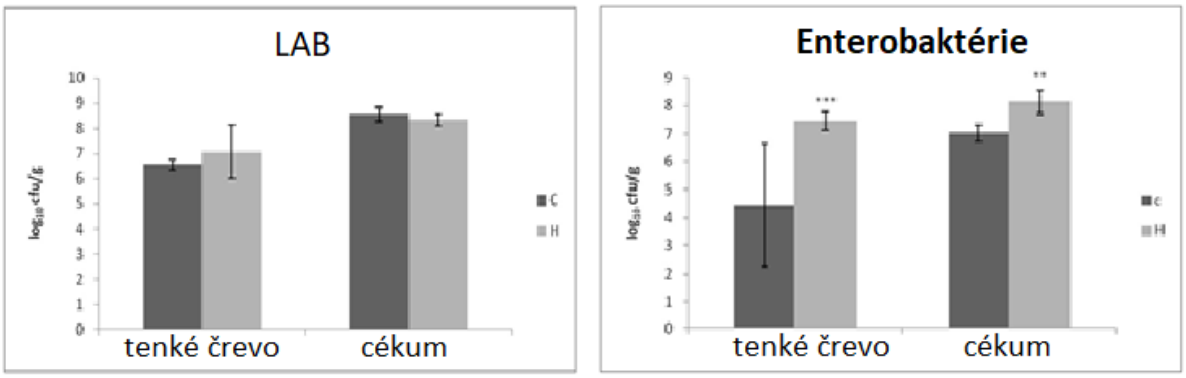
**- označuje signifikantný rozdiel oproti kontrole *p < 0,05; ** p < 0,01*

Mikrobiologické vyšetrenie črevných obsahov tenkého čreva a céka ukázalo, že prídavok HL do krmiva významne neovplyvnil počty LAB (Obr. 3a), avšak zvýšil počty enterobakltérií v oboch sledovaných úsekoch (Obr. 3b). Čo sa týka účinku HL na črevnú mikrobiotu, výsledky rôznych autorov sa značne líšia. Zatiaľ čo niektorí zaznamenali pokles enterobaktérií (Mudroňová a kol., 2020; Aksu a Bozkurt, 2009), iní pozorovali ich nárast

(Shermer a kol., 1998) a takéto rozdielne výsledky boli pozorované aj pre iné bakteriálne druhy. V našom prípade došlo k zvýšeniu počtu *E. coli* v tenkom aj v slepom čreve, ale počet baktérií mliečneho kvasenia nebol ovplyvnený. Takýto trend možno považovať za negatívny. Tieto výsledky sú v súlade s mikrobiologickými testami *in vitro*, ktoré ukázali, že rôzne druhy LAB a rôzne kmene *E. coli* tiež reagujú odlišne na HL (nepublikované údaje). Podobné výsledky dosiahli Buzoleva a Sidorenko (2001), ktorí zistili, že množenie enterobaktérií v prítomnosti HS závisí tak od typu baktérie, ako aj od zloženia HS.

Obrázok č. 3, Vplyv humínových látok na počty a) LAB a b) enterobaktérií v obsahu tenkého čreva a céka nosníc.

a) **b)**



**- označuje signifikantný rozdiel oproti kontrole **p < 0,01; ** p < 0,001*

ZÁVER

Prezentované výsledky potvrdzujú, že HL možno použiť na zlepšenie produkcie a kvality vajíčok a na aktiváciu fagocytózy a špecifickej protilátkovej imunity, ale ich vplyv na črevnú mikrobiotu bude potrebné ďalej skúmať s ohľadom na širokú škálu mikrobiálnych druhov obývajúcich tráviaci trakt nosníc.

POĎAKOVANIE

Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny, Drive4SIFood 313011V336, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja (100%).

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AKSU, T. – BOZKURT, A.S. Effect of dietary essential oils and/or humic acids on broiler performance, microbial population of intestinal content and antibody titres in the summer season. In *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 2009, vol. 15, p. 185–190.
2. ARPÁŠOVÁ, H. a kol. Effect of probiotics and humic acid on egg production and quality parameters of laying hens eggs. In *Sci. Pap. Anim. Sci. Biotechnol.* 2016, vol. 49, p. 1–9.
3. ARIF, M. a kol. Growth, carcass traits, cecal microbial counts, and blood chemistry of meat-type quail fed diets supplemented with humic acid and black cumin seeds. In *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 2018, vol. 31, p. 1930–1938.
4. BUZOLEVA, L.S. – SIDORENKO, M.L. Vliianie organicheskikh veshchestv guminovykh kislot na razmnozhenie énterobakteriĭ [Effect of organic composition of humic acids on Enterobacteria multiplication]. In *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2001, vol. 2, p. 89–91.
5. ERGIN, O. a kol. Effects of dietary humic substances on egg production and egg shell quality of hens after peak laying period. In *Afr. J. Biotechnol.* 2009, vol. 8, p. 1155–1159.
6. HANAFY, M.M. – EL-SHEIKH, A.M.H. The effect of dietary humic acid supplementation on some productive and physiological traits of laying hens. In *Egypt. Poult. Sci.* 2018, vol. 28, p. 1043–1058.
7. CHEN, C.H. a kol. The effect of humic acid on the adhesibility of neutrophils. In *Thromb. Res.* 2002, vol. 108, p. 67–76.
8. KARAFFOVÁ, V. a kol. The influence of Farmatan® and Flimabend® on the mucosal immunity of broiler chicken. In *Poult. Sci*. 2019, vol. 98, p. 1161–1166.
9. KULSHRESHTHA, G. a kol. A review of the varied uses of macroalgae as dietary supplements in selected poultry with special reference to laying Hen and broiler chickens. In *J Mar Sci Eng* 2020, vol. 8, 536.
10. LOHMANN TIERZUCHT GMBH. *Lohman Brown-Classic Management Guide*, 1st ed; Lohmann Tierzucht GmbH: Cuxhaven, Germany, 2016, s. 1–44.
11. MUDROŇOVÁ, D. a kol. The effect of humic substances on gut microbiota and immune response of broilers, In *Food Agric. Immunol.* 2020, vol. 31, p. 137–149.
12. NAGARAJU, R. a kol. Effect of dietary supplementation of humic acids on performance of broilers. In *Indian J. Anim. Sci.* 2014, vol. 84, p. 447–452

13. RIEDE, U.N. a kol. Humate-induced activation of human granulocytes. In *Virchows Arch. B Cell Pathol. Incl. Mol. Pathol.* 1991, vol. 60, p. 27–34.
14. SHERMER, C.L. a kol, Caecal metabolites and microbial populations in chickens consuming diets containing a mined humate compound. In *J. Sci. Food Agric*. 1998, vol. 77, p. 479–486.
15. SKALICKA, M. a kol. Influence of chromium and cadmium addition on quality of Japanese quail eggs. In *Acta Vet. Brno*. 2008, vol. 77, p. 503–508.
16. SOPOLIGA, I. a kol. Effect of humic substances on the production parameters of pheasant hens. In *Acta Fytotech. Zootech.* 2016, vol. 19, p. 11–14.
17. VETVICKA, V. a kol. Glucan and Humic Acid: Synergistic Effects on the Immune System. In *J. Med. Food.* 2010, vol. 13, p. 863–869.
18. WAN, Y. a kol. Effect of the pellet and mash feed forms on the productive performance, egg quality, nutrient metabolism, and intestinal morphology of two laying hen breeds. In *Animals* 2021, vol. 11, p. 701.
19. ZHANG, A.R. a kol. Dietary supplementation with sodium humate improves egg quality and immune function of laying hens. In *J. Appl. Anim. Nutr.* 2020, vol. 2, p. 93–99.

Kontaktná adresa: Mudroňová Dagmar, Department of Microbiology and Immunology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: dagmar.mudronova@uvlf.sk

PRÁVNA ÚPRAVA ZDRAVOTNEJ BEZPEČNOSTI HYDINOVÉHO MÄSA

LEGISLATION OF POULTRY MEAT SAFETY

Nagyová Alena [1], Korim Peter [1], Takáčová Daniela, [1] Nagy Jozef [2]

[1] Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat,

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

ABSTRACT

In terms of nutritional value, poultry meat (galliformes) contains a high amount of proteins, essential amino acids, essential unsaturated fatty acids, minerals, vitamins and a low fat content. Poultry meat production has a relatively short reproductive cycle and thus allows to regulate demand and supply. The poultry market also influences the development of domestic consumption. Meat consumption in Slovakia has been growing since 2015. The total consumption of 69.3 kg of meat recorded in 2019 was 5 kg (7.8%) higher than in 2018 and compared to 2015 it was higher by 37%. Poultry meat contributed the most to the increase in consumption, which since 2015 has recorded an average year-on-year increase in consumption of 117.6 percentage points (p.b.). According to the annual report AVEC (The Voice of European Meat Sector), in 2020 the consumption of poultry meat in Slovakia was 21.5 kg per person per year. The average consumption in the EU-27 was 23.6 kg, with the countries with the highest consumption being Portugal (34.5 kg), Ireland (33.3 kg), Hungary (33.0 kg) and Spain (30.1 kg). The breeding of broiler chickens, the production and placing on the market of poultrymeat must comply with the requirements laid down by legislation, compliance with which is regularly checked by the competent authorities.

Key words: poultry, safety, legislation

ÚVOD

Efektivitu výroby hydinového mäsa ovplyvňuje okrem vhodne zvolenej technológie chovu a zabezpečenia kvalitnej výživy aj plemenný materiál, dodržiavanie požiadaviek hydiny na optimálne mikroklimatické podmienky a hlavne dobrý zdravotný stav. Najväčší podiel na produkcii hydinového mäsa majú brojlerové kurčatá. Manipulácia s jatočnou hydinou pred zabitím ovplyvňuje pohodu zvierat a tým aj kvalitu hydinového mäsa. Ak bol pri prehliadke *ante mortem* a *post mortem* zistený úhyn, odreniny, zlomené kosti, potrhaná koža, metabolické

vyčerpanie, dehydratácia, rozrušenie, teplotný stres, pohoda zvierat môže byť hodnotená, že neboli dodržané dobré životné podmienky zvierat.

Pre zaistenie zdravotnej bezpečnosti potravín je nevyhnutné posudzovať všetky aspekty výroby, počnúc a vrátane prvovýroby až po dodávku potravín spotrebiteľovi, pretože každý prvok môže mať potenciálny dopad na zdravotnú bezpečnosť potravín. Príslušné orgány členských štátov vykonávajú úradné kontroly produktov živočíšneho pôvodu určených na ľudskú spotrebu s cieľom overiť súlad s požiadavkami ustanovenými právnymi predpismi.

Chov hydiny

Podľa Zákona NR SR č. 39/2007 Z. z. o veterinárnej starostlivosti prevádzkarne určené na produkciu úžitkovej hydiny musia byť schválené príslušným orgánom štátnej správy vo veterinárnej oblasti (RVPS). Štátna veterinárna a potravinová správa pridelí po právoplatnosti rozhodnutia o schválení úradné číslo, ktorým sa prevádzka identifikuje.

V záujme ochrany spotrebiteľa je, aby spôsob chovu spĺňal presne stanovené kritériá týkajúce sa podmienok chovu. Nariadenie Komisie (ES) č. 543/2008 ustanovuje, že pri uvádzaní typov chovu s výnimkou organického alebo biologického chovu sa v označení na štítku môžu uvádzať iba pojmy (a to len v prípade keď sú splnené príslušné podmienky ustanovené v prílohe V k tomuto nariadeniu): „kŕmené … % …“; „chované na hlbokej podstielke (chov v hale)“; „výbehový chov (chov v exteriéri)“; „chované navoľno“ a „úplne voľný chov“.

Ochrana a pohoda kurčiat (brojlerov) chovaných na produkciu mäsa

V oblasti zabezpečovania pohody zvierat v rámci intenzívneho chovu kurčiat sú právnymi predpismi stanovené minimálne pravidlá ochrany kurčiat chovaných na produkciu mäsa. Zákon NR SR č. 39/2007 Z. z. o veterinárnej starostlivosti v § 22 (ochrana zvierat) ustanovuje povinnosť vlastníka alebo držiteľa zvierat pri chove alebo držaní zvierat zabezpečiť ich ochranu a pohodu.

Minimálne pravidlá ochrany kurčiat chovaných na produkciu mäsa ustanovuje Smernica Rady 2007/43/ES. Každá chovná budova, v ktorej sa chová kŕdeľ hydiny musí spĺňať požiadavky na napájadlá, kŕmenie, podstielku, vetranie a vykurovanie, hluk, osvetlenie, kontrolu, čistenie, vedenie záznamov. Táto smernica zakazuje uskutočňovať akékoľvek chirurgické zákroky spôsobujúce poškodenie alebo stratu citlivej časti tela alebo zmenu štruktúry kosti z iných ako terapeutických alebo diagnostických dôvodov. Na úrovni jednotlivých členských štátov môže byť povolené brúsenie zobáka, ak sú vyčerpané všetky

ostatné opatrenia na zabránenie šklbania peria a kanibalizmu. V takýchto prípadoch sa brúsenie môže vykonávať iba po porade s veterinárnym lekárom a na jeho odporúčanie a uskutočňuje ho kvalifikovaný personál na kurčatách, ktoré majú menej ako 10 dní. Okrem toho členské štáty môžu povoliť aj kastráciu kohútikov. Kastráciu môžu pod veterinárnym dozorom uskutočniť len zamestnanci, ktorí absolvovali osobitné odborné školenie. Smernica ustanovuje tri rozsahy hustoty chovu. Všeobecné pravidlo je, že hustota chovného priestoru by nemala prekročiť 33 kg na m^2. Požiadavky na využívanie vyššej hustoty zástavu ustanovuje Príloha II Smernice Rady 2007/43/ES. Hustota zástavu sa môže zvýšiť na 39 kg na m^2 ak je budova vybavená vetraním a vykurovaním tak, aby koncentrácia amoniaku (NH_3) nepresahovala hladinu 20 ppm a koncentrácia oxidu uhličitého (CO_2) nepresahovala hladinu 3 000 ppm pri meraní na úrovni hláv kurčiat. V prípade vonkajšej teploty meranej v tieni presahujúcej 30 °C vnútorná teplota nesmie presahovať uvedenú vonkajšiu teplotu o viac ako 3 °C. Priemerná relatívna vlhkosť meraná vnútri chovnej budovy počas 48 hodín nemôže nepresahovať 70 % v prípade poklesu vonkajšej teploty pod 10 °C.

Ďalšie zvýšenie nad 39 kg/m^2 do 42 kg/m^2 je dovolené, ak sa okrem splnenia už uvedených podmienok monitorovaním zo strany orgánov potvrdia záznamy o nízkych mierach úmrtnosti a dobrých postupoch riadenia. Pre tieto najvyššie hustoty chovu sa v smernici prostredníctvom vzorca stanovuje ukazovateľ súhrnnej dennej miery úmrtnosti, ktorý nesmie byť prekročený.

Kontrola zdravia

Harmonizované zásady stratégie zdravia zvierat vrátane zásady „jedno zdravie“ a pravidlá prevencie a kontroly chorôb zvierat, ktoré sa môžu prenášať na zvieratá alebo na ľudí ustanovuje Nariadenie (EÚ) 2016/429.

Fyzické a právnické osoby oprávnené disponovať so zvieratami podľa § 37 Zákona NR SR č. 39/2007 Z. z. o veterinárnej starostlivosti sú povinné bez meškania hlásiť orgánu veterinárnej správy každé podozrenie na prítomnosť zoonóz a pôvodcov zoonóz (inváznych salmonel) alebo laboratórne potvrdenie ich výskytu v chove a umožniť vyšetrenie chovu. V prípade porušenia tohto ustanovenia dopustí sa vlastník, držiteľ podľa § 48 priestupku a podľa § 50 tohto zákona iného správneho deliktu.

Premiestňovanie hydiny podlieha veterinárnej kontrole a vykonáva sa podľa Delegovaného nariadenia Komisie (EÚ) 2020/688, ktorým sa dopĺňa nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2016/429, pokiaľ ide o požiadavky na zdravie zvierat pri premiestňovaní suchozemských zvierat a násadových vajec v rámci Únie. Prevádzkovatelia

vrátane prepravcov zabezpečia, aby na kontajneroch, v ktorých sa v dopravných prostriedkoch prepravuje úžitková hydina bolo uvedené schvaľovacie alebo registračné číslo zariadenia pôvodu.

Prevádzkovatelia môžu premiestňovať hydinu určenú na zabitie do iného členského štátu iba v prípade, ak zvieratá mali nepretržitý pobyt v registrovanom alebo schválenom zariadení držiacom hydinu od vyliahnutia alebo najmenej počas posledných 21 dní pred odchodom a pochádzajú z kŕdľov, ktoré nevykazujú žiadne klinické príznaky chorôb zo zoznamu relevantných pre daný druh ani nevzbudzujú podozrenie na ne.

Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady č. 2160/2003/ES o kontrole salmonely a ostatných špecifikovaných zoonotických pôvodcov pochádzajúcich z potravín ustanovuje správne a účinné opatrenia s cieľom zistiť a kontrolovať salmonelu a ostatných pôvodcov zoonóz v príslušných štádiách výroby, spracovania a distribúcie, a to najmä na úrovni prvovýroby vrátane krmív, aby sa znížila ich prevalencia a riziko, ktoré predstavujú pre verejné zdravie. Monitoring salmonel v kŕdľoch brojlerov v súlade s Národným kontrolným programom pre salmonelové infekcie v kŕdľoch kury domácej (*Gallus Gallus*) sa vzťahuje na všetky komerčné kŕdle brojlerov v Slovenskej republike. V prípade úradných odberov a vždy, keď sa to považuje za vhodné musí RVPS zabezpečiť aj kontrolu používania antimikrobiálnych látok, aby bolo isté, že výsledky testovania na salmonely neboli ovplyvnené použitím týchto látok.

Preprava živej hydiny na bitúnok

Počas prepravy hydiny problémy v oblasti pohody zvierat predstavuje manipulácia (zaobchádzanie), miešanie rôznych sociálnych skupín, prerušenie kŕmenia a napájania, pohyb automobilu (akcelerácia, vibrácie)únava, hluk, nové prostredie (uväznenie) a teplotné zmeny. Nariadenie (ES) č. 853/2004 v prílohe III ustanovuje, že so zvieratami sa musí počas ich zvozu a prepravy zaobchádzať šetrne, bez zapríčiňovania rozrušenia. Požiadavky, ktoré musia dodržiavať prevádzkovatelia potravinárskych podnikov, ktorí prepravujú živé zvieratá na bitúnky ustanovuje Nariadenie Rady (ES) č. 1/2005 o ochrane zvierat počas prepravy a s ňou súvisiacich činností. Dopravné prostriedky a kontajnery musia byť skonštruované a obsluhované tak, aby chránili zvieratá pred nepriaznivým počasím. Príloha I nariadenia ustanovuje minimálnu podlahovú plochu pre prepravu hydiny v kontajneroch.

Prehliadka *ante motrem* a *post mortem*

Prehliadka *ante mortem* a *post mortem* má pre ochranu zdravia ľudí, zdravia zvierat a dobrých životných podmienok zvierat zásadný význam a preto zostáva v zodpovednosti úradného veterinárneho lekára. Delegované nariadenie Komisie (EÚ) 2019/624 ustanovuje kritériá a podmienky určenia kedy možno vykonať prehliadku *ante mortem* v chove pôvodu. V prípade zvierat vhodných na zabitie sa vydáva certifikát zdravia zvierat v zmysle prílohy IV k vykonávaciemu nariadeniu (EÚ) 2019/628. Certifikát zdravia zvierat musí sprevádzať zvieratá na bitúnok alebo sa v akomkoľvek formáte musí poslať vopred a všetky zistenia relevantné pre následnú prehliadku mäsa sa zaznamenajú do certifikátu zdravia zvierat. Ak sa prehliadka *ante mortem* vykonáva v chove pôvodu v súlade s článkom 5 delegovaného nariadenia (EÚ) 2019/624, úradný veterinárny lekár na bitúnku vykoná prehliadku *ante mortem* len v špecifikovanom prípade a v špecifikovanom rozsahu.

Prevádzkovatelia bitúnkov nesmú prijať zvieratá do priestorov bitúnku, ak si nevyžiadali a nezískali príslušné informácie o potravinovom reťazci, ktoré obsahujú záznamy vedené podľa nariadenia (ES) č. 852/2004 v chove pôvodu. Tieto informácie musia byť poskytnuté prevádzkovateľom bitúnkov najneskôr do 24 hodín pred príchodom zvierat na bitúnok, okrem okolností uvedených v nariadení (ES) č. 853/2004. Požiadavky na prehliadku *ante mortem* na bitúnku a prehliadku *post mortem* ustanovuje Vykonávacie nariadenie Komisie (EÚ) 2019/627, ktorým sa stanovujú jednotné praktické opatrenia na vykonávanie úradných kontrol produktov živočíšneho pôvodu určených na ľudskú spotrebu v súlade s nariadením Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/625 a ktorým sa mení nariadenie Komisie (ES) 2074/2005. S výhradou výnimky stanovenej v oddiele IV kapitole II bode 4 prílohy III k nariadeniu (ES) č. 853/2004 sa jatočné telá a k nim patriace vedľajšie jatočné produkty podrobia prehliadke *post mortem* bezodkladne po zabití a ustanovené sú praktické opatrenia týkajúce sa prehliadky *post mortem* v prípade hydiny.

Zdravotná značka vymedzená v článku 3 bode 51 nariadenia (EÚ) 2017/625 potvrdzuje, že mäso je vhodné na ľudskú spotrebu. Prevádzkovatelia potravinárskych podnikov nesmú uviesť na trh produkt živočíšneho pôvodu, s ktorým sa nakladalo v prevádzkarni, ktorá podlieha schváleniu podľa článku 4 ods. 2 nariadenia (ES) č. 853/2004 ak tento nemá buď zdravotnú značku alebo identifikačnú značku použitú v súlade s prílohou II oddiel I tohto nariadenia, ak vyššie uvedené nariadenie neuvádza požiadavku na použitie zdravotnej značky. Prevádzkovatelia potravinárskych podnikov môžu použiť na produkt živočíšneho pôvodu identifikačnú značku len vtedy ak bol produkt vyrobený v súlade s nariadením (ES) č. 853/2004

v prevádzkarni, ktorá spĺňa požiadavky tohto nariadenia. Úradný veterinárny lekár vykonáva dohľad nad označovaním zdravotnými značkami a nad používanými značkami.

Nariadenie (ES) č. 178/2002 ustanovuje vysokú úroveň ochrany verejného zdravia ako jeden z hlavných cieľov potravinového práva. Potraviny sa nesmú uviesť na trh ak nie sú bezpečné. Mikrobiologické ohrozenia v potravinách (surové a nedostatočne tepelne opracované produkty z hydinového mäsa) sú hlavným zdrojom ochorení z potravín u ľudí a predstavujú vysoké riziko pre verejné zdravie.

Campylobacter spp. a Salmonella spp. sa identifikujú ako hlavné nebezpečenstvá pre zdravie ľudí, na ktoré sa vzťahuje prehliadka mäsa hydiny. Príslušné orgány vykonávajú úradné kontroly a overujú, či prevádzkovatelia potravinárskych podnikov správne vykonávajú ustanovenia nariadenia (ES) č. 2073/2005 pokiaľ ide o mikrobiologické kritériá pre potraviny zamerané na prítomnosť baktérií rodu *Salmonella* a baktérií rodu *Campylobacter*.

Skladovanie, preprava a umiestňovanie na trh

Prevádzkovateľ potravinárskeho podniku v záujme podpory a ochrany zdravia ľudí a ochrany spotrebiteľa na trhu potravín, ktorý skladuje, prepravuje a umiestňuje potraviny na trh je podľa Zákona NR SR č. 152/1995 Z. z. o potravinách a Nariadenia (ES) č. 853/2004 o hygiene potravín povinný zabezpečiť vykonávanie uvedených činností v takých priestoroch a za takých podmienok, aby sa zachovala zdravotná neškodnosť, kvalita a biologická hodnota potravín a uchovávať rýchlo sa kaziace potraviny trvale schladené a zmrazené potraviny uchovávať trvale zmrazené (chladená hydina – max. + 4 °C, zmrazená hydina – max. – 12 °C, hlbokozmrazená hydina – max. - 18 °C).

Pri preprave potravín sa musí zabezpečiť preprava v spôsobilých a vhodne vybavených dopravných prostriedkoch takým spôsobom, aby sa zachovala ich bezpečnosť a kvalita a prepravovať ich za takých podmienok, aby sa v priebehu prepravy nezvýšila alebo neznížila ich teplota, ktorá by mohla negatívne ovplyvniť bezpečnosť a kvalitu potravín. Overenie toho, či prepravný prostriedok spĺňa stanovené požiadavky vykonáva akreditované laboratórium (TSU – Technický skúšobný ústav Piešťany) skúšaním jeho izolačných vlastností a jeho chladiaceho výkonu podľa vyhlášky č. 61/1983 Zb. Skutočnosť, že dopravný prostriedok spĺňa požiadavky sa osvedčuje protokolom o skúške (CERTIFIKÁT ATP) a na štítku, ktorý musí byť trvalo upevnený na prepravnom prostriedku na dobre viditeľnom mieste.

Ten, kto vyrába potraviny, manipuluje s nimi alebo ich umiestňuje na trh, je povinný ich označiť v kodifikovanej podobe štátneho jazyka údajmi podľa nariadenia (EÚ) č. 1169/2011. Za informácie o potravine je zodpovedný ten prevádzkovateľ potravinárskeho

podniku, pod ktorého menom alebo obchodným menom sa potravina umiestňuje na trh, alebo ak tento prevádzkovateľ nie je usadený v Únii, dovozca na trh Únie. Potraviny, ktoré z mikrobiologického hľadiska rýchlo podliehajú skaze a z tohto dôvodu môžu po krátkom čase predstavovať bezprostredné nebezpečenstvo pre zdravie ľudí sa označujú dátumom spotreby. Po uplynutí dátumu spotreby sa potravina považuje za nebezpečnú v súlade s článkom 14 ods. 2 až 5 nariadenia (ES) č. 178/2002. Pre mäso z hydiny (čerstvé, chladené alebo mrazené) je povinné uvedenie krajiny pôvodu alebo miesta pôvodu.

Priamy predaj a dodávanie malého množstva mäsa z hydiny konečnému spotrebiteľovi a iným maloobchodným prevádzkarniam

Prvovýrobca, ktorý na farme alebo v chove vyprodukuje ročne menej ako 10 000 kusov hydiny na ľudskú spotrebu a je osobitne zaregistrovaný na regionálnej veterinárnej a potravinovej správe môže v súlade Nariadením vlády SR č. 360/2011 Z. z. mäso z hydiny predávať vo vlastných priestoroch alebo na miestnom trhovom mieste priamo konečným spotrebiteľom alebo dodávať miestnej maloobchodnej prevádzkarni, ktorá priamo zásobuje konečného spotrebiteľa. Prvovýrobca nesmie na stupni prvovýroby vykonávať operácie, ktoré podstatne menia anatomickú celistvosť alebo povahu mäsa z hydiny, uchováva a prepravuje mäso z hydiny pri vhodnej teplote, a najmä je povinný zabezpečiť, aby bolo počas uchovávania, prepravy a manipulácie chránené pred kontamináciou, kazením sa, rozkladom, znečistením, slnečným žiarením alebo inými zdrojmi tepla, odpadovou vodou alebo inými škodlivými látkami alebo vplyvmi, ktoré nepriaznivo ovplyvňujú jeho hygienu a bezpečnosť.

V záujme vysledovateľnosti mäsa z hydiny na etikete alebo visačke upevnenej ku každému telu alebo vnútornostiam musia byť uvedené ľahko čitateľné údaje o pôvode mäsa a dobre viditeľné a čitateľné upozornenie pre kupujúcich: „Hydinové mäso nie je veterinárne prehliadnuté. Je určené na spotrebu v domácnosti konečného spotrebiteľa po tepelnej úprave.“

Úradná kontrola

Na úrovni Európskej únie sú ustanovené harmonizované pravidlá s cieľom zabezpečiť, aby potraviny boli bezpečné a bezchybné. Nariadenie (EÚ) 2017/625 stanovuje pravidlá vykonávania úradných kontrol a iných úradných činností príslušnými orgánmi členských štátov.

Orgány štátnej veterinárnej a potravinovej správy uvedené v § 21 ods. 1 písm. c) a d) zákona č. 152/1995 Z. z. vykonávajú úradnú kontrolu výroby, manipulovania a umiestňovania na trh potravín živočíšneho pôvodu.

ZÁVER

Hydina má najlepšiu schopnosť konverzie živín na mäso, preto chov brojlerových kurčiat patrí medzi najintenzívnejšie sa vyvíjajúce odvetvia živočíšnej výroby. Už v chove musia byť zabezpečené a dodržiavané minimálne pravidlá ochrany kurčiat chovaných na produkciu mäsa. Potravinové právo ustanovuje požiadavky na zdravotnú bezpečnosť hydinového mäsa, ktoré musia dodržiavať prevádzkovateľov potravinárskych podnikov pri produkcii a umiestňovaní hydinového mäsa z farmy na stôl.

Úradné kontroly vykonávané príslušnými orgánmi členských štátov majú za cieľ overiť dodržiavanie právnych predpisov Únie v oblasti bezpečnosti potravín na všetkých stupňoch výroby, spracovania a distribúcie.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená projektom KEGA č. 013UVLF-4/2020.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. https://avec-poultry.eu/wp-content/uploads/2021/09/6226-AVEC-annual-report-2021_64.pdf
2. Delegované nariadenie Komisie (EÚ) 2019/624 z 8. februára 2019 o špecifických pravidlách týkajúcich sa vykonávania úradných kontrol výroby mäsa, ako aj produkčných oblastí a oblastí sádkovania živých lastúrnikov v súlade s nariadením Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/625 (Ú. v. ES L 131 17.5.2019, s. 1)
3. Delegované nariadenie Komisie (EÚ) 2020/688 zo 17. decembra 2019, ktorým sa dopĺňa nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2016/429, pokiaľ ide o požiadavky na zdravie zvierat pri premiestňovaní suchozemských zvierat a násadových vajec v rámci Únie (Ú. v. ES L 174 3.6.2020, s. 140).
4. Nariadenie (ES) č. 178/2002 Európskeho parlamentu a Rady z 28. januára 2002, ktorým sa ustanovujú všeobecné zásady a požiadavky potravinového práva, zriaďuje Európsky úrad pre bezpečnosť potravín a stanovujú postupy v záležitostiach bezpečnosti potravín (Ú. v. ES L 031 1.2.2002, s. 1).
5. Nariadenie č. 2160/2003/ES Európskeho parlamentu a Rady zo 17. novembra 2003 o kontrole salmonely a ostatných špecifikovaných zoonotických pôvodcov pochádzajúcich z potravín (Ú. v. ES L 325 12.12.2003, s. 1).
6. Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 852/2004 z 29. apríla 2004 o hygiene potravín (Ú. v. ES L 139 30.4.2004, s. 1).

7. Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 z 29. apríla 2004, ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu (Ú. v. ES L 139 30.4.2004, s. 55).
8. Nariadenie Rady (ES) č. 1/2005 z 22. decembra 2004 o ochrane zvierat počas prepravy a s ňou súvisiacich činností a o zmene a doplnení smerníc 64/432/EHS a 93/119/ES a nariadenia (ES) č. 1255/97 (Ú. v. ES L 003 5.1.2005, s. 1).30.4.2004, s. 55).
9. Nariadenie Komisie (ES) č. 543/2008 zo 16. júna 2008, ktorým sa zavádzajú podrobné pravidlá uplatňovania nariadenia Rady (ES) č. 1234/2007 o obchodných normách pre hydinové mäso (Ú. v. ES L 157 17.6.2008, s. 46).
10. 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. ES L 304 22.11.2011, s. 18).
11. Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2016/429 z 9. marca 2016 o prenosných chorobách zvierat a zmene a zrušení určitých aktov v oblasti zdravia zvierat („právna úprava v oblasti zdravia zvierat“). (Ú. v. ES L 084 31.3.2016, s. 1).
12. Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/625 z 15. marca 2017 o úradných kontrolách a iných úradných činnostiach vykonávaných na zabezpečenie uplatňovania potravinového a krmivového práva a pravidiel pre zdravie zvierat a dobré životné podmienky zvierat, pre zdravie rastlín a pre prípravky na ochranu rastlín, o zmene nariadení Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 999/2001, (ES) č. 396/2005, (ES) č. 1069/2009, (ES) č. 1107/2009, (EÚ) č. 1151/2012, (EÚ) č. 652/2014, (EÚ) 2016/429 a (EÚ) 2016/2031, nariadení Rady (ES) č. 1/2005 a (ES) č. 1099/2009 a smerníc Rady 98/58/ES, 1999/74/ES, 2007/43/ES, 2008/119/ES a 2008/120/ES a o zrušení nariadení Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 854/2004 a (ES) č. 882/2004, smerníc Rady 89/608/EHS, 89/662/EHS, 90/425/EHS, 91/496/EHS, 96/23/ES, 96/93/ES a 97/78/ES a rozhodnutia Rady 92/438/EHS (nariadenie o úradných kontrolách) (Ú. v. ES L 095 7.4.2017, s. 1).
13. Nariadenie vlády SR č. 360/2011 Z. z. z 19. októbra 2011, 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. Dostupné z https://www.slov-lex.sk/static/pdf/2011/360/ZZ_2011_360_20160301.

14. https://www.teraz.sk/ekonomika/slovak-zje-za-rok-70-kg-masa-jeho-spo/549390-clanok.html
15. Smernica Rady 2007/43/ES z 28. júna 2007, ktorou sa stanovujú minimálne pravidlá ochrany kurčiat chovaných na produkciu mäsa (Ú. v. EÚ L 182, 12. 7. 2007, s. 19).
16. Vyhláška ministra zahraničných vecí č. 61/1983 Zb. z 8. októbra 1982 o Dohode o medzinárodných prepravách skaziteľných potravín a o špecializovaných prostriedkoch určených na tieto prepravy (ATP). Dostupné z https://www.slov-lex.sk/pravne-predpisy/SK/ZZ/1983/61/19830609.
17. Vykonávacie nariadenie Komisie (EÚ) 2019/627 z 15. marca 2019, ktorým sa stanovujú jednotné praktické opatrenia na vykonávanie úradných kontrol produktov živočíšneho pôvodu určených na ľudskú spotrebu v súlade s nariadením Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/625 a ktorým sa mení nariadenie Komisie (ES) č. 2074/2005, pokiaľ ide o úradné kontroly (Ú. v. ES L 131 17.5.2019, s. 51).

Kontaktná adresa: Nagyová Alena, Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; E-mail: alena.nagyova@uvlf.sk

VLIV MÍRY PORUŠENÍ TEPLOTY PŘI TRANSPORTU NA MIKROBIOLOGICKOU KVALITU VZORKŮ LOSOSA OBECNÉHO

INFLUENCE OF TEMPERATURE CHANGES DURING TRANSPORT ON MICROBIOLOGICAL QUALITY OF SALMON SAMPLES

[1]Necidová Lenka, [1]Bursová Šárka, [2]Haruštiaková Danka, [1]Skočková Alena, [1]Bartáková Klára, [3]Klimešová Marcela

[1]Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno, Česká republika

[2]Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita Brno, Česká republika

[3]Výzkumný ústav mlékárenský Praha, Česká republika

ABSTRACT

The aim of the study was to assess the effect of inadequate transport on the result of microbiological analyzes of salmon fillets. During transport, fresh fishery products must be maintained at a temperature approaching that of melting ice (Regulation (EC) No 853/2004). Salmon fillets (*Salmo salar*) packed in air and vacuum packed were analyzed. The model experiments simulated an increase of temperature during the transport to 3, 5, 8, 11, 14, 17, 20 and 25 °C. The exposure time was 1, 2, 3, 3:30, and 4 h. The aerobic plate count (APC) in the samples were determined immediately after exposure to elevated temperature (0 h), 3 h and 24 h after returning to the adequate temperature. Temperature, examination time after failure, and the interaction of all three factors had a statistically significant effect on APC for air packing; the length of the cold chain failure as a separate factor did not have a significant effect. The APC of the vacuum packing was significantly affected by temperature, the length of the cold chain failure, and the interaction of all three factors; the time of the examination after the cold chain failure did not show a significant effect on its own.

Key words: fresh fish, packaging, transport, aerobic plate count

ÚVOD

Při trasportu úředně odebraných vzorků potravin do laboratoře je nezbytné, aby mikrobiologický profil vzorku při přijetí v laboratoři co nejpřesněji odrážel aktuální stav v době jeho odběru. V případě chlazených potravin je velmi důležité dodržet odpovídající teplotní řetězec. Při zvýšení teploty potravin může dojít k nárůstu kontaminující mikroflóry.

Modelové studie jsou zaměřeny na čerstvé ryby (filety lososa) v prostém a ve vakuovém balení a simulují porušení chladírenského řetězce při odběru a transportu vzorků. Legislativní požadavky na teplotu skladování čerstvých produktů rybolovu uvádí nařízení (ES) č. 853/2004 kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu ve znění pozdějších předpisů. Při přepravě musí být čerstvé produkty rybolovu udržovány při teplotě blízké teplotě tajícího ledu (Oddíl VIII, Kapitola VIII).

Cílem studie bylo posoudit vliv neadekvátního transportu na výsledek mikrobiologických analýz čerstvých produktů rybolovu. Výsledky studie slouží k nastavení maximální délky přerušení teplotního řetězce, která nebude mít negativní dopad na výsledný mikrobiologický profil chlazených ryb. Tyto výsledky umožňují definovat adekvátní postup při odběru a transportu vzorků chlazených ryb, především s ohledem na minimalizaci případného znehodnocení vzorku či zpochybnění výsledků analýz. Statistické hodnocení výsledků dále posuzuje, jakým způsobem se na počtu mikroorganismů projeví doba zahájení vyšetření vzorku, která uplyne od skončení působení teploty porušení.

MATERIÁL A METODIKA

Jako materiál byly zakoupeny čerstvé filety lososa obecného (*Salmo salar*) s kůží dopravené do laboratoře v tajícím ledu. Ihned po nákupu byly filety naporcovány na cca 170 g porce, z nichž polovina byla po jedné porci zabalena do prostého balení v podobě plastové misky z polypropylenu překryté průtažnou polyetylenovou folií. Druhá polovina naporcovaných filetů byla po jedné porci zabalena vakuově v sáčku z kombinované folie polyamid/polyetylen s využitím vakuové baličky TekVac 411 (Distform, Španělsko).

Před zahájením pokusu byly připravené vzorky vychlazeny na teplotu 0–1 °C. Modelové pokusy simulovaly zvýšení teploty při transportu vzorků na 3, 5, 8, 11, 14, 17, 20 a 25 °C. Doba expozice teplot byla 1, 2, 3, 3:30 a 4 h. Analýzy byly provedeny ihned po expozici zvýšené teplotě (0 h), za 3 h a za 24 h po návratu do adekvátní teploty. V rámci jedné šarže byly prováděny 3 paralelní stanovení. Jako kontrolní vzorky byly u prostého balení použity filety skladované při teplotě tajícího ledu (0–1 °C), v případě vakuového balení při 3 °C (teploty doporučené výrobci a požadované legislativou).

U analytických vzorků byly sledovány celkové počy mikroorganismů (CPM) plotnovou metodou dle ČSN EN ISO 4833-1 Mikrobiologie potravinového řetězce - Horizontální metoda pro stanovení počtu mikroorganismů - Část 1: Technika přelivem a počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C (2013) s využitím agaru s glukózou, tryptonem a kvasničním extraktem (HiMedia, India).

Původní hodnoty počtu KTJ/g byly logaritmicky transformovány s použitím dekadického logaritmu a vyjádřeny pomocí průměru a střední chyby průměru. K vyhodnocení vlivu teploty, délky narušení chladicího řetězce a doby vyšetření vzorku na celkový počet mikroorganismů byl použit obecný lineární model (GLM) – faktorová ANOVA s interakcí všech tří faktorů následovaná Tuckeyho post hoc testem a to samostatně pro vzorky lososa balené v prostém balení a pro vzorky balené ve vakuovém balení. Všechny testy byly vyhodnoceny na hladině významnosti 0,05. Ke zpracování dat byl využit software Statistica, verze 13.5.

VÝSLEDKY A DISKUSE

U chlazeného lososa baleného v prostém balení se CPM pohyboval od 2,87 ± 0,45 do 4,83 ± 0,11 log KTJ/g, nad hodnotou 4 log KTJ/g to bylo ve více než 30 případech (Tabulka č. 1). Statisticky významný vliv na CPM měla teplota ($F(7,270) = 37,988$, $P < 0,001$), doba vyšetření po porušení ($F(2,270) = 4,198$, $P = 0,016$) a interakce všech tří faktorů ($F(77,270) = 2,901$, $P < 0,001$); délka porušení jako samostatný faktor významný vliv nevykazoval ($F(5,270) = 1,863$, $P = 0,101$).

U chlazeného lososa baleného ve vakuovém balení se CPM pohyboval od 2,62 ± 0,16 do 4,78 ± 1,55 log KTJ/g (Tabulka č. 2). Nad hodnotou 4 log KTJ/g to bylo pouze ve 4 případech. CPM byl významně ovlivněn teplotou ($F(7,254) = 7,166$, $P < 0,001$), délkou porušení chladicího řetězce ($F(5,254) = 2,618$, $P = 0,025$) a interakcí všech tří faktorů ($F(70,254) = 1,748$, $P = 0,001$); doba vyšetření po porušení samostatně významný vliv nevykazovala ($F(2,254) = 1,644$, $P = 0,195$).

Vakuové balení produktů rybolovu se z hygienického hlediska jeví jako vhodnější. U lososa baleného v prostém balení byl při narušení chladicího řetězce vyšší teplotou (20, 25 °C) CPM významně vyšší.

Rybí maso velmi rychle podléhá zkáze díky vysoké aktivitě vody, neutrálnímu pH a přítomnosti autolytických enzymů. Rychlost procesů kažení je vysoce závislá na teplotě a lze ji potlačit použitím nízké skladovací teploty (požadavek legislativy na skladování ryb při teplotě tajícího ledu). Svalová tkáň ryb podléhá rychlejšímu zkažení než svalovina savců. Vysoký obsah vody a volných aminokyselin a nižší obsah pojivové tkáně ve srovnání s jinými druhy masa vedou k rychlejšímu kažení ryb (Pereira de Abreu et al., 2010). Kažení čerstvých ryb během skladování je způsobeno hlavně enzymatickými reakcemi (mikrobiální a autolytická degradace) s negativním dopadem na senzorické vlastnosti ryb. Senzorické vlastnosti jsou dále ovlivňovány oxidací lipidů a následným vznikem těkavých sloučenin (Merlo et al., 2019).

Tabulka č. 1, **Celkový počet mikroorganismů** (log KTJ/g) v závislosti na délce porušení, teplotě porušení a době vyšetření vzorků lososa v **prostém balení** (průměr ± střední chyba průměru, N = 3). Výchozí počet mikroorganismů je 3,75 ± 0,13 log KTJ/g (pro 0, 3 a 5 °C), 4,57 ± 0,26 log KTJ/g (pro 8 a 20 °C), 3,67 ± 0,17 log KTJ/g (pro 11 a 25 °C) a 3,73 ± 0,33 log KTJ/g (pro 14 a 17 °C).

	Délka porušení					
	1 hod	1,5 hod	2 hod	3 hod	3,5 hod	4 hod
Teplota						
Vyšetření ihned po porušení						
0 °C		3,81 ± 0,12		3,00 ± 0,15		
3 °C		3,84 ± 0,06		3,78 ± 0,10		
5 °C	3,98 ± 0,11		3,60 ± 0,11	3,69 ± 0,08	3,05 ± 0,12	3,74 ± 0,10
8 °C	3,80 ± 0,16		3,90 ± 0,09	3,75 ± 0,26	4,11 ± 0,08	3,87 ± 0,17
11 °C	3,52 ± 0,18		4,49 ± 0,18	3,82 ± 0,25	3,61 ± 0,11	3,00 ± 0,17
14 °C	3,50 ± 0,15		3,40 ± 0,11	3,56 ± 0,15	3,74 ± 0,06	3,58 ± 0,10
17 °C	3,30 ± 0,09		3,29 ± 0,08	3,43 ± 0,01	3,63 ± 0,04	3,54 ± 0,08
20 °C	3,97 ± 0,07		4,35 ± 0,05	4,06 ± 0,13	4,72 ± 0,06	4,09 ± 0,16
25 °C	3,90 ± 0,04		3,95 ± 0,05	4,41 ± 0,12	3,76 ± 0,04	3,78 ± 0,07
Vyšetření 3 h po porušení						
0 °C		3,62 ± 0,14		3,27 ± 0,06		3,63 ± 0,13
3 °C		3,62 ± 0,11		4,11 ± 0,03		3,06 ± 0,22
5 °C	4,04 ± 0,13		3,71 ± 0,14	3,77 ± 0,01	3,37 ± 0,06	3,04 ± 0,11
8 °C	4,10 ± 0,15		3,82 ± 0,17	3,97 ± 0,23	4,19 ± 0,12	4,81 ± 0,04
11 °C	4,05 ± 0,23		3,59 ± 0,36	3,48 ± 0,25	4,02 ± 0,10	4,02 ± 0,39
14 °C	3,58 ± 0,08		3,38 ± 0,11	3,40 ± 0,09	3,40 ± 0,07	3,05 ± 0,27
17 °C	3,31 ± 0,12		3,56 ± 0,05	3,60 ± 0,04	3,56 ± 0,02	3,58 ± 0,04
20 °C	3,99 ± 0,20		4,09 ± 0,30	4,66 ± 0,02	4,34 ± 0,14	4,31 ± 0,06
25 °C	3,99 ± 0,03		3,82 ± 0,11	4,43 ± 0,20	4,00 ± 0,06	4,26 ± 0,11
Vyšetření 24 h po porušení						
0 °C	3,63 ± 0,27		3,63 ± 0,06			3,46 ± 0,10
3 °C	4,02 ± 0,13		3,74 ± 0,10			4,10 ± 0,13
5 °C	3,49 ± 0,01		3,63 ± 0,04	3,91 ± 0,06	3,79 ± 0,06	4,07 ± 0,06
8 °C	3,87 ± 0,29		3,70 ± 0,11	4,77 ± 0,12	4,03 ± 0,15	3,88 ± 0,09
11 °C	3,29 ± 0,06		4,02 ± 0,08	3,06 ± 0,23	3,25 ± 0,07	3,74 ± 0,23
14 °C	3,45 ± 0,05		3,53 ± 0,08	3,43 ± 0,15	3,57 ± 0,07	3,70 ± 0,11
17 °C	3,42 ± 0,15		2,87 ± 0,45	3,77 ± 0,06	3,67 ± 0,05	4,09 ± 0,07
20 °C	4,42 ± 0,16		3,96 ± 0,48	4,11 ± 0,10	4,83 ± 0,11	4,30 ± 0,09
25 °C	4,09 ± 0,12		4,06 ± 0,11	4,53 ± 0,13	3,26 ± 0,18	3,69 ± 0,34

Tabulka č. 2, **Celkový počet mikroorganismů** (log KTJ/g) v závislosti na délce porušení, teplotě porušení a době vyšetření vzorků lososa ve **vakuovém balení** (průměr ± střední chyba průměru, N = 3). Výchozí počet mikroorganismů je 3,14 ± 0,21 log KTJ/g (pro 3 a 5 °C), 3,57 ± 0,09 log KTJ/g (pro 8 a 20 °C), 3,47 ± 0,13 log KTJ/g (pro 11 a 25 °C) a 3,21 ± 0,10 log KTJ/g (pro 14 a 17 °C).

	Délka porušení					
	1 hod	1,5 hod	2 hod	3 hod	3,5 hod	4 hod
Teplota						
Vyšetření ihned po porušení						
3 °C		3,27 ± 0,06		3,58 ± 0,06		
5 °C	3,13 ± 0,11		3,09 ± 0,07	3,41 ± 0,11	3,32 ± 0,09	3,53 ± 0,09
8 °C	4,78 ± 1,55		3,38 ± 0,12	3,51 ± 0,16	3,82 ± 0,04	3,34 ± 0,02
11 °C	3,42 ± 0,57		3,35 ± 0,03	3,16 ± 0,03	3,74 ± 0,09	3,80 ± 0,08
14 °C	3,13 ± 0,37		2,78 ± 0,21	3,24 ± 0,45	3,16 ± 0,03	3,83 ± 0,12
17 °C	3,02 ± 0,13		3,16 ± 0,08	3,06 ± 0,11	3,07 ± 0,16	2,86 ± 0,05
20 °C	3,60 ± 0,05		3,72 ± 0,07	3,63 ± 0,15	3,48 ± 0,07	3,45 ± 0,06
25 °C	3,53 ± 0,09		2,97 ± 0,14	2,85 ± 0,15	3,42 ± 0,30	3,69 ± 0,07
Vyšetření 3 h po porušení						
3 °C		3,30 ± 0,00		3,39 ± 0,05		3,24 ± 0,04
5 °C	3,37 ± 0,08		3,46 ± 0,05	3,48 ± 0,13	3,48 ± 0,07	3,52 ± 0,05
8 °C	3,51 ± 0,10		3,37 ± 0,11	3,38 ± 0,09	3,36 ± 0,14	3,70 ± 0,15
11 °C	3,59 ± 0,44		3,14 ± 0,03	3,21 ± 0,02	3,70 ± 0,09	3,01 ± 0,05
14 °C	2,84 ± 0,18		3,22 ± 0,08	3,19 ± 0,10	3,32 ± 0,09	3,43 ± 0,16
17 °C	3,32 ± 0,04		3,59 ± 0,04	3,73 ± 0,13	3,44 ± 0,14	3,39 ± 0,12
20 °C	3,38 ± 0,19		3,70 ± 0,18	3,65 ± 0,13	3,40 ± 0,03	4,01 ± 0,09
25 °C	3,30 ± 0,13		3,39 ± 0,18	3,53 ± 0,08	3,51 ± 0,10	2,93 ± 0,17
Vyšetření 24 h po porušení						
3 °C	3,07 ± 0,12		3,40 ± 0,17			2,98 ± 0,19
5 °C	3,06 ± 0,03		3,36 ± 0,03	3,41 ± 0,01	3,04 ± 0,14	3,33 ± 0,14
8 °C	3,60 ± 0,05		3,65 ± 0,20	3,81 ± 0,12	3,63 ± 0,07	3,58 ± 0,09
11 °C	3,16 ± 0,08		2,62 ± 0,14	3,47 ± 0,03	3,23 ± 0,17	3,89 ± 0,08
14 °C	2,62 ± 0,16		2,97 ± 0,13	3,48 ± 0,04	2,79 ± 0,06	4,40 ± 0,26
17 °C	3,19 ± 0,28		3,26 ± 0,09	4,24 ± 0,14	3,82 ± 0,16	3,78 ± 0,17
20 °C	3,99 ± 0,08		3,77 ± 0,02	3,90 ± 0,07	3,29 ± 0,06	3,75 ± 0,09
25 °C	3,73 ± 0,27		3,59 ± 0,11	3,35 ± 0,12	3,49 ± 0,25	3,26 ± 0,06

Skladovatelnost chlazených ryb je za aerobních podmínek obecně limitována růstem gramnegativních mikroorganismů, jako jsou *Pseudomonas*, *Shewanella putrefaciens* a *Aeromonas* (Masniyom, 2011).

Růst aerobních bakterií je významně snížen v případě skladování čerstvých ryb ochrannou atmosférou bez kyslíku (Macé et al., 2012). Pantazi a kol. (2008) zjistili, že čerstvý středomořský mečoun skladovaný ve vakuu měl celkovou dobu použitelnosti devět dní, tedy

delší oproti sedmi dnům v případě aerobního balení. Také Gimenez a kol. (2002) zjistili, že vakuově balený pstruh duhový měl v důsledku nepřítomnosti kyslíku nižší hodnoty malondialdehydu ve srovnání s hodnotami prostého balení.

ZÁVĚR

Statisticky významný vliv na CPM u prostého balení měla teplota, doba vyšetření po porušení a interakce všech tří faktorů; délka porušení jako samostatný faktor významný vliv nevykazovala. CPM u vakuového balení byl významně ovlivněn teplotou, délkou porušení chladicího řetězce a interakcí všech tří faktorů; doba vyšetření po porušení samostatně významný vliv nevykazovala.

PODĚKOVÁNÍ

Práce byla zpracována s podporou projektu NAZV QK21020245.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Gimenez, B. et al. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, ISSN 1097-0010, 2002, vol. 82, p. 1154-1159.
2. Macé, S. et al. Evaluation of the spoilage potential of bacteria isolated from spoiled raw salmon (*Salmo salar*) fillets stored under modified atmosphere packaging. In *International Journal of Food Microbiology*, ISSN 0168-1605, 2012, vol 160, p. 227-238.
3. Masniyom, P. Deterioration and shelf-life extension of fish and fishery products by modified atmosphere packaging. In *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. ISSN 0125-3395, 2011, vol. 33, no. 2, p. 181-192.
4. Merlo, T. C. et al. Incorporation of pink pepper residue extrakt into chitosan film combined with a modified atmosphere packaging: Effect on the shelf life of salmon fillets. In *Food Research International*, ISSN 0963-9969, 2019, vol. 125, article No. 108633, 10 p.
5. NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienické předpisy pro potraviny živočišného původu. *Úřední věstník Evropské unie,* 2004, L. 139, 30. 4. 2004, p. 14–74. (ve znění pozdějších předpisů)

6. Pantazi, D. et al. Shelf-life of chilled fresh Mediterranean swordfish (*Xiphias gladius*) stored under various packaging conditions: microbiological, biochemical and sensory attributes. In *Food microbiology*, ISSN 0740-0020, 2008, vol. 25, p. 136-143.
7. Pereira de Abreu, D. A. et al. Evaluation of the effectiveness of a new active packaging film containing natural antioxidants (from barley husks) that retard lipid damage in frozen Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). In *Food Research International*, ISSN 0963-9969, 2010, vol. 43, p. 1277-1282.

Kontaktná adresa: doc. MVDr. Necidová Lenka, Ph.D., Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika; E-mail: necidoval@vfu.cz

HODNOTY HYDROXYMETYLFURFURALU V MEDE

HYDROXYMETHYLFURFURAL LEVELS IN HONEY

Ondrašovičová Silvia[1], Hajduková Ingrid[2], Zigo František[3], Sopková Drahomíra[1]

[1]Department of Biology and Physiology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic

[2]Veterinary and Food Institute, Hlinkova 1/A, 043 65 Košice, Slovak Republic

[3]Department of Nutrition and Animal Husbandry, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 04181 Košice, Slovak Republic

ABSTRACT

Hydroxymethylfurfural (HMF) level is widely recognized as a parameter affecting honey freshness because it is typically absent or is present in only very small amounts in fresh honeys, while its level tends to rise during processing and/or because of aging. The study deals with determining the level of hydroxymethylfurfural in bee honey by means of spectrophotometric method. Thirteen samples of bee honey were analysed in 2017, nine samples in 2018 and four samples in 2019. In the 2020 and 2021, three samples were examined in each year. In 2017, the highest level of HMF was 4.04 $mg.kg^{-1}$, in 2018, it reached 4.0 $mg.kg^{-1}$ and in 2019, the maximum detected level was 4.65 $mg.kg^{-1}$. In 2020, the HMF level in honey reached 3.18 $mg.kg^{-1}$and in 2021 the highest detected level was 8.17 $mg.kg^{-1}$.

Keywords: bee honey; hydroxymethylfurfural; spectrophotometric method

INTRODUCTION

Hydroxymethylfurfural (HMF) is the breakdown of fructose, one of the main sugars in honey, in the presence of acid. It is formed slowly during storage and very quickly when heated, making it a great indicator of honey quality. HMF is easily formed at low temperatures in the presence of low-pH or acidic conditions, while high temperature and long storage duration increase its concentration to a large extent (Lee and Nagy, 1990).

There are spectrophotometric and HPLC methods available for HMF determination.

It has been reported that humans may ingest between 30 and 150 mg HMF daily via various food products; however, safe levels of HMF consumption are not well clarified. the reason is that HMF'S metabolism, biotransformation and excretion and thus clearance rate from the body depend on the organ function of an individual (Ulbricht et al., 1984), which have not

been considered. To remove already formed HMF, a post-process vacuum technology can be exploited. In this technology, depending on the physical and chemical properties of the compounds to be removed, the temperature, pressure and time can be adjusted. The effectiveness of this technology depends on food composition, moisture content and the nature of the compound to be removed (Anese et al., 2010; Quarta and Anese, 2012).

Because honey is liquid or semi-liquid, the process can effectively remove HMF from honey. The technology can be applied to any finished product without any modification of any of the process parameters (Anese et al., 2013).

The aim of the study was to determine the level of HMF in samples of bee honey originating from the commercial network in Košice Region.

MATERIALS AND METHODS

Ten grams of honey were dissolved in 20 ml water and transferred to a 50 volumetric flask. Two ml of the solution and 5.0 ml of p-toluidine solution were put in each of two test tubes; to one tube we added 1 ml of distilled water (reference solution); to the second, 1 ml of barbituric acid solution 0.5% (sample solution). The absorbance of the solutions was determined at 550 nm.

RESULTS AND DISCUSSION

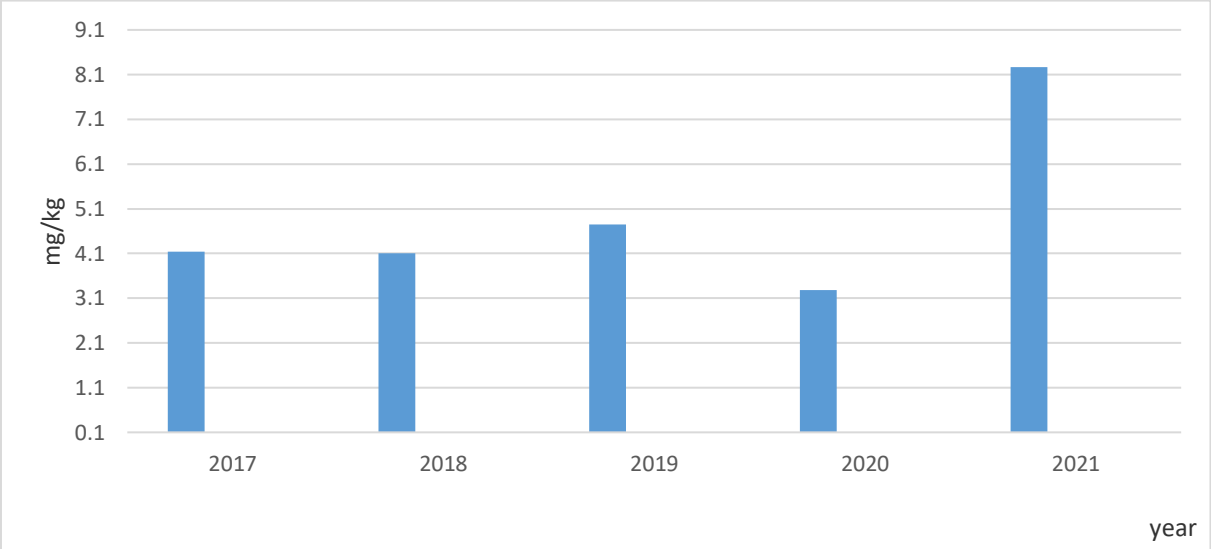
A total of 32 bee honey samples were collected from 2017 to 2021 in the commercial network in the Košice Region. In the 2020 and 2021, three samples were analysed in each year. Four samples of bee honey were examined in 2019, nine samples in 2018 and thirteen samples in 2017. All samples examined in both years were of domestic origin. The level of HMF in samples of bee honey was determined according to STN 570190. The highest level of HMF from 2017 to 2021 in the examined samples is shown in Figures 1. From 2017 to 2021, in the thirty-two examined samples of bee honey the HMF level did not exceed the upper limit of 40 $mg.kg^{-1}$. The highest level of HMF was 8.17 $mg.kg^{-1}$ in 2021.

HMF has been reported to have negative effects on human health, such as cytotoxicity toward mucous membranes, the skin and the upper respiratory tract; mutagenicity; chromosomal aberrations; and carcinogenicity toward humans and animals (Glatt et al., 2005; Lee et al., 1995; Monien et al., 2012). However, in more recent extensive studies, HMF has been proved to have a wide range of positive effects, such as antioxidative (Zhao et al., 2013), anti-allergic (Yamada et al., 2011), anti-inflammatory (Kitts et al., 2012), anti-hypoxic (Li et al., 2011) and anti-hyperuricemic effects (Lin et al., 2012).

CONCLUSION

No harmful effect was observed when the HMF dose was below 80 $mg.kg^{-1}$ body weight. However, attention should be paid to sensitive groups of population, especially children, for which the uptake of higher doses of HMF may represent a certain risk (Kalábová et al., 2004).

Figure 1. The highest level of hydroxymethylfurfural in bee honey samples from 2017 to 2021



ACKNOWLEDGEMENTS

The study was supported by the project KEGA 012UVLF-4/2020.

REFERENCES

1. Anese, M. et al. Industrially applicable strategies for mitigating acrylamide, furan, and 5-hydroxymethylfurfural in food. In *J Agric Food Chem*, 2013, vol. 61, no. 43, p. 10209-10214.
2. Anese, M. – Suman, M. – Nicoli, M.C. Acrylamide removal from heated foods. In *Food Chem*, 2010, vol. 119, no. 2, p. 791-794.
3. Glatt, H. – Schneider, H. – Liu, Y. V79-hCYP2E1-hSULT1A1, a cell line for the sensitive detection of genotoxic effects induced by carbohydrate pyrolysis products and other food-borne chemicals. In *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*, 2005, vol. 580, no. 1-2, p. 41-52.

4. Kalábová, K. – Vorlová, L. – Borkovcová, I. Dynamika tvorby hydroxymethylfurfuralu v medu. [online]. 2004 [cit. 2012–02−07]. http://www.toxi.szm.com/Rf2004/028_Kalabova.pdf
5. Kitts, D.D. – Chen, X-M. – Jing, H. Demonstration of antioxidant and anti-inflammatory bioactivities from sugar–amino acid Maillard reaction products. In *J Agric Food Chem*, 2012, vol. 60, no. 27, p. 6718-6727.
6. Lee, H.S. – Nagy, S. Relative reactivities of sugars in the formation of 5-hydroxymethylfurfural in sugar-catalyst model systems1. In *J Food Process Preserv*, 1990, vol. 14, no. 3, p. 171-178.
7. Lee, Y-C. et al. Bioactivation of 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde to an electrophilic and mutagenic allylic sulfuric acid ester. In *Biochem Biophys Res Commun*, 1995, vol. 209, no. 3, p. 996-1002.
8. Li, M.M. et al. The protective role of 5-HMF against hypoxic injury. In *Cell Stress Chaperones*, 2011, vol. 16, p. 267-273.
9. Lin, S-M. et al. Identification and mode of action of 5-hydroxymethyl-2-furfural (5-HMF) and 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline-3-carboxylic acid (MTCA) as potent xanthine oxidase inhibitors in vinegars. In *J Agric Food Chem*, 2012, vol. 60, no. 39, p. 9856-9862.
10. Monien, B.H. et al. Mutagenicity of 5-hydroxymethylfurfural in V79 cells expressing human SULT1A1: identification and mass spectrometric quantification of DNA adducts formed. In *Chem Res Toxicol*, 2012, vol. 25, no. 7, p. 1484-1492.
11. Quarta, B. – Anese, M. Furfurals removal from roasted coffee powder by vacuum treatment. In *Food Chem*, 2012, vol. 130, no. 3, p. 610-614.
12. Ulbricht, R.J. – Northup, S.J. – Thomas J.A. A review of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in parenteral solutions. In Toxicol Sci, 1984, vol. 4, no. 5, p. 843-853.
13. Yamada, P. et al. Isolation of 5-(hydroxymethyl) furfural from lycium chinense and its inhibitory effect on the chemical mediator release by basophilic cells. In *Planta Med*, 2011, vol. 77, no. 5, p. 434-440.
14. Zhao, L. et al. In vitro antioxidant and antiproliferative activities of 5-hydroxymethylfurfural. In *J Agric Food Chem*, 2013, vol. 61, no. 44, p. 10604-10611.

Contact address: Ondrašovičová Silvia, Department of Biology and Physiology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: silvia.ondrasovicova@uvlf.sk

VÝSKYT VÍRUSU HEPATITÍDY E V POPULÁCII VOĽNE ŽIJÚCEJ ZVERI NA SLOVENSKU

OCCURRENCE OF HEPATITIS E VIRUS IN THE POPULATION OF WILD ANIMALS IN SLOVAKIA

Pavlová Alica[1], Dudášová Katarína[1], Molnár Ladislav[2], Kottferová Lucia[2], Ciberej Juraj[3], Vilček Štefan[1], Jacková Anna[1]

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

[2]Klinika vtákov, exotických a voľne žijúcich zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

[3]Katedra chovu a chorôb zveri, rýb a včiel, ekológie a kynológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

Hepatitis E is recognized worldwide as an emerging zoonosis caused by hepatitis E virus (HEV). Pigs and wild boars are considered as the main reservoirs of the zoonotic HEV-3 genotype and HEV-3 genome have also been detected in many other wild animal species. The aim of this study was to detect the occurrence of HEV in the population of wild animals in Slovakia. Using real-time RT-PCR a total of 259 liver and muscle tissue samples from wild boars and 99 liver and muscle tissue samples from 4 other wild animal species (Red deer, Roe deer, European mouflon and Fallow deer) from 31 hunting areas were analysed. HEV RNA was detected in 14,96 % of the liver and in 16 % of the muscle samples from Slovak wild boars and in none of the other wild animal species sample.

Key words: hepatitis E virus, wild animals, zoonosis

ÚVOD

Vírus hepatitídy E je primárne hepatotropný vírus, ktorý u ľudí spôsobuje vírusovú hepatitídu E (VHE). Vírus bol prvýkrát detegovaný vo vzorke stolice pomocou elektrónovej mikroskopie v roku 1983 ako sférická 27-30 nm veľká vírusová častica (Balayan a kol., 1983). Je to malý neobalený vírus, s pozitívne orientovanou jednovláknovou RNA, s dĺžkou približne 7,2 kb (Forgách et al., 2010).

Taxonomicky je zaradený do čeľade *Hepeviridae*, rodu *Orthohepevirus*, kde patria 4 druhy *Orthohepevirus* A-D. *Orthohepevirus* A doteraz tvorí osem genotypov, z ktorých päť infikuje ľudí (HEV-1, -2, -3, -4, -7), ošípané (HEV-3, -4), zajace (HEV-3), diviaky (HEV-3, -4, -5,-6), jelene (HEV-3) a ťavy (HEV-7, -8) (Lanini a kol., 2018). Genotypy HEV-1 a HEV-2 sú spájané výhradne s infekciou ľudí, zvyšné sa vyznačujú zoonotickým potenciálom.

Vírusová hepatitída E je infekčné ochorenie pečene, ktoré sa šíri fekálno-orálnou cestou, kontaminovanou vodou, potravinami, mäsom, mäsovými výrobkami a transfúziou (Meng, 2013). Priebeh ochorenia je veľmi variabilný a závisí od imunitnej odpovede hostiteľa, ale aj od genotypu vírusu. U imunokompetentných ľudí zostáva väčšina prípadov asymptomatická, u rizikových skupín (tehotné ženy, novorodenci, imunokompromitovaní ľudia) ide zvyčajne o akútne, samolimitujúce ochorenie, môže sa ale vyskytnúť aj chronická forma ochorenia. Väčšina prípadov v Európe je spôsobená zoonotickým genotypov HEV-3 (Lanini a kol., 2019).

Ošípané a diviaky sú hlavnými rezervoármi zoonotických genotypov HEV-3 a HEV-4 (Pavio a kol., 2010). HEV spôsobuje u ošípaných len subklinickú formu ochorenia, avšak mikroskopické lézie v pečeni sa objavujú u prirodzene aj experimentálne infikovaných zvierat (Halbur a kol., 2001). Aj keď sa vírus hepatitídy E replikuje v najväčšej miere v pečeni, RNA HEV možno detegovať aj v slezine, v tenkom a hrubom čreve, pľúcach a svaloch (Bouwknegt a kol., 2009).

MATERIÁL A METODIKA

Celkovo sme analyzovali 234 vzoriek pečene a 25 vzoriek svaloviny od diviakov (*Sus scrofa*) zo Slovenska. Z celkového počtu 259 vzoriek pochádzalo 15 vzoriek pečene a svaloviny od rovnakého zvieraťa. Analyzovali sme taktiež 60 vzoriek svaloviny a 39 vzoriek pečene od štyroch rôznych druhov divožijúcich zvierat – jeleňa lesného (*Cervus elaphus*), srnca lesného (*Capreolus capreolus*), muflóna lesného (*Ovis aries musimon*) a daniela škvrnitého (*Dama dama*) (Tabuľka č.1). Z celkového počtu 99 vzoriek bolo 34 vzoriek odobratých od rovnakého zvieraťa. Odber vzoriek bol realizovaný od roku 2014 do 2020. Vzorky odoberali poľovníci počas poľovníckych sezón z 31 poľovných revírov nachádzajúcich sa prevažne na východnom a strednom Slovensku. Vek (metóda chrupu; diviačatá: <1 rok, lanštiaky: 1-2 roky, dospelé: >2 roky) ako aj zdravotný stav jedincov posudzovali poľovníci priamo na mieste počas lovu alebo bezprostredne po ňom. Odobraté vzorky boli do laboratória doručené v čerstvom stave. Po príchode do laboratória boli vzorky buď okamžite spracované, alebo uskladnené pri -80 °C až do analýzy.

Celková RNA zo vzoriek bola izolovaná RNeasy Fibrous Tissue Mini Kit (Qiagen) za použitia QIAcube automatického robotického prístoja (Qiagen) podľa manuálu výrobcu. RNA bola rozpustená v 30 µl RNAse free vode (Qiagen) a buď bola hneď použitá na analýzu, alebo uchovaná pri -80 °C kým nedošlo k analýze.

Všetky vzorky boli vyšetrené na prítomnosť HEV pomocou real-time RT-PCR podľa Jothikumar et al. (2006). Real-time RT-PCR sa uskutočnilo s použitím iTaq Universal Probes One-Step Kit (Bio-Rad). Reakčná zmes (20 µl) sa skladala z izolovanej RNA, iTaq Universal Probes Reaction Mix, reverznej transkriptázy iScript, špecifických primerov a próby podľa Jothikumar et al. (2006). RT-PCR sa uskutočnila s použitím systému Bio-Rad CFX96 (Bio-Rad).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

HEV RNA bola detegovaná v 35 (14,96 %) z celkového počtu 234 vzoriek tkaniva pečene a v 4 (16 %) z 25 vzoriek svaloviny diviakov (Tabuľka č. 1). Prítomnosť HEV RNA bola zistená v 12 z 31 poľovných revírov v rámci Slovenska.

Tabuľka č. 1, Detekcia HEV RNA v pečeni a svalovine u rôznych druhov voľne žijúcej zveri na Slovensku

Druh zvieraťa	Počet testovaných vzoriek (pečeň)	HEV RNA pozit./negat. (pečeň)	Počet testovaných vzoriek (svalovina)	HEV RNA pozit./negat. (svalovina)
Diviak lesný	234	35/199	25	4/21
Jeleň lesný	31	0/31	47	0/47
Srnec lesný	5	0/5	6	0/6
Muflón lesný	2	0/2	6	0/6
Daniel škvrnitý	1	0/1	1	0/1
SPOLU	273	35/238	85	4/81

HEV RNA bola prítomná vo vzorkách pečene vo všetkých vekových kategóriách diviakov: kategóriou s najvyššou prevalenciou boli diviačatá (< 1 rok) s 19,78 % pozitivitou,

lanštiaky (1-2 roky) s 13,42 % pozitivitou a dospelé s 9,84 % pozitivitou (Tabuľka č. 2). Prítomnosť HEV RNA bola detegovaná v párových vzorkách pečene a svalového tkaniva od 5 zvierat.

Tabuľka č. 2, Detekcia HEV RNA vo vzorkách pečene diviakov podľa vekovej kategórie

Veková kategória	Počet testovaných vzoriek	HEV RNA+ (počet)	HEV RNA+ (%)	HEV RNA- (počet)	HEV RNA - (%)
Diviačatá	91	18	19,78	73	80,22
Lanštiaky	82	11	13,42	71	86,58
Dospelé	61	6	9,84	55	90,16

Táto štúdia poskytuje rozsiahlejšie informácie o cirkulácii HEV v populácii diviakov na Slovensku. Približne rovnaký výskyt HEV RNA vo vzorkách pečene od diviakov ako v tejto štúdii (14,96 %) bol zaznamenaný v štúdii z Nemecka (14,9 %) a získané sekvencie záviseli od geografického pôvodu odobratých vzoriek, čo je v korelácii aj s našou štúdiou (Schielke et al., 2009). Prevalencia HEV RNA vo vzorkách pečene bola v porovnaní s našou štúdiou nižšia v štúdii z Maďarska (12,2 %) (Reuter et al., 2009), Poľska (12,1 %) (Kozyra et al., 2020) a Chorvátska (12,3 %) (Prpić et al., 2015), vyššia v Rumunsku (18 %) (Porea et al., 2018) a Taliansku (33,5 %) (Montagnaro et al., 2015).

Prítomnosť HEV RNA vo vzorkách svaloviny bola publikovaná v Nemecku (Anheyer-Behmenburg et al., 2017) a Taliansku (De Sabato et al., 2020), podobne ako v našej štúdii.. Konzumácia surového alebo nedostatočne tepelne upraveného mäsa a mäsových výrobkov z diviakov a ošípaných je hlavnou cestou prenosu HEV, čo potvrdzujú štúdie z rôznych krajín sveta. Štúdia zo Španielska odhalila prepuknutie infekcie spojenej s konzumáciou nedostatočne tepelne upraveného mäsa z diviakov (Rivero-Juarez et al., 2017). Tieto zistenia potvrdzujú možné riziko prenosu HEV na ľudí prostredníctvom nedostatočne tepelne spracovaného mäsa, pečene a mäsových výrobkov.

V rámci vekových kategórií diviakov sme HEV RNA detegovali v každej z kategórii. Najvyššiu pozitivitu sme zistili v kategórii diviačiat (do 1 roka) (19,78 %) v porovnaní s kategóriou lanštiakov (1-2 roky) a dospelých (13,42 %, resp. 9,84 %). Výsledky z našej štúdie sa zhodujú aj so štúdiou z Chorvátska (Prpić et al., 2015) a Španielska (de Deus et al., 2008),

kde kategória diviačiat vykazovala tiež najvyššiu pozitivitu na HEV RNA a pozitívne boli taktiež všetky vekové kategórie diviakov.

Hostiteľské spektrum vírusu hepatitídy E okrem domácich ošípaných a diviakov zahŕňa aj voľne žijúce prežúvavce. V tejto štúdii boli všetky vzorky pochádzajúce od jeleňa lesného, srnca lesného, muflóna lesného a daniela škvrnitého negatívne na HEV RNA. Naše zistenia sú v súlade s niekoľkými štúdiami, v ktorých sa HEV RNA u voľne žijúcich prežúvavcov nepotvrdila. Uvádzajú to štúdie z Talianska (Arnaboldi et al., 2021) a Chorvátska (Prpić et al., 2015). V Nemecku boli vzorky pečene odobraté od jeleňov chovaných na farmách tiež negatívne na HEV RNA (Trojnar et al., 2019). Na druhej strane bola zistená náchylnosť na infekciu HEV u niekoľkých voľne žijúcich druhov prežúvavcov z rôznych krajín sveta – v Nemecku (Anheyer-Behmenburg et al., 2017), Českej republike (Kubanková et al., 2015), Taliansku (Di Bartolo et al., 2017) a Maďarsku (Forgách et al., 2010). V porovnaní s diviakmi bola ale u týchto voľne žijúcich druhov detegovaná nižšia prevalencia (Kubanková et al., 2015) a ich úloha pri prenose HEV nie je zatiaľ úplne objasnená.

ZÁVER

Táto štúdia odhalila, že diviaky môžu predstavovať jeden z hlavných rezervoárov vírusu hepatitídy E na Slovensku. Na celkové hodnotenie výskytu HEV u voľne žijúcej zveri na Slovensku je ale potrebné okrem diviakov zanalyzovať väčší súbor vzoriek iných voľne žijúcich druhov zvierat.

POĎAKOVANIE

Táto publikácia vznikla s podporou projektu VEGA 1/0429/20 a vďaka podpore v rámci operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt „Otvorená vedecká komunita pre moderný interdisciplinárny výskum v medicíne (OPENMED)“, kód ITMS2014+: 313011V455, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ANHEYER-BEHMENBURG, H. E. et al. Hepatitis E Virus in Wild Boars and Spillover Infection in Red and Roe Deer, Germany, 2013–2015. In *Emerging infectious diseases*. ISSN 1080-6059, 2017, vol. 23, no. 1, p. 130-133.
2. ARNABOLDI, S. et al. Hepatitis E Virus (HEV) Spread and Genetic Diversity in Game Animals in Northern Italy. In *Food and environmental virology*. ISSN 1867-0342, 2021, vol. 13, no. 2, p. 146-153.

3. BALAYAN, M. S. et al. Evidence for virus in non-A/non-B hepatitis transmitted via the faecal–oral route. In *Intervirology*. ISSN 1423-0100, 1983, vol. 20, no. 23–31.
4. BOUWKNEGT, M. et al. The course of hepatitis E virus infection in pigs after contact-infection and intravenous inoculation. In *BMC veterinary research*. ISSN 1746-6148, 2009, vol. 5, no. 7.
5. DE DEUS, N. et al. Hepatitis E virus infection dynamics and organic distribution in naturally infected pigs in a farrow-to-finish farm. In *Veterinary Microbiology*. ISSN 1873-2542, 2008, vol. 132, no. 1-2, p. 19–28.
6. DE SABATO, L. et al. Molecular Characterization of HEV Genotype 3 in Italy at Human/Animal Interface. In *Frontiers in microbiology*. ISSN 1664-302X, 2020, vol. 11, no. 137.
7. DI BARTOLO, I. et al. Presence of Hepatitis E Virus in a RED Deer (Cervus elaphus) Population in Central Italy. In *Transboundary and emerging diseases*. ISSN 1865-1682, 2017, vol. 64, no.1, p. 137-143.
8. FORGÁCH, P. et al. Detection of Hepatitis E virus in samples of animal origin collected in Hungary. In *Veterinary microbiology*. ISSN 1873-2542, 2010; vol. 143, no. 2-4, p. 106-116.
9. HALBUR, P. G. et al. Comparative pathogenesis of infection of pigs with Hepatitis E viruses recovered from a pig and a human. In *Journal of Clinical Microbiology*. ISSN 0095-1137, 2001, vol. 39, no. 3, p. 918–923.
10. JOTHIKUMAR, N. et al. A broadly reactive one step real-time RT-PCR assay for rapid and sensitive detection of Hepatitis E virus. In *Journal of virological methods*. ISSN 1879-0984, 2006, vol. 131, no. 1, p. 65-71.
11. KOZYRA, I. et al. Wild Boar as a Sylvatic Reservoir of Hepatitis E Virus in Poland: A Cross-Sectional Population Study. In *Viruses*. ISSN 1999-4915, 2020, vol. 12, no. 10, p. 1-8.
12. KUBANKOVÁ, M. et al. Prevalence of Hepatitis E Virus in Populations of Wild Animals in Comparison with Animals Bred in Game Enclosures. In *Food and environmental virology*. ISSN 1873-2542, 2015, vol. 7, p. 159-163.
13. LANINI, S. et al. Global epidemiology of viral hepatitis and national needs for complete control. In *Expert Review of Anti-infective Therapy*. ISSN 1478-7210, 2018, vol. 16, no. 8. p. 625-639.

14. LANINI, S. et al. Viral Hepatitis Etiology, Epidemiology, Transmission, Diagnostics, Treatment, and Prevention. In *Infectious disease clinics of North America*. ISSN 0891-5520, 2019, vol. 33, no. 4, p. 1045-1062.
15. MENG, X. J. Zoonotic and foodborne transmission of hepatitis E virus. In *Seminars in Liver Disease*. ISSN 1098-8971, 2013, vol. 33 no. 1, p. 41–49.
16. MONTAGNARO, S. et al. Viral and Antibody Prevalence of Hepatitis E in European Wild Boars (Sus scrofa) and Hunters at Zoonotic Risk in the Latium Region. In *Journal of comparative pathology*. ISSN 1532-3129, 2015, vol. 153, no. 2, p. 1-8.
17. PAVIO, N. et al. Zoonotic hepatitis E: Animal reservoirs and emerging risks. In *Veterinary Research*. ISSN 1297-9716, 2010, vol.41, no. 46.
18. POREA, D. et al. Molecular detection of hepatitis E virus in wild boar population in eastern Romania. In *Transboundary and emerging diseases*. ISSN 1865-1682, 2018, vol. 65, no. 2, p. 527-533.
19. PRPIĆ, J. et al. Distribution and Molecular Characterization of Hepatitis E virus in Domestic Animals and Wildlife in Croatia. In *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. ISSN 1873-5967, 2015, vol. 44, no. 4, p. 277-81.
20. REUTER, G. et al. Characterization and zoonotic potential of endemic hepatitis E virus (HEV) strains in humans and animals in Hungary. In *Journal of Clinical Virology*. ISSN 1873-5967, 2009, vol. 44, no. 4, p. 277–281.
21. RIVERO-JUAREZ, A. et al. Familial Hepatitis E Outbreak Linked to Wild Boar Meat Consumption. In *Zoonoses and Public Health*. ISSN 1863-2378, 2017, vol. 64, no. 7, p. 561-565.
22. SCHIELKE, A. et al. Detection of hepatitis E virus in wild boars of rural and urban regions in Germany and whole genome characterization of an endemic strain. In *Virology journal*. ISSN 1743-422X, 2009, vol. 6, no. 58, p. 1-7.
23. TROJNAR, E. et al. No Evidence of Hepatitis E Virus Infection in Farmed Deer in Germany. In *Food and environmental virology*. ISSN 1873-2542, 2019, vol. 12, no. 1, p. 81-83.

Kontaktná adresa: Pavlová Alica, 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: alica.pavlova@student.uvlf.sk

POŽIADAVKY VYKONÁVANIA AUDITOV PRÍSLUŠNÝMI ORGÁNMI V SÚLADE S NARIADENÍM EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (EÚ) 2017/625

REQUIREMENTS FOR PERFORMANCE OF AUDITS BY COMPETENT AUTHORITIES IN ACCORDANCE WITH REGULATION (EU) 2017/625 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL

Regecová Ivana, Kožárová Ivona

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

ABSTRACT

The purpose of the audit is to verify that the system complies with food hygiene requirements and HACCP principles for food business operators. The audit is announced in advance and is the basis for further official controls. Requirements for audits by competent authorities in accordance with Regulation (EU) 2017/625 of the European Parliament and of the Council are enshrined simultaneously in Commission Implementing Regulation (EU) 2019/627 and Commission Delegated Regulation (EU) 2019/624. The audit of the food business operator is performed by qualified, professionally qualified and trained RVPS employees (auditors). The auditor demonstrates his / her mandate to perform the audit with a solemn declaration that there is no conflict of interest. The auditor should not be an employee of the competent authority who carries out routine official controls at the establishment.

Key words: audit, HACCP, good hygiene practice

ÚVOD

Mnoho aspektov bezpečnosti potravín podlieha auditom v potravinárskych podnikoch, ako sú materiály (štrukturálne, závodné, kontaktné atď.), postupy a aplikačné metódy využívané v procese výroby potravín, dodržiavanie pravidiel správnej hygienickej praxe a HACCP systému. Pomocou auditov môže byť odhalený v prevádzkach nesúlad dodržiavania požiadaviek platnej legislatívy. Hodnotenie nesúladu má zásadný význam: takéto hodnotenie musí umožniť správnu identifikáciu všetkých potencionálnych rizík a stupeň možného nebezpečenstva, ktoré môže z danej potraviny vyplývať. Proces hodnotenia môže zahŕňať skúmanie celého radu faktorov, ktoré sú rozhodujúce pri stanovení vplyvu na hygienu výrobného procesu (nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/625; Rossi et al, 2020).

Súčasný stav riešenej problematiky

V Nariadení Európskeho Parlamentu a Rady (EÚ) 2017/625 je audit charakterizovaný ako systematické a nezávislé preskúmanie na účely určenia toho, či sú činnosti a súvisiace výsledky týchto činností v súlade s plánovanými opatreniami, či sa tieto opatrenia uplatňujú účinne a či sú vhodné na dosiahnutie cieľov. Audit je vopred ohlásený a je základom pre ďalšie úradné kontroly. Audit má za cieľ overiť, či je systém prevádzkovateľa potravinárskych podnikov (PPP) v súlade s požiadavkami na hygienu potravín a zásad HACCP.

Príslušné orgány by mali vykonávať audity alebo dať vykonať audity vo svojom mene s cieľom preveriť dodržiavanie tohto nariadenia. Mali by sa vykonávať transparentným spôsobom a mali by podliehať nezávislému preskúmaniu (nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/625).

Tak ako ustanovuje vykonávacie nariadenie Komisie (EÚ) 2019/627 pri vykonávaní auditov príslušnými orgánmi by sa mali zachovať osobitné požiadavky, aby sa zaistilo jednotné praktické overovanie dodržiavania požiadaviek Únie na produkty živočíšneho pôvodu.

Požiadavky spojené s vykonávaním auditov

Príslušné orgány pri vykonávaní auditov správnej hygienickej praxe v prevádzkarňach overujú, či prevádzkovatelia potravinárskych podnikov, v ktorých sa manipuluje s produktmi živočíšneho pôvodu, neustále a riadne uplatňujú postupy týkajúce sa minimálne:

a) usporiadania a údržby priestorov a zariadení;

b) predprevádzkovej, prevádzkovej a poprevádzkovej hygieny;

c) osobnej hygieny;

d) odbornej prípravy zameranej na hygienu a pracovné postupy;

e) kontroly výskytu škodcov;

f) kvality vody;

g) kontroly teplôt;

h) kontrol zvierat alebo potravín, ktoré vstupujú a ktoré opúšťajú prevádzkareň a všetkých sprievodných dokladov (vykonávacie nariadenie Komisie (EÚ) 2019/627).

Príslušné orgány predovšetkým určia, či dané postupy zaručujú, že produkty živočíšneho pôvodu sú v súlade s nariadením (ES) č. 2073/2005 (pokiaľ ide o mikrobiologické kritériá) a s právnymi predpismi Únie v týchto oblastiach: monitorovanie rezíduí chemikálií, maximálne limity rezíduí v prípade účinných látok, zakázané a nepovolené látky, kontaminanty v potravinách, rezíduá pesticídov (vykonávacie nariadenie Komisie (EÚ) 2019/627).

V prípade, že prevádzkovateľ potravinárskeho podniku používa postupy stanovené v príručkách k uplatňovaniu zásad HACCP v súlade s článkom 5 ods. 5 nariadenia (ES) č. 852/2004, audit zahŕňa správne uplatňovanie uvedených príručiek (nariadenie (ES) č. 852/2004).

Doplňujúce požiadavky na audity v prevádzkarňach, v ktorých sa manipuluje s čerstvým mäsom sú overovanie či prevádzkovatelia potravinárskych podnikov neustále dodržiavajú vlastné postupy týkajúce sa zberu, prepravy, skladovania čerstvého mäsa a manipulovania s ním, ako aj používania a odstraňovania vedľajších živočíšnych produktov vrátane špecifikovaného rizikového materiálu, za ktoré sú zodpovední (vykonávacie nariadenie Komisie (EÚ) 2019/627) .

Pri vykonávaní auditov postupov založených na HACCP systéme, príslušné orgány kontrolujú, či náležité postupy PPP v čo najväčšom rozsahu zaručujú čerstvé mäso, ktoré:

a) neobsahuje patologické abnormality alebo zmeny;

b) nevykazuje známky (fekálnej kontaminácie, akejkoľvek inej kontaminácie, ktorá sa považuje za neprijateľné riziko pre zdravie ľudí, mikrobiologické kritériá uvedené v nariadení (ES) č. 2073/2005)

c) neobsahuje špecifikovaný rizikový materiál v súlade s požiadavkami nariadenia (ES) č. 999/2001 (vykonávacie nariadenie Komisie (EÚ) 2019/627).

Na doplnenie auditu môže príslušný orgán vykonať testy výkonnosti, aby sa uistil, či majú zamestnanci dostatočné zručnosti;

b) overeniu príslušných záznamov prevádzkovateľa potravinárskeho podniku;

c) odberu vzoriek na laboratórnu analýzu, ak je to potrebné;

d) dokumentovaniu zohľadnených prvkov a zistení auditu (vykonávacie nariadenie Komisie (EÚ) 2019/627).

Povaha auditov a frekvencia ich vykonávania

Povaha audítorských úloh a frekvencia ich vykonávania závisí od vyhodnoteného rizika. Na tento účel príslušné orgány pravidelne posudzujú:

a) riziká pre zdravie ľudí a v prípade potreby riziká pre zdravie zvierat;

b) v prípade bitúnkov hľadiská dobrých podmienok zvierat;

c) druh a kapacitu vykonávaných procesov;

d) históriu PPP, pokiaľ ide o dodržiavanie potravinového práva (vykonávacie nariadenie Komisie (EÚ) 2019/627).

Pri samotnom vypracovaní návrhu organizácie auditov prevádzkarní sa:

1. Určuje počet a kategórie prevádzkarní vo svojej územnej pôsobnosti (*použijú sa zoznamy schválených prevádzkarní zverejnených na internete ŠVPS SR*)
2. Zostavujú tímy - určenie audítorov (ktorí sa zúčastnili školení podľa STN ISO 19011:2019) na audity jednotlivých prevádzkarní
3. Vykonajú skúšobne prvé šetrenia - monitorovanie na mieste (odhad, čo bude potrebné pri auditoch) a naplánujú si, ako sa budú vykonávať audity prevádzkarní, trvanie auditov pre jednotlivé prevádzkarne.
4. Pri plánovaní a navrhovaní audítorov je potrebné počítať s vyššie uvedenými zásadami a s počiatočnou frekvenciou auditu pre každú prevádzkareň 2 x ročne (Kožárová, 2017).

Personál vykonávajúci audity

Na základe delegovaného nariadenia Komisie (EÚ) 2019/624 sa stanovujú špecifické minimálne požiadavky vrátane požiadaviek na odbornú prípravu úradného veterinárneho lekára, veterinárneho asistenta a personál vymenovaný príslušnými orgánmi s cieľom zabezpečiť riadne vykonávanie úloh opísaných v článku 18 nariadenia (EÚ) 2017/625. Týmto nariadením sa stanovujú aj kritériá a podmienky vykonávania audítorských činností na bitúnkoch a v prevádzkach na manipuláciu so zverou. Na základe tohto nariadenia audítorské činnosti uvedené v článku 18 ods. 2 písm. d) bod iii) nariadenia (EÚ) 2017/625 môže vykonávať aj úradný veterinárny asistent na zodpovednosť úradného veterinárneho lekára, len pokiaľ ide o zber informácií o správnej hygienickej praxi a postupoch založených na HACCP (delegované nariadenie Komisie (EÚ) 2019/624).

Kritériá a podmienky na vykonávanie úradných kontrol vrátane audítorských činností v prevádzkach môže odchylne od požiadaviek stanovených v článku 18 ods. 2 písm. d) nariadenia (EÚ) 2017/625 vykonávať aj iný personál určený príslušnými orgánmi pod podmienkou, že príslušné orgány pravidelne kontrolujú prácu tohto personálu.

Osoby vykonávajúce audity musí preukázať znalosť týchto tém:

a) vnútroštátne právne predpisy a právne predpisy Únie týkajúce sa ľudského zdravia, bezpečnosti potravín, zdravia zvierat, dobrých životných podmienok zvierat a farmaceutických látok;

b) zásady spoločnej poľnohospodárskej politiky, trhových opatrení, vývozných náhrad a zisťovania podvodov vrátane globálnych súvislostí: Dohoda Svetovej obchodnej organizácie o uplatňovaní sanitárnych a fytosanitárnych opatrení, *Codex Alimentarius*, Svetová organizácia pre zdravie zvierat;

c) základy spracovania potravín a potravinárskej technológie;

d) zásady, koncepcie a metódy správnej výrobnej praxe a riadenia kvality;

e) manažment kvality pred zberom (správna poľnohospodárska prax);

f) podpora a uplatňovanie zásad hygieny potravín, bezpečnosti súvisiacej s potravinami (správna hygienická prax);

g) zásady, koncepcie a metódy analýzy rizika;

h) zásady, koncepcia a metódy HACCP, použitie HACCP v celom potravinovom produkčnom reťazci;

i) osoby ktoré sa zúčastnili školení podľa STN ISO 19011:2019 personálu (delegovaného nariadenia Komisie (EÚ) 2019/624).

Ďalšie osoby v audítorskom tíme:

Audítorský tím môžu sprevádzať aj ďalšie osoby (pozorovatelia), ale nie sú jeho súčasťou. Neovplyvňujú realizáciu auditu, nevstupujú do neho, môžu pomáhať audítorskému tímu a konať na požiadanie vedúceho audítorského tímu. Zodpovednosť môže zahŕňať vytvorenie kontaktov a spracovanie časového harmonogramu rozhovorov, zorganizovanie návštev konkrétnych častí miesta auditu v organizácii, podávanie vysvetlení alebo asistovanie pri zhromažďovaní informácií (Kožárová, 2017).

ZÁVER

Poľnohospodári, potravinári a prevádzkovatelia potravinárskych podnikov pracujúci so zdrojmi a surovinami, ktoré podliehajú rýchlemu kazeniu, musia v rámci analýzy nebezpečenstva a kritických kontrolných bodov určiť, zaviesť a zachovávať trvalý postup, ktorý je založený na zásadách HACCP, a ktorého cieľom je zabezpečiť bezpečné a zdravotne nezávadné potraviny. Práve audit v potravinárskej prevádzke je vhodným preventívnym nástrojom na posúdenie či sa činnosti a súvisiace opatrenia zavádzajú účinne, a či sú vhodné na dosiahnutie vyššie spomenutých cieľov.

POĎAKOVANIE

Práca bola vykonaná vďaka finančnej podpore z grantovej úlohy KEGA 015UVLF-4/2021.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. DELEGOVANÉ NARIADENIE KOMISIE (EÚ) 2019/624 z 8. februára 2019 o špecifických pravidlách týkajúcich sa vykonávania úradných kontrol výroby mäsa, ako

aj produkčných oblastí a oblastí sádkovania živých lastúrnikov v súlade s nariadením Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/625.

2. Kožárová, I. *Úradná kontrola potravín a produktov živočíšneho pôvodu*. Košice: Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, 2017. p. 138. ISBN: 978-80-8077-551-3
3. NARIADENIE EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 852/2004 z 29. apríla 2004 o hygiene potravín.
4. NARIADENIE EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 999/2001 z 22. mája 2001, ktorou sa stanovujú pravidlá prevencie, kontroly a eradikácie niektorých prenosných spongiformných encefalopatií.
5. NARIADENIE EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (EÚ) 2017/625 z 15. marca 2017 o úradných kontrolách a iných úradných činnostiach vykonávaných na zabezpečenie uplatňovania potravinového a krmivového práva a pravidiel pre zdravie zvierat a dobré životné podmienky zvierat, pre zdravie rastlín a pre prípravky na ochranu rastlín.
6. NARIADENIE KOMISIE (ES) č. 2073/2005 z 15. novembra 2005, o mikrobiologických kritériách pre potraviny.
7. ROSSI, A. et al. Official controls on food safety: Competent Authority measures. In *Italian Journal of Food Safety*. ISSN 2239-7132, 2020, vol. 9, no. 2, p. 8607.
8. STN EN ISO 19011. 2019.Návod na auditovanie systémov manažérstva. Bratislava, SR: SÚTN. .
9. VYKONÁVACIE NARIADENIE KOMISIE (EÚ) 2019/627 z 15. marca 2019, ktorým sa stanovujú jednotné praktické opatrenia na vykonávanie úradných kontrol produktov živočíšneho pôvodu určených na ľudskú spotrebu v súlade s nariadením Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/625 a ktorým sa mení nariadenie Komisie (ES) Ā. 2074/2005, pokiaľ ide o úradné kontroly.

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

NUTRIČNÁ KVALITA DANIELIEHO MÄSA A VPLYV DLHODOBÉHO SKLADOVANIA NA JEHO OXIDAČNÚ STABILITU

NUTRITIONAL QUALITY OF FALLOW DEER MEAT AND THE EFFECT OF LONG-TERM STORAGE ON ITS OXIDATIVE STABILITY

Reitznerová Anna[1], Nagy Jozef[1], Semjon Boris[1], Klempová Tatiana[2], Bartkovský Martin[1], Poláková Zuzana[3], 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]Ústav biotechnológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenska republika

[3]Hlavná 171, 075 01, Plechotice, Slovenská republika

ABSTRACT

The aim of this work was to compare the chemical composition, fatty acid profile and nutritional indices of lipids from the shoulder and thigh of fallow deer. The effect of long-term storage on the decomposition processes of fats in vacuum-packed meat stored in a freezer at -18 °C for 360 days was evaluated. Analysis of the chemical composition of shoulder and thigh meat did not show significant differences ($p > 0.05$). The fatty acid profile showed a higher percentage of Σ PUFA ($p < 0.01$) and Σ PUFA n-3 ($p < 0.05$) in the thigh. Based on FA analysis, PUFA/SFA, n-6/n-3 and h/H ratios and lipid nutritional quality indices (peroxidability index (PI), atherogenicity index (AI) and thrombogenicity index (TI)) in shoulder and thigh samples were calculated. A higher PUFA/SFA ratio ($p < 0.0001$) and lower AI, TI indices ($p < 0.01$; $p < 0.001$) were calculated in the thigh compared to the fallow deer shoulder.

Key words: fallow deer, oxidation lipid, malondialdehyde, fatty acids

ÚVOD

Moderný konzument venuje stále väčšiu pozornosť kvalite a pôvodu mäsa. Požiadavky konzumenta na zdravú a primeranú stravu spĺňa danielie mäso. Zverina pochádzajúca z jelenej zveri je charakteristická nízkym obsahom intramuskulárneho tuku a cholesterolu, vysokým obsahom bielkovín (esenciálnych aminokyselín), minerálov a polynenasýtených mastných kyselín (PUFA) (Ludwiczak, 2019). Mäso z daniela má vysokú nutričnú hodnotu kvôli prospešnému profilu mastných kyselín (Švrčula et al., 2019), a to predovšetkým vyššiemu

obsahu n-3 PUFA v porovnaní so zverinou z inej jelenej zveri (Mexia et al., 2019). Okrem vysokej nutričnej hodnoty, špecifických organoleptických vlastností má zverina nízku energetickú hodnotu. Energetická hodnota zveriny je v rozmedzí od 90 do 110 kcal/100g v porovnaní s hovädzím, baraním, bravčovým a hydinovým mäsom, kde je energetická hodnota v rozsahu od 114 do 231 kcal/100 g svalu (Kudrnáčová et al., 2018).

Zverina môže pochádzať zo zveri žijúcej vo voľnej prírode alebo chovanej na farme. Výhodou mäsa zveri z farmových chovov je fakt, že farmár vie garantovať nielen jeho pôvod a vek zabitého zvieraťa, ale vzhľadom k neustálemu veterinárnemu dozoru i jeho bezpečnosť. Výhodou je i to, že mäso zveri z fariem je na rozdiel od zveri lovenej možné dodávať čerstvé po celý rok (Dominik, Steinhauser, 2009). Vďaka možnosti riadenej výživy a prikrmovania koncentrovanými krmivami rastú takto chované zvieratá rýchlejšie a ich mäso má zvyčajne vyšší obsah intramuskulárneho tuku a často vykazujú priaznivejšie textúrne vlastnosti (krehkosť a šťavnatosť) (Dahlan and Norfarizan, 2008; Volpelli et al., 2003).

Nakoľko tuky zveriny rýchlo podliehajú oxidácií, pre vysoký obsah nenasýtených fosfolipidov a prooxidujúcich iónov železa v myoglobíne, je potrebné baliť zverinu do prostredia s nedostatkom kyslíka (Daszkiewicz et al., 2017). Vákuové balenie je najobľúbenejšia metóda distribúcie zveriny. Spolu s chladením a mrazením, vákuové balenie predlžuje trvanlivosť mäsa. Mrazenie taktiež predlžuje dobu skladovania zveriny a umožňuje sa tak jej dostupnosť pre lokálne, aj vzdialené obchody (Ludwiczak, 2019). Zmrazovanie spôsobuje relatívne malé a prijateľné zmeny kvality mäsa, a efektívne chráni mäso počas dlhotrvajúceho skladovania. Zmrazovanie je preferovanou metódou skladovania mäsa medzi jednotlivými procesmi spracovania a distribúciou medzi výrobcom a konzumentom, ktorý často kúpi viac mäsa, ako dokáže ihneď spotrebovať, čo následne vedie k uskladneniu nadbytočného množstva mäsa v mrazničke (Daszkiewicz et al., 2017).

Cieľom experimentu bolo zhodnotiť vplyv dlhodobého skladovania danielieho mäsa v mrazničke na rozkladné procesy tukov. Taktiež sme vzájomne porovnali profil mastných kyselín a ich nutričných indexov v danielom pleci a stehne.

MATERIÁL A METODIKA

V experimente boli použité vzorky mäsa získané z daniela škvrnitého (plece a stehno) pochádzajúceho z farmového chovu z Účelového zariadenia pre chov a choroby zveri, rýb a včiel v Rozhanovciach. Vzorky mäsa boli balené vákuovo a skladované v mrazničke pri teplote -18 °C jeden rok. V odobraných vzorkách na začiatku experimentu bol stanovený obsah vody, sušiny a podiel tuku extrakčnou metódou podľa Soxhleta (Popelka et al., 2009).

Rozkladné zmeny tukov (MDA) boli stanovené v jednotlivých experimentálnych skupinách na začiatku skladovania (0) a následne na 90., 180., 270. a 360. deň skladovania. Hodnota MDA bola stanovená spektrofotometricky, ako komplex s tiobarbiturovou kyselinou (MDA-TBA), pri vlnovej dĺžke 532 nm (Marcinčák et al., 2006). Mastné kyseliny (MK) boli stanovené na začiatku pokusu, ako ich metylestery, na oddelení potravinárskej technológie Fakulty chemickej a potravinárskej technológie STU v Bratislave (Čertík et al. 2006). Všetky analýzy boli vykonané v troch opakovaniach. Výsledky sú vyjadrené ako aritmetický priemer (x) a štandardná odchýlka (sd). Z mastných kyselín boli vypočítané nutričné indexy: aterogénny index (AI), trombogénny index (TI) a peroxidačný index (PI) (Ulbricht a Southgate, 1991) a h/H hypocholesterolemický/hypercholesterolemický index (Fernandes et al., 2014) podľa príslušných vzorcov:

$$AI = \frac{\mathrm{C12{:}0} + 4 * \mathrm{C140} + \mathrm{C16{:}0}}{\sum \mathrm{MUFA} + \sum \mathrm{PUFA}}$$

$$TI = \frac{\mathrm{C14{:}0} + \mathrm{C16{:}0} + \mathrm{C18{:}0}}{(0{,}5 * \sum \mathrm{MUFA}) + (0{,}5 * \sum n - 6\ PUFA) + (3 * \sum n - 6\ PUFA) + (n - 3/n - 6\ PUFA)}$$

$\mathrm{PI} = (\%\ \text{mononénových MK} * 0{,}025) + (\%\ dienových\ MK * 1) + (\%\ triénových\ MK * 2) +$
$(\%tetraénových\ MK * 4) + (\%\ pentaénových\ MK * 6) + (\%\ hexaénových\ MK * 8)$ (Erikson et al., 1992).

$\mathrm{h/H} = [(C18{:}1\ n\text{-}9 + C\ 18{:}1\ n\text{-}7 + C18{:}2\ n\text{-}6 + C18{:}3\ n\text{-}6 + C18{:}3\ n\text{-}3 + C20{:}3\ n\text{-}6 + C20{:}4\ n\text{-}6 +$
$C20{:}5\ n\text{-}3 + C22{:}4\ n\text{-}6 + C22{:}5\ n\text{-}3 + C22{:}6\ n\text{-}3)]/(C14{:}0 + C16{:}0)$ (Fernandes et al., 2014).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Zverina je konzumentami žiadaná pre špecifickú chuť a vhodné nutričné zloženie (Švrčula et al., 2019). Chemické zloženie vo vzorkách mäsa daniela je uvedený v tabuľke 1. Analýzy chemického zloženia pleca a stehna daniela nepreukázala významné rozdiely ($p > 0{,}05$). Z pohľadu kvality mäsa, väčšina poľovnej zveri má obsah intramuskulárneho tuku menej ako 3 %, pričom pre zachovanie požadovaných chuťových vlastností mäsa postačuje 1 – 2 % intramuskulárneho tuku a tento minimálny podiel tuku je u zveriny zachovaný (Švrčula et al., 2019). Analyzované vzorky danielieho mäsa mali obsah tuku 2,53 % v stehne a 2,66 % v pleci, čo je uspokojivé pre vytváranie charakteristickej chuti a vôni pri konzumácií tepelne opracovaného danielieho mäsa.

Tabuľka 8, Chemické zloženie vzoriek danielieho mäsa

Chemické zloženie	Danielie mäso		*p* – hodnota
	plece [%]	stehno [%]	
voda	72,10 ± 0,90	71,26 ± 0,45	0,223
sušina	27,90 ± 0,90	28,74 ± 0,45	0,223
tuk	2,66 ± 0,51	2,53 ± 0,33	0,732

Profil mastných kyselín danielieho pleca a stehna (tabuľka 2) preukázal najvyššie percentuálne zastúpenie nasýtených mastných kyselín (SFA) kyseliny steárovej (C18:0) ($p < 0,05$), z MUFA kyseliny olejovej (C18:1) ($p < 0,001$) a z PUFA kyseliny linolovej (C18:2, n-6) ($p < 0,001$). Žmijewski et al. (2020) uvádza najviac zastúpenými MK v stehne daniela z farmového chovu – kyselinu palmitovú, linolovú, steárovú a olejovú, pričom tieto kyseliny sú tiež vysoko zastúpené aj vo zverine z daniela žijúceho vo voľnej prírode (Mexia et al., 2020).

Všeobecne sa uznáva, že množstvo aj štruktúra mastných kyselín zohrávajú hlavnú úlohu pre ľudské zdravie. Jeleňovitá zver pasená na pastvinách, vykazuje vysoký potenciál produkcie chudého mäsa a teda dôležitou výhodou jelenieho mäsa je nízke množstvo IMF a tým priaznivý pomer n-6/n-3 PUFA (Bureš et al., 2015). Kŕmenie trávou teda predstavuje priaznivejší pomer n-6/n-3 v rozmedzí od 2,1 do 3,3 (odporúčanie je < 4) v porovnaní s 4,5 až 9,6 u jeleňov kŕmených koncentrátmi. V súčasnosti je pomer n-6/n-3 v ľudskej strave často nad 10:1, čo naznačuje nedostatok prospešnej n-3 PUFA v našej strave (Kudrnáčová, 2018). Pomer n-6/n-3 PUFA v nami analyzovanom danielom pleci a stehne (3,94; resp. 4,26; $p > 0,05$) spĺňali odporúčania podľa OVD vydané MP SR (Kajaba et al., 2015) pod 4,5. Zastúpenie n-3 PUFA bolo vyššie v stehne ako v pleci daniela (10,21 % resp. 7,71 %; $p < 0,05$), s prevahou kyseliny α- linolénovej (ALA) ($p > 0,05$), eikozapentaénovej ($p > 0,05$) a dokozahexaénovej ($p > 0,05$). Zverina je všeobecne relatívne dobrým zdrojom n-3 PUFA v dôsledku prítomnosti ALA v tráve, pričom obsah ALA v tuku zveriny je výrazne vyšší, ako u rôznych plemien dobytka (Kudrnáčová, 2018).

Na základe analýzy MK boli vypočítané pomery PUFA/SFA, n-6/n-3 a h/H a indexy nutričnej kvality tukov (PI, AI a TI) vo vzorkách danielieho pleca a stehna (Tabuľka 1). Vo vzorkách mäsa daniela bol stanovený vyšší pomer PUFA/SFA v stehne, ako v pleci ($p < 0,001$) a pomer n-6/ n-3 PUFA bol porovnateľný v obidvoch vzorkách mäsa ($p > 0,05$). Vo všeobecnosti platí, že hodnoty pomeru PUFA/SFA nad 0,45 a pomer n-6/n- 3 pod 4,0 sú odporúčané v ľudskej strave pri prevencii rozvoja kardiovaskulárnych ochorení a niektorých chronických ochorení, vrátane rakoviny (Mapiye et al., 2011; Woloszyn et al., 2020) a tieto

obidve požiadavky spĺňa nami analyzované danielie plece. Vyšší pomer n-6/n-3 PUFA v stehne je spôsobený vyšším podielom kyseliny linolovej.

Tabuľka 2, Profil mastných kyselín vzoriek danielieho mäsa

Kyselina	Danielie mäso		
	plece [%]	stehno [%]	*p* – hodnota
laurová; C12:0	0,03 ± 0,04	0,00 ± 0,00	0,288
myristová; C14:0	2,04 ± 0,82	0,74 ± 0,30	0,061
palmitová; C16:0	16,87 ± 1,65^{ab}	12,72 ± 1,50^{b}	**0,032**
steárová; C18:0	22,67 ± 2,04^{a}	18,36 ± 0,87^{b}	**0,028**
eikosanová; C20:0	0,32 ± 0,13	0,19 ± 0,01	0,157
dokosanová; C22:0	0,24 ± 0,03	0,20 ± 0,01	0,094
palmitoolejová; C16:1 n-9	0,49 ± 0,13	0,34 ± 0,02	0,112
palmitoolejová; C16:1 n-7	1,56 ± 0,17^{a}	1,06 ± 0,15^{b}	**0,018**
olejová; C18:1 n-9	15,97 ± 0,11^{a}	10,12 ± 0,92^{b}	**0,000**
vakcénová; C18:1 n-9	2,21 ± 0,38	2,36 ± 0,13	0,561
gondová; C20:1 n-9	0,22 ± 0,03^{ab}	0,18 ± 0,01^{b}	0,074
linolová; C18:2 n-6	17,64 ± 0,88^{b}	28,71 ± 1,72^{a}	**0,001**
γ-linolénová; C18:3 n-6	0,08 ± 0,02	0,08 ± 0,01	0,809
α-linolénová; C18:3 n-3	2,81 ± 0,46^{ab}	3,96 ± 0,22^{a}	**0,018**
eikosadienová; C20:2 n-6	0,15 ± 0,03	0,15 ± 0,02	0,872
dihomo-γ-linolénová; C20:3 n-6	0,33 ± 0,07	0,38 ± 0,04	0,379
eikosatrienová; C20:3 n-3	0,14 ± 0,03^{b}	0,23 ± 0,03^{a}	**0,027**
arachidónová; C20:4 n-6	11,79 ± 1,10	14,21 ± 1,18	0,061
eikozapentaénová; C20:5 n-3	1,06 ± 0,24^{b}	1,52 ± 0,15^{a}	**0,046**
dokozapentaénová; C22:5 n-3	3,37 ± 0,59	4,03 ± 0,27	0,153
dokozahexaénová; C22:6 n-3	0,33 ± 0,08^{b}	0,47 ± 0,02^{a}	**0,041**
Σ SFA	42,17 ± 4,71^{a}	32,20 ± 2,70^{b}	**0,034**
Σ MUFA	20,46 ± 0,81^{a}	14,06 ± 1,24^{b}	**0,002**
Σ PUFA	37,70 ± 3,50^{b}	53,74 ± 3,67^{a}	**0,005**
Σ PUFA n-3	7,71 ± 1,40^{b}	10,21 ± 0,70^{a}	**0,025**
Σ PUFA n-6	29,99 ± 2,10^{b}	43,53 ± 2,97^{a}	**0,003**
n-6/ n-3 PUFA	3,94 ± 0,45	4,26 ± 0,00	0,292
PUFA/SFA	0,49 ± 0,03^{b}	1,03 ± 0,03^{a}	**<0,0001**
AI	0,43 ± 0,06^{a}	0,23 ± 0,02^{b}	**0,004**
TI	0,86 ± 0,01^{a}	0,53 ± 0,01^{b}	**<0,0001**
PI	101,37 ± 12,10^{b}	132,40 ± 9,81^{a}	**0,026**
h/H	2,95 ± 0,18^{b}	4,92 ± 0,32^{a}	**0,001**

Σ SFA – súčet nasýtených mastných kyselín; Σ MUFA – súčet mononenasýtených mastných kyselín; Σ PUFA – súčet polynenasýtených mastných kyselín; Σ PUFA n-3 – súčet n-3 polynenasýtených mastných kyselín; Σ PUFA n-6 – súčet n-6 polynenasýtených mastných kyselín; AI – aterogénny index; TI – trombogénny index; PI – idex peroxidovateľnosti; h/H - hypocholesterolemický index. Štatisticky významné *p* – hodnoty sú vyznačené tučným typom písma.

Ulbricht a Soulgate (1991) uvádzajú, že na meranie aterogenity potravín je vhodnejšie použiť aterogénny index (AI) ako hodnotu PUFA/SFA. Aterogénny index je vzťah medzi súčtom hlavných SFA (pro-aterogénnych MK) a súčtom MUFA a PUFA (anti-aterogénnych MK). Trombogénny index je definovaný ako pomer medzi pro-trombogénnymi SFA a anti-trombogénnymi MUFA a PUFA. Z ohľadom na ľudské zdravie je požadované, aby bol v strave AI index nižší ako 1,0 a TI pod 0,5 (Fernandes et al., 2014). V nami analyzovaných vzorkách danielieho pleca a stehna boli hodnoty AI pod 1 ($p < 0,01$), pričom hodnoty TI boli vyššie ako žiaduca hodnota. Napriek tomu ide o výrazne nižšie hodnoty, ako boli zistené inými autormi u vzoriek mäsa daniela pochádzajúceho z farmového chovu. Pinto et al. (2009) uvádza AI v rozmedzí 1,00 – 1,99 a TI v rozmedzí 1,57 – 2,23 a Svrčula et al. (2019) uvádza AI pre danielie mäso v rozmedzí 0,48 – 0,77 a TI 1,42 – 1,83.

Index peroxidovateľnosti (PI) je indikátor technologickej kvality mäsa a vyjadruje vzťah medzi zastúpenými MK v tkanive a ich citlivosť na oxidáciu. PI index sa používa na zhodnotenie stability PUFA – nižšia hodnota znamená nižšiu úroveň autooxidácie MK (Woloszyn et al., 2020). V nami analyzovaných vzorkách daniela mäsa bola nižšia hodnota PI stanovená v danielom pleci.

Celkové n-6 a n-3 PUFA a ich pomer (n-6/n-3 PUFA) sú hlavnými mastnými kyselinami riadiace hypocholesterolemický index. Hlavnú úlohu pri regulácii trombogénneho indexu zohrávajú n-3 PUFA, zatiaľ čo n-6 PUFA sú dominantné pre aterogénny index. Zdravý živočíšny produkt môže byť charakterizovaný nízkym AI a TI indexom a vysokým h/H indexom (Woloszyn et al., 2020). V danielom stehne sme dosiahli vyššiu hodnotu h/H idexu ako v pleci. Mexia et al. (2020) uvádza vo svojej štúdii, že vysoký PUFA/SFA a nízke AI a TI indexy sú považované za prospešné z pohľadu nutričného hodnotenia a na základe tohto tvrdenia, možno vysloviť, že nami analyzované vzorky mäsa z stehna daniela majú zdravší lipidový profil ako z pleca daniela.

Podobne ako iné druhy mäsa, aj zverina má limitovanú trvanlivosť rastom mikrobiálnej mikroflóry a lipidovou peroxidáciou (Zhou et al., 2010). Všeobecne platí, že náchylnosť tukov na oxidačné zmeny sa zvyšuje so stupňom nenasýtenosti, teda ich oxidačná stabilita sa zhorší s rastúcou úrovňou nenasýtených mastných kyselín a najmä PUFA (Shahidi a Zhong 2010). MDA je jedným z najviac vytváraných aldehydov v priebehu sekundárneho oxidačného procesu tukov a najbežnejšie používaným oxidačným markerom (Barriuso et al. 2013).

Rozkladné procesy tukov vo vákuovo balenom danielom pleci a stehne boli stanovované spektrofotometricky (Tabuľka 2). Na začiatku experimentu sa množstvo MDA pohybovalo na úrovni 0,049 $mg \cdot kg^{-1}$ v stehne a 0,060 $mg \cdot kg^{-1}$ v pleci. Najvyššie množstvá MDA boli

stanovené v pleci na 90. deň ($p < 0,05$), kým v stehne až na 180. deň ($p < 0,01$) mraziarenského skladovania. Vyšší obsah celkových PUFA bol zistený v danielom stehne ($p < 0,01$), čo súvisí aj z väčším rozsahom oxidačných procesov a potvrdzuje to aj vysoká hodnota PI ($p < 0,05$). V priebehu ďalšieho skladovania dochádzalo k poklesu množstva MDA v danielom mäse a po 360. dňoch skladovania boli nižšie hodnoty MDA stanovené v danielom pleci ($p < 0,01$). Warris (2000) uvádza, že množstvo MDA nad 0,5 $mg \cdot kg^{-1}$ naznačuje oxidáciu lipidov a hodnoty nad 1,0 $mg \cdot kg^{-1}$ sú už neprijateľné z pohľadu konzumácie. Žiadna nami stanovená hodnota MDA túto úroveň oxidácie nedosiahla, ani sa k nej nepriblížila. Prvotné stúpanie hodnôt MDA možno vysvetliť oxidáciu v dôsledku kyslíka naviazaného na povrchu mäsa ešte pred samotným zabalením vzoriek mäsa a následný pokles MDA pre nedostatkom kyslíka - zamedzením jeho prístupu vďaka vákuovému baleniu.

Tabuľka 2, Stanovenie množstva MDA ($mg \cdot kg^{-1}$) vo vákuovo balenom danielom pleci a stehne

Deň skladovania	Danielie plece	Danielie stehno	*p* - hodnota
0. deň	0,060 ± 0,009	0,049 ± 0,002	0,1093
90. deň	0,139 ± 0,008[a]	0,096 ± 0,022[b]	**0,0348**
180. deň	0,065 ± 0,017[b]	0,141 ± 0,020[a]	**0,0073**
270. deň	0,076 ± 0,015	0,089 ± 0,006	0,2400
360. deň	0,048 ± 0,001[b]	0,068 ± 0,007[a]	**0,0098**

MDA – malóndialdehyd;

Daszkiewicz et al. (2017) vo svojej štúdii uvádza, že dlhodobé skladovanie vákuovo baleného danielieho mäsa mrazom pri teplote –26 °C umožnilo zachovať dobrú kvalitu mäsa, čo znamená, že táto metóda skladovania môže napomôcť vyhovieť požiadavkám konzumenta danielieho mäsa medzi poľovníckou sezónou.

ZÁVER

Na základe chemického zloženia a analýzy mastných kyselín možno vyjadriť, že vzorky mäsa danielieho stehna dosiahli z pohľadu zdravia lepšie hodnotenie, vďaka nižšiemu obsahu tuku, vyššiemu obsahu PUFA a vyššiemu pomeru PUFA/SFA a nižším hodnotám AI a TI ako vzorky mäsa z pleca daniela. Dlhodobé skladovanie malo vplyv na rozkladné procesy lipidov vo vákuovo balených vzorkách pleca a stehna, ale vďaka zamedzeniu prístupu vzduchu nedošlo k ich rozvinutiu do štádia, kedy by už boli senzoricky detegované.

POĎAKOVANIE

Realizácia experimentu bola finančne podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-18-0039.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Bureš, D., Bartoň, L., Kotrba, R., Hakl, J. (2015): Quality attributes and composition of meat from red deer (Cervus elaphus), fallow deer (Dama dama) and Aberdeen Angus and Holstein cattle (Bos taurus). Journal of the Science of Food and Agriculture, 95(11): 2299–2306.
2. Dahlan I, Norfarizan Hanoon, N. A. (2008) Chemical composition, palatability and physical characteristics of venison from farmed deer. Animal Science Journal, 79: 498–503.
3. Daszkiewicz, T., Lipowski, T., Kubiak, D. (2017): Effect of freezer storage on quality of M. longissimus lumborum from fallow deer (Dama dama L.). South African Journal of Animal Science, 47(6): 834-841.
4. Fernandes, C. E., Vasconcelos, M. A., Ribeiro, Mde A., Sarubbo, L. A., Andrade, S. A., Filho, A.B. (2014): Nutritional and lipid profiles in marine fish species from Brasil. Food Chem, 160: 67–71.
5. Grau, A., Guardiola, F., Grimpa, S., Barroeta, A. C., & Codony, R. (2001). Oxidative stability of dark chicken meat through frozen storage: Influence of dietary fat and alpha-tocopherol and ascorbic acid supplementation. Poultry Science, 80: 1630–1642.
6. Kudrňáčová, E., Bartoň, L., Bureš, D., Hoffman, L. C. (2018): Carcass and meat characteristics from farm-raised and wild fallow deer (Dama dama) and red deer (Cervus elaphus): A review. Meat Science, 141(July): 9-27.
7. Liu, Z., Xiong, Y. L., & Chen, J. (2009). Identification of restricting factors that inhibit swelling of oxidized myofibrils during brine irrigation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57(22): 10999–11007.
8. Ludwiczak, A., Bykowska-Maciejewska,M., Składanowska-Baryza, J., Stanisz, M. (2019): Influence of the method of storage on the quality of venison from wild fallow deer (Dama dama). Meat Science, 156: 98-104.
9. Mapiye, C., Chimonyo, M., Dzama, K., Hugo, A., Strydom, P. E., Muchenje, V. (2011): Fatty acid composition of beef from Nguni Steers supplemented with Acacia karroo leaf-meal. J. Food Compos. Anal. 24: 523–528.
10. Mexia, I.A., Quaresma, M.A.G, Coimbra, M.C.P, Dos Santos, F.A, Alves, S.P.A, Bessa, R.J.B., Antunes, I.C (2020): The influence of habitat and sex on feral fallow deer meat lipid fraction. J Sci Food Agric, 100(7): 3220-3227.

11. Kajaba, I., Štencl, J., Ginter, E., Šašink, M.A., Trusková, I., Gazdíková, K., Hamede, J., Bzdúch, V. (2015). Odporúčané výživové dávky pre obyvateľov v Slevenskej republike (9. revízia). In Vestník MP SR, roč. 63, čiastka 4-5, jún 2015. s.28.
12. Schwert, R., Verlindo, R., Cichoski, A. J., Oliveira, D., & Valduga, E. (2011). Comparative evaluation of liquid and traditional smoke on oxidative stability, color and sensory properties of Brazilian calabrese sausage. CyTA Journal of Food, 9(2): 131–134.
13. Švrčula, V., Košinová, K., Okrouhlá, M., Chodová, D., Hart, V. (2019): The effect of sex on meat quality of fallow deer (Dama dama) from the farm located in the Middle Bohemia. Italian Journal of Animal Science, 18(1): 498–504.
14. Ulbricht, T.L.V.; Southgate, D.A.T. (1991): Coronary heart disease: Seven dietary factors. Lancet. 338: 985–992.
15. Volpelli, L.A, Valusso, R., Morgante, M., Pittia, P., Piasentier, E. (2003): Meat quality in male fallow deer (Dama dama): Effects of age and supplementary feeding. Meat Science, 65: 555–562.
16. Wołoszyn J, Haraf G, Okruszek A, Wereńska M, Goluch Z, Teleszko M. (2020): Fatty acid profiles and health lipid indices in the breast muscles of local Polish goose varieties. Poult Sci, 99(2): 1216-1224.
17. Zhou, G.H., Xu, X.L., Liu, Y. (2010): Preservation technologies for fresh meat–A review. Meat Science. 86: 119-128.
18. Žmijewski, T., Modzelewska-Kapituła, M., Pomianowski, J., Ziomek, A. (2020): Farmed-raised fallow deer (Dama dama L.) carcass characteristics and meat nutritional value. Journal of Food Science and Technology, 57: 3211–3220.
19. Pinto, F., Tarricone, s., Marsico, G., Forcelli, M.G., Celi, R., Rasulo, A. (2009): Nutritional quality of meats from young fallow deer (*Dama dama*) of diferent ages. Prog Nutr, 11:57-68.
20. WARRISS, P. D. *Meat Science* An Introductory Text, CAB International: 2000. p. 310. ISBN 0-85199-424-5.

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

HODNOTENIE ZDRAVOTNEJ BEZPEČNOSTI VODY V RYBOCHOVNOM ZARIADENÍ

WATER HEALTH SAFETY ASSESSMENT OF QUALITY IN RAINBOW TROUT FARMING

Sasáková Naďa, Popelka Peter *, Takáčová Daniela, Kachnič Ján, Vargová Mária, Veszelits Laktičová Katarína, Hromada Rudolf

Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat UVLF v Košiciach

**Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín UVLF v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika*

ABSTRAKT

Water is effectively the habitat where rainbow trout live so it must be monitored and preserved as best as possible in terms of temperature and physico-chemical parameters and quality. All these aspects are the basis of ensuring high-quality rainbow trout farming. Sustainable management, together with a genetic program of rainbow trout specimens employed, based on selected fish showing the best performance in feed efficiency, will be the next challenge to further improve the fish performance and environment.

The aim of the study was to compare the quality of water from four sampling sites in the farm for the breeding of rainbow trout. A comparison was intended to assess the microbial contamination and physico-chemical parameters of water under intensive rearing conditions of rainbow trout. Results of microbiological parameters of water from four sampling sites in the farm showed that the highest level of microbial contamination was in the effluent from the raceway, respectively, in the breeding raceway. Higher number of bacteria in these sampling sites is probably related to rainbow trout feeding and production of excrement. Comparison of selected physical and chemical parameters showed that the biggest differences between sampling sites was recorded in the spring in chemical oxygen demand (COD) in the effluent from the raceway. Higher values of COD in this place are likely related to the production of excreta and subsequent organic pollution of water in the breeding raceway. The amounts of soluble substances were like COD highest in rearing raceway and in the effluent from the raceway.

KEYWORDS: rainbow trout farming; water quality; feed

ÚVOD

Voda je v skutočnosti biotopom, kde žije pstruh dúhový, preto je potrebné ju monitorovať a chrániť čo najviac hlavne z hľadiska teploty a kvality fyzikálno-chemických parametrov. Všetky tieto aspekty sú základom zabezpečenia kvalitného chovu pstruha dúhového. Udržateľný manažment spolu s genetickým programom použitých exemplárov pstruha dúhového je založený na výbere rýb, ktoré vykazujú najlepšie výsledky vo využití krmiva (Fiordelmondo et all., 2020). Kvalita vody je rozhodujúcim faktorom nielen pre zdravie rýb, produkciu kvalitných rýb, ale zároveň má priamy vplyv na rozmnožovanie rýb. Spočíva hlavne v pravidelnej kontrole hydrochemických a fyzikálnych vlastností vody a cykloch kŕmenia sledovaných v priebehu roka. Pre rozmanitosť jej zloženia je voda prostredím nestálym, ktoré podlieha častým zmenám. Na základe chemických rozborov a zlepšovania ďalších fyzikálnych a chemických vlastností vody je potrebné vytvárať čo najlepšie podmienky pre správnu produkciu rýb. Vodné prostredie má poskytovať vyhovujúce prostredie nielen rybám, ale aj ďalším organizmom v nej žijúcich (O'Bryen and Lee, 2003).

Pstruh dúhový sa dobre sa uplatnil v studenovodnom rybnikárstve, kde sa stal hlavnou chovanou rybou. Uprednostňuje chladnejšie vody v teplotnom rozmedzí 14 až 17 °C, no dobre znáša i teploty nad 20 °C pri dostatku kyslíka. Vyžaduje dobre prekysličené vody (9 - 11 $mg.l^{-1}$ O_2) a preto jeho pokles pod 6 $mg.l^{-1}$ už ohrozuje jeho chov (Welker a kol., 2019). Rybári celého sveta považujú pstruha dúhového za jednu z najpopulárnejších športových rýb. Jeho atleticky stavané telo vyzerá vždy elegantne a hrá všetkými farbami dúhy. Táto ryba vyznačujúca sa výborným rastom, je menej náročná na potravu ako pstruh potočný a dobre využíva krmivo. Pstruh dúhový je v porovnaní s ostatnými lososovitými rybami menej náročný na kvalitu vody. Možno ho chovať aj v dobre okysličených nížinných vodách (Cooke a kol., 2000).

V dôsledku veľkej prispôsobivosti voči podmienkam prostredia sa vplyvom dlhoročnej šľachtiteľskej práce vytvorilo viacero úžitkových línií pstruha dúhového. Pre zlepšenie úžitkových vlastností sa dokonca vykonáva aj hybridizácia pstruha dúhového s inými druhmi lososovitých rýb (Beleš a kol., 2010).

V úplnom rybničnom hospodárstve sa reprodukcia, inkubácia ikier a čiastočný odchov plôdika robí v liahni. Jej kapacita je závislá od množstva prítokovej vody. Kritéria kvality vody pre liahne lososovitých rýb sú oveľa prísnejšie než pre teplomilné druhy rýb. Za najvhodnejší zdroj môžeme považovať pramenitú vodu, ktorá si udržuje stálu teplotu, zároveň je čistá a nehrozí zavlečenie parazitov a ochorení. Pri použití pramenitej vody je však bezpodmienečne potrebné a dôležité prevzdušňovanie, pretože obsahuje menej kyslíka.

K získaniu optimálnej teploty sa môže pramenitá voda miešať s oteplenou priemyselnou vodou alebo geotermálnou vodou. Pri nedostatku prítokovej vody je možné použiť aj recirkuláciu použitej vody. Liahne, ktoré sú napojené na povrchový zdroj musia vodu filtrovať a tak odstraňovať rôzne mechanické častice, ktoré sa môžu usadiť na ikrách a spôsobovať ich udusenie. Rozkladom mŕtvych ikier vzniká vhodné prostredie pre rozvoj baktérií a plesní. Používajú sa niekoľkodielne filtre, naplnené rôznymi filtračnými materiálmi ako napríklad piesok, štrk, rôzne porézne odpady z umelých hmôt. Zanesené filtračné náplne sa postupne vymieňajú, a tým je zabezpečená funkčnosť filtrov. Súčasťou liahne sú i manipulačné nádrže na krátkodobé prechovávanie generačných rýb pred výterom, resp. pri manipulácii. Základným faktorom pre priebeh procesu inkubácie ikier je zabezpečenie stáleho prietoku vody zodpovedajúcej kvality a teploty, ktorá má zásadný význam pri prežívaní, ako aj doby embryonálneho vývoja inkubovaných ikier (Ellis a kol., 2002).

MATERIÁL A METÓDY

Na sledovanej farme zameranej na chov lososovitých rýb boli odoberané vzorky vody na prítoku a na odtoku z farmy. Farma obhospodaruje 10 ha vodných plôch s produkciou 110 ton pstruha dúhového, ktorého celú produkciu spracováva vo vlastnom spracovateľskom zariadení. Rybochovné zariadenie sa nachádza v oblasti horného Turca a je napájané z rieky Turiec, ktorá vyteká z vodnej nádrže Turček. Vzorky vody boli odoberané zo 4 odberných miest, kde vzorku č. 1 predstavoval Rakšiansky potok, vzorkou č. 2 bola akumulačná nádrž, vzorku č. 3 predstavoval chovný žľab a vzorka č. 4 bola odoberaná na výtoku vody z chovných žľabov. Vzorky vody boli analyzované v súlade s nariadením č. 296/2006 Z. z., ktorým sa stanovujú legislatívne požiadavky na vybrané fyzikálno-chemické a mikrobiologické ukazovatele povrchových vôd zameranými na chov rýb.

VÝSLEDKY

V priebehu jednotlivých ročných období boli získané výsledky analýz mikrobiologických ukazovateľov kvality vody ako sú mezofilné baktérie, koliformné a fekálne koliformné baktérie, ako aj vybraných fyzikálno-chemických ukazovateľov kvality vody.

Najvyššia kontaminácia mikroorganizmami bola sledovaná v odberovom mieste 1 v letnom a jesennom období. Najnižšie počty uvedených baktérií boli zistené v jarnom období. Porovnaním mikrobiologických ukazovateľov vody v odberovom mieste 2 v jednotlivých ročných obdobiach môžeme konštatovať, že najvyššia kontaminácia bola v letnom, ako aj v jesennom období. Najnižšie počty uvedených baktérií boli zistené v zimnom období.

Mikrobiologické ukazovatele vody v odberovom mieste 3 poukazujú na kontamináciu mezofilnými baktériami vo všetkých ročných obdobiach. Počty koliformných baktérii boli najvyššie v letnom a jesennom období a fekálne koliformné baktérie boli najpočetnejšie v lete a najnižšie počty boli preukázané na jar.

Porovnaním mikrobiologických ukazovateľov kvality vody v odberovom mieste 4 bolo zistené, že počty mezofilnými baktérií boli najvyššie v letnom a jesennom období, počty koliformných baktérii a fekálne koliformné baktérie boli tiež najvyššie v letnom a jesennom období a najnižšie počty boli zistené v zime.

Sledované boli vybrané fyzikálno-chemické ukazovatele kvality vody, ako sú pH, obsah dusičnanov (NO_3^-) a obsah organických látok vyjadrených ukazovateľom $CHSK_{Mn}$.

Porovnaním výsledkov zistených v jednotlivých ročných obdobiach v odberovom mieste 1 bolo zistené, že najvyššia hodnota dusičnanov bola zistená v zimnom období a najvyšší obsah organických látok ($CHSK_{Mn}$) bol nameraný v jarnom období v porovnaní so všetkými ostatnými ročnými obdobiami. V odberovom mieste 2 bola zistená najvyššia hodnota dusičnanov v zimnom období a najvyššia koncentrácia organických látok ($CHSK_{Mn}$) bola nameraná v jarnom období v porovnaní so všetkými ostatnými ročnými obdobiami. V odberovom mieste 3 najvyššia hodnota dusičnanov bola zistená v zimnom období a najvyššia koncentrácia organických látok ($CHSK_{Mn}$) bola nameraná v jarnom období v porovnaní so všetkými ostatnými ročnými obdobiami.

V odberovom mieste 4 v jednotlivých ročných obdobiach bola zistená najvyššia hodnota dusičnanov v zimnom období a najvyššia koncentrácia organických látok ($CHSK_{Mn}$) bola nameraná v jarnom období v porovnaní so všetkými ostatnými ročnými obdobiami.

Koncentrácia amóniových iónov bola nižšia ako 0,2 $mg.l^{-1}$ počas celého hodnoteného obdobia v odberových miestach, kde bola sledovaná a hodnotená kvalita vody.

DISKUSIA

Cieľom Rámcovej smernice Európskej únie o vode je udržanie dobrého stavu vodných útvarov povrchových vôd, čo priamo súvisí aj s významom podpory trvalo udržateľného využívania vodných zdrojov v umelom chove rýb v súlade s environmentálnymi pravidlami. Autori Fiordelmondo et all. (2020) porovnávali fyzikálno-chemické parametre kvality vody v rokoch 2009-2019 s cieľom zistenia rozdielov v kvalite vody vytekajúcej z farmy. Zamerali sa na vyhodnotenie zmien prijatých v technológii chovu a kŕmenia na zlepšenie rastu, dosiahnutie vysokej kvality výroby v súlade s udržateľnosťou a kvalitou vody porovnanou na vstupe a výstupe.

V Európe je pstruh dúhový jednou z hlavných sladkovodných rýb chovaných v prostredí, ktoré si vyžaduje inovatívne štúdie na zlepšenie riadenia farmy, dobré životné podmienky rýb a udržateľnosť životného prostredia (EEA, 2018). Farmy s chovom rýb môžu byť ovplyvnené dôsledkami globálnych klimatologických zmien s dopadom týkajúcim sa zníženia množstva dostupnej vody a zhoršujúcej sa kvalite vody v riekach. Uvedené zmeny môžu viesť ku zhoršeniu kvality vody, redukcii kyslíka a hromadeniu metabolitov rýb, amoniaku, CO_2 a NO_2 ako aj bakteriálnych metabolitov vo vode (Welker a kol., 2019). Zhoršenie kvality vody vytvára stres, zvyšuje citlivosť na ochorenia, vplýva na príjem krmiva a rast a indukuje zníženie hodnoty dobrých životných podmienok (Cooke a kol., 2000; Ellis a kol., 2002). Kvalita vody je preto kľúčovým faktorom pre chov rýb.

V prípade akvakultúry špecializovanej na rastovú fázu pstruha dúhového je technika odchovu založená na použití prietokových systémov, ktoré pozostávajú z nábehových žľabov alebo betónových nádrží s vodou neustále stekajúcou po nádržiach a odstraňovaní odpadu na výstupe gravitáciou a prúdom vody. Vplyv odpadových vôd z fariem na pstruhy na priľahlé ekosystémy závisí od množstva a druhu znečisťujúcich látok a asimilačnej kapacity prijímacieho systému (O'Bryen and Lee, 2003).

ZÁVER

V chove pstruhov vzniká vedľajší produkt, ktorým sú organické odpady vo forme výkalov

a v menšej miere aj nespotrebované krmivo. Vyššie hodnoty obsahu organických látok na odtoku súvisia práve s produkciou výkalov a následným organickým znečistením vody v chovnom žľabe, ako aj spôsobom chovu pstruha dúhového, kedy sa síce v zimnom období znižuje intenzita kŕmenia, ale súčasne sa nevykonáva pravidelné odstraňovanie kalu chovných žľabov. Výkaly, ktoré sa v sedimente na dne žľabu hromadia, spôsobujú zvýšené organické znečistenie. Ich prítomnosť bola potvrdená aj stanovením množstva nerozpustných látok, ktoré bolo najvyššie v jarnom období. Porovnaním sledovaných mikrobiologických ukazovateľov kvality vody vo všetkých odberových miestach v jednotlivých ročných obdobiach môžeme konštatovať, že najvyššia kontaminácia bola zistená v letnom a jesennom období, čo bolo v súlade s vyššou teplotou tohto ročného obdobia a intenzívnejším chovom.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená projektom VEGA 2/0125/17.

LITERATÚRA

1. BELEŠ, P. a kol. *Hospodárenie v rybárskych revíroch*. Trenčín : DIGIPress, 2010. 224s. ISBN 9788096801596.
2. EUROPEAN ENVIRONMENT AGENCY. European Waters—Assessment of Status and Pressures; European Environment Agency: Copenhagen, Denmark, 2018; pp. 21–29. ISBN 978-92-9213-947-6.
3. COOKE et al. Swimming activity and energetic expenditure of captive rainbow trout Oncorhynchus mykiss (Walbaum) estimated by electromyogram telemetry. In *Aquaculture Research.* 2000, 31, 495-505.
4. ELLIS, T. et al. The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. Review paper. In *Journal of Fish Biology.* 2002, 61, 493-531.
5. FIORDELMONDO, E et all.: Improvement of the Water Quality in Rainbow Trout Farming by Means of the Feeding Type and Management over 10 Years (2009–2019). Animals 2020, 10, 1541; doi:10.3390/ani10091541.
6. O'BRYEN P.J., LEE C.-S. Management of aquaculture effluents workshop discussion summary. In *Aquaculture*. 2003 266, 227-242.
7. WELKER, T.L.; OVERTURF, K.; ABERNATHY, J. Effect of aeration and oxygenation on growth and survival of rainbow trout in a commercial serial-pass, flow-through raceway system. Aquac. Rep. 2019, 14, 100194.

Kontaktná adresa: Naďa Sasáková, Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; E-mail: nada.sasakova@uvlf.sk

KVALITATIVNE PARAMETRE VAJEC PO SUPLEMENTÁCII VÝŽIVY NOSNÍC FERMENTOVANÝM PRODUKTOM

EGG QUALITATIVE PARAMETERS AFTER FEED SUPPLEMENTATION OF LAYNG HENS DIET WITH FERMENTED PRODUCT

Semjon Boris[1], Bartkovský Martin[1], Marcinčáková Dana[1], Klempová Tatiana[2], Slaný Ondrej[2], Reitznerová Anna[1], Čertík Milan[2], Marcinčák Slavomír[1]

[1]University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic

[2] Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology in Bratislava, Radlinského 2101/9, 812 37 Bratislava, Slovak Republic

ABSTRACT

The aim of this experiment was to evaluate effect of the supplementation of laying hens diet with solid-state fermented feed on egg qualitative variables. For the trial, 20 Lohmann Brown classic layers, aged 17 weeks, were selected and individually weighed and divided into two groups (control and experimental). The control group of laying hens was fed with basic feed mixtures. The laying hens of experimental group received the same diet as control group, but enriched with 10% supplementation of fermented product, prepared by the solid-state fermentation, whereas the low filamentous fungal strain *Mortierella alpina* CCF 2861 was used. The supplementation of laying hens with experimental diet showed a significant effect on eggshell hardness, which was instrumentally measured and also evaluated by the sensory panel ($p < 0.05$). Haugh units, air cell, yolk index, albumen index, pH did not showed significant differences between control and experimental group ($p > 0.05$).

Key words: lying hens, fermented product egg, quality

INTRODUCTION

The popularity of egg is rooted from its nutritional value. The water content of a hen's egg is almost 74.4%, while the content of proteins and lipids are 12.3% and 11.6%, respectively (Tahergorabi and Jaczynski, 2016). The hen's egg is also a rich dietary source of easily digestible fats (Eddin et al., 2019). There is growing worldwide interest in methods for manipulating the composition of fatty acids (MSF) in the fat of meat and eggs produced in animals, mainly in increasing the proportion of PUFAs and, conversely, in reducing the

proportion of saturated fatty acids. Breeders and producers are still working to improve the *n*-3/*n*-6 PUFAs ratio. Some strains of lower filamentous fungi are able to synthesize PUFAs in the process of solid-state fermentation on cereals (Sakuradani, 2009). Solid-state fermentation (SSF) is a well-known fermentation technique, which increases the bioavailability of nutrients while inhibiting the growth of gut pathogenic bacteria. The SSF process requires the cultivation of microorganisms on solid materials under certain conditions in the absence of free water (Semjon et al., 2020). Feeds for animals enriched with such pre-fermented cereals are a source of PUFAs, which will subsequently be reflected in their increased proportion in animal products (meat, eggs). Numerous studies have been published on the supplementation of hen's diets with ALA-rich seeds or oil; EPA/DHA-rich fish oil, fish oils combined with humic preparations (Gładkowski et al., 2011), microalgae (such as biomass of Spirulina maxima) (Saeid and Chojnacka, 2015; Neijat, et al., 2016; Saeid et al., 2016).

The aim of this experiment was to evaluate effect of the 10% supplementation of laying hens diet with solid-state fermented product on egg qualitative variables and sensory characteristics.

MATERIAL AND METHODS

Fermented product was prepared by fungal solid-state fermentation according to the modified method of Čertík et al. (2006). The low filamentous fungal strain *Mortierella alpina* CCF 2861 was used. For the preparation of the spore suspension, which was inoculated with the SSF substrate, *M. alpina* CCF 2861 was grown for 10 days on rice. After 10 days, the spores were washed with distilled water with 0.05% Tween 80 and filtered through a gauze to remove the solid substrate.

The experiment was carried out at the University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice. For the trial, 20 laying hens Lohmann Brown classic layers aged 17 weeks. The control group of laying hens was fed with a commercial feed mixture without the supplementation of FF (De Heus, Bučovice, Czech Republic). The experimental group of laying hens was fed with commercial feed mixture supplemented with 10% of fermented product (FP). First two weeks of acclimatization for animals was assigned to the experimental groups. FP was supplemented to the laying hens after the beginning of egg performance, in the 21st week.

Determination of egg qualitative variables

To determine egg quality, 60 eggs, collected from week 25, were used for analyses. Egg Analyzer™ (Orka Food Technology Ltd., Ramat HaSharon, Israel) was used to determine the egg weight, Haugh units (HU), quality grade and yolk colour. The device has measured egg

weight (g), height of the thick albumen (mm), and colour of the yolk. The first two measurements were used for calculation of HU, which indicates egg quality. The equation for working out the rating is shown below: HU = 100 log (h − $1.7w^{0.37}$ + 7.6), where: HU = egg quality in Haugh units; w = egg weight in grams; h = height of the thick albumen in mm (Nagy et al., 2011). The air cell depth of eggs was expressed in milimeters. The percentage of shell, yolk and albumen was calculated. Eggshell breaking force was measured in accordance with the manufacturer's instructions by the Egg force reader (Orka Food Technology Ltd., Ramat HaSharon, Israel) - a compact system for automatic measuring of the eggshell breaking point. The unit of strength measurement involves gentle application of force on the eggshell until it cracks. The results were interpreted as kilogram-force (kgf). The pH of egg yolk and albumin were measured by the WTW 7110 pH meter (WTW GmbH, Weilheim, Germany).

Sensory evaluation

Sensory evaluation was performed in the form of a round table. Egg samples vere presented to the evaluators in groups on white plates to assess the external sensory properties of the egg shell. Subsequently, selected egg samples from each group were individually broken into a white plate and each assessor evaluated the sensory variables of the raw egg before heat treatment, respectively. in the raw state.

Subsequently, the egg samples were boiled in hot water for 10 minutes and cooled to laboratory temperature. After separating the shells, they were cut into a 5 mm thick rings and placed on white plastic plates divided into two sections with a three-digit code. The panel evaluated egg shell (appearance, colour, shape, surface, hardness, and overall appearance), egg without heat treatment (egg white transparency, egg white colour, yolk visibility, yolk motility, yolk colour), egg after heat treatment (appearance, colour, aroma, taste, texture, overall acceptability). The sensory panel evaluated each analysed organoleptic parameter on a 9-point scale. The white bread and mineral water was presented to evaluators to refresh the gustatoric perceptions.

Statistical analysis

The results of the qualitative parameters of experimental egg samples were evaluated using the statistic method of Student's paired *T*-test method in Graph Pad Prism 8.3 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). A confidence interval of 95% was set as the level of statistical significance ($p \leq 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

The effect of solid-state fermented product on quality of the produced eggs was examined on the fifth week of egg performance (in 25th week). The results of the qualitative variables determinations are shown in Table 1. The eggs from experimental group had a significantly higher eggshell hardness, 5.80 ± 0.96 kgf, than eggs produced by the control laying hens group (2.78 ± 1,16 kgf), which was fed only with basic feed mixture ($p < 0.05$). The experimental supplementation in the diet of laying hens had no significant effects on egg quality traits in terms of yolk and albumen index and in the size of air bubbles ($p > 0.05$). The pH of yolk and albumen did not show significant differences between both experimental groups of laying hens ($p > 0.05$). The eggshell hardness was statistically different among the both control and experimental group ($p < 0.05$). Maximum eggshell hardness was determined in egg samples of experimental group, which was 2.86 times higher than in the eggs of control group (Table 1). The supplementation of laying hens with experimental diet showed a significant effect on eggshell hardness ($p < 0.05$).

Table 1, The results of qualitative variables of produced eggs (mean ± SD)

Variable	C	FF10
Eggshell hardness [kgf]	2.78 ± 1.16^{a}	5.80 ± 0.96^{b}
Haugh unit	65.66 ± 23.19	64.42 ± 31.34
Air cell [mm]	1.56 ± 0.60	1.74 ± 0.25
Yolk index [%]	40.71 ± 6.59	39.78 ± 6.38
Albumen index [%]	6.84 ± 4.05	7.96 ± 2.29
Yolk pH	6.03 ± 0.02	6.12 ± 0.03
Albumen pH	8.26 ± 0.03	8.39 ± 0.02

Note: C - control group of laying hens; FF10 - laying hens fed with diet supplemented with 10% of fermented product. $^{a, b}$ - means in a row with a different superscript letter are statistically different (Student T-test, $p < 0.05$).

Figure 1 showed the results of sensory evaluation of egg content before heat treatment. The sensory panel evaluated egg shell parameters, where the egg shell hardness and overall apearance between control and experimental group significantly differed ($p < 0.05$).

Figures 2 and 3 showed the results of sensory evaluation of egg content before and after heat treatment. The sensory evaluation did not showed difference between control and experimental group ($p < 0.05$).

Figure 1, The results of sensory evaluation of egg content before heat treatment

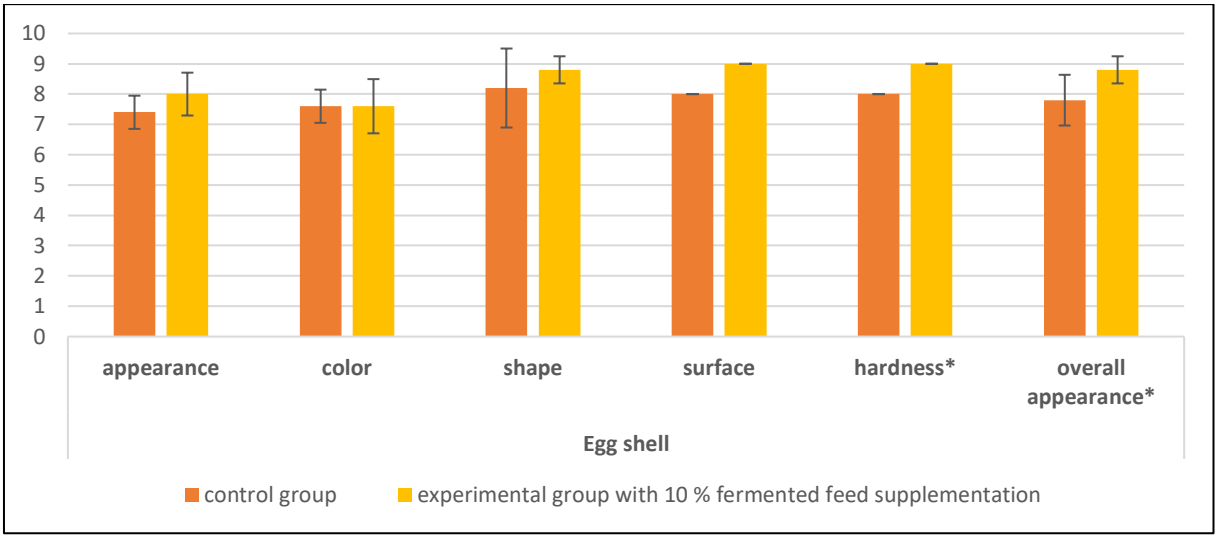


Figure 2, The results of sensory evaluation of egg content before heat treatment

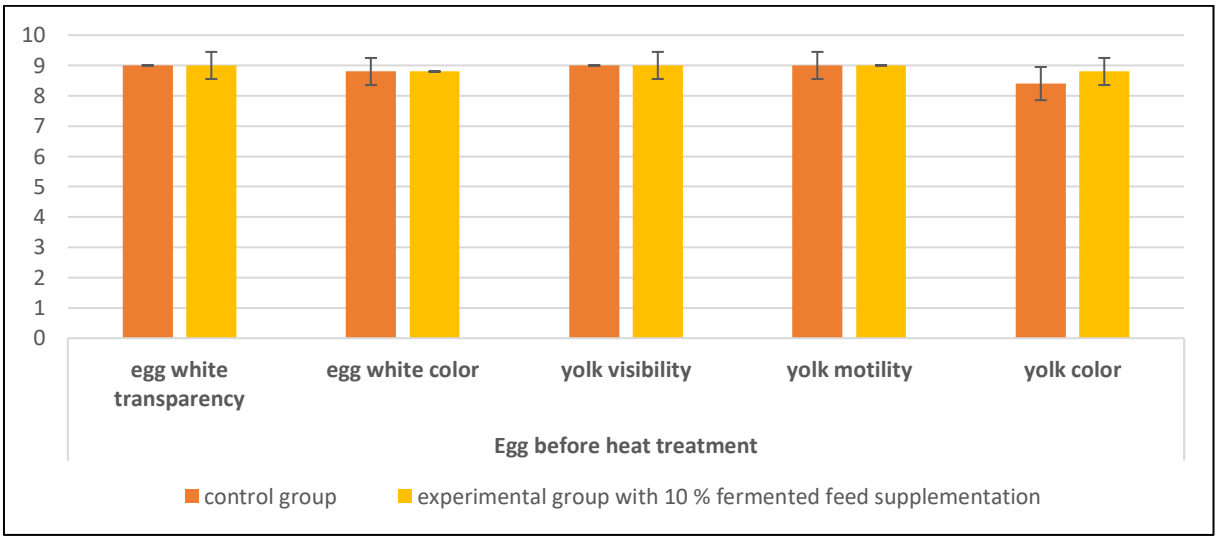
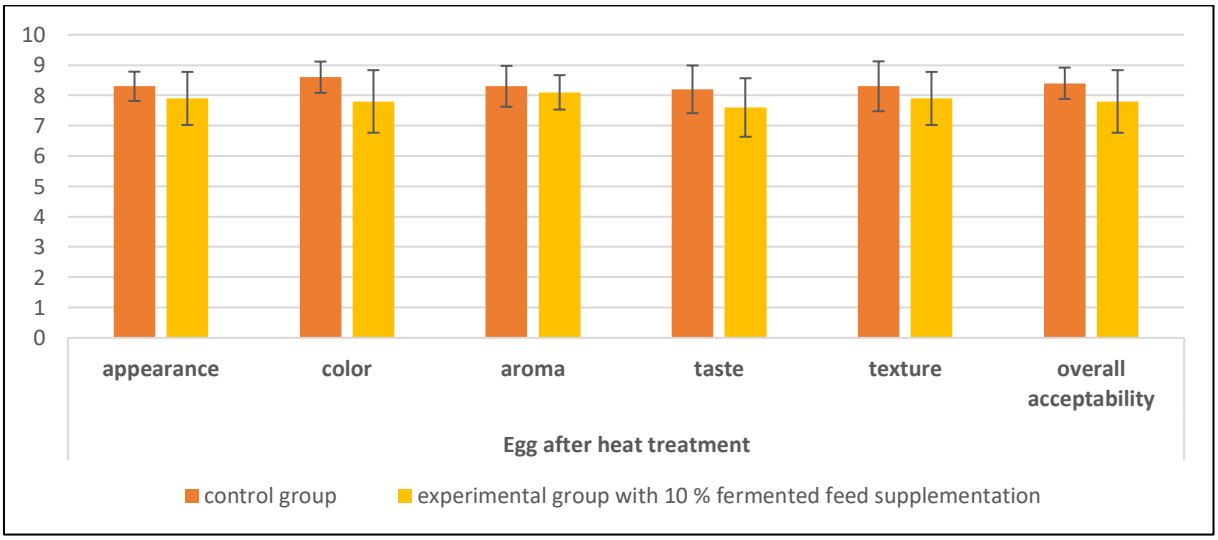


Figure 3, The results of sensory evaluation of egg content before heat treatment



Egg producers, consumers and processors´ perspectives have different meanings for the definition of egg quality. Easy eggshell removal and separation of the yolk from the albumen, as well as functional properties of eggs, are very important for the processors of eggs (Alleoni and Antunes, 2001). For the egg producers, egg quality usually means the egg weight and quality of eggshell, whereas consumers are interested mostly in shelf life, external appearance of eggs and sensorial qualities, such as eggshell and yolk colour (Faitarone et al., 2016; Ketta and Tůmová, 2016).

Several studies have been published in recent years, in which filamentous fungi in SSF feed were successfully applied in poultry nutrition. However, most published scientific articles with application of SSF feed in poultry production are related to broilers nutrition (Sugiharto and Ranjitkar, 2019; Marcinčák et al., 2018; Bača et al., 2014).

CONCLUSION

The supplementing the diet of laying hens with solid-state fermented product (feed) produced by the low filamentous fungal strain *Mortierella alpina* CCF 2861 had significant effect on egg shell hardness, which was evaluated by instrumental method and sensory analysis. Moreover according to the results of sensory evaluation, the egg shell appearance differed between control and experimental group. It can be concluded that supplementation of laying hens diet with SSF feed (10%) influenced mainly the egg shell quality. However, further studies are necessary to investigate the effect of fermented feed on microbial, physical, and chemical properties of eggs, including the fatty acids profile of eggs.

ACKNOWLEDGEMENT

This research was supported by the Slovak Research and Development Agency under contracts No. APVV-18-0039.

REFERENCES

1. Tahergorabi, R. Jaczynski, J. Egg as nutraceuticals. In P. Hester (Ed.), Egg Innovations and Strategies for Improvements, Academic Press, Cambridge, MA, USA, 2016, pp. 271-279.
2. EDDIN, Abdulhakim Sharaf; IBRAHIM, Salam A.; TAHERGORABI, Reza. Egg quality and safety with an overview of edible coating application for egg preservation. *Food chemistry*, 2019, 296, pp. 29-39.

3. Sakuradani, E.; Ando, A.; Ogawa, J.; Shimizu, S. Improved production of various polyunsaturated fatty acids through filamentous fungus Mortierella alpina breeding. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2009, 84, pp. 1-10.
4. Semjon, B.; Bartkovský, M.; Marcinčáková, D.; Klempová, T.; Bujňák, L.; Hudák, M.; Jaďuttová, I.; Čertík, M.; Marcinčák, S. Effect of Solid-State Fermented Wheat Bran Supplemented with Agrimony Extract on Growth Performance, Fatty Acid Profile, and Meat Quality of Broiler Chickens. *Animals* 2020, 10, 942.
5. Čertík, M., Sláviková, L., Masrnová, S., Šajbidor, J. Enhancement of Nutritional Value of Cereals with γ-Linolenic Acid by Fungal Solid-State Fermentations. *Food Technology & Biotechnology*, 2006, vol. 44, no. 1, pp. 75-82.
6. Gładkowski, W., Kiełbowicz, G., Chojnacka, A., Gil, M., Trziszka, T., Dobrzański, Z., Wawrzeńczyk, Cz. Fatty acid composition of egg yolk phospholipid fractions following feed supplementation of Lohmann Brown hens with humic-fat praparations. *Food Chemistry*, 2011, vol. 126, pp. 1013-1018.
7. Nagy J., Jevinová P., Korenéková B., Kožárová I., Pipová M., Popelka P., Turek P. *Production technology and quality of poultry, fish, game and honey products* (in Slovak) 1st ed. Košice, Slovakia: Publishing Center of the University of Veterinary Medicine, 2011.
8. Neijat, M., Ojekudo, O., House, J.D. Effect of flaxseed oil and microalgae DHA on the production performance, fatty acids ant total lipids of egg yolk and plasma in laying hens. *Prostaglandins, leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 2016, vol. 2115, pp. 77-88.
9. Alleoni, A.C.C., Antunes, A.J. Haugh unit as a measure of the quality of hen eggs stored under refrigeration. Sientia Agricola, 2001, vol.58, no.4, p.681-685.
10. Bača, M., Marcinčák, S., Čertík, M., Popelka, P., Marcinčáková, D., Guothová, L., Molnár, L., Klempová, T., Maskaľová, I. 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. 2014, vol. 83, no. 4, p. 379-384.
11. Faitarone, A.B.G., Garcia, E.A., Roca, R.O., Andrade, E.N., Vercese, F., Pelícia, K. Yolk colour and lipid oxidation of the eggs of commercial white layers fed diets supplemented with vegetable oils. Brazilian Journal of Poultry Science, 2016, vol. 18, no. 1,

12. Ketta, M., Tůmová, E. Eggshell structure, measurements, and quality-affecting factors in laying hens: a review. Czech Journal of Animal Science, 2016, vol. 61, no. 7, p. 299-309.
13. Marcinčák, S., Klempová, T., Bartkovský, M., Marcinčáková, D., Zdolec, N., Popelka, P., Mačanga, J., Čertík, M. Effect of fungal solid-state fermented product in broiler chicken nutrition on quality and safety of produced breast meat. BioMed research international, 2018, vol. 2018. p. 1-8.
14. Sugiharto S., Ranjitkar, S. Recent advances in fermented feeds towards improved broiler chicken performance, gastrointestinal tract microecology and immune responses: A review. Animal Nutrition, 2019, vol. 5, p. 1-10.

Contact address: Boris Semjon, MVDr., PhD., Department of Food Hygiene, Technology and Safety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: boris.semjon@uvlf.sk

ZMENY TEXTURÁLNYCH PARAMETROV PRSNEJ SVALOVINY KURČIAT PO SKRMOVANÍ FERMENTOVANÉHO PRODUKTU A HUMÍNOVÝCH LÁTOK PRED A PO TEPELNOM OŠETRENÍ MÄSA

CHANGES IN TEXTURE PARAMETERS OF CHICKEN BREAST MEAT AFTER FEEDING OF FERMENTED PRODUCT AND HUMIC SUBSTANCES BEFORE AND AFTER MEAT HEAT TREATMENT

Semjon Boris[1], Benešová Lucia[2], Jakabová Silvia[2], Marcinčáková Dana[1], Klempová Tatiana[3], Marcinčák Slavomír[1]

[1] *Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika*

[2] *Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra, Slovenská Republika*

[3] *Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 2101/9, 812 37 Bratislava, Slovenská Republika*

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the effect of feed supplementation of broilers during their fattening with humic substances and fermented feed. A 160 pieces of broiler chickens of meat hybrid COBB 500 fed feed mixtures BR1 (1st - 10th day), BR2 (11th - 30th day) and BR3 (31st - 37th day). The diet of first experimental group was supplemented with 0.7% humic substances (HS). In the second experimental group, feed mixtures were supplemented with 10% fermented product (FP) fermented using *Cunninghamella elegans* and *Mortierella alpina* respectively solid-state fermentation. In the third experimental group, broilers fed a combined feed mixture supplemented with 0.7% HS and 10% FP. The control group was fed with diet without supplements. On the 38th day of fattening, the chickens were stunned, killed, dissected and the textural parameters of the individual breast muscle samples were analysed. The achieved results showed that the groups of raw samples did not significantly differ in the work of the knife (hardness) and firmness ($p > 0.05$). However, the significant effect of heat treatment of meat samples on textural parameters $p < 0.001$, was confirmed.

Key words: broiler, meat, texture, quality

ÚVOD

Textúra je pravdepodobne najdôležitejším kvalitatívnym faktorom spojeným so spokojnosťou spotrebiteľov s kvalitou stravovania hydiny (Mir et al., 2017). Štruktúra a stupeň tuhosti mäsa je daná funkciou množstva vody zadržanej vo svalovine.Voda pevne viazan na svalové bielkoviny má boptnací účinok na svalové bielkoviny, pričom zaberá priestory medzi myofibrilami a dodáva mäsu pevnejšiu štruktúru (Anadon, 2002). Rýchlosť a rozsah chemických a fyzikálnych zmien vyskytujúcich sa vo svalovine tiež určuje jeho jemnosť. Pri omračovaní a vykrvovaní brojlerov sa zastaví krvný obeh, ktorý následne blokuje prísun kyslíka alebo živín do svalov. Preto svalom dochádza energia, sťahujú sa a stuhnú, pričom toto stuhnutie sa nazýva *rigor mortis*, ktoré je nasledované opätovným zmäknutím, vďaka čomu je mäso po tepelnej úprave mäkké (Northcutt, 2009). Medzi dôležité vlastnosti hydinového mäsa patrí aj jeho nízky obsah energie a kolagénu, ako aj jemná štruktúra, vďaka ktorej je tepelná úprava jednoduchá a krátka. Upravené mäso je tak ľahko stráviteľné a krehké (Singh et al., 2015). Okrem toho je spravidla cena hydinového mäsa v porovnaní s inými druhmi mäsa pomerne nízka. Používanie humínových látok vo výžive zvierat ako suplementov je v súčasnosti cieľom mnohých experimentov, hlavne za účelom náhrady používania stimulátorov rastu, ktoré boli zakázané v Európskej Únii (Hassan et al., 2010; Arif at al., 2018; Esenbuga et al., 2008, Domínguez-Negrete et al., 2019, Semjon et al., 2020, Hudák et al., 2021). Ich použitie vo výkrme hospodárskych zvierat môže významne prispievať k ziskovosti v priemysle (Arif et al., 2018). Jedným z ďalších spôsobov obohacovania výživy brojlerových kurčiat s cieľom zlepšiť funkčné vlastností produkovaného mäsa brojlerov je možný aj použitím fermentovaného produktu (FP), vyrábaného fermentáciou na pevnom substráte. V súčasnosti je publikovaných len málo štúdií zameraných na výskum vplyvu kombinácie naturálnych humínových látok a fermentovaného krmiva vyrobeného za použitia *Cunninghamella elegans* a *Mortierella alpina*. Cieľom tejto práce bolo posúdiť vplyv suplementácie základných kŕmnych zmesí pre brojlerové kurčatá o 0,7 % humínových látok a 10 % FP, vrátane ich kombinácie na vybrané texturálne parametre prsnej svaloviny mäsa bojlerových kurčiat.

MATERIÁL A METODIKA

Brojlerové kurčatá (mäsový hybrid, COBB 500) v počte 160 kusov (40 kusov v každej skupine) vo veku 1 deň boli pre experiment privezené priamo od dodávateľa (Hydina Slovensko s.r.o.). Kurčatá boli umiestnené na hlbokej podstielke pri zabezpečení a kontrole podmienok mikroklímy. Všetky skupiny kurčiat boli kŕmené dvakrát denne rovnakými priemyselne vyrábanými kŕmnymi zmesami BR1 (1. – 10. deň), BR2 (11. – 30. deň) a BR3 (31. – 37. deň).

Prístup k vode mali kurčatá *ad libitum*. Spotreba krmiva a pitnej vody bola u každej skupiny kurčiat sledovaná samostatne až do konca pokusu (37 dní).

Kontrolnej skupine brojlerov (K) boli podávané len základné kŕmne zmesi počas celej doby experimentu. V prvej experimentálnej skupine (F) boli KZ suplementované o fermentovaný produkt v dávke 10 %. FP predstavoval zmes 50 % pšeničných otrúb fermentovaných s použitím kmeňa *Cunninghamella elegans* CCF2591 – zdroj gamma linolénovej kyseliny a 50 % kukuričného šrotu fermentovaného s použitím kmeňu *Mortierella alpina* – zdroj kyseliny eikosapentaénovej). FP bol pridávaný do krmiva v KZ BR2 a BR3 od 11. dňa výkrmu. O množstvo fermentovaného produktu bolo znížené množstvo jednotlivých kŕmnych zložiek v KZ. V ďalšej experimentálnej skupine (H) bola KZ suplementovaná o humínové látky v dávke 0,7 % vo forme prípravku Humac Natur AFM (Humac s.r.o., Košice) od 2. dňa výkrmu, pričom o dané množstvo bolo znížené množstvo KZ. V tretej pokusnej skupine (FH) bola kurčatám podávaná kombinácia fermentovaného produktu (10 %) s humínovými látkami (0,7 %), pričom o uvedené množstvo bolo znížené množstvo KZ. Na 38. deň výkrmu boli kurčatá omráčené, usmrtené, vypitvané a jednotlivé vzorky svaloviny boli analyzované 24 hodín po zabití brojlerov pričom boli skladované v chladiacej komore pri teplote do 4 ± 2 °C, resp. pri -20 ± 2 °C až do času analýzy vzoriek.

Príprava vzoriek

Experimentálne vzorky prsnej svaloviny brojlerov boli skladované pri teplote -20 ± 2 °C. Rozmrazovanie vzoriek prebiehalo pri teplote 6 ± 2 °C počas 24 hodín na nerezovej mriežke s podložnou miskou. Počas pomalého rozmrazovania za uvedených podmienok nedochádzalo k deštrukcii svalových vlákien prsnej svaloviny a voda, ktorá vznikala odkvapom bola zozbieraná na podložnej miske. Pred analýzou texturálnych parametrov boli všetky vzorky temperované na laboratórnu teplotu 21 °C. Experimentálne vzorky prsnej svaloviny boli balené vo vreckách určených pre vákuové balenie (polyetylén, hrúbka 70 µm, G-PACK, spol. s r.o., Slovenská republika) a boli zabalené použitím zariadenia Boss Vacuum machine (NE 2746 N, Nemecko) za vákuových podmienok. Experimentálne vzorky prsnej svaloviny určené pre stanovenie texturálnych parametrov po tepelnom ošetrení boli uvarené vo vodnom kúpeli pri teplote 90 °C počas 15 minút, pričom teplota bola nepretržite monitorovaná vpichovým teplomerom TESTO 106 (Testo s.r.o, Česká republika).

Analýza texturálnych parametrov

Experimentálne vzorky prsnej svaloviny boli pred vykonaním texturálnej analýzy tvarovo upravené na kvádre o rozmeroch 1 cm výška x 1 cm šírka x 3 cm dĺžka, pričom rez bol vedený rovnobežne so smerom vlákien. Následne bola textúra vzoriek meraná analyzátorom

textúry TA.XT2 plus (Stable Microsystems, Veľká Británia) s použitím Warner-Bratzelerovho strihu za použitia sondy TA-7 Warner-Bratzlerov nôž s trojuholnikovým výkrojom (Stable Microsystems) s nasledovnými testovacími parametrami: predtestovacia rýchlosť 1,5 m.s.-1; testovacia rýchlosť1,5 mm.s. -1; potestovacia rýchlosť 10 mm.s-1; vzdialenosť: 30 mm.

Pri každej testovanej skupine bolo vykonaných 20 opakovaní meraní. Výsledky boli analyzované programom Exponent (Stable Microsystems) pričom analyzované boli parametre prsnej svaloviny vzoriek práca noža/tvrdosť (z angl. work of shear/toughness) v jednotkách N/mm.s a jemnosť (z angl. firmness) v jednotkách N/mm.

Štatistická analýza

Výsledky stanovenia texturálnych parametrov experimentálnych vzoriek prsnej svaloviny boli vyhodnotené za použitia štatistických softvérov XLSTAT v. 2021.4.1 (Addinsoft, Francúzsko) a Graph Pad Prism 8.3 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Boli použité štatistické metódy analýzy rozptylu (ANOVA) a Tukeyho test pre viacnásobné porovnanie priemerov, pri intervale spoľahlivosti nastavenom na úroveň 95 % ($p \leq 0,05$).

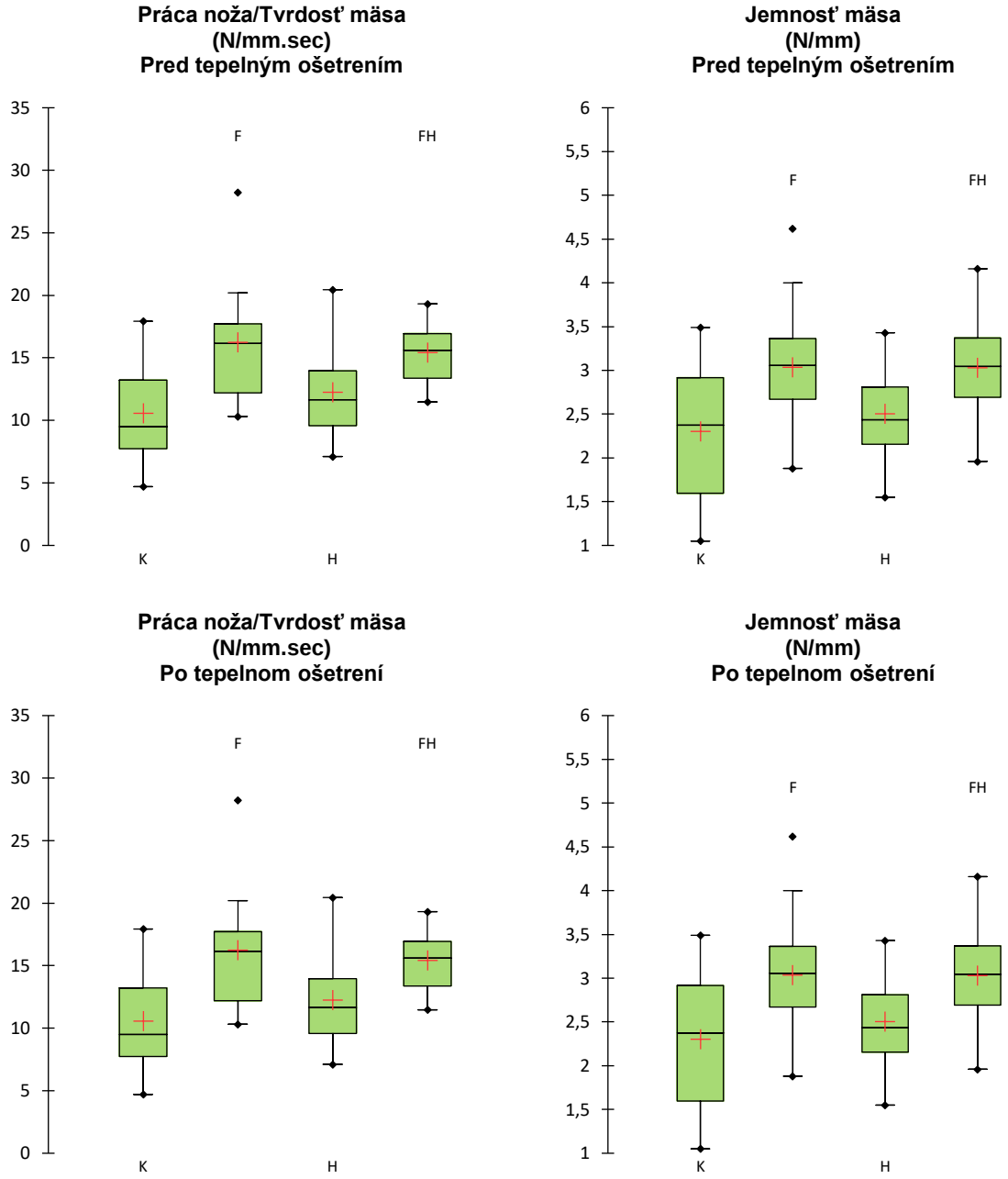
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Graf 1 opisuje výsledky texturálnych parametrov experimentálnych vzoriek prsnej svaloviny brojlerov v surovom stave pred tepelným ošetrením a po tepelnom ošetrení.

Vzorky prsnej svaloviny v surovom stave vykazovali menšie rozdiely v texturálnom parametri práca noža/tvrdosť a jemnosť, avšak tieto rozdiely neboli štatisticky významné ($p < 0,05$). V texturálnom parametri tvrdosť vzoriek bola štatistická významnosť rozdielov na hladine 0,054. Najvyššia tvrdosť vzoriek bola v skupine F (6,18 ± 1,21 N/mm.sec) a najnižšia v kontrolnej skupine (5,21 ± 1,55 N/mm.sec). Tvrdosť skupiny FH (6,01 ± 1,79 N/mm.sec) bola taktiež vyššia oproti kontrole. Z dosiahnutých výsledkov môžeme predpokladať, že vplyv prídavku fermentovaného krmiva by mohol byť štatisticky významný pri parametri tvrdosti vzoriek prsnej svaloviny, avšak bolo by nevyhnutné upraviť percentuálny prídavok fermentovaného krmiva vo výžive, alebo aplikovať fermentované krmivo v praxi a opätovne vykonať merania.

Vo vzorkách prsnej svaloviny po tepelnom ošetrení bol medzi skupinami vzoriek zistený štatisticky významný rozdiel v texturálnom parametri tvrdosť ($p < 0.05$). Najmenšia sila noža, ktorá bola potrebná pre prerezanie vzoriek bola nameraná v kontrolnej skupine vzoriek (10,60 ± 4,16 N/mm.sec). Naproti tomu najvyššie hodnoty tvrdosti mäsa po tepelnom ošetrení dosiahli vzorky skupiny F (16,26 ± 5,04 N/mm.sec).

Graf 1, Boxplot výsledkov stanovenia texturálnych parametrov experimentálnych vzoriek prsnej svaloviny brojlerov pred a po tepelnom ošetrení (priemer ± SD)



Legenda: K - kontrolná skupina brojlerových kurčiat kŕmená základnými kŕmnymi zmesami; F - experimentálna skupina brojlerových kurčiat, ktorých krmivo bolo obohatené o 10 % prídavok fermentovaného krmiva; H - experimentálna skupina brojlerových kurčiat, ktorých krmivo bolo obohatené o 0,7 % prídavok humínových látok; FH - experimentálna skupina brojlerových kurčiat, ktorých krmivo bolo obohatené o 10 % prídavok fermentovaného krmiva a 0,7 % prídavok humínových látok.

Štatistické vyhodnotenie poukazuje na významné rozdiely v tvrdosti vzoriek prsnej svaloviny po tepelnom ošetrení v experimentálnych skupinách oproti kontrole: K:F ($p < 0,001$) a K:FH ($p = 0,001$). Významný rozdiel bol aj medzi skupinami F a H ($p < 0,01$). Medzi vzorkami skupiny K a H nebol zistený významný rozdiel v tuhosti vzoriek ($p > 0,05$). Vo vzorkách po tepelnom ošetrení bol medzi vzorkami významný rozdiel v jemnosti mäsa ($p < 0,001$). Štatisticky významný rozdiel v jemnosti mäsa bol zistený medzi skupinou vzoriek K a skupinou F a FH ($p < 0,01$), pričom medzi skupinou K a skupinou H nebol rozdiel v jemnosti mäsa ($p > 0,05$). Naproti tomu, významný rozdiel v jemnosti po uvarení bol zistený medzi vzorkami skupín F a H ($p < 0,01$).

Textúra mäsa, hlavne po tepelnom ošetrení, je považovaná za jeden z najdôležitejších kvalitatívnych parametrov, ktoré ovplyvňujú celkovú prijateľnosť mäsa spotrebiteľmi (U-chupaj, 2017). Jemnosť a šťavnatosť spolu úzko súvisia, čím je mäso jemnejšie, tým rýchlejšie sa jeho žuvaním uvoľní šťava, pričom tukové časti vo svaloch dodávajú mäsu po tepelnej úprave šťavnatosť a chuť (Lengkey et al., 2014). Z našich predchádzajúcich štúdií (Semjon et al., 2020a, Semjon et al., 2020b) vyplýva, že fermentované krmivo a aj humínové látky môže mať pozitívny vplyv na senzorické parametre produkovaného mäsa brojlerových kurčiat, avšak objasniť mechanizmus tohto pozitívneho účinku si vyžaduje ďalšie štúdium mechanizmu účinku týchto látok vo svalovine brojlerových kurčiat.

ZÁVER

Suplementácia výživy brojlerov o humínové látky v kombinácii s fermentovaným krmivom môže pri jeho aplikovaní v hydinárskom priemysle zohrávať významnú úlohu. Výsledky tejto práce poukazujú na zmeny senzorických resp. texturálnych parametrov produkovanej prsnej svaloviny brojlerov. Vplyv suplementácie krmiva preukazne ovplyvnila texturálnu kvalitu prsnej svaloviny. Aplikácia kombinovaného krmiva môže spotrebiteľom poskytnúť senzoricky atraktívnejšie hydinové mäso. Najvýznamnejší vplyv suplementácie krmiva bol pozorovaný na analyzovaných texturálnych parametroch mäsa prsnej svaloviny po tepelnom ošetrení. Pre objasnenie mechanizmu účinku humínových látok a fermentovaného krmiva vo výžive brojlerov budú nevyhnutné ďalšie štúdie.

POĎAKOVANIE

Realizácia experimentu bola finančne podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-18-0039.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Anadon, H.L.S.Biological, nutritional, and processing factors affecting breast meat quality of broilers. *Ph.D. Thesis,* **2002**, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, USA.
2. Arif, M.; Rehman, A.; Abd El-Hack, M.E.; Saeed, M.; Khan, F.; Akhtar, M.; Swellum, A.A.; Saadeldin, I.M.; Alowaimer, A.N. Growth, carcass traits, cecal microbial counts, and blood chemistry of meat-type quail fed diets supplemented with humic acid and black cumin seeds. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* **2018**, *31*, 1930–1938.
3. Domínguez-Negrete, A.; Gómez-Rosales, S.; Angeles, M.d.L.; López-Hernández, L.H.; Reis-de Souza, T.C.; López-García, Y.; Zavala-Franco, A.; Téllez-Isaias, G. Effect of the Addition of Humic Substances as Growth Promoter in Broiler Chickens Under Two Feeding Regimens. *Animals* **2019**, *9*, 1101.
4. Esenbuga, N.; Macit, M.; Karaoglu, M.; Aksu, M. I.; Bilgin, O. C. Effects of dietary humate supplementation to broilers on performance, slaughter, carcass and meat colour. *J. Sci. Food Agri.* ***2008***, *88*, 1201–1207.
5. Hassan, H.M.A.; Mohamed, M.A.; Youssef, A.W.; Hassan, E.R. Effect of using organic acids to substitute antibiotic growth promoters on performance and intestinal microflora of broilers. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* **2010**, *23*, 1348–1353.
6. Hudák, M.; Semjon, B.; Marcinčáková, D.; Bujňák, L.; Naď, P.; Koréneková, B.; Nagy, J.; Bartkovský, M.; Marcinčák, S. Effect of Broilers Chicken Diet Supplementation with Natural and Acidified Humic Substances on Quality of Produced Breast Meat. *Animals* **2021**, *11*, 1087.
7. Mir, N. A.; Rafiq, A.; Kumar, F.; Singh, V.; Shukla, V. Determinants of broiler chicken meat quality and factors affecting them: a revie*w. J. Food Sci. Techol.* **2017**, 54, 10, 2997–3009.
8. Northcutt, J.K. Factors affecting poultry meat quality. Bulletin 1157. The University of Georgia, Cooperative Extension, College of Agriculture Science and Environmental Science & Family and Consumer Sciences, **2009**.
9. Semjon, B.[a]; Marcinčáková, D.; Koréneková, B.; Bartkovský, M.; Nagy, J.; Turek, P.; Marcinčák, S. Multiple factorial analysis of physicochemical and organoleptic properties of breast and thigh meat of broilers fed a diet supplemented with humic substances. *Poultry Sci.* **2020**, *99*, 3, 1750–1760.
10. Semjon, B.[b]; Bartkovský, M.; Marcinčáková, D.; Klempová, T.; Bujňák, L.; Hudák, M.; Jaďuttová, I.; Čertík, M.; Marcinčák, S. Effect of Solid-State Fermented Wheat Bran

Supplemented with Agrimony Extract on Growth Performance, Fatty Acid Profile, and Meat Quality of Broiler Chickens. *Animals* **2020**, *10*, 942, 1–21.

11. Singh, T.; Chatli, M.K.; Kumar, P.; Metha, N.; Malav, O.P. Effect of different cooking methods on the quality attributes of chicken meat cutlets. J Anim. Res. **2015**, 5, 547–554.
12. U-chupaj, J.; Malila, Y.; Gamonpilas, C.; Kijroongrojana, K.; Petracci, M.; Benjakul, S.; Visessanguan, W. Differences in textural properties of cooked caponized and broiler chicken breast meat. *Poultry Sci.* **2017**, 96, 7, 2491–2500.

Kontaktná adresa: Boris Semjon, MVDr., PhD., Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; E-mail: boris.semjon@uvlf.sk

ZASTOUPENÍ PLYNŮ V OCHRANNÉ ATMOSFÉŘE BALENÝCH ČERSTVÝCH RYB V PRŮBĚHU SKLADOVÁNÍ

GAS COMPOSITION IN THE MODIFIED ATMOSPHERE OF PACKAGED FRESH FISH DURING STORAGE

[1]Skočková Alena, [1]Bartáková Klára, [1]Bursová Šárka, [1]Necidová Lenka, [1]Buchtová Hana, [2]Haruštiaková Danka, [3]Klimešová Marcela

[1]Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno

[2]Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita Brno

[3]Výzkumný ústav mlékárenský Praha

ABSTRACT

The consumption of fresh fish has increased in the last decades because of its nutritional characteristics as well as its benefits to the consumer health. However, the short shelf life is a limiting factor for these perishable products. The aim of this study was the monitoring of gasses presented in modified atmosphere of packed fresh fish from the retail and to monitor any change in the composition of gasses during five day storage. Representative samples of fresh fish (salmon, cod, carp) packaged in modified atmosphere were purchased from the retail 4-5 days before expiration date. The oxygen and carbon dioxide content of each package was determined using CheckMate3 instrument. The nitrogen content was determined by adding up to 100%. Average values of gasses in packages of salmon and cod were 0.06% O_2 + 27.41% CO_2 + 72.53% N_2 and 0.40% O_2 + 26.40% CO_2 + 73.20% N_2 respectively. The composition of gasses in packaged carp was similar, only values of CO_2 were lower compare to the values in salmon and cod (0.08% O_2 + 12.52% CO_2 + 87.40% N_2). Continuous measurement of the samples during their shelf life did not show a dependence of the gas composition of MAP on the time remaining until the expiration date.

Keywords: salmon, cod, carp, MAP, storage

ÚVOD

Čerstvé ryby jsou díky své vysoké nutriční hodnotě oblíbenou potravinou, proto je jejich přítomnost v tržní síti spotřebiteli vyžadována a to i ve vnitrozemských státech jako je Česká nebo Slovenská republika. Limitujícím faktorem pro prodej čerstvých ryb je však jejich krátká

trvanlivost (Masniyom, 2011). Rybí maso velmi rychle podléhá zkáze díky vysoké aktivitě vody, neutrálnímu pH a přítomnosti autolytických enzymů. Rychlost kažení je vysoce závislá na teplotě a může být zpomalena použitím nízké skladovací teploty. Svalová tkáň ryb podléhá kažení rychleji než svaly savců, protože má vysoký obsah vody a volných aminokyselin a nižší obsah pojivové tkáně (Pereira de Abreu et al., 2010). Balení v modifikované atmosféře (MAP) se využívá k prodloužení trvanlivosti čerstvých ryb a to inhibicí bakteriálního růstu a omezením oxidativních reakcí (Sivertsvik et al., 2002). Interní atmosféra je v tomto typu balení modifikována speciální směsí plynů, čímž se dosahuje redukce nežádoucích fyziologických, chemických/biochemických a fyzikálních změn a kontroly mikrobiálního růstu. Balení čerstvých ryb v modifikované atmosféře je v Evropě stále více populární a v tržní síti supermarketů snadno dostupné (Macé et al., 2013). Nejčastěji komerčně využívanými plyny jsou dusík, kyslík a oxid uhličitý, a to v různých koncentracích.

Podle nařízení (EU) č. 1169/2011 nemají výrobci povinnost uvádět přesné složení směsi plynů, pouze musí být na obale uvedeno: "baleno v ochranné/modifikované atmosféře". Navíc při skladování a distribuci již není složení plynů v balení kontrolováno. Proto byl cílem této práce monitoring složení směsi plynů v ochranné atmosféře balených čerstvých ryb (losos, treska, kapr) uváděných trh a byla sledována případná změna v zastoupení jednotlivých plynů v průběhu skladování.

MATERIÁL A METODIKA

V tržní síti České republiky bylo zakoupeno 84 vzorků čerstvých ryb a to tučných (losos n = 35), středně tučných (kapr n = 19) a nízkotučných (treska n = 30). Od každého druhu ryby bylo nakoupeno 5 různých šarží, které se průběžně měřily až do doby spotřeby. Každý den se měřilo jiné balení stejné šarže. Všechny zakoupené vzorky byly od výrobce zabaleny v ochranné atmosféře a tato informace byla vždy na obalu uvedena. Byly cíleně vybírány vzorky od různých výrobců dostupné v tržní síti města Brna. Po zakoupení byly vzorky dopraveny v přepravním boxu vybaveném chladícími vložkami do laboratoře k analýze.

Analýza složení plynů v ochranné atmosféře byla provedena s využitím přístroje CheckMate3 (O.K. Servis BioPro, s.r.o., Praha, Česká republika), který je kalibrován pro stanovení obsahu kyslíku a oxidu uhličitého v interní atmosféře balení. Zbývající množství plynu do 100 % jsme určili jako obsah dusíku, který se běžně v praxi využívá jako třetí plyn pro přípravu ochranné atmosféry balených potravin.

VÝSLEDKY A DISKUSE

V analyzovaných vzorcích balených čerstvých ryb bylo stanoveno procentuální zastoupení jednotlivých plynů v ochranné atmosféře, které je uvedeno v tabulce č. 1.

Tabulka č. 1, Složení směsi plynů v ochranné atmosféře balených čerstvých ryb

Ryby		O_2 (%)	CO_2 (%)	N_2 (%)	Porušený obal	
					n*	%
tučné	losos	0,06 ± 0,11	27,41 ± 5,26	72,53 ± 5,30	1	2,8
středně tučné	kapr	0,08 ± 0,09	12,52 ± 3,16	87,40 ± 3,19	1	5,3
nízkotučné	treska	0,40 ± 0,30	26,40 ± 4,16	73,20 ± 4,08	4	13,3

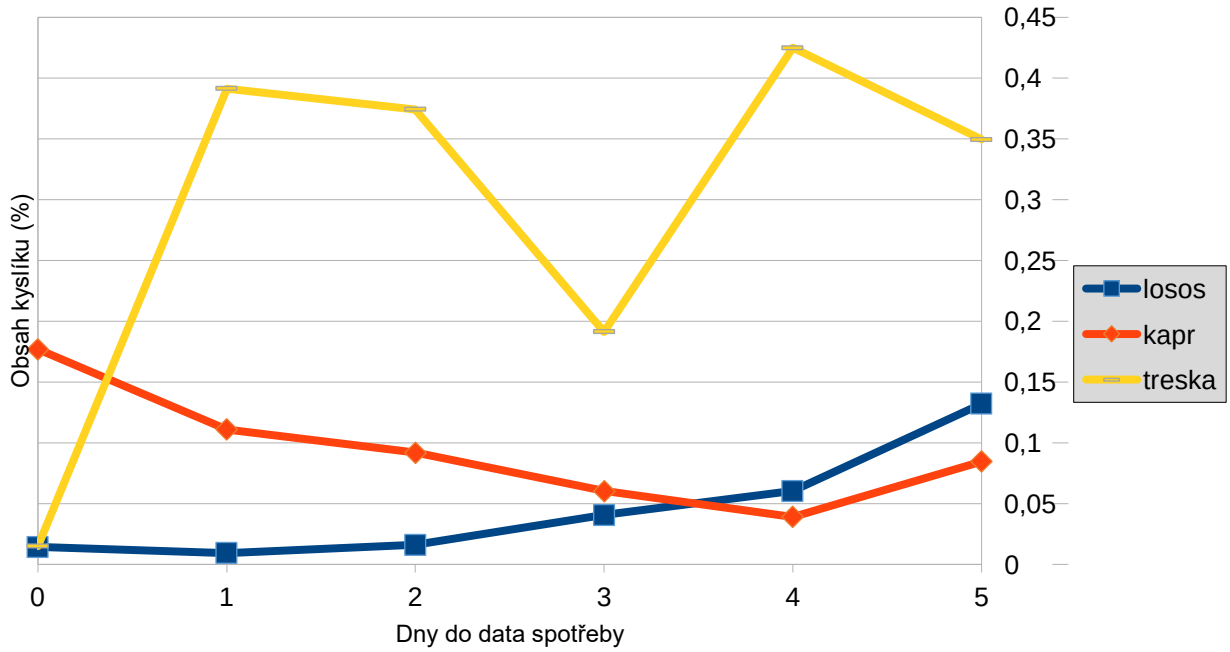
n* počet vzorků

Z výsledků je patrné, že výrobci dodávající na trh čerstvé ryby balené v ochranné atmosféře používají směs plynů bez kyslíku. Protože většina reakcí kyslíku v potravinách jsou oxidační reakce způsobující degradaci potravin, zejména oxidace tuků (Lee at al., 2015), využívá se absence kyslíku v modifikované atmosféře k inhibici oxidačních procesů tuků a tím k prodloužení doby údržnosti balených ryb (De la Hoz et al., 2000). Na trhu jsou komerčně běžně dostupné směsi plynů již namíchané v tlakových lahvích od různých dodavatelů plynů. Typickou komerčně dostupnou směsí bez kyslíku je směs 70 % N_2 + 30 % CO_2, do které byly baleny všechny námi nakoupené vzorky lososa a tresky. Všechny vzorky baleného kapra měly v ochranné atmosféře nižší obsah CO_2 v porovnání s baleným lososem nebo treskou (viz Tabulka 1). Ochranná atmosféra se zvýšeným obsahem CO_2 ve srovnání s obsahem oxidu uhličitého v běžné atmosféře (což činí přibližně 0,04 % CO_2) inhibuje autolytickou degradaci rybí svaloviny během skladování a inhibuje mikrobiální růst (Arvanitoyannis a Stratakos, 2012). CO_2 je vysoce rozpustný ve vodě a tuku a jeho rozpustnost se výrazně zvyšuje se snižující se teplotou (Sivertsvik et al., 2002). Při nízké teplotě skladování se tedy snižuje pH potraviny (Lee et al., 2015), čímž CO_2 ještě zvyšuje svoji antimikrobiální kapacitu. Na druhou stranu vysoký obsah CO_2 negativně ovlivňuje senzorickou kvalitu rybí svaloviny, zejména změnu struktury (Masniyom, 2011).

McMillin (2008) uvádí, že směs plynů se mění v závislosti na oxidačních procesech a na propustnosti obalového materiálu, proto jsme vzorky měřili postupně během doby údržnosti. Závislost obsahu kyslíku na dnech zbývajících do data spotřeby jsou znázorněny v obrázku 1. Z grafu na obrázku 1 vyplývá, že naše studie neprokázala závislost složení ochranné atmosféry na době zbývající do data spotřeby. Z grafu je také patrné, že u vzorků balené tresky byla zaznamenána největší variabilita v obsahu kyslíku a to bez ohledu na den skladování.

Obsah jednotlivých plynů v ochranné atmosféře se u některých vzorků vymykal průměru (7,1 %). Tyto vzorky měly vyšší obsah kyslíku a tedy i jiný obsah ostatních plynů v porovnání s jinými vzorky stejné šarže. Je pravděpodobné, že u těchto vzorků došlo k porušení těsnosti obalu nebo k technologické chybě během balení. Tyto vzorky jsme do průměrných hodnot studie nezahrnuly. Nejvíce takových vzorků bylo u balené čerstvé tresky a to 13,3 %.

Obrázek č. 1, Závislost obsahu O_2 v ochranné atmosféře baleného rybího masa na počtu dní zbývajících do data spotřeby



ZÁVĚR

Uplatnění ochranné atmosféry při balení čerstvého rybího masa je velmi vhodné, protože se prodlužuje doba jeho údržnosti. Tohoto ochranného efektu modifikované atmosféry je u baleného rybího masa dosaženo zejména eliminací kyslíku a zvýšeným obsahem oxidu uhličitého. Výsledky naší studie prokázaly, že ochranná atmosféra baleného rybího masa je stabilní a její složení se v průběhu skladování nemění. U některých vzorků byl zaznamenán vyšší obsah kyslíku v porovnání s jinými vzorky stejné šarže, což poukazuje spíše na netěsnost obalu. Z výsledků naší studie vyplývá, že pokud je rybí maso správně zabaleno, složení plynů se v průběhu skladování nemění a funkčnost ochranné atmosféry je zachována.

PODĚKOVÁNÍ

Práce byla zpracována s podporou projektu NAZV QK21020245.

POUŽITÁ LITERATURA

1. ARVANITOYANNIS, I.S. a STRATAKOS, A.C. Application of modified atmosphere packaging and active/smart technologies to red meat and poultry: a review. In *Food and Bioprocess Technology*, ISSN 1935-5149, 2012, vol. 5, p. 1423–1446.
2. DE LA HOZ, L.D. et al. Use of carbone dioxide enriched atmospheres in the refrigerated storage (2°C) of salmon (Salmo salar) steaks. In *European Food Research and Technology*, ISSN 1438 2377, 2000, vol. 210, p. 179-188.
3. LEE, S.Y. et al. Current topics in active and intelligent food packaging for preservation of fresh foods. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, ISSN 1097-0010, 2015, vol. 95, no 14, p. 2799-2810.
4. MACÉ, S. et al. Evaluation of the spoilage potential of bacteria isolated from spoiled raw salmon (*Salmo salar*) fillets stored under modified atmosphere packaging. In *International Journal of Food Microbiology*, ISSN 0168-1605, 2012, vol 160, p. 227-238.
5. MASNIYOM, P. Deterioration and shelf-life extension of fish and fishery products by modified atmosphere packaging. In *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. ISSN 0125-3395, 2011, vol. 33, no. 2, p. 181-192.
6. McMILLIN, K. W. Where is MAP going? A rewiew and future potential of modified atmosphere packaging for meat. In *Meat Science*, ISSN 0309-1740, 2008, vol. 80, no. 1, p. 43-65.
7. PEREIRA DE ABREU, D. A. et al. Evaluation of the effectiveness of a new active packaging film containing natural antioxidants (from barley husks) that retard lipid damage in frozen Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). In *Food Research International*, ISSN 0963-9969, 2010, vol. 43, p. 1277-1282.
8. SIVERTSVIK, M.et al. A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products – significance of microbial growth, activities and safety. In *International Journal of Food Science and Technology*, ISSN 1365-2621, 2002, vol. 37, p. 107-127.

Kontaktní adresa: Skočková Alena, Department of Animal Origin Food and Gastronomic Sciences, Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology, University of Veterinary Sciences Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Czech Republic; E-mail: skockovaa@vfu.cz

INOVATÍVNE SPEKTROSKOPICKÉ METÓDY RÝCHLEJ CHARAKTERIZÁCIE ZLOŽENIA MÄSOVÝCH PRODUKTOV

RAPID CHRACTERIZATION OF MEAT PRODUCTS USING NOVEL SPECTROSCOPIC TECHNIQUES

Slaný Ondrej[1], Klempová Tatiana[1], Shapaval Volha[2], Dzurendová Simona[2], Čertík Milan[1], Marcinčák Slavomír[3]

[1]Ústav biotechnológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika

[2]Faculty of Science and Technology, Norwegian University of Life Sciences, Postboks 5003, NMBU 1432 Ås, Nórsko

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

ABSTRACT

Due to the constantly changing micro- and macro-elements of the environment, or with the increased demands on the quantity and quality of the meat products, the necessity of rapid and accurate analysis is becoming more intense. Infrared spectroscopy is an extremely fast technique that can be applied in order to obtain a complete biochemical profile of the analyzed material, including various biological materials, without the need for their chemical pre-treatment. Using the ATR-FTIR method, we described the application of this unique technique for direct analysis of the quality profile of different types of chicken meat. The obtained infrared spectra describe complete biochemical profile, while we focused mainly on the comparison of total lipids and proteins. Moreover, the influence of different types of feed on meat quality was studied as well, both before and after the heat treatment. The high accuracy of the performed spectroscopic measurements was confirmed by a complete statistical analysis.

Key words: infrared spectroscopy, poultry, meat bioprofile, ATR-FTIR

ÚVOD

Fermentácia, ako dôležitý nástroj cielenej biotechnologickej prípravy širokého spektra metabolitov, predstavuje neodmysliteľnú súčasť nielen vedecko-výskumnej činnosti, ale najmä priemyselnej aplikácie už od počiatkov 20. storočia. Možná príprava fermentovaných krmív otvára nové spôsoby ako získať bohaté kŕmne materiály, ktoré môžu blahodárne pôsobiť na

organizmus zvierat a rovnako zlepšovať imunologické a nutričné parametre získavaného mäsa. V neposlednom rade treba spomenúť, že príprava takýchto fermentovaných aditív do krmív je kompletne ekologická a nezaťažuje životné prostredie. Práve naopak, v niektorých prípadoch je pri procese prípravy fermentovaných materiálov vďaka procesu polosuchej fermentácie možné využiť rôzne odpadné substráty.

Veľkou prekážkou, resp. faktorom, ktorý k inak 100% ekologickému procesu prináša negatívne hľadisko, je však štandardné použitie metód analýzy získaného mäsa. Z pravidla je neoddeliteľnou súčasťou týchto analýz organická extrakcia, ktorá vyžaduje aplikáciu organických rozpúšťadiel, ktoré sú ťažko likvidovateľné, resp. je problém s ich skládkovaním (napr. chloroform, hexán a i.). Infračervená spektroskopia s Fourierovou transformáciu (FTIR) preto predstavuje veľmi zaujímavú alternatívu ku klasickým analytickým metódam. FTIR spektroskopia je nedeštruktívna a veľmi rýchla analytická metóda, ktorá vyžaduje naviac len minimálne množstvá analytu, bez nutnosti neekologickej organickej extrakcie. Základom FTIR spektroskopie je meranie špecifických vibrácií, ktoré emitujú väzby medzi atómami v analyte. Získané vibračné spektrum je tak absolútne charakteristické pre jednotlivé analyzované molekuly, čím sme schopný získať presný „fingerprint“ konkrétnych analyzovaných látok. Získané spektrum nám dáva informáciu nielen o štruktúre analytu, ale aj o jeho zložení. Doposiaľ bola ATR-FTIR metóda bežne používaná napr. na meranie adsorpcie rôznych organických zlúčenín na minerálne štruktúry (Shapaval a kol., 2019). Ako už bolo spomínané, najväčšou výhodou týchto analýz je rýchlosť analýzy a nulová predpríprava vzoriek pred samotným meraním. Princípom spektroskopických meraní je detekcia zmien v infračervenom lúči odrazenom od analyzovanej vzorky v momente keď s ňou príde do kontaktu. Aby sa infračerveným lúč neodrážal len od jej povrchu, ale bol schopný preniknúť aj do jej vnútra, využíva sa pri ATR-FTIR spektroskopii opticky hustý kryštál s vysokým indexom lomu, ktorý spôsobí vznik tzv. exponenciálne zanikajúcej vlny, ktorá má schopnosť prenikať aj za povrch analyzovanej látky ktorá je v kontakte s kryštálom, pričom ATR-FTIR spektroskopia je najčastejšie používaná pre analyzovanie vzoriek v strednej oblasti infračerveného spektra (4000-400 cm^{-1}) (Rytwo a kol., 2015).

MATERIÁL A METODIKA

Svalovina testovaných kurčiat pochádzala zo 4 kontrolných testovaných skupín s odlišným typom výkrmu:

a) Kontrolná skupina vykrmovaná komerčným krmivom
b) Skupina vykrmovaná krmivom s prídavkom humínových kyselín

c) Skupina vykrmovaná krmivom s prídavkom fermentovaného materiálu
d) Skupina vykrmovaná krmivom s prídavkom kombinácie humínových kyselín a fermentovaného materiálu

Pred samotnom FTIR analýzou bola svalovina kurčiat očistená, a rozdelená do dvoch testovaných skupín – surový stav, resp. tepelná úprava (20 min, 100°C v dH_2O). Vzorky boli zhomogenizované a takto spracované mäso bolo následne zbavené vlhkosti lyofilizáciou.

Za účelom získania komplexného biochemického profilu fermentovaných produktov bola použitá metóda FTIR spektroskopie spojenej s ATR (z angl. attenuated total reflectance) príslušenstvom podľa postupu opísaného Slaný a kol. (2021). ATR-FTIR merania boli vykonané na spektrometri Vertex 70 FTIR (Bruker Optic, Nemecko). Získané ATR-FTIR spektrum bolo zaznamenávané pomocou 32 skenov použitím SR-ATR (z angl. single reflectance) diamantu so 45° uhlom dopadu emitovaného infračerveného lúča prístrojom Specac High Temperature Golden Gate ATR Mk II (Slough, Veľká Británia). Na samotnú analýzu bolo 10 mg vzorky predhomogenizovaných (homogenizátor Percellys Evolution (Bertin Instruments, Francúzsko); 5800 rpm, 4x15 sekúnd s 15 sekundovou pauzou medzi homogenizačnými cyklami) a následne umiestnených na povrch ATR kryštálu. FTIR spektrá boli následne zaznamenané v piatich technických replikátoch s cieľom overiť reprodukovateľnosť získaných dát. FTIR spektrá boli zaznamenávané v oblasti medzi 7000 and 600 cm^{-1} s rozlíšením 4 cm^{-1}. FTIR spektrá boli následne vizualizované pomocou softvéru OPUS 7.5 (Bruker Optic, Nemecko).

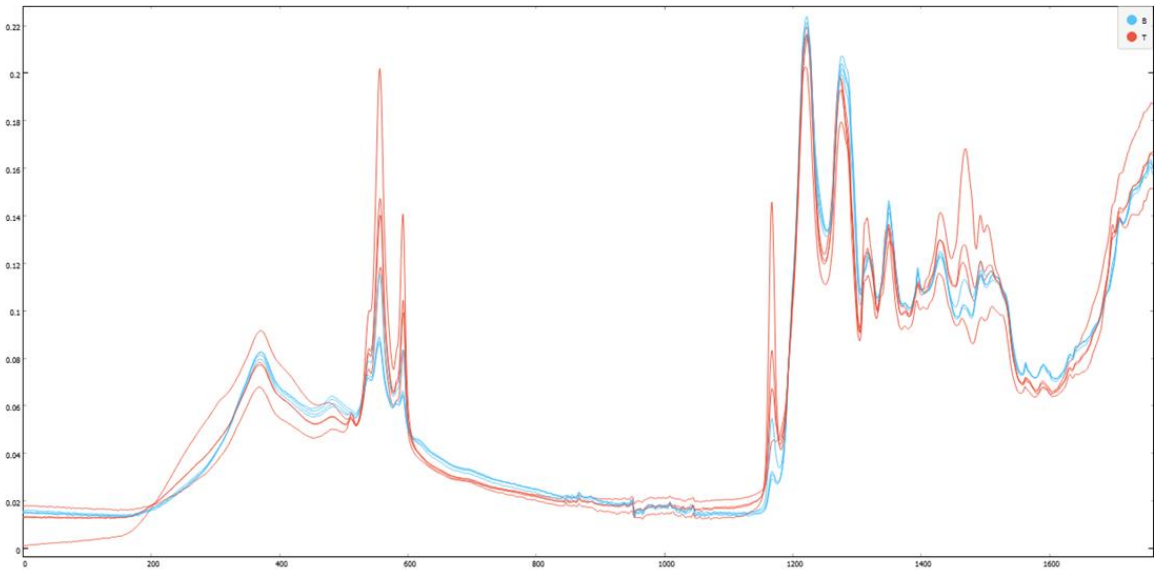
Štatistické spracovanie získaných ATR-FTIR spektier bolo vykonané softvérom Unscrambler X, v.10.5.1 (CAMO Analytics, Noórsko) a Orange data mining toolbox, v.3.24 (University of Ljubljana, Slovinsko). Štatistická analýza dát získaných pomocou ATR-FTIR meraní bola vykonaná v spektrálnom rozsahu 4000-600 cm^{-1} vo všetkých získaných spektrách. V prvom kroku boli za účelom redukcie šumu získané ATR-FTIR spektrá upravené pomocou transformovania na druhú deriváciu spektra s použitím Savitzky-Golay algoritmu (polynomiálny stupeň = 2, window size = 11). V kroku druhom boli takto upravené spektrá spracované EMSC (z angl. Extended Multiplicative Signal correction) metódou.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Metóda ATR-FTIR, vhodná najmä na analýzu tuhých materiálov, predstavuje veľmi rýchlu a nedeštruktívnu metódu ako získať celkový biochemický profil množstva rôznych analyzovateľných materiálov, vrátane biologických vzoriek, ktorá sa zaobíde bez akejkoľvek nutnosti extrakcie jednotlivých chemických zložiek (Kosa a kol., 2019). Získané infračervené

spektrá obsahujú presnú informáciu vypovedajúcu o prítomnosti špecifických chemických väzieb zodpovedajúcich jednotlivým prítomným štruktúram – lipidom, polysacharidom, proteínom, resp. molekulám obsahujúcim fosfátové skupiny a pod.

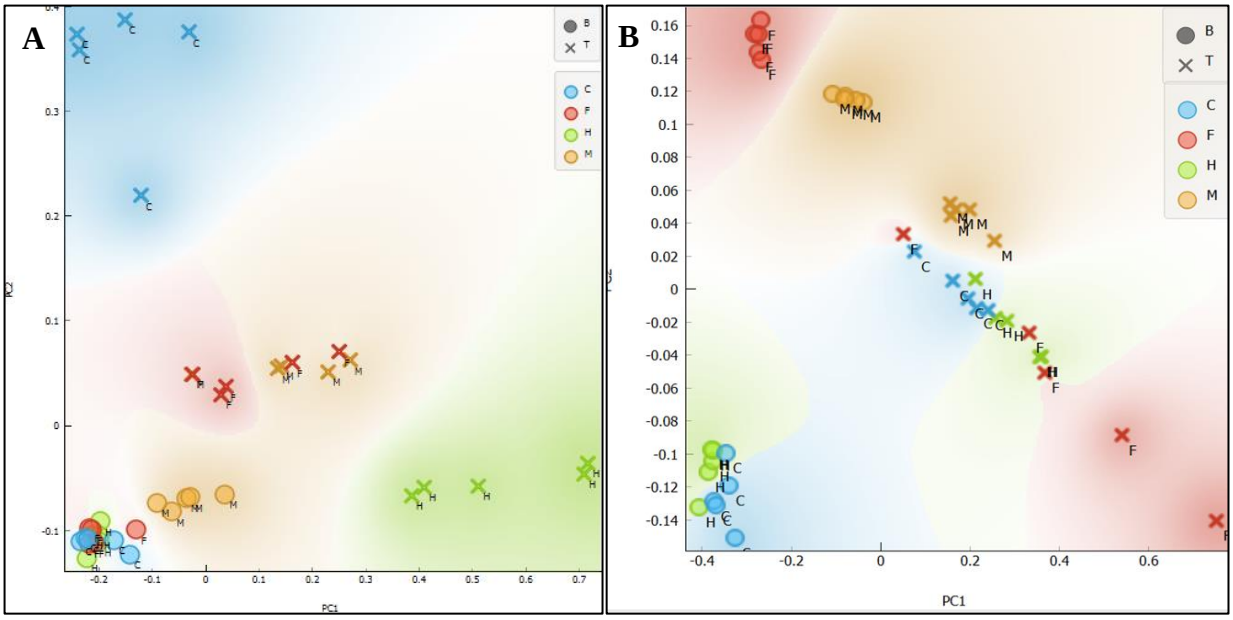
Obrázok č. 1, ATR-FTIR spektrá rôznych vzoriek prsnej (●) a stehennej (●) svaloviny kurčiat



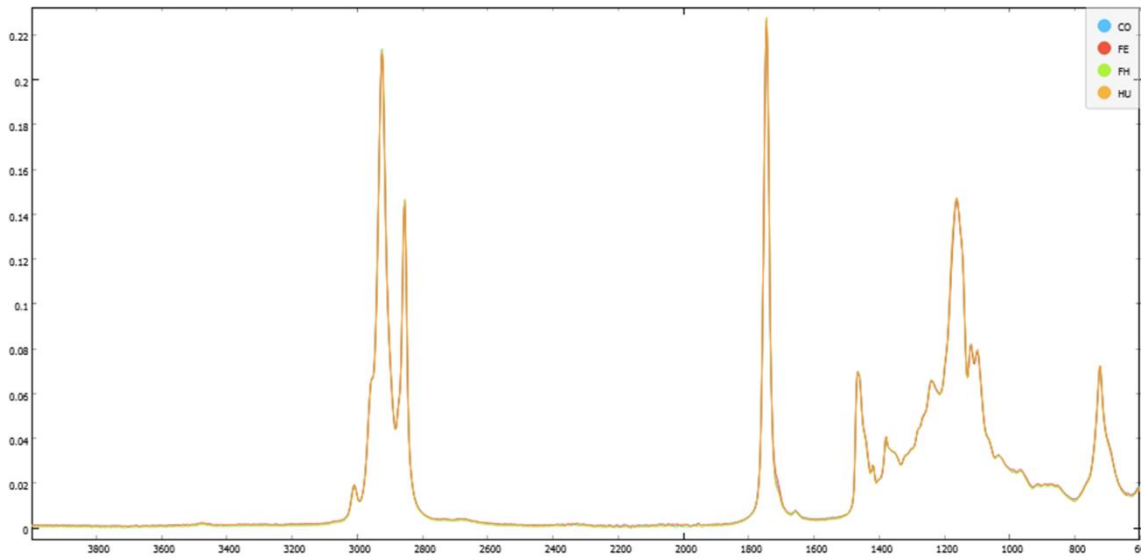
Presnosť a reprodukovateľnosť vykonaných ATR-FTIR meraní bola veľmi vysoká. Na obrázku 1 je zosumarizovaný výber niekoľkých spektier analyzovaných vzoriek kuracieho mäsa, kde je možné pozorovať takmer žiadny prítomný šum („sample noise“), čo potvrdzuje reprodukovateľnosť získaných dát.

Na ATR-FTIR spektrách na obr.1 je naviac možné pozorovať výrazné rozdiely najmä v spektrálnych oblastiach zodpovedajúcich regiónom lipidov a proteínov. Z hľadiska lipidov bola odozva indikujúca ich prítomnosť v analyte násobne silnejšia vo vzorkách kuracích stehien, bez ohľadu na typ výkrmu. Naopak, vyšší obsah proteínov bol indikovaný vo vzorkách prsnej svaloviny, taktiež bez ohľadu na typ používanej kŕmnej zmesi. Vykonaná PCA potvrdila štatisticky významné zmeny v zložení analyzovaných vzoriek svaloviny kurčiat. V prípade surových vzoriek ešte nebol pozorovaný výrazný vplyv typu krmiva na výsledný biochemický profil vzoriek, avšak v prípade stehien je už pozorovateľný jednoznačný clustering vzoriek mäsa po výkrme fermentovaným krmivom, resp. zmesou krmiva s prídavkom fermentovaného materiálu a humínových kyselín (Obrázok 2A).

Obrázok č. 2, PCA plot z ATR-FTIR spektier rôznych vzoriek svaloviny (kuracie prsia – B (●), kuracie stehná – T (x); A – surové vzorky, B – vzorky po tepelnej úprave. Typ krmiva: kontrolná zmes (CO - ●), kŕmna zmes s prídavkom fermentovaného materiálu (FE - ●), kŕmna zmes s prídavkom humínových kyselín (HU - ●), zmes krmív s prídavkom humínových kyselín a fermentovaného materiálu (FH - ●).



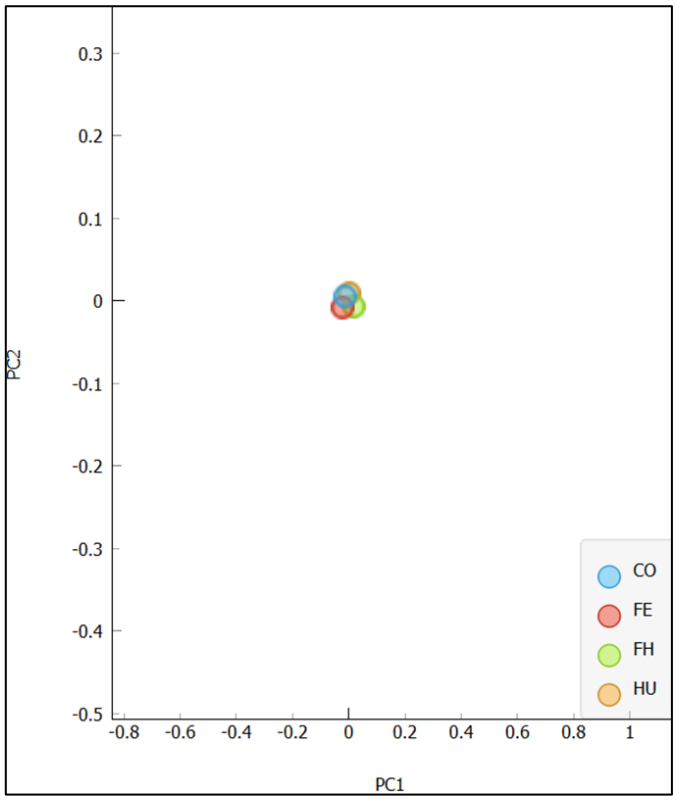
Obrázok č. 3, ATR-FTIR spektrá rôznych vzoriek brušného tuku (typ krmiva: kontrolná zmes (CO - ●); kŕmna zmes s prídavkom fermentovaného materiálu (FE - ●); kŕmna zmes s prídavkom humínových kyselín (HU - ●); zmes krmív s prídavkom humínových kyselín a fermentovaného materiálu (FH - ●).



Ešte silnejší efekt na biochemický profil analyzovaných vzoriek bol pozorovaný po tepelnej úprave svaloviny testovaných kurčiat. V tomto prípade boli individuálne zoskupené a oddelené od ostatných biologických vzoriek aj vzorky prsnej svaloviny z mäsa kurčiat po výkrme fermentovaným krmivom, resp. zmesou krmiva s prídavkom fermentovaného materiálu a humínových kyselín. Taktiež v prípade svaloviny stehien vidíme signifikantnú mieru zoskupenia vzoriek podľa typu výkrmu, avšak v tomto prípade nie je clustering vzoriek až tak jednoznačný, výnimkou je poznateľne oddelená skupina vzoriek stehien z mäsa kurčiat po výkrme zmesou krmiva s prídavkom fermentovaného materiálu a humínových kyselín (Obrázok 2B).

ATR-FTIR spektrá z analýzy brušného tuku (Obrázok 3) indikujú, že typ používanej kŕmnej zmesi nemal žiadny štatisticky signifikantný vplyv na biochemický profil týchto vzoriek. Najvyššie odozvy boli indikované samozrejme v spektrálnych oblastiach zodpovedajúcim lipidom. Tieto výsledky potvrdila aj PCA (Obrázok 4), kedy nie je pozorovateľný žiadny rozptyl vzoriek brušného tuku bez ohľadu na typ výkrmu.

Obrázok č. 4, PCA plot z ATR-FTIR spektier rôznych vzoriek brušného tuku (typ krmiva: kontrolná zmes (CO - ●); kŕmna zmes s prídavkom fermentovaného materiálu (FE - ●); kŕmna zmes s prídavkom humínových kyselín (HU - ●); zmes krmív s prídavkom humínových kyselín a fermentovaného materiálu (FH - ●).



ZÁVER

Získané výsledky z ATR-FTIR analýzy predstavujú dôležitý základ pre možnú ďalšiu aplikáciu spektroskopických metód v potravinárskych, krmovinárskych alebo poľnohospodárskych odvetviach priemyslu. Presnosť a reprodukovateľnosť vykonaných analýz bola na vysokej úrovni, veľkou devízou bolo aj potvrdenie signifikantného vplyvu typu krmiva, kedy bol pozorovaný najmä vysoký kvalitatívny vplyv prídavkov fermentovaného materiálu, resp. adícia humínových kyselín do kŕmnych zmesí.

POĎAKOVANIE

Táto výskumná práca vznikla s podporou projektu APVV-18-0039 slovenskej agentúry na podporu výskumu a vývoja a grantu E-COST-GRANT-CA19145-a0846374 z European Cooperation in Science and Technology.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. SHAPAVAL, V. et al. Biochemical Profiling, Prediction of Total Lipid Content and Fatty Acid Profile in Oleaginous Yeasts by FTIR Spectroscopy. In *Biotechnology for Biofuels*, 2019, vol. 12, p. 140.
2. RYTWO, G. et al. The Use of ATR-FTIR Spectroscopy for Quantification of Adsorbed Compounds. In *Journal of Spectroscopy*, 2015, vol. 2015, p. 8.
3. SLANÝ, O. et al. Animal Fat as a Substrate for Production of n-6 Fatty Acids by Fungal Solid-State Fermentation. In *Microorganisms*, 2021, vol. 9, no. 1, p. 170.
4. KOSA, G. et al. High-throughput Screening of Mucoromycota Fungi for Production of Low- and High-value Lipids. In *Biotechnology for Biofuels*, 2018, vol. 11, no.1, p. 66.

Kontaktná adresa: Slaný Ondrej, Institute of Biotechnology, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology in Bratislava, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovak Republic; E-mail: ondrej.slany@stuba.sk

VÝSKYT MIKROBIÁLNEJ REZISTENCIE *E. COLI* IZOLOVANÝCH Z TRUSU HYDINY

THE OCCURRENCE OF MICROBIAL RESISTANCE OF E. COLI ISOLATED FROM POULTRY EXCREMENTS

Szabóová Tatiana, Gregová Gabriela, Dančová Nikola

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

ABSTRACT

Microbial resistance of *E. coli* strains, as well as other agents of clinically important diseases in poultry and other livestock species is gradually increasing. Of all *E. coli* strains isolated from poultry, the highest incidence of resistance was detected in fluoroquinolone antibiotics - nalidixic acid (48.5%). The percentage of *E. coli* resistance to enrofloxacin and ciprofloxacin was slightly lower. The presence of resistance to the beta-lactam antibiotics - ampicillin and cephalosporins was significant, while in 3% of the examined *E. coli* strains found resistance to the carbapenem antibiotics - ertapenem.

This work points to focus on monitoring of the minimum inhibition concentration (MIC), where was the main aim to obtain a new information and knowledge about the occurrence of antibiotics detected in resistant *E. coli* in poultry. They can present a serious risk also for food safety.

Key words: poultry, minimal inhibition concentration, microbial resistance, excrements, environmental contamination

ÚVOD

Mikrobiálna rezistencia je schopnosť mikroorganizmov odolávať účinku jedného alebo viacerých antimikrobiálnych látok, ktoré zabíjajú alebo zastavujú rast mikroorganizmov, s výnimkou vírusov. Ak sa aj u komenzálnych druhov baktérií vyskytujúcich sa u zvierat prirodzene rozvinie rezistencia, tak tieto rezistentné baktérie sa môžu ďalej šíriť do životného prostredia a potravinového reťazca **(**Leekitcharoenphon, 2021).

Väčšina štúdií o šírení mikrobiálnej rezistencie sa zameriava nielen na humánnu a veterinárnu medicínsku prax, ale jej centrom pozornosti sú často zvieratá určené na potravinárske účely. Hydinársky priemysel je jednou z najrýchlejšie rastúcich zložiek odvetvia

chovu hospodárskych zvierat v celosvetovom merítku. Európska únia (EÚ) je významným producentom hydinového mäsa a vajec, pričom má v produkcii približne 400 miliónov nosníc. Niekedy zvieratá spravidla nebývajú priamo exponované klinickými antimikrobiálnymi látkami, ale rezistenciu voči nim môžu nadobudnúť kontaktom s inými hospodárskymi zvieratami, prípadne s človekom a jeho prostredím, kde najčastejším vektorom prenosu rezistentných baktérií býva voda kontaminovaná fekáliami (Aworh a kol., 2021).

Neustále sa zvyšujúca sa tendencia výskytu a šírenia mikrobiálnej rezistencie u *Escherichia coli* obmedzuje možnosti profylaxie a liečby, čím predstavuje vážnu hrozbu nielen pre modernú humánnu medicínu a veterinárnu medicínu, ale aj bezpečnosť potravín (Kiiti a kol., 2021).

E. coli je zvyčajne prítomná v gastrointestinálnom trakte hydiny ako komenzálny mikroorganizmus, ktorý je súčasťou bežnej mikroflóry, avšak za určitých podmienok pri pomnožení môže kontaminovať aj vajíčka pri znáške. Extraintestinálne patogénne *E. coli* sa môžu prenášať cez potraviny, čo spôsobuje choroby u ľudí na celom svete a postihuje najmä imunosuprimovaných jedincov. Existujú dôkazy mikrobiálnej rezistencie u *E. coli* izolovaných v chove hydiny (Rivera-Gomis, 2021).

MATERIÁL A METODIKA

Hlavným cieľom tejto práce bolo získať prehľad o incidencii a aktuálnom stave vyskytujúcej sa rezistencie na antibiotiká v chove hydiny stanovením minimálnej inhibičnej koncentrácie detegovanej u *E. coli* izolovaných z exkrementov nosníc v chove hydiny.

Detekcia *E. coli* vo vzorkách trusu hydiny bola vykonaná prostredníctvom selektívneho média určeného na diagnostiku gram-negatívnych baktérií a baktérií fermentujúcich laktózu – McConkey agar (Oxoid, Basingstoke, UK). K priamej identifikácii *E. coli* bolo použité selektívne chromogénne médium – Uriselect (Oxoid, Basingstoke, UK).

Testovanie antimikrobiálnej citlivosti bolo realizované komerčne modifikovanou NCCLS mikrodilučnou metódou komerčným MidiVet kitom (Miditech). Minimálna inhibičná koncentrácia (MIC) bola u jednotlivých izolátov *E. coli* stanovená podľa VET01-S2 (CLSI, 2013). Detekcia antimikrobiálnej citlivosti u *E. coli* kmeňov izolovaných z exkrementov hydiny bolo zisťované: ampicilín; ampicilín+sulbaktám; ertapeném, ceftiofur; ceftriaxón; ceftazidím; cefquinóm; gentamicín; streptomycín; neomycín; spectinomycín; kyselina nalidixová; enrofloxacín; ciprofloxacín; chloramfenikol; flórfenikol; tetracyklín; kotrimazol, colistín (Gattringer *a kol.*, 2002).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Najvyššie hladiny minimálnej inhibičnej koncentrácie (MIC) boli odhalené u predstaviteľa fluorochinolónových antibiotík 1. generácie – kyseliny nalidixovej (48,5%). Vo vzorkách rezistentných *E. coli* izolátov bola zaznamenaná aj vysoká hladina MIC 90 u enrofloxacínu s hodnotou 32 mg/l (norma ENR ≥16 mg/l) a u ciprofloxacínu táto hodnota - 8 mg/l mierne prevyšovala normu CIP ≥ 4 mg/l. Prítomnosť rezistencie *E. coli* kmeňov izolovaných z trusu hydiny na 2. generáciu fluorochinolónových antibiotík, v prípade enrofloxacínu bola potvrdená u vyše 27% vyšetrovaných *E. coli* izolátov a na ciprofloxacín u 15% vyšetrovaných *E. coli* kmeňov. Percentuálne vyjadrenie rezistencie *E. coli* na fluórochinolóny a ďalšie testované antibiotiká je znázornená v Grafe č. 1.

Podľa Európskeho centra pre prevenciu a kontrolu chorôb (ECDC) sa najviac k terapii na Slovensku používajú sú v posledných rokoch penicilíny a cefalosporíny (EFSA, 2020). Významné bolo aj zistenie rezistentných *E. coli* kmeňov na beta-laktámové antibiotiká penicilínovej skupiny, konkrétne ampicilín u 39%. V značnej miere bola zaznamenaná aj rezistencia *E. coli* na tretiu generáciu cefalosporínov (cefotaxím – 39%, ceftazidím – 24%), zatiaľ čo voči ceftriaxónu bola nulová.

Karbapenémová rezistencia je spôsobená radom karbapenémáz, pričom u izolátov produkujúcich karbapenémázy sa testuje citlivosť na meropeném, imipeném a ertapeném. Pri testovaní minimálnej inhibičnej koncentrácie *E. coli* kmeňov izolovaných z exkrementov hydiny bolo významné zistenie, že 3 % z vyšetrených *E. coli* vzoriek vykazovalo rezistenciu na karbapenémové antibiotiká, konkrétne na ertapeném.

V porovnaní so zahraničnými štúdiami zaoberajúcimi sa testovaním mikrobiálnej rezistencie *E. coli* v truse nosníc bola pozorovaná rezistencia na chinolóny a cefalosporíny u viac ako 30% vyšetrených vzoriek (De Souza Gazal a kol., 2021).

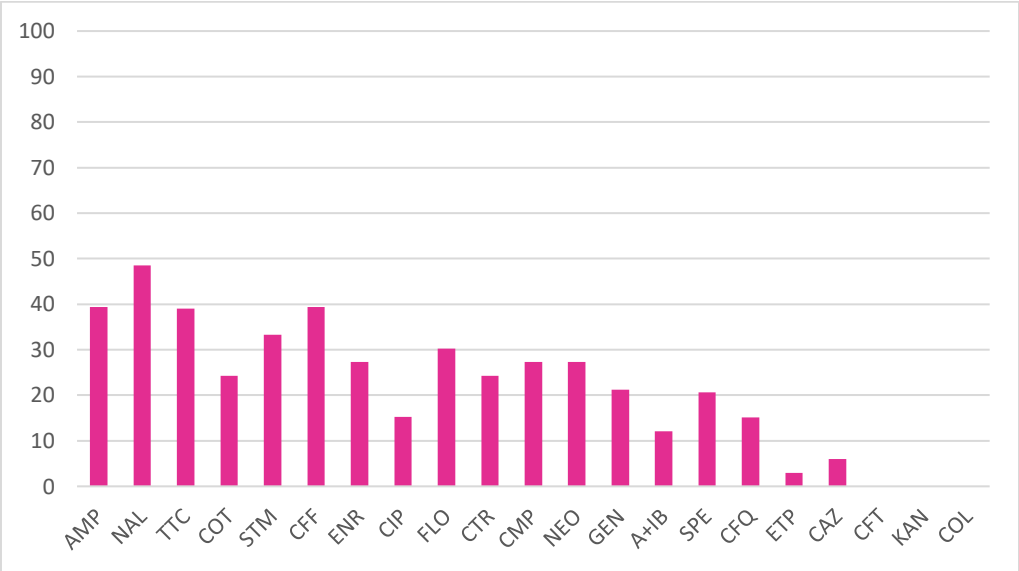
Pri fenotypickej identifikácii mechanizmov rezistencie výsledky ukázali, že najvyššie percento rezistencie bolo zaznamenané u *E. coli* izolátov pre fluorochinolóny. Bezprostredne po nich nasledovala prítomnosť mechanizmov rezistencie TEM-1,2/SHV-1:low a TEM-1,2/SHV-1:high!, pričom "low" a "high" penicilinase je zodpovedná za rezistenciu na ampicilín. TEM -1 je najbežnejšia spomedzi β-laktamáz vyskytujúcej sa u gram-negatívnych baktérií, schopná hydrolyzovať penicilíny a cefalosporíny. Najčastejšie sa tieto enzýmy TEM vyskytujú práve u *E. coli* a *K. pneumoniae*, ale aj iných druhov gram-negatívnych baktérií.

Kolistínová rezistencia, aj napriek tomu že sa v posledných rokoch začala objavovať, v našom prípade vo vzorkách trusu hydiny nebola vôbec detegovaná. Okrem nulovej rezistencie *E. coli* kmeňov na antibiotiká zo skupiny polymyxínov – kolistín, sa nepreukázala ani

rezistencia *E. coli* ani voči ceftriaxónu a kanamycínu zo skupiny aminoglyzozidových antibiotík.

Výsledky obsiahnuté v tejto štúdii prinášajú nové informácie a poznatky odzrkadľujúce aktuálny stav vyskytujúcej sa rezistencie u *E. coli* kmeňov izolovaných z trusu hydiny, ktorá môže predstavovať hrozbu nielen pre modernú humánnu a veterinárnu medicínu, ale aj z hľadiska bezpečnosti potravín.

Graf č. 1, Percentuálne vyjadrenie antibiotikorezistencie detegovanej u *E.coli* izolátov zo vzoriek trusu hydiny



(Zdroj: Vlastný obrázok)

ZÁVER

Výsledky obsiahnuté v našej štúdii prinášajú nové informácie a poznatky o výskyte rezistencie na fluórochinolóny**,** beta-laktámové antibiotiká a iné druhy antibiotík detegovaných u *E. coli* kmeňov izolovaných z trusu hydiny. Minimálna inhibičná koncentrácia (MIC) bola stanovená podľa VET01-S2 (CLSI, 2013).

Zo všetkých vyšetrených vzoriek *E. coli* kmeňov bol najvyšší percentuálny výskyt rezistencie detegovaný predstaviteľa fluorochinolónových antibiotík 1. generácie – kyseliny nalidixovej (48,5%), pričom u enrofloxacínu a ciprofloxacínu bolo percentuálne zastúpenie o čosi nižšie. Významné bolo taktiež zistenie prítomnosti rezistencie na beta-laktámové antibiotiká (penicilíny, cefalosporíny), pričom 3% z vyšetrených *E. coli* kmeňov vykazovali rezistenciu na karbapenémové antibiotiká – ertapeném.

POĎAKOVANIE

Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny, Drive4SIFood 313011V336, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja (50 %) a KEGA 001UVLF-4/2022 (50 %).

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Aworh M.K. a kol. Genetic relatedness of multidrug resistant Escherichia coli isolated from humans, chickens and poultry environments. In *Antimicrobial Resistance and Infection Control.* 2021; 10: 58. doi: 10.1186/s13756-021-00930-x.
2. CLSI 2013: VET01-S2: Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals. 2013; p. 1-168. ISBN 1562388770.
3. De Souza Gazal a kol. Detection of ESBL/AmpC-Producing and Fosfomycin-Resistant Escherichia coli From Different Sources in Poultry Production in Southern Brazil. In *Frontiers in Microbiology*. 2021 Jan 11;11:604544. doi: 10.3389/fmicb.2020.604544.
4. EFSA - European Food Safety Authority, (ECDC) European Centre for Disease Prevention and Control. ECDC 2015. Available from: http://ecdc.europa.eu/en/publications/surveillance_reports/Pages/index.aspx
5. Gattringer R. Niks M, Ostertág, R. a kol. Evaluation of MIDITECH automated colorimetric MIC reading for antimicrobial susceptibility testing. In *Journal of antimicrobial chemotherapy*. ISSN 1098-6596, 2002, vol. 49, no. 4, p. 651-659.
6. Kiiti a kol. Antimicrobial Resistance Profiles of Escherichia coli Isolated from Broiler and Layer Chickens in Arusha and Mwanza, Tanzania. In *Int J Microbiol*. 2021. 22; 2021:6759046. doi: 10.1155/2021/6759046.
7. Leekitcharoenphon a kol. Genomic evolution of antimicrobial resistance in Escherichia coli. In *Scientific Reports*. 2021 Jul 23;11(1):15108. doi: 10.1038/s41598-021-93970-7.
8. Rivera-Gomis, J. a kol. Antimicrobial Resistance of Campylobacter jejuni, Escherichia coli and Enterococcus faecalis Commensal Isolates from Laying Hen Farms in Spain. In *Animals*. 11(5): 1284. doi: 10.3390/ani11051284.

Kontaktná adresa: MVDr. Tatiana Szabóová, PhD., 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

NÚTENÝ VÝKRM VODNEJ HYDINY Z HĽADISKA PRÁVNYCH ÚPRAV

FORCED FATTENING OF WATERFOWLS IN LEGAL RULES

Takáčová Daniela, Nagyová Alena, Sasáková Naďa

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

ABSTRACT

Forced feeding in order to obtain a delicacy, which is goose or duck liver, is prohibited in many countries. This prohibition applies only to the production but not to the sale of a product also known as foie gras. There are differences between countries when it comes to the production and/or importation of foie gras. In the Slovak Republic, the Act on Veterinary Care prohibits, except in duly justified health and approved procedures, the animal doping or administering a narcotic drug or chemical substance that is detrimental to its health or induces its non-physiological condition, or feeding a diet containing substances or objects that cause pain, suffering, or otherwise harm it, as well as prohibits the use of a stimulus, object, or device that causes pain, clinically obvious injury, or clinically demonstrable negative changes in the activity of the animal's nervous system or other organ systems. The article focuses on legal regulations that govern the protection and welfare of animals, as well as provisions of the Slovak legal rules governing the protection of animals in so-called forced fattening.

Key words: foie gras, goose, duck, liver, legal rules

ÚVOD

Chov vodnej hydiny na území Slovenska má svoju tradíciu. V súčasnosti je však Slovensko absolútne závislé od dovozu husí a kačíc, nakoľko z domácich chovov je saturovaných len päť percent spotreby, čo sa negatívne odzrkadľuje aj pri obchodovaní s touto komoditou. Jedna hus potrebuje za svoj život približne 25 kilogramov obilia. Pokiaľ je realizovaný nútený výkrm, spotreba obilia je dvojnásobná. (Huba, 2009).

Nútený výkrm za účelom získania husacej či kačacej pečene je známy z ďalekej minulosti. Spôsob získavania jemnej pečene husí si od Egypťanov prebrali Gréci a neskôr aj Rimania, pričom na výkrm používali prednostne figy. Z toho dôvodu bola stučnená pečeň pomenovaná latinsky „*jecur ficatum*“, čo sa vo francúzštine neskôr zmenilo na „*foie*“. Ako

delikatesa sa vo Francúzsku začala konzumovať až v 18. storočí, v súčasnosti sa tu vyrobí aj spotrebuje viac ako 25 – 26 000 ton kačacej foie gras (husacej iba 8 %). „Tučná kačacia pečeň“ musí mať hmotnosť minimálne tristo gramov a husacia štyristo gramov (Anonym 2010). Počas doby núteného výkrmu sa husi s hmotnosťou nad 4 kg (v priemere 21 – 30 dní) a kačky vo veku 12 – 15 týždňov (počas 13 – 15 dní) dokrmujú („štopú“) kukuricou zmiešanou so soľou a tukom viackrát denne cez lieviky alebo kŕmne strojčeky (Hrnčár a Bujko 2010), v dôsledku čoho dochádza k zvýšeniu živej hmotnosti a pečeň dosahuje až desaťnásobnú veľkosť v porovnaní s normálnou. Hrnčár a Bujko (2010) uvádzajú, že pečeň takto dokrmovaných husí a kačíc obsahuje 30 – 45 % tuku, ktorý sa svojim zložením blíži k olivovému oleju a obsahuje veľa nenasýtených mastných kyselín.

PRÁVNE ÚPRAVY SÚVISIACE S PROBLEMATIKOU PRODUKCIE „FOIE GRAS“

V správe Vedeckého výboru pre zdravie a dobré životné podmienky zvierat (Le Neidre et al. 1998) pri produkcii foie gras u kačíc a husí je uvedené, že tieto praktiky núteného kŕmenia sú v rozpore s dobrými životnými podmienkami zvierat, naviac, na trhu sú dostupné alternatívne produkty vyrobené z pečene zvierat, ktoré nie sú nútene kŕmené.

Definícia foie gras je upravená v nariadení Komisie (ES) č. 543/2008 čl. 1 bod 3 nasledovne: „Pečene husí alebo kačíc druhu *Cairina muschata* alebo *Cairina muschata x Anas platyrhynchos*, ktoré boli kŕmené takým spôsobom, že došlo k hypertrofii tukových buniek pečene. Vtáky, ktorým sa tieto pečene odoberajú, musia byť úplne vykrvené a pečene musia mať jednotnú farbu. Pečene musia mať túto hmotnosť: kačacie pečene vážia najmenej 300 g netto, Husacia pečeň má vážiť najmenej 400 g netto.“

V nariadení EP a R (EU) 2018/848 sa v bode 1.4.1 uvádza, že výkrmové postupy majú rešpektovať obvyklé výživové modely jednotlivých druhov a dobré životné podmienky zvierat, a to v každej fáze chovu; nútené kŕmenie je zakázané.

V roku 2021 sa Európska únia pokúsila prijať opatrenie smerujúce k zákazu výroby foie gras, francúzskej pochúťky, ktorá je synonymom luxusu alebo krutosti (Voorhees 2021). Navzdory tomuto pokusu, vo februári 2022, Európska federácia foie gras (Euro Foie Gras) a Copa-Cogeca – zjednotený hlas farmárov a poľnohospodárskych družstiev v EÚ – privítali hlasovanie Európskeho parlamentu proti zákazu núteného výkrmu pri produkcii foie gras (Sritharan, 2022).

Medzi krajiny, ktoré ešte stále produkujú foie gras patrí Belgicko, Bulharsko, Francúzsko, Maďarsko a Španielsko. Krajiny, v ktorých je zakázaná produkcia sú Česká

republika, Dánsko, Fínsko, Nemecko, Taliansko, Luxembursko, Nórsko, Poľsko a Veľká Británia (Desoucey, 2016, Mukhrjee, 2014).

Právnym predpisom, ktorý upravoval vzťah človeka ku zvieratám z čias vlády Protektorátu Čechy a Morava, bolo v roku 1942 úplne zakázané napchávanie hydiny (Vládne nariadenie č. 176/1942 Sb.).

V súčasnosti je na Slovensku ochrana zvierat upravená v zákone o veterinárnej starostlivosti (Zákon č. 39/2007 Z. z. v zn. nesk. predpisov) v § 22, kde síce doslovný zákaz núteného výkrmu uvedený nie je, ale v ustanoveniach § 22 ods. 2 písm. i) je uvedené znenie, ktoré by bolo možné aplikovať na prípady núteného výkrmu („*zakazuje sa týranie zvierat, ktorým je každé konanie okrem odôvodneného zdravotného a postupového dôvodu, ktorým sa zviera dopuje alebo sa mu podá omamná látka alebo chemická látka, ktorá poškodzuje jeho zdravie alebo ktorá navodzuje jeho nefyziologický stav, alebo sa mu podá potrava, ktorá obsahuje látky alebo predmety, ktoré mu spôsobujú bolesť, utrpenie alebo ho inak poškodzujú, okrem odôvodnených zdravotných a schválených postupových dôvodov*“). Pri analýze tohto znenia by chovatelia mohli oponovať, že zvieratá sa nedopujú, nepodávajú sa im chemické ani omamné látky, a v potrave, ktorú im podávajú, nie sú látky alebo predmety, ktoré by v prípade núteného výkrmu im spôsobili bolesť, utrpenie, alebo by zvieratá (husi a kačky) inak poškodili. Zákon v § 22 ods. 2 písm. j) ustanovuje *zákaz používať podnety, predmety alebo pomôcky, ktoré by u zvierat vyvolali bolesť, spôsobili klinicky zjavné poranenia, alebo klinicky preukázateľné negatívne zmeny v činnosti nervovej sústavy alebo iných orgánových sústav zvieraťa*. Lievik (kŕmny strojček), ktorý sa používa na kŕmenie husí a kačíc je dostupný v mnohých chovateľských potrebách. Môže byť vyrobený z plastu, alebo z pozinkovaného plechu. Nesprávnym použitím týchto pomôcok môže u hydiny dôjsť k poškodeniu a poraneniu hltanu a pažeráka.

Nariadenie vlády SR č. 322/2003 Z. z. ustanovuje minimálne normy na ochranu zvierat chovaných alebo držaných na farmárske účely, pričom vlastník alebo držiteľ je povinný urobiť všetky potrebné opatrenia na zabezpečenie pohody zvierat, ktoré sú v jeho starostlivosti a zabezpečiť, aby im nebola spôsobená zbytočná bolesť, utrpenie alebo poranenie. V prílohe 1 nariadenia („Podmienky chovu hospodárskych zvierat“) je v bode 14 uvedené, že zvieratá musia byť kŕmené plnohodnotnou výživou primeranou ich veku a druhu, v dostatočnom množstve na udržanie ich dobrého zdravia a na uspokojenie ich nutričných potrieb; žiadnemu zvieraťu nesmie byť poskytnuté krmivo alebo tekutina v takej miere a spôsobom alebo s obsahom takých látok, ktoré by mu mohli spôsobiť zbytočné utrpenie alebo ho poškodiť. Z tohto ustanovenia vyplýva, že miera, resp. spôsob, ktorým sa husiam a kačkám podáva

krmivo, predstavuje vynútené kŕmenie, môže súvisieť s krutým a nehumánnym zaobchádzaním so zvieratami. Zvieratá môžu trpieť v dôsledku poranení hltana a pažeráka, zväčšenia pečene, zhoršenia jej funkcie, zväčšenia brucha, čo vtákom sťažuje pohyb, a pokiaľ sa v kŕmení pokračuje, môže dôjsť až k ich úhynu.

ZÁVER

Je dôležité, aby farmové zvieratá boli chované v zmysle správnej farmárskej praxe a dodržiavania ich dobrých životných podmienok. Mechanickým prekrmovaním husí a kačíc môže dochádzať porušovaniu ustanovení právnych predpisov a k týraniu zvierat.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ANONYM. Foie gras. Hriešna pochúťka faraónov. [online]. 2010, [cit. 2022-04-14]. Dostupné na internete: https://zena.sme.sk/c/5636687/foie-gras-hriesna-pochutka-faraonov.html)
2. DESOUCEY, M. Contested Tastes: Foie gras and the politics of food. Princeton, New Jersey: Princeton University Press. 2016. ISBN 9781400882830. p. 144.
3. HRNČÁR, C., BUJKO, J. Produkcia tučnej pečene vodnej hydiny. Chovateľ 12/2010
4. HUBA, J. Chov vodnej hydiny ako perspektíva a spása? In: *Poľnoinfo.* [online]. 2009, [cit. 2022-04-10]. Dostupné na internete: https://polnoinfo.sk/chov-vodnej-hydiny-ako-perspektiva-a-spasa/.
5. Le NEINDRE, P. et al. Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare. Welfare Aspects of the Production of Foie Gras in Ducks and Geese. 1998. 88p.
6. MUKHERJEE, N. India foie gras import ban applauded. In: *Human Society International* [online]. 2014, [cit. 2022-04-19]. Dostupné na internete: https://www.hsi.org/news-media/india-foie-gras-import-ban070714/.
7. NARIADENIE EP a R (EU) 2018/848 z 30. mája 2018 o ekologickej poľnohospodárskej výrobe a označovaní produktov ekologickej poľnohospodárskej výroby a o zrušení nariadenia Rady (ES) č. 834/2007. In Ú. v. EÚ L 150/1
8. NARIADENIE KOMISIE (ES) č. 543/2008 zo 16. júna 2008 , ktorým sa zavádzajú podrobné pravidlá uplatňovania nariadenia Rady (ES) č. 1234/2007 o obchodných normách pre hydinové mäso. In: Ú. v. EÚ L 157

9. NARIADENIE VLÁDY SR č. 322/2003 Z. z. v zn. nesk. predpisov. Zbierka zákonov, čiastka 146/2003
10. SHRITHARAN, A. The European Parliament votes in support of foie gras production. In: *New food*. [online]. 2022, [cit. 2022-04-19]. Dostupné na internete: https://www.newfoodmagazine.com/news/161765/the-european-parliament-votes-in-support-of-foie-gras-production/
11. VLÁDNÍ NAŘÍZENÍ č. 176/1942 Sb. O zákazu cpaní drůběže. Sbírka zákonů a nařízení, částka 75
12. VOORHEES, J. The final days of foie gras? In: *Modern farmer* [online]. 2021, [cit. 2022-04-10]. Dostupné na internete: https://modernfarmer.com/2021/06/the-final-days-of-foie-gras/
13. ZÁKON č. 39/2007 Z. z. v zn. nesk. predpisov. Zbierka zákonov, čiastka 28/2007

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

VPLYV SPÔSOBU PRÍPRAVY KÁVY NA ANTIOXIDAČNÚ AKTIVITU VO FILTROVANÝCH VÝBEROVÝCH KÁVACH

IMPACT OF PREPARATION METHOD ON ANTIOXIDANT ACTIVITY IN FILTERED SPECIALTY COFFEE BEVERAGES

Várady Matúš[a],Tauchen Jan[b], Klouček Pavel[b], Popelka Peter[a]

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

[b]Katedra kvality a bezpečnosti potravín, Česká zemědelská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 165 00 Praha – Suchdol, Česká republika

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effect of total dissolved solids (TDS), extraction yield (EY), and grinding on total polyphenols (TP), total flavonoids (TF), and total antioxidant capacity (TAC) in a specialty coffee prepared using different methods of filtration (Hario V60, Aeropress, and French press). TP (33.3µg GAE/mg) and TF (0.73µg QE/mg) with Hario V60 were highest at a TDS of 1.84%. TP (34.9µg GAE/mg) with Aeropress was highest at a TDS of 1.82%. TP (34.0 µgGAE/mg) and TF (0.56 µgQE/mg) with the French press were highest at a TDS of 1.58%. EY was highest with fine grinding (Hario V60 > French press > Aeropress at 25.9, 21.7, and 20.7%, respectively). Aeropress and French press coffees had the highest TP ($P = 0.045$). Hario V60 coffee had the highest TF ($P = 0.004$), but the TAC of the coffees remained comparable for all methods. EY and TDS influenced TP, TF, and TAC in the specialty coffee beverages using the finest grinding size for all methods of preparation. We thus conclude that the finer the grind, the higher the content of bioactive substances in the coffee beverage and that measuring coffee extraction should be one of the most important processes in coffee preparation.

Keywords: antioxidation activity, total polyphenols, specialty coffee, coffee preparation

ÚVOD

Káva je jedným z najčastejšie konzumovaných nápojov na svete a jej spotreba každým rokom stúpa (Vegro a de Almeida 2020). V poslednom desaťročí s príchodom výberových káv,

ktoré by mali zaručiť aj najvyššiu kvalitu, sa jej produkcia ešte viac zvýšila.Výberová káva má štandardizovaný celý výrobný proces, od výberu kritérií pre kávové plantáže až po jej prípravu, pričom prebieha predbežné triedenie a cupping, ochutnávka kávy. Zároveň je najdôležitejším kritériom výberovej kávy dosiahnutie cuppingového skóre 80 bodov na 100-bodovej škále jej hodnotenia (Lingle a Menon 2017). Kvalitu pripravenej kávy ovplyvňujú najmä dva kľúčové faktory: množstvo celkových rozpustených pevných látok (TDS), čo je hmotnostný podiel rozpustných pevných látok v kávovom nápoji a výťažok extrakcie (EY), čo je hmotnostný podiel rozpustných pevných látok odstránených z kávovej usadeniny (Lockhart 1957). Tieto faktory naznačujú, kedy je káva silná, slabá, horká, alebo nedostatočne vyextrahovaná. V baristickej praxi podľa SCAA (Specialty Coffee Association of America) je hodnota ideálneho TDS od 1,15 do 1,35 % a hodnota EY je v rozmedzí od 18 do 22 %. Kávové nápoje zohrávajú dôležitú úlohu pre zdravie ľudí, hlavne vďaka svojim antioxidačným vlastnostiam, pričom za súvislosť medzi konzumáciou kávy a nižším výskytom rôznych degeneratívnych či nedegeneratívnych ochorení sú zodpovedné najmä kyseliny chlorogénové. Monitorovanie extrakcie pre získanie ešte lepšej nutričnej hodnoty a chuti je dôležité pre prípravu dobre nutrične vyváženej kávy (Yamagata 2018).

Predpokladali sme, že kávy s odlišným TDS a EY by mohli výrazne ovplyvniť antioxidačnú aktivitu filtrovaných výberových kávových nápojoch. Preto bolo naším cieľom zistiť vplyv TDS, EY ako aj vplyv hrúbky mletia kávy na celkové polyfenoly (TP), celkové flavonoidy (TF) a celkovú antioxidačnú kapacitu (TAC) vo výberovej káve pripravenej tromi rôznymi metódami prípravy filtrovaných káv (Hario V60, Aeropress a French press).

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky zŕn 100 % *Coffea Arabica* (Father's Coffee Roastery, Ostrava, Česká republika) boli získané z kávovej oblasti Cajamarca, región Huabal, v Peru. Všetky boli spracované karbonickou macerációu. Kávové zrná boli pražené na plynovej pražičke Probatone 5 (Probat, Emmerich am Rhein, Germany) pri finálnej teplote 215 °C počas 10 minút. Následne boli kávové zrná pomleté štyrmi rôznymi spôsobmi, jemným, stredným, stredne hrubým a hrubým mletím. Filtrované kávové nápoje sme pripravili metódami Hario V60, Aeropress a French press, pričom sme použili 12 g čerstvo pomletej kávy zaliatej vodou, ktorá mala teplotu 94 °C. Hodnota TDS bola meraná digitálnym refraktometrom (Atago, Tokyo, Japonsko) a hodnota EY bola vypočítaná z TDS (Gagné 2021). Celkové množstvo polyfenolov (TP) sme stanovili spektrofotometrickou metódou s použitím Folin-Ciocalteau reagenčného činidla (Singleton a kol. 1998). Ako referenčná látka bola použitá kyselina galová a reakčné činidlo Na_2CO_3.

Absorbancia bola meraná pri 700 nm. Hodnoty TP boli vyjadrené ako ekvivalenty kyseliny galovej (µg GAE/mg kávy). Celkové množstvo flavonoidov (TF) sme stanovili upravenou metódou podľa Chandra a kol. (2014). Ako referenčná látka bol použitý quercetín a reakčné činidlo $AlCl_3$. Absorbancia bola meraná pri 420 nm. Hodnoty TF boli vyjadrené ako ekvivalenty quercetínu (µg QE/mg kávy). Celkovú antioxidačnú kapacitu (TAC) sme stanovili upravenou DPPH metódou (Sharma a Bhat 2009). Dvojnásobné sériové riedenie každej vzorky sa pripravilo v metanole, pričom ako pozitívnu kontrolu sme využili Trolox. Absorbancia bola meraná pri 517 nm. Hodnoty TAC boli vyjadrené ako ekvivalenty Troloxu (µg TE/mg kávy).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Káva v našom pokuse mala silnú antioxidačnú aktivitu, ktorá ovplyvnila jej senzorický profil a bolo ju možné upravovať rôznymi hodnotami TDS ako aj spôsobmi jej prípravy. Koncentrácie antioxidačných zlúčenín sa medzi hodnotami TDS a spôsobmi prípravy líšili. Pri príprave kávy metódou Hario V60 boli koncentrácie TP a TF najvyššie pri hodnote TDS 1,84 % a koncentrácia TAC bola najvyššia pri hodnotách TDS 1,62 a 1,45 % (Tabuľka č. 1). Pri príprave kávy metódou Aeropress boli koncentrácie TP najvyššie pri hodnote TDS 1,82 % (Tabuľka č. 2). Pri príprave kávy pomocou French pressu boli koncentrácie TF a TAC najvyššie pri hodnote TDS 1,58 % (Tabuľka č. 3). Antioxidačné vlastnosti pripravenej kávy jasne korelovali s hodnotami TDS a EY, čo korešponduje aj s výsledkami v literatúre (Liang a kol. 2021). Len málo štúdií sa však zaoberalo účinkom hodnôt EY na senzorickú kvalitu kávy. Vo svojej práci Batali a kol. (2021) skúmali úlohu hodnôt TDS pomocou kontroly času a frakcií filtrovanej kávy a zistili, že dôležité atribúty ako horká, kyslá a údená chuť kávy pozitívne korelovali s hodnotami TDS a naopak atribúty ako sladké, ovocné a kvetinové arómy kávy negatívne korelovali s hodnotami TDS. Avšak, štúdie porovnávajúce účinok hodnôt TDS a EY na antioxidačné aktivity vo filtrovaných výberových kávových nápojoch sú dosť obmedzené. Káva pripravená metódami Aeropress a French press mala najvyššie koncentrácie TP, zatiaľ čo káva Hario V60 mala najvyššie koncentrácie TF. Je známe, že organické kávy majú podstatne vyššie koncentrácie TP ako bežné kávy a ich obsah závisí najmä od pôvodu kávových zŕn, procesu praženia a techniky prípravy. Pri porovnaní obsahu šálky kávy pripravenej filtráciou (americká káva), varením (turecká káva) a extrakciou pod tlakom (espresso) mala americká káva vyššie koncentrácie TAC a TP, ako espresso a turecká káva (Derossi a kol. 2018). Niektoré štúdie uvádzajú, že koncentrácia TF sa zvyšuje s vyššou teplotou praženia, kvalitou kávy, hrúbkou mletia ako aj spôsobom skladovania (Odžaković a kol. 2016). Je zrejmé, že koncentrácia TF v našom pokuse závisela hlavne od použitej metódy prípravy kávy.

Koncentrácia TAC sa medzi metódami prípravy významne nelíšila (P = 0,298), ale relatívne vysoká priemerná štandardná odchýlka pre metódu French press naznačovala potenciálne silný rozdiel medzi jednotlivými hodnotami TDS pre French press. Koncentrácia TAC však závisí od rovnováhy všetkých zlúčenín vytvorených a degradovaných počas praženia, od typu kávy a spôsobu jej prípravy a zároveň silne koreluje s TP a TF (Samsonowicz a kol. 2019). S príchodom nových foriem prípravy filtrovaných káv ako sú Hario V60, French press, Aeropress sa vynárajú otázky o ich ideálnej extrakcii. Naším cieľom je piť čo najlahodnejšiu, no zároveň aj najvýživnejšiu kávu. Dôležité je však mať možnosť vybrať si kvalitnú kávovú surovinu a venovať pozornosť jej príprave a parametrom, ktoré ju môžu ovplyvniť.

Tabuľka č. 1, Vplyv prípravy kávy na antioxidačnú aktivitu (metóda **Hario V60)**

TDS	1,84 %	1,62 %	1,45 %	1,26 %	P
TP (µg GAE/mg)	33,3 ± 3,76^{c}	28,9 ± 5,49^{b,c}	25,3 ± 3,75^{a,b}	21,3 ± 3,69^{a}	<0,001
TF(µg QE/mg	0,73 ± 0,213^{b}	0,60 ± 0,198^{a,b}	0,50 ± 0,164^{a,b}	0,42 ± 0,172^{a}	0,015
TAC (µg TE/mg)	7,72 ± 0,506^{a}	11,5 ± 0,558^{b}	10,15 ± 0,563^{b}	7,93 ± 0,894^{a}	0,002
Hrúbka mletia	Jemné	Stredné	Stredne hrubé	Hrubé	
EY	25,9	22,8	20,1	17,6	

Priemer ± SD, ^{a,b,c} Rôzne písmená v riadku označujú významné rozdiely pri P < 0,05.

Tabuľka č. 2, Vplyv prípravy kávy na antioxidačnú aktivitu (metóda Aeropress)

TDS	1,82 %	1,44 %	1,32 %	1,22 %	P
TP (µg GAE/mg)	34,9 ± 3,74^{b}	29,3 ± 1,93^{a}	28,0 ± 1,53^{a}	27,1 ± 1,54^{a}	<0,001
TF (µg QE/mg	0,45 ± 0,141	0,42 ± 0,160	0,37 ± 0,134	0,32 ± 0,143	0,200
TAC (µg TE/mg)	8,85 ± 1,674	9,21 ± 1,358	9,54 ± 2,182	10,7 ± 1,311	0,565
Hrúbka mletia	Jemné	Stredné	Stredne hrubé	Hrubé	
EY	20,7	16,4	15,1	14,7	

Priemer ± SD, ^{a,b} Rôzne písmená v riadku označujú významné rozdiely pri P < 0,05.

Tabuľka č. 3, Vplyv prípravy kávy na antioxidačnú aktivitu (metóda French press)

TDS	1,58 %	1,36 %	1,17 %	1,10 %	P
TP (µg GAE/mg)	34,0 ± 3,98	33,6 ± 4,13	29,8 ± 4,21	29,6 ± 5,18	0,044
TF (µg QE/mg	0,56 ± 0,155^{b,c}	0,47 ± 0,134^{a,b}	0,40 ± 0,140^{a,b}	0,35 ± 0,155^{a}	0,036
TAC (µg TE/mg)	39,1 ± 2,02^{c}	15,8 ± 1,54^{b}	9,35 ± 1,07^{a}	12,3 ± 0,52^{a,b}	<0,001
Hrúbka mletia	Jemné	Stredné	Stredne hrubé	Hrubé	
EY	21,7	17,2	15,8	14,4	

Priemer ± SD, ^{a,b,c} Rôzne písmená v riadku označujú významné rozdiely pri P < 0,05.

ZÁVER

Výsledky našej štúdie vedú k záveru, že výťažok extrakcie a množstvo celkových rozpustených pevných látok ovplyvnilo koncentráciu celkových polyfenolov, celkových flavonoidov a celkovú antioxidačnú kapacitu vo filtrovaných kávach v závislosti od spôsobu a metódy prípravy. Najviac nutričné nápoje boli pripravené s použitím jemnej hrúbky mletia pre všetky spôsoby prípravy kávy. Záverom, treba povedať, že čím jemnejšie je mletie, tým vyšší je obsah bioaktívnych látok v kávovom nápoji a meranie extrakcie kávy by malo byť jedným z najdôležitejších procesov pri príprave kávového nápoja.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená vedeckou grantovou agentúrou Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu SR a Slovenskej akadémie vied VEGA č. 1/0073/22.

POUŽITÁ LITERATÚRA

5. Batali, M. E., Ristenpart, W. D., Guinard J. X. Brew temperature, at fixed brew strength and extraction, has little impact on the sensory profile of drip brew coffee. In *Scientific Reports.* ISSN 2045-2322, 2020, vol. 10, p. 16450.
6. Derossi, A. et al. How grinding level and brewing method (Espresso, American, Turkish) could affect the antioxidant activity and bioactive compounds in a coffee cup. In *Journal of the Science of Food and Agriculture.* ISSN 0022-5142, 2018, vol. 98, p. 3198-3207.
7. Gagné, J. (ed). In *The physics of filter coffee.* Scott Rao Coffee Books, 2021. ISBN-10: 0578246082. s. 249.
8. Chandra, S. et al. Assessment of total phenolic and flavonoid content, antioxidant properties, and yield of aeroponically and conventionally grown leafy vegetables and fruit crops: a comparative study. In *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 1741-427X, 2014, p.253875.
9. Liang, J., Chan, K. C., Ristenpart, W. D. An equilibrium desorption model for the strength and extraction yield of full immersion brewed coffee. In *Scientific Reports.* ISSN 2045-2322, 2021, vol. 11, p. 6904.
10. Lingle, T. R., Menon, S. N. Chapter 8 - Cupping and Grading - Discovering Character and Quality. In *The Craft and Science of Coffee,* ed. By Folmer B. Academic Press, Cambridge, Massachusetts, 2017. ISBN 9780128035207, p. 181-203.

11. Lockhart, E. E. The soluble solids in beverage coffee as an index to cup quality. In *Pan American Coffee Bureau.* Coffee Brewing Institute, National Coffee Association of USA, New York, NY, 1957. no. 27.
12. Odžaković, B. et al. Effect of roasting degree on the antioxidant activity of different *Arabica coffee* quality classes. In *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria.* ISSN1644-0730, 2016, vol. 15, p. 409-417.
13. Samsonowicz, M. et al. Antioxidant properties of coffee substitutes rich in polyphenols and minerals. In *Food Chemistry*. ISSN 1873-7072, 2019, vol. 278, p. 101-109.
14. Sharma, O. P., Bhat T. K. DPPH antioxidant assay revisited. In *Food Chemistry*.ISSN 1873-7072, 2009, vol. 113, no. 4, p. 1202-1205.
15. Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in Enzymology*. ISSN 0076-6879, 1998, vol. 299, p. 152-178.
16. Vegro, C. L. R., de Almeida L. F. Global coffee market: Socio-economic and cultural dynamics. In *Consumer Sci & Strat Market, Coffee Consumption and Industry Strategies in Brazil*, ed. by de Almeida L. F. and Spers E. E. Woodhead Publishing, Sawston, Cambridge, 2020. ISBN 9780128147214, s. 3–19.
17. Yamagata, K. Do coffee polyphenols have a preventive action on metabolic syndrome associated endothelial dysfunctions? An assessment of the current evidence. In *Antioxidants. ISSN* 2076-3921, 2018, vol. 7, p. 26.

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: varadymatus@gmail.com

ZHODNOTENIE MIKROBIOLOGICKEJ KONTROLY ÚČINNOSTI DEZINFEKCIE V PEKÁRENSKOM PODNIKU

EVALUATION OF MICROBIOLOGICAL CONTROL OF DISINFECTION EFFICIENCY IN A BAKERY

Vargová Mária, Veszelits Laktičová Katarína

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

ABSTRACT

Effective cleaning and disinfection in food processing plants consists in understanding of the type of the dirt to be removed from the diffrent types of surfaces. Disinfection is required mainly in food plant operations, where wet surfaces present favourable conditions for the growth of microorganisms. This work was focused on the efficiency of disinfection, using microbiological swabs before the production and after disinfection. Swabs were taken from different surfaces in the Production hall of the bakery operation, from the bread making section and the pastry section. Disinfectant Savo Original in 3 % concentration during exposure time 30 minutes, was used for disinfection. Disinfectant was effective in the bread production section on the wall and hopper where was no evaluated bacteria after disinfection, but on the floor were detected $2.02x10^2$ CFU/10 cm^2 of coliform bacteria after disinfection and on the table were detected $1.02x10^2$ CFU/10 cm^2 of total count of bacteria after disinfection. In the pastry section, on the surface of table I were recorded $1.42x10^3$ CFU/10 cm^2 of total count of bacteria after disinfection. Based on the results, presence of total count of bacteria and coliform bacteria after disinfection represent that disinfectant Savo Original in 3 % concentration was not enough effective for elimination of the evaluated microorganisms. In the food processing plants, cleaning and disinfection is carried out in order to produce safe products and in order to minimize the hygienic risk, a suitable disinfectant, used in a suitable concentration, must be used for a sufficient exposure time.

Keywords: microbiological control, disinfection, Savo Original, bakery

ÚVOD

Rozhodujúcim faktorom výroby kvalitných a hygienicky bezchybných výrobkov je dodržiavanie hygieny a čistoty výrobných zariadení ako aj priestorov; personálnej hygieny; hygieny odevov a pracovných nástrojov (LACIAKOVÁ, 2004). Za účelom minimálneho hygienického rizika v potravinárskych prevádzkach, musia byť realizované určité opatrenia, ktoré neumožňujú rozvoj kontaminujúcich mikroorganizmov a tak zabraňujú sekundárnej kontaminácii mikroorganizmami v priebehu výroby, skladovania a expedície finálnych výrobkov (STEINHAUSER, 1995).

Sanitácia je v mikrobiologickom ponímaní definovaná ako čistiaci a dezinfekčný proces, ktorý vedie k 99,0 až 99,9 % zníženiu počtu vegetatívnych baktérií. Každý potravinársky podnik má rozpracovanú sanitáciu formou sanitačných programov. Dezinfekcia, ktorá je súčasťou sanitácie, zahŕňa súbor opatrení zameraných na zneškodnenie pôvodcov infekcií, medzi ktoré patria tak patogénne ako aj oportúnne patogénne mikroorganizmy vo vonkajšom prostredí (HUDECOVÁ, 2011).

Mikrobiologická kontrola účinnosti dezinfekcie predstavuje najobjektívnejšiu metódu kontroly účinnosti dezinfekčných prostriedkov a postupov. Keďže patogénne mikroorganizmy sú vo vonkajšom prostredí málo záchytné, pre hodnotenie účinnosti dezinfekcie sa používa posúdenie prítomnosti indikátorových zárodkov, najmä enterokokov a mikrokokov (ŠTEFKOVIČOVÁ, 2007).

MATERIÁL A METÓDY

Dezinfekčný prípravok Savo Originál bol použitý v 3 % koncentrácii s časovou expozíciou 30 minút, bez zahrievania, aplikovaný striekaním na sledované povrchy. Dezinfekčný prípravok predstavuje čistiaci a dezinfekčný prostriedok, ktorý obsahuje účinnú látku chlórnan sodný ≥ 1 < 5 %; hydroxid sodný ≥ 0,5 < 2 % a < 5 % aniónovú povrchovo aktívnu látku. Dezinfekčný prostriedok je účinný proti vegetatívnym baktériám, ako aj proti plesniam, *Mycobacterium, Poliovirus, Adenovirus, Bacillus subtilis*. Dezinfekčný prípravok sa používa na dezinfekciu podláh, plôch, predmetov a hygienického náradia; na dezinfekciu pitnej vody, dezinfekciu a likvidáciu rias v bazénoch; na odstraňovanie zápachu a na bielenie (napr.: textílií, dreva). Prípravok je účinný proti mikroskopickým vláknitým hubám, riasam, lišajníkom a má vysoké baktericídne účinky.

Odber mikrobiologických sterov bol vykonaný v prevádzke pred výrobou a po dezinfekcii pomocou sterilných tampónov z plochy 10 cm^2 do 10 ml sterilného fyziologického roztoku. 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 mikroskopických húb (MH) bol použitý postup podľa platných ISO noriem. Pre stanovenie celkového počtu mikroorganizmov bol použitý mäsopeptonový agar (MPA), počas 24 hodinovej kultivácie pri 37 ºC. Na stanovenie koliformných mikroorganizmov bol použitý Endo agar (EA) počas 24 hodinovej kultivácie pri 37 ºC. Stanovenie počtu mikroskopických húb bolo založené na počítaní kolónii tvoriacich jednotiek (KTJ) po kultivácii na Sabouraudovom agare (SA), počas 3 – 5 dní, pri izbovej teplote (ONDRAŠOVIČ a kol., 1993).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Sanitácia je rovnako podstatná ako samotné vlastnosti potravín (GOLIAN, 2003). Ak v určitom bode výroby hrozí riziko kontaminácie, je dôležité, aby boli zabezpečené opatrenia na minimalizáciu, resp. úplnú elimináciu daného rizika. Z tohto dôvodu bol do praxe zavedený systém HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points). Systém vyhodnocuje potencionálne riziká, určuje, kde je možné dané riziko kontrolovať, aké limity je potrebné dodržiavať, ich monitorovanie, overovanie a dokumentáciu. So systémom HACCP súvisí aj SVP (Správna výrobná prax) a SHP (Správna hygienická prax). Ak tieto nie sú dodržané, systém HACCP nebude účinný (KEREKRÉTY, 2000).

Na základe výsledkov z tabuľky č. 1, možno konštatovať, že počty sledovaných druhov mikroorganizmov zo sekcie výroby chleba – CPM, KB a MH v pekárenskom podniku vyhovujú hygienickým požiadavkám, až na počty CPM na stole ($1.02x10^2$ KTJ/10 cm^2) a počty KB na podlahe ($2.02x10^2$ KTJ/10 cm^2), po dezinfekcii. Výskyt sledovaných mikroorganizmov na stole môže súvisieť so sekundárnou kontamináciou pracovníkmi pekárenského podniku. Prítomnosť koliformných baktérii, ktoré predstavujú indikátorové mikroorganizmy, poukazuje na hygienické nedostatky v sledovanej prevádzke.

Tabuľka č. 1: Priemerné hodnoty sledovaných mikroorganizmov z mikrobiologických sterov zo sekcie výroby chleba

Miesto odberu		Pred výrobou			Počas výroby			Po dezinfekcii		
		CPM	KB	MH	CPM	KB	MH	CPM	KB	MH
Sekcia výroby chleba	Podlaha	$1.02x10^2$	$2.03x10^2$	$1.2x10^2$	0	$4.02x10^2$	$2.02x10^2$	0	$2.02x10^2$	0
	Stena	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Stôl	$5.04x10^2$	0	0	>300	0	$1.3x10^3$	$1.02x10^2$	0	0
	Násypník	0	0	$4.3x10^2$	0	0	$9.3x10^2$	0	0	0

KTJ – kolónie tvoriace jednotky, CPM – celkové počty mikroorganizmov, KB – koliformné baktérie, MH – mikroskopické huby

Z tabuľky č. 2 vyplýva, že dezinfekcia bola účinná na všetkých sledovaných povrchoch v sekcii výroby sladkého pečiva okrem povrchu stola I, kde po dezinfekcii bolo zaznamenaných $1.42x10^3$ KTJ/10 cm^2 CPM, čo môže súvisieť s materiálom povrchu stola. Drevo ako materiál vykazuje určité negatívne vlastnosti – drsnosť, pórovitosť, zadržiavanie vlhkosti, ktoré môže negatívne ovplyvniť účinnosť mechanickej očisty a následnej dezinfekcie (FAO, 2019). Účinná dezinfekcia je závislá od zohľadnenia všetkých faktorov dezinfikovaného prostredia, napr. materiál povrchu, ako aj od správneho výberu dezinfekčných prostriedkov (WIRTANEN a SALO, 2003).

Tabuľka č. 2: Priemerné hodnoty sledovaných mikroorganizmov z mikrobiologických sterov zo sekcie výroby sladkého pečiva

Miesto odberu		Pred výrobou			Počas výroby			Po dezinfekcii		
		CPM	KB	MH	CPM	KB	MH	CPM	KB	MH
Sekcia výroby sladkého pečiva	Podlaha I	$3.1x10^2$	$1.01x10^2$	$1.02x10^2$	$7.02x10^2$	0	2	0	0	0
	Stena I	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Stôl I	$1.5x10^3$	0	0	$2.7x10^3$	0	0	$1.42x10^3$	0	0
	Stôl II	0	0	$1.32x10^2$	$1.1x10^5$	0	0	0	0	0
	Tácky	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Miesič	$1.2x10^4$	0	0	$1.13x10^5$	0	9	0	0	0

KTJ – kolónie tvoriace jednotky, CPM – celkové počty mikroorganizmov, KB – koliformné baktérie, MH – mikroskopické huby

ZÁVER

Na základe sledovania mikrobiologického stavu prostredia pekárenskej prevádzky, sme detegovali zvýšené počty sledovaných mikroorganizmov po dezinfekcii v sekcii výroby chleba, čo poukazuje na nutnosť opätovného vykonania dezinfekcie s ohľadom na možnosť prenosu nežiadúcej mikroflóry z jednotlivých povrchov na hotový produkt. V sekcii výroby sladkého pečiva sme zaznamenali zvýšené celkové počty mikroorganizmov na stole po dezinfekcii, v súvislosti s použitým materiálom. Prítomné mikroorganizmy vedú ku kontaminácii potravín a následnému rozvoju alimentárnych ochorení, a z tohto dôvodu, mechanické čistenie a dezinfekcia s použitím efektívnych prípravkov má veľký význam.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená grantovou úlohou KEGA No. 004-UVLF4-2020.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. FOOD OUTLOOK – Biannual Report on Global Food Markets; FAO: Rome, Italy, 2019
2. GOLIAN, J. – POPELKA, P. a kol.: Sanitácia v potravinárstve. SPU: Nitra, 2003, 96-103 s. ISBN 80-8069-267- X
3. HUDECOVÁ, D. – ŠIMKOVIČ, M.: Mikrobiológia. Bratislava: Nakladateľstvo STU, 2011, 144-145 s.,182-185s., 200 s. ISBN 978-80-227-3600-8.
4. ISO Standard 18593:2004 - Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs;
5. ISO Standard 21527:2008 - Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds).
6. ISO Standard 4832:2006 - Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method or the enumeration of coliforms
7. KEREKRÉTY, J.: HACCP- nástroj na zabezpečenie zdravotnej neškodnosti požívatín. In: Potravinokonzult, Bratislava, 2000, 185 s., ISBN 80-968348-1-9
8. LACIAKOVÁ, A. Čistenie a dezinfekcia v potravinárskych prevádzkach. In: Slovenský veterinársky časopis, 2004, XXIX, č. 4, s. 17-18.
9. STEINHAUSER, L. a kol.: Hygiena a technológia mäsa, Brno: Spektrum ,1995, 109-120, ISBN 80- 900260- 4- 4.
10. ŠTEFKOVIČOVÁ, M. a kol.: Dezinfekcia a sterilizácia, teória a prax II, Žilina, 2007, s. 88-90., ISBN 978-80-968243-3-0.
11. WIRTANEN, G.- SALO, S.: Desinfection in food processing- Efficacy testing of disinfectants. In Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 2003, p. 293-306.

Kontaktná adresa: MVDr. Mária Vargová, PhD., Department of Public Veterinary Medicine and Animal Welfare, University of veterinary medicine and pharmacy in Košice, Komenského 73, 04181 Košice, Slovak republic; E mail: Maria.Vargova@uvlf.sk

PŘIROZENÝ BEZPEČNOSTNÍ POTENCIÁL POTRAVIN

NATURAL SAFETY POTENTIAL OF FOOD

[1]Vorlová Lenka, [1]Navrátilová Pavlína, [1]Bartáková Klára, [2]Hanuš Otto, [1]Borkovcová Ivana, [2]Nejezchlebová Hana

[1]Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno, Česká republika

[2]Výzkumný ústav mlékárenský Praha, Česká republika

ABSTRACT

Food safety is in many cases a limiting property for its further technological process. Especially for food of animal origin, due to its physico-chemical parameters, this fact is significant. However, some of these foods contain biologically active compounds that naturally protect for some time, especially against microbial destruction. These foods include milk and eggs. These compounds have been studied for many years and gradually widely used. The work summarizes information about some of these protective substances.

Keywords: milk, egg, lysozyme, lactoferrin, ovotransferrin, lactoperoxidase system

ÚVOD

Bezpečnost potravin je limitující kritérium pro jejich další technologický či kulinární proces. Zejména u potravin živočišného původu, díky jejich fyzikálně chemickým parametrům, je tato skutečnost významná. Některé z těchto potravin však obsahují biologicky aktivní sloučeniny, které přirozeně, po určitou dobu zajišťují jejich ochranu, zejména proti mikrobiální zkáze. Tyto sloučeniny jsou již řadu let studovány a postupně široce využívány. Mezi potraviny živočišného původu, které obsahují biologicky aktivní sloučeniny s řadou protektivních vlastností patří mléko a vejce.

Vejce

Vejce jsou zajímavou potravinou v porovnání s ostatními živočišnými produkty nejen svou vysokou nutriční hodnotou, ale i svou dobou údržnosti. Pro tuto specifitu jsou vejce vybaveny některými přirozenými ochrannými mechanismy. Sem je možno zařadit bílkoviny žloutku i bílku. Ve žloutku je to bílkovina fosfitin, glykofosfoprotein, který váže kovy (Ca^{2+}, Mg^{2+}, Fe^{3+}) do chelátových komplexů a tím je zabezpečován bakteriostatický účinek zejména

proti gramnegativním baktériím, pro které je železo esenciálním růstovým faktorem. V bílku je obsažen ovoglobulin G1 (lysozym) a konalbumin (ovotransferin). Lysozym, znám jako *muramidasa*, katalyzující hydrolýzu β-(1→4) vazby mezi N-acetylmuramidovou kyselinou a N-acetylglukosaminem bakteriálních peptidoglykanů. Tato struktura je hojně zastoupena v buněčné stěně grampozitivních baktérií. Lysozym je obsažen v mnoha biologických tekutinách a tkáních. V bílku slepičích vajec se nachází lysozym **c** (chick-type) se 129 aminokyselinami, v bílku husích vajec se nachází lysozym **g** (goose-type), který má jinou sekvenci i počet aminokyselin (130 aminokyselin), jinou molekulární hmotnost i odlišný molární extinkční koeficient. Také je specifický svou termolabilitou.

Konalbumin (ovotransferin) glykoprotein, který při pH > 6 váže na 1 mol bílkoviny 2 moly Mn^{3+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+}. Tato bílkovina bílku vykazuje bakteriostatický účinek (stejně tak, jako fosfitin ve žloutku) zejména proti gramnegativním baktériím.

Mléko

Mléko se vyznačuje mnohem širším spektrem biologicky aktivních (ochranných) látek, jedná se o laktoferin, lysozym, laktoperoxidázový systém, xantinoxidázu, imunoglobuliny a proteoso-pepton.

Laktoferin

Nejvíce zájmu je věnováno syrovátkové bílkovině laktoferinu (laktotransferinu). Jedná se o železo vázající multifunkční glykoprotein, který je syntetizován epiteliálními buňkami mléčné žlázy (a dalšími exokrinními žlázami), vysoká koncentrace se nachází v sekundárních granulích neutrofilů. Jedná se o metalobílkovinu, s možností vazby nejen železa, ale i mědi, zinku a manganu do chelátových sloučenin. Bovinní laktoferin vykazuje vysoký stupeň homologie s humánním laktoferinem (77 %). Nejvíce popsána je jeho antimikrobiální aktivita. Bakteriostatická funkce laktoferinu spočívá ve vazbě železa, a tím inhibice růstu a exprese virulentních faktorů (i blokace vzniku biofilmu bakterií). U laktujících dojnic snižuje riziko mastitid a působí jako selektivní antibiotikum.

Baktericidní účinek spočívá v přímé interakci s bakteriálním povrchem, a to v poškození vnější membrány u gramnegativních bakterií interakcí s lipopolysacharidy; u grampozitivních vazbou k molekulám kyseliny lipoteichoové a tím usnadnění účinnosti antibakteriálních sloučenin (lysozym, antibiotika).

Laktoferin v kombinaci s lysozymem vykazuje silnější bakteriostatické účinky proti *Pseudomonas aeruginosa, Listeria monocytogenes* a *E. coli*, methicillin-rezistentní *Klebsiela*

pneumoniae, Staphylococcus aureus. Laktoferin taktéž inhibuje replikaci širokého spektra RNA a DNA virů, zahrnujíc herpes simplex virus, virus hepatitídy B a C, humánní cytomegalovirus, hantavirus, HIV, rotaviry, polioviry, adenoviry, a humánní papillomavirus.

Z dalších antimikrobiálních účinků je prokázána jeho antifungální a antiparazitární aktivita. Laktoferin může podporovat proliferaci, diferenciaci a aktivaci buněk imunitního systému a posilovat imunitní odpověď. Na druhou stranu laktoferin působí jako protizánětlivý faktor. Díky své antimikrobiální aktivitě a schopnosti vázat složky bakteriálních buněčných stěn (LPS) nebo jejich receptory, může laktoferin zabránit rozvoji zánětu a následnému poškození tkáně způsobenému uvolňováním prozánětlivých cytokinů a reaktivních forem kyslíku.

Intenzivně je studována antikancerogenní aktivita laktoferinu.

Lysozym

Další komponentou ochranného systému mléka je lysozym, nativní enzym, který je kombinací obou typů („c“ i „g“) s 3D strukturou podobnou alfa-laktalbuminu. Kromě lýzy bakteriální buněčné stěny grampozitivních baktérií vykazuje i další aktivity, a to inaktivace některých virů, zvýšení efektu antibiotik, protizánětlivý a antihistaminový účinek; aktivace imunitních buněk a antitumorózní aktivitu. Při zahřátí na 75 °C/15 min. nebo 80 °C/15 s zůstává více než 75 % aktivity. Koncentrace laktoferinu i lysozymu se liší u jednotlivých species. V mléce humánním je však koncentrace obou vyšší než v mléce bovinním.

Laktoperoxidáza (resp. laktoperoxidázový systém)

Do ochranného systému mléka patří i laktoperoxidáza, nativní enzym se širokou substrátovou specifitou, obsahující hemové železo, s vysokou koncentrací v bovinním mléce. Katalyzuje štěpení peroxidu vodíku na kyslík, který generuje krátce existující oxidační hypothiokyanátový anion. Tato vysoce reaktivní sloučenina oxiduje sulfhydrilové skupiny mikrobiálních enzymů a jiných membránových proteinů, což vede k usmrcení či inhibici růstu širokého spektra mikroorganismů (bakterií, virů, hub, plísní a protozoí). Laktoperoxidázový systém je používán v řadě rozvojových zemích pro konzervaci syrového mléka v zařízeních, kde není možné chlazení.

Novější studie uvádí i další látky mléka, které vykazují antibakteriální účinky, např. alfa-laktalbumin, proteoso-pepton a xantinoxidáza.

ZÁVĚR

Vejce a mléko jsou potraviny živočišného původu obsahující protektivní látky vyznačující se významnými vlastnostmi, jako jsou bakteriostatické či baktericidní účinky. Mezi tyto látky patří u vajec fosfitin ve žloutku a ovoglobulin (lysozym) a konalbumin (ovotransferin) v bílku. Podobně v syrovátce mléka je obsažen laktoferin (laktotransferin) a lysozym, který je kombinací dvou typů „c“ a „g“, z nichž typ „c“ se nachází v bílku slepičích vajec a typ „g“ v bílku husích vajec. Do ochranného systému mléka patří i laktoperoxidáza a dle novějších studií i alfa-laktalbumin, proteoso-pepton a xantinoxidáza.

PODĚKOVÁNÍ

Práce vznikla za finanční podpory projektu NAZV QK21010326.

Použitá literatura je dostupná u autora.

Kontaktní adresa: Vorlová Lenka, Department of Animal Origin Food and Gastronomic Sciences, Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology, University of Veterinary Sciences Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Czech Republic; E-mail: vorloval@vfu.cz

INŠPEKCIA MÄSA DIVIAČEJ ZVERI PO ULOVENÍ V POĽSKU - NAJČASTEJŠIE PRÍČINY KONFIŠKÁCIÍ V ROKOCH 2017 – 2021

AFTER SHOOTING INSPECTION OF WILD GAME MEAT IN POLAND – MOST COMMON CAUSES OF CONFISCATIONS IN YEARS 2017 - 2021

Wiśniewski Jan, Nowicki Marek, Puchalska Martyna, Anusz Krzysztof

Department of Food Hygiene and Public Health Protection, Institute of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences-SGGW (WULS-SGGW), Nowoursynowska 159, 02-776 Warsaw, Poland

ABSTRACT

For many years we have been conducting research aimed at analyzing the reasons for disqualifying venison. This publication is a continuation of the work.

In European Union countries, wild game meat is examined by official veterinarians in accordance with the Regulation 2019/627. The procedure includes post-mortem inspection and, in justified cases, additional laboratory tests. The aim is to ensure food safety as part of the broadly understood protection of public health. The role of hunters and official veterinarians is crucial in this system. Acquiring of wild game meat, as a result of hunting, in Poland has been at a high level for many years. Hunters are allowed to take meat for own purposes. This is quite often situation and due to this fact the number of animals obtained as a result of hunting is higher than showed in statistics. Hunters are not obligated to send carcases for veterinary examination therefore they are not shown in statistics. The only one species which is obligatorily examined for the presence of Trichinella and since 2014 for ASF is wild boar. Therefore statistical data showing number of obtained wild boars are reliable.

This publication presents data on the official examination of carcasses of game animals by veterinarians in processing plants in 2017-2021. Table 1 presents number of examined carcases. Number of carcases with detectet lesions and judged as unfit for human consumption are collected in table 2. List of the most common reasons of disqualification is in table 3.

The small number of obtained elks is related to the introduction of a year-long protection period, in order to increase the size and condition of the elk population, since 2001. However, it remains on the list of game animals. Elk hunting is sporadic, is exclusively related to research and is carried out with the consent of the competent authorities.

In order to rebuild the hare population, the Polish law prohibits individual hunting for this species. When first case of African Swine Fever (ASF) has been detected in Poland in 2014 wild boar hunting was increased significantly in order to reduce its population. Additionally, the protection period for wild boar females has been annulled since 2018. Therefore, hunting for all wild boars is possible throughout the whole year in Poland. In 2018 the hunting season for the red deer doe and calf was extended by 1 month, as well as for fallow deer doe, by 2 months for fallow deer bulls and 2,5 months for fallow deer calf.

Trends in the most common reasons for disqualification of free-living animal carcasses in the years 2017 - 2021 are as follows.

There is a downward trend among the reasons for disqualification, such as insufficient debleeding, sepsis and pyemia, other contagious diseases, decay of meat and trichinosis.

A significant number of wild boars aquired in the years 2018-2020 were associated with the continuation of ASF eradication program. The low number of examined elks is related to the year-round conservation period for this species, which has been in force since 2001. In the years 2018, 2020 and 2021, there were sporadic cases of cysticercosis in wild boars. The prevalence of other parasites was at a similar level in 2017-2021.

Keywords: free – living animal's, wild boar, meat, deer, food safety.

Table 1: Number of examined hunting animals' carcasses in years 2017 -2021.

Breed / Year	Roe-deers	Deers and fallow deers	Elks	Wild boars	Hares	Hunting birds	Mufflons
2017	197012	90338	8	97351	0	119624	400
2018	198311	83887	4	112748	0	66880	308
2019	187072	86835	13	134087	0	25000	256
2020	163142	79735	5	124343	0	74256	160
2021	163295	75233	5	79620	0	33335	176

Table 2: Number of carcasses with detected pathological changes (1) and number of carcasses judged as unfit (2).

Breed \ Year		2017	2018	2019	2020	2021
Roe deers, deers, fallow deers, elks	1	953	1365	893	1002	1603
	2	904	1296	890	992	1364
Wild boars	1	2741	2228	2544	3223	2352
	2	2526	2223	2709	3228	2201
Hares	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
Hunting birds	1	176	334	265	595	329
	2	176	334	265	595	329
Mufflons	1	0	3	8	5	9
	2	0	3	8	5	9

Table 3: Most common causes for disqualification (number of occurences).

Grounds \ Year	2017	2018	2019	2020	2021
Emaciation	838	771	776	1452	981
Insufficient debleeding	152	0	0	208	0
Sepsis and pyemia	45	16	8	22	6
Other contagious diseases	0	210	347	364	61
Wet decomposition	1017	1502	1196	1236	686
Trichinosis	615	535	719	735	576
Leukosis	0	0	0	0	0
Measles	0	4	0	1	2
Other parasites	44	35	42	36	40

REFERENCES

1. Data from General Veterinary Inspectorate.

Contact address: Wiśniewski Jan, Department of Food Hygiene and Public Health Protection, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences-SGGW (WULS-SGGW), Nowoursynowska 159, 02-776 Warsaw, Poland. E-mail: jan_wisniewski1@sggw.edu.pl

MIKROBIOLOGICKÝ STATUS ÚDENÝCH RÝB UVEDENÝCH NA TRH V POĽSKU

MICROBIOLOGICAL STATUS OF SMOKED FISH PLACED ON THE MARKET IN POLAND

Ziomek Monika[1], Szkucik Krzysztof[1], Skałecki Piotr [2], Kaliniak -Dziura Agnieszka[2], Maćkowiak-Dryka Monika[1]

[1]Department of Food Hygiene of Animal Origin, University of Life Sciences in Lublin, Akademicka 12, 20-950 Lublin, Poland.

[2]Institute of Quality Assessment and Processing of Animal Products, Faculty of Animal Sciences and Bioeconomy, University of Life Sciences in Lublin, Akademicka 13, 20-950 Lublin, Poland.

ABSTRACT

Fish and fishery products are considered to be one of the most nutrient-rich dietary products. The nutritional value of fish depends on its freshness. The greatest role in fish spoilage is played by microbial decomposition. Smoking is one of the methods of fish preservation based on the action of temperature and the penetration into the tissue of preservative substances produced by burning wood. Almost all microorganisms except some pathogenic bacteria are destroyed in the smoking process, nevertheless, fish can be a source of some pathogenic microorganisms, i.e. *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp*, *Staphylococcus spp*, *Clostridium botulinum* or *Vibrio spp.* In performed study five smoked fish species (redfish, mackerel, codfish, sprat and herring) was tested at the marketing stage. The total number of 50 (N=50) samples was tested according to ISO standards. The potential foodborne bacteria in the tested samples were identified using a MALDI-TOF spectrometer combined with MALDI-Biotyper 3.0 software. In the performed study, the highest microbiology contamination TVC on the level 3,63±0,15 log10 cfu/g and PBC on the level 3,04±0,24 log10 cfu/g has been found in redfish muscle compared to herring, codfish, sprat and mackerel muscle. A significantly lower amount of 1,26±0,12 log10 cfu/g yeast and moulds of was found in the muscle tissue of herring, compared to the other fish tested. The highest staphylococcal contamination of muscle tissue of redfish on the level 2,56±0,15 log10 cfu/g and mackerel on the level 2,13±0,15 log10 cfu/g was found. Identification of isolated bacteria confirmed the presence of *Staphylococcus pasteuri*,

Staphylococcus warneri, *Staphylococcus epidermidis* and *Streptococcus intermedius*, *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus delphini*.

Key words: smoked fish, fish meat, fish spoilage,

INTRODUCTION

Fish and fishery products are considered to be one of the most nutrient-rich dietary products. In particular, they are a source of high-quality protein and unsaturated fatty acids. The nutritional value of fish also depends on its freshness. The process of fish spoilage begins immediately after harvesting and killing by enzymatic digestion, oxidation of fatty acids and bacterial decomposition. The greatest role in fish spoilage by far is played by microbial decomposition. After the death of fish, bacteria present in the skin and on the gills can enter the muscle tissue, causing decomposition and thus changes in the product's nutritional value. Smoking is one of the methods of fish preservation based on the action of temperature and the penetration into the tissue of preservative substances produced by burning wood. Smoking provides the product with the desired colour, taste, aroma, and longer shelf life obtained by bacteriostatic and antioxidant effects of smoke components and lowering pH. Almost all microorganisms except some pathogenic bacteria are destroyed in the smoking process (Akinwumi 2015, Kwaghvihi, 2020); nevertheless, fish can be a source of some pathogenic microorganisms, i.e., *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp*, *Staphylococcus spp*, *Clostridium botulinum* or *Vibrio spp* (Benie 2017, Łopatek 2011). Their sources are mainly processes associated with non-hygienic handling of the product after the smoking process (Anihouvi, 2019). Incorrect handling of the finished product is also the cause of the increase in the overall microbial contamination of smoked fish, which can be expressed by microbial contamination indicators, i.e., total bacterial count (TVC), psychrophilic bacteria count (PBC), *Enterobacteriaceae* count (EBC) and total yeast and moulds count (TYMC).

The study aimed to indicate the initial microbiological contamination of five smoked fish species at the marketing stage and identify the potential foodborne bacteria in the tested samples.

MATERIAL AND METHODS

The material for the study included smoked fish from a fish processing plant located in Pomeranian Voivodeship - Poland. The study included five fish species: redfish (*Sebastes norvegius*), mackerel (*Scomber scombrus*) codfish (*Gadus morhua*), sprat (*Sprattus sprattus*), and herring (*Clupea harengus*). The total number of samples tested was 50 (N=50). From each

species, ten samples (n=10) were tested. The fish were treated with a hot smoking process, then vacuum packed, transported and stored at 4°C until the determinations were performed. Fish muscle tissue from the dorsal region was collected for testing. For all microbiological counts, 10 g samples were aseptically weighed into sterile lab bags with 90 mL of dilution fluid–saline peptone water (BioMaxima, Lublin, Poland) and then were homogenised for 2 min at the normal speed of 230 rpm and as required by the PN-EN ISO 6887-3:2005 and PN-EN ISO 7218:2007 standards (ISO 2017-1, ISO 2007). Other decimal dilutions were prepared from the 10^{-1} dilution and were plated onto dedicated media. The samples to provide TVC and PBC were cultivated on Plate Count Agar (BioMaxima, Poland) and enumerated after incubation at 30 °C for 48 h and 0–4 °C for 14 days, respectively (ISO 2013). Bacteria belonging to the EBC group were enumerated in Violet Red Bile with Lactose Agar (BioMaxima, Poland) after incubation at 37 °C for 24 h (ISO 2005). The TSC was estimated using Baird-Parker RPF agar (Biomaxima, Poland) after incubation at 37 °C for 24 h (ISO 2001). The TYMC was ascertained through culture on an agar medium with Dichlorate Rose Bengal and Chloramphenicol LAB-AGAR (BioMaxima, Poland). The culture was incubated at 25 °C for five days (ISO 2009). All bacterial populations were determined as the log of colony-forming units (log CFU g^{-1}). Isolation and determination of Salmonella spp. were performed according to PN-ISO 6579:2017 (ISO 2017-2). In order to determine the presence of Listeria spp., an examination was performed guided by PN-EN ISO 11290-1 (ISO 2017-3). The potential foodborne bacteria in the tested samples were identified using a MALDI-TOF spectrometer combined with MALDI-Biotyper 3.0 software (Bruker Daltonik, Germany).

RESULTS AND DISCUSSION

The most frequently used hygienic criterion providing information on the level of microbial contamination of food is the total viable count (TVC) and the psychrophilic bacteria count (PBC) for products stored under refrigerated conditions (Tab 1). In the performed study, the highest microbiology contamination TVC on the level 3,63±0,15 log10 cfu/g and PBC – 3,04±0,24 log10 cfu/g has been found in redfish muscle compared to herring, codfish, sprat and mackerel muscle. Yeasts and moulds were confirmed in all tested fish muscle samples, and their content varied between species. A significantly lower amount of yeast and moulds of 1,26±0,12 log10 cfu/g was found in the muscle tissue of herring, compared to the other fish tested. Coliforms are considered an indicator of sanitary status, and their presence indicates secondary, mostly of human origin, contamination of the final product. In the study, the lowest amount of *Enterobacteriaceae* was found in the samples of herring muscle tissue and reached

1,92±0,11 log10 cfu/g. In the remaining examined samples, their amount was significantly lower and comparable. The presence of *E.coli* was also confirmed in the tested samples of redfish. The number of staphylococci bacteria in the tested samples differed significantly between the evaluated fish species. The staphylococcal contamination of muscle tissue of redfish on the level 2,56±0,15 log10 cfu/g and mackerel on the level 2,13±0,15 log10 cfu/g was found to be significantly higher than in muscle tissue of herring, cod and sprat, where their numbers were comparable. Identification of isolated bacteria confirmed the presence of *Staphylococcus pasteuri*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus epidermidis* and *Streptococcus intermedius* in herring muscle samples. *Staphylococcus warneri* was confirmed in cod muscle tissue samples, while *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus delphini* were confirmed in redfish muscle samples. *Staphylococcus warnerii* was confirmed in sprat and mackerel muscle samples. The isolated staphylococci are described as commensal bacteria with increasing infectious potential. It is worth noting that our own study isolated and confirmed the presence of *Staphylococcus delphini*, a coagulase-positive staphylococcus that can cause infection in the form of ulcerative gastritis in humans (Magleby 2019).

Table 1. Microbiological contamination of smoked fish during marketing [log10 cfu/g]

	TVC	PBC	TYMC	EBC	TSC
herring *Clupea harengus*	2,43A ± 0,13	1,13A ± 0.14	1,26A ± 0,12	1,92A ± 0,11	1,52A ± 0,20
redfish *Sebastes norvegius*	3,63B ± 0,15	3,04C ± 0. 24	2,66B ± 0,15	2,71B ± 0,12	2,56B ± 0,15
codfish *Gadus morhua*	2,07A ± 0,21	2,83B ± 0.32	2,42B ± 0,11	2,56B ± 0,12	1,17A ± 0,11
mackerel *Scomber scombrus*	2,47A ± 0,34	2,92B ± 0.34	2,60B ± 0,12	2,59B ± 0,13	2,13B ± 0,15
sprat *Sprattus sprattus*	2,51A ± 0,14	2,85B ± 0.13	2,49B ± 0,17	2,53B ± 0,12	1,08A ± 0,08

A, B, C - means indicated by different capital letters are significantly different vertically within the bacterial group at $p \leq 0.05$

CONCLUSION

1. Commercially available smoked fish may have varying microbiological statuses depending on their species.

2. Smoked fish can be a source of bacteria pathogenic to humans, including *E.coli* and pathogenic staphylococci.

3. Due to the abundant presence of staphylococci in the muscle tissue of the examined fish, it seems reasonable to undertake further studies on their species identification.

ACKNOWLEDGEMENTS

Project financed under the program of the Minister of Science and Higher Education under the name "Regional Initiative of Excellence" in 2019 - 2022 project number 029/RID/2018/19 funding amount 11 927 330.00 PLN.

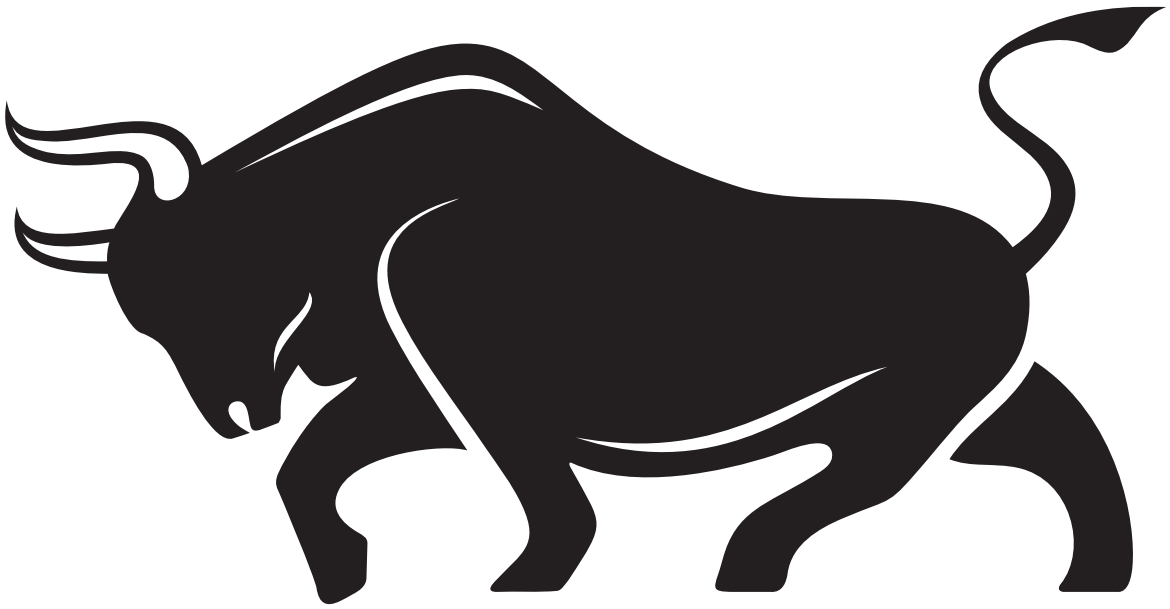
REFERENCES

1. AKINWUMI, F.O. Microbiological Analysis of Three of Smoked Fish Obtained from the Ondo State, Nigeria. In *Scientific & Academic Publishing*. p-ISSN: 2162-9412, 2015, vol. 5, no. 4, p.122-126.
2. ANIHOUVI, D.G.H. Microbiological characteristics of smoked and smoked-dried fish processed in Benin. In *Food Science & Nutrition*. ISSN:2048-7177, 2019, vol. 7, no. 5, p. 1821-1827.
3. BENIE, C. K. D. et al. Prevalence and Antibiotic Resistance of Pseudomonas aeruginosa Isolated from Boine Meat, Fresh Fish and Smoked Fish. In *Archives Of Clinical Microbiology*. ISSN 1989-8436, 2017, vol. 8, no. 3:40.
4. KWAGHVIHI, O.B. et al. Effect of wood smoke on the quality of smoked fish. In *Mediterranean Journal of Basic and Applied Sciences*. ISSN: 2581-5059, 2020, vol. 4, no. 2, p. 72-82.
5. ŁOPATEK, M. et al. Vibrio parahaemolyticus: Potential threat to consumer health. In *Medycyna Weterynaryjna*. ISSN 0025-8628, 2011, vol. 67, no. 12, p. 808-813.
6. MAGLEBY, R. et al. First reported human isolation of Staphylococcus delphini. In *Diagnostic Mircobiology and Infectious Disease*. ISSN 0732-8893, 2019, vol. 94, no. 3, p 274-276.
7. POLISH COMMITTEE FOR STANDARDIZATION, 2001. PN- EN ISO 6888-1:2001. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal Method for the Enumeration of Coagulase-Positive Staphylococci Staphylococcus Aureus and Other Species)—Part 2: Technique using rabbit plasma fibrinogen agar medium*. Warsaw: Polish Committee for Standardization.

8. POLISH COMMITTEE FOR STANDARDIZATION, 2005. PN- EN ISO 21528-2. *Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs—Horizontal Method for the Detection and Enumeration of Enterobacteriaceae - Part 2: Colony-Count Method.* Warsaw: Polish Committee for Standardization.
9. POLISH COMMITTEE FOR STANDARDIZATION, 2007. PN-EN ISO 7218. Polish Committee for Standardization. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations*. Warsaw: Polish Committee for Standardization.
10. POLISH COMMITTEE FOR STANDARDIZATION, 2009. PN-EN ISO 21527-1. *Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs—Horizontal Method for the Enumeration of Yeasts and Molds—Part 1: Colony-Count Technique in Products with Water Activity Greater Than 0.95.* Warsaw: Polish Committee for Standardization.
11. POLISH COMMITTEE FOR STANDARDIZATION, 2013. PN - EN ISO 4833-2. Microbiology of the Food Chain—Horizontal Method for the Enumeration of Microorganisms—Part 2: Colony-Count at 30 Degrees C by the Surface Plating Technique. Warsaw: Polish Committee for Standardization.
12. POLISH COMMITTEE FOR STANDARDIZATION, 2017-1. PN-EN ISO 6887-3: *Microbiology of the food chain - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products*. Warsaw: Polish Committee for Standardization.
13. POLISH COMMITTEE FOR STANDARDIZATION, 2017-2, PN-EN ISO 6579-1. *Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella - Part 1: Detection of Salmonella spp.* Warsaw: Polish Committee for Standardization.
14. POLISH COMMITTEE FOR STANDARDIZATION, 2017-3. PN- EN ISO 11290-1. *Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes and of Listeria spp. — Part 1: Detection method.* Warsaw: Polish Committee for Standardization.

Contact address: Ziomek Monika, Department of Food Hygiene of Animal Origin, University of Life Sciences in Lublin, Akademicka 12, 20-950 Lublin, Poland; E-mail: monika.ziomek@up.lublin.pl

GENERÁLNY PARTNER – TAURIS ® GROUP



TAURIS® GROUP

TAURIS

mäsiarstvo "Býka

ORIGINAL TAURIS Zipser CHUŤ KVALITY A TRADÍCIE

Ryba Bistro

Ryba KOŠICE

HLAVNÍ PARTNERI – BILLA s.r.o. Bratislava



HLAVNÍ PARTNERI – BILLA s.r.o. Bratislava



HLAVNÍ PARTNERI – BILLA s.r.o. Bratislava



HLAVNÍ PARTNERI – Labaš, s.r.o. a Potraviny FRESH, s.r.o.





HLAVNÍ PARTNERI – Labaš, s.r.o. a Potraviny FRESH, s.r.o.




Bio FRESH
Boo Milk
• BIO mlieko
• 8 pôvodných mliečnych kultúr
• Plný obsah tuku min. 3,7%
• Nehomogenizované
Čerstvé plnotučné mlieko
Boo Milk
s pôvodnými mliečnymi kultúrami
s neupravovaným obsahom tuku
0,75 l
V predaji exkluzívne v sieti
FRESH Plus
Živé BIO mlieko
s probiotickými kultúrami

HLAVNÍ PARTNERI – 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**

maso ®

FOLIA VETERINARIA

The scientific journal of the
UNIVERSITY OF VETERINARY MEDICINE
AND PHARMACY IN KOŠICE — Slovakia

ISSN 0015-5748
eISSN 2453-7837

SPONZORI - AQUA PRO EUROPE, a.s.



SPONZORI - Babičkin dvor, a.s.



SPONZORI - Dalton spol. s r.o. - Staromestská Mäsiareň





SPONZORI - Hydina Slovensko s.r.o., Lieskovec




HYZA®
Úprimné kurča

SPONZORI - Milk Agro, s.r.o.



SPONZORI - MINERÁLNE VODY, a.s., Prešov









PIVNICA
ORECHOVÁ

SPONZORI - Rybárstvo Požehy s.r.o.



Spoločnosť RYBÁRSTVO-Požehy,s.r.o bola založená 14.11.1997.

Chov rýb (Pstruha dúhového) sa začal v roku 1991 po kolaudácii rybochovných zariadení. Následné spracovanie začalo v roku 1992 v spracovni rýb, ktorá bola vybudovaná rekonštrukciou pôvodného poľnohospodárskeho objektu. V tomto roku bola zakúpená technológia od Nemeckej firmy FORESTA FISH GMBh na údenie a filetovanie pstruhov.

V roku 2002 došlo k zmene vlastníka spoločnosti, ktorý vlastní 100% podiel. Spoločnosť od roku 2002 do júna 2008 využívala na základe nájomnej zmluvy okrem vlastných rybochovných zariadení aj Stredisko chovu rýb Diviaky v správe SOUPaR Mošovce. Od júna 2008 prešlo toto stredisko na základe kúpnej zmluvy do vlastníctva spoločnosti. Naša spoločnosť patrí medzi štyroch najväčších producentov lososovitých rýb na Slovensku a výhradnú časť produkcie spracováva vo vlastnej spracovni, ktorá prešla komplexnou rekonštrukciou v roku 2003 a po splnení podmienok EU jej bolo pridelené schvaľovacie číslo SK 9-92ES.

SPONZORI - Rybárstvo Požehy s.r.o.

Spoločnosť vlastní dve strediská na chov a spracovanie rýb: Stredisko Požehy a Stredivko Diviaky

STREDISKO POŽEHY

Je sídlom spoločnosti a nacháza sa 2 km od obce Dubové a 5 km od kúpeľného mesta Turčianske Teplice.



VÝROBNÉ ZAMERANIE

Chladené ryby sladovodné a morské

pstruh,kapor ,tolstolobik,losos

Údené sladkovodné a morské ryby

makrela,pstruh,tolstolobik,losos

Mrazené sladkovodné a morské ryby

pstruh,kapor,losos

SPONZORI - Rybárstvo Požehy s.r.o.

Spoločnosť vlastní dve strediská na chov a spracovanie rýb: Stredisko Požehy a Stredivko Diviaky

STREDISKO DIVIAKY

Nachádza sa 2 km od kúpeľného mesta Turčianske Teplice. Stredisko je zamerané na odchov plôdika pstruha dúhového pre vlastnú produkciu tržného pstruha dúhového/40t/ ako aj pre produkciu jednoročných násad pstruha pre stredisko Požehy,sádkovanie nakupovaných kaprovitých rýb pre potreby spracovne rýb.



VYSTAVOVATELIA - BioIng, s.r.o.



BIOING

Partner laboratórií v mäsovom priemysle

HYGIENA VÝROBNÉHO PROSTREDIA



- Systém kontroly hygieny a sanitácie
- Detekcia zvyškového ATP
- Okamžité výsledky



- Polyuretánová hubička – nestrapká sa
- Vyšrobovanie rukoväte - patentované
- Rôzne veľkosti - stieranie plôch až do 0,8 m²

RYCHLÉ STANOVENIE INDIKÁTOROVÝCH MIKROORGANIZMOV

- Nový prístroj SOLERIS
- Presná detekcia mikroorganizmov
- Rýchly odpočet výsledkov



STANOVENIE PATOGÉNOV



- Solus Salmonella ONE – detekcia do 24 hodín
- ELISA – citlivosť 1 CFU/25g
- Možnosť automatizácie, validácia AFNOR

world bioproducts

PerkinElmer For the Better

NEOGEN

Dodávateľ v ČR a SR:

BioIng, s.r.o., U Hřiště 175/15, 664 91 Ivančice
T: +421 908 687 008 | E: info@bioing.sk | www.bioing.sk | eshop.bioing.cz

VYSTAVOVATELIA - Biomedica Slovakia s.r.o.



BIOMEDICA

Your Partner in Agrofood Diagnostics



Mycotoxins



HACCP/
Food Hygiene

Allergens



Pathogen



GMO/
Residues



Biomedica Slovakia s.r.o.
Drobného 27 • 841 01 Bratislava • Slovakia
T +421 2 693 099 01 • office@bmgrp.sk • www.bmgrp.sk

VYSTAVOVATELIA - JEMO TRADING spol. s r.o.

profood
JEMO TRADING

* Špecifické testy pre laboratória
** Testy pre výrobné prevádzky
*** Sterové testy pre reštaurácie, jedálne, predajne potravín

Z ponuky vyberáme: mykotoxíny, alergény, vitamíny, PCR testy, obsahové látky, ATP, mikrobiológia, ...



www.profood.sk

VYSTAVOVATELIA - Latte ingredients s.r.o.

CLERICI SACCO

Latte ingredients

Laboratórna diagnostika

Produkty spoločnosti Romer Labs

Testy na kontrolu hygieny a sanitácie
Rýchle testy na zisťovanie prítomnosti alergénov
Jednoduché mikrobiologické testy

SACCO system
Supporting food culture & life

Kultúry – výroba mliečných výrobkov
Syridlá
Špeciálne kultúry – BIO Ochrana,probiotiká
Enzýmy - Transglutamináza,Nizín

www.latteingredients.sk
Mobil: 0903 781 840

MERCK

Nastavujeme standardy potravinářské mikrobiologie

Poskytujeme produkty a služby na podporu každého kroku Vašeho mikrobiologického rozboru masa a masných výrobků.



Naše portfolio zahrnuje vše potřebné pro provedení mikrobiologických rozborů tradičními kultivačními i moderními alternativními metodami a produkty pro monitorování hygieny prostředí:

- Granulovaná dehydratovaná kultivační média GranuCult®
- Ready-to-use kultivační média ReadyPlate®
- Certifikované referenční materiály
- Dilutor a homogenizátor pro přípravu vzorků
- Soupravy pro stanovení počtu indikátorových organismů (MC-Media Pad®, SimPlate®) i průkaz patogenních organismů (Lateral flow testy, ELISA & PCR soupravy)
- Systém MVP ICON® Hygiene Monitoring and HACCP Management
- Aeroskop MAS-100® Eco pro monitorování mikrobiální kontaminace vzduchu

SigmaAldrich.com/Food-Microbiology

Life Science společnosti Merck působí v USA a Kanadě pod názvem MilliporeSigma.

Millipore®
Preparation, Separation, Filtration & Monitoring Products

NOACK – SLOVAKIA
Agro-food diagnostika

Dodáva diagnostické súpravy a prístroje pre chemické a mikrobiologické analýzy potravín, krmív a kontrolu hygieny a sanitácie

V portfóliu našich produktov nájdete:

- rýchle testy na kontrolu alergénov, mykotoxínov, inhibičných látok v mlieku
- prístroj na rýchlu kontrolu hygieny – 3M Clean-Trace luminometer LM1
- živné pôdy Solabia Biokar a 3M Petrifilm platničky – mikrobiologická kontrola
- rýchle metódy stanovenia patogénov Salmonella, Listeria, Cronobacter
- enzymatické testy – chemické zloženie potravín (kyseliny, cukry, vláknina a.i.)
- pomôcky na odber vzoriek z prostredia a jatočných zvierat – abrazívne hubky
- 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 – SLOVAKIA, spol. s r.o.
Seberíniho 1
821 03 Bratislava

tel.: +421 2 4341 1631
mob.: +421 905 293 756
e-mail: office.sk@noackgroup.com

AUSTRIA BULGARIA CROATIA CZECH REPUBLIC HUNGARY POLAND ROMANIA SERBIA SLOVAKIA SLOVENIA

VYSTAVOVATELIA - O.K. SERVIS BioPro, s.r.o.



DŮSLEDNÁ KONTROLA KVALITY

NIR analýza

UNIVERZÁLNÍ LABORATORNÍ ANALYZÁTOR



- Určený pro velké výrobce a zpracovatele masa
- Analýza vlhkosti, bílkovin, tuků, sušiny, oleje, popela, kolagenů, svalové bílkoviny a dalších parametrů
- Výsledky během 20 s.

ANALYZÁTOR MASA



- Určený pro malé a střední výrobce a zpracovatele masa
- Analýza tuku, vlhkosti a bílkovin
- Výsledky do 30 s.

Rychlá mikrobiologie

DETEKCE PATOGENŮ V POTRAVINÁCH

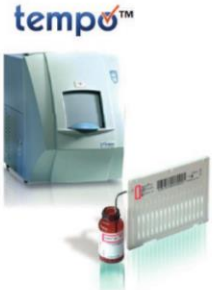


- Výsledky do 24 - 48 hod.
- Jednoduchá a ekonomicky přínosná technologie
- Detekce na principu enzymatické fluorescence.

Parametry:

Salmonella ● *Listeria spp.* ● *L. Monocytogenes* ● *L.spp & L.mono* ● *E.Coli O157* ● *Campylobacter* ● Stafylokokové enterotoxiny

STANOVENÍ POČTU INDIKÁTORŮ KVALITY



- Citlivá a specifická metoda založená na principu MPN (Most Probable Number)
- Jednoduchý automatický postup.
- Přesná a efektivní metoda.

Parametry:

Celkové mikroorganismy ● *Bacillus cereus* ● *Escherichia coli* ● Stafylokoky ● *Enterobacteriaceae* ● Laktobacily ● Kvasinky a plísně

O.K. SERVIS BioPro www.biopro.cz

O.K. SERVIS BioPro, s.r.o.
Bořetická 2668/1, Praha 9, ČR | info@oks.cz | +420 724 440 791
www.biopro.cz

VYSTAVOVATELIA - TECNOZOO S.p.a.



Názov publikácie:	HYGIENA ALIMENTORUM XLII ZDRAVOTNÁ BEZPEČNOSŤ A KVALITA PRODUKTOV HYDINY, RYBOLOVU A ZVERINY – AKTUÁLNE PROBLÉMY A TRENDY SAFETY AND QUALITY OF POULTRY, FISHERY AND GAME PRODUCTS - CURRENT ISSUES AND TRENDS
Druh publikácie:	Recenzovaný zborník prednášok a posterových prezentácií z medzinárodnej vedeckej konferencie
Autori:	Kolektív autorov
Zostavili:	POPELKA Peter, prof. MVDr., PhD. SEMJON Boris, MVDr., PhD.
Recenzovali:	LEGÁTH Jaroslav, prof. MVDr., CSc. NAĎ Pavel, doc. MVDr., PhD.
Vydal:	Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Náklad:	200 ks
Počet strán:	481 strán
Dátum vydania:	Máj 2022
Vydanie:	Prvé
Poďakovanie:	Príprava konferencie bola finančne podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-18-0039.

ISBN 978 – 80 – 8077 – 752 – 4

ISBN 978 – 80 – 8077 – 752 – 4

Designed by: BoSe