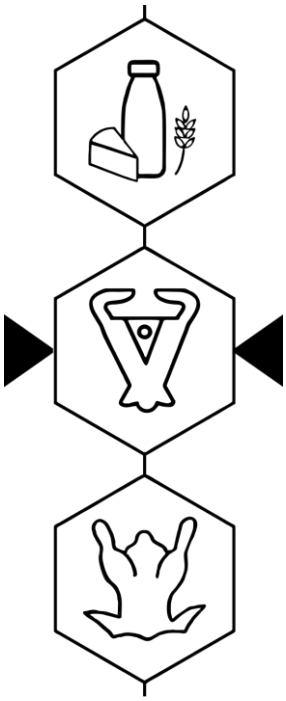
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín
Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky
Národný kontaktný bod pre vedeckú a technickú spoluprácu s EFSA
Štátna veterinárna a potravinová správa Slovenskej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

HYGIENA ALIMENTORUM XLIV

Medzinárodná vedecká konferencia

pod záštitou Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky

Mäso a mäsové výrobky - aktuálne problémy a trendy produkcie a predaja



Zborník prednášok a posterov

Proceedings of lectures and posters

15. – 17. máj, 2024
Hotel Patria**** - Štrbské Pleso
Slovenská republika

HYGIENA ALIMENTORUM XLIV | 15. – 17. máj, 2024

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
Slovenský zväz spracovateľov mäsa
Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárske vedy pri SAV v Bratislave

HYGIENA ALIMENTORUM XLIV

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

Mäso a mäsové výrobky - aktuálne problémy a trendy produkcie a predaja

Zborník prednášok a posterov

Proceedings of lectures and posters

15. – 17. máj, 2024
Hotel Patria**** - Štrbské Pleso
Slovenská republika

ZOSTAVILA

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

RECENZOVALI

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

ODBORNÝ A ORGANIZAČNÝ GARANT KONFERENCIE

MARCINČÁK Slavomír, prof. MVDr., PhD.
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika

MEDZINÁRODNÝ PROGRAMOVÝ VÝBOR

BANIA Jacek, prof. Dr. hab.
Fakulta veterinárnej medicíny, Wroclawská univerzita environmentálnych a biologických vied, Poľsko
BÍREŠ Jozef, prof. MVDr., DrSc.
Štátna veterinárna a potravinová správa Slovenskej republiky
BURSOVÁ Šárka, doc. MVDr., Ph.D.
Fakulta veterinárnej hygieny a ekológie, Veterinárna univerzita Brno, Česká republika
FAŠIANGOVÁ Katarína, Ing., PhD.
Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky
FORRAI Eva, Ing.
Slovenský zväz spracovateľov mäsa
GOLIAN Jozef, prof. Ing., Dr.
Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita Nitra, Slovenská republika
KRAJČOVIČ Martin
Slovenská aliancia moderného obchodu, Slovenská republika
MIGDAL Wladyslaw, prof. dr. hab.
Fakulta potravinárskej technológie, Poľnohospodárska univerzita Krakov, Poľsko
NAGY Jozef, prof. MVDr., PhD.
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika
POPELKA Peter, prof. MVDr., PhD.
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Slovenská republika
TREMLOVÁ Bohuslava, prof. MVDr., Ph.D.
Fakulta veterinárnej hygieny a ekológie, Veterinárna univerzita Brno, Česká republika
ZDOLEC Nevijo, prof. MVDr., PhD.
Fakulta veterinárnej medicíny, Záhrebská univerzita, Chorvátsko

ORGANIZAČNÝ VÝBOR

BARTKOVSKÝ Martin, Mgr., PhD.
DRINGUŠOVÁ Gabriela, Mgr.
JEVINOVÁ Pavlína, MVDr., PhD.
KOTRČOVÁ Zuzana, Ing.
KOŽÁROVÁ Ivona, doc. MVDr., PhD.
MESARČOVÁ Lýdia, MVDr., PhD.
REGECOVÁ Ivana, doc. MVDr., PhD.
REITZNEROVÁ Anna, MVDr., PhD.
SEMJON Boris, MVDr., PhD.

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

VYSTAVOVATELIA

BioIng, s.r.o.
Biomedica Slovakia, s.r.o.
BIOTECH s.r.o.
Novonesis
JEMO TRADING, spol. s r.o.
KERSIA Czech s.r.o.
Latte ingredients, s.r.o.
NOACK - SLOVAKIA, spol. s r.o.
O.K. SERVIS BioPro, s.r.o.

OBSAH – PREDNÁŠKY | TABLE OF CONTENTS - LECTURES

1. Baláš J., Hurňák O.: TRENDY VE VYUŽITÍ MIKROORGANISMŮ V MASNÉM PRŮMYSLU | TRENDS IN THE USE OF MICROORGANISMS IN THE MEAT INDUSTRY 14
2. Bartkovský M., Fraňová D., Semjon B., Makiš A.: KORENIE A JEHO VPLYV NA TRVANLIVOSŤ MÄSOVÝCH VÝROBKOV | SPICES AND THEIR EFFECT ON THE SHELF LIFE OF MEAT PRODUCTS 18
3. Blagojevic B.: EURÓPSKY SYSTÉM ZAISTENIA BEZPEČNOSTI MÄSA ZALOŽENÝ NA RIZIKU - SÚČASNÝ STAV | EUROPEAN RISK-BASED MEAT SAFETY ASSURANCE SYSTEM – A STATE OF THE ART 25
4. Egidio M., Mancusi A., Marrone R., Polizzi G., Ambrosio R. L., Scotti L., Paludi D., Proroga Y. T. R.: NANOČASTICE ARGIRIUM SUNC® AKO MOŽNÁ ALTERNATÍVA KU KONVENČNÝM DEZINFEKČNÝM PROSTRIEDKOM POUŽÍVANÝM NA BEŽNÉ ČISTENIE V MÄSOKOMBINÁTE | ARGIRIUM SUNC® NANOPARTICLES AS A POSSIBLE ALTERNATIVE TO CONVENTIONAL DISINFECTANTS USED FOR THE ROUTINE CLEANING OF A MEAT PROCESSING PLANT 26
5. Fašiangová K., Dringušová G., Lépesová K.: ÚLOHY ODBORU BEZPEČNOSTI POTRAVÍN A VÝŽIVY NA MPRV SR VO VZŤAHU K STRATÉGII ÚRADU EFSA DO ROKU 2027 | TASKS OF THE DEPARTMENT OF FOOD SAFETY AND NUTRITION AT THE MINISTRY OF AGRICULTURE AND RURAL DEVELOPMENT OF THE SLOVAK REPUBLIC IN RELATION TO THE STRATEGY OF THE EFSA UNTIL 2027 37
6. Golian J., Benešová L., Jakabová S.: ZDRAVOTNÉ A ENVIRONMENTÁLNE FAKTORY SPOTREBY MÄSA | HEALTH AND ENVIRONMENTAL FACTORS OF MEAT CONSUMPTION 47
7. Hriciková S., Kožárová I.: HUMÍNOVÉ LÁTKY Z POHĽADU KONCEPTU JEDNÉHO ZDRAVIA | HUMIC SUBSTANCES FROM THE POINT OF VIEW OF ONE HEALTH CONCEPT 59
8. Kameník J., Ježek F., Dušková M., Macharáčková B.: REFORMULACE MASNÝCH VÝROBKŮ JAKO DALŠÍ MÓDNÍ VLNA? | REFORMULATION OF MEAT PRODUCTS AS THE NEXT FASHION WAVE? 68
9. Koubková M., Sedláčková L.: ZVYŠOVÁNÍ POHODY HOSPODÁŘSKÝCH ZVÍŘAT PŘI PORÁŽCE A ŘEŠENÍ PŘÍPADŮ WELFARE V CHOVECH | IMPROVING OF THE LIVESTOCK WELFARE AT SLAUGHTER AND WELFARE CASE MANAGEMENT ON FARMS 75
10. Kubicová Z., Mojžišová A.: REZISTENCIA IZOLÁTOV *SALMONELLA* SPP. POCHÁDZAJÚCICH Z MÄSA VOČI ANTIMIKROBIÁLNYM LÁTKAM | ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF *SALMONELLA* SPP. STRAINS ISOLATED FROM MEAT 81
11. Lacková Z., Zigo F., Farkašová Z., Vargová M.: VPLYV HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA KVALITU JATOČNÉHO TELA A SENZORICKÉ VLASTNOSTI MÄSA KRÁLIKOV | INFLUENCE OF HUMIC SUBSTANCES ON CARCASS QUALITY AND SENSORY PROPERTIES OF RABBIT MEAT 93
12. Mastiľák T., Regecová I., Reitznerová A., Semjon B., Výrostková J., Marcinčák S.: VPLYV ZNIŽOVANIA OBSAHU SOLI NA SENZORICKÚ A MIKROBIÁLNU KVALITU MÄSOVÝCH VÝROBKOV | EFFECT OF SALT REDUCTION ON THE SENSORY AND MICROBIAL QUALITY OF MEAT PRODUCTS 99

13. Mesarčová L., Skurková L., Reitznerová A., Megyesi Eftimová Z., Výrostková J., Regecová I., Makiš A., Marcinčák S.: OCHRANA A WELFARE OŠÍPANÝCH POČAS PRVEJ FÁZY PRED ZABÍJANÍM NA BITÚNKU | PROTECTION AND WELFARE OF PIGS DURING FIRST PHASE OF SLAUGHTER IN THE SLAUGHTERHOUSE 107
14. Migdał W., Marcinčák S., Brajner B., Migdał Ł.: KARPATSKÝ DOYBTOK Z PASIENKOV - HOVÄDZIE MÄSO NAJVYŠŠEJ KVALITY | CARPATHIAN PASTURE BEEF – BEEF OF THE HIGHEST QUALITY 115
15. Vladařová K., Smetana P., Bedrníček J., Lorenc F., Hasoňová L.: PREDLŽENIE MIKROBIÁLNEJ STABILITY MÄSA PRE ZRENIE MÄSA | EXTENDING THE MICROBIAL STABILITY OF MEAT FOR MEAT AGING 138
16. Zdolec N.: VÝZVY PRE SYSTÉMY BEZPEČNOSTI MÄSA: PRÍKLAD *YERSINIA ENTEROCOLITICA* | CHALLENGES FOR MEAT SAFETY SYSTEMS: THE EXAMPLE OF *YERSINIA ENTEROCOLITICA* 144

OBSAH - POSTEROVÉ PRÍSPEVKY | TABLE OF CONTENTS - POSTERS

1. Ailer Š., Kamenský J., Benešová L.: PODMIENKY UVÁDZANIA OMŠOVÝCH A LITURGICKÝCH VÍN NA TRH V SLOVENSKEJ REPUBLIKE | CONDITIONS FOR LAUNCHING SACRAMENTAL AND LITURGICAL WINES INTO THE MARKET IN THE SLOVAK REPUBLIC 148
2. Barboráková Z., Kolesár E., Tančinová D., Jakabová S., Urminská D., Urminská J., Ivanišová E., Mrvová M., Hleba L., Petrová J., Mašková Z.: MIKROBIOTA LARIEV MUCHY ČIERNEJ (*HERMETIA ILLUCENS*) PRI RÔZNYCH VARIANTOCH KŔMENIA | MICROBIOTA OF BLACK SOLDIER FLY (*HERMETIA ILLUCENS*) LARVAE UNDER DIFFERENT FEEDING VARIANTS 157
3. Bartáková K., Kameník J., Ježek F., Bursová Š.: POROVNÁNÍ OBSAHU AKRYLAMIDU V TEPELNĚ UPRAVENÝCH VÝROBCÍCH ŽIVOČIŠNÉHO PŮVODU A JEJICH ROSTLINNÝCH ANALOZÍCH | COMPARISON OF ACRYLAMIDE CONTENT IN HEAT-TREATED PRODUCTS OF ANIMAL ORIGIN AND THEIR PLANT ANALOGUES 168
4. Bartkovský M., Semjon B., Novotná L.: RÔZNE SPÔSOBY SKLADOVANIA ČERVENÉHO VÍNA A ICH VPLYV NA JEHO ANTIOXIDAČNÉ A SENZORICKÉ VLASTNOSTI | DIFFERENT METHODS OF RED WINE STORAGE AND THEIR EFFECT OF ANTIOXIDANT AND SENSORY PROPERTIES 174
5. Bartlová M., Marcinčáková D., Marcinčák S., Kružík V., Čížková H., Bodor Z., Benedek C., Tremlová B., Pospiech M., Javůrková Z.: ROZDÍLY FYZIKÁLNĚ CHEMICKÝCH PARAMETRŮ MEDŮ Z VÍCE ÚLŮ JEDNÉ LOKALITY | DIFFERENCES IN PHYSICO-CHEMICAL PARAMETERS OF HONEYS FROM SEVERAL HIVES OF ONE LOCATION 179
6. Benešová L., Jakabová S., Zajác P., Čapla J., Čurlej J., Šimková D., Ailer Š., Golian J.: MONITOROVANIE VYBRANÝCH CHARAKTERISTÍK TRVANLIVÝCH TEPELNE NEUPRAVENÝCH MÄSOVÝCH VÝROBKOV | EVALUATION OF SELECTED CHARACTERISTICS OF NON-HEAT-TREATED MEAT PRODUCTS 187
7. Benešová L., Ilková L., Janás M., Ailer Š.: RIADENIE SANITAČNÝCH POSTUPOV PRE ZABEZPEČENIE KVALITY VÍNA A PRODUKTOV Z HROZNA | MANAGEMENT OF SANITATION PROCEDURES TO ENSURE THE QUALITY OF WINE AND GRAPE PRODUCTS 194
8. Čapla J., Zajác P., Čurlej J., Bobko M., Fikselová M.: MODERNÉ TECHNOLÓGIE V MÄSOVOM PRIEMYSLE: ROBOTICKÉ REZANIE, VNÍMANIE A DIGITÁLNY VÝVOJ | MODERN TECHNOLOGIES IN THE MEAT INDUSTRY: ROBOTIC CUTTING, PERCEPTION, AND DIGITAL DEVELOPMENT 202
9. Čurlej J., Zajác P., Čapla J.: UMELÁ INTELIGENCIA V PROCESE AUTENFIFIKÁCIE MÄSA | ARTIFICIAL INTELLIGENCE IN THE MEAT AUTHENTICATION PROCESS 213
10. Doležalová J. Ježek F., Žilka D.: VLIV SOUS-VIDE METODY NA BAREVNÉ PARAMETRY A pH U VEPŘOVÉHO MASA | THE INFLUENCE OF THE SOUS-VIDE METHOD ON THE COLOR PARAMETERS AND pH OF PORK MEAT 223
11. Dudriková, E., Zahumenská, J., Kováčová, M., Lovayová V.: MRAZENÉ OVOCIE A ZELENINA: BEZPEČNOSŤ A KVALITA PRE VEREJNÉ ZDRAVIE | FROZEN FRUITS AND VEGETABLES: SAFETY AND QUALITY FOR PUBLIC HEALTH 231
12. Farkašová Z., Zigo F., Lacková Z., Vargová M., Výrostková J.: POROVNANIE KULTIVAČNÝCH TESTOV NA DETEKCIU MASTITÍD U DOJNÍC | COMPARISON OF RAPID CULTIVATION TESTS FOR DETECTION OF MASTITIS IN DAIRY COWS 240

13. Fikselová M., Hujová B., Čaloudová J., Jakabová S., Židek R., Lukáčová S., Zeleňáková L., Kunová S., Čapla J.: JEDLÝ HMYZ AKO ALTERNATÍVNY ZDROJ PROTEÍNOV PRE OSOBITNÉ SKUPINY ĽUDÍ | EDIBLE INSECTS AS ALTERNATIVE SOURCE OF PROTEIN FOR SPECIAL GROUPS OF PEOPLE 249
14. Gondeková M., Hlebová M., Huba J., Záhradník M., Peškovičová D.: VPLYV RASTLINNÝCH SILÍC NA ORGANOLEPTICKÉ VLASTNOSTI MLETÉHO BRAVČOVÉHO MÄSA | THE INFLUENCE OF PLANT ESSENTIAL OILS ON THE SENSORY PROPERTIES IN MINCED PORK MEAT 259
15. Gregová G., Szabóová T., Dančová N., Regecová I.: POROVNANIE KONTAMINÁCIE PROSTREDIA CHOVOV BROJLEROVEJ HYDINY A MÄSOSPRAVUJÚCICH PODNIKOV | THE COMPARISON OF ENVIRONMENTAL CONTAMINATION OF BROILER FARMS AND MEAT PROCESSING FACILITIES 270
16. Hajdučková V., Király J., Hudecová P., Koščová J., Teleky J., Pilipčinec E.: RIZIKÁ SPOJENÉ S KONZUMÁCIOU RYBIEHO MÄSA. | RISKS ASSOCIATED WITH THE CONSUMPTION OF FISH MEAT. 275
17. Hanuska A,, Kročko M., Štefániková J., Baránek T.: FARBA SUŠENÉHO MÄSA S PRÍDAVKOM UŠĽACHTILÝCH BAKTERIÁLNYCH KULTÚR | COLOUR OF DRIED MEAT WITH THE ADDITION OF NOBLE BACTERIAL CULTURES 282
18. Harčárová M., Naď P., Marcin A., Bujňák L., Hreško Šamudovská A.: KVANTITATÍVNE STANOVENIE DEOXYNIVALENOLU V KUKURICI SIATEJ | QUANTITATIVE DETERMINATION OF DEOXYNIVALENOL IN MAIZE 294
19. Hreško S., Mudroňová D., Hreško Šamudovská A., Harčárová M., Bujňák L.: POROVNANIE VPLYVU DVOCH PRÍPRAVKOV HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA BUNKOVÚ IMUNITU U PRASIAT | COMPARISON OF THE EFFECTS OF TWO PREPARATIONS OF HUMIC SUBSTANCES ON CELLULAR IMMUNITY IN PIGS 300
20. Hreško Šamudovská A., Jančatová T., Harčárová M., Marcin A., Hreško S., Mihok T., Naď P., Bujňák L.: HODNOTENIE VPLYVU PRÍDAVKU HUMÍNOVÝCH LÁTOK DO KRMIVA BROJLEROVÝCH KURČIAT NA CHEMICKÉ ZLOŽENIE PRSNEJ A STEHENNEJ SVALOVINY | EVALUATION OF THE INFLUENCE OF THE ADDITION OF HUMIC SUBSTANCES TO THE FEED OF BROILER CHICKENS ON THE CHEMICAL COMPOSITION OF BREAST AND THIGH MUSCLES 308
21. Hudec E., Karaffová V., Almášiová V., Andrášková S., Hreško Šamudovská A., Naď, P., Marcin A. Bujňák L.: MORFOMETRICKÁ ANALÝZA JEJUNA BROJLEROVÝCH KURČIAT PO APLIKÁCII 0,7 % KONCENTRÁCIE HUMÍNOVÝCH LÁTOK | MORPHOMETRIC ANALYSIS OF BROILER CHICKENS JEJUNUM AFTER APPLICATION OF 0.7% CONCENTRATION OF HUMIC SUBSTANCES 315
22. Hudecová P., Hajdučková V., Király J., Koščová J.: VÝSKYT A ANTIBIOTICKÁ REZISTENCIA *AEROMONAS* SPP. U PSTRUHA DÚHOVÉHO | OCCURRENCE AND ANTIBIOTIC RESISTANCE OF *AEROMONAS* SPP. IN RAINBOW TROUT 321
23. Hulánková R., Svobodová I.: HODNOCENÍ ANTIBIOTICKÉ REZISTENCE IZOLÁTŮ *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* | EVALUATION OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* ISOLATES 327

24. Chomová N., Ratvaj M., Cingeľová Maruščáková I., Popelka P., Koščová J., Žitňan R., Palíková M., Mareš J., Faldyna M., Mudroňová D.: OVPLYVNENIE HLADÍN PROZÁPALOVÉHO CYTOKÍNU IL-1 PO APLIKÁCII PROBIOTICKÉHO KRMIVA U PSTRUHOV DÚHOVÝCH INFIKOVANÝCH *AEROMONAS SALMONICIDA* | THE EFFECT OF PROBIOTIC FEED ON THE LEVELS OF PROINFLAMMATORY CYTOKINE IL-1 IN RAINBOW TROUT INFECTED WITH *AEROMONAS SALMONICIDA* 333
25. Jakabová S., Árvay J., Benešová L., Golian J.: VÝSKYT BIOGÉNNYCH AMÍNOV V TEPELNE OŠETRENOM MÄSE KAPRA RYBNIČNÉHO | OCCURRENCE OF BIOGENIC AMINES IN HEAT-TREATED MEAT OF COMMON CARP 339
26. Javůrková Z., Tremlová B.: LEPEK - NEBEZPEČÍ V POTRAVINÁCH | GLUTEN - HAZARDS IN FOODS 346
27. Javůrková Z., Štarha P., Schmidlová S., Tremlová B., Pospiech M., Bartlová M.: VLIV MINERÁLNÍHO SLOŽENÍ PŮDY NA VLASTNOSTI MEDU | THE EFFECT OF SOIL MINERAL COMPOSITION ON HONEY PROPERTIES 351
28. Ježek F., Kameník J., Dušková M., Veselá H.: FYZIKÁLNĚ CHEMICKÉ PARAMETRY MASNÝCH VÝROBKŮ JERKY | PHYSICOCHEMICAL PARAMETERS OF JERKY MEAT PRODUCTS 355
29. Király J., Hajdučková V., Hudecová P., Koščová J., Teleky J., Pilipčinec E.: RIZIKÁ SPOJENÉ S KONZUMÁCIOU PRODUKTOV Z RÝB A MORSKÝCH PLODOV | RISKS ASSOCIATED WITH THE CONSUMPTION OF FISH PRODUCTS AND SEAFOOD 361
30. Kiššová Z., Karaffová V., Hudec E., Mudroňová D., Bartkovský M., Makiš A., Faldyna M., Marcinčák S.: VPLYV 0,6 % PRÍDAVKU HUMÍNOVÝCH LÁTOK A FERMENTOVANÉHO KRMIVA NA RASTOVÉ PARAMETRE SVALSTVA U BROJLEROVÝCH KURČIAT | EFFECT OF 0,6 % HUMIC SUBSTANCES AND FERMENTED FEED ON MUSCLE GROWTH PARAMETERS IN BROILER CHICKENS 368
31. Kollár Moskáľová L., Mudroňová D., Hreško Šamudovská A., Ratvaj M., Bujňák L.: VPLYV PRÍDAVKU HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA PRODUKČNÉ PARAMETRE A BUNKOVÚ IMUNITNÚ ODPOVEĎ U OŠÍPANÝCH | THE EFFECT OF HUMIC SUBSTANCES SUPPLEMENTATION ON PRODUCTION PARAMETERS AND CELLULAR IMMUNE RESPONSE IN PIGS 377
32. Koréneková B., Kožárová I.: HUMÍNOVÉ LÁTKY A ICH VPLYV NA KVALITU A BEZPEČNOSŤ MÄSA | HUMIC SUBSTANCES AND THEIR INFLUENCE ON THE QUALITY AND SAFETY OF MEAT 384
33. Kováčová M., Záhumenská J., Dudriková E., Výrostková J., Megyesy Eftimová Z.: MIKROBIOLOGICKÁ KVALITA KONZERVOVANÉHO ZELENÉHO HRÁŠKU | MICROBIOLOGICAL QUALITY OF PRESERVED GREEN PEAS 389
34. Kožárová I., Hriciková S.: REZÍDUÁ ANTIMIKROBIÁLNYCH LÁTOK V MÄSE | RESIDUES OF ANTIMICROBIAL SUBSTANCES IN MEAT 395
35. Kročko M., Hanuska A., Bobko M., Mesárošová A.: SENZORICKÁ KVALITA FERMENTOVANÉHO MÄSOVÉHO VÝROBKU PO PRÍDAVKU STÉVIE CUKROVEJ (*STEVIA REBAUDIANA*) | SENSORY QUALITY OF FERMENTED MEAT PRODUCT AFTER THE ADDITION OF STEVIA (*STEVIA REBAUDIANA*) 401
36. Makiš A., Semjon B., Bartkovský M., Reitznerová A., Mesarčová L., Marcinčák S.: VPLYV SKRMOVANIA FERMENTOVANÝCH KRMÍV NA KVALITATÍVNE PARAMETRE A PROFIL MASTNÝCH KYSELÍN PRSNEJ SVALOVINY U BROJLEROVÝCH KURČIAT | EFFECT OF FEEDING FERMENTED FEEDS ON THE QUALITY PARAMETERS AND FATTY ACID PROFILE OF BREAST MEAT IN BROILER CHICKENS 410

37. Marcinčáková D., Kolesárová M., Marcinčák S., Legáth J.: HODNOTENIE BIOLOGICKÝCH ÚČINKOV VYBRANÝCH DRUHOV MEDU POMOCOU MODELOVÝCH ORGANIZMOV | EVALUATION OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF SELECTED HONEYS USING MODEL CELL LINE 417
38. Mašková Z., Tančinová D., Kolesár E., Urminská D., Ivanišová E., Urminská J., Hleba L., Barboráková Z.: MIKROBIOLOGICKÉ A NUTRIČNÉ PARAMETRE LARIEV MUCHY ČIERNEJ (*HERMETIA ILLUCENS*) PO BIOKONVERZII POTRAVINOVÝCH ZVYŠKOV | MICROBIOLOGICAL AND NUTRITIONAL PARAMETERS OF BLACK SOLDIER FLY LARVAE (*HERMETIA ILLUCENS*) AFTER BIOCONVERSION OF FOOD WASTE 425
39. Mesárošová A., Bobko M., Bobková A., Demianová A., Poláková K., Jurčaga L.: POUŽITIE EXTRAKTU Z VÝLISKOV RAJČIAKA JEDLÉHO AKO ANTIOXIDANTU V MÄKKOM MÄSOVOM VÝROBKU | TOMATO POMACE EXTRACT AS AN ANTIOXIDANT IN RAW COOKED MEAT PRODUCT 438
40. Mudroňová D., Karaffová V., Kubicová L., Makiš A., Semjon B., Klempová T., Marcinčák S.: VPLYV HUMÍNOVÝCH LÁTOK A ICH KOMBINÁCIE S POLYNENASÝTENÝMI MASTNÝMI KYSELINAMI NA SVALOVINU A IMUNITU BROJLEROV | EFFECT OF HUMIC SUBSTANCES AND THEIR COMBINATION WITH POLYUNSATURATED FATTY ACIDS ON MUSCLE AND IMMUNITY OF BROILERS 446
41. Nagyová A., Takáčová D., Korim P., Nagy J.: PRÁVNA ÚPRAVA ZDRAVIA ZVIERAT V KONTEXTE ZDRAVOTNEJ BEZPEČNOSTI POTRAVÍN | ANIMAL HEALTH LEGISLATION IN THE CONTEXT OF FOOD SAFETY 455
42. Necidová L., Bursová Š., Zouharová A., Bartáková K., Haruštiaková D.: VLIV PORUŠENÍ TEPLOTY SKLADOVÁNÍ DRŮBEŽÍHO MASA NA RŮST A MNOŽENÍ *ESCHERICHIA COLI* | EFFECT OF POULTRY MEAT STORAGE TEMPERATURE VIOLATION ON THE GROWTH AND MULTIPLICATION OF *ESCHERICHIA COLI* 462
43. Nesvadbová M., Svobodová I.: MULTIPLEXNÍ DETEKCE A IDENTIFIKACE VÝZNAMNÝCH DRUHŮ KLOSTRIDIÍ A GENŮ ZODPOVĚDNÝCH ZA PRODUKCI JEJICH TOXINŮ | MULTIPLEX DETECTION AND IDENTIFICATION OF IMPORTANT CLOSTRIDIA SPECIES AND GENES RESPONSIBLE FOR THE TOXINS PRODUCTION 469
44. Ondrašovičová S., Zigo F., Farkašová Z., Zahumenská J., Velgosová O., Mačák L.: ANTIMIKROBIÁLNA AKTIVITA STRIEBORNÝCH NANOČASTÍC SYNTETIZOVANÝCH S POUŽITÍM EXTRAKTU Z LEVANDUĽOVÝCH LISTOV | ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SILVER NANOPARTICLES SYNTHESIZED USING LAVENDER LEAF EXTRACT 477
45. Pavlová A., Kočíková B., Urda Dolinská M., Vilček Š., Jacková A.: VÍRUS HEPATITÍDY E – POTRAVINAMI PRENÁŠANÝ PATOGÉN | HEPATITIS E VIRUS – FOODBORNE PATHOGEN 485
46. Ratvaj M., Cingeľová Maruščáková I., Schusterová P., Popelka P., Chomová N., Žitňan R., Mareš J., Mudroňová D.: VPLYV APLIKÁCIE PROBIOTICKÉHO KRMIVA V AKVAKULTÚRE PSTRUHA DÚHOVÉHO NA PRODUKČNÉ PARAMETRE | THE EFFECT OF THE APPLICATION OF PROBIOTIC FEED IN AQUACULTURE OF THE RAINBOW TROUT ON ITS PRODUCTION PARAMETERS 492
47. Regecová I., Výrostková J., Pipová M., Jevinová P., Mesarčová L., Marcinčák S., Piškaninová S.: PRÍTOMNOSŤ REZISTENTNÝCH BAKTÉRIÍ ČEĽADE *ENTEROBACTERIACEAE* FORMUJÚCICH BIOFILM V MÄSE | PRESENCE OF RESISTANT BACTERIA OF THE FAMILY *ENTEROBACTERIACEAE* FORMING BIOFILM IN MEAT 497

48. Reitznerová A., Mesarčová L., Marcinčák S.: VYUŽITIE RASTLINNEJ VLÁKNINY V MÄSOVÝCH VÝROBKOCH | THE USE OF VEGETABLE FIBRE IN MEAT PRODUCTS 504
49. Sasáková N., Štrkolcová, G., Kachnič J., Veszelits Laktičová K., Vargová M., Hromada R., Takáčová D. : POTENCIÁLNE ZDROJE ZNEČISTENIA PITNEJ VODY | POTENTIAL SOURCES OF DRINKING WATER POLLUTION 509
50. Semjon B., Regecová I., Očenáš P., Bartkovský M., Šuľáková L., Výrostková J., Kosturová E., Kováčová M., Marcinčák S.: POROVNANIE OBSAHU HISTAMÍNU VO VZŤAHU K POČTU KVASINIEK A MIKROSKOPICKÝCH VLÁKNITÝCH HÚB V JEDNOTLIVÝCH ETAPÁCH VÝROBY BIELEHO VÍNA | COMPARISON OF HISTAMINE CONTENT IN RELATION TO THE NUMBER OF YEASTS AND MICROSCOPIC FILAMENTOUS FUNGI AT DIFFERENT STAGES OF WHITE WINE PRODUCTION 516
51. Semjon B., Spišáková K., Bartkovský M., Šuľáková L., Mesarčová L., Várady M., Koréneková B., Megyesy Eftimová Z., Marcinčák S.: BIOGÉNNE AMÍNY VO VÍNE A FAKTORY OVPLYVŇUJÚCE ICH MNOŽSTVO | BIOGENIC AMINES IN WINE AND FACTORS INFLUENCING THEIR QUANTITY 523
52. Staruch L., Bodík I., Riečanová R.: CHEMICKÉ ZLOŽENIE VYBRANÝCH DRUHOV DIVINY | CHEMICAL COMPOSITION OF SELECTED GAME SPECIES 529
53. Škrovánková S., Mlček J., Vlková N.: VLIV EXTRAKČNÍCH PODMÍNEK NA ANTIOXIDAČNÍ PŮSOBENÍ ROSTLIN Z ČELEDI HLUCHAVKOVITÉ | THE EFFECT OF EXTRACTION CONDITIONS ON THE ANTIOXIDANT EFFECT OF LAMIACEAE PLANTS 538
54. Takáčová D., Nagyová A., Sasáková N., Beregszásziová N.: NAJČASTEJŠIE TRAUMATICKÉ PORANENIA U ZVIERAT PREVÁŽANÝCH NA BITÚNOK | THE MOST COMMON TRAUMATIC INJURIES IN ANIMALS TRANSPORTED TO THE SLAUGHTERHOUSE 548
55. Valo M., Svitana J.: HYGIENICKÉ ODVODNENIE MÄSOSPRACUJÚCICH PREVÁDZOK | HYGIENIC DRAINAGE OF MEAT PROCESSING PLANTS 554
56. Várady M., Grajzer M., Popelka P.: VPLYV RÔZNYCH METÓD SPRACOVANIA NA PROFIL MASTNÝCH KYSELÍN A PARAMETRE KVALITY VÝBEROVÝCH KÁV | EFFECT OF DIFFERENT PROCESSING METHODS ON FATTY ACID PROFILES AND QUALITY PARAMETERS IN SPECIALTY COFFEES 557
57. Vargová M., Sasáková N., Veszelits Laktičová K., Zigo F., Farkašová Z., Lacková Z., Výrostková J.: ZHODNOTENIE HYGIENICKEJ ÚROVNE V MÄSOSPRACUJÚCOM ZÁVODE A V MLIEKARNI | EVALUATION OF THE HYGIENE LEVEL IN A MEAT PROCESSING PLANT AND A DAIRY 563
58. Veselá H., Dušková M., Kameník J., Ježek F.: MIKROBIOLOGICKÁ KVALITA MASNÝCH VÝROBKŮ JERKY | MICROBIOLOGICAL QUALITY OF JERKY MEAT PRODUCTS
59. Veszelits Laktičová K., Vargová M., Sasáková N.: UPLATNENIE BIOLUMINISCENČNEJ METÓDY V MÄSOSPRACUJÚCOM PODNIKU | APPLICATION OF THE BIOLUMINISCENCE METHOD IN A MEAT PROCESSING PLANT 574
60. Výrostková J., Regecová I., Kováčová M., Záhumenská J., Farkašová Z., Leško M.: STANOVENIE ANTIMIKROBIÁLNEJ REZISTENCIE U BAKTÉRIÍ *KLEBSIELLA OXYTOCA* IZOLOVANÝCH Z POTRAVÍN ŽIVOČÍŠNEHO PÔVODU | DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN *KLEBSIELLA OXYTOCA* BACTERIA ISOLATED FROM FOOD OF ANIMAL ORIGIN 579
61. Zahumenská J., Dudriková E., Naď P., Kováčová M., Výrostková J.: HODNOTENIE KVALITY HRÁŠKU PO TEPELNOM SPÔSOBE SPRACOVANIA | EVALUATION OF THE QUALITY OF PEAS AFTER THERMAL PROCESSING 584

62. Zeleňáková L., Fikselová M.: HYGIENICKÁ KVALITA MARINOVANÉHO LOSOSIEHO MÄSA VO VZŤAHU K PODMIENKAM UCHOVÁVANIA | HYGIENIC QUALITY OF MARINATED SALMON MEAT IN RELATION TO STORAGE CONDITIONS 593
63. Zigo F., Výrostková J., Farkašová Z., Ondrašovičová S., Vargová M., Halás, Š., Pecka-Kielb E.: VÝSKYT REZISTENTNÝCH STAFYLOKOKOV IZOLOVANÝCH Z MASTITÍDNYCH DOJNÍC | OCCURRENCE OF RESISTANT STAPHYLOCOCCI ISOLATED FROM MASTITIC DAIRY COWS 602
64. Zigo F., Gondová M., Farkašová Z., Vargová M., Récky A., Lacková Z., Regecová I., Récky A., Pecka-Kielb E.: PERSPEKTÍVA CHOVU A ANALÝZA ÚŽITKOVÝCH PARAMETROV PLEMENA SUFFOLK | SUFFOLK BREEDING PERSPECTIVE AND ANALYSIS OF UTILITY PARAMETERS OF THE SUFFOLK BREED 611

PREDNÁŠKY

LECTURES

TRENDY VE VYUŽITÍ MIKROORGANISMŮ V MASNÉM PRŮMYSLU

TRENDS IN THE USE OF MICROORGANISMS IN THE MEAT INDUSTRY

Baláš Josef [1], Hurňák Ondrej [2]

Novonesis, č.p. 215, 693 01 Starovice Czech Republic [1],

Novonesis, Žatevná 10, 841 02 Bratislava, Slovakia [2]

ABSTRACT

Starter cultures producers offer the meat industry a large variety of creative ingredient solutions that improve the flavor, appearance, texture, safety and stability of the finished products. Not all of them are only for fermented products. With their strong focus on innovation and quality, they are able to offer the processed meat industry a variety of interesting tools to improve efficiency and creative development not only in meat industry.

Key words: starter cultures, bio-protection, listeria mon., shelf life, E-free

ÚVOD

Mikroorganismy jsou dlouhodobě jednou z velmi sledovaných oblastí kvality potravinářských výrobků. Samozřejmě pro svůj obrovský potenciál kontaminace výrobků, ale i z druhé – pozitivní - strany. Využívá se příznivý účinek kulturních mikroorganismů na zušlechťování výrobků v mlékárenském, masném a konzervárenském průmyslu, zemědělských technologiích apod.

Výhody používání tzv. startovacích kultur při výrobě fermentovaných (tepelně neopracovaných) salámů jsou nezpochybnitelné a pro zákazníky i pro výrobce přinášejí mnoho pozitiv v oblasti rychlosti fermentace trvanlivosti, stability výrobku, kvality zrnění a také barvy výrobků.

Většina výrobců hledá další bariéry pro vyšší bezpečnost a delší trvanlivost, ať už jde o omezení oxidace tuků, okyselení mletých masných polotovarů, barevné změny způsobené aerobními mikroorganismy či jiná menší znehodnocení. Stejně tak lze podpořit ochranu čerstvých i vařených produktů a pomocí mikroorganismů tak zajistit etiketu „E-free“.

ZÁKLADNÍ PRINCIPY

Již tisíce let se mikroorganismy používají k tomu, aby potraviny a nápoje byly chutnější, stravitelnější a trvanlivější. Přírodní řešení, jako jsou mikroorganismy, jsou nedílnou součástí

našeho života a stravy. Kvašení se používá již tisíce let, aby se potraviny staly stravitelnějšími, chutnějšími a trvanlivějšími.

Nehovoříme tedy o převratné technologii:

Mikroorganismy jsou - a vždy byly - nedílnou součástí všech trvanlivých potravin a našeho každodenního života! Jako příklad lze uvést produkty, jako je víno, sýr, salám - to jsou výrobky s přidanou hodnotou v pravém slova smyslu - autentické, čerstvé a přírodní potraviny!

A někteří lidé dokonce tvrdí, že "kvašení je nejstarší a nejzdravější způsob uchovávání potravin". - Po staletí se však tyto znalosti využívaly pouze empiricky. Lidé si uvědomili, že při použití určitých procesních podmínek mohou dosáhnout reprodukovatelných výsledků - a tomu říkáme "spontánní kvašení". Tyto znalosti se předávaly z generace na generaci - ale aniž by věděli, chápali nebo byli schopni skutečně kontrolovat, co se děje.

Dnes víme o zásadní roli mikrobiálního ekosystému jako faktoru určujícího kvalitu potravin a jsme schopni vybírat kultury podle jejich charakteristiky a vlastností. Cílené používání vybraných potravinářských kultur proto nahradilo náhodnou shodu.

Používáním těchto vybraných kultur získávají výrobci potravin a masa tři výhody:

- definované množství
- důkladně vybrané a bezpečné potravinářské kultury (např. kontrola/vyloučení produkce biogenních aminů jako jeden z hlavních prvků našeho screeningového postupu...).
- se standardizovanými činnostmi v konečném procesu výroby potravin.

Tímto způsobem můžeme zajistit konzistentní produkci a významně přispět k udržitelnější výrobě potravin.

Kultury nejsou chemické látky, ale "živé mikroorganismy".

NOVÉ TRENDY

Výkonnost kultury závisí na parametrech surovin a výrobním procesu: Kultura musí být dobře přizpůsobena procesu nebo proces musí být přizpůsoben kultuře.

Za určitých okolností může zvýšený obsah cukru vést v některých aplikacích k senzorickému ovlivnění - okyselení, stejně tak při důkladném zkoumání výrobního procesu a jeho úpravě, dosáhneme efektivních výsledků - zejména s ohledem na bezpečnost výrobku...

V současné době již není nutnou potřebou modlit se k vyšší moci nebo doufat v magickou milost a nemilost endogenních "kazících" bakterií. Jsou využívány různé druhy (*Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Staphylococcus*, přip. kvasinky) vytvářející tradiční a pomalé okyselení až po hladké a jemné chuti s rychlou acidifikací pro bezpečnost potravin. Existují verze s dodatečným přídavkem ošetřujícím proti *Listeria monocytogenes*, případně schopnostmi potlačit růst patogenních mikroorganismů a bakterií způsobujících kažení. Různé

kmeny *Staphyloccocus* mají větší možnost využít svůj potenciál při zrání a ovlivnění chuti a vůně výrobku a také při vytváření a stabilizaci barvy.

Pomocí mikroorganismů se upravuje vytváření barevného profilu, stabilita barvy a v neposlední řadě je vytvářena chuť.

Mikroorganismy (*Pediococcus, Staphylococcus, Lactobacillus, Lactococcus*) nabízejí zlepšení barvy, skusu a vývoje chuti, snížení rizika pórů z nežádoucích bakterií a snižují riziko *Listeria monocytogenes.* Dále podporují trvanlivost a čerstvost nebo snižují zbytkový kyslík v modifikované atmosféře balíčků nebo vakuovém balení.

Pokud hledáte v provozu prostředek pro zvýšení bezpečnosti potravin, potřebujete minimalizaci rizik při manipulaci a porcování. A chcete-li se vyhnout „chemikáliím tzv. É-čkám“, tak mikroorganismy pro vás řešení nabízejí. Manipulace, krájení a balení představuje riziko křížové kontaminace, ohrožené a potenciálně nebezpečné výrobky. Sekundární kontaminace surovin může způsobit ztráty v podobě výrobků osliznutých, odlišně zbarvených až zkažených či nebezpečných. V nabídkách jsou kultury pro snížení rizika pórů z plynotvorných bakterií, kultury pro ochranu čerstvosti a barevnosti plátkových produktů, např. šunek (a to i v případě vystavení světlu v supermarketech), bariéra proti „nafouknutí“ balíčků, náhradu dusitanu sodného a samozřejmě je k dispozici ve světě stále populárnější ochrana proti růstu *Listeria monocytogenes* a ostatním patogenům. Vše se samozřejmě děje na základě a v souladu s EU právními podmínkami ve spolupráci s dozorovými orgány.

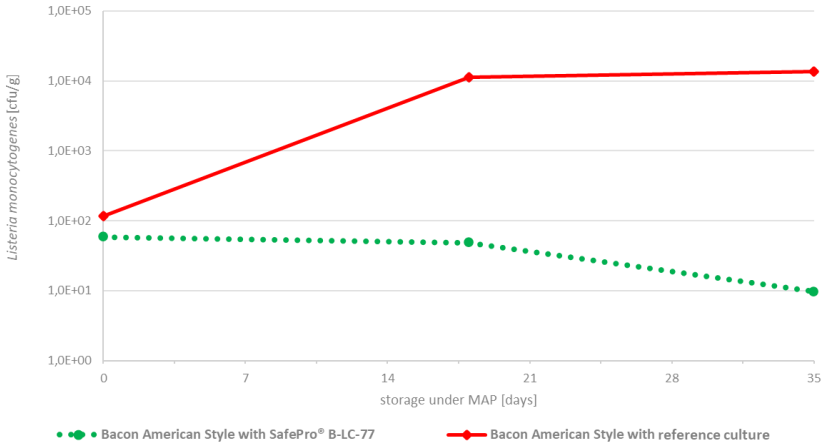
Stejně tak lze podpořit ochranu marinovaných plátků mas či různě mělněných polotovarů a pomocí mikroorganismů tak zajistit etiketu „E-free“.

Speciálně vybrané kmeny *Lactobacillus* a *Pediococcus* výrazně zlepšují barevnou stabilitu čerstvých výrobků vystavených světlu, kultury prodlužující čerstvost ve výrobcích z hovězího masa, například tatarák, hamburgerů z mletého hovězího masa nebo čevapčiči atd.

Na příkladech ukážeme, jak může kultura ovlivnit bezpečnost výrobku a jak může používání vybraných mikroorganismů představovat další překážku správné výrobní praxe...

a tím významně přispět ke kontrole mikroflóry, stabilizaci kvality výrobku, optimalizaci bezpečnosti výrobku a v neposlední řadě v kategoriích se zvýšeným rizikovým potenciálem vytvořit překážku proti *Listeria monocytogenes*.

Obrázek č. 1: Validace účinku kultury proti *Listerii monocytogenes* tzv. „Challenge (zátěžovým) testem“



DALŠÍ PŘÍKLADY VYUŽITÍ

Plátky za studena uzeného lososa jsou připravené k přímé konzumaci, ale chlazení nebrání bakterii *Listeria monocytogenes* v růstu během doby použitelnosti, což je důvod, proč průmysl, maloobchod ale i úřady hledají nová řešení. Nově je k dispozici zdokumentované řešení pomocí laktokoků a leuconostoků přijatelné po celé Evropě.

Další zajímavostí je i využití potenciálu mikroorganismů pro vytvoření bezpečného prostředí aplikací do kanálových vpustí nebo ošetření prostor a výrobních zařízení pomocí kultur produkujících bakteriociny.

Na základě znalostí mikroorganismů v potravinářství se portfolio možností dále rozšiřuje např. pro omezení kažení a tím prodloužení trvanlivosti a zvýšení bezpečnosti spotřebitele u trhaných salátů a směsí listové zeleniny, a omezení stabilizátorů v potravinách určených k přímé spotřebě.

ZÁVĚR

Výrobci startovacích kultur nabízejí masnému průmyslu širokou škálu tvůrčích řešení, která zlepšují chuť, vzhled, strukturu, bezpečnost a stabilitu hotových výrobků. Ale nejen u fermentovaných výrobků. Se silným důrazem na inovace, bezpečnost výrobků a kvalitu jsou schopni nabídnout zpracovatelům v masném průmyslu celou řadu zajímavých nástrojů pro zlepšení efektivity a kreativní nová řešení nejen v masném průmyslu.

A to vše prostřednictvím principů, které jsou tak hluboce zakořeněny v našich kulturních tradicích!

Kontaktní adresa: Josef Baláš, Novonesis č.p. 215 - 693 01 Starovice, Česká republika. E-mail: josba@novonesis.com

KORENIE A JEHO VPLYV NA TRVANLIVOSŤ MÄSOVÝCH VÝROBKOV

SPICES AND THEIR EFFECT ON THE SHELF LIFE OF MEAT PRODUCTS

Bartkovský Martin, Fraňová Dominika, Semjon Boris, Makiš Andrej

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 our research was to monitor the effect of spices on the antioxidant properties and shelf life of meat products. First, we chose a recipe for soft meat products. We prepared raw materials and spices and prepared meat products on technological equipment. The samples were subsequently vacuum packed and stored at refrigerator temperatures (± 4°C). The samples were examined during the 1st, 7th and 14th days of storage. By monitoring malondialdehyde (MDA) values, we demonstrated the decomposition changes of the fat component and the effect of spices on the reduction of oxidation products. Based on the results, we found out which spices have the most significant effect on increasing shelf life

Key words: spice, herb, meat, antioxidant, storage

ÚVOD

Mäso a mäsové výrobky zaberajú medzi potravinami významné miesto z hľadiska ľudskej výživy. Predstavujú významný zdroj nutrične plnohodnotných látok. Konzumácia červeného mäsa a mäsových výrobkov má vo väčšine kultúr dlhú históriu. Pri výrobe mäsových výrobkov sa nesmie zabúdať na to, že sa môžu používať len také prísady, ktoré majú antimikrobiálne a antioxidačné vlastnosti, to v praxi znamená, že výsledný produkt bude mať stabilizovanú farbu a senzorické vlastnosti. Pridávanie prírodných antioxidantov vo forme korenín do mäsových výrobkov môže oddialiť oxidáciu tukov a bielkovín, čím sa predchádza vzniku nežiadúcich organoleptických zmien a zároveň sa predĺži trvanlivosť.

Korenie je dostupné v mnohých formách: čerstvé, sušené alebo mrazené; celé, mleté, drvené, pyré, ako pasty, extrakty alebo nálevy. Každá forma má svoje výhody a nevýhody. Extrakty a výťažky z korenia, čo sú vysoko koncentrované formy ktoré, obsahujú prchavé a neprchavé oleje, ktoré dodávajú každému koreniu jeho charakteristickú chuť. Prchavé podiely extraktov z korenia, tiež označovaných ako éterické oleje, sú typickým znakom arómy korenia. Chuť korenia, ako je sladká, pikantná, kyslá alebo slaná, je spôsobená mnohými rôznymi

spôsobmi chemickými zložkami, ako sú estery, fenoly, kyseliny, alkoholy, chloridy, alkaloidy, alebo cukry. Sladkosť je spôsobená estermi a cukrami; kyslosť je spôsobená organickými kyselinami (citrónová, jablčný, octový alebo mliečny); slanosť na katióny, chloridy a citráty; trpkosť na fenoly a taníny; horkosť na alkaloidy (kofeín a glykozidy); a štipľavosť na amidy kyselín, karbonyly, tioétery a izotiokyanáty (Peter, 2004). Antioxidanty využívané v mäsovom priemysle sú buď prírodné alebo syntetické. Prírodné antioxidanty možno ďalej klasifikovať na základe ich pôvodu (rastlinné, živočíšne, bakteriálne) a ich chemickej štruktúry (napr. fenoly, tokoferoly alebo vitamín C). Prírodné antioxidanty rastlinného pôvodu pochádzajú z ovocia, čajov a bylín, semien, korenín, zeleniny, obilnín a stromov. Môžu pochádzať z rôznych rastlinných častí ako sú listy, kvety, plody, stonky alebo korene akumulujú antioxidanty vo vysokých koncentráciách, ktoré sa líšia v závislosti od druhu rastliny a samotnej antioxidačnej látky. Vyššie uvedené časti rastlín sa používajú v potravinách buď priamo (napr. ovocné pyré alebo džúsy), alebo po extrakcii a čistení antioxidačných látok, ktoré obsahujú. Chemická štruktúra antioxidantov súvisí s ich vlastnosťami a ich hlavným priebehom účinku, pričom hlavné skupiny antioxidačných látok na základe ich chemickej štruktúry sú fenoly, taníny, flavonoidy a izoflavonoidy, antokyány, lignany, stilbény, tokoferoly (Manessis a kol., 2020).

MATERIÁL A METÓDY

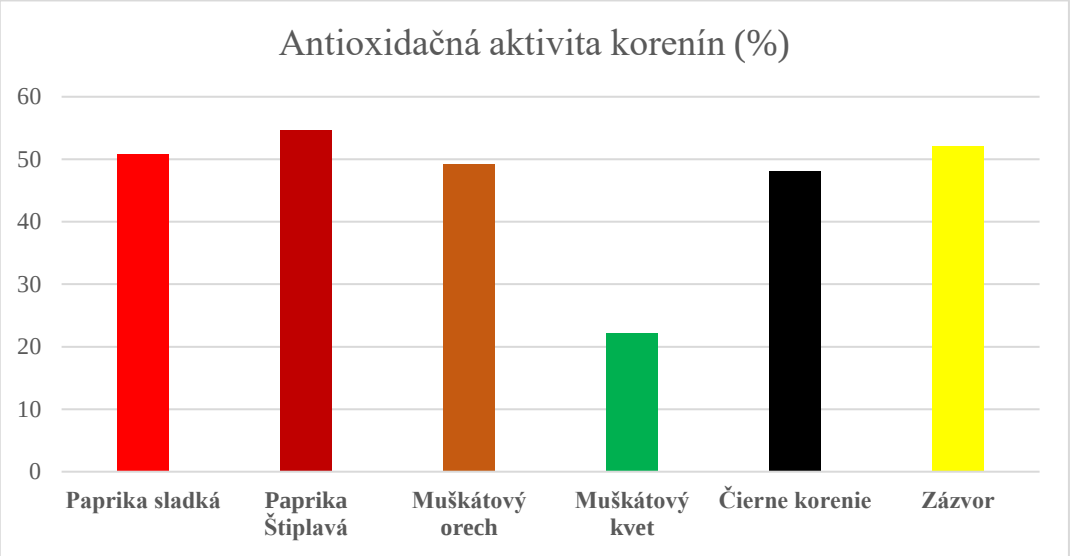
Ako prvé sme si pripravili surovinu na výrobu vybraných mäsových výrobkov. V našom prípade sa jednalo o párky. Podľa príslušných receptúr sme pripravili bravčové mäso, hovädzie mäso a koreniny. Pre solenie sme použili dusitanovú soliacu zmes (Praganda – Jedlá vákuová soľ, E250 – dusitan sodný 0,5-0,6%, E535-kyselina hexakyanoželezitánová sodná, protihrudkujúca látka, jodičnan draselný 33-58 mg/kg). Výsledné diela sme pripravili pomocou kutru. Pre párky sme ako prvé vykutrovali len požadované mäso a soľ (čistá vzorka), následne sme pridali sladkú papriku (paprika sladká) a odobrali vzorku. Potom sme pripravili dielo, ku ktorému bola pridaná len štipľavá paprika (paprika pálivá) a odobrali sme vzorky. Ako posledné sme pripravili kontrolnú vzorku podľa presnej receptúry, ktorá obsahovala všetky korenia a soľ. Takto pripravené vzorky sme naplnili do obalov (baranie črevo – Ø 25mm). Vzorky boli následne osušené, vyúdené (28 °C, 20 minút) a tepelne opracované (70°C, 10 minút v jadre). Takto pripravené vzorky, sme následne ochladili (+4 °C) a vákuovo zabalili pre skladovanie v chladničkových teplotách. Vzorky boli následne laboratórne vyšetrené v časovom intervale 1.,7. a 14. deň. Stanovovali sme antioxidačnú aktivitu korenín a chemické zloženie mäsových výrobkov. Schopnosť korenín vykazovať antioxidačnú aktivitu bola stanovená spektrofotometricky. Metóda je založená na reakcii antioxidantov v koreniach spolu s DPPH radikálom (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Jung a kol., 2010). Rozkladné zmeny sa

hodnotili podľa analýzy stanovenia tiobarbiturového čísla (TBA). Touto metódou sa dá vyjadriť množstvo malóndialdehydu (MDA), hlavný rozkladný produkt sekundárneho poškodenia tukov, ktoré sú podmienené oxidáciou nenasýtených mastných kyselín. Táto metóda sa vykonávala podľa Marcinčák a kol. (2004). Výsledky meraní boli spracované štatistickým programom Graph pad Prism 8.0 (San Diego, California). Výsledky sú vyjadrené ako aritmetický priemer a sd (±) hodnoty. Pre určenie štatistickej významnosti sme použili One-way ANOVA metódu s využitím Tukeyho metódy.

VÝSLEDKY

Ako prvé sme stanovili hodnoty antioxidačnej aktivity jednotlivých korenín (**Graf č. 1**). Štipľavá paprika dosiahla najvyššiu antioxidačnú aktivitu (54,67%). Najnižšie hodnoty dosiahol muškátový kvet (22,13%). Čierne korenie, muškátový orech a sladká paprika dosiahli v priemere 50 % schopnosť vychytávať DPPH radikál.

Graf 1 Výsledky antioxidačnej aktivity vybraných korenín



Zdroj: Vlastný graf

V tabuľke č. 1 sú uvedené hodnoty v %, ktoré vyjadrujú chemické zloženie párkov, počas jednotlivých dní počas skladovania. Najvyššie % tuku v párkoch sme zaznamenali vo vzorke, kde bola pridaná paprika sladká (12,61 %), pričom najmenšie % tuku bolo zaznamenané vo vzorke čistých párkov (11,83 %). Najvyšší obsah vody na prvý deň bol vo vzorke párkov čisté (73,53 %), zatiaľ čo kontrola mala najnižšie % vody (71,40 %).

Tabuľka č. 1, Chemické zloženie párkov

	Chemické zloženie			
	% sušina	**% tuk**	**% voda**	**%NL**
čisté	28,6±2,23	11,83±0,40[a]	73,53±1,50[a]	27,50±0,75
paprika sladká	28,4±0,70	12,61±0,06[b]	71,60±0,70[b]	28,43±0,91
paprika pálivá	27,47±1,5	12,17±0,32[b]	72,53±1,50[b]	28,40±0,82
kontrola	28,6±2,23	12,41±0,46[b]	71,40±2,23[a]	28,10±0,62

[a,b] – indexy sú štatisticky významné (P<0,05) pre hodnoty v stĺpci; NL- dusíkaté látky; **Zdroj:** Vlastná tabuľka

V tabuľke č. 2 sú uvedené hodnoty malóndialdehydu, ktorý sa vytvoril v priebehu skladovania v jednotlivých vzorkách. V tabuľke sú uvedené hodnoty malóndialdehydu v mg/kg na 1., 7., a 14. deň. Najvyšší obsah malóndialdehydu bol zaznamenaný pri vzorke čisté (0,338 mg/kg) a najnižší obsah bol zaznamenaný vo vzorke párkov kontrola (0,256 mg/kg) na 1. deň. Na 7.deň sme zaznamenali najvyššiu hodnotu malóndialdehydu vo vzorke párkov čisté (0,567 mg/kg) a najnižšia hodnota bola zaznamenaná vo vzorke s prídavkom papriky pálivej (0,372 mg/kg). Na 14.deň najvyššia hodnota bola zaznamenaná vo vzorke párkov čisté (0,620 mg/kg) a najnižšia hodnota bola v kontrole (0,388 mg/kg).

Tabuľka č. 2, Množstvo MDA vytvoreného počas skladovania

	1. deň	**7. deň**	**14. deň**
čisté	0,338±0,01[b]	0,567±0,07[c]	0,620±0,04[a]
paprika sladká	0,261±0,05[a]	0,440±0,03[b]	0,576±0,12[a]
paprika pálivá	0,263±0,05[a]	0,372±0,04[a]	0,546±0,08[b]
kontrola	0,256±0,04[a]	0,450±0,02[b]	0,388±0,02

[a,b,c] – indexy sú štatisticky významné (P<0,05) pre hodnoty v stĺpci; **Zdroj:** Vlastná tabuľka

Výsledky senzorického hodnotenia párkov 5 bodovým testom (STN ISO 5495, 2005) sú uvedené v tabuľke č. 3. Na základe hodnotenia môžeme vidieť, že v priemere najvyššie hodnotenie dosiahla kontrolná vzorka, pričom najnižšie hodnotenie dosiahla čistá vzorka. To mohlo byť napríklad spôsobené aj tým, že vzorka čistá bola bez prídavku korenín, čo mohlo ovplyvňovať celkové senzorické hodnotenie.

Tabuľka č. 1 Senzorické hodnotenie párkov

	čistá	paprika sladká	paprika pálivá	kontrola
Vzhľad	2,83±0,72	3,83±0,40	4,16±0,43	7,16±0,92
Konzistencia	5,66±0,81	5,66±1,03	5,50±0,54	6,66±0,51
Celková prijateľnosť	3,33±0,51	3,83±0,40	3,66±0,51	6,83±0,75
Vôňa	2,33±0,50	3,00±0,89	3,66±0,51	6,66±0,81
Chuť	2,66±0,81	3,33±0,51	3,50±0,54	7,16±0,75

Zdroj: Vlastná tabuľka

DISKUSIA

V dnešnej dobe sa venuje veľká pozornosť na ochranu lipidov pred oxidáciou, to sa dá dosiahnuť napríklad zabráneniu prístupu vzduchu alebo zníženie teploty. Avšak dnes sa za najefektívnejší spôsob využíva použitie antioxidantov (Marcinčák a kol., 2004).

Cieľom našej práce bolo sledovať účinok vybraných korenín na skladovateľnosť a oxidačnú stabilitu mäsových výrobkov a zhodnotiť, ktoré korenie vykazovalo najvyššiu antioxidačnú vlastnosť. Tieto korenia boli použité pri výrobe párkov. Sledovala sa antioxidačná vlastnosť vybraných korenín ako paprika sladká, paprika pálivá, muškátový orech, muškátový kvet, čierne korenie a zázvor. Najvyššia antioxidačná schopnosť vychytávať DPPH radikál bola zaznamenaná pri paprike pálivej 54,67 % a pri paprike sladkej 50%. Pričom najnižšiu antioxidačnú aktivitu vykazoval muškátový kvet 22,13%. Podľa Zhangovej štúdie (2016) klinčeky vykazovali vyššiu aktivitu radikálneho vychytávania DPPH ako rozmarín. Výťažky z klinčekov boli uvádzané ako jeden z najsilnejších antioxidantov, dokonca silnejší ako syntetické antioxidanty. Silná aktivita klinčekov môže byť spôsobená prítomnosťou eugenolu, hlavnej zložky klinčekov, ktorý je známy svojou antioxidačnou aktivitou. Avšak v našej štúdií vykazovala vyššiu aktivitu vychytávania DPPH pálivá paprika a paprika sladká. Paprika je známa tým, že obsahuje veľké množstvo antioxidantov ako je napríklad kapsaicín, ale aj vitamín C.

Fan a kol. (2019) zistili, že aktivita zachytávania voľných radikálov DHPP prostredníctvom extraktu z portulaky zeleninovej (*Portulaca oleracea*) bola relatívne vysoká s porovnaním syntetickej konzervačnej látky buthlovaný hydroxylanzizol, ktorý sa používa na predĺženie trvanlivosti potravín (Aziz a Karboune, 2016). Podľa Matiovej (2016) prídavok extraktu z čierneho hrozna priaznivo ovplyvňoval oxidáciu tukov na 1., 7. a 14. deň počas skladovania. To potvrdil aj Goňi a kol. (2007), kedy oxidácia tukov bola nižšia u hydiny, ktorá

bola kŕmená prídavkom rastlinných extraktov z hrozna, zatiaľ čo kontrolná skupina vykazovala vyššie hodnoty.

Podľa Jeonga a kol. (2023) v deň 0 boli hodnoty TBA v kontrolnej vzorke a vzorke s prídavkom papriky 0,40±0,03 a 0,40±0,03 mg MDA/kg mäsa, pričom medzi týmito hodnotami neboli pozorované žiadne významné rozdiely ($P > 0,05$). Medzitým na 7. deň boli hodnoty TBA v kontrolnej vzorke a vzorke s prídavkom papriky 1,69±0,18 a 0,89±0,08 mg MDA/kg mäsa, pričom sa pozorovalo významné zvýšenie v porovnaní s hodnotami v deň 0 ($P < 0,05$). Okrem toho hodnota TBA v kontrolnej skupine bola významne vyššia ako hodnota vo vzorke s prídavkom papriky ($P < 0,05$). V 14. deň boli hodnoty TBA v kontrolnej vzorke a vzorke s prídavkom papriky 3,55±0,87 a 1,83±0,47 mg MDA/kg mäsa, pričom sa zistilo významné zvýšenie v porovnaní s hodnotami na 7. deň ($P < 0,05$). Rozdiel medzi kontrolou vzorkou a vzorkou s prídavkom papriky bol významný, pričom kontrola vykazovala najvyššiu hodnotu ($P < 0,05$). Tieto výsledky naznačujú, že oxidácia lipidov bola počas skladovania inhibovaná v bravčových karbonátkach obsahujúcich extrakt z papriky. Na základe nášho porovnania môžeme skonštatovať, že vzorka bez prídavku korenia dosahovala najvyššie hodnoty MDA počas skladovania. Boeira a kol. (2020) zistili, že prídavok extraktov z citrónovej trávy v koncentrácií 0,5% a 1,0% výrazne znížili hodnotu TBA v čerstvej klobáse, čo demonštruje účinné pôsobenie CC v boji proti oxidácii lipidov.

ZÁVER

Na základe výsledkov a meraní sme potvrdili hypotézu, že koreniny sú z pohľadu produkcie mäsových výrobkov nezastupiteľnou súčasťou výroby. Ako vidíme v prípade párkov, najvyššiu antioxidačnú aktivitu vykazovala pálivá paprika. Potvrdili to aj výsledky množstva malóndialdehydu v 14. deň skladovania, kedy vzorky s pálivou paprikou dosiahli najnižšie množstvo MDA (0,546±0,08 mg/kg). Samozrejme v kombinácii so sladkou paprikou dosiahla najlepšie hodnoty kontrolná vzorka (0,388±0,02 mg/kg). Z výsledkov nám vyplýva, že kombináciou sladkej a pálivej papriky dosiahneme najlepší výsledok pre skladovanie párkov. Korenie je teda na základe našich výsledkov významnou súčasťou mäsových výrobkov. Dodáva im nie len chuťové a vonné vlastnosti, no zároveň prispieva k zvýšeniu skladovateľnosti.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AZIZ, M., KARBOUNE, S. Natural antimicrobial/antioxidant agents in meat and poultry products as well as fruits and vegetables: A review. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* ISSN 1040-8398, 2016, vol. 58, no. 3, p. 486-511.

2. BOEIRA, P. C. et. al. Phytochemical characterization and antimicrobial activity of Cymbopogon citratus extract for application as natural antioxidant in fresh sausage. In *Food Chemistry.* ISSN 0308-8146, 2020, vol. 319, 126553.
3. FAN, X. J. et al. Effects of *Portulaca oleracea* L. extract on lipid oxidation and color of pork meat during refrigerated storage. In *Meat Science.* ISSN 0309-1740, 2019, vol. 147, p. 82-90.
4. GOŇI, I. et al. Effect of dietary grape pomace and vitamin E on growth performance, nutrient digestibility and susceptibility to meat lipid oxidation in chickens. In *Poultry science*. ISSN 1525-3171, 2007, vol. 86, no. 3, p. 508-516.
5. JEONG, K. J. et al. Paprika extract as a natural antioxidant in cold-stored pork patties: Effect on oxidative stability and heterocyclic amines inhibition. In *Food Chemistry: X*. ISSN 2590-1575, 2023, vol. 20, no. 2023, 100936.
6. JUNG S. a kol. Effect of dietary mixture of gallic acid and linoleic acid on antioxidative potential and quality of breast meat from broilers. In *Meat Sci*. 2010, vol. 86, no. 2, p. 520-526.
7. MANESSIS, G. et. al. Plant-Derived Natural Antioxidants in Meat and Meat Products. In *Antioxidants.* [online] 2020, vol. 9, no. 12 [2020-12-02]. Dostupné na internete: https://www.mdpi.com/2076-3921/9/12/1215, ISSN 2076-3921.
8. MARCINČÁK, S. et al. The impact of vitamin E and rosemary on the oxidative stability of poultry meat and ground meat products. In Folia veterinaria : The scientific journal of UNIVERSITY OF VETERINARY MEDICINE IN KOŠICE[online]. 2004. vol. 48, no. 3
9. MATIOVÁ, Z. *Kvalita hydinového mäsového výrobku po aplikácií vybraných rastlinných extraktov* : diplomová práca. Košice: UVLF, 2016, 54 s.
10. PETER, K. V. *Handbook of herbs and spices*. Vol. 2. Cambrige: Woodhead Publishing Limited, 2004, 355 s. ISBN 1 85573 721 3.
11. ZHANG, H. – WU, J. – GUO, X. Effects of antimicrobial and antioxidant activities of spice extracts on raw chicken meat quality. In *Food Science and Human Wellness.* ISSN 2213-4530, 2016, vol. 5, no. 1, p. 39-48.

Kontaktná adresa: Martin Bartkovský, Mgr., PhD., Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice; E-mail: martin.bartkovsky@uvlf.sk

EURÓPSKY SYSTÉM ZAISTENIA BEZPEČNOSTI MÄSA ZALOŽENÝ NA RIZIKU - SÚČASNÝ STAVE

EUROPEAN RISK-BASED MEAT SAFETY ASSURANCE SYSTEM – A STATE OF THE ART

Blagojevic Bojan

Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad, Trg Dositeja Obradovica 8, 21000 Novi Sad, Serbia

ABSTRACT

Traditional way of meat safety assurance relies principally on veterinary meat inspection and end-product testing. The traditional system has significantly contributed to public health protection throughout the last century. However, during the last decades, scientific community and regulatory authorities have recognised that this system is inadequate to tackle most important biological and chemical meat-borne hazards - such as *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Toxoplasma gondii*, dioxins, residues of antimicrobials, etc. Consequently, about fifteen years ago, the European Commission triggered work on modernisation of the traditional system by delegating European Food Safety Authority (EFSA) tasks to prioritise biological and chemical hazards and propose a generic framework for a new, risk-based meat safety assurance system (RB-MSAS). RB-MSAS proposed by the EFSA is longitudinally integrated system focused on safety of chilled carcasses, mainly in respect of priority hazards. The system is planned to be coordinated by the meat safety "risk managers" who are expected to be the current official veterinarians. Partial RB-MSAS implementation has recently started as a direct result of the changes of relevant legislation in the European Union. Full development of RB-MSAS requires incorporation of principles for tailor-made control measures, based on risk assessment and applied at those points in the meat chain where they have highest effectiveness in reducing meat-borne risks. More focus on targeted inspection along the supply chain is needed, and the use of new digital technologies appears to be a cost-effective and feasible way forward. Further progress that will lead to full implementation of the RB-MSAS in Europe is dependent on intensive research to fill knowledge gaps, training of the participants in the new system and fostering close collaboration among all stakeholders.

Key words: meat, safety, risk analysis, legislation.

Contact address: Prof. DVM Bojan Blagojevic, PhD., Dipl. ECVPH, Univerisity of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Novi Sad, Serbia, E-mail: blagojevic.bojan@yahoo.com

NANOČASTICE ARGIRIUM SUNC® AKO MOŽNÁ ALTERNATÍVA KU KONVENČNÝM DEZINFEKČNÝM PROSTRIEDKOM POUŽÍVANÝM NA BEŽNÉ ČISTENIE V MÄSOKOMBINÁTE

ARGIRIUM SUNC® NANOPARTICLES AS A POSSIBLE ALTERNATIVE TO CONVENTIONAL DISINFECTANTS USED FOR THE ROUTINE CLEANING OF A MEAT PROCESSING PLANT

Egidio Marica[1], Mancusi Andrea[2], Marrone Raffaele[1], Polizzi Giulia[1], Ambrosio Rosa Luisa[1], Scotti Luca[3], Paludi Domenico[4], Proroga Yolande Thérèse Rose[2].

[1] Department of Veterinary Medicine and Animal Production, University of Naples Federico II, 80138 Naples, Italy,

[2]Department of Food Safety Coordination, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, 80055 Portici, Italy,

[3]Department of Medical, Oral, and Biotechnological Sciences, "G. d'Annunzio" University of Chieti–Pescara, 66100 Chieti, Italy

[4]Faculty of Veterinary Medicine, University of Teramo, 64100 Teramo, Italy.

ABSTRACT

Microbial resistance to conventional biocides could be involved in the more complex and global problem of antibiotic resistance. In this regard, it is necessary to develop fundamentally novel and highly antimicrobial effective compounds. Argirium Silver Ultra Nano Clusters (Argirium SUNc®), which are a new generation of silver nanoparticles, may offer a potential solution for this challenge, since they have already shown their effectiveness against both sensitive and resistant microbial strains as well as mature biofilms even at a very low concentrations (1 ppm). Duo to their chemo-fisical characteristics, meat products are the most susceptible foodstuffs for microbial contamination. More resistant psychrotrophs and pseudomonads (*Pseudomonas sp., LAB, Staphylococcus sp., Escherichia coli*) to different antimicrobials and biocides were frequently detected in almost all areas of meat cutting and processing companies considered as main source of antibiotic and/or biocide resistant bacteria. For this reason, the aim of our study was to evaluate the antimicrobial effectiveness of this new tipe of biocide in two different formulation (spray and drop formulation) against hygiene indicator microorganisms potentially present in an italin meat cutting and processing company and compare it with the disinfectant most used by operators for the routine cleaning of the interest food industry. Data shown that Argirium SUNc® nanoparticles were efficacy against the analyzed parameters being able to inibite or reduce microbial growth. Furthemore, in most cases the two tested sanitizing solutions

were better than disinfectant currently used showing to have a greater inhibitory power. For this reason, this novel nanomaterial could be used to create new generation disinfectants, alternative to those conventional which favor the spread of antibiotic resistance.

Key words: biocides, Argirium SUNc®, meat products, resistance

INTRODUCTION

Biocides such as disinfectants or preservatives, are chimical agents used significantly across food industry to control microbial contamination ensuring food safety and preservation [Maillard, 2005]. However, their overuse, especially at inappropriate concentrations, could cause selective pressure in bacteria, facilitating selection and spread of resistant microbial strains and the emergence of cross-resistance to both biocides and antibiotics [Bock, 2019; Poole, 2002]. For this reason, on the one hand rationalization and appropriate use of biocides, on the other search of alternative antimicrobial principles to produce new generation biocides, is encouraged. Nanotechnologies and in particular Argirium Silver Ultra Nano Clusters (Argirium SUNc®), give hope in this direction opening new horizons to combat and reduce both biocide and antibiotic resistance. Argirium SUNc® nanoparticles are new generation silver nanoparticles (AgNPs), that are engineered structures with sizes ranging from 1 to 100 nm [Horikoshi, 2013], syntetized using a reproducible electrochemical method (Patent EP-18181873) derived from the modify of an old synthesis [Molina Hernandez, 2023]. Their name is duo to their size (< 2 nm) which is the smallest of all the nanoparticles so far studied [Gasbarri, 2021]. Argirium SUNc® nanoparticles particle structure, made by a core of metallic Ag^0 and external shells of Ag^+, Ag^{2+} and Ag^{3+} silver oxides, is responsible for their unique characteristics. Infact, thay are stable for several months in an ultra-pure water solution and have enhanced redox properties towards biological targets [Gasbarri, 2021], being able to act on both microbial cells and mature biofilms at a concentration far lower than that reported for other silver formulations (< 1 ppm for microrganisms and 0.625 ppm for mature biofilms) [Duval, 2019; Grande, 2020; Pompilio, 2018; Molina-Hernandez, 2021]. Different studies have revealed Argirium SUNc® nanoparticles antimicrobial activity on both resistant and sensible strains and their efficacy at deconstructing mature biofilm [Duval, 2019; Grande, 2020; Pompilio, 2018; Molina-Hernandez, 2021] proving their wide spectrum of action duo to a series of different mechanism of action such as oxidative stress, reduced ATP synthesis, reduced GSH concentration, enzymes inhibition [Khalandi, 2017; Adeyemi, 2020; Yuan, 2017] and cell membrane distruption leading to bacterial death [Molina-Hernandez, 2021]. Morover, in different pre-clinical toxicity tests, it was seen that Argirium SUNc® nanoparticles are no

toxic within a certain range (100 µg/ml in vitro, 6.8 µg/ml in vivo) [Pompilio, 2018; Pokhrel, 2022]. Therefore, for their unique chemo-physical properties (wide spectrum of action, low propensity to induce microbial resistance and low toxicity), this novel nano material could be a real innovative biocide alternative to traditionals responsible for multidrug resistance. Thei aim of the present work was to evaluate the antimicrobial effectiveness of this new tipe of biocide in two different formulation (spray and drop formulation) and in two different concentrations (0.5mL and 1mL) against hygiene indicator microorganisms (coagulase-positive staphylococci, *Escherichia coli*, enterobacteria, total bacterial count, yeasts and molds), whose absence or reducing is fundamental in a food industry. Considering that meat products are the most susceptible foodstuffs for microbial contamination due to their chemical compositions, higher water activity and also their origin [Borck, 2005; Peyrat, 2008], our study was conducted in an italin meat cutting and processing company where resistance to common biocides may develop and exist, to compare Argirium SUNc® nanoparticles efficacy used as disinfectant with that of the disinfectant most used by operators.

MATERIAL AND METHODS

To test the biocidal properties of Argirium SUNc® nanoparticles against hygiene indicator microorganisms (coagulase-positive staphylococci, *Escherichia coli*, enterobacteria, total bacterial count, yeasts and molds), an experimental test in an italian meat cutting and processing company was carried out. The experimental design has envisaged:

- the use of three different sanitizing soluzions to compare their effectiveness: 1)Argirium SUNc® nanoparticles in spray formulation, with sizes ranging from 0.5 nm to 3 nm at a concentration of 1mL; 2)Argirium SUNc® nanoparticles in drop formulation, with sizes ranging from 0.5 nm to 3 nm at a concentration of 0.5mL; 3)disinfectant commonly used in the considered food industry;
- the execution of 6 microbiological swabs before and after applying the solutions for 10 minute time period on 9 different chosen surfaces (3 environmental, 3 equipment and 3 tools);
- microbiological analysis on each swab.

Argirium SUNc® nanoparticles generation

The tested silver ultra nanoclusters (Argirium SUNc®) were the same of that used in our precedent in vitro study [Mancusi, 2024], with a size range of 0.5–3 nm and a concentration of 22 ppm, provided by the University “G. d’Annunzio” of Chieti-Pescara and synthesized with

an electrochemical patented method (EP-18181873 and structural data are deposited at International Centre for Diffraction Data, ICDD https://www.osti.gov/dataexplorer/biblio/dataset/1191540 (accessed 21 November 2023)).

Sample collection

A total of 54 swabs were performed on 9 different food contact surfaces (3 different tools, 3 different equipment and 3 different environments) of an italian meat cutting and processing company. The three chosen environments were: a refrigerator cell's wall; a stainless- steel meat contact trolley and an outgoing tape. The three different tools were: a knife blade used to shred beef; bone saw blade and meat bagger's paddle. The three different equipment were: a scale plate; a pig slaughter table and a steel tub for meat bagging. Briefly, cellulose sponge swabs moistened with 9 mL of sterile buffered peptone water, were crawled on the delimited area (10 x 10 cm) of the chosen surface, at least ten times for both vertical and horizontal direction. Then, all samples were sealed, identified and placed onto ice for transportation to the laboratory.

Microbiological analysis

All samples were transported to Department of Food Safety Coordination, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, where microbiological analysis have been carried out. Each cellulose sponge swabs was weighted and diluted in 90 mL buffered peptone water (Dilucup, Thermo Fischer Scientific, USA) such as to respect 1:10 sample to solution ratio. Serial decimal dilutions were then prepared to determine coagulase-positive staphylococci, *Escherichia coli*, enterobacteria, total bacterial count, yeasts and molds. The number of coagulase-positive staphylococci was determined on Baird-Parker agar (Biolife, Italy) incubated at 37°C ±1°C for 48 h [ISO 6881-1:2021]. The number of *Escherichia coli* was counted on TBX agar (Biolife, Italy) incubated at 44°C ±1°C for 24h ±2h and enterobacteria on violet red bile agar with glucose (VRBG, Biolife, Italy) through incubation at 37°C ±1°C for 24h ±2h [ISO 21528-1:2017]. The number of yeasts and molds was determined on Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol agar (DRBC, Biolife, Italy) through incubation at 25°C ±1°C for 5/7 days [ISO 21527-1:2008]. Finally total bacterial count was determined according to ISO 4833-1, using plate count agar (PCA, Biolife, Italy) through incubation at 30°C ± 1°C for 72h ±3h [ISO 4833-1:2013]. After incubation, colonies were counted to obtain data.

RESULTS AND DISCUSSION

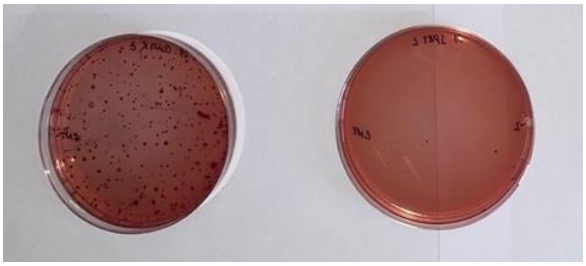
Despite the different concentration (0.5mL for drop formulation and 1mL for spray formulation), data shown that both Argirium SUNc® formulations used as biocides were effective against the analyzed parameters and in most cases the number of colonies present on the agar plates has been reduced of 70-90% after applaying the sanitizing solutions (data not shown).

Enterobacteria

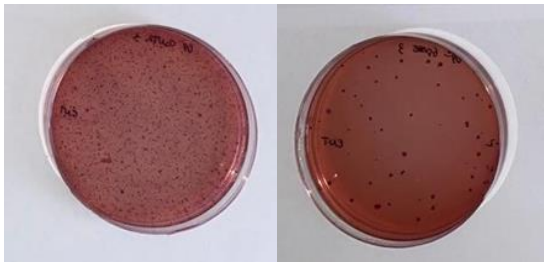
In particolar, for enterobacteria a very high reduction and for some food contact surfaces (fig. 1) an almost total inhibition of microbial proliferation was observed after applaying Argirium SUNc® nanoparticles in spray formulation. A less inhibiting power was observed for drop formulation, but considering that has been used a quantity of Argirium SUNc® equal to half of the previous, there was an important biocidal power also for drop formulations, with a notable reduction in the number of viable bacteria compared to the untreated control. In both cases, the silver preparations presented a greater ability to inhibit/reduce microbial proliferation compared to the disinfectant currently used in the interest food industry.

Figure 1, Comparison between the antibacterial effect of both Argirium SUNc® formulations and the disinfectant currently used against enterobacteria present on the stainless-steel meat contact trolley.

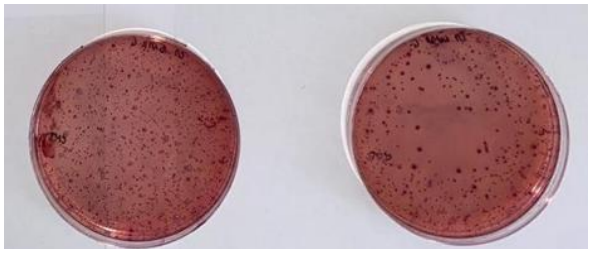
Argirium SUNc®
Contr 1 in spray formulation



Argirium SUNc®
Contr 2 in drop formulation



Contr 3 Common disinfectant



Escherichia coli

In the interest food industry, *Escherichia coli* has been isolated only on some food contact surcafes. However, where it has grown, it was seen that both Argirium SUNc® formulations

used to sanitize have been able to partially or totally eliminate it (fig. 2, fig. 3). In particular, data shown that in most cases, the spray formulation, being used at a major concentration (1mL), were more effective than the drop formulation and that the innovative biocide made from Argirium SUNc® nanoparticles had a greater inibitory power than the disinfectant currently used in the food industry.

Figure 2, Comparison between the antibacterial effect of both Argirium SUNc® formulations and the disinfectant currently used against Escherichia coli founded on the outgoing tape.

Argirium SUNc®

Contr 1 in spray formulation Contr 3 Common disinfectant

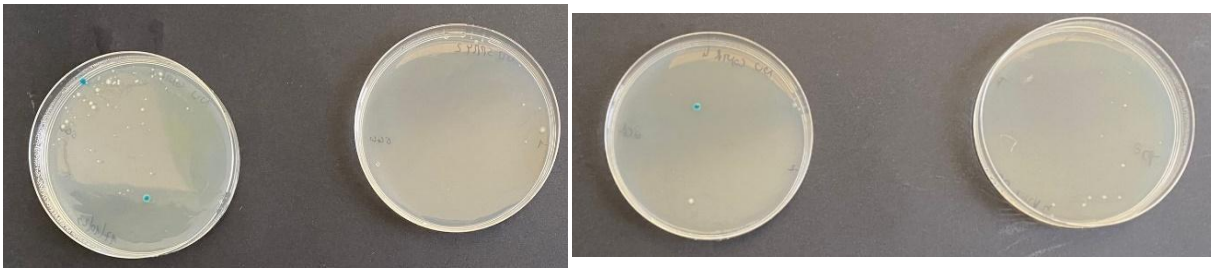
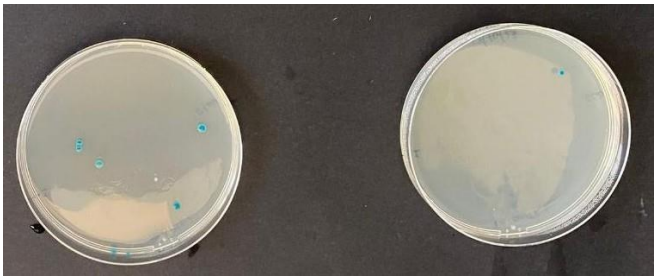


Figure 3, Biocidal power of Argirium SUNc® nanoparticles used in spray formulation against Escherichia coli colonies present on pig slaughter table.

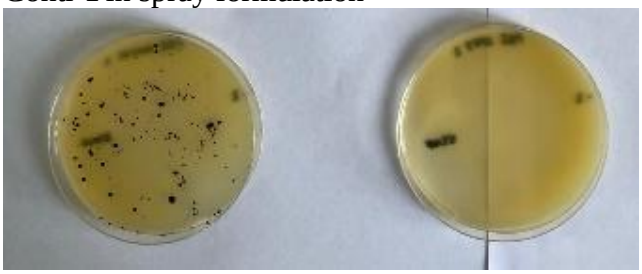


Coagulase-positive staphylococci

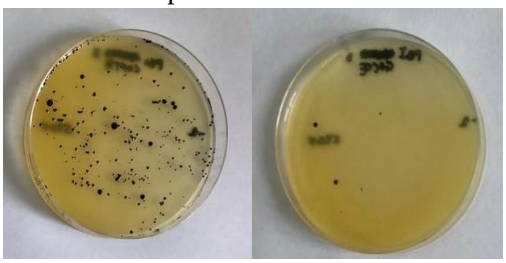
In most cases, Argirium SUNc® nanoparticles have shown their antimicrobial power also against coagulase-positive staphylococci and in particolar against *Staphylococcus aureus*, (founded on the scale plate) which is one of the bacteria responsible for food borne disease, with a total inibition of bacterial growth after applaying spray formulation as it was seen in the figure 4 (fig. 4).

Figure 4, Comparison between the antibacterial effect of both Argirium SUNc® formulations and the disinfectant currently used, against coagulase-positive staphylococci present on the scale plate.

Argirium SUNc®
Contr 1 in spray formulation

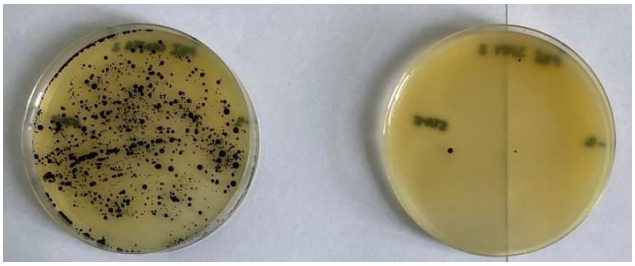


Argirium SUNc□
Contr 2 in drop formulation



Contr 3

Common disinfectant



Total bacterial count

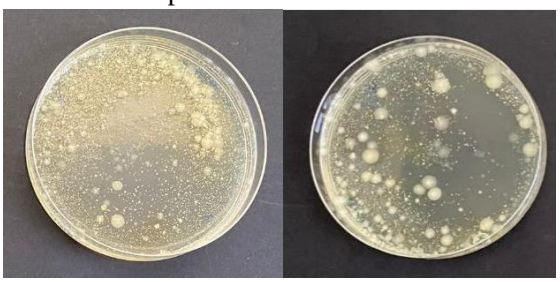
For the total bacterial count, an inhibitory power (estimated based on the reduction in the number of viable bacteria compared to the untreated control) of around 60-70% was observed for both sanitizing solutions on most analyzed food contact surfaces. An example is reported in figure 5.

Figure 5, Comparison between the antibacterial effect of both Argirium SUNc® formulations and the disinfectant most used on total bacteria count of the bone saw blade.

Argirium SUNc®
Contr 1 in spray formulation



Argirium SUNc®
Contr 2 in drop formulation



Contr 3 Common disinfectant



Yeasts and molds

Even yeasts and molds have shown their sensitivity to both Argirium SUNc® formulations used. In most cases, a notable reduction in the number of microorganisms on the agar plates and in some cases total inhibition especially for the spray formulation was observed as in figure 6 and in figure 7. It is important to underline that even in this case, the new generation disinfectants were more effective than those currently used in the company of interest.

Figure 6, Comparison between the biocide effect of Argirium SUNc® used in spray formulation and the disinfectant currently used against yeasts and molds present on the refrigerator cell's wall.

Argirium SUNc®

Contr 1 in spray formulation



Contr 3 Common disinfectant

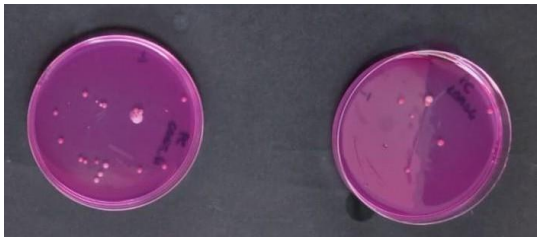


Figure 7, Comparison between the antimicrobial effectiveness of both Argirium SUNc formulations and the disinfectant most used against yeasts and molds present on the bone saw blade.

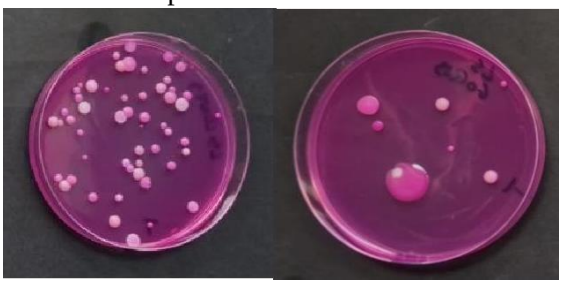
Argirium SUNc®

Contr 1 in spray formulation

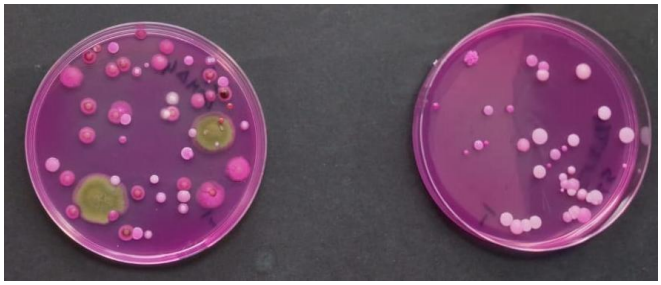


Argirium SUNc

Contr 2 in drop formulation



Contr 3 Common disinfectant



Results obtained during our in vivo study, aimed to examine Argirium SUNc® nanoparticles biocidal properties at a concentration equal and lower than 1 ppm against hygiene indicator microorganisms (coagulase-positive staphylococci, *Escherichia coli*, enterobacteria, total bacterial count, yeasts and molds) present in a meat cutting and processing company, confirmed their wide spectrum of action and their ability to inibite or reduce microbial growth at a very low concentration, already observed in other studies [Molina Hernandez, 2023, Mancusi, 2024, Orfei, 2023].

CONCLUSION

In conclusion, the spread of multidrug-resistant bacteria brought out the need to find valid and concrete alternative biocidal substances (disinfectants, antibiotics) to use in different medical and non-medical fields (livestook sector, food industries). Specifically, for the food sector the antimicrobial effectiveness of Argirium SUNc® nanoparticles, observed during the present experimentation, appears particularly promising in order to obtain new generation of biocides able to eliminate or reduce the presence of resistant pathogenic microorganisms, which make food products less safe. Infact, unlike other silver formulations, Argirium SUNc® nanoparticles have demostrated to be able acting on various microrganisms as well as on mature biofilms and to can be used at a very low concentrations (< 1ppm) [Duval, 2019; Grande, 2020; Pompilio, 2018; Molina-Hernandez, 2021], without burdening companies economically or altering foods quality. Furthemore, different pre-clinical toxicity tests, revealed that they are no toxic within a certain range (100 µg/ml in vitro, 6.8 µg/ml in vivo) [Pompilio, 2018; Pokhrel, 2022] and ten times less toxic in human cells than bacteria [Molina Hernandez, 2023]. For this reason, in a near future, this novel nanomaterial could be used as innovative principle to formulate bio-gels compatible in the medical field and preparations for environments and equipment sanitization of meat cutting and processing company, where microbial resistance to common biocides may develop more rapidly, but also in other food industries to counter the cross-resistance problem. The results obtained from this study provided important information about this new silver nanoparticles, however, so that this perspective can become a real application, more in-depth toxicity studies (not only in vitro but also “in vivo”) must be conduct to confirm their non-toxicity at the concentrations necessary for their effectiveness.

REFERENCES

1. ADEYEMI, O. S. et al. Silver nanoparticles restrict microbial growth by promoting oxidative stress and DNA damage. *EXCLI journal*, 2020, 19: 492.

2. BOCK, L.J. Bacterial biocide resistance: A new scourge of the infectious disease world? *Archives of Disease in Childhood*, 2019, 104.11: 1029-1033.
3. BORCK, B., and PEDERSEN, K. Pulsed-field gel electrophoresis types of *Campylobacter spp.* in Danish turkeys before and after slaughter. *International journal of food microbiology*, 2005, 101.1: 63-72.
4. DUVAL, R. E. et al. Limitations of recent studies dealing with the antibacterial properties of silver nanoparticles: Fact and opinion. *Nanomaterials*, 2019, 9.12: 1775.
5. GASBARRI, C. et al. Structure and properties of electrochemically synthesized silver nanoparticles in aqueous solution by high-resolution techniques. *Molecules*, 2021, 26.17: 5155.
6. GRANDE, R. et al. Antimicrobial and antibiofilm activities of new synthesized Silver Ultra-NanoClusters (SUNCs) against *Helicobacter Pylori*. *Frontiers in microbiology*, 2020, 11: 1705.
7. HORIKOSHI, S. and SERPONE, N. (ed.). *Microwaves in nanoparticle synthesis: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons, 2013.
8. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Microbiology of the Food Chain: Horizontal Method for the Enumeration of Microorganisms--Part 1: Colony Count at 30° C by the Pour Plate Technique. International Organization for Standardization, 2022.
9. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Microbiology of Food Chain: Horizontal Method for the Detection and Enumeration of Listeria Monocytogenes and of Listeria Spp.-Part 2: Enumeration Method. International Organization for Standardization, 2022.
10. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs: Horizontal Method for the Enumeration of Yeasts and Moulds-Part 2: Colony Count Technique in Products with Water Activity Less Than Or Equal to 0, 95. International Organization for Standardization, 2022.
11. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Microbiology of the Food Chain: Horizontal Method for the Enumeration of Microorganisms--Part 1: Colony Count at 30° C by the Pour Plate Technique. International Organization for Standardization, 2022.
12. KHALANDI, B. et al. A review on potential role of silver nanoparticles and possible mechanisms of their actions on bacteria. *Drug research*, 2017, 11.02: 70-76.
13. MAILLARD, J.-Y. Antimicrobial biocides in the healthcare environment: Efficacy, usage, policies, and perceived problems. *Therapeutics and clinical risk management*, 2005, 1.4: 307-320.

14. MANCUSI, A. et al. The In Vitro Antibacterial Activity of Argirium SUNc against Most Common Pathogenic and Spoilage Food Bacteria. *Antibiotics*, 2024, 13.1: 109.
15. MOLINA-HERNANDEZ, J. B. et al. The membrane depolarization and increase intracellular calcium level produced by silver nanoclusters are responsible for bacterial death. *Scientific Reports*, 2021, 11.1: 21557.
16. MOLINA HERNANDEZ, J.B. et al. Effect of membrane depolarization against *Aspergillus niger* GM31 resistant by ultra nanoclusters characterized by Ag^{2+} and Ag^{3+} oxidation state. *Scientific Reports*, 2023, 13.1: 2716.
17. ORFEI, B. et al. Silver nanoclusters with $Ag^{2+/3+}$ oxidative states are a new highly effective tool against phytopathogenic bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2023, 107.14: 4519-4531.
18. PEYRAT, M. B. et al. Phenotypes and genotypes of Campylobacter strains isolated after cleaning and disinfection in poultry slaughterhouses. *Veterinary Microbiology*, 2008, 128.3-4: 313-326.
19. POKHREL, LOK R. et al. Five nanometer size highly positive silver nanoparticles are bactericidal targeting cell wall and adherent fimbriae expression. *Scientific Reports*, 2022, 12.1: 6729.
20. POMPILIO, A. et al. Electrochemically synthesized silver nanoparticles are active against planktonic and biofilm cells of pseudomonas aeruginosa and other cystic fibrosis- associated bacterial pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1349.
21. POOLE, K. Mechanisms of bacterial biocide and antibiotic resistance. *Journal of applied microbiology*, 2002, 92.s1: 55S-64S.
22. YUAN, Y. G. et al. Effects of silver nanoparticles on multiple drug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* from mastitis-infected goats: An alternative approach for antimicrobial therapy. *International journal of molecular sciences*, 2017, 18.3: 569.

Contact address: Egidio Marica, Department of Veterinary Medicine and Animal Production, University of Naples Federico II, 80138 Naples, Italy. E-mail: marica.egidio@libero.it

ÚLOHY ODBORU BEZPEČNOSTI POTRAVÍN A VÝŽIVY NA MPRV SR VO VZŤAHU K STRATÉGII ÚRADU EFSA DO ROKU 2027

TASKS OF THE DEPARTMENT OF FOOD SAFETY AND NUTRITION AT THE MINISTRY OF AGRICULTURE AND RURAL DEVELOPMENT OF THE SLOVAK REPUBLIC IN RELATION TO THE STRATEGY OF THE EFSA UNTIL 2027

Fašiangová Katarína, Dringušová Gabriela, Lépesová Kristína

Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR, Národný kontaktný bod pre vedeckú a technickú spoluprácu s úradom EFSA, Odbor bezpečnosti potravín a výživy, Dobrovičova 12, 812 66 Bratislava; efsa.focalpoint@land.gov.sk

Abstract: The European Food Safety Authority (EFSA) represents the body responsible for scientific risk assessment and risk communication throughout the food chain in the area of EU food safety. EFSA's most important tasks include providing independent scientific advice and clear communication on existing and emerging risks. EFSA works closely with the competent authorities of the EU Member States, where National Focal Points (FP) have been established for scientific and technical cooperation with EFSA. In the Slovak Republic (SR), the national FP is established in the Department of Food Safety and Nutrition of the Ministry of Agriculture and Rural Development of the SR. The SR FP provides capacity building and cooperation between Slovak experts from research and academia. In the area of risk communication, the website, social media and e-mail are used.

Keywords: European Food Safety Authority, National Focal Point, scientific cooperation, risk communication, risk assessment.

ÚVOD

Európsky úrad pre bezpečnosť potravín (úrad EFSA) bol zriadený *Nariadením (ES) č. 178/2002 Európskeho parlamentu a Rady z 28. januára 2002, ktorým sa ustanovujú všeobecné zásady a požiadavky potravinového práva, zriaďuje Európsky úrad pre bezpečnosť potravín a stanovujú postupy v záležitostiach bezpečnosti potravín v platnom znení* (všeobecné potravinové právo EÚ) po niekoľkých vážnych krízach v oblasti bezpečnosti potravín v 90. rokoch minulého storočia. Tým vznikla oficiálna vedecká inštitúcia, ktorá poskytuje Európskej únii (EÚ), ktorá je manažérom rizika v EÚ, vedecké poradenstvo a komunikuje riziká v potravinovom reťazci. Úrad EFSA má v kompetencii vedecké hodnotenie rizika a komunikáciu o riziku v celom potravinovom reťazci na komunitárnej úrovni. Hodnotenia rizík vypracúvajú

nezávislí vedci z 10 vedeckých panelov úradu EFSA a Vedecký výbor úradu EFSA (http://www.efsa.europa.eu/en/science/scientific-committee-and-panels). Úrad EFSA komunikuje vedecké zistenia zrozumiteľnou formou verejnosti a to najmä prostredníctvom tlačových správ zverejňovaných na svojej webovej stránke, ale aj prostredníctvom svojich sociálnych sietí. Všeobecné potravinové právo EÚ, ktorým bol úrad EFSA zriadený, zaväzuje členské štáty EÚ (ČŠ EÚ) spolupracovať s úradom EFSA, preto je v každom ČŠ EÚ zriadený národný kontaktný bod (NKB ČŠ EÚ) pre vedeckú a technickú spoluprácu s úradom EFSA (tzv. Focal Point EFSA). V Slovenskej republike (SR) je národný Kontaktný bod úradu EFSA (NKB) zriadený na odbore bezpečnosti potravín a výživy (OBPaV) na Ministerstve pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR (MPRV SR).

ÚLOHY ODBORU BEZPEČNOSTI POTRAVÍN A VÝŽIVY NA MPRV SR VO VZŤAHU K STRATÉGII ÚRADU EFSA DO ROKU 2027

Stratégia úradu EFSA do roku 2027 reaguje na meniace sa prostredie, na zmenu a doplnenie všeobecného zákona o potravinách, ktorá nadobudla účinnosť ešte v roku 2021 a ktorá zvýšila povinnosti tohto zákona voči občanom EÚ. Zároveň reaguje aj na vývoj politiky v celej EÚ, na opatrenia v oblasti tzv. Green Deal, na stratégiu Farm to Fork, na chemickú stratégiu pre udržateľnosť a stratégiu v oblasti biodiverzity. Taktiež celosvetová pandémia SARS-CoV-2 prispela k vytvoreniu novej stratégie úradu EFSA.

Jedným zo strategických základov úradu EFSA je **poslanie** chrániť ľudský život a zdravie ľudí s prihliadnutím na zdravie a dobré životné podmienky zvierat, zdravie rastlín a životné prostredie. Úrad EFSA poskytuje nezávislé vedecké odporúčania tvorcom politík, v rámci spolupráce s partnermi a v otvorenom dialógu so spoločnosťou. **Víziou** úradu EFSA je zabezpečiť bezpečnosť a udržateľnosť potravinového systému prostredníctvom transparentného, nezávislého a dôveryhodného vedeckého poradenstva. Úrad EFSA sa vo svojej stratégii do roku 2027 zaväzuje dodržiavať **hodnoty**, ktorými sú *kvalita, nezávislosť, otvorenosť, zodpovednosť* a *spolupráca*, vo všetkých oblastiach svojej práce.

Cieľom úradu EFSA je slúžiť ako nestranný zdroj vedeckých odporúčaní pre manažérov rizík a komunikovať o rizikách súvisiacich s potravinovým reťazcom.

Cieľom stratégie úradu EFSA, od ktorej sa odvíjajú i národné plány NKB, je v rámci spolupráce úradu EFSA a ČŠ EÚ na vedeckom princípe minimalizovať riziká v oblasti bezpečnosti potravín a zvýšiť dôveru spotrebiteľov k potravinám na európskom trhu.

Úlohy OBPaV MPRV SR vo vzťahu k stratégii úradu EFSA do roku 2027 sú plnené prostredníctvom NKB pre vedeckú a technickú spoluprácu s úradom EFSA v SR, ktorý je

zriadený na OBPaV a ktorý prepája úrad EFSA s úradmi ostatných ČŠ EÚ, výskumnými inštitúciami a ďalšími zainteresovanými stranami.

NKB spolupracuje s úradom EFSA na základe podpísanej viacročnej grantovej dohody medzi úradom EFSA a NKB na obdobie rokov 2023 – 2027 (október 2022), v zmysle ktorej úrad EFSA finančne prispieva na činnosť NKB. Táto dohoda sa každoročne obnovuje, pričom naposledy to bolo 12. 12. 2023. Z toho vyplýva, že NKB každoročne predkladá na úrad EFSA Národný plán NKB s hlavnými aktivitami, ktoré bude vykonávať po celý nasledujúci rok. Tento sa predkladá spravidla koncom roka a vzťahuje sa na nasledujúci rok. Zároveň NKB každoročne spravidla v januári vypracováva správu zo svojej činnosti za predchádzajúci rok a predkladá ju úradu EFSA na posúdenie.

Úlohou NKB je koordinácia vedeckého hodnotenia rizika, komunikácia o riziku na národnej úrovni a výmena informácií a koordinácia spolupráce vedcov a expertov s úradom EFSA a ostatnými ČŠ EÚ. Úlohy vyplývajúce zo spolupráce s úradom EFSA sa týkajú práce výskumnej, akademickej a kontrolnej sféry rezortu pôdohospodárstva a rozvoja vidieka, ale aj zdravotníctva, životného prostredia a školstva.

Na rozdiel od ostatných ČŠ EÚ, SR nemá samostatne vytvorený úrad pre bezpečnosť potravín schopný vykonávať vedecké hodnotenie rizika v celom potravinovom reťazci, preto túto oblasť zabezpečujú externí experti. Pre tento účel bolo vytvorených 28 národných odborných vedeckých skupín (NOVS), s aktuálne viac ako 450 expertmi z výskumnej, akademickej, kontrolnej i výrobnej praxe.

Medzi úlohy OBPaV na MPRV SR vo vzťahu k stratégii úradu EFSA patrí spolupráca medzi NKB a úradom EFSA; spolupráca medzi NKB v SR a ostatnými NKB ČŠ EÚ; NKB a vedecká spolupráca na národnej úrovni; národné hodnotenie rizika a informovanosť spotrebiteľov.

SPOLUPRÁCA MEDZI NKB A ÚRADOM EFSA

Zber dát a informácií pre potreby úradu efsa

NKB v každom ČŠ EÚ zabezpečujú na národných úrovniach zber dát a vedeckých informácií na základe požiadaviek vedeckých panelov úradu EFSA. Bez týchto dát nie je možné vykonávať hodnotenie rizika.

Úrad EFSA organizuje dva typy zberu dát.

Systematický zber dát, ktorý sa uskutočňuje každoročne. V rámci systematických zberov dát z úradnej kontroly v SR vykonávanej v rezorte pôdohospodárstva a rozvoja vidieka i rezorte zdravotníctva, nominoval NKB na úrad EFSA organizácie zodpovedné za zasielanie

týchto dát a to: *o zoonózach a ich pôvodcoch zo zvierat a potravín* (dáta za oba rezorty zasiela Štátny veterinárny a potravinový ústav/ŠVPÚ), *mikrobiálnej rezistencii* (dáta za oba rezorty zasiela ŠVPÚ), *TSE/BSE* (zasiela ŠVPÚ), *rezíduách pesticídov v potravinách a krmivách* (dáta za oba rezorty zasiela ŠVPÚ), *rezíduách veterinárnych liečiv* (zasiela ŠVPÚ), *kontaminantoch a aditívnych látkach v potravinách* (dáta za oba rezorty zasiela Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum - Výskumný ústav potravinársky/NPPC - VÚP).

Účelový zber dát, ktorý je organizovaný na základe požiadaviek adresovaných na NKB ČŠ EÚ pre ohraničené časové trvanie. Slúži na získanie podkladov pre konkrétne vedecké hodnotenia rizika vykonávané vedeckými panelmi úradu EFSA. Tieto zbery sa realizujú prostredníctvom NKB v spolupráci s expertmi NOVS a úradnej kontroly.

Informácie pre odbornú verejnosť

Včasné a konzistentné poskytovanie informácií všetkým zainteresovaným stranám a širokej verejnosti sa zabezpečuje prostredníctvom komunikácie o riziku, ktorá je neoddeliteľnou súčasťou systému bezpečnosti potravín. Úlohy NKB z hľadiska komunikácie o riziku sa týkajú akademickej a výskumnej obce, ale rovnako tak aj rezortu pôdohospodárstva a rozvoja vidieka, zdravotníctva a životného prostredia. Povinnosť zabezpečiť informovanosť vedeckej a odbornej sféry o všetkých aktivitách úradu EFSA vyplýva pre NKB z podpísanej grantovej dohody a je kontrolovaná zo strany úradu EFSA.

Vytvorením NOVS sa zabezpečila lepšia informovanosť širšej odbornej verejnosti a to prostredníctvom e-mailového zasielania vedeckých správ, informácií o odborných podujatiach a iných užitočných informácií vydanými úradom EFSA. Členovia NOVS dostávajú dostupné informácie z úradu EFSA, podieľajú sa na navrhovaní a hodnotení rizika na národnej úrovni, sú vysielaní na vedecké zasadnutia a rokovania organizované úradom EFSA alebo inými ČŠ EÚ, sú nominovaní do vedeckých sietí úradu EFSA a pracovných skupín úradu EFSA, zúčastňujú sa aj školení úradu EFSA o hodnotení rizika. NKB tiež informuje NOVS o výzvach zverejnených v rámci Vedeckej platformy EFSA, ktorá poskytuje na jednom mieste informácie o projektoch, výzvach na riešenie grantov a tendrov úradu EFSA, propaguje tvorbu konzorcií a pomáha vedcom hľadať možnosti pre získavanie verejných finančných prostriedkov na riešenie projektov. Kým tendre sú otvorené pre všetky vedecké organizácie, o granty sa môžu uchádzať iba organizácie nominované podľa čl. 36 nariadenia (ES) č. 178/2002.

Kampane úradu EFSA

Na zvýšenie informovanosti a povedomia občanov EÚ a odbornej verejnosti spúšťa úrad EFSA každoročne niekoľko kampaní o bezpečnosti celého potravinového reťazca, nielen

v rámci zdravia ľudí, ale aj skrz životné prostredie, zdravie a dobré životné podmienky zvierat a zdravie rastlín.

NKB sa v roku **2023** zapojilo do 3 kampani úradu EFSA.

Kampaň **„EÚ si vyberá bezpečné potraviny“** (EU Choose Safe Food) bola v roku 2023 tretím ročníkom. NKB sa tak zaradil medzi 16 ČŠ EÚ, ktoré na kampani spolupracovali s úradom EFSA. Cieľom kampane v roku 2023 bolo pripomínať verejnosti, že pri výbere potravín na prípravu jedál je dôležité myslieť aj na čerstvosť potravín a na potraviny bez alergénov a zároveň podporiť občanov, aby pri každodennom výbere potravín kriticky uvažovali. Kampaň tiež poskytovala praktické a ľahko prístupné informácie o bezpečnosti potravín. V roku 2023 sa kampaň zamerala aj na tipy, ktoré majú spotrebitelia dodržiavať pre zabezpečenie správnej hygieny potravín v domácnosti, ale aj to ako napríklad znížiť plytvanie potravinami. Kampaň poskytovala aj informácie o tom, aké kroky EÚ podniká v boji proti chorobám z potravín. Kampaň bola zameraná na laickú verejnosť, na európskych občanov najmä vo veku od 25 do 45 rokov so zameraním na mladých rodičov a ľudí zaujímajúcich sa o bezpečnosť potravín a o vedu.

Na tejto kampani NKB spolupracoval s PR agentúrou delegovanou úradom EFSA. Do kampane sa NKB zapojil aktívne a to kontrolou komunikačného balíka poskytnutého úradom EFSA v slovenskom jazyku, revíziou tlačových správ ku kampani, zverejnením tlačovej správy a informácií na webovej stránke MPRV SR v sekcii NKB a na sociálnych sieťach NKB a revíziou článkov k téme kampane zverejnených v rôznych médiách.

NKB sa podieľal aj na edukatívnom podujatí pre slovenskú verejnosť a média, ktoré zorganizovala PR agentúra a z ktorého vzišlo 31 mediálnych výstupov a rozhovorov vo verejnoprávnych a súkromných elektronických médiách a článkov a rozhovorov v digitálnych a printových médiách. Na podujatí boli preberané okrem témy bezpečnosti potravín, aj témy správnej recyklácie a nakladania s odpadom.

NKB sa v rámci kampane zapojil aj do aktivity úradu EFSA k Svetovému dňu bezpečnosti potravín (7.jún) a to vytvorením spoločného videa s úradom EFSA a ostatnými NKB ČŠ EÚ, ktoré bolo pri tejto príležitosti zverejnené na sociálnych sieťach úradu EFSA a zapojených NKB ČŠ EÚ.

Kampaňové materiály sú voľne dostupné na stiahnutie v rôznych jazykoch na webovej stránke kampane.

V roku 2024 bude táto kampaň pokračovať pod novým názvom „EU Safe 2 Eat“ a NKB sa do nej opäť aktívne zapojí.

Kampaň **„Zastavme Africký mor ošípaných“** (Stop African swine fever) je celoeurópskou kampaňou úradu EFSA na podporu boja proti africkému moru ošípaných

(AMO). Cieľom kampane bolo zvyšovať povedomie chovateľov ošípaných, poľovníkov a veterinárov o tejto vysoko nákazlivej chorobe, ktorá je pre človeka neškodná, no pre ošípané a diviaky smrteľná. Odborníci poukazujú na dôležitosť prevencie, detekcie a nahlasovania podozrivých prípadov. Úrad EFSA v spolupráci s relevantnými úradmi a organizáciami poskytuje zainteresovaným stranám informačné materiály, ktoré budú môcť využiť pri zvyšovaní povedomia o AMO.

NKB sa do tejto kampane v roku 2023 zapojil aktívne po tretí krát a to kontrolou komunikačného balíka poskytnutého úradom EFSA v slovenskom jazyku, zverejnením tlačovej správy a informácie o kampani na webovej stránke MPRV SR v sekcii NKB a na sociálnych sieťach NKB. Na revíziách NKB spolupracoval s odborom živočíšnej výroby MPRV SR.

Ďalšie informácie o kampani a kampaňové materiály sú dostupné na webovej stránke kampane.

Prvým ročníkom mini-kampane **„Hazard vs. Risk“**, do ktorej sa zapojil aj NKB, chcel úrad EFSA priblížiť a zdôrazniť rozdiel medzi nebezpečenstvom (hazard) a rizikom (risk) v zmysle hesla „Poznaj nebezpečenstvo, zníž riziko!“. Úrad EFSA pripravil pre ČŠ EÚ na výber niekoľko oblastí, ktorými chcel túto kampaň propagovať (napr. *nebezpečenstvo konzumácie pokazených potravín, jedovatých húb, nebezpečenstvo lavíny, korčuľovania na zamrznutom jazere, či opaľovania sa* a pod.). NKB sa do kampane zapojil prostredníctvom témy zameranej na hubársku sezónu, podieľal sa na revízii a kontrole kampaňového videa, zverejňoval informácie o kampani na webovej stránke MPRV SR v sekcii NKB a na sociálnych sieťach NKB.

Viac informácií a videá ku kampani sú dostupné na webovej stránke úradu EFSA.

V roku 2023 prebiehal aj prvý ročník kampane **„Plant Health 4 Life“**, zameranej na zdravie rastlín. NKB sa v tom roku do kampane zapojil len pasívne a to distribúciou informácií o prebiehajúcej kampani. Do druhého ročníka kampane v roku 2024 sa NKB zapojí aktívne. V rámci tejto kampane bude NKB spolupracovať s odborom rastlinnej výroby MPRV SR.

SPOLUPRÁCA MEDZI NKB V SR A OSTATNÝMI NKB ČŠ EÚ

NKB spolupracuje s ostatnými NKB ČŠ EÚ a to prostredníctvom špecifických požiadaviek na výmenu informácií. NKB, pri zabezpečovaní odpovedí na tieto požiadavky, úzko spolupracuje s expertmi a členmi NOVS z rôznych oblastí ich pôsobnosti.

V rámci tejto spolupráce NKB úzko spolupracuje s *Koordinačním místem pro vědeckou a technickou spolupráci s EFSA České republiky* (KM EFSA v ČR) na základe podpísaného Memoranda o spolupráci pri hodnotení rizika a komunikácií o riziku v rámci bezpečnosti

potravinového reťazca medzi NKB a KM EFSA v ČR. Táto spolupráca sa realizuje prostredníctvom vzájomnej výmeny informácií a organizovania spoločných akcií.

NKB A VEDECKÁ SPOLUPRÁCA NA NÁRODNEJ ÚROVNI

Organizácia vedeckých a odborných podujatí

Organizovanie vedeckých odborných podujatí je ďalšou z povinností NKB vyplývajúcou z grantového zadania úradu EFSA. Vedecké odborné podujatia slúžia ako miesto na prezentovanie najnovších vedeckých poznatkov v danej oblasti, ale poskytujú aj priestor na vytváranie kontaktov a spolupráce medzi účastníkmi.

NKB tieto vedecké akcie organizované v SR propaguje prostredníctvom úradu EFSA a siete ostatných NKB ČŠ EÚ, ale tiež prostredníctvom webovej stránky MPRV SR v rámci sekcie NKB a sociálnych sietí NKB. NKB na niektoré z týchto podujatí zabezpečuje účasť a prednášky expertov z úradu EFSA a iných zahraničných vedeckých pracovísk.

NKB pravidelne organizuje konferencie *Zoonózy, Alimentárne nákazy a nákazy z vody* a *Mladí vedci – bezpečnosť potravinového reťazca*. NKB zároveň pravidelne spoluorganizuje medzinárodné vedecké konferencie *Bezpečnosť a kontrola potravín* a *Hygiena Alimentorum*.

Publikačná činnosť

NKB v spolupráci s vedeckou komunitou a manažérmi rizika publikuje informačné letáky a odborné publikácie na špecifické témy z oblasti bezpečnosti potravín.

NKB každoročne vydáva pre odborníkov odbornú publikáciu *Správa o zoonózach, alimentárnych nákazách a nákazách z vody* s prideleným ISBN číslom. Publikácia vzniká za spolupráce desiatok expertov z vedeckej, akademickej a štátnej sféry. Pojednáva o agens významných pre SR s ohľadom na situáciu v EÚ a poskytuje prehľad trendov daných ochorení v SR za predchádzajúce roky. Súhrny týchto správ je možné nájsť na webovej stránke MPRV SR v sekcii OBPaV.

Okrem toho NKB pripravuje v spolupráci s expertmi z vedeckej, akademickej či štátnej sféry informačné letáky určené pre širšiu verejnosť (napr. o významných zoonózach – kampylobakterióza, salmonelóza; o procesných kontaminantoch v potravinách – akrylamid a pod.). Všetky informačné letáky sú voľne dostupné na stiahnutie na webovej stránke MPRV SR v sekcii OBPaV.

Koordinácia národných expertov nominovaných do sietí úradu EFSA

Úrad EFSA vytvoril vedecké siete, ktoré majú slúžiť na zvýšenie vedeckého potenciálu komunitárneho hodnotenia rizika, ako aj na účinnejšie zapojenie sa národných expertov do tejto

činnosti. SR v súčasnosti zastupuje 38 expertov v 25 vedeckých sieťach úradu EFSA. Spolupráca s expertmi sa realizuje v súlade s príručkou, ktorú spracoval úrad EFSA. NKB túto príručku implementoval a stala sa vzorom pre spracovanie národných príručiek ostatných NKB ČŠ EÚ. NKB zabezpečuje pre expertov zo SR nominovaných do sietí úradu EFSA a ktorí sa zúčastňujú zasadnutí jednotlivých sietí úradu EFSA, potrebné dáta a informácie, ktoré nie je možné získať v rámci ich vlastných organizácií.

Spolupráca s organizáciami nominovanými podľa čl. 36

NKB spolupracuje na národnej úrovni aj s 8 organizáciami nominovanými podľa čl. 36 nariadenia (ES) č. 178/2002, ktoré reprezentujú SR a ktoré sa môžu zapájať do riešenia grantov úradu EFSA.

Týmito organizáciami sú v SR *Úrad verejného zdravotníctva SR* (ÚVZ SR), *Ústredný kontrolný a skúšobný ústav poľnohospodársky v Bratislave* (ÚKSÚP), *Štátny veterinárny a potravinový ústav* (ŠVPÚ), *Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach* (UVLF KE), *Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre* (SPU), *Parazitologický ústav Slovenskej akadémie vied* (PaÚ SAV), *Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR* (MPRV SR) a *Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum* (NPPC).

NÁRODNÉ HODNOTENIE RIZIKA

Napriek tomu, že úrad EFSA zabezpečuje vedecké hodnotenie rizika na komunitárnej úrovni, je každý ČŠ EÚ povinný, v súlade so všeobecným potravinovým právom EÚ, realizovať národné hodnotenia rizika. NKB pripravuje mandáty a koordinuje vypracovanie národných vedeckých hodnotení rizika, ktoré spracovávajú externí experti. NKB tiež zabezpečuje pre riešiteľov dáta z rôznych organizácií, či už z rezortu pôdohospodárstva a rozvoja vidieka, zdravotníctva alebo iných vedeckých inštitúcií.

Hodnotenia rizika realizované v rámci SR sú zverejňované na webovej stránke MPRV SR v sekcii OBPaV, pričom o tieto hodnotenia je záujem u vedeckej a odbornej verejnosti. Od roku 2007 bolo vypracovaných 80 národných vedeckých hodnotení rizika.

Prostredníctvom úradu EFSA sú hodnotenia rizika sprístupnené aj pre expertov v iných ČŠ EÚ a to online prostredníctvom Knowledge Junction, v rámci zdieľanej online platformy Zenodo. Obsah úložiska Knowledge Junction môžu využívať vedecké panely úradu EFSA, pracovné skupiny úradu EFSA aj všetky zainteresované strany pri prácach na hodnotení rizika.

INFORMOVANOSŤ SPOTREBITEĽOV

Ďalšou úlohou NKB je pravidelne poskytovať informácie odbornej a laickej verejnosti a to prostredníctvom svojej sekcie na webovej stránke MPRV SR a tiež prostredníctvom svojich sociálnych sietí.

NKB zverejňuje na webovej stránke MPRV SR v sekcii NKB tlačové správy úradu EFSA v slovenskom jazyku, pracovné ponuky, stáže a štipendiá, informácie o kampaniach, ale aj informácie o nadchádzajúcich odborných konferenciách či seminároch, informácie o špecifických témach ako napr. informácie o regulovaných produktoch (tieto slúžia ako administratívna pomoc žiadateľom o autorizáciu regulovaných produktov na trhu EÚ) a informácie o alternatívnych metódach testovania. NKB tiež každoročne zverejňuje na webovej stránke MPRV SR v sekcii NKB Správu o činnosti NKB.

NKB má na zvýšenie informovanosti spotrebiteľov zriadený profil aj na sociálnych sieťach Facebook (od roku 2013) a Instagram (od roku 2019), kde sú zverejňované krátke informačné správy týkajúce sa bezpečnosti celého potravinového reťazca, ako napríklad informácie o tlačových správach úradu EFSA, informácie o nadchádzajúcich konferenciách z oblasti bezpečnosti potravinového reťazca, či informácie o školeniach a grantoch.

ZÁVER

NKB, a tým aj SR, plní úlohy vyplývajúce zo všeobecného potravinového práva EÚ vďaka úzkej spolupráci s expertmi z rôznych vedeckých a kontrolných inštitúcií. NKB uvíta spoluprácu s každým expertom, ktorý prejaví o túto spoluprácu záujem prostredníctvom mailovej adresy NKB efsa.focalpoint@land.gov.sk.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Nariadenie (ES) č. 178/2002 Európskeho parlamentu a Rady z 28. januára 2002, ktorým sa ustanovujú všeobecné zásady a požiadavky potravinového práva, zriaďuje Európsky úrad pre bezpečnosť potravín a stanovujú postupy v záležitostiach bezpečnosti potravín v platnom znení (všeobecné potravinové právo EÚ). Dostupné na: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SK/TXT/PDF/?uri=CELEX:32002R0178&from=SK
2. EFSA Strategy 2027 – Science, Safe Food, Sustainability. Dostupné na: https://www.efsa.europa.eu/en/corporate-pubs/efsa-strategy-2027-science-safe-food-sustainability
3. Vedecký výbor EFSA a zoznam 10 vedeckých panelov EFSA. Dostupné na: https://www.efsa.europa.eu/en/science/scientific-committee-and-panels

4. Súhrnné správy o zoonózach, alimentárnych nákazách a nákazách z vody.
   Dostupné na: https://www.mpsr.sk/?navID=47&sID=111&navID2=506
5. Otvorené úložisko Knowledge Junction.
   Dostupné na: https://zenodo.org/communities/efsa-kj/?page=1&size=20
6. Online platforma Zenodo. Dostupné na: https://zenodo.org/
7. Vedecká platforma EFSA.
   Dostupné na: https://www.efsa.europa.eu/en/engage/research-platform
8. Správy o činnosti NKB.
   Dostupné na: https://www.mpsr.sk/nkb-efsa/spravy-o-cinnosti-nkb-efsa/47-111-748
9. Informačné letáky NKB.
   Dostupné na: https://www.mpsr.sk/potravinarstvo-a-obchod/letaky/47-111-1422
10. Hodnotenia rizika v SR.
    Dostupné na: https://www.mpsr.sk/nkb-efsa/hodnotenie-rizika/47-111-525
11. Informácie o regulovaných produktoch.
    Dostupné na: https://www.mpsr.sk/nkb-efsa/regulovane-produkty/47-111-1388
12. Informácie o alternatívnych metódach testovania.
    Dostupné na: informácie o alternatívnych metódach testovania
13. Informácie o kampaniach úradu EFSA. Dostupné na:
    https://www.mpsr.sk/potravinarstvo-a-obchod/kampane-efsa/47-111-1499
14. Národný kontaktný bod EFSA v SR - webová stránka MPRV SR v sekcii OBPaV.
    Dostupné na: https://www.mpsr.sk/nkb-efsa/47-111-494
15. Národný kontaktný bod EFSA v SR – sociálne siete. Dostupné na:
    https://www.facebook.com/NKBEFSASR; https://www.instagram.com/nkb.efsa/

Kontaktná adresa: Fašiangová Katarína, Dringušová Gabriela, Lépesová Kristína, Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR, Odbor bezpečnosti potravín a výživy, Dobrovičova 12, 812 66 Bratislava; efsa.focalpoint@land.gov.sk

ZDRAVOTNÉ A ENVIRONMENTÁLNE FAKTORY SPOTREBY MÄSA

HEALTH AND ENVIRONMENTAL FACTORS OF MEAT CONSUMPTION

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

[1] *Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, SPU v Nitre*

[2] *VC Agrobiotech SPU v Nitre*

ABSTRACT

Current knowledge shows a connection between increased consumption of red meat and meat products and the risks of developing several chronic non-infectious diseases, including DM type 2, CVD and oncological diseases. At the same time, the connection between meat consumption and the impact on the environment is obvious. Meat production is responsible for part of the greenhouse gas emissions, significant drinking water consumption, drinking water pollution, land degradation, deforestation, loss of biodiversity and occupies a large part of agricultural land. Psychosocial aspects of the meat industry and the possibilities of future meat production are also coming to the fore. A more sustainable eating model, types of vegetarian diets, including one of the healthiest eating styles – the flexitarian diet, and the future production of test-tube meat are also preferred as a hope for the ever-increasing meat consumption. However, meat consumption continues to play an irreplaceable role in human nutrition.

Keywords: meat, health, consumption, environmental factors

ÚVOD

Mäso bolo vždy dôležitou súčasťou stravy po celú dobu vývoja človeka z dôvodu obsahu širokej škály cenných živín, ktoré by sme najmä v skoršej dobe ťažko získavali z rastlinnej stravy. V jedálničku má pomerne dôležitú úlohu na udržanie zdravej a vyváženej stravy. Boli publikované epidemiologické štúdie poukazujúc na možnú súvislosť medzi konzumáciou mäsa a zvýšeným rizikom kardiovaskulárnych ochorení, vznikom nádorových ochorení a metabolických porúch. Mäso je pre veľkú časť populácie dôležitým zdrojom bielkovín, tukov a mikronutrientov. V rozvojových krajinách sa dokonca jedná o nezastupiteľnú časť jedálnička. Konzumácia mäsa zabraňuje podvýžive a zlepšuje kognitívny vývoj detí. Populačný rast ovplyvňuje vyššiu spotrebu mäsa, mlieka či iných živočíšnych produktov. Dopyt a spotreba mäsa rastie aj v rozvojových krajín v dôsledku hospodárskeho rozvoja. V bohatých krajinách

však dochádza často k nadmernej konzumácii červeného a spracovaného mäsa, čo môže mať negatívny vplyv na zdravie jedinca aj spoločnosti.

Diabetes mellitus 2. typu

Počet pacientov s *diabetes mellitus* 2. typu (DM 2. typu) má stále rastúci trend. Ide o chorobu získanú, kde veľkú úlohu zohráva životný štýl. Pribúdajú dôkazy súvisiace s vyššou spotrebou červeného a najmä spracovaného mäsa a zvýšeným rizikom DM 2. typu (Salter, 2018; Wolk, 2017; Schwingshackl, et al., 2017). Zároveň nedávny systematický prehľad (na základe malého počtu štúdií) preukázal, že vysoká konzumácia červeného a spracovaného mäsa je spájaná so zvýšeným rizikom gestačného diabetu. Nie je však úplne jasné, ktoré zložky červeného mäsa k riziku prispievajú. Bolo navrhnutých niekoľko zložiek, ktoré by mohli čiastočne vysvetliť pozorovanú pozitívnu súvislosť (Wolk, 2017). Ide o: aminokyseliny BCAA, nasýtené mastné kyseliny, konečné produkty pokročilej glykácie, hemové železo, dusitany, nitráty a nitrozamíny, fosfatidylcholín a L-karnitín (Salter, 2018; Wolk, 2017). Podrobnejšie problematiku rozpísal Kim, Keogh a Clifton, (2015).

Aminokyseliny s rozvetveným reťazcom (BCAA), teda leucín, izoleucín a valín, sú pozitívne spájané s inzulínovou rezistenciou a s hladinou glykovaného hemoglobínu. Zvýšené plazmatické hladiny BCAA boli spájané s vývojom DM 2. typu (Wolk, 2017).

Nasýtené mastné kyseliny a cholesterol, ktoré sú prítomné nielen v červenom a spracovanom mäse zvyšujú inzulínovú rezistenciu (Wolk, 2017).

Konečné produkty pokročilej glykácie vznikajú pri tepelnej úprave červeného a spracovaného mäsa. Výsledky štúdií na ľuďoch ukazujú, že produkty pokročilej glykácie môžu byť spájané s rozvojom DM 2. typu. Ďalej bolo preukázané, že konečné produkty pokročilej glykácie môžu zvyšovať produkciu C-reaktívneho proteínu (CRP) (Wolk, 2017).

Zdrojom hemového železa je práve červené mäso a jeho zvýšená koncentrácia môže byť dôvodom vyššieho rizika DM 2. typu. Železo, ako prooxidant, sa podieľa na tvorbe reaktívnej formy kyslíka (ROS) a môže zvyšovať bunkový stres. ROS ďalej môže poškodiť beta bunky pankreasu. Ďalšie mechanizmy opísal (Wolk, 2017).

Najmä spracované mäso obsahuje dusičnany a dusitany, ktoré sa používajú na konzerváciu. Dusičnany a dusitany sa premieňajú na nitrozamíny, ktoré môžu byť podľa štúdie na zvieratách toxické pre beta bunky pankreasu, znižujú sekréciu inzulínu a zvyšujú riziko DM 2. typu. Naopak, nitrozamíny poškodzujú DNA a prispievajú k tvorbe ROS, čo môže viesť k aktivácii prozápalových cytokínov (Wolk, 2017). Spracované mäso je tiež zdrojom sodíka, ktorý môže zvyšovať riziko DM 2. typu, dokonca aj viac ako nasýtené mastné kyseliny, cholesterol, hemové železo, dusitany či dusičnany (Wolk, 2017).

Kardiovaskulárne ochorenie

Kardiovaskulárne ochorenia (KVO) sú najčastejšou príčinou chorobnosti a úmrtnosti vo svete. Hlavnou príčinou je ateroskleróza, teda chronický zápalový stav. Opäť veľkú úlohu v rozvoji ochorenia zohráva životný štýl (Nitsa, et al., 2018). Riziko ochorenia je ovplyvnené stravou a význam živočíšnej stravy je niekedy nejasný. Štúdie naznačujú, že príjem spracovaného a červeného mäsa môže mať vplyv na kardiovaskulárne ochorenia. Konzumácia tučných morských rýb by však toto riziko mohla značne znížiť, pretože sú zdrojom omega-3 mastných kyselín, ktoré majú protizápalový efekt (Key, et al., 2019).

Cievna mozgová príhoda

Výsledky štúdií naznačujú, že konzumácia nespracovaného aj spracovaného červeného mäsa môže byť riziková pre cievne mozgové príhody (CMP). Konzumácia nespracovaného mäsa bola pozitívne spojená so zvýšeným rizikom CMP, čo bolo preukázané pri konzumácii 100-120 g za deň. Konzumácia spracovaného mäsa bola taktiež spojená s rizikom CMP, pri príjme 50 g za deň. Výsledky prospektívnej štúdie ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities štúdie) naznačujú, že konzumácia jednej porcie nespracovaného a spracovaného mäsa denne je spájaná so 41 % vyšším rizikom CMP. Mechanizmy vzniku môžu byť rovnaké ako pri vzniku DM 2. typu (Micha, Wallace a Mozaffarian, 2010; Wolk, 2017).

Ischemická choroba srdca

Vysoká konzumácia červeného mäsa spracovaného aj nespracovaného môže tiež zvyšovať riziko vzniku ischemickej choroby srdca (ICHS) (Key, et al., 2019). Príjem 50 g spracovaného mäsa za deň bolo podľa metaanalýzy spojené s navýšením rizika ochorenia o 42 %. V ďalšej analýze prospektívnych štúdií bolo toto riziko zvýšené dokonca o 44 % (Wolk, 2017).

Srdcové zlyhanie

Dôkazy súvisiace s rizikom srdcového zlyhania v závislosti od konzumácie červeného (a spracovaného) mäsa sú obmedzené len na 4 prospektívne kohortové štúdie. Všetky tieto štúdie však naznačujú, že s vysokou konzumáciou spracovaného mäsa môže rásť riziko srdcového zlyhania. Výsledky štúdií zhrnul (Wolk, 2017).

Kolorektálny karcinóm

Incidencia kolorektálneho karcinómu (CRC) je na vzostupe. Jednou z príčin je aj predlžovanie strednej dĺžky života, kedy vek je neovplyvniteľným rizikovým faktorom. Ďalším rizikovým faktorom je zmena životného štýlu a stravovacích návykov. Dnešná populácia má nedostatok

fyzickej aktivity, žije v hektickej dobe plnej stresu, potraviny sú nevhodne tepelne upravené, rastie konzumácia ultraspracovaných potravín a červeného mäsa. Naopak znížený je príjem zeleniny a ovocia. Spomínaný životný štýl u veľkej časti populácie viedol k rozvoju civilizačných chorôb, medzi ktoré môžeme zaradiť aj CRC. Zásadnú úlohu v etiopatogenéze CRC zohráva výživa, a to až u 70 % diagnostikovaných ochorení (Schneiderová a Bencko, 2015). Mechanizmus vzniku CRC v súvislosti s konzumáciou červeného a spracovaného mäsa nie sú doteraz úplne vyjasnené. Avšak Svetový fond pre výskum rakoviny a Americký inštitút pre výskum rakoviny v roku 2007 zhrnul všetky dostupné štúdie o nádorových ochoreniach. Potvrdila sa pozitívna súvislosť medzi konzumáciou červeného a spracovaného mäsa a karcinómu hrubého čreva a konečníka. Niektoré zložky červeného a spracovaného mäsa môžu teda konzumenta predurčovať na vznik karcinómu hrubého čreva a konečníka (Salter, 2018; Schneiderová a Bencko, 2015; Wolk, 2017). Štúdie poukazujú na účasť endogénnych nitrozlúčenín, ako sú napr. nitrózamíny, nitrózoguanidy či nitrózamidy. Vznik nitrozlúčenín je stimulovaný nadmerným prísunom hemu, ktorý je obsiahnutý v mäsových produktoch a červenom mäse. Vnútro zlúčeniny potom pôsobia ako alkylačné činidlá. Alkylácia O6 – pozícia guanínu by mohla byť hlavným mechanizmom mutagénneho účinku (Schneiderová a Bencko, 2015).

Ďalším možným mechanizmom súvisiacim s konzumáciou mäsa je príjem heterocyklických amínov a polycyklických aromatických uhľovodíkov (Schneiderová a Bencko, 2015; Wolk 2017).

Naopak protektívnym faktorom proti CRC je pravidelná fyzická aktivita, príjem omega-3 mastných kyselín z rybieho mäsa a rybieho tuku, konzumácia zeleniny v surovej podobe, príjem vlákniny a príprava pokrmov vhodnou formou (Schneiderová a Bencko, 2015).

Karcinóm prsníka

Karcinóm prsníka je najčastejším nádorovým ochorením u žien. Veľkú úlohu v rozvoji ochorenia zohráva životný štýl ženy. Predpokladá sa, že červené (a spracované) mäso má dôležitú úlohu ako rizikový faktor pre vznik niekoľkých nádorových ochorení. Ako už bolo spomenuté, je zdrojom živočíšneho tuku, hemového železa a chemických karcinogénov hromadiacich sa pri tepelnej úprave (Farvid, et al., 2018). Nedávno vykonaná metaanalýza 14 štúdií poskytla dôkaz, že konzumácia červeného a najmä spracovaného mäsa je spájaná s vyšším rizikom karcinómu prsníka (Guo, Wei a Zhan 2015). K rovnakému názoru došiel Farvid, et al., (2021). Anderson, et al., (2018) naopak uvádzajú, že riziko karcinómu prsníka zvyšuje iba spracované mäso.

Úmrtnosť

V posledných rokoch pribúdajú dôkazy poukazujúce na pozitívny vzťah medzi konzumáciou červeného (najmä spracovaného) mäsa a predčasným úmrtím (Wang, et al., 2016). Konzumácia spracovaného mäsa bola štatisticky významne spojená so zvýšeným rizikom úmrtia zo všetkých príčin. Tieto výsledky poskytlo deväť metaanalýz, pričom päť bolo vykonaných v USA, tri v Európe a jedna v Číne. Vysoká spotreba nespracovaného červeného mäsa nebola významne spojená so zvýšenou úmrtnosťou zo všetkých príčin. U týchto výsledkov bola nedávno zistená heterogenita. V USA potvrdili pozitívny vzťah medzi navýšením porcie nespracovaného červeného mäsa a vzrastom úmrtí zo všetkých príčin (Wolk, 2017). Zaujímavý môže byť výsledok z prvej metaanalýzy kohortových štúdií, kde bola v západných krajinách nižšia úmrtnosť o 16-18 % u príležitostných konzumentov mäsa, vegetariánov a konzumentov rýb. Vegáni a konzumenti mäsa mali úmrtnosť najvyššiu (Key, et al., 1999).

Konzumácia červeného a spracovaného mäsa bola pozitívne spojená s úmrtnosťou na KVO. Avšak vzťah medzi konzumáciou červeného a spracovaného mäsa a úmrtnosť na ischemickú chorobu srdca bol negatívny. Odhady boli založené iba na malom počte úmrtí. V metaanalýze príjmu spracovaného mäsa v závislosti na dávke bolo každé zvýšenie o 50 g mäsa na deň spojené so zvýšením rizika úmrtia na nádorové ochorenie o 8 % (Wolk, 2017).

Vplyv spotreby mäsa na životné prostredie

Celosvetovo rastie populácia a s ňou aj produkcia a spotreba mäsa. Globálna priemerná spotreba mäsa sa za posledných 50 rokov značne zvýšila, a to nielen vďaka populačnému rastu, ale aj rastu priemerného platu. Ďalšou hnacou silou zvýšenej konzumácie mäsa je jeho cena, ktorá je historicky najnižšia k pomeru príjmu. Rastie spotreba najmä kuracieho a bravčového mäsa a mäsových výrobkov.

Konzumácia mäsa jednak ovplyvňuje ľudské zdravie, ale najmä životné prostredie. Mäsová produkcia je jedným z najvýznamnejších faktorov, ktorým ľudstvo ovplyvňuje životné prostredie: rúbajú sa lesy pre pastviny a poľnohospodársku pôdu, znečisťuje sa ovzdušie, pôda a pitná voda, rastie spotreba pitnej vody (Bonnet, et al., 2020; Godfray, et al., 2018).

Na svete žije takmer 8 miliárd ľudí a toto číslo s najväčšou pravdepodobnosťou porastie. Najväčšia spotreba mäsa je v krajinách so strednými a vysokými príjmami. Ak spotreba mäsa stále porastie, môžu byť dopady na životné prostredie zásadné. Súčasné dôkazy naznačujú, že zvýšená konzumácia červeného a spracovaného mäsa bude mať nepriaznivý vplyv na verejné zdravie (Godfray, et al., 2018).

Celosvetová spotreba mäsa, spotreba mäsa v Českej republike

Globálna priemerná spotreba mäsa sa za posledných 50 rokov strojnásobila. Miera rastu v jednotlivých regiónoch je odlišná. V krajinách s vyššími príjmami je konštantná a niekedy aj nižšia, ale v krajinách so strednými príjmami spotreba mäsa značne rastie. Krajiny s nižšími príjmami majú spotrebu mäsa konštantnú (Godfray, et al., 2018; Wang, et al., 2016). Priemerná celosvetová spotreba mäsa na osobu za deň je približne 122 g, celková spotreba je nad 40 kg. Tretinu skonzumovaného mäsa je v podobe bravčového a kuracieho, jedna pätina potom v podobe hovädzieho a zvyšnú časť zahŕňa mäso z kôz, oviec a pod. Štúdie však naznačujú, že s rastúcimi príjmami bude spotreba mäsa do roku 2050 o 100 % vyššia. Dopyt po mäse teda výrazne rastie (Godfray, et al., 2018).

Ovzdušie

Produkcia mäsa má významný vplyv na znečisťovanie ovzdušia. Dochádza k emisiám oxidu uhličitého, oxidu dusného a zároveň mäsová produkcia je najvýznamnejším zdrojom metánu (Godfray, et al., 2018). Živočíšna výroba je zodpovedná za 15-20 % všetkých antropogénnych emisií (Bonnet, et al., 2020; Godfray, et al., 2018; Salter, 2018). Produkcia skleníkových plynov je priama a nepriama. Priama produkcia skleníkových plynov je spôsobená produkciou metánu, nepriama je spôsobená odlesňovaním (Salter, 2018). Skleníkové plyny prispievajú k zmene klímy a pochádzajú z mnohých zdrojov. Až za 30 % emisií je zodpovedný potravinársky priemysel a z veľkej časti živočíšna výroba. Avšak tieto emisie nie sú nijako regulované (Bonnet, et al., 2020, Willett, et al., 2019).

Významným zdrojom emisií je produkcia sóje, krmiva pre zvieratá, po ktorej je dopyt najvyšší. 1 kg sóje môže vyprodukovať až 7,7 kg skleníkových plynov. Často sa prehliadajú emisie pochádzajúce z poľnohospodárskeho využitia pôdy. Pri oraní pôdy dochádza k rozkladu humusu a uvoľneniu oxidu uhličitého, kedy 35 % plynu je uvoľňovaná do ovzdušia. Pri chove dobytka potom vzniká amoniak, ktorý je príčinou eutrofizácie vôd (Heinrich, 2014).

Ďalším problémom je výrub lesov a dažďových pralesov z dôvodu rozšírenia poľnohospodárskej plochy na pestovanie sóje. Samotné odlesňovanie v tropických oblastiach vedie k emisiám skleníkových plynov. Rovnako dovoz sóje do Európy prispieva k znečisťovaniu ovzdušia. Spaľovacie motory produkujú oxidy dusíka, najmä oxid dusnatý, ktorý oxiduje na oxid dusičný, kyselinu dusičnú a dusičnany. Kyselina dusičná je potom zodpovedná za okysľovanie pôdy a vody (Heinrich, 2014).

Ďalšou a už spomínanou hrozbou je metán vyprodukovaný mikroorganizmami v tráviacom ústrojenstve kráv. Zvýšená produkcia tohto plynu je spôsobená dokrmovaním dobytka energeticky bohatou sójou a pšenicou. Keby dobytok bol v primeranej koncentrácii

chovaný na pastve, dopad na životné prostredie by bol oveľa menší. Avšak produkcia mäsa by bola o niečo nižšia (Heinrich, 2014).

Voda

Voda je základnou súčasťou zeme a je pre život nevyhnutná. V niektorých krajinách nie je prístup k bezpečnej vode a nie je jej dostatok. Poľnohospodárstvo spotrebováva najviac pitnej vody (70 % dostupnej sladkej vody) a až tretina z nej je potrebná na chov zvierat, respektíve na pestovanie potravy pre zvieratá. Spotreba vody rastie rýchlejšie, než počet obyvateľov planéty a je dosť možné, že voda na pestovanie plodín v dohľadnej dobe už nebude (Heinrich, 2014; Godfray, et al., 2018).

Keby sme rastlinné plodiny spotrebovávali priamo, spotreba vody by bola nižšia. Na výrobu 1 kg hovädzieho mäsa sa spotrebuje až 15 000 litrov vody, výroba jedného kilogramu pšenice spotrebuje 1 300 litrov vody (Heinrich, 2014). Jedna krava za svoj život spotrebuje 1 300 kg obilnín a 7 200 kg krmovín. Na výrobu týchto surovín sa spotrebuje ohromné množstvo vody.

Problémom však nie je iba samotná spotreba pitnej vody, ale aj jej znečisťovanie. Odpadové vody z odvetvia živočíšnej výroby sú hlavným znečisťovateľom sladkej vody. Sladká voda je použitá pri oplachovaní jatočne opracovaného mäsa. Vo vode sú zvyšky antibiotík z veľkochovov. Dochádza ku kontaminácii podzemných vôd vplyvom používania pesticídov a hnojív. V riekach aj jazerách sa potom vyskytuje väčšie množstvo dusíka a fosforu z nadmerného hnojenia (Godfray, et al., 2018; Heinrich, 2014; Salter, 2018).

Jednou z najväčších globálnych hrozieb je práve antibiotická rezistencia, kde príčinou môžu byť aj masívne chovy zvierat. Ďalšia hrozba je vyčerpanie rezerv sladkej vody potrebnej k životu (Moldan, 2015).

Vodný ekosystém je ohrozený nadmerným rybolovom. Riešením sa ponúka farmársky chov rýb, ktorý však prináša značné znečistenie vôd. Východiskom by mohla byť tzv. aquapónia, teda spojenie chovu rýb s pestovaním zeleniny, kedy ryby poskytujú hnojivo rastlinám a rastliny naopak čistia vodu rybám (Future Farming – https://www.futurefarming.cz).

Pôda

Živočíšna výroba spotrebováva 35 % celkovej svetovej ornej pôdy na pestovanie krmív, v Európe je podiel vyšší a dosahuje 60 %. Celosvetovo je až 75 % poľnohospodárskej pôdy využitých na pestovanie krmív a pastvu (Bonnet, et al., 2020, Willett, et al., 2019).

Ďalším problémom, ktorý má vplyv na pôdu, je dezertifikácia. Dezertifikácia je premena na neúrodnú vyschnutú púšť vplyvom nadmerného využívania poľnohospodárskej pôdy, napríklad odlesňovaním, nadmerným chovom dobytka či prirodzených vplyvov (Moldan, 2015).

Produkcia mäsa vedie k degradácii pôdy spôsobenej nadmerným odlesňovaním či nadmernou pastvou. Pôda je však ohrozená aj znečisťovaním cudzorodými látkami, ktoré sa do pôdy dostanú z hnojív (Moldan, 2015).

Veľká časť pôdy je teda využitá na pestovanie kŕmnej sóje, kukurice a ciroku namiesto toho, aby sme pestovali vysoko proteínové plodiny na priamu konzumáciu a získavali tak väčšie množstvo potravy, najmä v krajinách s nedostatkom potravy a vody. Do Európy je navyše veľké množstvo sóje dovážané z Južnej Ameriky (Heinrich, 2014).

Lesy

Veľkým a už niekoľkokrát spomínaným problémom je odlesňovanie z dôvodu rozšírenia poľnohospodárskej pôdy a pastvín (Bonnet, et al., 2020; Godfray, et al., 2018; Salter, 2018). Lesy chránia pôdu pred eróziou, sú cenným prvkom krajín s vysokou biodiverzitou, sú významným zdrojom kyslíka, stabilizujú klímu a zabraňujú otepľovaniu planéty (Gibbard, et al., 2005). Napríklad v Južnej Amerike je z 85 % zodpovedná živočíšna výroba za odlesňovanie. Amazonský prales je odlesňovaný z dôvodu pestovania kŕmnej sóje (Salter, 2018).

Biodiverzita

Strata biodiverzity je pozvoľný proces, ktorý nie je sprevádzaný ničivou pohromou ani nás v krátkodobom horizonte nijako neohrozuje, ale následky môžu byť nevratné a zásadné. Strata biodiverzity je ďalší globálny problém. Vplyv nemusí byť iba na jeden druh, ale aj na celý ekosystém. Živočíšna výroba ovplyvňuje biodiverzitu nadmerným spásaním a premenou pôdy na poľnohospodársku, teda dochádza k strate stanovíšť. Lúky sú premenené na pastviny či orné pôdy a lesy sú vyrúbané. V menšej miere je biodiverzita ovplyvnená lovom (Godfray, et al., 2018; Moldan, 2015).

Agroekosystémy vytláčajú a nahrádzajú prvotné ekosystémy. Najväčší vplyv je na miesta, kde sa pôvodne vyskytovali tropické lesy s veľkou časťou suchozemských druhov. Premena lúk vedie aj k strate biodiverzity, pretože lúka je vhodným úkrytom pre hmyz a drobnú zver. Ďalším problémom je premena vzhľadu pôvodnej krajiny, pretože dochádza k zmene migračných ciest divokej zveri a odrezaniu od zdroja vody (Moldan, 2015; Heinrich, 2014).
Až 71 % premenených dažďových pralesov v Južnej Amerike bolo vyrúbaných a určených na chov dobytka a ďalších 14 % na komerčné pestovanie plodín vrátane kŕmnej sóje. Odhaduje sa,

že okolo roku 2050 však môže byť až 40 % amazonského pralesa nahradených poľnohospodárskou pôdou pre pestovanie kŕmnej sóje pre veľkochovy (Godfray, et al., 2018; Moldan, 2015; Heinrich, 2014).

K strate biodiverzity však nedochádza iba na súši. Problémom je strata biodiverzity vo vodách vplyvom znečistenia vôd (Goldfray, et al., 2018). Do podzemných a povrchových vôd sa dostáva dusík a fosfor, čo môže viesť k eutrofizácii. Eutrofizácia má za následok neprimeraný rast fytoplanktónu a vyčerpanie kyslíka. Následkom je umieranie živočíchov a úbytok vodných rastlín. Vodné živočíchy sú taktiež ohrozené nadmerným rybolovom (Moldan, 2015; Heinrich, 2014).

Psychosociálne aspekty mäsového priemyslu

Mäsový priemysel a následná konzumácia mäsa má vplyv na zdravie a životné prostredie. Nové zdroje uvádzajú, že až ¼ klimatických zmien je pripisovaná potravinám a voľbám našej každodennej stravy. Klimatické zmeny spôsobené stravovaním sú až 2x väčšie ako zmeny spôsobené automobilovou dopravou. Malé zmeny stravovania by tak mohli prospieť životnému prostrediu, zdraviu ľudí a v neposlednom rade zvieratám.

Nevhodná skladba každodennej stravy, nadmerná konzumácia červeného a spracovaného mäsa a nedostatočné množstvo ovocia a zeleniny je hlavným faktorom mnohých chorôb, ktorým sa dá predchádzať. Výdavky na zdravotnú starostlivosť stúpajú a veľká časť týchto výdavkov je spojená s nevhodnou skladbou stravy. Aj malé zmeny v stravovacích návykoch môžu mať významný vplyv na zdravotnú starostlivosť (Kohen, 2017).

Moderný prístup „One Health“ – „Jedno zdravie“

Zdravie ľudí je úzko spojené so zdravím zvierat a životným prostredím. Túto myšlienku zdieľa aj nový prístup „Jedno zdravie“ (One Health approach) a nadobúda na význame. Ľudská populácia rastie a dochádza k jej migrácii. V mnohých krajinách žijú ľudia v úzkom kontakte nielen medzi sebou, ale aj medzi zvieratami a tento štýl života poskytuje viac príležitostí na prenos chorôb. Mäsový priemysel spôsobuje odlesňovanie, využívanie veľkých plôch poľnohospodárskej pôdy a znečisťuje vodu. Prostredie je však znečisťované mnohými faktormi a ľudskou činnosťou. Zmena životného prostredia a biotopov má opäť vplyv na prenos chorôb. Vďaka spomínanej migrácii, nielen ľudí, ale aj zvierat, sa nákazy môžu šíriť rýchlejšie ako v skoršej dobe (WHO, 2017).

Iniciatíva „Jedno zdravie“ študuje zoonózy, antimikrobiálnu rezistenciu, bezpečnosť potravín a ich zabezpečenie, choroby prenášané vektormi, kontamináciu životného prostredia a ďalšie zdravotné hrozby. Ide teda o účinný nástroj v boji proti zdravotným problémom na

rozmedzí človek-zviera-životné prostredie. Jedno zdravie kladie tiež dôraz na to, aby jednotliví odborníci z rôznych sektorov spolupracovali (CDC, 2018; WHO/EÚ).

ZÁVER

Mäso je a asi stále bude atraktívne a spotrebiteľskou voľbou číslo jedna. Zatiaľ čo bielkoviny v mäse sú plnohodnotné, rovnakú kvalitu získať z čisto rastlinnej stravy je náročnejšie. Preto sa ponúka ideálnym riešením mäso zo skúmavky s nízkymi vkladmi. Predpokladá sa, že kultivované mäso bude mať menšie dopady na životné prostredie, a navyše priamy vplyv na výživu a verejné zdravie. Mäso pripravené v laboratóriu by mohlo znížiť spotrebu fosílnych palív, základných plodín a ornej pôdy a súčasne znížiť emisie skleníkových plynov. Kultivované mäso by sa dalo upraviť tak, aby obsahovalo viac polynenasýtených mastných kyselín a menej nasýtených. Ďalšou výhodou by bola eliminácia zoonóz a zranenie pracovníkov na bitúnkoch. Takto pripravené mäso by ľuďom umožnilo jesť mäso s minimom negatívnych účinkov.

LITERATÚRA

1. Anderson, Jana J., Narisa D. M. Darwis, Daniel F. Mackay, Carlos A. Celis-Morales, Donald M. Lyall, Naveed Sattar, Jason M. R. Gill, Jill P. Pell. 2018. Red and processed meat consumption and breast cancer: UK Biobank cohort study and meta-analysis. *European Journal of Cancer* [online]. 90, 73-82 ISSN 09598049. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejca.2017.11.022
2. Bonnet, Céline, Zohra Bouamra-Mechemache, Vincent Réquillart, Nicolas Treich. 2020. Viewpoint: Regulating meat consumption to improve health, the environment and animal welfare. *Food Policy* [online]. 2020, 97. ISSN 03069192. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodpol. 101847
3. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION [CDC]: One Health Basic. Https://www.cdc.gov/onehealth/basics/index.html [online]. 2018
4. Farvid, Maryam S., Mariana C. Stern, Teresa Norat, et al. 2018. Consumption of red and processed meat and breast cancer incidence: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *International Journal of Cancer* [online]. 143(11), 2787- 2799 ISSN 00207136. Dostupné z: doi:10.1002/ijc.31848
5. Farvid, Maryam S., Elkhansa Sidahmed, Nicholas D. Spence, Kingsly Mante Angua, Bernard A. Rosner, Junaidah B. Barnett. 2021. Consumption of red meat and processed meat and cancer incidence: a systematic review and meta-analysis of prospective

studies. European *Journal of Epidemiology* [online]. 36(9), 937-951. ISSN 0393-2990. Dostupné z: doi:10.1007/s10654-021-00741-9

6. Gibbard, S., K. Caldeira, G. Bala, T. J. Phillips, M. Wickett. 2005. Climate effects of global land cover change. *Geophysical Research Letters* [online]. 32(23). ISSN 0094-8276. Dostupné z: doi: 10.1029/2005GL024550
7. Godfray, H. Charles J., Paul Aveyard, Tara Garnett, et al. 2018. Meat consumption, health, and the environment. *Science* [online]. 361(6399) ISSN 0036-8075. Dostupné z: doi:10.1126/science.aam5324
8. Guo, Jingyu, Wei Wei, Lixing Zhan. 2015. Red and processed meat intake and risk of breast cancer: a meta-analysis of prospective studies. *Breast Cancer Research and Treatment* [online]. 151(1), 191-198. ISSN 0167-6806. Dostupné z: doi:10.1007/s10549-015-3380-9
9. Heinrich-Böll-Stiftung, 2014. ISBN 978-80-86834-53-5. Atlas masa: příběhy a fakta o zvířatech, která jíme. Přeložil Jana Hajduchová. Praha:
10. Key, Timothy J., Paul N. Appleby, Kathryn E. Bradbury, et al. 2019. Consumption of Meat, Fish, Dairy Products, and Eggs and Risk of Ischemic Heart Disease. *Circulation* [online]. 139(25), 2835-2845 ISSN 0009- 7322. Dostupné z: doi:10.1161/circulationaha.118.038813
11. Kohen, Julien. 2017. University of California: How your diet affects climate change. Https://www.universityofcalifornia.edu/news/how-your-diet-affects-climate-change [online]. 9.12.
12. Micha, Renata, Sarah K. Wallace, Dariush Mozaffarian. 2010. Red and Processed Meat Consumption and Risk of Incident Coronary Heart Disease, Stroke, and *diabetes mellitus*. Circulation [online]. 121(21), 2271-2283 ISSN 0009- 7322. Dostupné z: doi:10.1161/ circulationaha.109.924977
13. Moldan, Bedřich. 2015. Podmaněná planeta. Druhé, rozšířené a upravené vydání. V Praze: Univerzita Karlova, nakladatelství Karolinum, ISBN 978-80-246-2999-5.
14. Nitsa, Alkippi, Marina Toutouza, Nikolaos Machairas, Anargyros Mariolis, Anastassios Philippou, Michael Koutsilieris. 2018. Vitamin D in Cardiovascular Disease. *In Vivo* [online]. 32(5), 977-981 ISSN 0258-851X. Dostupné z: doi:10.21873/invivo.11338
15. Salter, A. M. 2018. The effects of meat consumption on global health. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE* [online]. 37(1), 47-55. ISSN 0253-1933. Dostupné z: doi:10.20506/rst. 37.1.2739
16. Schneiderová, M., Bencko, V. 2015. Kolorektální karcinom - současný pohled na rizikové a protektivní faktory, možnosti prevence. *Onkologie*, vol. 9, iss. 4, p. 178-182.

17. Schwingshackl, Lukas, Georg Hoffmann, Anna-Maria Lampousi, et al. 2017. Food groups and risk of type 2 *diabetes mellitus*: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *European Journal of Epidemiology* [online]. 32(5), 363- 375 ISSN 0393-2990. Dostupné z: doi: 10.1007/s10654-017-0246-y
18. Wang, Xia, Xinying Lin, Ying Y Ouyang, Jun Liu, Gang Zhao, An Pan, Frank B Hu. 2016. Red and processed meat consumption and mortality: dose–response meta-analysis of prospective cohort studies. *Public Health Nutrition* [online]. 19(5), 893-905 ISSN 1368-9800. Dostupné z: doi: 10.1017/S1368980015002062
19. Willett, Walter, Johan Rockström, Brent Loken, et al. 2019. Food in the Anthropocene: the EAT–Lancet Commission on healthy diets from sustainable food systems. *The Lancet* [online]. 393(10170), 447-492. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(18)31788-4
20. Wolk, A. 2017. Potential health hazards of eating red meat. *Journal of Internal Medicine* [online]. 281(2), 106-122 ISSN 09546820. Dostupné z: doi:10.1111/joim.12543
21. WORLD HEALTH ORGANIZATION [WHO]: One Health [online]. Genéve, 21.7.2017. Dostupné z: https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/one-health
22. WORLD HEALTH ORGANIZATION/EUROPE [WHO/EU]: One Health [online]. Copenhagen. Dostupné z: https://www.euro.who.int/en/health-topics/health-policy/one-healt

Kontaktná adresa: prof. Ing. Jozef Golian, Dr. Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 01 Nitra. E-mail: jozef.golian@uniag.sk

HUMÍNOVÉ LÁTKY Z POHĽADU KONCEPTU JEDNÉHO ZDRAVIA

HUMIC SUBSTANCES FROM THE POINT OF VIEW OF ONE HEALTH CONCEPT

Hriciková Simona, Kožárová Ivona

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

ABSTRACT

Humic substances are organic ubiquitous components arising in the process of chemical and microbiological oxidation, generally called humification, the second largest process of the carbon cycle. The beneficial properties of these various substances can be observed in many fields of life and health, whether it is the impact on the human organism, as prophylactic as well as the therapeutic effects; animal physiology and welfare, which is widely used in livestock farming; or the impact of humic substances on the environment and ecosystem in the context of renewal, fertilization and detoxification. Since animal health, human health and environmental health are interconnected and mutually influencing, this work brings insight into the excellence of the use of humic substances as a versatile mediator contributing to the promotion of One Health.

Key words: humic substances; human health; animal health; environment; One Health

ÚVOD

Huminové látky (HL) sú heterogénne organické zlúčeniny s vysokou molekulovou hmotnosťou, ktoré vznikajú pôsobením mikrobiálneho metabolizmu ako konečné produkty organického rozkladu v morskom, sladkovodnom a pôdnom prostredí. Podrobnejšie, HL sú produkty chemickej a mikrobiologickej oxidácie prekurzorov ako sú lignín, tanín, peptidy, celulóza, lipidy a terpenoidy z rastlinných a živočíšnych zvyškov. Navyše v uhlíkovom cykle sa humifikácia považuje za druhý najväčší proces po fotosyntéze. (Yang et al. 2021; Vikram et al. 2022; Zhernov et al. 2021).

Mnoho priemyselných odvetví, vrátane poľnohospodárstva, ochrany životného prostredia, chovu zvierat, akvakultúry, veterinárnej medicíny a humánnej medicíny objavilo kľúčové využitie HL. Pri ich používaní môžeme polemizovať aj s myšlienkou „jedného zdravia“, pretože potenciál HL sa dá využiť v mnohých rôznych oblastiach (Fizer et al. 2021; Gong et al. 2020a; Kapoore et al. 2021).

V roku 2021 „jedno zdravie“ bolo definované ako „integrovaný, zjednocujúci prístup, ktorého cieľom je trvalo udržiavať rovnováhu a optimalizovať zdravie ľudí, zvierat a ekosystémov“ (WHO 2021). Keď je ohrozené zdravie jedného, môže byť ohrozené zdravie všetkých.

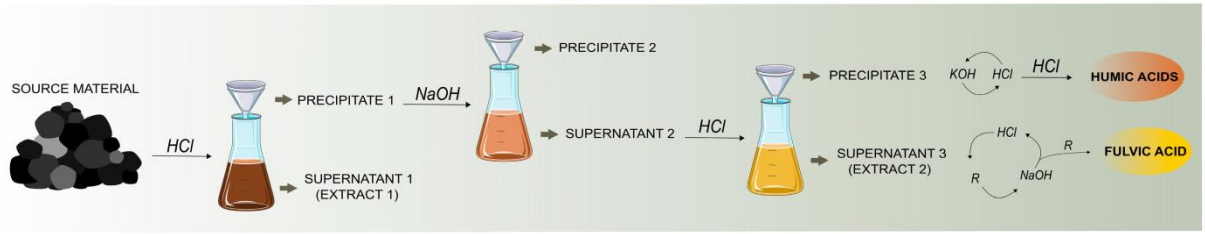
Vzhľadom na excelentnosť HL pri podpore zdravia a blaha ľudí, zvierat a životného prostredia je cieľom tejto štúdie poskytnúť čitateľovi aktuálne poznatky o HL z chemického hľadiska vrátane ich štruktúry, extrakcie a vzťahu medzi ich fyzikálnymi, chemickými a biologickými vlastnosťami a použitím; a vplyve HL na ľudské zdravie, fyziológiu zvierat a životné prostredie.

ZLOŽENIE, EXTRAKCIA A ŠTRUKTÚRA HUMÍNOVÝCH LÁTOK

Špecifické zloženie HL sa môže líšiť vzhľadom na ich pôvod a oblasť výskytu. Základné zložky HL zahŕňajú humíny (Hu), kyseliny humínové (HA) a kyseliny fulvové (FA), ktoré sa prirodzene vyskytujú vo forme amorfných látok (Vikram et al. 2022; Gong et al. 2020b). Humíny sú kategorizované ako makroorganické zlúčeniny pre svoju vysokú molekulovú hmotnosť a sú čiernej farby. Sú nerozpustné pri všetkých hodnotách pH, pretože sú viazané na anorganické pôdne koloidy. Percento Hu zvyšuje schopnosť pôdy zadržiavať vodu. Veľkosť molekuly HA sa pohybuje od 10 000 do 1 000 000, farba sa mení od tmavohnedej po šedú a čiernu. Hoci HA nie sú priamo toxické, môžu spôsobiť nežiaducu farbu, chuť a zápach pitnej vody (Wang et al. 2008). Keďže sú HA zložené z kombinácie uhlíkových kruhov a reťazcov, sú nerozpustné vo vode a v kyslom prostredí, sú však rozpustné v alkalických podmienkach a zrážateľné pri pH < 2. V porovnaní s HA majú FA podstatne menšiu molekulovú veľkosť, ktorá sa pohybuje od 1000 do 10 000. Farba FA sa mení od svetložltej po žltohnedú a sú bez zápachu. Sú rozpustné vo vode pri všetkých hodnotách pH. Elementárne zloženie referenčných FA a HA zahŕňa: organický uhlík (C; 50–60 %), vodík (H; 3,5–4,8 %), dusík (N; 0,7–5,1 %) a kyslík (O; 31,6–45,5 %) (Vikram et al. 2022; Gong et al. 2020b; Stevenson 1994).

Na identifikáciu jednotlivých štruktúrnych jednotiek HL sa doteraz uskutočnil výskum zloženia HL s použitím silných oxidantov (alkalický roztok), prvýkrát použitých v roku 1786 (Achard 1786; D.J.Greenland a M.H.B.Hayes 2016). Použitie alkalického roztoku hydroxidu sodného (NaOH) a/alebo hydroxidu draselného (KOH) na extrakciu humusu umožňuje disociáciu chemických väzieb (vodíkové väzby, kovové väzby) medzi organickou hmotou a rôznymi zložkami pôdy a je bežný vo väčšine stále používaných metód (Song et al. 2008; Kononova 1966).

Všeobecne uznávaný štandardizovaný postup extrakčnej izolácie HL (HA a FA) zo zdrojových materiálov v pevnej fáze je vysvetlený na obrázku 1.



Obrázok 1. Grafické znázornenie extrakcie humínových a fulvových kyselín zo zdrojov humínových látok v pevnej fáze. HCl - kyselina chlorovodíková; NaOH - hydroxid sodný; KOH - hydroxid draselný; R-spracovanie živicou. Obrázok bol vytvorený pomocou softvéru Inkscape a databázy Smart.servier.

VPLYV HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA ZDRAVIE ĽUDÍ, ZVIERAT A ŽIVOTNÉ PROSTREDIE

HL označované ako biologicky aktívne aditíva používané v lekárskej a veterinárnej lekárskej praxi sa zaraďujú medzi enterosorbenty, imunomodulátory a bioregulátory novej generácie (Trofimova et al. 2022; Vetvicka et al. 2010). HL majú rôzne fyziologické účinky na organizmy, vrátane modulácie stresových reakcií, účinky podobné hormónom, regulujú gény, aktivujú rôzne dráhy prenosu signálu prostredníctvom interakcií s membránami a regulujú výmenu iónov (Hajdrik et al. 2022; Pizzeghello et al. 2002; Cetin et al. 2011). U ľudí aj zvierat sa preukázalo, že HL majú protizápalové (van Rensburg 2015), antibakteriálne, antivírusové (Klöcking a Helbig 2005b) a antikarcinogénne účinky (Jacob et al. 2019). Uskutočnilo sa niekoľko štúdií o antivírusovej aktivite HL, a to proti HIV-1, SARS-CoV-2 a HSV-1 (Zhernov et al. 2021; Hajdrik et al. 2022; Hafez et al. 2020; Klöcking a Helbig 2005a). Schopnosť aktivovať metabolizmus vody, bielkovín a tukov, ako aj ich baktericídny účinok robia nízkomolekulárne frakcie HA užitočnými pri liečbe gastrointestinálnych, kožných a iných ochorení. U zvierat vykazujú HL antimutagénnu aktivitu, imunomodulačné a antioxidačné účinky (Khil'Ko et al. 2011; Alkan Ozdemir et al. 2022).

Jedinečné vlastnosti HL im umožňujú byť užitočnou a mnohostrannou zložkou krmív pre zvieratá. Poľnohospodári a výskumníci testujú HL od začiatku 30. rokov 20. storočia. Humínová hmota sa používa v rôznych kŕmnych prísadách, ktoré pomáhajú zvieratám rozvíjať sa a prosperovať, niekedy dokonca nahradzujú antibiotiká. HL je možné použiť u širokého spektra živočíšnych druhov ako kŕmne doplnkové látky s veľkým prínosom najmä u hospodárskych zvierat (HPTA 2021b).

Za posledných 20 rokov sa preukázalo, že pridanie HA do krmiva alebo vody pre hydinu vo vopred určenom pomere môže zvýšiť výkonnosť rastu a kvalitu mäsa (zvýšenie obsahu

bielkovín, zníženie obsahom tuku a zníženie oxidácie lipidov) zlepšením hematologických a biochemických parametrov a posilnením imunity. Prídavok HA do krmiva hydiny stabilizuje črevnú mikroflóru zvierat a tým zlepšuje stráviteľnosť a asimiláciu živín, zvyšuje v čreve množstvo užitočných baktérií mliečneho kvasenia a znižuje proliferáciu škodlivých parazitov. Maguey-González et al.. (2022) dokázali, že HA možno použiť u hydiny aj ako prebiotikum (Maguey-González et al. 2022). Pridanie FA do krmiva nosníc môže zvýšiť produkciu a kvalitu vajec a modulovať abundanciu cekálnej mikroflóry a biochemické indexy séra nosníc (Domínguez-Negrete et al. 2019; Akaichi et al. 2022; Arafat a Khan 2017).

HL blokujú alebo znižujú produkciu hormónov spôsobujúcich stres, čím zlepšujú správanie zvierat. Zvieratá kŕmené HL sú menej agresívne a najmenej ovplyvnené vonkajšími vplyvmi, ako sú rušné prostredie, premávka alebo pobyt v uzavretých priestoroch (Cetin et al. 2011; Hayirli et al. 2005).

Prírodné a modifikované humínové prípravky sú perspektívne ako povrchovo aktívne látky, polyméry s nastaviteľnými redoxnými vlastnosťami, prípravky na ničenie burín a škodcov, sorbenty, rekultivátory území kontaminovaných rádionuklidmi, ťažkými kovmi, organickými ekotoxickými látkami, ropnými produktmi a pod. (Klavins a Purmalis 2010; Peng et al. 2022; Khil'Ko et al. 2011). Interakcie HL s toxickými polutantmi pozostávajú najmä z absorpcie, väzby, asociácie, sekvestrácie a zachytenia toxickej molekuly masívnymi humínovými molekulami (HPTA 2021b).

Rozpustené HL majú dlhodobý vplyv na fyzikálne a chemické vlastnosti vody a môžu slúžiť ako najvýznamnejšie prírodné čističe. Majú schopnosť kontrolovať biokoncentráciu toxínov a krátkodobo slúžiť ako zdroj organických živín (Weber et al. 2018).

HL do značnej miery určujú kvalitu pôdy a sú životne dôležité pre udržanie úrodnosti pôdy. Humínové produkty sa široko používajú ako doplnky pôdy a/alebo sa miešajú s hnojivami (Weber et al. 2018; HPTA 2021a).

ZÁVER

Myšlienka „jedného zdravia" spája záujmy viacerých oblastí a koná v záujme dobra pre všetkých zúčastnených, aby spolupracovali na podpore blahobytu a riešení hrozieb pre zdravie a ekosystémy a zároveň riešili spoločnú potrebu čistej vody, energie a vzduchu, bezpečných a výživných potravín a prispievaniu k trvalo udržateľnému rozvoju. V širšom zmysle môžeme HL opísať ako „ľahko dostupné riešenie organického pôvodu" pre široké použitie. Napriek mnohým doterajším štúdiám mnohé z účinkov HL ešte neboli objavené. Veríme, že budúci výskum odhalí ďalšie sféry pôsobenia týchto univerzálnych pomocníkov.

POĎAKOVANIE

Táto štúdia bola podporená Vedeckou grantovou agentúrou Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky a Slovenskej akadémie vied (VEGA č. 1/0662/24).

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ACHARD, F. K., 1786. Chemische untersuchung des torfs. *Crell's Chem. Ann*. 1786, roč. 2, s. 391–403.
2. AKAICHI, Asma, Abdallah JEBALI, Maha BENLARBI, Tarek MAHJOUB, Khaled KABOUDI, Rafika Ben CHAOUACHA-CHEKIR, Zohra HAOUAS a Nourhene BOUDHRIOUA, 2022. Effects of humic acid and organic acids supplements on performance, meat quality, leukocyte count, and histopathological changes in spleen and liver of broiler chickens. *Research in Veterinary Science*. 2022, roč. 150, s. 179–188.
3. ALKAN OZDEMIR, Senem, Nail OZDEMIR, Ozgur AKSAN, Burak KINALI, Gökçen BILICI GÜLER, Güven ERBIL, Erdener OZER a Esra OZER, 2022. Effect of humic acid on oxidative stress and neuroprotection in hypoxic-ischemic brain injury: part 1. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2022, roč. 35, č. 23, s. 4580–4589.
4. ARAFAT, Rana Yaser a Sohail Hassan KHAN, 2017. Evaluation of humic acid as an aflatoxin binder in broiler chickens. *Annals of animal science*. 2017, roč. 17, č. 1, s. 241–255.
5. CETIN, Ebru, Berrin Kocaoglu GUCLU a Nazmi CETIN, 2011. Effect of dietary humate and organic acid supplementation on social stress induced by high stocking density in laying hens. 2011.
6. D.J.GREENLAND a M.H.B.HAYES, 2016. *The Chemistry Of Soil Constituents*. B.m.: New India Publishing Agency. ISBN 978-93-85516-21-4.
7. DOMÍNGUEZ-NEGRETE, Alejandra, Sergio GÓMEZ-ROSALES, María de Lourdes ANGELES, Luis Humberto LÓPEZ-HERNÁNDEZ, Tercia Cesaria REIS-DE SOUZA, Yair LÓPEZ-GARCÍA, Anai ZAVALA-FRANCO a Guillermo TÉLLEZ-ISAIAS, 2019. Effect of the addition of humic substances as growth promoter in broiler chickens under two feeding regimens. *Animals*. 2019, roč. 9, č. 12, s. 1101.
8. FIZER, Maksym, Vasyl SIDEY, Stepan MILYOVICH a Oksana FIZER, 2021. A DFT study of fulvic acid binding with bivalent metals: Cd, Cu, Mg, Ni, Pb, Zn. *Journal of Molecular Graphics and Modelling* [online]. 2021, roč. 102, s. 107800. ISSN 1093-3263. Dostupné na: doi:10.1016/j.jmgm.2020.107800

9. GONG, Guan-qun, Xin YUAN, Ying-jie ZHANG, Ya-jun LI, Wei-xin LIU, Ming WANG, Yu-feng ZHAO a Liang-wei XU, 2020a. Characterization of coal-based fulvic acid and the construction of a fulvic acid molecular model. *RSC Advances* [online]. 2020, roč. 10, č. 9, s. 5468–5477. ISSN 2046-2069. Dostupné na: doi:10.1039/C9RA09907G
10. GONG, Guan-qun, Yu-feng ZHAO, Ying-jie ZHANG, Bo DENG, Wei-xin LIU, Ming WANG, Xin YUAN a Liang-wei XU, 2020b. Establishment of a molecular structure model for classified products of coal-based fulvic acid. *Fuel* [online]. 2020, roč. 267, s. 117210. ISSN 0016-2361. Dostupné na: doi:10.1016/j.fuel.2020.117210
11. HAFEZ, Mohamed, Alexander I. POPOV, Valery N. ZELENKOV, Tamara V. TEPLYAKOVA a Mohamed RASHAD, 2020. Humic substances as an environmental-friendly organic wastes potentially help as natural anti-virus to inhibit COVID-19. *Sci. Arch*. 2020, roč. 1, s. 53–60.
12. HAJDRIK, Polett, Bernadett PÁLYI, Zoltán KIS, Noémi KOVÁCS, Dániel Sándor VERES, Krisztián SZIGETI, Ferenc BUDÁN, Imre HEGEDÜS, Tibor KOVÁCS, Ralf BERGMANN a Domokos MÁTHÉ, 2022. In Vitro Determination of Inhibitory Effects of Humic Substances Complexing Zn and Se on SARS-CoV-2 Virus Replication. *Foods (Basel, Switzerland)* [online]. 2022, roč. 11, č. 5, s. 694. ISSN 2304-8158. Dostupné na: doi:10.3390/foods11050694
13. HAYIRLI, Armağan, Nurinisa ESENBUĞA, Muhammet MACİT, Mehmet YÖRÜK, Abdulkerim YILDIZ a Hatice KARACA, 2005. Nutrition practice to alleviate the adverse effects of stress on laying performance, metabolic profile and egg quality in peak producing hens: II. The probiotic supplementation. *Asian-Australasian journal of animal sciences*. 2005, roč. 18, č. 12.
14. HPTA, 2021a. *Crops & Soil - HPTA* [online]. [cit. 9.5.2024]. Dostupné na: https://humictrade.org/humic-products/crops-soil/
15. HPTA, 2021b. *Feed & Livestock - HPTA* [online]. [cit. 9.5.2024]. Dostupné na: https://humictrade.org/humic-products/feed-livestock/
16. JACOB, Kala K., Prashob Peter K. J a Chandramohanakumar N, 2019. HUMIC SUBSTANCES AS A POTENT BIOMATERIALS FOR THERAPEUTIC AND DRUG DELIVERY SYSTEM-A REVIEW. *International Journal of Applied Pharmaceutics* [online]. 2019, s. 1–4. ISSN 0975-7058. Dostupné na: doi:10.22159/ijap.2019v11i3.31421
17. KAPOORE, Rahul Vijay, Eleanor E. WOOD a Carole A. LLEWELLYN, 2021. Algae biostimulants: A critical look at microalgal biostimulants for sustainable agricultural

practices. *Biotechnology Advances* [online]. 2021, roč. 49, s. 107754. ISSN 0734-9750. Dostupné na: doi:10.1016/j.biotechadv.2021.107754

18. KHIL'KO, S. L., I. V. EFIMOVA a O. V. SMIRNOVA, 2011. Antioxidant properties of humic acids from brown coal. *Solid Fuel Chemistry*. 2011, roč. 45, s. 367–371.
19. KLAVINS, Maris a Oskars PURMALIS, 2010. Humic substances as surfactants. *Environmental Chemistry Letters* [online]. 2010, roč. 8, č. 4, s. 349–354. ISSN 1610-3661. Dostupné na: doi:10.1007/s10311-009-0232-z
20. KLÖCKING, Renate a Björn HELBIG, 2005a. Interaction of humic acids and humic-acid-like polymers with herpes simplex virus type 1. V: *Humic Substances in the Aquatic and Terrestrial Environment: Proceedings of an International Symposium Linköping, Sweden, August 21–23, 1989*. B.m.: Springer, s. 407–412.
21. KLÖCKING, Renate a Björn HELBIG, 2005b. Medical aspects and applications of humic substances. *Biopolymers for Medical and Pharmaceutical Applications. WILEY-VCH Verlag GmbH & C. KGaA. Weinheim*. 2005, s. 3–16.
22. KONONOVA, M. M., 1966. Chapter 8—Methods of Investigating Soil Organic Matter. *Soil Organic Matter, 2nd ed.; Kononova, MM, Ed.; Elsevier: Pergamon, Turkey*. 1966, s. 377–426.
23. MAGUEY-GONZÁLEZ, Jesús Adonai, Sergio GÓMEZ-ROSALES, Maria DE LOURDES ANGELES, Luis Humberto LÓPEZ-HERNÁNDEZ, Elba RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, Bruno SOLÍS-CRUZ, Daniel HERNÁNDEZ-PATLÁN, Rubén MERINO-GÚZMAN a Guillermo TÉLLEZ-ISAÍAS, 2022. Effects of humic acids on the recovery of different bacterial strains in an in vitro chicken digestive model. *Research in Veterinary Science*. 2022, roč. 145, s. 21–28.
24. PENG, Xiong-Xin, Shuang GAI, Kui CHENG a Fan YANG, 2022. Roles of humic substances redox activity on environmental remediation. *Journal of Hazardous Materials* [online]. 2022, roč. 435, s. 129070. ISSN 0304-3894. Dostupné na: doi:10.1016/j.jhazmat.2022.129070
25. PIZZEGHELLO, Diego, Gianni NICOLINI a Serenella NARDI, 2002. Hormone-like activities of humic substances in different forest ecosystems. *New Phytologist* [online]. 2002, roč. 155, č. 3, s. 393–402. ISSN 1469-8137. Dostupné na: doi:10.1046/j.1469-8137.2002.00475.x
26. SONG, G., E. H. NOVOTNY, A. J. SIMPSON, C. E. CLAPP a M. H. B. HAYES, 2008. Sequential exhaustive extraction of a Mollisol soil, and characterizations of humic components, including humin, by solid and solution state NMR. *European Journal of*

Soil Science [online]. 2008, roč. 59, č. 3, s. 505–516. ISSN 1365-2389. Dostupné na: doi:10.1111/j.1365-2389.2007.01006.x

27. STEVENSON, F. J., 1994. *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. B.m.: John Wiley & Sons. ISBN 978-0-471-59474-1.
28. TROFIMOVA, E. S., M. V. ZYKOVA, A. A. LIGACHEVA, M. G. DANILETS, E. Yu SHERSTOBOEV, L. A. LOGVINOVA a M. V. BELOUSOV, 2022. Anti-Allergic Properties of Humic Acids Isolated from Pine-Sphagnum-Cotton Sedge Peat. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* [online]. 2022, roč. 172, č. 3, s. 324–327. ISSN 1573-8221. Dostupné na: doi:10.1007/s10517-022-05385-7
29. VAN RENSBURG, Constance E. J., 2015. The Antiinflammatory Properties of Humic Substances: A Mini Review. *Phytotherapy Research* [online]. 2015, roč. 29, č. 6, s. 791–795. ISSN 1099-1573. Dostupné na: doi:10.1002/ptr.5319
30. VETVICKA, Vaclav, Roberto BAIGORRI, Angel M. ZAMARREÑO, Jose M. GARCIA-MINA a Jean-Claude YVIN, 2010. Glucan and humic acid: synergistic effects on the immune system. *Journal of Medicinal Food* [online]. 2010, roč. 13, č. 4, s. 863–869. ISSN 1557-7600. Dostupné na: doi:10.1089/jmf.2009.0178
31. VIKRAM, Nitin, Ankita SAGAR, Chetna GANGWAR, Raja HUSAIN, Raj Narayan KEWAT, Nitin VIKRAM, Ankita SAGAR, Chetna GANGWAR, Raja HUSAIN a Raj Narayan KEWAT, 2022. Properties of Humic Acid Substances and Their Effect in Soil Quality and Plant Health. V: *Humus and Humic Substances - Recent Advances* [online]. B.m.: IntechOpen [cit. 9.5.2024]. ISBN 978-1-80356-213-1. Dostupné na: doi:10.5772/intechopen.105803
32. WANG, Shaobin, Qing MA a Z. H. ZHU, 2008. Characteristics of coal fly ash and adsorption application. *Fuel* [online]. 2008, roč. 87, č. 15, s. 3469–3473. ISSN 0016-2361. Dostupné na: doi:10.1016/j.fuel.2008.05.022
33. WEBER, Jerzy, Yona CHEN, Elżbieta JAMROZ a Teodoro MIANO, 2018. Preface: humic substances in the environment. *Journal of Soils and Sediments*. 2018, roč. 18, č. 8, s. 2665–2667.
34. WHO, 2021. *Tripartite and UNEP support OHHLEP's definition of "One Health"* [online] [cit. 9.5.2024]. Dostupné na: https://www.who.int/news/item/01-12-2021-tripartite-and-unep-support-ohhlep-s-definition-of-one-health
35. YANG, Fan, Chunyu TANG a Markus ANTONIETTI, 2021. Natural and artificial humic substances to manage minerals, ions, water, and soil microorganisms. *Chemical Society Reviews* [online]. 2021, roč. 50, č. 10, s. 6221–6239. ISSN 1460-4744. Dostupné na: doi:10.1039/d0cs01363c

36. ZHERNOV, Yury V., Andrey I. KONSTANTINOV, Alexander ZHEREBKER, Eugene NIKOLAEV, Alexey ORLOV, Mikhail I. SAVINYKH, Galina V.
37. KORNILAEVA, Eduard V. KARAMOV a Irina V. PERMINOVA, 2021. Antiviral activity of natural humic substances and shilajit materials against HIV-1: Relation to structure. *Environmental Research* [online]. 2021, roč. 193, s. 110312. ISSN 1096-0953. Dostupné na: doi:10.1016/j.envres.2020.110312

Kontaktná adresa: Hriciková Simona, Department of Food Hygiene, Technology and Safety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: simona.hricikova@student.uvlf.sk

REFORMULACE MASNÝCH VÝROBKŮ JAKO DALŠÍ MÓDNÍ VLNA?

REFORMULATION OF MEAT PRODUCTS AS THE NEXT FASHION WAVE?

Kameník Josef, Ježek František, Dušková Marta, Macharáčková Blanka

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

ABSTRACT

As part of the QK1910100 project, experiments were carried out with reformulated cooked meat products. The aim was to compare the microbiological quality of comminuted meat products prepared with a traditional proportion of salt exceeding 2% and reformulated batches with a reduced proportion of salt to 1.7%. The study confirmed that reducing the salt content below 1.8% does not compromise the microbial stability of cooked meat products compared to standard products. Even at the end of the tested shelf life, the level of bacteria in products with both conventional and reformulated salt content were well below the generally perceived level of microbial shelf life of 7 log CFU/g.

Keywords: shelf life, špekáčky, gothaj sausage, junior sausage, lactic acid bacteria

ÚVOD

Také v potravinářství, které je obecně považováno za konzervativní obor, se objevují trendy, které se pár let drží v pozornosti odborných kruhů, médií i vědecké komunity. Jejich aktuálnost postupně ale slábne a časem je nahradí jiné téma. V první dekádě 21. století se do popředí zájmu dostaly tzv. funkční potraviny. Bylo to doba probiotik, které se začaly přidávat i do některých fermentovaných masných výrobků. Dnes už to snad nikoho ani nenapadne. Ve druhé dekádě tohoto století přišlo nové téma, reformulace.

Reformulace potravin je definována jako „změna obsahu živin v zpracovaných potravinách ve smyslu snížení obsahu některých látek, jako jsou sodík, nasycené mastné kyseliny, trans-mastné kyseliny nebo energie (kilojouly), nebo zvýšení podílu složek s pozitivním působením na lidský organismus, jako vláknina, ovoce, zelenina, celozrnné obiloviny a nenasycené mastné kyseliny“ (Neacsu et al., 2015). V oblasti tzv. zpracovaných mas, tj. ve skupině masných polotovarů a masných výrobků, se reformulace týkají zejména i) snížení obsahu soli a/nebo obsahu tuku; ii) obohacení výrobků ingrediencemi s pozitivním vlivem na zdravotní stav (např. mastné kyseliny řady omega 3, probiotika, vitaminy, vláknina); iii) snížení obsahu, nebo úplná náhrada chemických přídatných látek, jako např. dusitany (Shan et al., 2017). Masné výrobky a také masné polotovary jsou kritizovány (ať už právem, či

neprávem) kvůli obsahu dusitanu, chloridu sodného nebo za vysoký podíl tuku (Di Vita et al., 2019). Reformulace této kategorie potravin směřuje ale nejčastěji na snížení podílu soli.

K potravinám, které člověka nejvíce zatěžují sodíkem, patří pečivo, zpracované maso (masné výrobky a masné polotovary), sýry a některé další mléčné výrobky. Odhaduje se, že se průmyslově zpracovávané potraviny podílejí ve vyspělých zemích na příjmu sodíku přibližně 75 % (Aaslyng et al., 2014). Protože se obsah soli v potravinách hodnotí podle koncentrace sodíku, snaha o snížení podílu soli může směřovat dvěma směry. Nejjednodušší je snížit přídavek soli na nezbytně nutnou dávku (z hlediska technologického i senzorického). Druhá možnost spočívá v částečné náhradě sodíku draslíkem, příp. jinými prvky v aplikovaných chloridech. V rámci projektu Vliv reformulace na trvanlivost a fyzikálně-chemické vlastnosti potravinářských výrobků (QK1910100; Program aplikovaného výzkumu Ministerstva zemědělství na období 2017-2025 ZEMĚ) tým Veterinární univerzity v roli spoluřešitele provedl experimenty s reformulovanými tepelně opracovanými masnými výrobky špekáčky, šunka nejvyšší jakosti, gothajský salám, salám junior.

Cílem bylo porovnat kvalitu mělněných masných výrobků připravených s tradičním podílem soli přesahujícím 2 % a reformulovaných šarží se sníženým podílem soli na 1,7 %.

MATERIÁL A METODIKA

Ve spolupráci se zpracovatelem A byly připraveny 2 šarže mělněného masného výrobku špekáčky. Jedna šarže představovala výrobek z běžného sortimentu zpracovatele, dále v textu budou tyto špekáčky označené jako **špekáčky 2,1** (podle podílu soli 2,1 %). Druhá šarže byla připravená s podílem soli 1,7 %, v dalším textu budou vzorky této šarže označené jako **špekáčky 1,7**. Tepelné opracování proběhlo dle národní legislativy (Vyhláška, 2016) s dosažením tepelného účinku, který odpovídá působení teploty 70 °C po dobu 10 min v celém produktu. Bezprostředně po vychlazení byly výrobky vakuově zabaleny po dvou kusech a odeslány s dodržením chladírenského řetězce do mikrobiologické laboratoře k dalším analýzám. Po dobu analýz byly vzorky uloženy v chladírně s teplotu 3±1 °C. Příprava vzorků a jejich analýzy proběhly dvakrát, v měsících květen-červen 2019 a 2020.

V období 2021 byly zpracovatelem A připraveny dávky gothajského salámu a junior salámu se sníženým podílem soli 1,7 %. Dílo bylo plněné do bariérových plastových obalů o průměru 85 mm (gothajský salám), nebo 75 mm (salám junior). Tepelné opracování proběhlo ve stejném režimu jako pro špekáčky.

Ve vzorcích byl stanoven celkový počet mikroorganismů (CPM), počet bakterií mléčného kvašení (BMK) a počet bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* podle příslušných standardů ISO.

Senzorické vyšetření

Pro hodnocení měkkých salámů byly využity nestrukturované grafické stupnice o délce 100 mm se slovním popisem na obou koncích. Levý okraj stupnice označoval plně vyhovující stav parametru, pravý okraj stupnice zcela nevyhovující stav parametru. Popis jednotlivých parametrů vycházel z Vyhlášky č. 69/2016 Sb. Hodnocenými parametry byly: vzhled na řezu (v nákroji), vypracování, barva, vůně, konzistence, textura, chuť, slanost, intenzita slanosti a celkový dojem. Jako neutralizátor chuti bylo použito bílé pečivo a voda, vzorky byly předkládány na bílém talíři a označeny třímístnými číselnými kódy. Hodnotiteli (n=10) byli vyškolení a zkušení zaměstnanci Ústavu hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie FVHE, VETUNI Brno.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky mikrobiologické analýzy vzorků špekáčků s podílem soli 1,7 nebo 2,1 % obsahuje tab. 1. Počet KTJ čeledě *Enterobacteriaceae* byl ve všech případech pod detekčním limitem a tyto výsledky proto v tabulce chybí.

Z tabulky 1 jsou zřejmé dvě skutečnosti. Zaprvé se během čtyřtýdenního skladování všech 4 šarží špekáčků výrobce A zvyšoval CPM jen málo. V experimentu z r. 2019 zůstávala po celou dobu údržnosti populace detekovaných bakterií řádově na hodnotách počátečního stavu. A obdobné výsledky poskytl také experiment v r. 2020. Zadruhé při porovnání šarží 1,7 a 2,1 je patrný rozdíl v počtu KTJ/g, kdy vzorky špekáčků s nižším podílem soli vykázaly přibližně o 1 logaritmický řád vyšší počty bakterií, a to prakticky po celou dobu skladování. Tento rozdíl byl statisticky významný (P = 0,013). Jak je dále patrné z tab. 1, v případě špekáčků analyzovaných v této studii zůstávala populace BMK i na konci experimentu po čtyřtýdenním skladování daleko pod hodnotou 5 log KTJ/g. Přitom se za mezní hodnotu kažení masa a masných výrobků považuje obecně 7 log KTJ/g.

Tab. 1: Výsledky vývoje celkového počtu mikroorganismů (CPM) a bakterií mléčného kvašení (BMK) v šaržích špekáčků výrobce A s podílem 1,7 % a 2,1 % soli během čtyřtýdenního skladování při 4±1 °C (údaje v log KTJ/g)

Skupina bakterií	rok	šarže	týden					*P*
			0	1	2	3	4	
CPM	2019	1.7	2.69 ± 1.00	2.80 ± 2.22	2.84 ± 2.49	2.43 ± 2.22	2.30 ± 0.70	0.001
		2.1	1.60 ± 0.70	1.11 ± 0.40	2.08 ± 1.67	1.98 ± 1.16	1.76 ± 1.22	
	2020	1.7	3.11 ± 2.76	2.89 ± 2.37	2.77 ± 1.78	4.80 ± 4.76	3.15 ± 2.74	0.331
		2.1	1.75 ± 0.44	1.62 ± 0.37	1.54 ± 0.25	2.34 ± 0.68	4.54 ± 0.44	
BMK	2019	1.7	1.88 ± 1.40*	<1.70	<1.70	<1.70	<1.70	0.222
		2.1	<1.70	<1.70	1.40 ± 1.40A	2.48 ± 2.48 B	<1.70	
	2020	1.7	<1.70	<1.70	<1.70	4.89 ± 3.73C	3.11 ± 3.07D	0.190
		2.1	<1.70	<1.70	<1.70	2.08 ± 2.06E	3.54 ± 3.11F	

Přítomnost CPM byla ve všech vzorcích měkkých salámů buď pod mezí detekce, nebo na její hranici (tab. 2). V salámech nebyly během skladování zjištěny BMK. Ani experiment s termostatovou zkouškou s měkkými salámy přítomnost BMK neprokázal. Svědčí to o mimořádně kvalitní vstupní surovině a dokonale zvládnutém tepelném opracování u zpracovatele A. Přitom tato početná bakteriální skupina představuje hlavní podíl mikrobioty spojené s kažením tepelně opracovaných masných výrobků (Martins et al., 2020; Samelis et al., 2000; Vermeiren et al., 2005). Skutečnost, že se mikrobiota držela po celou dobu experimentu na nízkých hladinách a počet BMK byl ve většině analýz pod hranicí záchytu, klade otázku, jaké bakterie představovaly převahu mikrobiomu testovaných masných výrobků? Na základě morfologie kolonií na použitém agaru byla část zjištěných bakterií zařazená mezi aerobní sporogenní bakterie. Podle Fraquezy et al. (2021) eliminuje tepelné opracování masných výrobků nesporogenní bakterie, nikoli však spory. Na rozdíl od BMK však nenacházejí zástupci

této bakteriální skupiny v prostředí nitra masných výrobků příznivé podmínky pro svůj růst, jejich populace zůstává na nízké úrovni, ale setrvává v produktech prakticky po celou dobu údržnosti.

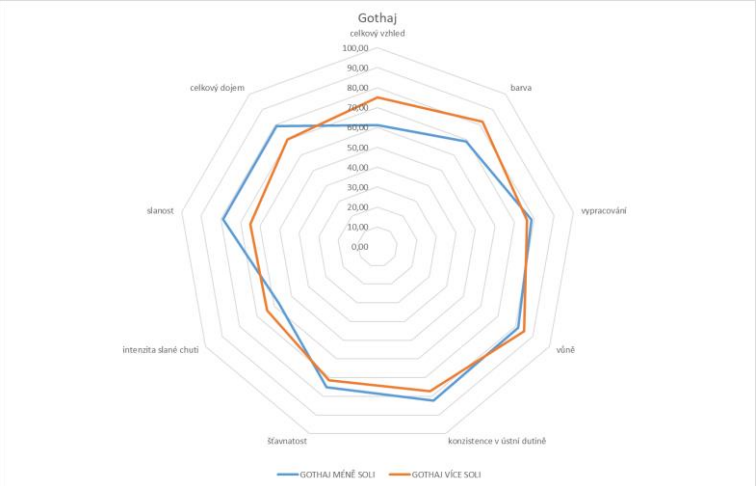
Tab. 2: Hodnoty celkového počtu mikroorganismů (CPM) ve vzorcích reformulovaných měkkých salámů se sníženým podílem soli po dobu tříměsíčního skladování při 4±1 °C a po termostatové zkoušce (údaje v log KTJ/g)

Vzorek	Měsíc odběru				*P*	IT 15 °C/7 dnů
	0	1	2	3		
Junior standard	1.40 ± 0.70	<1.00	<1.00	<1,00	0.015	2.18 ± 1.81
Junior reformul.	2.23 ± 1.40	1.98 ± 0.65	2.08 ± 0.70	2.53 ± 2.42		3.04 ± 2.82
Gothaj standard	1.54 ± 1.18	1.63 ± 0.40	1.00	<1.00	0.309	2.11 ± 2.06
Gothaj reformul.	<1.00	1.26 ± 1.10	1.48 ± 1.00	1.30 ± 1.00		1.74 ± 0.98

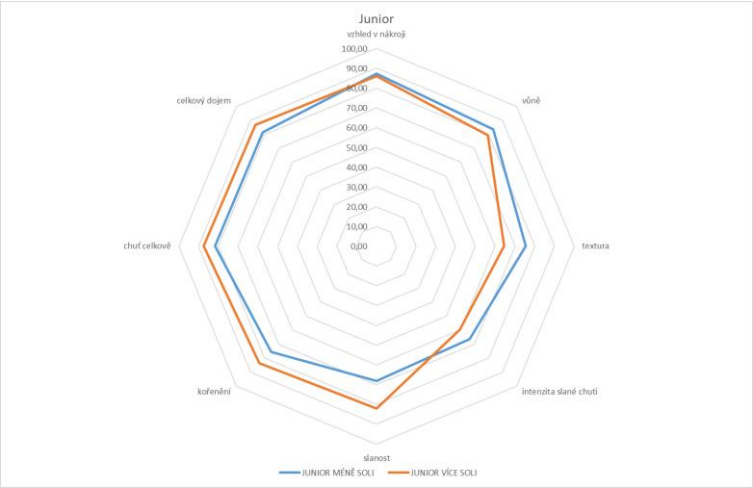
IT: termostatová zkouška, ve které byly salámy 7 dnů při 15 °C.

Z obr. 1 je zřejmé, že reformulovaný gothajský salám získal lepší hodnocení v parametrech slanost i celkový dojem. Také vzorek refomulovaného junior salámu získal lepší hodnocení v parametru textury, dále pak v intenzitě slané chuti a vůni (obr. 2).

Obr. 1: Výsledky senzorického hodnocení vzorků gothajského salámu (standardní produkt a produkt se sníženým podílem soli)



Obr. 2: Výsledky senzorického hodnocení vzorků gothajského salámu (standardní produkt a produkt se sníženým podílem soli)



ZÁVĚR

Závěrem lze konstatovat, že také produkty s podílem soli okolo 1,7 % (tj. snížení oproti standardu o 20-30 %) nepředstavují riziko z pohledu podpory růstu bakterií. Výsledky potvrdily závěry Aaslyng et al. (2014), že v tepelně opracovaných salámech lze snížit podíl soli z 2,2 na 1,7 %, aniž by tím byla negativně ovlivněná údržnost nebo bezpečnost finálních produktů. Reformulace masných výrobků nemusí působit ani zhoršení senzorických vlastností.

PODĚKOVÁNÍ

Tento výzkum byl financován projektem QK1910100; Program aplikovaného výzkumu Ministerstva zemědělství na období 2017-2025 ZEMĚ.

POUŽITÁ LITERATURA

1. Aaslyng, M. D., Vestergaard, C., Koch, A. G. (2014): The effect of salt reduction on sensory quality and microbial growth in hotdog sausages, bacon, ham and salami. *Meat Science*, 96, 47-55.
2. Di Vita, G., Blanc, S., Brun, F., Bracco, S., D´Amico, M. (2019): Quality attributes and harmful components of cured meats: Exploring the attitudes of Italian consumers towards healthier cooked ham. *Meat Science*, 155; 8-15
3. Fraqueza, M. J., Laranjo, M., Elias, M., Patarata, L. (2021): Microbiological hazards associated with salt and nitrite reduction in cured meat products: control strategies based on antimicrobial effect of natural ingredients and protective microbiota. *Current Opinion in Food Science*, 38:32-39

4. Martins, W. F., Longhi, D. A., de Aragão, G. M. F., Melero, B., Rovira, J., Diez, A. M. (2020): A mathematical modeling approach to the quantification of lactic acid bacteria in vakuum-packaged samples of cooked meat: Combining the TaqMan-based quantitative PCR method with the plate-count method. *International journal of Food Microbiology*, 318; 108466.
5. Neacsu, M., Vaughan, N., Raikos, V., Multari, S., Duncan, G. J., Duthie, G. G., Russell, W. R. (2015): Phytochemical profile of commercially available food plant powders: their potential role in healthier food reformulations. *Food Chemistry*, 179, 159-169.
6. Samelis, J., Kakouri, A., Rementzis, J. (2000): Selective effect of the product type and the packaging conditions on the species of lactic acid bacteria dominating the spoilage microbial association of cooked meats at 4 °C. *Food Microbiology*, 17, 329-340.
7. Shan, L. C., De Brún, A., Henchion, M., Li, C., Murrin, C., Wall, P. G., Monahan, F. J. (2017): Consumer evaluations of processed meat products reformulated to be healthier – A conjoint analysis study. *Meat Science*, 131, 82-89.
8. Vermeiren, L., Devlieghere, F., De Graef, V., Debevere, J. (2005): In vitro and *in situ*growth characteristics and behaviour of spoilage organisms associated withanaerobically stored cooked meat products. *Journal of Applied Microbiology*, 98, 33-42.
9. Vyhláška č. 69/2016 Sb., o požadavcích na maso, masné výrobky, produkty rybolovu a akvakultury a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich. In: ASPI. Wolters Kluwer ČR [vid 06-06-2022].

Kontaktní adresa: Josef Kameník, Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Veterinární univerzita Brno, Palackého třída, 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika; E-mail: kamenikj@vfu.cz

ZVYŠOVÁNÍ POHODY HOSPODÁŘSKÝCH ZVÍŘAT PŘI PORÁŽCE A ŘEŠENÍ PŘÍPADŮ WELFARE V CHOVECH

IMPROVING OF THE LIVESTOCK WELFARE AT SLAUGHTER AND WELFARE CASE MANAGEMENT ON FARMS

Koubková Marie, Sedláčková Lenka

Odbor veterinární hygieny a ochrany veřejného zdraví,
Ústřední veterinární správa Státní veterinární správy, Slezská 100/7, 120 00 Praha 2

ABSTRAKT

Welfare a ochrana hospodářských zvířat během jejich života na farmách se v posledních letech zlepšují. Přesto jsou nedořešené situace, a to především welfare zvířat na konci jejich produkčního života, přeprava na jatka, zacházení se zvířaty před porážkou a vlastní porážka. Jsou to citlivá témata, která si většina konzumentů masa ani nechce připustit. Proto je důležité nejen správně nastavit legislativní podmínky, ale také vytvořit nástroje, které ke zlepšení přispějí. To je jedním z cílů Státní veterinární správy České republiky (SVS ČR).

ABSTRACT

Welfare and protection of farm animals during their life on farms have improved in recent years. However, there are still outstanding issues, in particular welfare at the end of their productive life, transport to slaughterhouses, handling before slaughter and slaughter itself. Most consumers don't even want to acknowledge these sensitive issues. Therefore it is important not only to get the legislative conditions right, but also to create the tools that will contribute to improvements. This is one of the objectives of the State Veterinary Administration of the Czech Republic (SVS ČR).

Key words: animal welfare, animal transport, emergency slaughter, downer cow syndrome.

ÚVOD

Veřejnost a spolky na ochranu zvířat často upozorňují na případy nešetrného zacházení se zvířaty u pracovníků jatek a u chovatelů. Tyto kauzy jsou médii zveřejňovány a Státní veterinární správa České republiky (SVS ČR) je vyzývána k reakci a rychlému řešení těchto činů. Protože prevence je nejlepším způsobem, jak předcházet podobným situacím, SVS ČR soustavně pracuje na kontrole zlepšování zacházení se zvířaty v chovech i na jatkách, spolupracuje s jejich provozovateli a více do welfare zapojuje i soukromé veterinární lékaře (SVL).

PŘEPRAVA ZVÍŘAT NA JATKY A WELFARE PŘEPRAVY

Podle nařízení Rady (ES) č. 1/2005 o ochraně zvířat během přepravy a podle § 5b odst. 2 českého zákona č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání zvířata mohou být přepravována pouze tehdy, jsou-li pro plánovanou cestu způsobilá. To znamená, že se sama pohybují bez bolesti a pomoci, nemají velké otevřené rány ani výhřezy, v případě samic že nejsou březí ani neporodily v předcházejících 7 dnech a nevykazují žádné jiné příznaky, kvůli nimž by přeprava mohla způsobit zvířeti utrpení. Pouze SVL může posoudit způsobilost zvířete k přepravě.

V praxi se stává, že chovatelé posílají na jatky zvířata, která přepravy schopná nejsou a musí být poražena ve vozidle, ve kterém byla dopravena na jatky. Vyskytly se i případy, kdy byli pracovníci jatek přistiženi, jak zvířata tahají z vozů a k porážce zvířete dochází až v dosahu porážecí linky. Aby se takovému jednání zabránilo, je v připravované novele veterinárního zákona č. 166/1999 Sb., návrh na zavedení kamerového systému na jatkách.

SVS ČR ještě před tímto návrhem vytvořila vzorový formulář „Souhlas soukromého veterinárního lékaře s přepravou zraněného nebo vyčerpaného zvířete na jatky“. Tím byl vytvořen tlak na chovatele, aby pozvali SVL k posouzení způsobilosti k přepravě zejména u zvířat krátce po porodu. SVL samozřejmě může přepravu zamítnout a doporučit utracení nebo porážku přímo v chovu. Svým vzděláním je k těmto úkonům kvalifikován a chovatel pak k IPŘ přiloží osvědčení, které SVL vystavil.

Nebo může veterinář zvíře připravit tak, aby způsobilé k přepravě bylo, například repozicí výhřezu, a uvede to ve formuláři, který je poté přiložen k informaci o potravinovém řetězci (IPŘ). Použití formuláře je přitom dobrovolné, SVL může použít jiný formát dokumentu, kde vyjádří souhlas s přepravou. Úřední veterinární lékař (ÚVL) při vyšetření před porážkou na jatkách posoudí stav zvířete a zohlední informace zapsané ve formuláři.

Mnohá jatka jsou připravena poslat na farmu vozidlo pro poražené zvíře, tzv. mobilní jednotku pro částečnou porážku, která podléhá schválení KVS. Řidiči těchto vozidel zaměstnaní u jatek mohou v ČR získat kvalifikaci pro fixaci, omračování a porážení zvířat vykrvením ve speciálním studijním programu. SVS ČR ověřuje 2x ročně kvalifikace personálu jatek pro vykonávané činnosti, na velkých jatkách ÚVL úzce spolupracují s osobou pověřenou dodržováním pohody zvířat (AWO – animal welfare officer).

Těmito opatřeními SVS ČR dosáhla snížení výskytu případů přepravy nezpůsobilých zvířat a zlepšení jejich welfare. Výsledky uvedené v tabulce č. 1 svědčí o nárůstu porážek přímo v hospodářství od roku 2017 a o zodpovědnějším přístupu chovatelů ke zvířatům, jež nemohou být přepravena na jatky, aniž by trpěla.

Tabulka č. 1, Počty skotu poraženého mimo jatky nutnou porážkou v ČR

Rok	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
Počet ks skotu	2231	1042	3507	5143	4737	5524	7718

Vysoké počty nuceně poražených zvířat na jatkách jsou způsobeny převážně skotem, jak ukazuje tabulka č. 2. Stále je co zlepšovat.

Tabulka č. 2, Počty poražených zvířat v ČR v roce 2023 (červené maso)

Kategorie zvířat	**celkem poraženo**	**z toho nutně**	**% nutně**
telata	7 040	225	3,20
krávy	113 886	6 378	5,60
jalovice	29 309	543	1,85
ostatní skot	93 437	572	0,61
skot celkem	**243 672**	**7 718**	**3,17**
prasnice	42 684	63	0,15
ostatní prasata	2 147 664	87	0,00
celkem prasata	**2 190 348**	**150**	**0,01**
ovce, jehňata	8 282	7	0,08
kozy, kůzlata	1 177	1	0,08
koně, hříbata	67	4	5,97
celkem červené maso	**2 443 546**	**7 880**	**0,32**

ZANEDBÁNÍ PÉČE A NÁLEZY PŘI PROHLÍDCE NA JATKÁCH

ÚVL důsledně sledují welfare zvířat na jatkách od vykládky až po porážku, nevyhovující nálezy jsou zaznamenávány do porážkových protokolů. Při vykládce si všímají zdravotního stavu zvířat, porovnávají nálezy s údaji v dodané dokumentaci, zachovávají bdělost s ohledem na nákazy zvířat a zaznamenávají případy porušení welfare.

Případy zanedbaných až týraných zvířat se bohužel stále vyskytují, přestože mezi základní povinnosti chovatele patří naplňování potřeb zvířat, denní kontrola zdravotního stavu a potřebná veterinární péče. Častým nešvarem je právě nedostatečné ošetření nemocných nebo zraněných zvířat, soukromého veterinárního lékaře chovatel přivolá pozdě, nebo zvířata v zuboženém stavu rovnou posílají na jatka. Příklady dojnic s těžkými proleženinami nebo hluboce nekrotizovanou tkání po poranění se mezi nálezy na jatkách stále nacházejí.

Cílem SVS ČR je náprava takového jednání chovatelů. Nálezy na jatkách, které svědčí o případech porušení welfare zvířat, jsou komunikovány takzvaným „Zpětným hlášením“. V něm jsou identifikována zvířata a jejich chovatelé, popsán a zdokumentován nález. Zpětné hlášení je předáváno pracovníkům Odboru ochrany zdraví a pohody zvířat příslušné Krajské veterinární správy k došetření. Šetření v chovu má za cíl odhalit možná porušení a vyžadovat nápravná opatření.

OSVĚTA JE DALŠÍM NÁSTROJEM PRO ZLEPŠOVÁNÍ POHODY ZVÍŘAT

Na poradě SVS ČR v prosinci roku 2023 byly prezentovány možnosti řešení problému ulehlých krav. Pokud se kráva nemůže postavit a stát, například po porodu, úrazu nebo rozčísnutí při uklouznutí, chovatelé se ji nejčastěji snaží zvednout tzv. „motýlkem“, neboli pánevním zvedákem (Obrázek č. 1). Tento způsob je nešetrný, a pokud není použit dokud zvíře ovládá své končetiny, tak je neúčinný.

Obrázek č. 1, Pánevní zvedák



Moderní metoda záchrany zvířat, která se sama nemohou postavit, je komplex záchranné sítě v kombinaci se zařízením udržujícím stabilitu stojícího zvířete. Původně bylo zařízení vyrobeno pro koně pod názvem EQUIVET Sling firmou Kruuse, doplňuje ho profesionální záchranářská trojnožka SKEDCO se souborem lanového kladkostroje, brzdy a pádového zachycovače (Obrázek č. 2). V ČR už byla tato metoda použita i u krav a věříme, že budou přibývat chovatelé, kteří ji budou mít k dispozici. Použití tohoto zařízení bude součástí prezentace na konferenci.

Obrázek č. 2, trojnožka SKEDCO Tripod



ZÁVĚR

Ačkoli výše zmíněné aktivity a rostoucí požadavky na welfare zvířat zpočátku vyvolaly diskuzi a částečně i negativní reakce, výsledný efekt byl veskrze pozitivní. Všechny zúčastněné strany více dbají na welfare zvířat, na jatka je přepravováno méně zvířat, která nejsou způsobilá, zdraví a pohodě zvířat je věnována větší péče v chovech i na jatkách, SVL jsou více zapojeni do péče o nemocná a zraněná zvířata i do rozhodování o jejich způsobilosti pro přepravu.

PODĚKOVÁNÍ

V souvislosti se zlepšováním welfare zvířat přepravovaných na porážku si poděkování zaslouží Český svaz zpracovatelů masa, Českomoravská společnost chovatelů a.s. a Komora veterinárních lékařů ČR, jež se podílely na šíření osvěty, a tím urychlily změny vedoucí ke zlepšení zdraví a pohody zvířat při přepravě a porážení.

POUŽITÁ LITERATURA

1. Gavriněv, V. 2023. Spolek tajně natočil zaměstnance jatek při krutém trýznění zvířat [online] https://www.seznamzpravy.cz/clanek/domaci-zivot-v-cesku-skryte-zabery-z-jatek-zranena-zvirata-biti-kopani-a-elektrosoky-233032
2. Gleerupa, K.B., Andersenb P.H., Munksgaardc L., Forkmanaa B.2015: *Pain evaluation in dairy cattle*. Applied Animal Behaviour Science 171, 25–32.
3. Kameník J. a kol.: Maso jako potravina, VFU Brno, Časopis Maso 2014, ISBN: 978-80-7305-673-5

4. Nařízení Rady (ES) č. 1/2005 o ochraně zvířat během přepravy [online] https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A32005R0001&qid=1711547580075
5. Nařízení Rady (ES) č. 1099/2009 ze dne 24. září 2009 o ochraně zvířat při usmrcování https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A32009R1099&qid=1711371014304
6. Steinhauser L. a kol.: Produkce masa, Vydavatelství potravinářské literatury Steinhauser – Last, Tišnov 2000, ISBN 80-900260-7-9
7. Tisková zpráva SVS ČR „Nucených porážek zvířat přímo na hospodářstvích v posledních letech přibývá, přístup chovatelů se zlepšuje“ dne 14.11.2023 [online] https://www.svscr.cz/nucenych-porazek-zvirat-primo-na-hospodarstvich-v-poslednich-letech-pribyva-pristup-chovatelu-se-zlepsuje/
8. Tisková zpráva SVS ČR „Státní veterinární dozor v roce 2023“, dne 31.1.2024 [online] https://www.svscr.cz/statni-veterinarni-dozor-v-roce-2023/
9. Vzorový formulář „*Souhlas soukromého veterinárního lékaře s přepravou zraněného nebo vyčerpaného zvířete na jatky*“, https://www.svscr.cz/formulare-ke-stazeni/soukromi-veterinarni-lekari/
10. Zákon č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů. In: ASPI [právní informační systém]. Wolters Kluwer ČR [vid. 27.3.2024]
11. Zákon č. 246/1992 Sb. na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů. In: ASPI [právní informační systém]. Wolters Kluwer ČR ČR [vid. 27.3.2024]

Kontaktní adresa: Koubková Marie, Department of Food Hygiene and Technology, State Veterinary Administration, Slezská 100/7, 120 00 Prague, Czech Republic; E-mail: m.koubkova@svscr.cz

REZISTENCIA IZOLÁTOV *SALMONELLA* SPP. POCHÁDZAJÚCICH Z MÄSA VOČI ANTIMIKROBIÁLNYM LÁTKAM

ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF *SALMONELLA* SPP. STRAINS ISOLATED FROM MEAT

Kubicová Zuzana, Mojžišová Andrea

Štátny veterinárny a potravinový ústav v Dolnom Kubíne, Jánoškova 1611/58, 026 01 Dolný Kubín, Slovenská republika

ABSTRACT

Salmonella spp. is the most common cause of foodborne diseases and also a rising problem for increased occurance of multi drug resistant strains. In 2023 State Veterinary and Food Institute in Dolny Kubin collected 26 *Salmonella* spp. strains from meat (poultry and pork) and analysed their serotypes, MLST profiles and antimicrobial resistance using microdilution method and also whole genome sequencing (WGS). Our results suggests that 34,6% (9/26) of all tested strains can be considered as multiresistant. These strains belonged to Infantis and Newport serotypes and were isolated from the chicken meat. They rendered to be resistant to antimicrobial classes of aminoglycosides, beta-lactams, fluoroquinolones, folate pathway antagonist and tetracyclines. In addition, seven isolates of Infantis serotype carried a *qacE* gene responsible for the resistance to several disinfectants.

Key words: serotyping, antimicrobial resistance, *Salmonella*, meat

ÚVOD

Podľa výročnej správy, ktorú každoročne publikuje EFSA a ECDC (EFSA and ECDC A, 2022) je *Salmonella* spp. druhou najčastejšou príčinou zoonotických ochorení a na prvom mieste sa umiestnila ako najčastejšie hlásená príčina outbreakov v EÚ. V súčasnosti je však jedným z najdôležitejších svetových problémov súvisiacich s humánnym zdravím rezistencia izolátov *Salmonella* spp. voči antimikrobiálnym látkam (EFSA and ECDC B, 2022). Dáta z EÚ ukazujú, že výskyt rezistencie izolátov *Salmonella* spp. pochádzajúcich zo zvierat sa nápadne podobá výskytu rezistencie reportovanej u humánnych izolátov *Salmonella* spp. a u izolátov z rôznych potravín. V rámci Národného programu sledovania rezistencie voči antimikrobiálnym látkam v roku 2023 bolo izolovaných 26 *Salmonella* spp. pochádzajúcich z mäsa, ktoré boli Doplnkom č. 2 k Metodickému pokynu pre Národný program sledovania rezistencie voči antimikrobiálnym látkam určené na sekvenovanie celého genómu (WGS) a následnú analýzu rezistenčných genotypov.

MATERIÁL A METODIKA

Izoláty *Salmonella* spp. boli získané podľa najnovšej verzie platnej ISO normy – ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020: Mikrobiológia potravinového reťazca. Horizontálna metóda pre detekciu, kvantifikáciu a serotypizáciu *Salmonella* spp. Časť 1: Detekcia *Salmonella* spp. Stanovenie mikrobiálneho profilu pozitívnych izolátov *Salmonella* spp. vychádzalo z Vykonávacieho Rozhodnutia Komisie (EÚ) 2020/1729 o monitorovaní a ohlasovaní antimikrobiálnej rezistencie v prípade zoonotických a komenzálnych baktérií a vykonalo sa podľa ISO 20776-1:2021: Testovanie citlivosti infekčných agens. Časť 1: Mikrodilučná referenčná metóda na testovanie in vitro aktivity mikrobiálnych látok voči rýchlo rastúcim aeróbnym baktériám podieľajúcim sa na infekčných ochoreniach.

3-4 dobre vyrastené kolónie bakteriálneho izolátu *Salmonella* spp. sa preniesli do 0,95% fyziologického roztoku. Suspenzia sa upravila na 0,5˚McFarlanda, čo predstavovalo hustotu buniek cca 1-2.10^8 KTJ/ml. Následne sa mikropipetou prenieslo alikvotné množstvo inokula do pripraveného Mueller-Hinton bujónu. Takto pripravenou bakteriálnou zmesou sa inokulovala mikrotitračná platnička (EUVSEC3 Sensititre, Thermofisher, UK). Naočkované platničky sa zakryli viečkom príp. fóliou na ochranu proti vyparovaniu a inkubovali 16-20h, 36°C +/-1°C. Po uplynutí kultivačného času sa mikrotitračné platničky vyhodnotili v súlade s vyššie spomenutým Vykonávacím Rozhodnutím Komisie (EÚ) 2020/1729.

Sekvenačné dáta boli získane dvoma spôsobmi: sekvenáciou v Eurofins (Nemecko, Illumina - NovaSeq) a sekvenáciou vo VPÚ DK (Illumina - iSeq 100) podľa nižšie uvedených postupov. Bioinformatická analýza získaných sekvencií sa uskutočnila vo VPÚ DK.

Izolácia DNA z izolátov *Salmonella* spp.: 1 bakteriálna kolónia *Salmonella* spp. bola odobratá z pevného kultivačného média do 10 ml BHI a kultivovaná pri 37°C 18 hodín. DNA bola následne izolovaná z 1 ml BHI pomocou komerčne dostupnej súpravy: DNeasy Blood & Tissue kit (Qiagen, Germany) podľa inštrukcií výrobcu. Vyizolovaná DNA bola vyhodnotená kvalitatívne aj kvantitatívne pomocou spektrofotometra NanoDrop One (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) a fluorometra Quantus (Promega, Madison, WI).

Príprava genómových knižníc: Genómové knižnice boli pripravené pomocou Nextera XT DNA Library Preparation Kit (Illumina) a Nextera XT Index Kit (Illumina) s duálnymi indexmi (i5 a i7) podľa inštrukcií výrobcu. Pripravené knižnice boli kvantifikované fluorometricky na prístroji Quantus (Promega, Madison, WI).

Celogenómové sekvenovanie (Illumina, iSeq 100): Vstupná koncentrácia zmesnej knižnice (poolu) nanášaná priamo do reagenčnej kazety prístroja iSeq 100 predstavovala koncentráciu 150 pM. Pooly boli pripravené zmiešaním maximálne 3 bakteriálnych izolátov do

jedného sekvenačného behu. Sekvenovanie prebiehalo približne 19 hodín s použitím nastavení pre paired-end sekvenáciu a čítanie 2 x 150 bp.

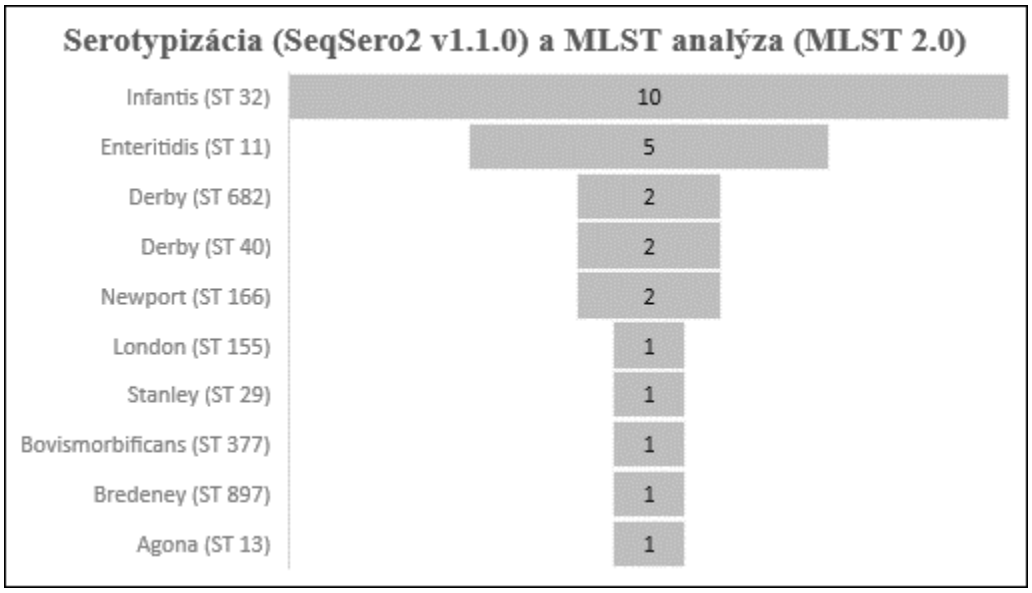
Bioinformatická analýza získaných sekvenačných dát: Sekvenačné dáta boli uložené na serveri VPÚ DK. Surové sekvenačné čítania vo formáte fastq.gz boli kvalitatívne vyhodnotené pomocou softvéru FastQC (Andrews, 2010) a vyčistené pomocou Trimmomatic 0.38 (Bolger *et al*., 2014). Kontrola kontaminácie dát prebehla v databáze kraken2 (2.0.7) (Wood *et al*., 2019). *De novo* assembly genómov sa uskutočnilo použitím SPAdes 3.13.0 assemblera (Bankevich *et al*., 2012) a získané draft genómy boli kvalitatívne hodnotené pomocou nástroja Quast (Gurevich *et al*., 2013). Na zisťovanie génov rezistencie voči antimikrobiálnym látkam a predikciu fenotypu z WGS dát bol použitý nástroj ResFinder (4.4.2) s predvolenými nastaveniami z draft genómov (Bortolaia et al., 2020). MLST analýza sa uskutočnila využitím nástroja MLST 2.0 z draft genómov (Larsen *et al.,* 2012). Na sérotypizáciu sa využil nástroj SeqSero2 v1.1.0 s nastaveniami pre paired-end sekvencie a modul microassembly (Zhang et al., 2019). Fylogenetická analýza sa uskutočnila pomocou chewBBACA Allele Call (Rossi *et al.*, 2018; Silva *et al.,* 2018) a vizualizácia výsledkov prebehla v programe GrapeTree (Zhou *et al.*, 2018).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Sérotypizácia a MLST analýza (7 loci - *aroC, dnaN, hemD, hisD, purE, sucA, thrA*) *Salmonella* spp. izolátov z WGS dát

26 izolátov *Salmonella* spp. bolo pomocou nástroja SeqSero2 v1.1.0 a MLST 2.0 rozdelených medzi 9 sérotypov a 10 sekvenčných typov (ST). Najväčšiu skupinu tvorili izoláty *Salmonella* Infantis ST 32 (10/26; 38,5%), ktoré boli najčastejšie izolované z kuracieho mäsa, nasledovali izoláty *Salmonella* Enteritidis ST 11 (5/26; 19,2%) izolované taktiež z kuracieho mäsa, *Salmonella* Derby (4/26; 15,4%) dvoch sekvenčných typov – ST 682 a ST 40 (2/26; 7,7%) pochádzajúca z bravčového mäsa. V roku 2023 bola izolovaná aj *Salmonella* Newport ST 166 (2/26; 7,7%) pôvodom z kuraciny a kuracej pečene a sporadicky sa vyskytli aj sérotypy *Salmonella* London ST 155 (kačacia polievková zmes), *Salmonella* Stanley ST 29 (mleté morčacie mäso), *Salmonella* Bovismorbificans ST 377 (kuracie stehná), *Salmonella* Bredeney ST 897 (mleté bravčové mäso) a *Salmonella* Agona ST 13 (kuracie stehná) (každý 1/26; 3,8%) (Obrázok č.1). Najčastejšie izolované sérotypy z potravín v roku 2023 (Infantis, Enteritidis a Derby) patria medzi „top 5“ sérotypov v humánnej klinike. *S.* Enteritidis a *S.* Infantis je najčastejšie reportovaným sérotypom u nosníc a brojlerov a *S.* Derby u prasiat, čo koreluje aj s našimi zisteniami (EFSA a ECDC A, 2022).

Obrázok č. 1, Grafické znázornenie výsledkov sérotypizácie a 7-loci MLST analýzy 26 izolátov *Salmonella* spp.



Detekcia génov zodpovedných za rezistenciu voči antimikrobiálnym látkam u izolátov *Salmonella* pomocou WGS dát a porovnanie s fenotypovým prejavom

Celkovo bolo medzi 26 izolátmi *Salmonella* spp. detegovaných 18 génov alebo mutácií v génoch zodpovedných za rezistenciu voči antimikrobiálnym a dezinfekčným látkam, ktoré boli porovnané s prejavmi rezistencie na úrovni fenotypu (Tabuľka č.2). Predikcia fenotypových prejavov na základe WGS dát je znázornená v Tabuľke č.1. Najnižšie zastúpenie génov rezistencie bolo u sérotypov Enteritidis a Bovismorbificans, najväčšie, naopak, u Infantis a Newport. U siedmych izolátov *S.* Infantis a dvoch *S.* Newport (9/26; 34,6%) sa jedná o multirezistenciu. Rezistencia voči fluorochinolónom, determinovaná geneticky, bola prítomná najčastejšie (u vyše 70% izolátov) a takmer vo všetkých sérotypoch. V skupine izolátov patriacich k sérotypu Infantis bola zistená aj rezistencia voči kvartérnym amóniovým zlúčeninám.

Rezistencia voči aminoglykozidom: Všetkých 26 izolátov obsahovalo gén *aac(6´)-Iaa,* zodpovedný za rezistenciu voči tobramycínu a amikacínu. Ide však o kryptický („silent“) gén rodu *Salmonella,* preto sa nepredpokladá jeho fenotypový prejav. Ďalšie determinanty rezistencie voči aminoglykozidom sa vyskytovali u sérotypov Infantis a Newport – gén *aadA1* (= *ant(3´´)Ia*) kódujúci rezistenciu voči streptomycínu a spektinomycínu bol prítomný u 6 izolátov *S.* Infantis (6/10; 60%) a u obidvoch izolátov *S.* Newport (2/2; 100%). Gén *aph(3´)-Ia,* ktorý zodpovedá za rezistenciu voči kanamycínu, neomycínu, lividomycínu, paromomycínu a

ribostamycínu sa vyskytol len ojedinele, u jedného izolátu *S. Infantis* (1/10; 10%) a u jedného izolátu *S.* Newport (1/2; 50%).

Z pohľadu fenotypového prejavu sa mikrodilučnou metódou zo skupiny aminoglykozidov sledovala minimálna inhibičná koncentrácia (MIC) pre gentamicín. Žiadny z testovaných izolátov nevykazoval hladinu MIC >2µg/mL, čo koreluje s výsledkami WGS, pomocou ktorého neboli identifikované gény kódujúce rezistenciu voči gentamicínu.

Rezistencia voči beta-laktámom: Rezistencia voči beta-laktámovým antibiotikám bola zaznamenaná u dvoch sérotypov – *S.* Infantis (2/10; 20%) a *S.* Newport (1/2; 50%) – v obidvoch prípadoch bol prítomný gén *blaTEM-1B,* lokalizovaný na bakteriálnom plazmide, transferabilný v rámci druhu aj medzidruhovo (Michael *et al.,* 2006). Gén kódujúci rezistenciu voči amoxicilínu, ampicilínu, piperacilínu, tikarcilínu a cefalotínu sa u všetkých pozitívnych izolátov exprimoval, a teda prejavil sa aj fenotypovo, čo sa prejavilo dosiahnutou hladinou MIC pre ampicilín >32µg/mL.

Rezistencia voči fluorochinolónom: 77% zo všetkých izolátov (20/26) mala vo svojom genóme determinant rezistencie voči fluorochinolónom (ciprofloxacín a kyselina nalidixová). Genetické pozadie tejto rezistencie sa vyskytovalo u všetkých sérotypov okrem *S.* Bovismorbificans, nie však všetky genetické determinanty sa prejavili aj na úrovni fenotypu. Všetkých 10 izolátov *S.* Infantis bolo rezistentných voči fluorochinolónom. Najväčšia časť (8/10; 80%) mala zároveň mutáciu v génoch *gyrA* (p.S83Y) a *parC* (p.T57S). Ostatné dva izoláty *S.* Infantis mali rezistenciu voči chinolónom determinovanú buď génom *qnrS1*, *qnrB19* alebo mutáciami v génoch *gyrA* (p.D87G) a *parC* (p.T57S). Iba dva izoláty serotypu *S. Enteritidis* (2/5; 40%) boli rezistentné voči fluorochinolónom – niesli mutáciu v géne *gyrA* (p.S83Y). Polovica izolátov *S.* Derby – ST 40 mala rezistenciu voči fluorochinolónom determinovanú mutáciou v géne *parC* (p.T57S). Táto mutácia však samostatne nevyvoláva vysokú mieru rezistencie voči fluorochinolónom, spája sa len so zníženou citlivosťou voči ciprofloxacínu (Eaves *et al.,* 2004). Obidva izoláty *S.* Newport boli rezistentné voči ciprofloxacínu a kyseline nalidixovej – v ich genómoch boli zistené mutácie v génoch *gyrA* (p.S83Y) a *parC* (p.T57S), jeden z izolátov navyše niesol aj gén *qnrS1*. Izoláty *S.* London, Stanley, Bredeney a Agona mali všetky mutáciu v géne *parC* (p.T57S), ktorá samostatne rezistenciu nespôsobuje, pričom izolát *S.* Stanley mal navyše ešte mutáciu v géne *gyrA* (pD87Y) – fenotypo sa prejavila len rezistencia voči kys. nalidixovej. Izoláty salmonel s totožným genotypom a fenotypom boli opísané aj v práci Bae *et al.*, 2013.

Najčastejším mechanizmom rezistencie baktérií čeľade *Enterobacteriaceae* voči fluorochinolónom je buď chromozomálna mutácia v QRDR regióne (quinolone resistance-determining region) génov *gyrA, gyrB, parC* a *parE* topoizomerázy, chromozómom kódovaný

eflux mechanizmus alebo *qnr* plazmidom kódovaná rezistencia (Jacoby, 2005). Fenotypový prejav fluorochinolónovej chromozomálnej rezistencie s prítomnosťou mutácii v *gyrA* a *parC* génoch bol detegovaný u izolátov, ktoré dosiahli hladinu rezistencie voči kyseline nalidixovej MIC >64µg/mL. V 5 prípadoch bola prítomná len mutácia v géne *parC* (p.T57S), ale nezaznamenala sa, na úrovni fenotypu, rezistencia voči fluorochinolónom, čo je v súlade so zisteniami v práci Eaves *et al.* 2004. V prípade rezistencie voči ciprofloxacínu je to rovnako, pokiaľ nedôjde k mutácii v *gyr*A géne, samostatne prítomná mutácia génu *par*C nedokáže kódovať rezistenciu voči ciprofloxacínu a rezistencia sa na úrovni fenotypu neprejaví. Plazmidom kódovaná rezistencia voči fluorochinolónom sa fenotypovo prejavuje pri MIC ciprofloxacín >1µg/mL, čo koreluje aj s výsledkami WGS, kde v prípade dosiahnutej hladiny MIC>1µg/mL bol aj detegovaný gén *qnr*B alebo *qnr*S.

Rezistencia voči látkam inhibujúcim syntézu kyseliny listovej: 34,6% všetkých izolátov (9/26) bolo rezistentných voči látkam spôsobujúcim inhibíciu syntézy kyseliny listovej. 7 izolátov patrilo k serovaru *S.* Infantis – 7 z nich bolo rezistentných voči sulfametoxazolu (*sul1*) a 1 izolát *S.* Infantis bol rezistentný voči sulfametoxazolu a trimetoprimu (*sul1, dfrA14*). Obidva izoláty *S.* Newport niesli gén *sul2* kódujúci rezistenciu voči sulfametoxazolu.

Mechanizmom rezistencie voči sulfonamidom je inhibícia enzýmu, zodpovedného za syntézu kyseliny listovej (Pavelquesi *et al*, 2021). Gény *sul1*, *sul2* kódujúce tento typ rezistencie prítomné v jednotlivých izolátoch sa prejavili aj fenotypovo a to vysokou hladinou rezistencie s MIC sulfametoxazol >512µg/mL. V prípade jedného izolátu sa exprimoval aj gén *dfrA14*, čo sa prejavilo vysokou hladinou MIC voči trimetoprimu >16µg/mL.

Rezistencia voči tetracyklínom: 34,6% všetkých izolátov (9/26) bolo rezistentných voči tetracyklínovým antibiotikám – ich genóm niesol gén *tet(A)* kódujúci rezistenciu voči tetracyklínu a doxycyklínu (7 izolátov *S.* Infantis a 2 izoláty *S.* Newport).

Genotypový profil tetracyklínovej rezistencie plne koreluje s výsledkami fenotypovými, kde prítomnosť génu kódujúceho rezistenciu voči tetracyklínu bola potvrdená aj vysokou hladinou rezistencie s MIC >32µg/mL.

Mikrodilučnou metódou sa sledoval profil mikrobiálnej rezistencie aj voči ostatným testovaným antimikrobiálnym látkam a to: Azitromycin (AZI), Amikacin (AMI), Tigecyklin (TGC), Ceftazidim (TAZ), Cefotaxim (FOT), Kolistin (COL), Chloramfenikol (CHL) a Meropenem (MER). Žiadny testovaný izolát *Salmonella* spp. nevykazoval rezistenciu voči týmto antiinfektívam, čo súhlasí s výsledkami WGS, keďže neboli prítomné žiadne gény, kódujúce príslušné mechanizmy rezistencie. Ostatný typ rezistencie a to voči fosfomycínom,

linkozamidom, makrolidom, streptogramínom B a dezinfekčným látkam (kvartérne amóniové zlúčeniny) nebol na úrovni fenotypu testovaný.

Rezistencia voči fosfomycínom: Voči fosfomycínom boli rezistentné iba 2 izoláty *S.* Derby – ST 40 a 1 izolát *S.* Agona (3/26; 12%) – niesli gén *fosA7*.

Rezistencia voči linkozamidom, makrolidom a streptogramínom B: Jeden izolát *S.* Infantis niesol gén *erm(B)* kódujúci rezistenciu voči linkomycínu, klindamycínu, erytromycínu, chinupristínu, pristiniamycínu a virginiamycínu. Ďalší izolát *S.* Infantis obsahoval gén *lnu(G)* kódujúci rezistenciu voči linkomycínu.

Rezistencia voči dezinfekčným látkam (kvartérne amóniové zlúčeniny): 27% izolátov (7/26) – všetky patriace do najpočetnejšieho serotypu *S.* Infantis obsahovalo vo svojom genóme gén *qacE*, ktorý je zodpovedný za rezistenciu voči kvartérnym amóniovým zlúčeninám (benzalkonium chlorid, etídium bromid, chlórhexidín, cetylpyridíniumchlorid), medzi ktoré patria viaceré dezinfekčné látky používané na farmách aj v potravinových prevádzkach na čistenie a dezinfekciu (Kawai *et al.*, 2019).

Tabuľka č.1, Prehľad predikcie rezistenčných fenotypov z WGS dát.

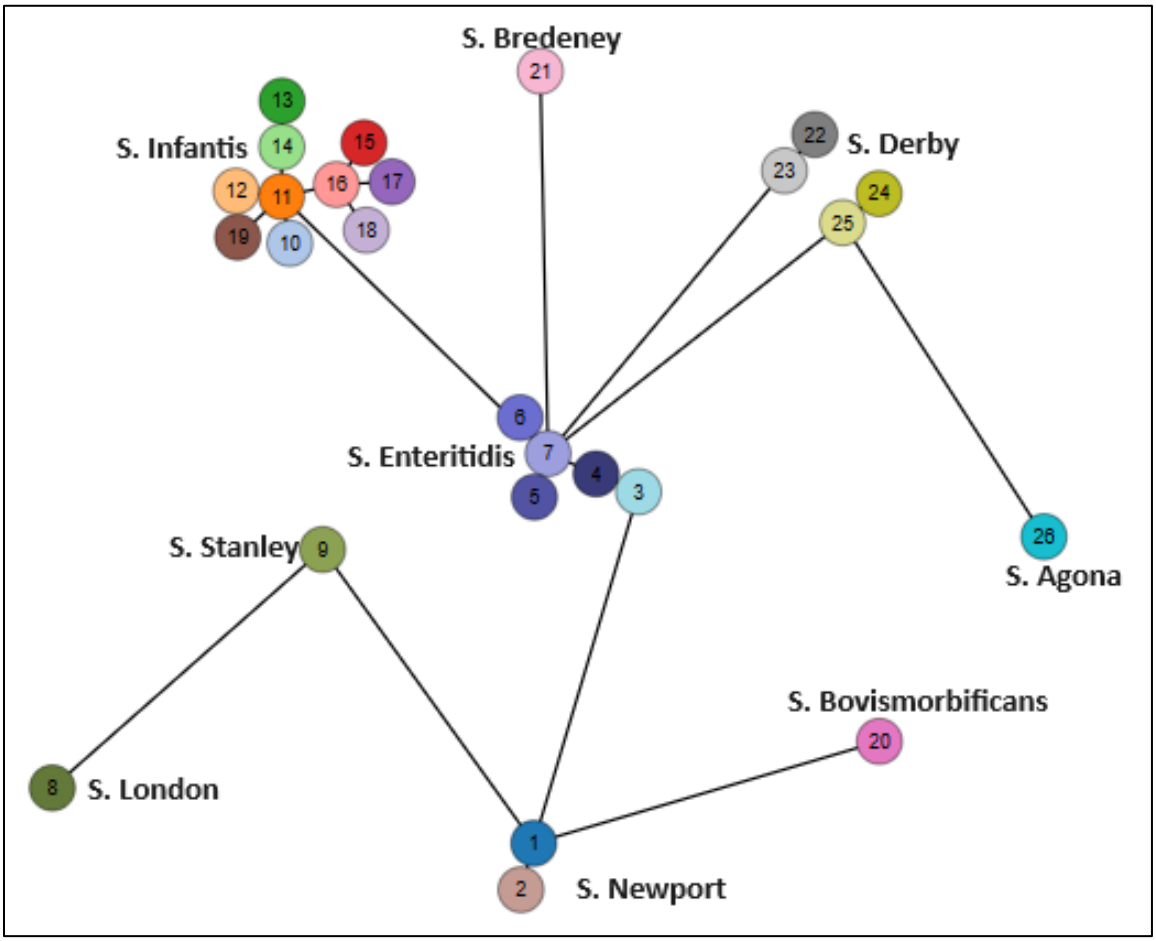
Antibiotikum alebo dezinfekčná látka	*S.* Infantis (n=10)	*S.* Enteritidis (n=5)	*S.* Derby (n=4)	*S.* Newport (n=2)	*S.* London (n=1)	*S.* Stanley (n=1)	*S.* Bovismorbificans (n=1)	*S.* Bredeney (n=1)	*S.* Agona (n=1)
tobramycín amikacín	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
streptomycín spektinomycín	**6 (60%)**	0 (0%)	0 (0%)	**2 (100%)**	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
kanamycín neomycín lividomycín paromomycín ribostamycín	**1 (10%)**	0 (0%)	0 (0%)	**1 (50%)**	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
amoxicilín ampicilín piperacilín tikarcilín cefalotín	**2 (20%)**	0 (0%)	0 (0%)	**1 (50%)**	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
ciprofloxacín kyselina nalidixová	**10 (100%)**	**2 (40%)**	0 (0%)	**2 (100%)**	0 (0%)	**1 (100%)**	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
sulfametoxazol	**7 (70%)**	0 (0%)	0 (0%)	**2 (100%)**	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
trimetoprim	**1 (10%)**	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
tetracyklín doxycyklín	**7 (70%)**	0 (0%)	0 (0%)	**2 (100%)**	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
fosfomycín	0 (0%)	0 (0%)	**2 (50%)**	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	**1 (100%)**
linkomycín	**2 (20%)**	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
klindamycín erytromycín chinupristín pristiniamycín virginiamycín	**1 (10%)**	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
benzalkonium chlorid etídium bromid chlórhexidín cetylpyridíniumchlorid	**7 (70%)**	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

Tabuľka č.2, Genetické determinanty rezistencie identifikované pomocou ResFinder (4.4.2) a prejavy rezistencia na úrovni fenotypu.

č. izolátu	sérovar	MLST	genotyp/fenotyp (G/F)	Aminoglykozidy			Beta-laktámy	Fluorochinolóny					Inhibítory syntézy k. listovej			Tetracyklíny	Fosfomycíny	Linkozamidy Makrolidy Streptogramíny B			Kvartérne amóniové zlúčeniny
				aac(6')-Iaa cryptic gene	aadA1 = ant(3'')-Ia	aph(3')-Ia	blaTEM-1B	gyrA p.D87Y mutácia	gyrA p.D87G	gyrA p.S83Y mutácia	parC p.T57S mutácia	qnrB19	qnrS1	sul 1	sul2	dfrA14	tet(A)	fosA7	erm(B)	lnu(G)	qacE
				sledovaný fenotyp GEN			fenotyp AMP	fenotyp NAL, CIP						fenotyp TMP, SMX			fenotyp TET	fenotyp sa nesledoval			
1	Newport	ST166	G																		
			F	<0,5C			>32R	>64R, 4R						1C, >512R			>32R				
2			G																		
			F	<0,5C			2C	>64R,0,5R						<0,25C, >512R			>32R				
3	Enteritidis	ST11	G																		
			F	<0,5C			<1C	>64R, 0,25R						<0,25C, 32C			<2C				
4			G																		
			F	<0,5C			2C	>64R, 0,25R						0,5C, 64C			<2C				
5			G																		
			F	<0,5C			<1C	<4C, <0,015C						<0,25C, 64C			<2C				
6			G																		
			F	<0,5C			2C	<4C, <0,015C						0,5C, 32C			<2C				
7			G																		
			F	<0,5C			2C	<4C, <0,015C						0,5C, 32C			<2C				
8	London	ST155	G																		
			F	<0,5C			2C	<4C, 0,03C						0,5C, 64C			<2C				
9	Stanley	ST29	G																		
			F	<0,5C			<1C	>64R, 0,12C						<0,25C, 32C			<2C				
10	Infantis	ST32	G																		
			F	<0,5C			<1C	>64R, 0,5R						<0,25C, 32C			<2C				
11			G																		
			F	<0,5C			2C	>64R, 0,25R						<0,25C, <8C			<2C				
12			G																		
			F	<0,5C			2C	64R, 0,25R						<0,25C, <8C			<2C				
13			G																		
			F	<0,5C			2C	>64R, 0,25R						<0,25C, >512R			>32R				
14			G																		
			F	<0,5C			2C	>64R, 0,25R						<0,25C, >512R			>32R				
15			G																		
			F	<0,5C			2C	>64R, 0,5R						<0,25C, >512R			>32R				
16			G																		
			F	<0,5C			2C	>64R, 0,5R						<0,25C, >512R			>32R				
17			G																		
			F	<0,5C			2C	>64R, 0,5R						<0,25C, >512R			>32R				
18			G																		
			F	1C			>32R	>64R, 4R						<0,25C, >512R			>32R				
19			G																		
			F	<0,5C			>32R	>64R, 1R						>16R, >512R			>32R				
20	Bovismorbificans	ST377	G																		
			F	<0,5C			<1C	<4C, <0,015C						<0,25C, 64C			<2C				
21	Bredeney	ST897	G																		
			F	<0,5C			2C	8C, 0,06C						0,5C, 32C			<2C				
22	Derby	ST682	G																		
			F	<0,5C			<1C	<4C, <0,015C						<0,25C, 32C			<2C				
23			G																		
			F	<0,5C			<1C	<4C, <0,015C						<0,25C, 32C			<2C				
24		ST40	G																		
			F	<0,5C			2C	<4C, <0,015C						0,5C, 32C			<2C				
25			G																		
			F	<0,5C			2C	<4C, <0,015C						0,5C, 32			<2C				
26	Agona	ST13	G																		
			F	<0,5C			<1C	<4C, <0,015C						0,5C, 32			<2C				

Fylogenetická príbuznosť medzi izolátmi *Salmonella*

Príbuznosť medzi jednotlivými izolátmi *Salmonela* bola určená pomocou cgMLST analýzy založenej na 3255 lokusoch (chewBBACA Allele Call) (Rossi *et al*., 2018; Silva *et al*., 2018) s vizualizáciou dát pomocou GrapeTree – MSTree V2 (Zhou *et al*., 2018) (Obrázok č.2).



Obrázok č. 2, Minimum spanning tree (MST) 26 izolátov *Salmonella* skonštruovaný z cgMLST dát (GrapeTree – MSTree V2) (Zhou *et al*., 2018).

Vo všeobecnosti boli alelické rozdiely medzi jednotlivými sérotypmi veľké, vo väčšine prípadov predstavovali viac ako 2900 alelických rozdielov. Najväčší počet alelických rozdielov (3049) bol medzi sérotypmi Agona a Newport.

Diverzita v rámci najpočetnejšieho sérotypu *S.* Infantis predstavovala 0-84 alelických rozdielov medzi jednotlivými izolátmi (Tabuľka č.3).

Tabuľka č.3, Počet alelických rozdielov medzi 10 izolátmi *S.* Infantis (distance matrix)

č. izolátu	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
10	0	0	3	4	7	38	49	52	57	77
11	0	0	0	7	10	41	52	56	61	80
12	3	0	0	10	13	44	55	59	64	83
13	4	7	10	0	0	42	53	57	63	82
14	7	10	13	0	0	45	56	60	66	84
15	38	41	44	42	45	0	1	36	21	60
16	49	52	55	53	56	1	0	47	32	71
17	52	56	59	57	60	36	47	0	56	75
18	57	61	64	63	66	21	32	56	0	78
19	77	80	83	82	84	60	71	75	78	0

ZÁVER

Zo získaných dát je zrejmé, že mäso, najmä kuracie, je relevantným zdrojom baktérií rodu *Salmonella* spp. Z 26 izolátov pochádzajúcich z mäsa bolo 38,5% (n=10) zaradených pomocou sérotypizácie z WGS dát do sérotypu Infantis a sekvenčného typu 32 (ST 32). Výsledky testovania rezistencie voči antimikrobiálnym látkam na úrovni genotypu, ale aj fenotypu ukázali, že 7 izolátov *S.* Infantis bolo multirezistentných – multi drug resistant - MDR (rezistencia na jednu až viac antimikrobiálnych látok v rámci troch a viac tried antibiotík). U týchto izolátov *S.* Infantis bola zistená rezistencia v triedach antimikrobiálnych látok aminoglykozidov, beta-laktámov, fluorochinolónov, inhibítorov syntézy kyseliny listovej, tetracyklínov, linkozamidov, makrolidov, streptogramínov B a navyše aj v triede dezinfektív, konkrétne kvartérnych amóniových zlúčenín. Medzi multirezistentné izoláty môžeme na základe našich výsledkov zaradiť aj dva izoláty *S.* Newport, ktoré tak ako izoláty *S.* Infantis, pochádzali z kuracieho mäsa. Zaznamenala sa u nich rezistencia v antibiotických triedach aminoglykozidov, beta-laktámov, fluorochinolónov, inhibítorov syntézy kyseliny listovej a tetracyklínov. U ostatných sérotypov sa rezistencia zaznamenala v menej výraznej forme, jednalo sa najmä o fluorochinolóny u sérotypov Enteritidis a Stanley, či o fosfomycíny u sérotypov Derby a Agona. Zhromažďovanie a analýza dát o rezistencii mikroorganizmov pochádzajúcich z potravín je dôležitým prvkom pri ochrane spotrebiteľa, pretože existuje reálne riziko infekcie multirezistentnými kmeňmi, ktoré sú rezistentné aj voči antimikrobiálnym látkam kritickým v humánnej medicíne. Monitoring rezistencie u izolátov mikroorganizmov pochádzajúcich z rôznych zdrojov, môže tak byť efektívnym nástrojom pri manažovaní kritických situácií.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BAE, D. H. et al. Amino acid substitutions in *gyrA* and *parC* associated with quinolone resistance in nalidixic acid-resistant *Salmonella* isolates. In *Irish Veterinary Journal* 2013, vol. 66, no. 23.
2. BANKEVICH, A. et al. SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. In *Journal of Computational Biology* 2012, vol. 19, no. 5, p. 455–477.
3. BOLGER, A. M. et al. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. In *Bioinformatics* 2014, vol. 30, no. 15, p. 2114–2120.
4. BORTOLAIA, V. et al. ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes. In *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2020, vol. 75, no. 12, p. 3491-3500.
5. EAVES, D.J. et al. Prevalence of mutations within the quinolone resistance-determining region of *gyrA* , *gyrB* , *parC*, and *parE* and association with antibiotic resistance in quinolone-resistant *Salmonella enterica*. In *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2004, vol. 48, p. 4012–4015.
6. EFSA and ECDC A (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control). The European Union One Health 2021 Zoonoses Report. In *EFSA Journal* 2022, vol. 20, no. 12, p. 273.
7. EFSA and ECDC B (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control). The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2018/2019. In *EFSA Journal* 2022, vol. 20, e07209.
8. GUREVICH, A. et al. QUAST: quality assessment tool for genome assemblies. In *Bioinformatics* 2013, vol. 29, no. 8, p. 1072–1075.
9. JACOBY, G. A. Mechanisms of resistance to quinolones. In *Clinical Infectious Diseases* 2005, vol. 41, no. 2, p. S120-S126.
10. KAWAI, R. et al. Characterization and solution properties of quaternary-ammonium-salt-type amphiphilic gemini ionic liquids. In *ACS Omega* 2019, vol. 4, p. 14242–14250.
11. LARSEN, M. et al. Multilocus sequence typing of total genome sequenced bacteria. In *Journal of Clinical Microbiology* 2012, vol. 50, no. 4, p. 1355-1361.
12. MICHAEL, G. B. et al. Genes and mutations conferring antimicrobial resistance in *Salmonella:* an update. In *Microbes and Infection* 2006, vol. 8, p. 1898-1914.
13. PAVELQUESI, S. L. et al. Presence of tetracycline and sulfonamide resistance genes in *Salmonella* spp.: literarture review. In *Antibiotics(Basel)* 2021, vol. 10, no. 11, p. 1314. doi: 10.3390/antibiotics10111314.

14. ROSSI, M. et al. INNUENDO whole genome and core genome MLST schemas and datasets for *Salmonella enterica*. (Version 1.0) [Data set]. In *Zenodo* 2018, http://doi.org/10.5281/zenodo.1323684.
15. SILVA, M., et al. ChewBBACA: A complete suite for gene-by-gene schema creation and strain identification. In *Microbial Genomics* 2018, vol. 4, no. 3.
16. WOOD, D. E. et al. Improved metagenomic analysis with Kraken 2. In *Genome Biology* 2019, vol. 20, no. 1.
17. ZHANG, S. et al. SeqSero2: rapid and improved *Salmonela* serotype determination using whole-genome sequencing data. In *Applied and Environmental Microbiology* 2019, vol. 85, e01746-19.
18. ZHOU, Z. et al. GrapeTree: Visualization of core genomic relationships among 100,000 bacterial pathogens, In *Genome Research* 2018, vol. 28, no. 9, p. 1395-1404.

Kontaktná adresa: Kubicová Zuzana, Department of Molecular Biology, State Veterinary and Food Institute in Dolny Kubin, Janoskova 1611/58, 026 01 Dolny Kubin, Slovak Republic; E-mail: zuzana.kubicova@svpu.sk

VPLYV HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA KVALITU JATOČNÉHO TELA A SENZORICKÉ VLASTNOSTI MÄSA KRÁLIKOV

INFLUENCE OF HUMIC SUBSTANCES ON CARCASS QUALITY AND SENSORY PROPERTIES OF RABBIT MEAT

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

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

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

ABSTRACT

The aim of the work was to determine the influence of humic substances (HS) as an organic supplement in a granulated feed mixture on the quality of the carcass and the sensory properties of rabbit meat. 24 hybrids of silver rabbit and chinchilla were included in the study, divided into three groups (n= 8/group): C (control group, standard diet without additives), group H0.5 (experimental group 1, receiving standard feed + 0.5% Humac Natur AFM), group H1.0 (experimental group 2, received standard feed + 1% Humac Natur AFM). The application of HS in different concentrations in the feed affected the quality indicators of the back and thigh muscles. 0.5% HS in the feed caused a decrease in the content of fat and protein in the back muscle samples, on the contrary, in the thigh muscle we recorded an increase in the content of water and protein ($p < 0.05$) and a decrease in the content of fat and ash ($p < 0.05$). 1% concentration of HS in the feed had a significant effect on the decrease in the content of fat and protein ($p < 0.05$) in the back muscle, in the thigh muscle we found an increase in the content of water, ash and protein ($p < 0.05$) and a decrease in fat ($p < 0.05$). However, supplementation of feed with HS did not show an improvement in the body weight and slaughter parameters of rabbits, nor did it affect the sensory properties of the back muscles.

Key words: rabbit, humic substances, meat, carcass, sensory analyze,

ÚVOD

Kontinuálne používanie antibiotík ako rastových stimulátorov podporuje ich zadržiavanie v živočíšnych tkanivách. Konzumácia takýchto živočíšnych produktov by mohla zvýšiť rezistenciu na antibiotiká. V súčasnosti sú humínové látky (HS) považované za vhodnú alternatívu náhrady antimikrobiálnych látok, pre množstvo ich pozitívnych účinkov na produkciu, imunitu a zdravie zvierat. Majú schopnosť viazať rôzne toxické látky a vytvárať s

nimi nerozpustné komplexy. Vďaka tejto vlastnosti sa používajú aj ako adsorbenty, a preto sú schopné znižovať vstrebávanie rôznych endotoxínov, čo má prvoradý význam pri ochrane zdravia zvierat a ľudí. Majú antibakteriálne, antivírusové a antimikrobiálne účinky, čím zlepšujú ekonomiku a ekológiu živočíšnej výroby (Yasar et al., 2002, Lala et al., 2017).

Cieľom práce bolo zistiť vplyv HS ako organického suplementu v granulovanej kŕmnej zmesi na kvalitu jatočného tela a senzorické vlastnosti mäsa králikov.

MATERIÁL A METODIKA

Králiky boli chované za rovnakých podmienok v štandardných klietkach na chov králikov (80 × 40 × 66 cm), pričom v každej klietke boli štyri králiky. V tejto štúdii sme použili 24 krížencov strieborného králika a činčily. Všetky králiky boli kŕmené štandardným krmivom *ad libitum*. Na začiatku experimentu boli zvieratá rozdelené do troch skupín (n= 8/skupina): C (kontrolná skupina, štandardná strava bez aditív), skupina H0.5 (pokusná skupina 1, dostávala štandardné krmivo + 0,5 % Humac Natur AFM), skupina H1.0 (pokusná skupina 2, dostávala štandardné krmivo + 1% Humac Natur AFM). V kontrolnej skupine bola podávaná granulovaná bazálna strava bez akýchkoľvek prísad pre rastúce králiky podľa odporúčaní uvedených v medzinárodných kŕmnych normách obsahujúcich lucernové úsušky, jačmeň, pšeničné otruby, kukuričné mláto, uhličitan vápenatý, repkový extrahovaný šrot, vitamino-minerálny premix, NaCl, z výživových doplnkových látok vitamín A (min. 9800 m. j.), vitamín D3 (min. 1870 m. j.), železo (74 mg), jód (1,1 mg), meď (14,5mg), mangán (108mg), zinok (79mg), selén (0,28g), lyzín (0,8g), sodík (1,5 g), vápnik (7,5 g), fosfor (4,5 g). Počas celého obdobia výkrmu (od 50. do 113. dňa veku) bola druhá a tretia pokusná skupina kŕmená granulami bazálnej stravy s 0,5 % a 1 % prídavkom humínových látok (Humac® Natur AFM, Košice, SR; 65 % podiel HS v sušine).

Králiky na konci výkrmu boli bezbolestne usmrtené v súlade s platnou legislatívou. Najskôr boli omráčené použitím pružinového jatočného prístroja úderom na čelo. Následne sa králiky usmrtili vykrvením, a to prerezaním *v. jugularis*.

Hmotnosť jatočného tela bola zaznamenaná po odstránení hlavy, kože, vnútorností a distálnych častí končatín). Výťažnosť jatočného tela bola stanovená ako pomer živej váhy pred usmrtením a hmotnosti jatočného tela.

Chemický rozbor základných zložiek svaloviny bol stanovovaný zo vzoriek chrbtovej a stehennej svaloviny. Vzorka svaloviny bola odobratá najneskôr do 1 hodiny po usmrtení, zabalená do fólie a skladovaná pri 4°C až do analýzy vzorky. Obsah vody bol stanovený sušením v sušičke pri 105°C (Hudák et al., 2021). Bielkoviny boli stanovené na analyzátore Kjeltec Auto, typ 1030 (Hanon, Jinan, Čína). Tuky v rozomletých vzorkách s petroléterom boli

stanovené na prístroji Soxhlet (LTHS 500, Brnenská Druteva, Brno, Česká republika) podľa Semjon et. al. (2020). pH svaloviny sa analyzovalo digitálnym pH metrom InoLab (Wissenschaftlich-Technische Werkstatten, Weilheim, Nemecko).

Experimentálne vzorky chrbtovej svaloviny králikov boli podrobené senzorickej analýze, ktorá bola vykonaná v Špecializovanom senzorickom laboratóriu na Inštitúte vzdelávania veterinárnych lekárov v Košiciach zriadeného podľa všeobecného plánu na usporiadanie senzorických pracovísk (ISO 8589, 2007). Senzorický panel bol zložený z 5 poučených hodnotiteľov vo veku od 28 do 60 rokov, ktorý mali dostatočné praktické skúsenosti s hodnotením mäsa. Pri zostavovaní protokolu pre posudzovanie experimentálnych vzoriek chrbtovej svaloviny králičieho mäsa sa postupovalo podľa autorov Lawless a Heymann (2010).

Zistené hodnoty sme vyhodnotili jednofaktorovou analýzou rozptylu ANOVA s hladinou významnosti $p<0,05$. Významnosť rozdielov bola potvrdená pomocou Tukeyho viacnásobného porovnávacieho testu. Výsledky v tabuľkách sú uvedené ako priemerné hodnoty (X) a štandardná odchýlka (SD).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Tabuľka č. 1 , Vplyv suplementácie na živú hmotnosť a jatočné parametre králikov

Skupina	Živá hmotnosť (ŽH)		Jatočná hmotnosť (JH)		Jatočná výťažnosť	Hmotnosť stehna s kosťou		
	g		g		% z ŽH	g		% z JH
	x	sd	x	sd	x	x	sd	x
H 0.5	2880.83	126.19	1444.17^{b}	65.07	50.13	230.00	26.64	15.93
H 1.0	2777.50^{a}	150.36	1383.33^{b}	90.59	49.80	240.00	20.98	17.35
Kontrola	3151.67^{A}	111.74	1602.05^{B}	64.01	50.83	280.00	36.47	17.48

Popis: $^{Aa; Bb}$ $p<0,05$ štatisticky významné rozdiely medzi skupinami, H0.5 experimentálna skupina s 0,5 % Humac Natur AFM v krmive, H1.0 experimentálna skupina s 1 % Humac Natur AFM v krmive

Kocabagliet a kol. (2002) zaznamenali vplyv pridania HS na živú hmotnosť. Jaďuťová a kol. zistili výrazné zvýšenie hmotnosti prsných a stehenných svalov kurčiat pri použití 1% koncentrácie HS. Kŕmenie s prídavkom 0,75 % HS taktiež pozitívne ovplyvnilo hmotnosť jatočného tela (Hudák a kol. 2021). Prídavok 0,6 % HS v krmive mal pozitívny vplyv na jatočnú výťažnosť, ako aj hmotnosť prsného a stehenného svalstva (Marcinčáková a kol., 2015). V našom prípade prídavok HS v koncentrácii 0,5 % ovplyvnil živú hmotnosť a jatočnú hmotnosť($p < 0,05$). Vyššia koncentrácia HS (1 %) nemala vplyv na živú hmotnosť, ale naopak výrazne ovplyvnila jatočnú hmotnosť ($p < 0,05$). Hmotnosť stehna s kosťou boli získané

hodnoty v rámci experimentálnych skupín nižšie v porovnaní s kontrolnou skupinou, tieto rozdiely však neboli štatisticky významné (Tabuľka 1).

Tabuľka č. 2 , Vybrané ukazovatele kvality mäsa králikov

Parameter	H 0.5		H 1.0		Kontrola	
	x	sd	x	sd	x	sd
Chrbtová svalovina						
Voda	74.005	0.299	74.620	0.212	74.449	0.235
Tuk	0.870	0.187	0.987	0.050	0.950	0.169
Popoloviny	2.110	0.223	2.109	0.071	2.15	0.037
Bielkoviny	24.464^{a}	0.297	24.260^{a}	0.140	25.177^{A}	0.223
pH	6.298^{b}	0.011	6.270^{b}	0.014	6.182^{B}	0.013
Stehenná svalovina						
Voda	74.441	0.298	75.445^{c}	0.194	74.342^{C}	0.164
Tuk	2.070^{d}	0.199	1.706^{d}	0.138	3.333^{D}	0.208
Popoloviny	1.280^{e}	0.081	1.699	0.138	1.520^{E}	0.043
Bielkoviny	22.728^{f}	0.371	22.096	0.329	21.577^{F}	0.103
pH	6.225	0.013	6.222	0.017	6.240	0.012

Popis: $^{Aa; Bb;Cc; Dd; Ee; Ff}$ $p<0,05$ štatisticky významné rozdiely medzi skupinami, H0.5 experimentálna skupina s 0,5 % Humac Natur AFM v krmive, H1.0 experimentálna skupina s 1 % Humac Natur AFM v krmive

Vplyv suplementácie HS u králikov na jednotlivé zložky vzoriek chrbtovej a stehennej svaloviny je uvedený v tabuľke 2. Aplikácia HS v rôznej koncentrácii v krmive ovplyvnila obsah ukazovateľov kvality chrbtovej a stehennej svaloviny. Koncentrácia 0,5 % HS v krmive spôsobila pokles obsahu tuku a bielkovín vo vzorkách chrbtového svalu. V prípade obsahu popola nebol zistený signifikantný rozdiel oproti kontrolnej skupine. Pri sledovaní zloženia stehenného svalu sme zaznamenali zvýšenie obsahu vody a bielkovín ($p < 0,05$) a pokles obsahu tuku a popola ($p < 0,05$). Pri experimentálnej skupine s 1% koncentráciou HS v krmive došlo k poklesu obsahu tuku a bielkovín ($p < 0,05$). Obsah vody nebol významne zmenený. Pri stehennej svalovine sme zistili zvýšenie obsahu vody, popola a bielkovín ($p < 0,05$), pokles tuku ($p < 0,05$).

Humínové látky sú pravdepodobne schopné ovplyvniť rozloženie tukov a bielkovín v tele a tým zmeniť zloženie mäsa. Po pridaní HS do krmiva dochádza k poklesu obsahu tuku a zvýšeniu obsahu bielkovín v prsných svaloch (Semjon et al., 2020; Hudák et al., 2021). V našom prípade došlo k miernemu zníženiu obsahu bielkovín vo chrbtovom svalstve. V obsahu bielkovín v stehennom svalstve sme taktiež zaznamenali štatisticky významné zníženie hodnôt. Rôzne koncentrácie HS tiež ovplyvňujú obsah tuku a celkový obsah bielkovín odlišne (Ozturk et al. 2012).

Zaznamenali sme zvýšenie hodnôt pH v chrbtovej a stehennej svalovine pri oboch experimentálnych skupinách ($p < 0,05$). Semjon a kol. (2020) uviedli nižšie pH v prsných a stehenných svaloch brojlerových kurčiat po pridaní 0,8 % a 1,0 % HS do krmiva. Hudák a spol. (2021) taktiež zistili zníženie pH v stehennej svalovine po pridaní 0,7 % HS do krmiva. Naopak, Akaichi a spol. (2022) nepozorovali žiadny vplyv na pH v prsnej svalovine po podaní humínových kyselín (0,1 %) v krmive. Podobné zvýšenie pH v prsnom svale získali Ozturk et al. (2012) po podaní 0,5–1,5 g·kg-1 HS v krmive.

Tabuľka č. 3, Výsledky senzorického hodnotenia mäsa chrbtovej svaloviny králikov

Parameter	H 0.5		H 1.0		Kontrola	
	x	sd	x	sd	x	sd
Vzhľad	7.60	0.70	7.60	0.70	7.70	0.48
Vôňa	7.70	1.16	7.40	1.35	7.40	1.07
Konzistencia	7.10	1.10	7.10	0.88	7.30	1.42
Vôňa	7.90	1.20	8.00	1.05	8.00	1.05
Celková prijateľnosť	7.80	1.03	7.80	0.79	7.90	0.99

Popis: H0.5 experimentálna skupina s 0,5 % Humac Natur AFM v krmive, H1.0 experimentálna skupina s 1 % Humac Natur AFM v krmive

Výsledky senzorického hodnotenia sú uvedené v tabuľke 3. Celkové senzorické hodnotenie vzoriek mäsa z chrbta zahŕňalo vzhľad, vôňu, konzistenciu, chuť a celkovú prijateľnosť, neboli ovplyvnené aplikáciou rôznych koncentrácií HS (0,5 resp. 1%) v krmive králikov.

ZÁVER

Aplikácia humínových látok v rôznej koncentrácii v krmive ovplyvnila ukazovatele kvality chrbtovej a stehennej svaloviny. 0,5 % HS v krmive spôsobila pokles obsahu tuku a bielkovín vo vzorkách chrbtového svalu, naopak v stehennej svalovine sme zaznamenali zvýšenie obsahu vody a bielkovín ($p < 0,05$) a pokles obsahu tuku a popola ($p < 0,05$). 1 % koncentrácia HS v krmive mala výraznejší vplyv na pokles obsahu tuku a bielkovín ($p < 0,05$) v chrbtovom svalstve, pri stehennej svalovine sme zistili zvýšenie obsahu vody, popola a bielkovín ($p < 0,05$) a pokles tuku ($p < 0,05$). Suplementácia krmiva s HS však nepreukázala zlepšenie telesnej hmotnosti a jatočných parametrov králikov, taktiež neovplyvnila senzorické vlastnosti chrbtovej svaloviny.

POĎAKOVANIE

Realizácia experimentu bola finančne podporená grantom KEGA č. 011UVLF-4/2024.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AKAICHI, A. et al. Effects of humic acid and organic acids supplements on performance, meat quality, leukocyte count, and histopathological changes in spleen and liver of broiler chickens. *Research in Veterinary Science*. 2022, ISSN: 0034-5288, vol. 150, p. 179–188.
2. HUDÁK, M. et al. Effect of Broilers Chicken Diet Supplementation with Natural and Acidified Humic Substances on Quality of Produced Breast Meat. *Animals*, 2021, ISSN: 2076-2615, vol. 11, p. 1087.
3. KOCABAGLI, N. et al. The effects of dietary humate supplementation on broiler growth and carcass yield. In *Poultry Science*, ISSN1525-3171, vol. 81, 2002, p. 227-230.
4. LALA, A.O. et al. Response of broiler chickens to varying dosage of humic acid in drinking water. *Journal of Animal Production Research*. 2017, ISSN 2538-6107, vol. 29, p. 288–294.
5. LAWLESS, H. T. – HEYMANN, H. Sensory evaluation of food: Principles and practices. 2nd Ed. Springer_Verlag: New York, 2010. p. 596. ISBN 978-1-4419-6487-8.
6. MARCINČÁKOVÁ, D. et al. Effect of supplementation of the diet with humic acids on growth performance and carcass yield of broilers. *Folia Veterinaria*. 2015, eISSN 2453-7837, vol. 59, p. 165–168.
7. OZTURK, E. et al. Performance, carcass, gastrointestinal tract and meat quality traits, and selected blood parameters of broilers fed diets supplemented with humic substances. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2011, ISSN:0022-5142, vol. 92, no. 1, p. 59-65. https://doi.org/10.1002/jsfa.4541
8. 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, ISSN1525-3171, vol. 99, p. 1750-1760.
9. YASAR, S. et al. Performance and ileal histomorphology of rats treated with humic acid preparations. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2002, ISSN:1439-0396, vol. 86, p. 257–264

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

VPLYV ZNIŽOVANIA OBSAHU SOLI NA SENZORICKÚ A MIKROBIÁLNU KVALITU MÄSOVÝCH VÝROBKOV

EFFECT OF SALT REDUCTION ON THE SENSORY AND MICROBIAL QUALITY OF MEAT PRODUCTS

Mastiľák Tomáš [1,2], Regecová Ivana [1], Reitznerová Anna [1], Semjon Boris [1], Výrostková Jana [1], Marcinčák Slavomír [1]

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

[2]Dalton spol. s.r.o, Napajadlá 1/A, 042 47 Košice

ABSTRACT

The effect of salt reduction on the microbiological and sensory quality of heat-treated meat products packed in modific atmosphere and stored for 21 days at 4°C was investigated. Four batches of meat products – frankfurters with salt concentrations of 2.1 (control), 1.8, 1.7 and 1.5% were prepared. The results confirmed that the reduction of the salt content to concentrations of 1.5-1.6% of the salt in the final meat products did not affect the microbiological quality of the frankfurters produced. The total number of microorganisms was comparable in all groups throughout the storage period. However, the sensory evaluation of the frankfurters showed a lower score for the products with the lowest salt concentration. On the other hand, the products with 1.7 and 1.8% salt concentration had a comparable score to the traditional batch of products with 2.1% salt concentration in the products.

Key words: *salt concentration, franfurkters, shelf life, sensory quality*

ÚVOD

V posledných rokoch vzrástli obavy spotrebiteľov týkajúce sa konzumácie vysokých hladín chloridu sodného (NaCl) v potravinách, vzhľadom na súvisiace zdravotné riziko (Kim et al., 2021). Zvýšená konzumácia chloridu sodného vedie k zvýšeniu krvného tlaku, hypertenzii a s tým súvisiacimi kardiovaskulárnymi ochoreniami alebo mozgovou príhodou (Barcenilla et al., 2022). To podnietilo potravinársky priemysel k úvahe o znížení používania sodíka v potravinárskych výrobkoch. Doporučený denný príjem soli zodpovedá konzumácii sodíka menej ako 2 g denne (Kameník et al. 2017). K potravinám, ktoré svojím obsahom najviac zaťažujú človeka sodíkom patrí pečivo, spracované mäsové výrobky, syry a niektoré mliečne výrobky. Je však všeobecne známe, že pridanie NaCl do mäsových výrobkov zvyšuje ich kvalitu, vrátane schopnosti viazať vodu, zvyšovania emulgačnej kapacity, šťavnatosti

a textúry mäsových výrobkov. Z dôvodu viazania vody je potrebná minimálna koncentrácia soli v rozsahu 1,6 – 1,8 %, pričom so zvyšujúcou koncentráciu schopnosť bielkovín viazať vodu rastie. Základným dôvodom, prečo sa soľ pridáva do mäsových výrobkov odpradávna, je konzervácia výrobkov a zlepšenie ich chuti. Preto je soľ v mäsových výrobkoch nevyhnutná, aj keď limitovaná. Súčasný limit pre mäkké mäsové výrobky je maximálne 2,5 %, avšak existujú aj výnimky mäsových výrobkov, kde môže byť koncentrácia soli od 3,8 až viac ako 6 %.

Nakoľko tlak na znižovanie obsahu soli v potravinách je veľký, pričom boli snahy presadiť to aj legislatívne, aj pri mäsových výrobkoch dochádza k znižovaniu obsahu soli. Cieľom predloženej štúdie bolo porovnať mikrobiologickú a senzorickú kvalitu mäsových výrobkov – párkov pripravených so znížením obsahom soli (1,5; 1,7 a 1,8 %) a porovnať ich so štandardne vyrábanými párkami s obsahom soli 2,1 %. Pripravené výrobky boli zabalené v ochrannej atmosfére plynu a skladované po dobu 21 dní.

MATERIÁL A METODIKA

V spolupráci s výrobcom mäsových výrobkov boli vyrobené 4 šarže mäkkých mäsových výrobkov - Baby párky. Jedna šarža výrobkov bola vyrobená s tradičnou dávkou obsahu soli 2,1 %. Ďalšie tri šarže výrobkov boli vyrobené podľa tej istej receptúry, avšak obsah soli bol kalkulovaný na výslednú koncentráciu 1,5; 1,7 a 1,8 % soli v hotovom mäsovom výrobku. Tepelné opracovanie bolo vykonané v súlade s Vyhláškou č. 83/2016 (2016) pri dosiahnutí 70 °C v jadre výrobku po dobu 10 minút. Po tepelnom opracovaní boli výrobky ochladené sprchovaním a následne zabalené v ochrannej atmosfére plynu (zloženie atmosféry je 80 % N_2 a 20 % CO_2). Vzorky boli skladované v chladničke pri teplote do 4 °C po dobu 21 dní. Analýzy boli vykonané na 1., 7., 14. a 21. deň skladovania. Chemická analýza vzoriek (obsah vody, bielkovín, tuku, popola, soli a pH) boli vykonaná pomocou analyzátora v blízkej infračervenej oblasti (NIR), ktorá zahŕňa použitie spektroskopickej technológie na analýzu vzoriek. Analýza bola vykonaná pomocou prístroja TANGO FT-NIR spektrofotometer (Bruker, Nemecko) s rozlíšením 16 cm^{-1} a časom merania 64 skenov.

Pre kultivačné mikrobiologické vyšetrenie vzoriek sa pripravila základná suspenzia a ďalšie 10-násobné riedenia podľa pokynov STN EN ISO 6887-1 (2017). Celkový počet mikroorganizmov (CPM) sa stanovil podľa normy STN EN ISO 4833-1 (2014) za použitia Plate Count agarového média (Hi-Media, India). Kvantitatívne stanovenie kvasiniek a plesní vo vzorkách sa uskutočnilo podľa normy STN EN ISO 21527-1 (2010). Stanovenie počtu baktérií mliečneho kvasenia sa vykonal na selektívnom diagnostickom médiu De Man, Rogosa a Sharpe agarového (Hi-Media, India). Inokulované platne boli inkubované v anaeróbnych

podmienkach, aby sa rozmnožili mezofilné baktérie mliečneho kvasenia, pri 37 °C počas 48 hodín. Stanovenie počtu *E. coli* sa stanovoval podľa STN ISO 16649-2 (2007).

Senzorické hodnotenie vzoriek pripravených mäsových výrobkov bolo vykonané v štandardizovanom senzorickom laboratóriu Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach. Vzorky boli pred hodnotením ohrievané po dobu troch minút pri teplote 90 °C. Celkovo bolo hodnotených 6 atribútov: vzhľad na povrchu, vzhľad na reze, vôňa, konzistencia, chuť a celková prijateľnosť predložených vzoriek. Hodnotenie prebiehalo pomocou 9-bodovej hedonickej stupnice (kde: 1 = veľmi zlá, 9 = veľmi dobrá).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Mäso a mäsové výrobky sú základnými zložkami ľudskej stravy, pretože sú dôležitými zdrojmi živín, vrátane bielkovín, esenciálnych mastných kyselín, aminokyselín, vitamínov a stopových minerálov (Asyrul-Izhar et al., 2023). Výsledky chemického zloženia pripravených šarží mäsových výrobkov sú uvedené v tabuľke 1. Analyzované vzorky mäsových výrobkov mali obsah bielkovín od 13,4 ± 0,1 do 13,9 ± 0,1 % a obsah tuku od 11,0 ± 0,1 do 12,1 ± 0,6 %. Nakoľko si v posledných rokoch mäsový priemysel uvedomuje, že jeho produkty obsahujú určité zložky (soľ, tuk, prísady), ktoré môžu podporovať rozvoj mnohých chorôb, snaží sa ich redukovať. Pristupuje v súlade s medzinárodnými odporúčaniami v oblasti zdravia spotrebitelia k výrobe výrobkov so zníženým obsahom sodíka, nasýtených tukov a syntetických prísad (Munekata et al., 2023).

Tabuľka 1 Výsledky analýzy chemického zloženia pripravených šarží mäsových výrobkov

Koncentrácia soli	Voda (%)	Tuk (%)	Popol (%)	Bielkoviny (%)	NaCl (%)	pH
1,5 %	67,1 ± 0,3	11,1 ± 0,3	2,5 ± 0,1	13,9 ± 0,1	1,61 ± 0,12	6,33 ± 0,11
1,7 %	66,8 ± 1,0	12,1 ± 0,6	2,7 ± 0,1	13,5 ± 0,2	1,73 ± 0,10	5,94 ± 0,07
1,8 %	65,6 ± 0,5	12,0 ± 0,4	2,8 ± 0,1	13,4 ± 0,1	1,89 ± 0,02	6,12 ± 0,05
2,1 %	68,1 ± 0,4	11,0 ± 0,1	2,9 ± 0,1	13,9 ± 0,1	2,17 ± 0,02	6,09 ± 0,03

Vyrobené mäsové výrobky s rozdielnou koncentráciou soli (1,5; 1,7; 1,8 a 2,1 %) spĺňajú túto požiadavku konzumenta na zdravšie mäsové výrobky, avšak je potrebné sledovať aj funkčné vlastnosti soli v mäsovom výrobku. Chlorid sodný má pozitívny vplyv na textúru a schopnosť viazať vodu (Lilic et al., 2015) tým, že extrahuje myofibrilárne proteíny, čo následne umožňuje tvorbu gélu a vývoj optimálnej textúry (Bhat et al., 2019). Čo potvrdzuje aj nami analyzovaný mäsový výrobok (2,1 %) s analyzovanou koncentráciou soli 2,17 %, kde bol najvyšší obsah vody 68,1 ± 0,4 %.

Soľ sa používa pri výrobe potravín ako konzervačná látka, schopná uchovávať potraviny jedlé počas dlhšieho časového obdobia a pre zlepšovanie senzorických vlastností. Okrem toho sa na zabezpečenie bezpečnosti potravín používajú klasické procesy konzervácie (tepelné opracovanie, sušenie, údenie, mrazenie, atď.), ktoré vytvárajú extrémne fyzikálne a/alebo chemické bariéry, aby sa zabránilo rastu alebo aktivácií nežiadúcich patogénnych mikroorganizmov (Barcenillo et al., 2022). V tabuľke 2 a 3 sú uvedené výsledky mikrobiologickej analýzy pripravených šarží mäsových výrobkov počas skladovania v ochrannej atmosfére pri teplote 4 °C po dobu 21 dní. Na základe mikrobiologického vyšetrenia vzoriek sa potvrdil inhibičný účinok soli pridanej do vyšetrovaných mäsových výrobkov. Najväčší pokles CPM sa potvrdil vo vzorke s najvyššou koncentráciou soli 2,1 %. Pri stanovení počtu kvasiniek a plesní došlo k spomaleniu rastu v období skladovania výrobkov, avšak rozdiely medzi jednotlivými koncentráciami soli neboli výrazné. Za prítomnosť kvasiniek a plesní v mäsovom výrobku môžu byť zodpovedné aj pridané koreniny. Mastanjević et al. (2023) vo svojej štúdií uvádza, že korenie je jedným z možným zdrojom kontaminácie počas spracovania mäsa a výroby mäsových výrobkov. Na 1. deň skladovania výrobkov bola potvrdená prítomnosť baktérií mliečneho kvasenia v nízkych počtoch. V priebehu skladovania nebola potvrdená prítomnosť týchto baktérií. Pri kultivačnom mikrobiologickom vyšetrení vzoriek mäsových výrobkov sa detegovala aj prítomnosť indikátorovej baktérie *E. coli*, ktorá nebola potvrdená počas celého priebehu skladovania. Stanovené počty jednotlivých druhov mikroorganizmov v testovaných mäsových výrobkoch spĺňajú požiadavky platnej legislatívy Nariadenie č. 2073/2005 (ES) o mikrobiologických kritériách pre potraviny. Bakteriostatický účinok NaCl úzko súvisí s jeho koncentráciou, pričom 5 % roztok soli úplne inhibuje rast anaeróbnych mikroorganizmov, 10 % roztok inhibuje rast všetkých mikroorganizmov (Xiong, 1994). NaCl zohráva dôležitú úlohu pri udržiavaní stability mikroorganizmov v mäsových výrobkoch. Antibakteriálny mechanizmus spočíva vo vzniku osmotického tlaku v/a mimo mikrobiálnej bunky a narušení výmeny látok pre zachovanie normálnej fyziologickej aktivity mikroorganizmu. Na^+ a Cl^- majú tiež silnú schopnosť priťahovať molekuly vody, takže mikroorganizmy nie sú schopné získať vodu na udržanie normálnych fyziologických aktivít, čím je znemožnené ich rozmnožovanie (Zhang et al., 2017). Mcgough el al. (2012) vo svojej práci uvádzajú, že rýchlosť rastu mikroorganizmov je postupne inhibovaná so zvyšujúcou sa koncentráciou soli vo výrobkoch. Martinez et al. (2014) potvrdili, že zvyšovanie koncentrácie soli inhibuje rast mikroorganizmov a predlžuje trvanlivosť mäsových výrobkov.

Tabuľka 2 Výsledky mikrobiologickej analýzy (celkového počtu mikroorganizmov a kvasiniek a plesní) pripravených šarží mäsových výrobkov počas skladovania (4 °C, 21 dní)

Koncentrácia soli	Celkový počet mikroorganizmov ($KTJ.g^{-1}$)				Kvasinky a plesne ($KTJ.g^{-1}$)			
	1. deň	7. deň	14. deň	21. deň	1. deň	7. deň	14. deň	21. deň
1,5 %	$5,3x10^2$	$5,5x10^2$	$8,2x10^3$	$7,7x10^4$	$1,5x10^2$	$2,0x10^2$	$3,5x10^3$	$4,4x10^3$
1,7 %	$5,2x10^2$	$5,4x10^2$	$8,6x10^3$	$7,2x10^4$	$1,4x10^2$	$3,5x10^2$	$2,5x10^3$	$3,7x10^3$
1,8 %	$3,1x10^2$	$6,2x10^2$	$6,6x10^3$	$5,8x10^4$	$1,1x10^2$	$2,6x10^2$	$3,1x10^2$	$2,1x10^3$
2,1 %	$1,4x10^2$	$2,0x10^2$	$1,8x10^3$	$3,2x10^3$	$1,0x10^2$	$2,5x10^2$	$2,8x10^2$	$2,1x10^3$

Tabuľka 3 Výsledky mikrobiologickej analýzy (baktérie mliečneho kvasenia, prítomnosť *E. coli*) pripravených šarží mäsových výrobkov počas skladovania (4 °C, 21 dní)

Koncentrácia soli	Baktérie mliečneho kvasenia				*E. coli*			
	1. deň	7. deň	14. deň	21. deň	1. deň	7. deň	14. deň	21. deň
1,5 %	$1,9x10^1$	$<1,0x10^2$	$<1,0x10^2$	$<1,0x10^2$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$
1,7 %	$1,9x10^1$	$<1,0x10^2$	$<1,0x10^2$	$<1,0x10^2$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$
1,8 %	$1,8x10^1$	$<1,0x10^2$	$<1,0x10^2$	$<1,0x10^2$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$
2,1 %	$1,6x10^1$	$<1,0x10^2$	$<1,0x10^2$	$<1,0x10^2$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$	$<1,0x10^1$

Chuť je jednou z najdôležitejších kvalitatívnych vlastností mäsových výrobkov a je tiež kľúčovým faktorom ovplyvňujúcim celkovú prijateľnosť mäsového výrobku (Fu et al., 2022). V tabuľkách 4 a 5 sú uvedené hodnoty senzorického hodnotenia pripravených šarží mäsových výrobkov na začiatku skladovania (1. deň) a na 21. deň. Na 1. deň mal mäsový výrobok s koncentráciou soli 2,1 % najlepšie hodnotenie v celkovej prijateľnosti, chuti, vôni a konzistencie. Znižovanie koncentrácie soli na 1,7 a 1,8 % malo za následok zníženie intenzity vône a zhoršenie konzistencie, a nemalo výrazný vplyv na vzhľad na povrchu a reze. Avšak zníženie koncentrácie až na 1,5 % spôsobilo zhoršenie vzhľadu na povrchu a reze. Na 21. deň skladovania neboli pozorované výrazné rozdiely na vzhľade na povrchu a reze, v konzistencii medzi jednotlivými vzorkami mäsových výrobkov. Mäsové výrobky s koncentráciou soli 2,1 a 1,5 % boli lepšie hodnotené v chuti, vôni a celkovej prijateľnosti, ako mäsové výrobky s 1,7 a 1,8 % soli. Válková et al. (2007) vo svojej štúdií nezistila štatisticky významný rozdiel medzi obsahom chloridu sodného a senzorickými parametrami šunky. Tobin et al. (2013) vo svojej práci porovnávali rôzne koncentrácie soli v rozmedzí od 0,8 do 2,2 % (w/w) na senzorické vlastnosti bravčových párkov. Za najchutnejšie vzorky boli označené párky s 1,4 % obsahom soli. Kameník et al. (2017) vo svojej práci uvádza, že vnímanie slanosti mäsového výrobku je

ovplyvňovaná aj inými faktormi ako len obsah soli, a to podielom tuku, obsahom vody, textúrou a inými zložkami.

Tabuľka 4 Senzorické hodnotenie pripravených šarží mäsových výrobkov na 1. deň

Koncentrácia soli	Vzhľad na povrchu	Vzhľad na reze	Konzistencia	Vôňa	Chuť	Celková prijateľnosť
1,5 %	7,6 ± 1,0	7,9 ± 1,0	8,2 ± 0,6	7,8 ± 0,9	8,0 ± 0,8	8,0 ± 0,5
1,7 %	8,2 ± 0,8	8,4 ± 1,0	7,9 ± 0,3	7,8 ± 0,8	8,3 ± 0,8	8,3 ± 0,7
1,8 %	8,6 ± 0,5	8,5 ± 0,5	7,8 ± 0,4	7,2 ± 0,6	7,6 ± 1,1	8,0 ± 0,7
2,1 %	8,5 ± 1,0	8,5 ± 0,5	8,5 ± 0,5	8,6 ± 0,7	8,3 ± 0,8	8,7 ± 0,5

Tabuľka 5 Senzorické hodnotenie pripravených šarží mäsových výrobkov na 21. deň

Koncentrácia soli	Vzhľad na povrchu	Vzhľad na reze	Konzistencia	Vôňa	Chuť	Celková prijateľnosť
1,5 %	8,2 ± 0,6	8,1 ± 0,3	8,3 ± 0,7	6,5 ± 1,0	6,9 ± 1,2	7,3 ± 0,8
1,7 %	8,1 ± 1,0	8,1 ± 0,6	8,2 ± 0,8	6,1 ± 1,0	6,8 ± 1,0	6,9 ± 0,9
1,8 %	8,4 ± 0,7	8,1 ± 0,6	8,3 ± 0,7	6,1 ± 1,0	6,6 ± 1,0	7,0 ± 0,7
2,1 %	8,3 ± 0,7	8,1 ± 0,6	8,3 ± 0,7	6,8 ± 1,4	7,2 ± 1,3	7,5 ± 1,1

Záver

Soľ (chlorid sodný, NaCl) tvorí neodmysliteľnú súčasť mäsových výrobkov. V mäsových výrobkoch zohráva tri dôležité funkcie: konzervačný účinok, tvorbu organoleptických atribútov kvality (chuť a textúra) a technologickú funkciu, ktorá zabezpečuje väzbu medzi mäsom, vodou a tukom. Z nami získaných výsledkov možno konštatovať, že znižovanie koncentrácie soli v mäkkých mäsových výrobkov z 2,1% na 1,5; 1,7 a 1,8 % neovplyvnilo základné chemické zloženie. Mikrobiologická bezpečnosť mäsových výrobkov je zachovaná aj pri nižších koncentráciách soli. Koncentrácia soli ovplyvnila senzorické vnímanie chutnosti a celkovej prijateľnosti mäsového výrobku.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Asyrul-Izhar, A.B.; Bakar, J.; Sazili, A.Q.; Goh, Y.M.; Ismail-Fitry, M.R. Emulsion Gels Formed by Electrostatic Interaction of Gelatine and Modified Corn Starch via pH Adjustments: Potential Fat Replacers in Meat Products. *Gels* 2023, *9*, 50.
2. Barcenilla, C.; Álvarez-Ordóñez, A.; López. M.; Alvseike, O.; Prieto, M. Microbiological Safety and Shelf-Life of Low-Salt Meat Products-A Review. Foods. 2022, 11(15), 2331.

3. Bhat, Z. F.; Morton, J. D.; Mason, S. L.; Bekhit, E. The application of pulsed electric field as a sodium reducing strategy for meat products. Food Chemistry, 2019, 306, 125622.
4. Fu, Y.; Cao, S.; Yang, L.; Li, Z. Flavor formation based on lipid in meat and meat products: A review. J Food Biochem. 2022 Dec;46(12):e14439.
5. ISO 21527-1:2010. 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.; ÚNMS SR: Bratislava, Slovakia, 2010.
6. ISO 4833-1:2014. Mikrobiológia potravinárskeho reťazca. Horizontálna metóda na stanovenie počtu mikroorganizmov. Časť 1: Metóda počítania kolónií kultivovaných pri 30 °C zalievaním inokula ÚNMS SR: Bratislava, Slovakia, 2014.
7. ISO 6887-1:2017. Mikrobiológia potravín a krmív. Úprava analytických vzoriek, príprava základnej suspenzie a desaťnásobných riedení na mikrobiologické skúšanie. Časť 1: Všeobecné pokyny na prípravu základnej suspenzie a desaťnásobných riedení; ÚNMS SR: Bratislava, Slovakia, 2017.
8. Kameník, J.; Saláková, A.; Vyskočilová, V.; Pechová, A.; Haruštiaková, D. Salt, sodium chloride or sodium? Content and relationship with chemical, instrumental and sensory attributes in cooked meat products. Meat Science, 2017, 131, p. 196-202.
9. Kim, T.-K.; Yong, H.-I.; Jung, S.; Kim, H.-W.; Choi, Y.-S. Technologies for the Production of Meat Products with a Low Sodium Chloride Content and Improved Quality Characteristics - A Review. Foods. 2021, 10, 957.
10. Lilic, S.; Brankovic, I.; Koricanac, V.; Vranic, D.; Spalevic, L.; Pavlovic, M.; Lakicevic, B. Reducing sodium chloride content in meat burgers by adding potassium chloride and onion. Procedia Food Science, 2015, 5, 164–167.
11. Martinez, M. F.; Shand, P. J.; Korber, D. R. Evaluation of microbial dynamics on low-sodium bologna using culture-dependent and culture-independent techniques. Meat Science, 2014, 96(1), 120–125.
12. Mastanjević, K.; Kovačević, D.; Nešić, K.; Krstanović, V.; Habschied, K. Traditional Meat Products - A Mycotoxicological Review. *Life*, 2023, *13*, 2211.
13. Mcgough, M. M.; Sato, T.; Rankin, S. A.; Sindelara, J. J. Reducing sodium levels in frankfurters using naturally brewed soy sauce. Meat Science, 2012, 91(1), 69–78.
14. Munekata, P.E.S.; Finardi, S.; de Souza, C.K.; Meinert, C.; Pateiro, M.; Hoffmann, T.G.; Domínguez, R.; Bertoli, S.L.; Kumar, M.; Lorenzo, J.M. Applications of Electronic Nose, Electronic Eye and Electronic Tongue in Quality, Safety and Shelf Life of Meat and Meat Products: A Review. *Sensors* 2023, *23*, 672.

15. Nariadenie Komisie (ES) č. 2073/2005 z 15. novembra 2005 o mikrobiologických kritériách pre potraviny. Úradný vestník Európskej únie L 338, 22. 12. 2005, 1–26.
16. STN ISO 16649-2: 2007. Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu ß-glukuronidázopozitívnych Escherichia coli. Časť 2: Metóda počítania kolónií kultivovaných pri 44 °C použitím 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-ß-D-glukuronidu. ÚNMS SR: Bratislava, Slovakia, 2007.
17. Tobin, B.D.; O'Sullivan, M.G.; Hamill, R.M.; Kerry, J.P. The impact of salt and fat level variation on the physiochemical properties and sensory quality of pork breakfast sausages. Meat Sci. 2013, 93, 145–152.
18. Válková, V.; Saláková, A.; Buchtová, H.; Tremlová, B. Chemical, instrumental and sensory characteristics of cooked pork ham. Meat Science, 2007, 77, 608–615.
19. Vyhláška č. 83/2016, Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky, zo 14. januára 2016 o mäsových výrobkoch.
20. Xiong, Y. L. Myofibrillar protein from different muscle fiber types: Implications of biochemical and functional properties in meat processing. Critical Reviews in Food Technology, 1994, 34(3), 293–320.
21. Zhang, D.; Li, H.; Wu, L.; He, Z. Research progress on reducing sodium chloride content in meat products. Food and Fermentation Industries, 2017, 43(11), 238–243.

Kontaktná adresa: prof. MVDr. Slavomír Marcinčák, PhD., Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika, E-mail: slavomir.marcincak@uvlf.sk

OCHRANA A WELFARE OŠÍPANÝCH POČAS PRVEJ FÁZY PRED ZABÍJANÍM NA BITÚNKU

PROTECTION AND WELFARE OF PIGS DURING FIRST PHASE OF SLAUGHTER IN THE SLAUGHTERHOUSE

Mesarčová Lýdia[1], Skurková Lenka[2], Reitznerová Anna[1], Megyesy Eftimová Zuzana[1], Výrostková Jana[1], Regecová Ivana[1], Makiš Andrej[1], Marcinčák Slavomír[1]

[1] Katedra hygieny a technológie potravín,

[2] Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat,

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

ABSTRACT

The handling of animals in the slaughterhouse is one of the key factors that affect, among other things, the quality of the final product - especially meat. The slaughterhouse is precisely the place where it is important to talk about animal welfare in the sense of veterinary ethics, which approves the use of animals for human purposes, but also speaks of humane treatment with a minimum of stress and distress. From a welfare point of view, pig slaughter processes in a slaughterhouse take place in three continuous and interdependent phases. The first phase is the pre-stunning phase, when the animals are received at the slaughterhouse, unloaded from the transport vehicle into the housing area, and either rested as decided by the official veterinarian or moved smoothly (after a pre-slaughter inspection) to the stunning area. The second phase is the actual stunning phase, where the pigs are rendered unconscious and desensitised. The third stage is the bleeding stage, which is the final stage of slaughtering pigs and where the technological treatment of the carcass continues. In terms of identification, we have looked at the hazards and their consequences that are most commonly encountered during the first phase of pig slaughter in the abattoir.

Key words: slaughterhouse, welfare, pigs, welfare hazard, welfare consequence

ÚVOD

Zabíjanie ošípaných môže prebiehať na farme, ale zväčša sa vykonáva na špecializovaných, na to určených bitúnkoch. Aby bolo zabíjanie zvierat humánne, má byť rýchle a nesmie spôsobiť zvieraťu žiadnu ujmu. Podľa Kráľovskej spoločnosti na prevenciu krutosti voči zvieratám (RSPCA) sa za humánne zabité zviera považuje zviera, ktoré je zabité

okamžite alebo je zabité bez bolesti strachu a utrpenia, čo zahŕňa uvedenie do stavu znecitlivenia (RSPCA 2019).

Dobré životné podmienky (DŽP) zvierat počas zabíjania sú čoraz viac predmetom záujmu príslušných orgánov, ale aj mnohých spotrebiteľov, čo vytvára potrebu nielen ich optimalizácie, ale aj dokumentácie ich úrovne na mieste zabíjania. Jatočné opracovávanie na bitúnkoch sa skladá z rôznych etáp, ktoré sa začínajú, keď sú ošípané naložené do prepravného prostriedku na farme a zahŕňajú zariadenia na nakladanie, prepravu, ustajnenie, omráčenie a vykrvenie. Z hľadiska posudzovania stavu welfare na bitúnku sa procesy jatočného opracovávania delia do troch hlavných fáz. Prvou fázou je fáza pred omráčením, ktorá zahŕňa príchod zvierat, ich vyloženie, prechod do ustajňovacích priestorov, ich ustajnenie vrátane manipulácie a premiestňovania, druhou fázou je omráčenie, ako uvedenie do stavu stravy vedomia a citlivosti, kde je nutné zvieratá najprv znehybniť a treťou samotné vykrvenie, ktorým nastáva smrť. V každom z týchto štádií sú zvieratá vystavené rôznym stresorom, ktoré jednotlivo aj vo vzájomnej interakcii môžu ohroziť pohodu (Brandt and Aaslyng 2015). V tejto štúdii sa venujeme podrobnostiam prvej z týchto troch fáz.

Ak chceme poukázať na rôzne aspekty DŽP na bitúnku, je potrebné predložiť zadefinovanú terminológiu, ktorá zahŕňa nebezpečenstvá pre welfare (welfare hazards), dôsledky z nich vyplývajúce (welfare consequences) a prislúchajúce preventívne alebo nápravné opatrenia (preventive/corrective measures) (EFSA 2020).

Definícia hovorí o nebezpečenstve ako o potenciálnom zdroji poškodenia alebo nepriaznivého vplyvu (https://www.efsa.europa.eu/en/campaigns/hazard-vs-risk) s možným dôsledkom pre dobré životné podmienky. V súvislosti s prítomným nebezpečenstvom sa v štúdii ďalej uvádzajú zdroje (pôvod) nebezpečenstiev, medzi ktoré najčastejšie patria stavebno-konštrukčné vybavenie bitúnku a prítomný personál, pôvod nebezpečenstva (informácie súvisiace s kategóriou pôvodu nebezpečenstva, ktoré môže súvisieť s personálom, zariadením alebo vybavením bitúnku – väčšina nebezpečenstiev môže mať viac ako jeden pôvod), dôsledky uvedených nebezpečenstiev na dobré životné podmienky ošípaných, a čo zahŕňajú preventívne a nápravné opatrenia.

FÁZA 1 – FÁZA PRED OMRAČOVANÍM

Fáza pred omráčením zahŕňa štyri okruhy úkonov:

1) príchod ošípaných na bitúnok
2) vykladanie z vozidla
3) ustajnenie na bitúnku
4) manipuláciu s ošípanými a presun do priestorov na omračovanie.

PRÍCHOD OŠÍPANÝCH NA BITÚNOK (1)

V **tabuľke č. 1** sú popísané hlavné nebezpečenstvá, ktoré majú vplyv na DŽP ošípaných bezprostredne po príchode na bitúnok. Príchod ošípaných je prvým z úkonov fázy pred omračovaním a prebieha od okamihu príchodu prepravného prostriedku až po vyloženie zvierat. Pohoda ošípaných pri príchode predstavuje kumulatívny súhrn stavu zvierat na farme vrátane podmienok chovu, rýchlosti a vzdialenosti presunu z ich chovných priestorov do priestorov nákladných vozidiel určených na prepravu živých zvierat, miešanie skupín neznámych zvierat, spôsob nakladania a prepravy a podmienky na cestách (EFSA 2020). Čakací interval na vyloženie nákladného auta po jeho príchode na bitúnok je variabilný a pohybuje sa v rozmedzí od 5 minút do 4 hodín (Jones 1999). Počas čakania na kamióne pri príchode môžu byť zvieratá vystavené rôznym environmentálnym a mikroklimatickým podmienkam v dôsledku nedostatočnej ochrany prepravného prostriedku (pred slnkom, vetrom atď.), nedostatočného vetrania, keď vozidlo stojí, stiesnených priestorov vnútri dopravného prostriedku, nedostatku podstieľky alebo nevhodnému typu podlahy a prolongovanému hladu a smädu. V dôsledku týchto podmienok môžu byť na zvieratách pozorované viditeľné vonkajšie prejavy, ako je dýchavičnosť, zmeny sfarbenia kože (tepelný stres), triaška, chúlenie (stres z chladu), vyčerpanie, dýchavičnosť alebo svalový tremor (únava).

Ak sú tieto následky na dobré životné podmienky zvierat závažné, pretrvávajú v čase alebo sa kombinujú, môžu v extrémnych prípadoch viesť k smrti zvierat. Navyše oneskorenie vyloženia zvierat ich môže predĺžiť alebo zhoršiť (EFSA 2020).

VYKLADANIE Z VOZIDLA (2)

Pri vykladaní ošípaných z prepravného prostriedku majú najväčší vplyv na zhoršenie dobrých životných podmienok prítomný personál, stavebno-technické vybavenie bitúnku a neočakávané hlasné zvuky (**Tabuľka č. 2**). Vonkajšie prejavy, prostredníctvom ktorých sa identifikujú nebezpečenstvá pre DŽP zahŕňajú prejavy ako výskyt zranení, krívanie (bolesť), vysoké hlasové prejavy (bolesť, strach), pokusy o útek, neochota pohybovať sa a otáčanie sa späť (strach) a pošmyknutia alebo pády (EFSA 2020).

Tabuľka č. 1, Príchod ošípaných na bitúnok

Welfare nebezpečenstvá	Welfare dôsledky	Pôvod nebezpečenstva	Špecifikácia nebezpečenstva	Preventívne opatrenia	Nápravné opatrenia
príliš vysoká efektívna teplota	tepelný stres únava	vybavenie, zariadenia, personál	• nedostatok kvalifikovaného personálu, • vysoká teplota a vlhkosť prostredia, • nedostatočná ventilácia v kamióne, • predĺžená čakacia doba, nedostatočný priestor na ležanie na boku	školenie personálu, poskytnutie dostatočného priestoru, vyhnúť sa najteplejším hodinám dňa na prepravu, vyloženie ihneď po príchode, dostatočné vetranie vo vozidle až do príchodu, chrániť pred nepriaznivými poveternostnými podmienkami	zabezpečenie primeraných vetracích a/alebo chladiacich systémov
príliš nízka efektívna teplota	chladový stres	vybavenie, zariadenia, personál	• nedostatok kvalifikovaného personálu, • nízka teplota prostredia počas prepravy, • predĺžená čakacia doba	školenie personálu, príprava vozidla podľa poveternostných podmienok (vrátane zabezpečenia podstielky), vyhnúť sa najchladnejším hodinám dňa, vyloženie ihneď po príchode, poskytnúť primerané ustajnenie	zabezpečenie ochrany ošípaných vo vozidle, okamžité vyloženie auta a privieť ošípané do tepelne neutrálnej zóny (napr. s použitím ohrievačov)
nedostatočný priestor	obmedzenie pohybu únavový tepelný stres	personál	• nedostatok kvalifikovaného personálu, • príliš veľa zvierat je umiestnených v priestoroch vozidla	školenie personálu, prispôsobenie počtu ošípaných priestoru vozidla	okamžité vyloženie zvierat
dlhotrvajúca deprivácia potravy	Prolongovaný hlad únava	personál	• nedostatok kvalifikovaného personálu, • neprispôsobenie času odobratia zvierat z farmy a času prepravy, resp. dlhá čakacia doba pred vyložením	školenie personálu, plánovanie prepravy aj krmiva z farmy podľa dĺžky prepravy a čakacej doby pred porážkou, plánovanie porážky zvierat, uprednostňovanie zabíjania	poskytnutie vody a potravy, okamžité zabíjanie
dlhotrvajúca deprivácia vody	prolongovaný smäd únava	personál	• nedostatok kvalifikovaného personálu, • neprispôsobenie času odobratia zvierat z farmy a času prepravy, resp. dlhá čakacia doba pred vyložením	školenie personálu, ošípané by mali mať prístup k vode až do naloženia do vozidla	poskytnutie vody, okamžité zabíjanie

Zdroj: EFSA 2020

Tabuľka č. 2, Vykladanie z vozidla

Welfare nebezpečenstvá	Welfare dôsledky	Pôvod nebezpečenstva	Špecifikácia nebezpečenstva	Preventívne opatrenia	Nápravné opatrenia
hrubé zaobchádzanie	bolesť, strach, sťažený pohyb	personál	• nedostatok kvalifikovaného personálu, • nesprávna manipulácia so zvieratami; používanie elektrických pohoničov • neadekvátne vybavenie	školenie personálu na správnu manipuláciu; vhodné zariadenia na premiestňovanie zvierat	zastavenie hrubého zaobchádzania so zvieratami
nesprávny návrh, výstavba a údržba priestorov	bolesť, strach, sťažený pohyb	vybavenie, zariadenia, personál	• nevhodný sklon rámp • nevhodné osvetlenie • klzká podlaha • absencia pevných bočných zábran • prítomnosť medzery medzi nákladným vozidlom a rampou	zabezpečenie údržbu oblasti, prestavanie priestoru vykládky s ohľadom na odporúčania a správanie zvierat	zabezpečenie dobrého osvetlenia, vyhýbanie sa tieňom a odstránenie rušivých vplyvov
neočakávané hlasné zvuky	strach	personál	• krik a hluk pochádzajúci od personálu	identifikácia a odstránenie zdroja hluku, školenie personálu, vyhýbanie sa osobnému kriku	personál prestáva kričať

Zdroj: EFSA 2020

Tabuľka č. 3, Ustajnenie na bitúnku

Welfare nebezpečenstvá	Welfare dôsledky	Pôvod nebezpečenstva	Špecifikácia nebezpečenstva	Preventívne opatrenia	Nápravné opatrenia
miešanie skupín zvierat	bolesť, strach, negatívne sociálne prejavy, únava	zariadenia, personál	• miešanie skupín zvierat z rôznych fariem, z rôznych chovov pôvodu, rôznych druhov	udržiavať známe zvieratá spolu od farmy až po zabitie, poskytnutie priestoru, poskytnutie ochrany a obohatenia prostredia, sprchovanie prd zabíjaním	odstránenie agresívnych zvierat zmiešané skupiny okamžite porážať
neočakávané hlasné zvuky	strach	vybavenie, zariadenia, personál	• kričanie personálu, • hluk strojov, • hluk zariadení	identifikácia a odstránenie zdroja hluku; školenia zamestnancov; zamedzenie kriku personálu; správne konštrukcie strojov; vyhýbať sa hlučnému zariadeniu v blízkosti ošípaných	odstránenie zdroja hluku, zastavenie kričania
nedostatočný priestor	obmedzenie pohybu únavový tepelný stres	personál	• v ohrade ustajňovacích priestorov je umiestnených príliš veľa zvierat	školenie personálu, prispôsobenie počtu ošípaných priestoru ohrady	uprednostnenie porážky ošípaných s nedostatočným priestorom
nesprávny návrh, výstavba a údržba priestorov	bolesť, obmedzenie pohybu, problémy s odpočinkom	personál, zariadenia	• nevhodná koncepcia pri zariadeniach budov • žiadne alebo nedostatočné čistenie priestoru/odvodu vody	návrh a údržba zariadení s ohľadom na požiadavky na správanie ošípaných a predchádzanie zraneniam	vyčistenie a vysušenie ustajňovacích priestorov, opravenie poškodených (polámaných) častí zariadení, , poskytnutie podstielky
príliš vysoká efektívna teplota	tepelný stres únava	vybavenie, zariadenia, personál	• nedostatok kvalifikovaného personálu, • vysoká teplota a vlhkosť prostredia, • nedostatočná ventilácia v ustajňovacích priestoroch, prolongovaný čas ustajnenia	školenie personálu, poskytnutie dostatočného priestoru, plánovanie prepravy s ohľadom na čo najkratší čas strávený v ustajňovacích priestoroch pred zabíjaním, skrátenie času v ustajňovacích priestoroch dostatočné vetranie resp. chladenie v ustajňovacom priestore, poprípade sprchovanie	okamžité zabíjanie ošípaných, zabezpečenie primeraných vetracích a/alebo chladiacich systémov, zabezpečenie chladenia ošípaných (sprchovanie) kvôli navodeniu termoneutrálnej zóny u ošípaných
príliš nízka efektívna teplota	chladový stres	vybavenie, zariadenia, personál	• nechránenie priestorov ustajnenia pred dažďom a snehom • nízka teplota prostredia • žiadny systém na zohrievanie zvierat	zaistenie závesov a alebo inej ochrany a uzatvorenie vetrania, vyhnúť sa čakacej dobe v ustajnení počas najchladnejších hodín dňa v, skrátiť čas ležania, nesprchovať zvieratá, keď je okolitá teplota nižšia ako 5 °C• chrániť priestor ustajnenia pred nepriaznivými klimatickými podmienkami, zabezpečiť primeranú podstielku	okamžité zabíjanie
dlhotrvajúca deprivácia potravy	prolongovaný hlad únava	personál	• nedostatok kvalifikovaného personálu, • neprispôsobenie času odobratia zvierat z farmy a času prepravy, resp. dlhá čakacia doba pred vyložením	školenie personálu, plánovanie prepravy krmiva z farmy podľa dĺžky prepravy a čakacej doby pred porážkou, plánovanie zabíjania zvierat, uprednostňovanie zabíjania, poskytnutie potravy, keď sa očakáva oneskorenie v procese zabíjania	okamžité zabíjanie
dlhotrvajúca deprivácia vody	prolongovaný smäd únava	personál	• nedostatok kvalifikovaného personálu, • neprispôsobenie času odobratia zvierat z farmy a času prepravy, resp. dlhá čakacia doba pred vyložením	školenie personálu, dostupnosť vody až do naloženia na farme, zabezpečenie prístupu k vode počas ustajnenia a kontrola funkčnosti napájačiek	okamžité zabíjanie

Zdroj: EFSA 2020

USTAJNENIE NA BITÚNKU (3)

Ustajňovacie priestory na bitúnkoch vo vzťahu k welfare zvierat sú zdrojom prevažnej väčšiny nebezpečenstiev, ktoré majú vplyv na zhoršenie DŽP. Hlavným účelom ustajnenia zvierat po preprave je poskytnúť unaveným a stresovaným zvieratám možnosť zotavenia zo stresu s cieľom produkcie kvalitnejšieho mäsa (Faucitano 2018). Avšak čo sa týka dĺžky ustajnenia, štúdie poukazujú na to, že dlhšie intervaly ustajnenia znižujú úroveň DŽP ošípaných (Dalla Costa et al. 2019) a preto vhodnejšie by bolo jatočne opracovať zvieratá čo najskôr (Nevoľníková 2011). Napriek tomu, aby si ošípané po preprave mohli oddýchnuť, ustajnenie má zvieraťu umožniť splniť podmienky pohodlia pri odpočinku (Welfare Quality® 2009) a tepelného komfortu, ako aj poskytnutím dostatočného priestoru, aby sa zviera mohlo voľne pohybovať a v prípade agresívneho správania iných jedincov, sa vzdialiť. Na uspokojenie potreby pohodlia pri odpočinku musí mať každé zviera dostatok priestoru, aby sa mohlo

postaviť, ľahnúť si a otočiť sa (EFSA 2020), musí mať počas celej doby ustajnenia prístup pitnej vode, a ak sú zvieratá ustajnené dlhšie ako 12 hodín, aj prístup ku krmivu.

MANIPULÁCIA A PRESUN DO PRIESTOROV NA OMRAČOVANIE (4)

Počas manipulácie a presunu ošípaných do priestorov na omračovanie sa nebezpečenstvá, ktoré majú výrazný vplyv na zhoršenie DŽP tri faktory, a to nesprávny dizajn, konštrukcia a údržba priestorov, hrubé zaobchádzanie so zvieratami počas ich manipulácie s nimi a výskyt neočakávaných, hlasných zvukov v priestoroch ustajnenia a v naháňacích uličkách (**Tabuľka č. 4**). Vonkajšími prejavmi týchto nebezpečenstiev na jatočných ošípaných sú výskyt zranení, výskyt krívania ako znak bolestivosti, vokalizačné prejavy s vyššou frekvenciou, pokusy o útek, neochota sa pohybovať, prípadne pošmyknutia a pády (EFSA 2020).

Tabuľka č. 4, Manipulácia a presun do priestorov na omračovanie

Welfare nebezpečenstvá	Welfare dôsledky	Pôvod nebezpečenstva	Špecifikácia nebezpečenstva	Preventívne opatrenia	Nápravné opatrenia
nesprávny dizajn, konštrukcia a údržba priestorov	bolesť, strach, sťažený pohyb	vybavenie, zariadenia, personál	• nesprávna koncepcia zariadení (sklony, pravé uhly obežných dráh), nesprávne osvetlenie (vysoký kontrast s presvetlenými a tienistými oblasťami), nesprávna údržba zariadení – šmykľavé a špinavé podlahy	zabezpečenie správneho dizajnu, konštrukcií a udržiavaniu zariadení v priestoroch, Prestavanie manipulačných priestorov podľa odporúčaní a na základe etologických špecifík podľa druhu zvierat	žiadne
hrubé zaobchádzanie	bolesť, strach, sťažený pohyb	personál, zariadenia	• nedostatok kvalifikovaného personálu, • nesprávna manipulácia so zvieratami; používanie elektrických pohoničov • neadekvátne vybavenie, neschopnosť zvierat kráčať vedľa seba	školenie personálu na správnu manipuláciu; vhodné vybavenie a zariadenia na premiestňovanie zvierat	personál dodržiava odporúčanie pre správne zaobchádzanie s ošípanými
neočakávané hlasné zvuky	strach	vybavenie, zariadenia, personál	• kričanie personálu, hluk strojov, hluk zariadení	identifikácia a odstránenie zdroja hluku, školenie personálu, vyhýbanie sa osobnému kriku	identifikácia a odstránenie zdroja hluku

Zdroj: EFSA 2020

ZÁVER

Vo fáze, ktorou sa začína jatočné opracovávanie ošípaných na bitúnku, bolo identifikovaných viacero nebezpečenstiev, ktoré sa významným spôsobom podieľajú na zhoršení DŽP ošípaných na bitúnku. Pri príchode na bitúnok sú ošípané ohrozené najmä účinkom tepelného stresu, dlhotrvajúceho hladu a smädu, únavy a reštrikcie pohybu. Vonkajšími prejavmi týchto nebezpečenstiev býva dýchavičnosť, zmena sfarbenia kože,

triaška, schúlenie, vyčerpanie, svalový tremor, dyspnoe, zranenia a úhyn pri príchode. Navyše oneskorené vyloženie zvierat môže viesť k pretrvávaniu alebo zhoršeniu následkov na DŽP, ktoré majú pôvod na farme alebo sú dôsledkom prepravy (napr. dlhotrvajúci smäd, obmedzenie pohybu) a zároveň môže ošípané vystaviť novým rizikám zhoršenia welfare (napr. tepelný stres). Najčastejšie následky na pohodu počas vykladania, manipulácie a premiestňovania ošípaných sú bolestivé prejavy, strach a pohybové ťažkosti. Prejavy viditeľné na zvieratách zahŕňajú zranenia, krívanie, vokalizačné prejavy, pokusy o útek, neochotu pohybovať sa, pošmyknutia a pády. Pri ustajnení môžu ošípané zažiť negatívne sociálne správanie, bolesť a strach, obmedzenie pohybu a problémy s odpočinkom, únavu, tepelný stres, dlhotrvajúci smäd a hlad. V kotercoch je sú pozorované prejavy agresívneho správania, vokalizácie s vyššou frekvenciou, svalový tremor, dyspnoe, prejavy vyčerpania a dýchavičnosti, zmeny farby kože a triaška. Pri pohybe v naháňacích uličkách sú prítomné prejavy sťaženého pohybu, bolesti a strachu. U zvierat dochádza k pošmyknutiam, pádom, krívaniu, pokusom o útek, vokalizácii s vyššou frekvenciou, zraneniam, ošípané sa obzerajú späť a nemajú ochotu sa pohybovať.

Vplyvy prítomných nebezpečenstiev v tejto fáze je možné redukovať starostlivým stavebným plánovaním usporiadania priestorov, konštrukcií a vybavenia na bitúnku, školením personálu vykonávajúceho manipuláciu so zvieratami, zohľadňovanie druhových etologických charakteristík ustajnených jatočných zvierat a zabezpečením vhodných mikroklimatických podmienok.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BRANDT, P., AASLYNG, M. D. Welfare measurements of finishing pigs on the day of slaughter: A review. In *Meat Science*, 2015, Volume 103, pp. 13-23. ISSN 0309-1740, https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.12.004.
2. DALLA COSTA, O.A., DALLA COSTA, F.A., FEDDERN, V. AND DOS SANTOS LOPES, L. Risk factors associated with pig preslaughtering losses. In *Meat Science*, 2019, Volume 155, pp. 61–68.
3. EFSA 2020, Welfare of pigs at slaughter. https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/j.efsa.2020.6148
4. FAUCITANO, L. 2018. Preslaughter handling practices and their effects on animal welfare and pork quality. In *Journal of Animal Science*, 2018, Volume 96, pp. 728–738. https://doi.org/10.1093/jas/skx064
5. JONES T.A. Improved handling systems for pigs at slaughter. In PhD Thesis, Royal Veterinary College, University of London, 1999, UK.

6. NEVOĽNÍKOVÁ, K. Vplyv prepravnej a predporážkovej záťaže na jatočnú hodnotu a kvalitu mäsa ošípaných. In Diplomová práca, Nitra, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2011, 99 s.
7. RSPCA. What does the Term Humane Killing or Humane Slaughter Mean? 2019, Available online: https://kb.rspca.org.au/knowledge-base/what-does-the-term-humane-killing-or-humane-slaughter-mean/
8. WELFARE QUALITY®. Welfare Quality® assessment protocol for pigs (sows and piglets, growing and finishing pigs). Welfare Quality® Consortium, Lelystad, 2009, The Netherlands.

Kontaktná adresa: Mesarčová Lýdia, Department of Food Hygiene and Technology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: lydia.mesarcova@uvlf.sk

KARPATSKÝ PASTEVNÝ DOYBTOK - HOVÄDZIE MÄSO NAJVYŠŠEJ KVALITY

CARPATHIAN PASTURE BEEF – BEEF OF THE HIGHEST QUALITY

Migdał Władysław, Marcinčák Slavomír, Brajner Bernadetta, Migdał Łukasz

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

[2]*Department of Food Hygiene, Technology and Safety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 68/73, 041 81 Košice Slovakia*

[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

Genetic and environmental factors, including cattle nutrition, determine the quality and safety of beef and milk. Grazing nutrition, especially the richness of Carpathian pasture vegetation, should favorably influence the meat quality of cattle grazing in the Carpathian region. The purpose of this study was to analyze the beef quality of native cattle breeds grazed and fed during the winter in the Polish and Slovak Carpathian Mountains. The meat of bulls of the breeds Polish Red Cattle and Simmental (Poland) and Slovak Spotted Cattle (Slovakia) was subjected to physical and chemical analysis. The beef analyzed was characterized by high protein content and relatively low fat content. Meat of slaughter cattle kept on pasture was characterized by a higher content of unsaturated fatty acids, especially PUFA n-6, PUFA n-3 and CLA compared to meat of cattle kept and fed indoors (in a barn). Pasture beef from young cattle kept on Carpathian pastures has a more desirable nutritional profile, which may contribute to increased consumer interest in this type of meat, and consequently to the development of cattle breeding in the Carpathian region.

Key words: Carpathian pastured, beef, chemical composition, pasture slaughter

INTRODUCTION

The quality of beef is influenced by many factors, such as breed, sex, age, nutrition, slaughter conditions and post-slaughter handling (De Smet et al.2004; Raes et al., 2004; Razminowicz et al., 2006; Scollan et al., 2006; Litwińczuk et al., 2016). Pasture nutrition, especially the richness of Carpathian pasture vegetation, should benefit the quality of meat from cattle grazing in the Carpathians. Carpathian pastured beef can be considered a brand of top

quality beef. The return to more sustainable pasture-based ruminant feeding systems has led to a growing interest in the use of botanically diverse pastures (BDP) instead of monoculture pastures. Research suggests that, from a human consumption perspective, grass-based feeding of ruminants leads to the provision of more nutritionally desirable fatty acids (FA) and an increase in the proportion of antioxidants in meat compared to concentrate feeding, which can affect meat quality. Fatty acids, antioxidant content and secondary metabolites in plants vary depending on the species, maturity and seasonality of pasture. Under the conditions of the Carpathians, the primary forage area for ruminants is permanent grassland - meadows and pastures, characterized by a rich and varied botanical composition of the sward. The most important permanent grasslands are grasses and papilionaceous (bean) plants. Grasses in particular provide food throughout the season. The Carpathian permanent grasslands are particularly rich and varied in botanical composition. A special region is the Western Carpathians and the Inner Eastern Carpathians located in the Czech Republic, Poland, Slovakia, Ukraine and Romania. The Carpathian flora includes about 500 plant species associated with mountainous locations. In the Polish Carpathians alone there are about 1,700 species of native and permanently established plants, which account for ¾ of the total national flora (https://www.konwencjakarpacka.org.pl/karpaty/flora-i-fauna-polskich-karpat). Among them are also numerous endemic species that can only be found within the Carpathian arc. The abundance of plants is conducive to grazing by ruminants. Carpathian pastures and meadows, are botanically-diverse grasslands compared to monoculture pastures. Extensively used wooded pastures, considered the archetype of the traditional agricultural landscape in Europe with high natural and cultural values, are found in the Carpathians. These pastures are the so-called forest-pasture system, or sylvopastoral system (from Latin, silva - forest), one of the types of agroforestry (https://www.wodr.poznan.pl/doradztwo/produkcja-zwierzeca/wypas-lesno-pastwiskowy-bydla-miesnego). Scattered trees and shrubs are valued for the fruit they yield, the shade they provide for animals, and their beneficial effect on grasslands. This system provides an opportunity for sustainable, efficient and profitable animal husbandry in a way that mimics nature, which additionally has a positive impact on the environment. In the forest-pasture system, animals graze in wooded areas: traditional orchards, short-rotation groves, and tree-covered pastures. This is a good idea, as such grazing contributes to sustainable livestock production, reduces the impact on natural resources, and increases the productivity, profitability and viability of using the area. In addition, food security and animal welfare are improved in the sylvopastoral system (Broom et al., 2013; Broom, 2017). The main advantages of the system are the restoration of uncultivated land to agricultural production, low labor inputs compared to intensive production, increased welfare of beef cattle (minimal stress on animals), high quality

beef sold as an organic and local product. During forest-pasture grazing, first of all, animal welfare is improved. Woodlands provide a rich environment, shade and shelter on hot and sunny days. When ambient temperature and relative humidity rise, cattle need extra energy to cool down and eat less. Shade is then necessary. Trees are a good way to provide shade and thus reduce the risk of heat stress. Heat stress, manifested by panting in cattle, is a significant animal welfare problem in most countries where beef is produced. Direct sunlight can cause sunburn or increased susceptibility to certain toxins. Trees also protect animals from wind in winter and help maintain proper heat balance. Incorporating trees into a grazing system is considered to improve animal welfare and has been shown to be better for animals in many ways than a pasture-only system (Wojcik, 2021). Current cattle production must take into account environmental, social and economic aspects in order to increase productivity in a sustainable manner. With regard to the environment, the forest-pasture grazing system has been shown to be effective in improving pasture quality, soil properties, breaking the cycle of pests and diseases, controlling invasive species, and disposing of by-products - animal manure (natural fertilization). Increased number and diversity of plants in the sylvopastoral system can cause changes in the microclimate of the pasture, improve the natural habitat, lead to the regeneration of the entire ecosystem and increase biodiversity. It is worth noting water consumption, which is an important ecological aspect. In a comparison of four beef production systems in terms of the amount of water used (Broom, 2019), sylvopastoral grazing used almost eight times less water per kilogram of beef than ranchers using grazing on non-irrigated, additionally irrigated and fertilized pastures. This is because more water is conserved in the soil and vegetation. Excessive stocking rates in pastures should also be avoided due to the limit on fertilizing pastures with manure, linked to the threat of groundwater contamination (Broom, 2021). The breeds most often chosen for extensive grazing, pasture grazing and winter feeding based on farm feed are: Hereford and Angus, which are most popular on open farms. Charolaise, Piemontese, Meat Simmental, Highland and Limousine are also popular. Regulations specify that the nitrogen load from manure is 170 kgN/ha per year. This means that there should be no more than 2 large cattle per hectare. The use of such botanically diverse pastures by ruminants (cattle, sheep and goats) can lead to changes in the chemical composition of milk and meat, especially the profile of fatty acids and antioxidant concentrations (Elgersma, 2015). Pasture grazing is seen as the most natural, species-appropriate way to feed ruminants (cattle, sheep, goats) because it is beneficial to the health of the animals, the environment and to humans consuming red meat as part of their diet (Leroy et al., 2018). Pastured beef has a more desirable nutritional profile compared to beef from grain-fed cattle (Nuernberg et al., 2005; Ponnampalam et al., 2006; Realini et al., 2004; Leheska et al., 2008). This enhanced profile is

directly correlated with the forage (pasture or forage) consumed by the animal, being a good source of α-linolenic acid (C18:3n-3c) and vitamin E, but also other compounds with antioxidant properties, such as carotenoids and flavonoids (Gatellier et al., 2005; Iqbal et al., 2022).

The purpose of this study was to analyze the beef quality of native cattle breeds grazed and fed during the winter in the Polish and Slovak Carpathian Mountains.

MATERIAL AND METHODS

The material for the study consisted of samples of two skeletal muscles, i.e. m. supraspinatus and m. semitendinosus, taken from the carcasses of young bulls of the breeds Polish Red Cattle and Simmental (Poland) and Slovak Spotted Cattle (Slovakia). Polish Red Cattle and Simmental bulls used Carpathian (Bieszczady) pastures during the summer season and Slovak Spotted Cattle bulls used pastures in the Presov region. Fattening was carried out on individual farms. After a period of feeding milk and milk substitutes, calves were fed grass and hay with concentrates. After the age of 6 months, winter feeding was based mainly on hay and hay and in summer on pasture greens. The diet was supplemented in both seasons with corn silage and grain meal. Bulls kept and fed indoors (in a barn) were fed concentrate, shredded barley, corn silage and hay ad libitum. Bulls were slaughtered at 18-20 months of age. Slaughter and post-slaughter processing were carried out in accordance with industry regulations and under veterinary control in an official slaughterhouse. Muscle samples of m. supraspinatus and m. semitendinosus were taken during dissection of the right half of the carcasses (after 24-hour cooling at 2-4°C) at 85% relative humidity). Meat samples were vacuum packed in PA/PE vacuum bags and stored at 2-4°C until analysis. In the laboratory of the Agriculture University in Kraków the meat was subjected to physical and chemical analysis. Thermal treatment in an electric furnace was carried out at a temperature of 180 ± 2°C until reaching a muscle temperature of 72 ± 2°C. The temperature inside the muscles was measured with a digital thermometer using a probe needle. After heat treatment and cooling on ice, cooking loss was determined from meat weight loss. The following analyzes were performed in raw meat: (all analyzes were performed in duplicate):

- Water content according to the standard PN-ISO 1442:2000 (Polish Committee for Standardization, 2013),
- Fat content according to the standard PN-ISO 1444:2000, (Polish Committee for Standardization, 2013), (Tecator's Soxtek HTZ-2 apparatus),

• Protein content by Kjeldahl method PN-75/A-04018 (Polish Committee for Standardization, 2002), (Büchi Labortechnik AG, a B426 mineralization furnace and a B339 distiller made in Switzerland),

• Total ash content according to the standard PN-ISO 936:2000 (Polish Committee for Standardization, 2013),

• Total carbohydrates content was calculated assuming that the all total solids and water stand for 100%.

The energy value was calculated using conversion factors, according to the Guide to Regulation (EC) No. 1169/2011.

Meat colour was determined using a Konica Minolta CM-600d spectrophotometer (Minolta Co., Ltd., Tokyo, Japan) with a 50-mm diameter measuring head in the CIE L*a*b* system, where the L* parameter corresponds to the degree of lightness (L* = 0: black, L* = 100 : white), a* and b* are colour components (a* > 0 red, a* < 0 green, b* > 0 yellow, b* < 0 blue). The chromametre was calibrated against a white tile (Y = 93.8, x = 0.3136, y = 0.3192) (CIE, 1986).

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% BF3 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 Bellafonte PA, USA, Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MO, USA) and CLA isomers (Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MO, USA).

Statistical analysis

The least square means and the standard deviation (SD) are presented in tables. Due to the small number of meat samples, the significance of the differences was not determined.

RESULTS AND DISCUSSIONS

Beef production in Poland is characterised by high fragmentation. Over 350 000 farms keep cattle and the average number of animals kept does not exceed 20. In Poland, slaughter of young slaughter cattle up to 24 months of age predominates and, according to Eurostat data, Poland is the sixth beef producer in the European Union. However, beef consumption in Poland remains low and was around 4 kg in 2020 (Beef Promotion Strategy for 2022). In Slovakia, beef consumption was higher in 2020 at 5.3 kg per person (Matušek, 2022). Beef is perceived as a premium product with a price significantly different from pork and poultry. For the most part, beef is an export product. Poland is the second exporter of beef in the European Union (after Ireland) and the main recipients of Polish beef are: France, Germany, Israel, Spain, the Netherlands, Italy and Greece. In May 2017, Poland was granted the status of a country with a negligible risk of BSE which opened the way for the opening of the markets of China, Vietnam and Turkey. High-quality pasture-raised beef is of particular interest. The beef analysed was characterised by high protein content and relatively low fat content - Table 1 and 2. The meat of bulls kept and fed indoors (in a barn) had the lowest fat content. Cooking loss of meat slices in a thermo-circulating oven (39.54-41.47%) was similar to the study by Ježek et al (2019). The colour parameters L*a*b* of the meat were typical for beef bulls. Realini et al. (2018) defined a fresh beef steak when the colour values are L*>39.5, a*>16.8, and b*>6.3 and Zhang et al. (2021) defined the range of fresh beef in the ranges of L*>31.4, a*>16.4, and b*>6.5. the most interesting changes for the consumer were observed in the fatty acid profile - Table 3.

Analysis of the percentage content of individual FA in total fatty acids (Table 3) showed that meat from bulls kept on pasture was characterised by a higher content of unsaturated fatty acids, especially PUFA n-6, PUFA n-3 and CLA, compared to meat from bulls kept and fed indoors (in a barn). The results of analyses of fatty acid content in meat from cattle of different breeds conducted by different authors differed and depended on environmental factors, mainly nutrition (Bureš et al., 2006; Bartoň et al., 2008; Ugarković et al., 2013, Bartoň et al., 2021). On average, beef IMF consists of 45-48% SFA, 35-45% monounsaturated acid fatty acids (MUFA) and about 5% PUFA (Scollan et al., 2006) and the PUFA:SFA ratio, typically is 0.11 (Wood et al., 2008). Typically subcutaneous fat has a lower PUFA content and PUFA:SFA ratio (0.05) (Wood et al., 2008), although this is potentially of less importance in human nutrition and possible human health implications as it can be avoided rather than eaten (Kamihiro et al., 2015). Although beef is high in SFAs, it is also a source of beneficial PUFAs, particularly omega-3 (n-3) PUFAs and CLA (Daley et al., 2010; Nuernberg et al., 2002). The fatty acid profile of bulls kept and fed indoors (in a barn) did not meet the standards reported

by Scollan et al., (2006). French et al., (2000), Kraft et al., (2008) and Warren et al., (2008) also showed in their study that the IFM of cattle using pasture grazing and pasture grass had a more favourable fatty acid profile (with health-promoting effects) compared to the IFM of cattle kept and fed indoors (in a barn). Fresh pasture grass results in increased n-3 PUFA and CLA concentrations in muscle lipids, an increase in the PUFA:SFA (P:S) ratio and a decrease in the n-6: n-3 PUFA ratio (Nuernberg et al., 2005; Ponnampalam et al., 2006; Shingfield et al., 2013). Of particular value to consumers is the appearance in ruminant fat of ALA and other n-3 family fatty acids and vaccenic acid t11 C18:1, which are involved in human and animal metabolism (Palmquist et al., 2005). Vaccenic acid t11 C18:1 is an intermediate product of biohydrogenation in the rumen and acts as a precursor of influential CLA9. Fruet et al., (2018), Mezgebo et al., (2017) and Nogoy et al., (2022) indicated not only a deposition of beneficial polyunsaturated fatty acids (PUFAs) such as C18:3n-3c, conjugated linoleic acid (CLA) and a lower n-6:n-3 ratio in the muscles of cattle using the pasture but also an increase in vitamin E and carotenoid content in the muscles resulting in increased lipid stability and meat colour as a result of increased potential antioxidant content in tissue systems (Descalzo et al., 2005; Luciano et al., 2011; Ponnampalam et al., 2017;). Many authors have confirmed that the subcutaneous adipose tissue of pasture-fed animals has significantly higher levels of β-carotene and lutein compared to animals fed concentrate, cereals or on fattening (Alvarez et al., 2015; Daley et al., 2010; Descalzo and Sancho, (2008); Davis et al., (2022). Pasture feeding provides natural antioxidants absorbed by muscle (Ponnampalami et al., 2017; Wood et al., 2004; Wood et al., 2008, Kearns et al., 2023), which help to balance the pro-oxidant effects of more PUFAs in muscle (Ponnampalam et al., 2014), thus improving the oxidative stability of meat. Van Vliet et al., (2021) also highlighted the presence of phytochemicals (terpenoids and phenols), and their antioxidant properties, in the milk and meat of pasture-raised animals. Marcinčák et al., (2008) analysing the antioxidant activity and the total content of phenolic compounds in methanolic extracts of 10 selected plants found in the Košice area showed that the highest antioxidant activity was found in extracts of *Origanum vulgare L.*, *Melissa officinalis L.* and *Agrimonia eupatoria L.* The presence of plant species containing secondary metabolites, such as condensed tannins, in the pasture sward has a beneficial effect on the rumen. The microbial degradation and biohydrogenation processes taking place in the rumen (Campidonico et al., 2016), favourably affect meat quality (Priolo et al., 2001). However, excess secondary metabolites, e.g. condensed tannins, can have anti-nutritional effects (Ponnampalam and Holman, 2023). Red meat (e.g. beef or lamb) has a low PUFA/SFA ratio (0.11) compared to other meats such as pork (0.58) or chicken (0.39-0.97) (Milicevic et al., 2014; Wood et al., 2008). This is partly due to biohydrogenation of unsaturated fats in the rumen of the animal

(Enser et al., 1998). Most PUFAs are found in the products of pasture-grazed ruminants. Daley et al., (2010 believe that consumers should be aware that differences in FA content will also give grass-fed beef a distinct grassy flavour and unique culinary qualities that should be considered when switching from grass-fed beef. In addition, the fat of cattle fed on pasture grass can have a yellowish appearance due to the increased content of carotenoids (a precursor to vitamin A).

Pasture grazing provides optimal welfare conditions for the animals and more and more consumers are becoming conscious about the origin and welfare of livestock when buying the product. In May 2023, the Polish Union of Meat Cattle Breeders and Producers in cooperation with the Foundation Institute for Market and Social Research IBRiS.prepared a report on the social perception of animal welfare in Poland (DOBROSTAN Social perception of beef in Poland. (https://dobrostan.info/wp-content/uploads/2023/10/Dobrostan.-Spoleczne-spostrzeganie-wolowiny-w-Polsce_compressed.pdf). When asked what, in your opinion, should be done to ensure the welfare of farm animals and to minimise the negative impact of farming on the environment, nearly 75% of respondents answered that it is necessary to bet on farming in small, family-run farms with plenty of space for animals. 51% responded that it is necessary to bet on farms based on innovative technologies that provide comfort and adequate living conditions for the animals. It is noteworthy that 4.7% responded that it is necessary to replace livestock farms entirely with meat produced in a laboratory. As many as 80% of Poles believe that production subsidies should be introduced for breeders who care about the welfare of their herds and 13% have no opinion on the matter. In addition, the use of monitoring from unloading to slaughter and during the transport of animals are solutions supported by a large majority of respondents in both urban and rural centres. Poles would be willing to pay more for products that have an animal welfare certificate and come from sustainable farms. Such a declaration was made by almost 63% of respondents in the survey. Almost 74% of Poles believe that beef producers should be more transparent about animal husbandry. This research shows that Poles value animal welfare as much as people in all EU countries. The special Eurobarometer survey (533) was conducted from 2-26 March 2023. The survey was conducted among 26,376 respondents from 27 EU Member States representing different social and demographic groups. An overwhelming majority of Europeans (84 per cent) believe that the welfare of farm animals in their country should be better protected than at present. A similar proportion of respondents (83 per cent) support limiting the transport time of animals. Almost three quarters (74 per cent) are in favour of better protection of the welfare of pets in their country. More than 90 per cent of Europeans believe that farming and breeding practices should meet basic ethical requirements. These practices include providing animals with sufficient

space, sufficient food and water, an environment adapted to their needs (mud, straw, etc.) and proper handling. The survey also revealed a high level of concern about animal welfare in slaughterhouses (https://europa.eu/eurobarometer/surveys/detail/2996).

Pasture grazing, especially in the sylvopastoral system, is a factor in improving animal welfare. However, there remains the problem of stress during the pre-slaughter and slaughter procedures (separation of animals from the herd, transport to the slaughterhouse, staying in the livestock store, waiting for the animals to be slaughtered and slaughtered). An attempt to eliminate this stress is pasture culling, which concerns healthy animals in the pasture. It has nothing to do with the emergency slaughter of injured animals or in life-threatening situations such as ruminant bloat. In Germany, Austria or Switzerland, pasture culling works well. Both smaller and larger producers use it. The slaughter of the animal, i.e. stunning and bleeding, takes place directly in the pasture or nearby or on the farm. After stunning and bleeding, the animal is then transported using purpose-built trailers or equipment hooked up to a farm tractor for transport to a stationary abattoir and processing. The final decision on the method of slaughter is made by the district veterinarian in consultation with the farmer, depending on the type of farm and breed of animal. By shortening the supply chain and reducing the costs incurred for transport, slaughtering, portioning and ripening, a lot of savings can be made. This is how family farms operate in Germany and also in Switzerland. In Switzerland, slaughtering animals on pasture has been possible since 2016. Cattle are stunned with a head shot in their natural herd habitat. Other animals hardly react to the shot, as the farmer often (on a daily basis) uses a gun by firing a blind shot into the air. The originator of the grazing culling system is Ernst Hermann Maier, a beef cattle farmer from Ostdorf (Balingen), who in 1988 started to take action to allow the slaughter of his cattle on pasture by shooting his animals (Markowska, 2019). After more than 13 years of struggle, on 2 May 2001. Ernst Hermann Maier was finally granted permission to shoot animals on pasture and began work on constructing a Mobile Slaughter Box (Mobile Schlachtbox - MSB), which would comply with current regulations on meat extraction hygiene. According to the procedures, an animal stunned in the pasture must be bled and transported to the carcass cutting area. During this time, not a drop of blood may reach the soil. Hence the work to develop a mobile box into which the stunned animal is loaded and bled by cutting a vein. The blood goes into a suitable tub. The crate is then transported by tractor to the cutting location, which is either on the farm or in close proximity to the farm, where the carcass is expertly butchered by an experienced butcher. Ernst Hermann Maier's cooperation with the University of Kässel Witzenhausen and the possibility of obtaining EU funding for this resulted in the first and then the second prototype of a mobile slaughter box, the MSB II. In 1995. Ernst Hermann Maier founded the association Uria e. V., which promotes welfare-oriented animal

husbandry and is particularly committed to abolishing the transport of slaughter animals. Uria e. V., based in Balingen-Ostdorf, Zollernalbkreis, is an association promoting a new type of animal husbandry. It is concerned with animal welfare and operates on a nonprofit basis. The statutory aim of the organisation is to promote stress-free livestock farming, which is uncompromisingly oriented towards the needs of the animals. The basis of this idea is the exclusion of transporting live animals to slaughterhouses. In the area of ex-meat farming, the organisation promotes animal-friendly slaughtering with the Mobile Schlacht box® system. The Mobile Slaughter Box® (MSB®) is an alternative to on-site slaughtering that has been successfully used in the URIA project since 1995, enabling animal-friendly slaughtering without transport, stress and anxiety. The contemporary MSB® II crate type was developed by Ernst Hermann Maier in cooperation with Agrima. As an alternative to traditional slaughter in the slaughterhouse, so-called pasture slaughter was allowed in Germany in 2011 - but only for cattle that live outside all year round. Such cattle can (with the prior approval of the authorities) be stunned and bled on the pasture and then taken to the slaughterhouse. The cattle are stunned by a shot to the head in their daily environment in the pasture - while taking feed or resting. After checking the animal's vital signs, it is dragged by a rope winch into a stall, where it is bled in a very short time. Permission for grazing slaughter requires, among other things, a gun licence and a certificate of competence in accordance with the Animal Slaughter Ordinance. In addition, the animal must arrive at the slaughterhouse, where it is eviscerated and cut into carcasses, within a maximum of one hour after slaughter. In 2004, EU Regulation 853/2004 on meat hygiene came into force. All registered abattoirs throughout the EU had until the end of 2009 to meet the strict requirements, otherwise they could close. In 2005, the slaughterhouse URIA, which performed pasture slaughter, bleeding based on a box constructed by E. Maier, applied to the EU for approval of this friendly method of slaughtering animals. However, the URIA abattoir's application was rejected, and by decision of the veterinary inspection pasture slaughtering could not continue after 1 January 2010. The decision states that, according to the EU regulation, only live animals delivered to the slaughterhouse are accepted. At the URIA abattoir, the animals are killed and bled in the pasture. With some difficulties, however, it was possible to obtain the required approval on 21.12.2009. The Ministry of Rural Affairs and Consumer Protection (MLR) subsequently recognised pasture slaughter as extraordinary slaughter. As a result, meat from slaughtered animals could not be fully marketed. On 24 March 2011, the Mobile Slaughter Box MSB II application received full EU approval for this method of cattle slaughter and the ability to sell the meat throughout the EU. Thanks to his determination, Ernst Hermann Maier legalised pasture culling in Germany and today pasture culling operates without complaint in Germany, Austria and Switzerland (since May 2016).

On 17 December 2019, at the secretariat of the Minister of Agriculture and Rural Development, the Polish Association of Breeders and Producers of Purebred Polish Red Cattle submitted a recommendation on the issue of agricultural abattoirs and, in particular, pasture slaughter, arguing that the biggest problem in traditional abattoirs is the slaughter process itself, and for breeders the transport of live animals due to the increasing distances and difficulties in transport logistics. In the meantime, several Polish cattle farmers have received four days of training at the Landesjagdschule in Dornsberg, Germany, combined with state examinations, on how to slaughter cattle with firearms as well as with the Radical needle gun. Council Regulation (EC) No 1099/2009 of 24 September 2009 on the protection of animals at the time of killing obliges Member States to recognise certificates of competence issued in another Member State. On 6 June 2022, the first MSB slaughter machine in Poland - the Mobile Schlacht Box - approved for use in the European Union based on the necessary certificates and veterinary requirements was taken over. The most important objective of implementing MSB in Poland is to increase animal welfare by eliminating the transport of live animals to slaughterhouses. The condition for pasture slaughter is that the animal must be allowed to be slaughtered by a veterinarian (healthy animal), the animal must be bled within 60 seconds after stunning (blood must not enter the soil) and the animal must be delivered to the slaughterhouse within 60 minutes. EU food safety legislation provides for the possibility for Member States to apply some type of derogation for slaughterhouses. 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 allows the slaughter of 1 bovine animal over 3 months and 2 bovine animals under 3 months per day on the farm. In the Polish legal system, they have been introduced for low-capacity slaughterhouses and low-capacity slaughterhouses located on farms, i.e. so-called ‘farm slaughterhouses’. Also in the Czech Republic, slaughtering in on-farm slaughterhouses is possible. The owner of the animal who has slaughtered on the farm is obliged to manage special risk material (SRM) at his/her own expense. For the safety of consumers and to ensure the welfare of the slaughtered animals, agricultural slaughterhouses and especially grazing slaughter must be under the special supervision of the veterinary services.

Table 1. Chemical composition (%) and caloric value of *m. supraspinatus* of the analyzed cattle breeds

Parameter	Pasture grazing			Bulls kept and fed indoors (in a barn)
	Cattle breed and country of origin			
	Polish Red Cattle, Poland Bieszczady	Simmental Poland Bieszczady	Slovak Spotted Cattle	Simmental Poland
n	6	6	4	6
Total solids	25.06±1.89	25.07±2.00	25.36±3.12	24.79±2.21
Protein	21.55±2.51	21.95±2.27	22.04±3.03	21.95±2.12
Fat	2.22±0.29	1.65±0.24	1.96±0.34	1.57±0.19
Ash	1.11±0.09	1.14±0.07	1.13±0.06	1.15±0.04
Carbohydrates (%)	0.18±0. 02	0.33±0.06	0.23±0.04	0.12±0.01
Caloric value kcal/100 g kJ/100 g	 106.90 451.55	 95.72 439.81	 96.92 451.11	 102.40 433.28
Color parameters L* a* b*	 45.12±4.32 21. 94±1.87 14. 02±1.32	 37.94±2.99 11.15±1.21 10.43±1.02	 31.15±3.05 21.61±1.86 19.73±1.25	 34.58±2.76 16.49±1.96 7.42±1.01
Cooking loss - oven (%)	41.23±4.01	41.30±4.11	40.78±3.42	39.62±2.68

Table 2. Chemical composition (%)and caloric value of *m. semitendinosus* of the analyzed cattle breeds

Parameter	Pasture grazing			Bulls kept and fed indoors (in a barn)
	Cattle breed and country of origin			
	Polish Red Cattle, Poland Bieszczady	Simmental Poland Bieszczady	Slovak Spotted Cattle	Simmental Poland
Total solids	25.31±2.76	25.28±1.99	25.44±2.79	24.93±1.43
Protein	21.81±1.95	22.23±2.12	22.15±2.75	22.33±1.96
Fat	2.11±0.15	1.45±0.13	1.81±0.24	1.28±0.11
Ash	1.15±0.11	1.18±0.08	1.16±0.08	1.19±0.02
Carbohydrates (%)	0.24±0.04	0.42±0.09	0.32±0.08	0.13±0.009
Caloric value kcal/100 g kJ/100 g	 107.19 452.92	 103.65 438.70	 106.17 448.96	 101.36 429.18
Color parameters L* a* b*	 43.83±3.87 8.64±1.02 14.39±1.31	 47.10±2.94 8.81±0.95 14.25±1.09	 36.86±2.83 19.04±0.84 10.569±0.90	 36.22±2.74 18.89±1.01 8.91±0.89
Cooking loss - oven (%)	41.15±4.11	41.47±3.99	39.54±3.43	40.16±3.12

Table 3. The fatty acids profile (% of total fatty acids) in *m. semitendinosus* of the analyzed cattle breeds

Fatty acids	Pasture grazing			Bulls kept and fed indoors (in a barn)
	Cattle breed and country of origin			
	Polish Red Cattle, Poland Bieszczady	Simmental Poland Bieszczady	Slovak Spotted Cattle	Simmental Poland
8:0 Caprylic	0.019±0.001	0.02±0.001	0.015±0.002	0.02±0.001
C10:0 Capric	0.11±0.004	0.09±0.002	0.08±0.002	0.08±0.001
C12:0 Lauric	0.14±0.010	0.18±0.009	0.12±0.008	0.02±0.001
C14:0 Myristic	2.12±0.102	2.87±0.098	2.69±0.087	3.54±0.102
C14:1 n-9 Myristicoleic	0.60±0.031	0.56±0.040	0.42±0.029	0.63±0.043
C15:0 Pentadecanoic	0.55±0.040	0.75±0.032	0.59±0.028	0.41±0.034
C16:0 Palmitic	25.09±0.62	25.44±0.52	24.83±0.75	34.92±0.46
C16:1 n-9 Palmitoleic	0.28±0.032	0.25±0.024	0.29±0.019	0.18±0.013
C16:1 n-7 Palmitoleic	2.82±0.072	3.53±0.114	2.59±0.089	3.63±0.056
C17:0 Heptadecanoic	1.12±0.045	1.03±0.025	1.46±0.037	1.04±0.022
C17:1cis-10-heptadecanoic	0.78±0.018	0.53±0.016	1.05±0.020	0.57±0.014
C18:0 Stearic	17.71±0.305	16.29±0.389	17.75±0.292	24.34±0.245
C18:1 n-9 Oleic	30.02±0.342	30.04±0.412	29.72±0.325	21.50±0.286
C18:1 n-7 Elaidic	2.15±0.131	1.75±0.095	2.04±0.071	1.86±0.046
C18:2 n-6 Linoleic	7.86±0.232	8.20±0.105	7. 97±0.083	4. 60±0.042
C18:3 n-6 γ-Linolenic	0.09±0.004	0.08±0.003	0.04±0.003	-
C18:3 n-3 α-Linolenic	1.48±0.052	1.52±0.032	1. 49±0.035	0.25±0.021
CLA	0.23±0.015	0.38±0.022	0.33±0.019	0.15±0.012
C20:0 Arachidic	0.17±0.021	0.29±0.009	0.17±0.016	0.11±0.005
C20:1 n-9 Eicosenoic	0.26±0.002	0.37±0.009	0.24±0.007	0.06±0.002
C20:2 n-6 Eicosadienoic	0.16±0.002	0.16±0.003	0.20±0.02	0.05±0.001
C20:3 n-6 Eicosatrienoic	0.65±0.008	0.54±0.05	0. 62±0.003	0.11±0.001
C20:4n-6 Arachidonic	2.95±0.072	2.70±0.026	2.81±0.021	0.47±0.009
C20:4 n-3 Eicosatetraenoic	0.19±0.001	0.19±0.002	0.19±0.002	0.16±0.001

C20:5 n-3 Eicosapentaenoic	0.68±0.012	0.62±0.011	0.63±0.008	0.33±0.006
C22:4 n-6 Docosatetraenoic	0.25±0.017	0.22±0.023	0.23±0.012	0.25±0.006
C22:5 n-6 Docosapentaenoic	0.009±0.001	0.008±0.002	0.006±0.001	-
C22:5 n-3 Docosapentaenoic	1.37±0.032	1.25±0.021	1.28±0.012	0.59±0.009
C22:6 n-3Docosahexaenoic	0.13±0.002	0.13±0.003	0.14±0.002	0.08±0.001
Other	0.011±0.001	0.012±0.002	0.009±0.001	0.050±0.009
SFA[1]	47.029±0.461	46.96±0.326	47.705±0.289	64.480±0.242
UFA[2]	52.971±0.458	53.040±0.308	52.295±0.245	35.520±0.212
MUFA[3]	36.91±0.411	37.03±0.268	36.35±0.215	28.430±0.201
PUFA[4]	16.061±0.284	16.010±0.203	15.945±0.189	7.090±0.175
PUFA n-6	11.969±0.231	11.908±0.198	11.876±0.172	5.480±0.168
PUFA n-3	3.850±0.007	3.710±0.010	3.730±0.006	1.410±0.005
PUFA n6/n3	3.109±0.384	3.210±0.472	3.184±0.423	3.887±0.402
PUFA/SFA	0.342±0.090	0.341±0.012	0.335±0.009	0.110±0.005
PUFA/MUFA	0.436±0.052	0.433±0.011	0.439±0.008	0.250±0.004
UFA/SFA	1.127±0.062	1.130±0.024	1.097±0.012	0.551±0.010

Notes: NS – the difference is not significant; [1]SFA - saturated fatty acids; [2]UFA - unsaturated fatty acids; [3]MUFA - monounsaturated fatty acids; [4]PUFA - polyunsaturated fatty acids

CONCLUSION

Pasture grazing of slaughter cattle, especially on Carpathian pastures rich in diverse vegetation and especially in herbs, contributes to beef quality. Meat from slaughter cattle kept on pasture is characterised by a higher content of unsaturated fatty acids, especially PUFA n-6, PUFA n-3 and CLA compared to meat from cattle kept and fed indoors (in a barn). The introduction of pasture-based slaughtering will reduce animal stress associated with transport and ante-mortem handling, but such slaughtering must be carried out under special veterinary supervision. Carcass cutting and meat handling must meet requirements to ensure consumer safety.

REFERENCES

1. ALVAREZ, R., MEĽENDEZ-MARTINEZ, A. J., VICARIO, I. M., ALCADE, M. J. (2015). Carotenoid and vitamin A contents in biological fluids and tissues of animals as an effect of the diet: A review. *Food Reviews International*, 31(4), 319–340. https://doi.org/10.1080/87559129.2015.1015139

2. BARTOŇ, L., BUREŠ, D., ŘEHÁK, D., KOTT, T., MAKOVICKÝ, P. (2021). Tissue-specific fatty acid composition, cellularity, and gene expression in diverse cattle breeds. *Animal*, 15(1):100025. doi: 10.1016/j.animal.2020.100025.
3. BARTOŇ, L., MAROUNEK, M., KUDRNA, V., BURES, D., ZAHRÁDKOVÁ, R. (2008). Growth, carcass traits, chemical composition and fatty acid profile in beef from Charolais and Simmental bulls fed different types of dietary lipids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88. 2622 - 2630. 10.1002/jsfa.3381.
4. BROOM, D. M. (2017). Components of sustainable animal production and the use of silvopastoral systems. *Revista Brasileira Zootecnia*, 46, 683–688.
5. BROOM, D. M. (2019). Land and water usage in beef production systems. *Animals*, 9 (6), 286.
6. BROOM, D. M. (2021). A method for assessing sustainability, with beef production as an example. *Biological Reviews*, *96*, Article 5. https://doi.org/10.1111/brv.12726
7. BROOM, D.M., GALINDO, F.A., MURGUEITIO, E. (2013). Sustainable, efficient livestock production with high biodiversity and good welfare for animals. Proc Biol Sci. Sep 25, 280 1771:20132025. doi: 10.1098/rspb.2013.2025.
8. BUREŠ, D., BARTOŇ, L., ZAHRÁDKOVÁ, R., TESLIK, V., KREJČOVÁ, M. (2006). Chemical composition, sensory characteristics, and fatty acid profile of muscle from Aberdeen Angus, Charolais, Simmental, and Hereford bulls. *Czech Journal of Animal Science*, 51(7), 279-284. doi: 10.17221/3940-CJAS.
9. CAMPIDONICO, L., TORAL, P. G., PRIOLO, A., LUCIANO, G., VALENTI, B., HERVÁS, G., NIDERKORN, V. (2016). Fatty acid composition of ruminal digesta and longissimus muscle from lambs fed silage mixtures including red clover, sainfoin, and timothy. *Journal of Animal Science*, 94(4), 1550–1560. https://doi.org/10.2527/jas.2015-9922.
10. CIE (1986). Colorimetry. Vienna: Centre International de L'eclairage.
11. COUNCIL REGULATION (EC) No 1099/2009 of 24 September 2009 on the protection of animals at the time of killing. Official Journal of the European Union, L 303/1
12. DALEY, C.A., ABBOTT, A., DOYLE, P.S., NADER, G.A., LARSON, S. (2010). A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. Nutrition Journal, 10, 9, 10. doi: 10.1186/1475-2891-9-10.
13. DESCALZO, A.M., INSANI, E.M., BIOLATTO, A., SANCHO, A.M., GARCIA, P.T., PENSEL, N.A., JOSIFOVICH, J.A. (2005). Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of argentine beef. *Meat Science*, 70(1), 35–44. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.11.018.

14. DE SMET, S., RAES, K., DEMEYER, D. (2004). Meat fatty acid composition as affected by fatness and genetic factors: A review. *Animal Research*, 53(2), 81–98. https://doi. org/10.1051/animres:2004003
15. DESCALZO, A. M., SANCHO, A. M. (2008). A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef produced in Argentina. *Meat Science*, 79(3), 423–436. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.12.006
16. DOBROSTAN. Społeczne postrzeganie wołowiny w Polsce. https://dobrostan.info/wp-content/uploads/2023/10/Dobrostan.-Spoleczne-spostrzeganie-wolowiny-w-Polsce_compressed.pdf.
17. DAVIS, H., MAGISTRALI, A., BUTLER, G., STERGIADIS, S. (2022). Nutritional Benefits from Fatty Acids in Organic and Grass-Fed Beef. *Foods*.; 11(5):646. https://doi.org/10.3390/foods11050646.
18. ELGERSMA, A. (2015). Grazing increases the unsaturated fatty acid concentration of milk from grass-fed cows: A review of the contributing factors, challenges and future perspectives. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117(9), 1345–1369. https://doi.org/10.1002/ejlt.201400469
19. ENSER, M., HALLETT, K. G., HEWETT, B., FURSEY, G. A. J., WOOD, J. D., HARRINGTON, G. (1998). Fatty acid content and composition of UK beef and lamb muscle in relation to production system and implications for human nutrition. *Meat Science*, 49(3), 329–341. https://doi.org/10.1016/S0309-1740(97)00144-7.
20. EUROPEAN PARLAMENT AND OF THE COUNCIL. (2011). Regulation (EU) No 1169/2011 on the provision of food information to consumers, amending Regulations (EC) No 1924/2006 and (EC) No 1925/2006 of the European Parliament and of the Council, and repealing Commission Directive 87/250/EEC, Council Directive 90/496/EEC, Commission Directive 1999/10/EC, Directive 2000/13/EC of the European Parliament and of the Council, Commission Directives 2002/67/EC and 2008/5/EC and Commission Regulation (EC).Official Journal of the European Union, L 304.
21. FOLCH, J., LEES, M., STANLEY, G. H. S. (1957). A simple method for the isolation and purification of lipids from animal tissue. Journal of Biological Chemistry, 226, 497-509.
22. FRENCH, P., STANTON, C., LAWLESS, F., O'RIORDAN, E. G., MONAHAN, F. J., CAFFREY, P. J., MOLONEY, A. P. (2000). Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass

silage, or concentrate-based diets. *Journal of Animal Science*, 78(11), 2849–2855. https://doi.org/10.2527/ 2000.78112849x.

23. FRUET, A.P.B., TROMBETTA, F., STEFANELLO, F.S., SPERONI, C.S., DONADEL, J.Z., DE SOUZA, A.N.M., ROSADO JÙNIOR, A., TONETTO, C.J., WAGNER, R., DE MELLO, A., NÖRNBERG, J.L. (2018). Effects of feeding legume-grass pasture and different concentrate levels on fatty acid profile, volatile compounds, and off-flavor of the M. longissimus thoracis. *Meat Science*, 140, 112-118. doi: 10.1016/j.meatsci.2018.03.008.
24. GATELLIER, P., MERCIER, Y., JUIN, H., RENERRE, M. (2005). Effect of finishing mode (pasture- or mixed-diet) on lipid composition, colour stability and lipid oxidation in meat from Charolais cattle. *Meat Science*, 69(1), 175–186. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.06.022.
25. GŁÓWNY INSPEKTORAT WETERYNARII. (2020). Wymagania weterynaryjne przy prowadzeniu "Rzeźni Rolniczej", Warszawa 2020.
26. IQBAL, Y., PONNAMPALAM, E. N., COTTRELL, J. J., SULERIA, H. A. R., DUNSHEA, F. R. (2022). Extraction and characterization of polyphenols from non-conventional edible plants and their antioxidant activities. *Food Research International*, 157. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111205
27. JEZEK, F., KAMENIK, J., MACHARÁČKOVÁ, B., KRÁLOVÁ, K., BEDNÁŘ, J. (2019). Cooking of meat: effect on texture, cooking loss and microbiological quality – a review. *Acta Veterinaria Brno*, 88, 487-496. 10.2754/avb201988040487.
28. KAMIHIRO, S., STERGIADIS, S., LEIFERT, C, EYRE, M.D., BUTLER, G. (2015). Meat quality and health implications of organic and conventional beef production. *Meat Science*, Feb;100:306-18. doi: 10.1016/j.meatsci.2014.10.015.
29. KEARNS, M., JACQUIER, J. Ch., HARRISON, S., CAMA-MONCUNILL, R., BOLAND, T., SHERIDAN, H., KELLY, A., GRASSO, S., MONAHAN, F. (2023). Effect of different botanically-diverse diets on the fatty acid profile, tocopherol content and oxidative stability of beef. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103. 10.1002/jsfa.12633.
30. KOMISJA ZARZĄDZAJĄCA FUNDUSZU PROMOCJI MIĘSA WOŁOWEGO. (2021). Strategia promocji dla branży mięsa wołowego na rok 2022.
31. KRAFT, J., KRAMER, J.K., SCHOENE, F., CHAMBERS, J.R., JAHREIS, G. (2008). Extensive analysis of long-chain polyunsaturated fatty acids, CLA, trans-18:1 isomers, and plasmalogenic lipids in different retail beef types. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 25;56(12), 4775-4782. doi: 10.1021/jf8001813.

32. LEHESKA, J., THOMPSON, D., HOWE, J.C., HENTGES, E., BOYCE, J., BROOKS, J., SHRIVER, B., HOOVER, L., MILLER, M. (2008). Effects of conventional and grass-feeding systems on the nutrient composition of beef. *Journal of Animal Science*, 86, 3575-85. 10.2527/jas.2007-0565.
33. LEROY, G., HOFFMANN, I., FROM, T., HIEMSTRA, S. J., GANANDINI, G. (2018). Perception of livestock ecosystem services in grazing areas. *Animal*, 12(12), 2627–2638. https://doi.org/10.1017/S1751731118001027.
34. LITWIŃCZUK, Z., DOMARADZKI, P., FLOREK, M., ŻÓŁKIEWSKI, P. (2016). Chemical composition, fatty acid profile, including health indices of intramuscular fat, and technological suitability of the meat of young bulls of three breeds included in a genetic resources conservation programme fattened within a low-input system. *Animal Science Papers and Reports*, 34, 387-397.
35. LUCIANO, G., MOLONEY, A. P., PRIOLO, A., RÖHRLE, F. T., VASTA, V., BIONDI, L., MONAHAN, F. J. (2011). Vitamin E and polyunsaturated fatty acids in bovine muscle and the oxidative stability of beef from cattle receiving grass or concentrate-based rations. *Journal of Animal Science*, 89(11), 3759–3768. https://doi.org/10.2527/ jas.2010-3795.
36. MARCINČÁK, S., POPELKA,P., ŠOLTYSOVÁ, L. (2008). Polyphenols and antioxidative activity of extracts from selected slovakian plants. *Acta Scientiarum Polonorum. Medicina Veterinaria*, 7, 9-14.
37. MARKOWSKA, K. (2019). Quo vadis polska czerwona? *Hodowca Bydła*, 11/2019, 58-61.
38. MATUŠEK, V. (2022). Analysis of Meat Consumption in Slovakia in the third Millennium. 299-305. 10.15414/isd2022.s3.09
39. MEZGEBO, G. B., MONAHAN, F. J., MC GEE, M., O'RIORDAN, E. G., RICHARDSON, I. R., BRUNTON, N. P., MOLONEY, A. P. (2017). Fatty acid, volatile and sensory characteristics of beef as affected by grass silage or pasture in the bovine diet. *Food Chemistry*, 235, 86–97. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.025
40. MILICEVIC, D., VRANIC, D., MASIC, Z., PARUNOVIC, N., TRBOVIC, D., NEDELJKOVIC-TRAILOVIC, J., PETROVIC, Z. (2014). The role of total fats, saturated/unsaturated fatty acids and cholesterol content in chicken meat as cardiovascular risk factors. *Lipids in Health and Disease*, 13(1), 42. https://doi.org/10.1186/1476-511X-13-42.
41. NOGOY, K. M. C., SUN, B., SHIN, S., LEE, Y., ZI LI, X., ChOI, S. H., PARK, S. (2022). Fatty Acid Composition of Grain- and Grass-Fed Beef and Their Nutritional

Value and Health Implication. *Food Science of Animal Resources*. Korean Society for Food Science of Animal Resources. https://doi.org/10.5851/kosfa.2021.e73.

42. NUERNBERG, K., DANNENBERGER, D., NUERNBERG, G., ENDER, K., VOIGT, J., SCOLLAN, N., WOOD, J., NUTE,G.R., RICHARSON, I. (2005). Effect of a grass-based and a concentrate feeding system on meat quality characteristics and fatty acid composition of Longissimus muscle in different cattle breeds. *Livestock Production Science*, 94, 137-147. 10.1016/j.livprodsci.2004.11.036.
43. NUERNBERG, K., NUERNBERG, G., ENDER, K., LORENZ, S., WINKLER, K., RICKERT, R., STEINHART, H. (2002). N-3 fatty acids and conjugated linoleic acids of longissimus muscle in beef cattle. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(8), 463–471. https://doi.org/10.1002/1438-9312(200208)104:8<463::aid-ejlt463>3.0.co;2-u.
44. PALMQUIST, D. L., LOCK, A. L., SHINGFIELD, K. J., BAUMAN, D. E. (2005). Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. *Advances in Food and Nutrition Research*, 50, 179–217.
45. 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.
46. POLISH COMMITTEE FOR STANDARDIZATION. 2013. PN-ISO 1442:2000, Meat and meat products. Water contents determination. Polish Committee for Standardization, Warsaw, Poland.
47. POLISH COMMITTEE FOR STANDARDIZATION. 2013. PN-ISO 1444:2000, Meat and meat products. Free fat contents determination. Polish Committee for Standardization, Warsaw, Poland.
48. POLISH COMMITTEE FOR STANDARDIZATION. 2013. PN-ISO 936:2000, Meat and meat products. Determination of total ash content. Polish Committee for Standardization, Warsaw, Poland.
49. POLISH COMMITTEE FOR STANDARDIZATION. 2013. PN ISO 1841-1:2002, Meat and meat products. NaCl content by the Mohr's method.Polish Committee for Standardization, Warsaw, Poland
50. PONNAMPALAM, E. N., HOLMAN, B. W. B. (2023). Chapter 22 - sustainability II: Sustainable animal production and meat processing. In F. Toldr´ a (Ed.), Lawrie's meat science (9th ed., pp. 727–798). Woodhead Publishing. Elsevier Ltd.. https://doi.org/10.1016/b978-0-323-85408-5.00001-7

51. PONNAMPALAM, E. N., MANN, N. J., SINCLAIR, A. J. (2006). Effect of feeding systems on omega-3 fatty acids, conjugated linoleic acid and trans fatty acids in Australian beef cuts: Potential impact on human health. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 15(1), 21–29. https://doi.org/10.2254/0964-7058.15.1.0223.
52. PONNAMPALAM, E. N., NOMG, S., BURMETT, V. F., DUNSHEA, F. R., JACOBS, J. L., HOPKINS, D. L. (2014). The synergism of biochemical components controlling lipid oxidation in lamb muscle. *Lipids*, 49(8), 757–766. https://doi.org/10.1007/s11745-014-3916-5.
53. PONNAMPALAM, E., PLOZZA, T., KERR, M., LINDEN, N., MITCHELL, M., BEKHIT, A., JACOBS, J., HOPKINS, D. (2017). Interaction of diet and long ageing period on lipid oxidation and colour stability of lamb meat. *Meat Science,* 129. 10.1016/j.meatsci.2017.02.008.
54. PRIOLO, A., MICOL, D., AGABRIEL, J. (2001). Effects of grass feeding systems on ruminant meat colour and flavour. A review. *Animal Research*, 50(3), 185–200. https://doi. org/10.1051/animres:2001125.
55. RAES, K., CLAEYS, E., DIRINCK, P., BALCAEN, A., De SMET, S., DE WINNE, A. (2004). Effect of linseed and grass feeding on the flavour profile and taste-panel evaluations of beef from Belgian Blue double-muscled bulls. Proceedings of the 50th International Congress of Meat Science and Technology. Helsinki, 1331–1334. https://doi.org/1854/2702
56. RAZMINOWICZ, R.H., KREUZER, M., SCHEEDER, M.R. (2006). Quality of retail beef from two grass-based production systems in comparison with conventional beef. Meat Science, 73(2), 351-361. doi: 10.1016/j.meatsci.2005.12.013.
57. REALINI, C. E., DUCKETT, S. K., BRITO, G. W., DALLA RIZZA, M., DE MATTOS, D. (2004). Effect of pasture vs. concentrate feeding with or without antioxidants on carcass characteristics, fatty acid composition, and quality of Uruguayan beef. *Meat Science*, 66(3), 567–577. https://doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00160-8.
58. REALINI, C. E., STAINCLIFFE, M., TAUKIRI, K., CRAIGIE, C., FAROUK, M. M. (2018). Is colour preference for beef changing for New Zealand consumers. In *the 64th international congress of meat science and technology, Melbourne, AUS*.
59. 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. Official Journal of the European Communities, L 139/55

60. SCOLLAN, N., HOCQUETTE, J.F., NUEMBERG, K., DANNENBERGER, D., RICHARDSON, I., MOLONEY, A. (2006). Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Science*, 74(1), 17-33. doi: 10.1016/j.meatsci.2006.05.002. Epub 2006 May 19. PMID: 22062713.
61. SHINGFIELD, K. J., BONNET, M., SCOLAN, N. D. (2013). Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal: An International Journal of Animal Bioscience*, 7 Suppl 1(s1), 132–162. https://doi.org/10.1017/S1751731112001681.
62. UGARKOVIĆ, K. N., IVANKOVIĆ, A., KONJAČIĆ, M. (2013). Effect of breed and age on beef carcass quality, fatness and fatty acid composition. *Archives Animal Breeding*, 56, 958–970, https://doi.org/10.7482/0003-9438-56-097.
63. VAN VLIET, S., PROVENZA, F. D., KRONBERG, S. L. (2021). Health-promoting phytonutrients are higher in grass-fed meat and milk. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4. https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.555426.
64. WARREN, H.E., SCOLAN, N.D., ENSER, M., HUGHES, S.I., RICHARDSON, R.I., WOOD, J.D. (2008). Effects of breed and a concentrate or grass silage diet on beef quality in cattle of 3 ages. I: Animal performance, carcass quality and muscle fatty acid composition. *Meat Science*, 78(3), 256–269. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.06.008.
65. WOOD, J. D., ENSER, M., FISHER, A. V., NUTE, G. R., SHEARD, P. R., RICHARDSON, R. I., WHITTINGTON, F. M. (2008). Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science*, 78(4), 343–358. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.07.019.
66. WOOD, J. D., RICHARDSON, R. I., NUTE, G. R., FISHER, A. V., CAMPO, M. M., KASAPIDOU, E., ENSER, M. (2004). Effects of fatty acids on meat quality: A review. *Meat Science*, 66(1), 21–32. https://doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00022-6.
67. WÓJCIK, M. (2021). Sylwopastoralizm w chowie bydła mięsnego. *Bydło Mięsne*, ***32***(1), 48-51.
68. ZHANG, Y., HOLMAN, B.W., MAO, Y., CHEN, X., LUO, X., HOPKINS, D. L., ZHANG, Y. (2021). Determination of a pH threshold for dark cutting beef based on visual evaluation by Asian consumers. *Meat Science*, 172, 108347.
69. SPECIAL EUROBAROMETER 533. (2023). Attitudes of Europeans towards Animal Welfare. European Commission, October 2023. Attitudes_Europeans_Animal_Welfare_sp533_2023_Technical_Report.pdf

70. https://europa.eu/eurobarometer/surveys/detail/2996
71. https://www.konwencjakarpacka.org.pl/karpaty/flora-i-fauna-polskich-karpat.
72. https://www.wodr.poznan.pl/doradztwo/produkcja-zwierzeca/wypas-lesno-pastwiskowy-bydla-miesnego.

Contact address: Migdał Władysław, Department of Animal Products Technology, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Kraków, al. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków, Poland, E-mail:wladyslaw.migdal@urk.edu.pl

PREDLŽENIE MIKROBIÁLNEJ STABILITY MÄSA PRE ZRENIE MÄSA

EXTENDING THE MICROBIAL STABILITY OF MEAT FOR MEAT AGING

Vladařová Kateřina, Smetana Pavel, Bedrníček Jan, Lorenc František, Hasoňová Lucie

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta zemědělská a technologická, Katedra potravinářských biotechnologií a kvality zemědělských produktů

ABSTRACT

Aging of beef meat is important in terms of its tenderness during preparation and subsequent consumption. For meat industry, it is more advantageous to use meat aging. For the correct aging process, it is important to minimize the amount of microorganisms at the beginning of the process. For this, it is advisable to use a combination of antioxidants and microbiological substances. Different concentrations of onion peel extract from yellow onion and lactic acid were used in the experiment. The mixtures were applied to the surface of the beef halves immediately after slaughter. During the experiment, it was found that the mixture consisting of 45% lactic acid and 55% onion peel extract, which was applied to beef halves after slaughter at a concentration of 2.5% by weight, had the highest efficiency. When using this solution, there was an increase in the total number of microorganisms of the order of 10^2 ($p=0.05$) against the initial state after slaughter. An increase in the total number of microorganisms of the order of 10^4 ($p=0.05$) compared to the initial state after slaughter was observed when beef was not treated with the solution.

Key words: beef meat, wet-aging, antioxidants

INTRODUCTION

During the maturation of meat, oxidation processes can occur, which can be perceived as defects. This is, for example, the oxidation of hemoglobine and fats, during which many compounds are formed that cause negative changes in sensory, nutritional and hygienic quality. From a practical point of view, they can be slowed down by the use of antioxidants, which suppress the above-described changes in food during long-term storage or heating. Antioxidants are substances capable of directly capturing reactive oxygen forms, inhibiting the production of these forms or indirectly acting as a positive regulator of antioxidant defense. According to the mechanism of action, they are divided into primary, secondary, sequestrants and oxygen scavengers (Bedrníček, 2020).

Natural antioxidants are commonly added to meat products. These include, for example, oregano, rosemary extract, marjoram or sage. These additional components ensure in the product, in particular, the stability of the color, the smell, and the slowing down of the oxidation of fats or proteins (Riberio et al., 2019).

Gulcin (2020) states that since the 1990s, slaughterhouses have been treating the surface of carcasses with lactic acid to reduce their surface contamination. The synthetic antioxidants butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), tert-butylhydroquinone (TBHQ) and propyl gallate (PG) have been used in meat products for many years, but they can have a negative impact (food allergies, digestive disorders) on long-term use human organism (Gupta, 2011).

The fact that onions (Allium cepa L.) contain antioxidants has been known for a long time, and therefore it was added to meat products to slow down lipid oxidation. Onions are once of the most consumed vegetables and is an important source of flavonoids in human nutrition. It was found that the high content of these substances is also in onion skins, considered for waste. They contain a large amount of bioactive compounds, especially flavonoids – quercetin and its derivatives (e.g. glycosides) and, in the case of red varieties, anthocyanins (Manoj et al., 2022; Bedrníček et al., 2019).

Onion flavonoids are researched for health benefits (antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial and anticancer effects) and prevention of oxidative stress. Onion extracts or dried powder can be added as a functional ingredient to, for example, wheat and gluten-free bread, meatballs or sausages made from machine-separated fish meat (Bedrníček et al., 2020).

Manoj et al. (2022) and Shabir et al. (2022) demonstrated that quercetin from onion skins acts as an antimicrobial agent by disrupting energy metabolism and cytoplasmic membrane functions and inhibiting nucleic acid biosynthesis of several strains of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus pyogenes*.

MATERIAL AND METHODS

Solutions

Lactic acid (80%) was diluted to 0.1% with cold water (MK). Onion peel extract was diluted to 2.5% with cold water C. Mixture 55% of onion peels extract (1000 ml of water, 50 g of onion peels, 60 minutes boiled) and 45% lactic acid 80% was diluted to 2.5% with cold water (MK+C).

Experiment

Different solution was applied in fine drops to beef carcasess (n=48) immediately after slaughtering. Beef carcasess were stored in storage room (4°C; 82% rh; 12 days). The pH meter

(GMH 3500 SERIES, GMH – GREISINGER, Germany) was 1 hour, day 3, 5, 7, 9, 12 in range between 6th and 7th rib in MLLT (*Musculus longissimus lumborum et thoracis*) measured. Petri plates with agar were used for measuring total amount of microorganism (CFU/cm^2). Beef carcasess were 1 hour, day 3, 5, 7, 9, 12 with cotton swab obtained (100 cm^2 external MLLT surface) and with ČSN EN ISO 4833-1, ČSN EN ISO 4833-2 method deterined.

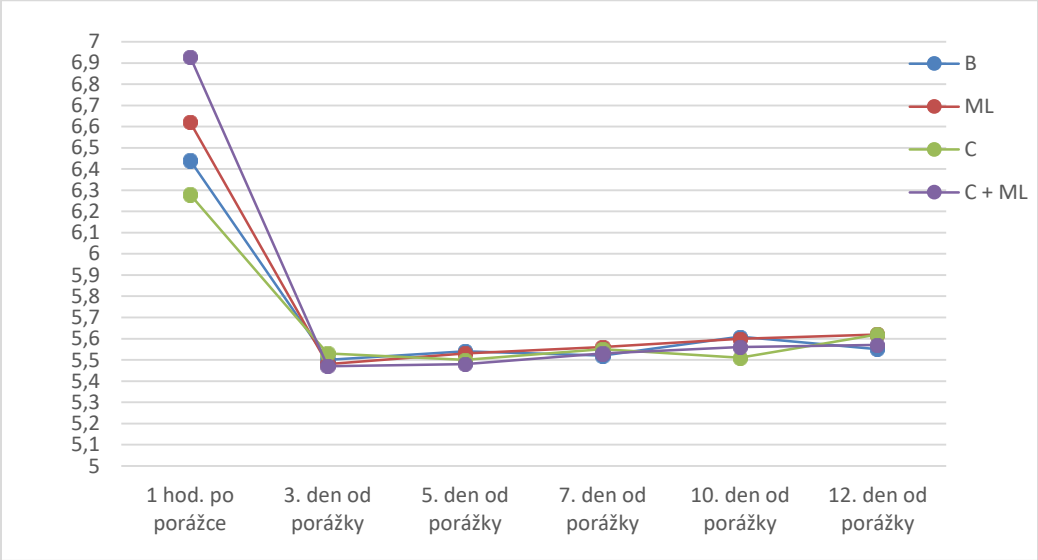
Statistical evaluation

The triplicate findings were analyzed using STATISTICA 11 (StatSoft, Czech Republic) to investigate the variability between the data means at the confidence level of 95%.

RESULTS AND DISCUSSION

The normal pH value in beef muscle after slaughtering is from a pH 7.0 to pH 5.3-5.8, for beef the pH drop is usually complete 18-40 hours after the animal is slaughtered (Savell et al., 2005). Silva et al. (1999), according to the final pH value during maturation, beef can be divided into non-damaged DFD defect (pH 5.5-5.8), medium-damaged DFD defect (5.8<pH<6.2) and damaged DFD defect (pH 6 ,2-6,7). Muižniec and Kairiša (2020) state that the required pH value at the end of beef maturation is in the range 5.4-5.8. The course of the pH of the beef meat during maturation was evaluated, which was common for all samples, a sharp drop after slaughter and then a gradual increase up to pH values of 5.55-5.62. The values found in the treated quarters are also within this interval, the pH of the meat was not affected by the treatment and corresponded to normal values for beef meat (Fig 1).

Fig 1 pH value in beef meat carcasess (n=15; 1 hour-12 days) after using different antimicrobial and antioxidant solutions



B – control; ML – lactic acid; C – onion peel extract; ML+C – lactic acid+onion peel extract

The amount of CFU depends on the observance of hygiene on the slaughter line, during movements, maturation and packaging of the meat. However, even compliance with all measures does not guarantee that contamination will not occur. From the research of Rodriguez-Melcon et al. (2017) showed that spraying 2% lactic acid on the surface of beef reduced the number of *Enterobacteriaceae* by 1.0eCFU/cm^2 and the total number of microorganisms by 1.6eCFU/cm^2. The use of 2-5% lactic acid led to a reduction in the number of microorganisms in the range of 0.57-0.95eCFU/cm^2 (Table 1).

Table 1 Total amount of microorganism CFU/cm^2 on external beef meat (*Musculus longissimus lumborum et thoracis*) after aplication different solution (lactic acid, onion peel extract, lactic acid+onion peel extract)

Solution	Day 0 after slaughter	Day 3 after slaughter	Day 5 after slaughter	Day 7 after slaughter	Day 9 after slaughter	Day 12 after slaughter
	CFU/cm^2	CFU/cm^2	CFU/cm^2	CFU/cm^2	CFU/cm^2	CFU/cm^2
control	1.2e1.0	1.9e1.0	4.2e1.0	6.5e1.0	8.8e1.0	3.1e4.0
Lactic acid	1.1e1.0	1.3e1.0	3.5e1.0	4,7e1.0	5.5e1.0	1.3e2.0
Onion peel extract	1.1e1.0	1.9e1.0	4.9e1.0	1.0e2.0	8.7e2.0	2.7e3.0
Lactic acid+onion peel extract	1.0e1.0	1.4e1.0	2.2e1.0	6.1e1.0	8.0e1.0	1.8e3.0

Karr et al. (1996) in an experiment on twenty carcasses of slaughter cattle found after 48 hours CFU on beef meat in the range of 115-106 CFU/cm^2, most samples ranged between 103-104 CFU/cm^2. The carcasses were not treated in any special way after slaughter. The untreated reference sample we monitored corresponds to the indicated interval even though the samples were taken on the 5th and 9th day after slaughter. Table 1 shows that the growth of microorganisms in the beef carcasess without treatment is an order of magnitude higher than in the other experimental beef carcasess. On all samples, primary culture confirmed the massiveness of the microbiological contamination of micrococci. The CFU value was an order of magnitude lower in treated samples, the lowest in the sample treated with lactic acid 1.3e2.0 CFU/cm^2, in the treatment including onion peel extract the amount was in the order of 1.0e2.0 CFU/cm^2, which is still an order of magnitude lower than value for the reference sample 3.1e4.0 CFU/cm^2.

CONCLUSION

The results of the experiment proved the potential of using onion peel extract to reduce the total number of microorganisms on the surface of beef quarters. Its indisputable advantage is its biological degradability and the possibility of use in bioproduction. In combination with lactic acid, the positive effect on the multiplication of microorganisms was even more pronounced. The use of an extract from onion skins or a combination with lactic acid to treat the surface of carcasses is an innovative procedure. The results found by us show the antimicrobial potential of the leachate and the possible suitability of use not only for antioxidant but also antimicrobial effects.

ACKNOWLEDGEMENT

These results were realized under the auspices GA JU 048/2023/T.

REFERENCES

1. Bedrníček, J., Kadlec, J., Laknerová, I., Mráz, J., Samková, E., Petrášková, E., Hasoňová, L., Vácha, F., Kron, V., Smetana, P. (2020). Onion Peel Powder as an Antioxidant-Rich Material for Sausages Prepared from Mechanically Separated Fish Meat. *Antioxidants*, 9, pp. 974.
2. Bedrníček, J. (2020). *Obsah antioxidantů v surovinách a jejich stabilita v obohacených potravinách v závislosti na technologii výroby.* Dissertation. *Ceské Budejovice: South Bohemian University in České Budějovice, Faculty of Agriculture nad Technology*, p. 125.
3. Bedrníček, J., Paulíčková, I., Linhartova, Z., Kadlec, J., Samková, E., Bárta, J., Bártová, V., Mraz, J., Pešek, M., Winterová, R., Vrchotová, N., Triska, J., Smetana, P. (2019). Onion waste as a rich source of antioxidants for meat products. *Czech Journal of Food Sciences*, 37(4), pp. 268-275.
4. Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Arch Toxicol*, 94, pp. 651-715.
5. Gupta, D. (2015). Methods for determination of antioxidant capacity: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6, pp. 546-566.
6. Karr, K. J., Boyle, E. A. E., Kastner, C. L., Marsden, J. L., Phebus, R. K., Prasai, R. K., Pruett, W. P., Zepeda. C. M. G. (1996). Standardized Microbiological Sampling and Testing Procedures for the Beef Industry. *Journal of Food Protection*, vol. 59(7), pp. 778-780.

7. Manoj, K., Mrunal, D. B., Muzaffar, H., Sneh, P., Sangram, D., Radha, Nadeem, R., Deepak, Ch., Pandiselvam, R., Anjineyulu, K., Maharishi, T., Varsha, S., Marisennayya, S., Anitha, T., Abhijit, D., Ali, A.S. S., Farouk, M. G., Ryszard, A., Mohamed, M. (2022). Onion (*Allium cepa* L.) peels: A review on bioactive compounds and biomedical activities. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, p. 146.
8. Muižniece, I., Kairiša, D. (2020). Effect of sex and age on beef cattle meat pH. *Agricultural Science and Practice*, 7(2), pp. 55-60.
9. Ribeiro, J. S., Missão Cordeiro Santos, M. J., Silva, L. K. R., Lavinscky Pereira, L. C., Santos, I. A., Caetano da Silva Lannes, S., Viana da Silva, M. (2019). Natural antioxidants used in meat products: A brief review. *Meat Science*, 148, pp. 181-188.
10. Rodríguez-Melcón, C., Alonso-Calleja, C., Capita, R. (2017). Lactic acid concentrations that reduce microbial load yet minimally impact colour and sensory characteristics of beef. *Meat Science*, 129, pp. 169-175.
11. Savell, J. W., Mueller, S. L., Baird, B. E. (2005). The chilling of carcasses. *Meat Science*, 70(3), pp. 449-459.
12. Shabir, I., Pandey, V. K., Dar, A. H., Pandiselvam, R., Manzoor, S., Mir, S. A., Shams, R., Dash, K. K., Fayaz, U., Khan, S. A., Jeevarathinam, G., Zhang, Y., Rusu, A. V., Trif, M. (2022). Nutritional Profile, Phytochemical Compounds, Biological Activities, and Utilisation of Onion Peel for Food Applications: A Review. *Sustainability*, 14(11958).
13. Silva, J. A., Patarata, L., Martins, C. (1999). Influence of ultimate pH on bovine meat tenderness during ageing. *Meat Science*, 52(4), pp. 453-459.

Kontaktná adresa: Pavel Smetana, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta zemědělská a technologická, Studentská 1668, 370 05 České Budějovice, Česká republika; E-mail: smetana@fzt.jcu.cz

VÝZVY PRE SYSTÉMY BEZPEČNOSTI MÄSA: PRÍKLAD *YERSINIA ENTEROCOLITICA*

CHALLENGES FOR MEAT SAFETY SYSTEMS: THE EXAMPLE OF *YERSINIA ENTEROCOLITICA*

Zdolec Nevijo

Department of Hygiene, Technology and Food Safety, University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine, Heinzelova 55, 10 000 Zagreb, Croatia

ABSTRACT

Yersinia enterocolitica is a persistent pathogen in the European domestic pig population and poses a relevant challenge to the hygiene and pork safety systems. The challenge arises from its unique characteristics such as commensalism in pigs, survival and growth at chilling temperatures, stress adaptation, formation of VBNC state and biofilms. Consumer eating habits or the way meat is prepared appear to be a risk factor, as the category „undercooked pork“ has been identified as the main attributable source. Farming practices, biosecurity measures as well as slaughterhouse practices from lairage to chilling can influence the prevalence of pathogenic *Y. enterocolitica* in pigs‘ predilection sites and the contamination rates of pork. Some of the standard and alternative procedures that are effective in combating the risk of *Y. enterocolitica* at slaughter are rectal ligation, head removal prior to carcass splitting and decontamination technologies. Postharvest methods rely on antimicrobial hurdles applicable in meat processing.

Key words: *Yersinia enterocolitica*, meat, meat products, farm to fork

INTRODUCTION

According to official European reports in recent years, jersiniosis is the third most common food-borne disease after campylobacteriosis and salmonellosis (EFSA, 2023). However, jersiniosis is not a compulsorily monitored zoonosis in Europe, but only according to the epidemiological situation in the country (Directive 2003/99, List B). In 2022, a total of 7,919 human cases were reported in the European Union, generally associated with the consumption of undercooked pork or vegetables (EFSA, 2023). Most cases are traditionally reported from Germany and France, with Denmark and Finland being the countries with the highest notification rates in the EU. Fourteen foodborne outbreaks (weak evidence) caused by *Yersinia* were reported in the EU (year 2022), with 96 cases and no deaths. Based on the results of official analysis of food samples reported in the EU, *Yersinia* was most frequently isolated from raw meat categories (3.5%), mainly from pork (7.8%). These results are unreliable as only four

Member States provided the data. In general, the reported figures do not appear to be alarming, probably as a result of underreporting and differences between countries in monitoring systems, where they exist.

In addition to *Salmonella*, the pathogenic *Yersinia enterocolitica* has been classified as a zoonotic bacterial hazard that should be considered in a risk-based meat safety assurance system (EFSA, 2011.). The elements of risk-based control and risk management should evaluate all data collected at primary production, harvest and post-harvest levels. Interventions during slaughter, processing and post-processing can further reduce the risk of pathogen growth and its spread in the meat chain.

FARM LEVEL

To date, the most important risk factors for *Y. enterocolitica* on farms have been identified as the purchase of piglets from multiple farms, lack of bedding, use of non-communal water, snout contact, feeding of pigs prior to transportation to the slaughterhouse and low biosecurity in general, including the interface between livestock and wildlife.

When analysing the results of available observational studies in Europe, the reported prevalence of *Y. enterocolitica* in pigs (tonsils, lymph nodes or intestinal contents) indicates a wide distribution of the pathogen in fattening pigs across the continent and a dominance of the human pathogenic bioserotype 4/O:3. In addition to standard microbiological tests, serological methods can be used to estimate the prevalence of pathogens in herds or on farms. A commercial, validated test allows serotesting of meat juices (diaphragm) in the slaughterhouse, avoiding animal welfare and biosecurity issues associated with taking blood samples from live pigs on the farm. However, seroprevalence is proposed by EFSA (2011.) as part of Harmonized Epidemiological Indicators at farm level only for *Salmonella* in pigs, while *Yersinia* HEIs are based on testing of its presence in tonsils or faeces at harvest. In fact, some research results confirm that there is no correlation between seropositivity and the presence of *Yersinia* in pig tonsils.

SLAUGHTERHOUSE LEVEL

Pigs are asimtomatic carriers of pathogenic *Y. enterocolitica* in their oral cavity, tonsils, lymph nodes and intestine. Sheding of enteric pathogens due to stress factors during transportation or lairaging has been documented, so that *Yersinia* can be spread among live pigs even at harvest before slaughter process. At the slaughter line, several operations can contribute to contamination of the meat and cross-contamination of the carcass: evisceration without bunging the rectum, plucking and tonsil cutting or splitting carcasses and heads. Manual manipulation

of offal by staff and even incision of lymph nodes during traditional meat inspection can generally contribute to bacterial cross-contamination.

Several standard and alternative interventions at slaughter may be used to prevent or reduce the risk of *Y. enterocolitica* such as tying the rectum, head removal (with intact tongue and tonsils) and its separated processing, or even decontamination wash using hot water or mild organic acids solution.

POST-HARVEST LEVEL

As a psychrothrophic pathogen, *Y. enterocolitica* is able to grow at the refrigeration temperatures used in meat storage. In general, the likelihood of contamination can be expected to vary depending on the part of the pig carcass, with meat from heads and attached areas posing a higher risk. Meat that is minced with remaining lymph nodes can be a source of pathogens and is a potential vehicle of infection. This is of particular concern in European cultures that feed on raw minced pork. Accordingly, ready-to-eat meat products such as (rapidly) fermented sausages can also be considered sources of *Yersinia* if the hurdles are overcome. An example of this could be the acid resistance and adaptation of *Y. enterocolitica* to stress environments in acidic foods. An additional challenge in the epidemiology of this zoonosis is the ability to form the VBNC stage (false negative samples in the culture methods used) and to form a biofilm. *Y. enterocolitica* is not a thermoresistant pathogen and is generally destroyed during normal thermal processing in the meat industry or during culinary preparation (roasting) of meat. Nevertheless, according to EFSA reports, the category „undercooked pork“ remains the most important source of jersiniosis in humans, which may be the result of high primary contamination, cross-contamination, dietary habits or improper meat preparation in kitchens.

CONCLUSION

Yersinia enterocolitica is widespread and apparently persistent in European pig farms and can be said to be a commensal bacterium in this production. The contamination of meat associated with the use of low-temperature short-time regimes in culinary preparation or even the consumption of raw meat (minced meat, fresh sausages) may be factors in the stable trends of jersiniosis in humans in some European countries reporting this disease. The question arises as to what the actual epidemiological picture is in the countries that do not report or in the countries that report low or no prevalence in humans.

Contact address: Zdolec Nevijo, Department of Hygiene, Technology and Food Safety, University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine, Heinzelova 55, 10 000 Zagreb, Croatia; E-mail: nzdolec@vef.hr

POSTERY

POSTERS

PODMIENKY UVÁDZANIA OMŠOVÝCH A LITURGICKÝCH VÍN NA TRH V SLOVENSKEJ REPUBLIKE

CONDITIONS FOR LAUNCHING SACRAMENTAL AND LITURGICAL WINES INTO THE MARKET IN THE SLOVAK REPUBLIC

Ailer Štefan[1], Kamenský Ján[1], Benešová Lucia[2]

[1]Ústav Záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika

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

ABSTRACT

Sacramental wines are wines primarily intended for liturgical, sacramental purposes for the celebration of the Eucharist, and therefore their production respects the requirements of individual Christian churches. This is also the case in the Roman Catholic Church. It sets the conditions under which Sacramental wine is produced, labeled, and evaluated. It also approves the technological procedures for the production of wine intended for liturgical purposes. The wine used in the celebration of the Eucharistic Sacrifice must be natural, from grapes, pure and uncorrupted, without admixture of foreign substances. The aim of the contribution is to make a comprehensive research of the rules for the production of Sacramental wines in European countries and to compare them with conventional production. In comparison with normally produced wines, if proper production practice is followed, the Sacramental wine can be a qualitatively equivalent product, with the seal of the protected designation of origin, an attribute, and with an interesting added value of purity.

Key words: sacramental wine, Liturgical wine, market

ÚVOD

Súhlas s výrobou a označením vína ako sviatostného vína môže v rámci rímskokatolíckej cirkvi udeliť výrobcovi (dôveryhodnej osobe) buď diecézny biskup, ktorý je miestnym cirkevným ordinárom, resp. riadiacou osobou, alebo so súhlasom diecéznych biskupov, príslušná biskupská konferencia, ktorá je koordinačným orgánom miestnych katolíckych cirkví (Koudelka, 2010) alebo napríklad aj generálny predstavený, opát kláštora alebo provinciál daného rádu (Předešlý, 2020). Súhlas na výrobu a distribúciu omšového vína sa udeľuje formou prísahy, zloženia sľubu výrobcu a vydania povolenia, dekrétu. Ako výrobca teda dôveryhodná osoba sa preferuje pokrstený praktizujúci katolík (Nagy a Čitbaj, 2009). Tí,

ktorí vyrábajú víno na slávenie, si musia byť vedomí, že ich dielo je určené na eucharistickú obetu, a to si vyžaduje, aby boli čestní, zodpovední a skúsení. Všeobecné odporúčanie pre vydavateľov súhlasu na výrobu vína je, že samotní ordinári sa môžu na úrovni biskupskej konferencie dohodnúť a vydať konkrétne usmernenia s cieľom zachovávať všeobecné normy. Vzhľadom na rôznorodosť situácií a okolností, je vhodné, aby kompetentná cirkevná autorita účinne garantovala kvalitu eucharistickej matérie zo strany výrobcov, ako aj vhodnú distribúciu a predaj, aby sa zachovala úcta voči posvätnému (Katolícka cirkev na Slovensku, 2024b). Liturgický dohľad nad výrobou určuje orgán, ktorý udelil súhlas na výrobu omšového vína. Tento zvyčajne vykonáva osoba znalá tak vinohradníckeho ako aj kanonického práva. Táto dohliada na to či vinár dodržiava normy a postupy stanovené pre výrobu omšového vína (Koudelka, 2010). Vína určené k liturgickým účelom môžu byť červené, biele alebo ružové, sladké alebo suché (Guanella, 2022). V minulosti sa častejšie používalo červené víno ako symbol Kristovej krvi. Dnes rímskokatolícka cirkev z praktických dôvodov používa biele víno, pretože sa ním ľahšie umýva purifikátor, čo je tkanina používaná na utieranie kalicha pri sv. omši. Používanie bieleho vína povolil pápež Sixtus IV. v roku 1478. Používanie červeného vína zostalo v liturgickej praxi pravoslávnej cirkvi (Předešlý, 2020).

MATERIÁL A METODIKA

Metódou vyhotovenia rešerše bolo štúdium dostupnej tuzemskej a zahraničnej literatúry a konzultácie s kompetentnými orgánmi. Základné usmernenia a požiadavky rímskokatolíckej cirkvi na omšové resp. liturgické víno používané pri Eucharistii sú definované v Kódexe kanonického práva Codex iuris canonici (ďalej len „CIC“) ako základného normatívneho právneho systému rímskokatolíckej cirkvi. Jeho staršie znenia upravovali požiadavky na výrobu omšového vína nasledovne: CIC z 1917 – Kán. 815 „..víno musí byť prírodné z vínnej révy a nepokazené.“ CIC z 1983 – Kán. 924, § 3 „..víno musí byť prirodzené z plodov viniča a nepokazené.“ (Pontificia Università Gregoriana Facoltà di Diritto Canonico, 2024). V súčasnosti sa požiadavky cirkvi na výrobu omšových resp. liturgických vín riadia podľa aktuálne platnej judikatúry cirkevného kánonického práva. CIC z roku 2019 (pre rímskokatolícku cirkev) v štvrtej knihe *Posvätná úloha cirkvi* sa v jej 3. článku *Obrady a ceremónie eucharistického slávenia* Kán. 924 § 3. píše: „Víno musí byť prírodné z plodov viniča a nepokazené“. Taktiež podľa Kódexu kánonov východných cirkví (Codex Canonum Ecclesiarum Orientalium – CCEO) z 1990 (gréckokatolícka cirkev) sa v Kán. 706 uvádza: „Sväté dary, ktoré sa v Božskej liturgii obetujú, sú čistý pšeničný chlieb, nedávno pripravený tak, aby nebolo nijaké nebezpečenstvo pokazenia a nepokazené prírodné víno z plodu viniča.“ (Katolícka cirkev na Slovensku, 2024a). Kongregácia pre Boží kult a disciplínu sviatostí

(*Congregatio de Cultu Divino et Disciplina Sacramentorum*) v inštrukcii Sviatosť vykúpenia (*Redemptionis Sacramentum*) v bode 50. konštatuje: „Víno, ktoré sa používa pri slávení eucharistickej obety, má byť prírodné, z hrozna, čisté a nepokazené, bez primiešania cudzích látok. Starostlivo sa má dbať, aby víno určené na Eucharistiu bolo zachovávané v perfektnom stave a nezoctovatelo. Je absolútne zakázané používať víno, o ktorého pravosti a pôvode sa pochybuje, lebo Cirkev vyžaduje istotu o podmienkach nevyhnutných pre platnosť sviatostí. Nepripúšťa sa žiadna zámienka v prospech iných nápojov akéhokoľvek druhu, ktoré nie sú platnou matériou“ (La Santa sede, 2024).

Ďalšie usmernenia sa nachádzajú tiež aj v obežníku biskupom o chlebe a víne na Eucharistiu *Prot. N. 320/17*. V obežníku sa uvádza: „Víno, ktoré sa používa pri slávení eucharistickej obety, má byť prírodné, z hrozna, čisté a nepokazené, bez primiešania cudzích látok. Starostlivo sa má dbať, aby víno určené na Eucharistiu bolo zachovávané v perfektnom stave a nezoctovatelo. Je absolútne zakázané používať víno, o ktorého pravosti a pôvode sa pochybuje, lebo Cirkev vyžaduje istotu o podmienkach nevyhnutných pre platnosť sviatostí. Nepripúšťa sa žiadna zámienka v prospech iných nápojov akéhokoľvek druhu, ktoré nie sú platnou matériou“. „Eucharistická matéria zhotovená z geneticky modifikovaných látok, môže byť považovaná za platnú matériu“ (Katolícka cirkev na Slovensku, 2024b).

A nakoniec všeobecné smernice Rímskeho misála, kde sa v bode 322 píše „Víno pre eucharistické slávenie má byť z viničného plodu prirodzené a čisté, bez primiešania cudzích prvkov.“ (Všeobecné smernice rímskeho misála, 2008). Za matériu používanú pri eucharistickom slávení nesie vždy zodpovednosť kňaz, ktorý ide Eucharistiu sláviť. Od platnosti matérie totiž závisí aj platnosť samotnej sviatosti. Preto pri zaobstarávaní a používaní liturgického, omšového vína musí vziať do úvahy predchádzajúce zásady (Nagy a Čitbaj, 2009; Předešlý, 2020). Víno, ktoré sa používa pri najposvätnejšom slávení eucharistickej obety, musí byť teda prirodzené, z plodov hrozna, čisté a neporušené, nezmiešané s inými látkami. Kladie sa dôraz na to, aby takéto víno bolo stabilné, dobre konzervované a nehrozilo mu znehodnotenie. Je tiež zakázané používať víno pochybnej pravosti alebo pôvodu (McNamara, 2009).

Rozdiely a odchýlky pravidiel výroby omšového a klasického vína

Výroba omšového vína sa môže a nemusí líšiť od výroby klasických vín. Farba vína musí byť daná len prirodzenou farbou získanou zo šupiek hrozna, prípadne zrením v čistom dubovom sude. Syntetické farbivá alebo dokonca pridávanie antokyánov je preto neprípustné (Southern African Catholic Bishops’ Conference, 2021).

Do vína sa nesmú pridávať žiadne prídavné látky, ako sú farbivá, arómy alebo iné chemické prísady, napríklad enzýmy, uhličitan vápenatý alebo kyselina sorbová. Výnimkou je oxid siričitý, ktorý sa používa ako antioxidant. Dokonca ani pH sa nesmie upravovať chemicky, ale môže sa použiť jablčno-mliečna fermentácia. Na odstránenie bielkovín z vína sa môže použiť bentonit a potom sa prečistí filtráciou (Koudelka, 2010; Nádeníčková, 2014). Podobné pravidlo platí aj pre kvasinky používané pri riadenom kvasení vína, ktoré musia byť výlučne v prírode izolované a len dehydrované (Předešlý, 2020; Nádeníčková, 2014). V prípade omšového vína nie je množstvo alkoholu obmedzené, čo znamená, že môže byť čo najsilnejšie. V podstate ide o prívlastkové víno, pri ktorého výrobe sa používa len prírodný cukor alebo zahustený hroznový mušt. Výroba omšového vína má však svoje špecifiká. V ideálnom prípade by mal vinár do výroby vína zasahovať čo najmenej (Předešlý, 2020). Výroba liturgických a omšových vín je povolená iba zo zdravých plodov viniča hroznorodého (*Vitis vinifera L.*). Pre omšové vína vyrábané na Slovensku ďalej platí, že musia byť vyrobené len z odrôd schválených a zapísaných v listine registrovaných odrôd (táto je každoročne aktualizovaná a zverejňovaná vo vestníku Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky). Hrozno by malo pri zbere dosiahnuť cukornatosť minimálne 18°NM. No a je zakázaná výroba či miešanie vína vyrobeného z priamorodiacich hybridov (ako je napríklad Izabela, Konkordia, Otelo a pod.) alebo ovocných vín s liturgickým alebo omšovým vínom (Nagy a Čitbaj, 2009).

Tabuľka č. 1, Hlavné rozdiely v použití technologických pomocných látok (ďalej len „TPL“) a postupov pri výrobe omšových vín

TPL	Omšové víno	Klasické víno
Pektolytické a iné enzýmy	NIE	ÁNO
Polyvinylpolypyrolidón	NIE	ÁNO
Úprava cukornatosti muštu repným cukrom	NIE	ÁNO
Ušľachtilé vínne kvasinky	ÁNO	ÁNO
Oxid siričitý	ÁNO	ÁNO

V technológii výroby omšového vína je povolené:

- okysličovanie muštu,
- odstreďovanie kalov z muštu, alebo ich odstraňovanie prostredníctvom bentonitu – pred začiatkom kvasného procesu,

- úprava cukornatosti len zahusteným hroznovým muštom (v prípade nepriaznivého ročníka),
- požitie čistej kultúry vínnych kvasiniek,
- na odkalenie muštu a čírenie vína použiť prírodné číriace látky: želatína, vyzina, vaječný bielok, bentonit, kaolín, tanín. Podmienka použitia číriacich látok je, že neostanú vo víne (Southern African Catholic Bishops' Conference, 2021).
- na filtráciu inertnými filtračnými materiálmi možno použiť len materiály, ktoré nezanechajú nežiadúce rezíduá alebo filtráciu bez filtračných materiálov farbiva (Nagy, Čitbaj, 2009),
- vo výnimočných prípadoch sa môže počas procesu fermentácie pridať vínny destilát, maximálne do celkového objemu alkoholu 18% (v prípade nepriaznivého ročníka, prirodzene sladké vína) (Guanella, 2022; Southern African Catholic Bishops' Conference, 2021; McNamara, 2009),
- použitie oxidu siričitého na stabilizáciu vína,
- použitie nádob na výrobu a uskladnenie vína zo skla, dreva, nerezu a smaltu,
- dolievanie nádob sa môže iba vínom, ktoré spĺňa podmienky liturgického, omšového vína,
- použiť fyzikálne metódy na stabilizáciu (napr. proti kryštalickým zákalom - vymrazovanie)
- na prípadnú potrebu odkyselenia vína je možné použiť len baktérie na jablčno-mliečnu fermentáciu,
- plniť vína do sklenených fliaš a uzavrieť ich korkovou zátkou,
- použiť oxid uhličitý, argón alebo dusík jednotlivo alebo aj ich zmesi na vytvorenie inertného
- prostredia a na ochranu vína pred oxidáciou,
- v nafľašovanom víne sa toleruje sediment z kryštálov vínneho kameňa a farbiva (Nagy, Čitbaj, 2009).

V technológii výroby omšového vína nie je povolené:

- používať enzýmy na zvýšenie výlisnosti alebo zvýraznenie farby a arómy,
- upravovať cukornatosť muštu alebo v iných technologických fázach dodávať repný alebo
- trstinový cukor alebo iné sladidlá,
- používať prídavné látky na podporu kvasenia (živné soli - výživa pre kvasinky),
- požívať čistý uhličitan vápenatý alebo uhličitan vápenatý s pridaním podvojnej soli kyseliny vínnej a kyseliny jablčnej,

- pridaním etanolu zvyšovať obsah alkoholu, okrem vínneho destilátu (za stanovených podmienok, nepriaznivý ročník, prirodzene sladké vína do 18% obj.)
- použiť kyselinu sorbovú alebo sorban draselný (pre stabilizáciu vína proti mikrobiálnym zákalom),
- upravovať pH a rH v mušte a víne rôznymi chemickými látkami,
- použiť aktívne uhlie, preparáty bunkových stien kvasiniek, polyvinylpolypyrolidón, oxid kremičitý vo forme gélu alebo koloidného roztoku, enzýmové prípravky obsahujúce betaglukanázu, hexakyanoželeznatan draselný, kyselinu metavínnu, kyselinu L-askorbovú, hydrogénvínan draselný, síran meďnatý, kyselinu citrónovú, arabskú gumu,
- plniť liturgické vína do PET fliaš a tetrapakových obalov (Nagy a Čitbaj, 2009).

Všeobecné usmernenia pre uskladňovanie omšového vína

Bezchybný stav omšového vína je dôležitý, ako bolo už spomenuté pre samotné slávenie Eucharistie. S tým súvisí nielen výroba, ale aj samotné uchovávanie vína. Víno má byť primerane stabilizované a jeho uchovávaním musí byť zamedzené jeho ďalšiemu znehodnoteniu (McNamara, 2009). Vhodná je chladná tmavá miestnosť, kde nedochádza k prudším výkyvom teploty, nakoľko víno nie je chemicky stabilizované a môže dôjsť k vzniku rôznych zákalov, čím sa znehodnotí a stáva sa nevhodným pre liturgické účely. Korkom uzatvorené fľaše sa ukladajú naležato, aby sa korková zátka zvlhčovala a nevysychala. Otvorená fľaša vína sa uzatvorí vhodnou zátkou, prípadne sa z nej vákuovou pumpu vysaje vzduch a odloží sa do chladničky alebo na iné chladné a tmavé miesto. Ak kňaz alebo iná poverená osoba zistí nepriaznivé zmeny vo farbe, čistote, chuti a aróme vína nesmie ho ďalej použiť na liturgické účely. V prípade zistenia podobných nedostatkov ihneď po otvorení fľaše takéto víno reklamuje u výrobcu alebo predajcu (Nagy, a Čitbaj, 2009).

VÝSLEDKY REŠERŠÍ PRAVIDIEL UVÁDZANIA OMŠOVÝCH VÍN NA TRH

Pri problematike omšového vína je však veľmi dôležité oddeliť predpisy kánonického a svetského práva o víne. To znamená, že pre liturgické účely sa môže používať akékoľvek víno, ktoré je prírodné, nepokazené a zodpovedá kanonickému právu. Víno nemusí byť nevyhnutne označené ako omšové víno. Každý klerik, ktorý slávi omšu, musí používať víno, ktoré je v súlade s kánonickým právom, a je len na ňom, či použije víno s označením podľa platného príslušného zákona o víne na liturgické účely (Koudelka, 2010). Výrobca omšového vína musí teda výrobu svojho produktu podriadiť požiadavkám cirkvi. Avšak ak ho chce umiestniť na pulty predajní musí spĺňať aj stanovené a predpísané limity a požiadavky v zmysle platných ustanovení zákonov a príslušných nariadení daného štátu.

Pri omšových vínach po splnení všetkých podmienok a požiadaviek cirkvi pre ich výrobu, výrobca na hotovom nafľašovanom produkte uvádza na etikete označenie „LITURGICKÉ VÍNO“ alebo „OMŠOVÉ VÍNO“. Ďalej číslo príslušného vydaného dekrétu a kto ho vydal (Nagy, a Čitbaj, 2009). Všetky ďalšie povinné aj nepovinné údaje uvádza na etikete výrobca podľa, platnej legislatívy, predpisov a nariadení daného štátu, ktoré určujú označovanie vína. Medzi povinné údaje teda patria:

• označenie farby a názvu (odrody, značky) vinárskeho výrobku
• odkaz na zemepisné označenie a jeho názov (CHOP, CHZO)
• skutočný obsah alkoholu v obj. %
• uvedenie miesta pôvodu
• údaj o fľaškovateľovi
• zoznam zložiek a výživové údaje = energetická hodnota (kJ, kcal), tuky, nasýtené mastné kyseliny, sacharidy, cukry, bielkoviny a soli,
• alergény, siričitany
• číslo výrobnej dávky (Metodické usmernenie MPaRV SR, 2023).

ZÁVER

Omšové víno v porovnaní s bežne vyrábanými vínami môže byť pri splnení správnej výrobnej praxe kvalitatívne rovnocenným výrobkom, s pečaťou chráneného označenia pôvodu, prívlastkom a naviac so zaujímavou pridanou hodnotou čistoty. Pri posudzovaní tak kvality ako aj senzorických vlastností vinárskych produktov vyrábaných rôznymi technologickými postupmi vyvstáva otázka nakoľko sú tieto porovnateľné s tradične, teda konvenčne vyrábanými vínami. Pri samotnom posudzovaní sa odborný hodnotiteľ riadi aj určeným, stanoveným kvalitatívnym štandardom – ako referenčnou mierkou pre odborné hodnotenie vína. Nás však zaujíma odpoveď na jednoduchú otázku. Obstoja omšové vína v konkurenčnom porovnávaní so vzorkami vín vyrábanými zaužívanými, konvenčnými spôsobmi? Aj pri omšovom víne možno všeobecne konštatovať a platí, že s ohľadom na:

- jednotlivé, správne zvolené a realizované technologické postupy výroby a procesy pri nich prebiehajúce,
- dôsledné dodržiavanie zásad hygieny v jednotlivých technologických úkonoch a procesoch výroby, ako aj činnostiach, ktoré sa pri výrobe realizujú (práca so spracovávanou surovinou, zariadenia, priestory, zamestnanci vo výrobe a pod.),
- kvalitatívne požiadavky na výrobu omšového vína (napr. odrodové omšové víno CHOP akostné alebo akostné s prívlastkom),

môže byť výsledný produkt v porovnaní s konvenčne vyrábanými vínami naozaj kvalitatívne hodnotným výrobkom. Odpoveď teda znie: rozhodne ÁNO! Je však zrejmé, že primárnym určením tohto druhu vína je jeho eucharistický účel. No predovšetkým aj z tohto dôvodu sa vyžaduje jeho vysoká kvalita, bezchybnosť a zvýšené požiadavky na technologický proces jeho výroby. Na druhej strane kvalitný a bezchybný produkt by mal byť cieľom každého výrobcu bez ohľadu na jeho určenie.

POĎAKOVANIE

Táto publikácia vznikla vďaka podpore medzinárodného výskumno - vzdelávacieho projektu Initiative project funding AT/SK No. 2023-05-15-004: „Evaluation of the status of the implementation of interspecific grape varieties in cultivation systems, from the point of view of the application of nature-friendly agrotechnical processes“.

Použitá literatúra

1. Guanella, A. What are the liturgical laws concerning altar wine? In *Adoremus*. 2022. Online. Dostupné na: https://adoremus.org/2022/01/q-what-are-the-liturgical-laws-concerning-altar-wine/
2. Katolícka cirkev na slovensku. *Kódex kánonického práva CIC (2019) a Kódex kánonov východných cirkví CCEO (1990)*. Online. 2024a. Dostupné na: https://www.kbs.sk/obsah/sekcia/h/dokumenty-a-vyhlasenia/p/kodex-kanonickeho-prava
3. Katolícka cirkev na slovensku. *Dokumenty vatikánskych úradov. Prot. N. 320/17 Obežník biskupom o chlebe a víne na Eucharistiu*. Online. 2024b. Dostupné na: https://www.kbs.sk/obsah/sekcia/h/dokumenty-avyhlasenia/p/dokumenty-vatikanskych-uradov/c/obeznik-biskupom-o-chlebe-a-vine-na-eucharistiu
4. Koudelka, Z. Košer a mešní víno. In *Vinařský obzor*. ISSN 1212-7884, 2010, vol. 103, no. 5, s. 236-239.
5. La Santa Sede. *Instruction Redemptionis Sacramentum*. Online. 2024. Dostupné na: https://www.vatican.va/roman_curia/congregations/ccdds/documents/rc_con_ccdds_doc_20040423_redemptionis-sacramentum_en.html
6. McNamara, E. Table Wine for Mass. In *Zenit*. Online. 2009. Dostupné na: https://zenit.org/2009/01/27/table-wine-for-mass/
7. Metodické usmernenie MPRV SR z 23. októbra 2023 číslo 9342/2023-510, ktorým sa podrobnejšie vysvetľujú pravidla označovania vinárskych výrobkov (uvedených v prílohe VII časť II nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (EU) č. 1308/2013 okrem

vinárskych výrobkov uvedených v bodoch 2, 10, 11, 12, 13, 14 a 17) podľa nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (EU) 2021/2117, delegovaného nariadenia Komisie 2023/1606, ktorým sa mení nariadenie (EU) 2019/33 a podľa nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 o poskytovaní informácii o potravinách spotrebiteľom.

8. Nagy, I. – Čitbaj, F. Liturgické a omšové vína. In *Vinařský obzor*. ISSN 1212-7884, 2009, vol. 102, no. 9, s. 430.
9. Nádeníčková, B. *Technologie speciálních vín*. Lednice i.e. Brno : Mendelova univerzita v Brně, 2014. ISBN 978-80-7509-019-5. 87 s.
10. Pontificia Università Gregoriana Facoltà Di Diritto Canonico. CIC 1917, CIC 1983. Online. 2024. Dostupné na: https://www.iuscangreg.it/
11. Předešlý, L.. *Morální odpovědnost vinaře při výrobě mešního vína*. Bakalárska práca. Online. 2020. Univerzita Palackého v Olomouci Cyrilometodějská teologická fakulta. 68 s. Dostupné na: https://theses.cz/id/e5w8vj/
12. Všeobecné Smernice Rímskeho Misála. Chlieb a víno na slávenie Eucharistie. Bod 322. In *Liturgia*. ISSN 1210-0676, 2008, vol. 18, no. 4, s. 267.
13. Southern African Catholic Bishops' Conference. *Canon Law Guidelines*. Online. 2021. Dostupné na: https://sacbcwine.org.za/canon-law-guidelines/
14. WEIN.PLUS. *Mass wine*. Online. 2024. Dostupné na: https://glossary.wein.plus/mass-wine-2

Kontaktná adresa: Benešová Lucia, AgroBioTech Research Centre, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic; E-mail: lucia.benesova@uniag.sk

MIKROBIOTA LARIEV MUCHY ČIERNEJ (*HERMETIA ILLUCENS*) PRI RÔZNYCH VARIANTOCH KŔMENIA

MICROBIOTA OF BLACK SOLDIER FLY (*HERMETIA ILLUCENS*) LARVAE UNDER DIFFERENT FEEDING VARIANTS

Barboráková Zuzana[1], Kolesár Eduard[3], Tančinová Dana[1], Jakabová Silvia[2], Urminská Dana[1], Urminská Jana[2], Ivanišová Eva[2], Mrvová Monika[1], Hleba Lukáš[1], Petrová Jana[1], Mašková Zuzana[1]

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, [1]Ústav biotechnológie, [2]Ústav potravinárstva, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika; [3]ecol Trade, s.r.o., J. Haška 1, 949 01 Nitra, Slovenská republika

ABSTRACT

This study investigated the influence of different feeding substrates on the bacterial communities and growth of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*, BSFL). In the experiment, larvae were fed with three different substrates (I. variant - egg noodles cooked in full-fat milk, II. egg noodles cooked in full-fat milk inoculated with the microscopic filamentous fungus *Penicillium verrucosum* CCF 1636 - production strain for ochratoxin A /OTA/, III. egg noodles cooked in full-fat milk with the addition of the reference standard OTA in ethanol, 10 µg OTA.kg^{-1} feed). Microbial analysis revealed significant changes in the total microbial count (TMC), coliform bacteria, and sporulating bacteria depending on the substrate used. The highest increase in TMC in BSFL after feeding was recorded in the I. variant, while the counts of coliform bacteria were highest in the III. variant. The counts of sporulating bacteria in BSFL decreased during feeding. Interestingly, the presence of OTA in the III. variant resulted in the lowest weight gain of BSFL, indicating a potential impact of mycotoxins on larval growth. The study confirmed that the feeding substrate significantly influences bacterial communities in BSFL and their growth, which has important implications for optimizing breeding conditions in practice.

Key words: microbiota, black soldier fly larvae, feeding

ÚVOD

Larvy muchy čiernej (*Hermetia illucens*), známe aj ako „black soldier fly larvae“ (BSFL), sú dôležitým článkom ekosystému, ktorý zohráva významnú úlohu pri recyklácii organických zlúčenín (Tomberlin et al., 2002). Schopnosť BSFL recyklovať organický materiál, premeniť ho na hodnotné krmivo môže pomôcť znižovať množstvo odpadu a zároveň

vytvárať udržateľnejšie riešenia pre potravinárske a krmivárske odvetvie (Lalander et al., 2015). Tieto larvy sú schopné rýchlo kolonizovať rozkladajúce sa organické materiály a efektívne ich prekonvertovať na hodnotné bielkoviny a tuky (Lalander et al., 2015). Vďaka svojej odolnosti voči patogénom v ich krmive a schopnosti metabolizovať niektoré toxické látky, sú BSFL považované za vhodnú zložku krmiva v akvakultúre a pre iné hospodárske zvieratá (Siddiqui et al., 2023), ale aj ako potenciálnu potravinu pre ľudí (van Huis et al., 2013). V niektorých kultúrach sú BSFL tradičnou súčasťou stravy, a to vďaka ich vysokému obsahu bielkovín, tukov a dôležitých živín. Ich nutričná hodnota a schopnosť rýchlo sa množiť robia z BSFL atraktívnu alternatívu k tradičným zdrojom bielkovín, ako sú bielkoviny mäsa a rýb (van Huis et al., 2013). Napriek svojej schopnosti spracovať nebezpečné látky, existuje riziko akumulácie nežiaducich kontaminantov v ich tele (Camenzuli et al., 2018). Výskum týkajúci sa BSFL je zameraný na pochopenie ich schopnosti metabolizovať rôzne toxické látky a ich potenciálny vplyv na životné prostredie a zdravie hospodárskych zvierat. Sú dostupné rôzne štúdie, ktoré skúmajú toleranciu BSFL voči rôznym kontaminantom, ako sú mykotoxíny, ťažké kovy a pesticídy (Bosch et al., 2017; Camenzuli et al., 2018; Meijer et al., 2019).

Mikrobiota BSFL zahŕňa komplexný ekosystém mikroorganizmov, ktorý je prítomný v ich prostredí a tráviacom trakte. Tento ekosystém zahŕňa baktérie, mikroskopické vláknité huby, kvasinky a ďalšie mikroorganizmy, ktoré sa podieľajú na rozklade organických látok a trávení krmiva. Zloženie mikrobioty BSFL je ovplyvnené rôznymi faktormi – kŕmením, prostredím, teplotou a vlhkosťou. Vplyv kŕmenia na mikrobiotu BSFL je významný, pretože rôzne druhy krmiva môžu podporovať rôzne populácie mikroorganizmov. Napríklad, BSFL kŕmené organickými odpadmi z ovocia a zeleniny môžu mať odlišné zloženie mikroorganizmov vo svojom tráviacom trakte v porovnaní s larvami kŕmenými mäsom alebo inými zdrojmi bielkovín. Okrem toho sa ukázalo, že kŕmenie BSFL rôznymi druhmi organických odpadov môže mať vplyv na ich vývoj, rast a nutričnú hodnotu (Lalander et al., 2015; Camenzuli et al., 2018).

Cieľom štúdie bolo sledovať vplyv rôznych variantov kŕmenia na mikrobiotu a hmotnostný prírastok BSFL.

MATERIÁL A METODIKA

Chov a kŕmenie BSFL

V štúdii sme sledovali mikrobiotu BSFL, ktoré boli kŕmené troma variantmi krmiva. V každom variante na začiatku experimentu bolo kŕmených 250 g BSFL. Pokus bol realizovaný v 4 opakovaniach pre každý variant, t. j. celkovo sme na začiatku experimentu kŕmili 1 kg BSFL v každom variante.

Varianty pokusu (kŕmenie):

I. vaječné cestoviny uvarené v plnotučnom mlieku,

II. vaječné cestoviny uvarené v plnotučnom mlieku naočkované mikroskopickou vláknitou hubou *Penicillium verrucosum* CCF 1636 (produkčný kmeň pre ochratoxín A /OTA/),

III. vaječné cestoviny uvarené v plnotučnom mlieku s prídavkom referenčného štandardu OTA v etanole (10 µg OTA.kg^{-1} krmiva).

Chov BSFL prebiehal pri teplote 27 ± 1 °C a relatívnej vlhkosti vzduchu 40 ± 1 %. BSFL boli kŕmené krmivom v jednotlivých variantoch 3 dni a dávka krmiva v každom opakovaní príslušného variantu bola 300 g.deň$^{-1}$. Po jednodňovej prestávke v kŕmení boli BSFL usmrtené zamrazením pri teplote -80 °C. V jednotlivých variantoch krmiva bola stanovená vlhkosť a vodná aktivita (a_v). Na meranie a_v sme použili LabMaster aw (Novasina, Lachen Švajčiarsko). Obsah vlhkosti bol stanovený výpočtom rozdielu hmotnosti 5 g počiatočnej vzorky pred a po sušení v sušiarni 4 hodiny pri 225 °C do konštantnej hmotnosti.

Mikrobiologické analýzy

Z mikrobiologických ukazovateľov sme v usmrtených BSFL (na začiatku i na konci experimentu) sledovali celkový počet mikroorganizmov (CPM), počet koliformných a sporulujúcich baktérií.

Tabuľka č. 1, Charakteristika použitej mikrobiologickej analýzy

Skupina mikroorganizmov	Živné médium	Spôsob očkovania	Objem inokula (ml)	Použité riedenia	Kultivácia	
					Teplota (± 1 °C)	Čas (hod.)
CPM	GTK	zaliatím	1	10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}	30	24
KB	VČŽL	povrchovo	0,1	10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}	37	24
SB	MPA	zaliatím	1	10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}	30	24

CPM – celkový počet mikroorganizmov; KB – koliformné baktérie; SB – sporulujúce baktérie; GTK – agarová živná pôda s glukózou, tryptónom a kvasničným extraktom; VČŽL – agarová živná pôda s kryštálovou violeťou, neutrálnou červenou, žlčovými soľami a laktózou; MPA – mäsopeptónový agar

Pri mikrobiologických analýzach sme použili platňovú zrieďovaciu metódu. Analýzu sme realizovali v dvoch opakovaniach. BSFL sme zhomogenizovali, 5 g sme pridali do 45 ml sterilného fyziologického roztoku a 30 minút pretrepávali na trepačke. Takto pripravené základné riedenie (10^{-1}) sme použili na prípravu riedení použitých v štúdii. Charakteristiku

použitých analýz uvádzame v tabuľke č. 1. Pri stanovení sporulujúcich baktérií sme inokulum zahriali na teplotu 80 °C po dobu 10 minút, schladili a následne očkovali na živné médium. Konečné výsledky počtov jednotlivých skupín mikroorganizmov sme vyjadrili v log KTJ.g^{-1}.

MALDI-TOF identifikácia

Koliformné baktérie sme rodovo identifikovali pomocou spektrometra MALDI Biotyper (Bruker Daltonics) s využitím internej metodiky pre identifikáciu mikroorganizmov.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tabuľke č. 2 uvádzame parametre krmiva v jednotlivých variantoch. Priemerná vlhkosť krmiva použitého v I. variante bola 63,45 %, v II. variante 65,14 % a v III. 67,44 %. Priemerná a_v krmiva použitého v I. variante bola 0,820 a v II. variante 0,817. V III. variante bola a_v najnižšia, 0,814.

Tabuľka č. 2, Parametre krmiva v jednotlivých variantoch

Ukazovateľ		Variant		
		I.	II.	III.
Vlhkosť (%)	Priemer	63,45	65,14	67,44
	SD	0,92	1,17	1,34
	Min	62,16	63,53	65,71
	Max	64,29	66,29	68,97
	CV	1,42	0,02	1,99
a_v	Priemer	0,820	0,817	0,814
	SD	0,002	0,001	0,003
	Min	0,817	0,816	0,810
	Max	0,823	0,819	0,818
	CV	0,24	0,12	0,36

SD - smerodajná odchýlka; CV - variačný koeficient; a_v - vodná aktivita; I. variant - vaječné cestoviny uvarené v plnotučnom mlieku; II. variant - vaječné cestoviny uvarené v plnotučnom mlieku naočkované mikroskopickou vláknitou hubou *Penicillium verrucosum* CCF 1636; III. variant - vaječné cestoviny uvarené v plnotučnom mlieku s prídavkom OTA

Bakteriálne spoločenstvo BSFL pozostáva z kombinácie požitých baktérií krmiva a baktérií, ktoré sa nachádzajú v larvách a môžu pochádzať z vajíčok muchy (Bruno et al., 2019a; Jiang et al., 2019; Wynants et al., 2019). Schreven et al. (2021) uvádzajú, že substrát je

hlavným determinantom zloženia črevnej mikrobioty lariev, no výsledky Wynants et al. (2019) naznačujú, že množstvo interagujúcich faktorov – abiotických aj biotických – pravdepodobne ovplyvňuje mikrobiotu v larvách.

Larválne a substrátové bakteriálne spoločenstvá sa môžu líšiť v zložení v závislosti od kŕmneho substrátu v dôsledku flexibilného tráviaceho systému BSFL (Bonelli et al., 2019; Zhan et al., 2020). V priebehu času larvy menia zloženie bakteriálnej komunity substrátu inhibíciou určitých baktérií a zároveň dispergujú črevné baktérie do substrátu (Lalander et al., 2013; Jiang et al., 2019; Wynants et al., 2019).

Tabuľka č. 3, Mikrobiologická analýza BSFL

Ukazovateľ	CPM (log KTJ.g^{-1})				KB (log KTJ.g^{-1})				SB (log KTJ.g^{-1})			
	ZE	KE			ZE	KE			ZE	KE		
Variant		I.	II.	III.		I.	II.	III.		I.	II.	III.
Priemer	6,20	7,39	7,21	7,32	0	7,02	7,08	7,32	7,80	5,04	5,60	4,82
SD	-	0,20	0,09	0,08	-	0,11	0,21	0,08	-	0,62	0,43	0,55
Min	-	7,15	7,11	7,26	-	6,90	7,04	7,00	-	4,51	5,00	4,40
Max	-	7,52	7,32	7,40	-	7,15	7,26	7,28	-	5,92	5,94	5,63
CV	-	2,71	1,25	1,10	-	1,55	2,97	1,09	-	12,30	7,68	11,41

ZE - začiatok experimentu; KE - koniec experimentu; CPM - celkový počet mikroorganizmov; KB - koliformné baktérie; SB - sporulujúce baktérie; SD - smerodajná odchýlka; CV - variačný koeficient; I. variant - vaječné cestoviny uvarené v plnotučnom mlieku; II. variant - vaječné cestoviny uvarené v plnotučnom mlieku naočkované mikroskopickou vláknitou hubou *Penicillium verrucosum* CCF 1636; III. variant - vaječné cestoviny uvarené v plnotučnom mlieku s prídavkom OTA

V tabuľke č. 3 uvádzame počty jednotlivých skupín mikroorganizmov, na stanovenie ktorých sme sa zamerali v našom experimente. CPM lariev na začiatku experimentu bol 6,2 log KTJ.g^{-1}. CPM BSFL na konci experimentu sa zvýšil vo všetkých troch variantoch oproti počtom na začiatku experimentu. Najvyšší CPM bol v I. variante kŕmenia (vaječné cestoviny uvarené v plnotučnom mlieku, 7,39 log KTJ.g^{-1}). V štúdii Wynants et al. (2019) bol CPM BSFL v jednotlivých variantoch kŕmenia vyšší, pohyboval sa od 8,0 až do 9,8 log KTJ.g^{-1}.

Koliformné baktérie v BSFL na začiatku experimentu pri použitých riedeniach neboli detegované, no počty koliformných baktérií v BSFL v jednotlivých variantoch kŕmenia boli vysoké. Najvyšší počet koliformných baktérií v BSFL bol zistený v III. variante kŕmenia (7,32

log KTJ.g^{-1}), v ktorom sa do krmiva pridával OTA. V štúdii Wynants et al. (2019) sa počty baktérií z čeľade *Enterobacteriaceae* v BSFL pohybovali od 7,3 až do 9,7 log KTJ.g^{-1}.

V skupine sporulujúcich baktérií v BSFL bol zistený pokles počtu v jednotlivých variantoch kŕmenia (4,82 – 5,04 log KTJ.g^{-1}) oproti počtom sporulujúcich baktérií v BSFL na začiatku experimentu (7,80 log KTJ.g^{-1}). Najvyšší pokles bol zaznamený v BSFL kŕmenými III. variantom kŕmenia, v ktorom sa do krmiva pridával OTA. Wynants et al. (2019) uvádzajú počty aeróbnych sporulantov v BSFL 3,7 až 7,5 log KTJ.g^{-1}.

Tabuľka č. 4, Rodové spektrum koliformných baktérií v BSFL identifikované pomocou MALDI-TOF

Rod	Variant			Rod	Variant		
	I.	II.	III.		I.	II.	III.
Escherichia		+		*Morganella*	+	+	+
Hafnia	+			*Proteus*	+	+	+
Klebsiella	+	+		*Serratia*			+
Moellerella	+	+	+				

I. variant - vaječné cestoviny uvarené v plnotučnom mlieku; II. variant - vaječné cestoviny uvarené v plnotučnom mlieku naočkované mikroskopickou vláknitou hubou *Penicillium verrucosum* CCF 1636; III. variant - vaječné cestoviny uvarené v plnotučnom mlieku s prídavkom OTA

Larvy hmyzu môžu podporovať a udržiavať určitú mikrobiotu v substráte a zvyškoch, aby podporili rozklad a stráviteľnosť substrátov (Zhao et al., 2017), a tým vývoj lariev (Storelli et al., 2018), a tiež ochranu pred iným hmyzom a mikroorganizmami, s ktorými súťažia o rovnaké zdroje (Bernard et al., 2020). Jiang et al. (2019) ako prví určili dynamiku bakteriálnej komunity počas jedného chovného cyklu a zistili, že chov BSFL ovplyvňuje a mení substrátovú bakteriálnu komunitu v priebehu času, aby sa zvýšila schopnosť rozkladať substrát. Lalander et al. (2013) a Erickson et al. (2004) tiež uviedli zníženie niektorých baktérií počas chovu BSFL.

Niekoľko štúdií skúmalo zmeny v štruktúre črevnej mikrocenózy počas rastu BSFL a v reakcii na zmenu typu krmiva. Zloženie črevnej mikrobiálnej komunity lariev sa značne líšilo v rôznych chovných substrátoch a miestach (Bruno et al., 2019b; Klammsteiner et al., 2021; Wynants et al., 2019). Bruno et al. (2019b) zistili, že kŕmny substrát významne ovplyvnil bakteriálne spoločenstvá BSFL. BSFL kŕmené štandardným a zeleninovým zmiešaným krmivom vykazovali zvýšené zastúpenie baktérií čeľade *Bacteroidetes* a v BSFL kŕmených

rybacou múčkou boli dominantné baktérie kmeňa *Proteobacteria*. V tabuľke 4 uvádzame rodové spektrum koliformných baktérií v jednotlivých variantoch kŕmenia BSFL v našej štúdii. Všetky identifikované rody baktérií systematicky patria do kmeňa *Proteobacteria*.

Rod *Morganella*, ktorý bol detegovaný vo všetkých variantoch kŕmenia BSFL, bol popisovaný aj v iných štúdiách na vajciach BSF (Zheng et al., 2013) a v BSFL (Jeon et al., 2011). Obe štúdie uvádzajú aj prítomnosť *Providencia* sp., zatiaľ čo štúdia Jeon et al. (2011) uvádza aj prítomnosť *Enterococcus* sp. na všetkých troch použitých chovných substrátoch. Wynants et al. (2019) uvádzajú, že rody *Morganella*, *Enterococcus*, *Pseudomonas* a/alebo *Providencia*, ako aj niektoré *Bacillaceae* sp. sú súčasťou skupiny mikroorganizmov, ktoré sa často opakujú v BSFL, bez ohľadu na substráty alebo iné podmienky chovu.

V našom experimente sme sledovali tiež prírastok hmotnosti (%) BSFL v jednotlivých variantoch kŕmenia. Hmotnosť 100 ks BSFL na začiatku experimentu bola 4,86 g. Najvyšší prírastok hmotnosti sme zaznamenali vo variante I. (180,86 %). Najnižší prírastok bol zaznamenaný v III. variante kŕmenia s obsahom OTA (128,39 %). BSFL majú vysokú toleranciu voči mykotoxínom. Podľa Bosch et al. (2017) a Meijer et al. (2019) krmivo pre BSFL obohatené o aflatoxín B_1 v množstvách 0,01 až 0,5 $mg.kg^{-1}$ neovplyvnilo hmotnosť a prežitie BSFL. Podobne súčasný príjem aflatoxínu B_2 a aflatoxínu G_2 neovplyvnil rast a prežitie BSFL (Purschke et al., 2017). Camenzuli et al. (2018) uvádzajú, že ani pridanie deoxynivalenolu, zearalenónu a OTA do krmiva pre BSFL v koncentrácii 0,1; 0,5 a 5 $mg.kg^{-1}$, neovplyvnilo rast, prežitie a vývoj BSFL. V našej štúdii sa preukázalo, že OTA v krmive spôsobil nižší prírastok hmotnosti 100 ks BSFL v porovnaní s I. variantom (bez OTA).

Tabuľka 4, Hmotnosť 100 ks BSFL na začiatku a na konci experimentu v jednotlivých variantoch

Variant		Váha (g)	SD	Min	Max	CV	Prírastok hmotnosti (%)
ZE		4,86	-	-	-	-	-
I.	KE	13,65	1,15	12,20	15,00	8,42	180,86
II.		11,70	1,10	10,60	13,00	9,40	140,74
III.		11,10	0,50	10,60	11,80	4,50	128,39

ZE - začiatok experimentu; KE - koniec experimentu; SD - smerodajná odchýlka; CV - variačný koeficient; I. variant - vaječné cestoviny uvarené v plnotučnom mlieku; II. variant - vaječné cestoviny uvarené v plnotučnom mlieku naočkované mikroskopickou vláknitou hubou *Penicillium verrucosum* CCF 1636; III. variant - vaječné cestoviny uvarené v plnotučnom mlieku s prídavkom OTA

ZÁVER

Z výsledkov nášho experimentu je možné vyvodiť, že substrát kŕmenia má významný vplyv na bakteriálne spoločenstvá lariev muchy čiernej (*Hermetia illucens*, BSFL) a na ich rast. Rozdiely v obsahu vlhkosti a sušiny v jednotlivých variantoch krmív ovplyvnili mikrobiálnu aktivitu a rast lariev. Najväčší nárast celkového počtu mikroorganizmov (CPM) v BSFL bol zaznamenaný v I. variante (vaječné cestoviny uvarené v plnotučnom mlieku), zatiaľ čo najvyššie počty koliformných baktérií boli v III. variante kŕmenia. Počty sporulujúcich baktérií v BSFL v priebehu kŕmenia klesli. BSFL kŕmené v III. variante krmivom s prídavkom ochratoxínu A (OTA) mali najnižší prírastok hmotnosti, čo naznačuje negatívny vplyv OTA na rast lariev. Tieto zistenia poukazujú na dôležitosť výberu a spracovania krmivových substrátov v praxi s cieľom optimalizovať podmienky chovu a zdravie lariev.

POĎAKOVANIE

Táto štúdia vznikla s podporou projektu VEGA 1/0512/22 - Biokonverzia kuchynského odpadu na vysoko hodnotné krmivo využitím lariev muchy čiernej.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BERNARD, E. et al. Colonisation of finfish substrate inhabited by black soldier fly larvae by blow flies, bacteria, and fungi. In *Journal of insects as food and feed* [online]. 2020, vol. 6, no. 3, p. 291-304 [cit. 2024-04-22]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.3920/JIFF2019.0044>.
2. BONELLI, M. et al. Structural and functional characterization of *Hermetia illucens* larval midgut. In *Frontiers in Physiology* [online]. 2019, vol. 10: 427234, p. 1-18 [cit. 2024-04-19]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00204>.
3. BOSCH, G. et al. Aflatoxin B_1 tolerance and accumulation in black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) and yellow mealworms (*Tenebrio molitor*). In *Toxins* [online]. 2017, vol. 9, no. 6, 185, p. 2-10 [cit. 2024-04-19]. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/toxins9060185>.
4. BRUNO, D. et al. The intestinal microbiota of *Hermetia illucens* larvae is affected by diet and shows a diverse composition in the different midgut regions. In *Applied and environmental microbiology* [online]. 2019a, vol. 85, no 2: e01864-18, p. 1-14 [cit. 2024-04-19]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1128/AEM.01864-18>.
5. BRUNO, D. et al. The digestive system of the adult *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae): morphological features and functional properties. In *Cell and Tissue*

Research [online]. 2019b, vol. 378, p. 221-238 [cit. 2024-04-19]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1007/s00441-019-03025-7>.

6. CAMENZULI, L. et al. Tolerance and excretion of the mycotoxins aflatoxin B_1, zearalenone, deoxynivalenol, and ochratoxin A by *Alphitobius diaperinus* and *Hermetia illucens* from contaminated substrates. In *Toxins* [online]. 2018, vol. 10, no. 91, p. 1-15 [cit. 2024-04-17]. Dostupné na: <https://doi.org/10. 3390/toxins10020091>.
7. ERICKSON, M. C. et al. Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis in* chicken manure by larvae of the black soldier fly. In *Journal of food protection* [online]. 2004, vol. 67, no. 4, p. 685-690 [cit. 2024-04-22]. Dostupné na: <10.4315/0362-028X-67.4.685>.
8. JEON, H. et al. The intestinal bacterial community in the food waste-reducing larvae of *Hermetia illucens*. In *Curr Microbiology* [online]. 2011, vol. 62, no. 5, p. 1390-1399 [cit. 2024-04-21]. Dostupné na: <https://doi 10.1007/s00284-011-9874-8>.
9. JIANG, Ch.-L., et al. Black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) strengthen the metabolic function of food waste biodegradation by gut microbiome. In *Microbial biotechnology* [online]. 2019, vol. 12, no. 3, p. 528-543 [cit. 2024-04-17]. Dostupné na: <https://doi:10.1111/1751-7915.13393>.
10. KLAMMSTEINER, T. et al. The core gut microbiome of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae raised on low-bioburden diets. In *Frontiers in Microbiology* [online]. 2020, vol. 11, no. 993. p. 1-14 [cit. 2024-04-17]. Dostupné na: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00993>.
11. LALANDER, C. et al. Faecal sludge management with the larvae of the black soldier fly (*Hermetia illucens*) – From a hygiene aspect. In *Science of the Total Environment* [online]. 2013, no. 458, p. 312-318 [cit. 2024-04-17]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.033>.
12. LALANDER, C. et al. High waste-to-biomass conversion and efficient *Salmonella* spp. reduction using black soldier fly for waste recycling. In *Agronomy for Sustainable Development* [online]. 2015, vol. 35, p. 261-271 [cit. 2024-04-21]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0235-4>.
13. MEIJER, N. et al. Aflatoxin B1 Conversion by Black Soldier Fly (Hermetia illucens) Larval Enzyme Extracts. In *Toxins* [online]. 2019, vol. 11, no. 9, p. 532 [cit. 2024-04-17]. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/toxins11090532>.
14. PURSCHKE, B. et al. Impact of substrate contamination with mycotoxins, heavy metals and pesticides on growth performance and composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) for use in the feed and food value chain. In *Food Additives*

& Contaminants: Part A [online]. 2017, vol. 34, no. 8, p. 1-29 [cit. 2024-04-19]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1299946>.

15. SIDDIQUI, S. A. et al. Effects of undesired substances and their bioaccumulation on the black soldier fly larvae, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) - a literature review. In *Environmental Monitoring and Assessment* [online]. 2023, vol. 195, no. 823, p. 563-583 [cit. 2024-04-19]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1007/s10661-023-11186-w>.
16. SCHREVEN, S. J. J. et al. Relative contributions of egg-associated and substrate-associated microorganisms to black soldier fly larval performance and microbiota. In *FEMS Microbiology Ecology* [online]. 2021, vol. 97, no. 5, fiab054, p. 1-14 [cit. 2024-04-17]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1093/femsec/fiab054>.
17. STORELLI, G. et al. *Drosophila perpetuates* nutritional mutualism by promoting the fitness of its intestinal symbiont *Lactobacillus plantarum*. In *Cell metabolism* [online]. 2018, vol. 27, no. 2, p. 362-377 [cit. 2024-04-22]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.11.011>.
18. TOMBERLIN, J. K. et al. Selected life-history traits of black soldier flies (Diptera: Stratiomyidae) reared on three artificial diets. In *Annals of the Entomological Society of America* [online]. 2002, vol. 95, no. 3, p. 379-386 [cit. 2024-04-17]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1603/0013-8746(2002)095[0379:SLHTOB]2.0.CO;2>.
19. VAN HUIS, A. et al. Edible insects: Future prospects for food and feed security. [online]. Rím: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2013. 187 p. [cit. 2024-04-19]. ISBN 978-92-5-107595-1. Dostupné na: <https://www.fao.org/3/i3253e/i3253e.pdf>.
20. WYNANTS, E. et al. Assesing the Microbiota of Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia Illucens*) Reared on Organic Waste Streams on Four Different Locations at Laboratory and Large Scale. In *Environmental Microbiology* [online]. 2019, vol. 77, p. 913-930 [cit. 2024-04-17]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1286-x>.
21. ZHAN, S. et al. Genomic landscape and genetic manipulation of the black soldier fly *Hermetia illucens*, a natural waste recycler. In *Cell research* [online]. 2020, vol. 30, no. 1, p. 50-60 [cit. 2024-04-17]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1038%2Fs41422-019-0252-6>.
22. ZHAO, Y. et al. The gut microbiota in larvae of the housefly *Musca domestica* and their horizontal transfer through feeding. In *Amb Express* [online]. 2017, vol. 7, p. 1-9 [cit. 2024-04-22]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0445-7>.

23. ZHENG, L. et al. A survey of bacterial diversity from successive life stages of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) by using 16S rDNA pyrosequencing. In *Journal of Medical Entomology* [online]. 2013. vol. 50, no. 3, p. 647-658 [cit. 2024-04-21]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1603/me12199>.

Kontaktná adresa: Ing. Barboráková Zuzana, PhD., Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Institute of Biotechnology, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic; E-mail: zuzana.barborakova@uniag.sk

POROVNÁNÍ OBSAHU AKRYLAMIDU V TEPELNĚ UPRAVENÝCH VÝROBCÍCH ŽIVOČIŠNÉHO PŮVODU A JEJICH ROSTLINNÝCH ANALOZÍCH

COMPARISON OF ACRYLAMIDE CONTENT IN HEAT-TREATED PRODUCTS OF ANIMAL ORIGIN AND THEIR PLANT ANALOGUES

Bartáková Klára, Kameník Josef, Ježek František, Bursová Šárka

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

ABSTRACT

In this study, the content of acrylamide in different types of plant analogues of meat products intended for heat treatment before consumption was determined and, for comparison, the content of acrylamide in meat products of the same type was determined. These were types of products in the form of patties for preparing burgers, slices without or with breadcrumbs, balls or nuggets. Food samples were analysed before and after heat treatment. Acrylamide content was determined using liquid chromatography with mass detection.

It was found that in meat and plant products before heat treatment, acrylamide is only found in products that include a breadcrumb coating and that are pre-fried as part of production. In other types of plant and meat products, the acrylamide content was below the detection limit of the method used (20 ug/kg). As for products with a breadcrumb coating, no significant differences were found in the content of acrylamide or in the rate of acrylamide formation due to heat treatment in meat products and plant alternatives. Plant analogues with a breadcrumb coating contained acrylamide in the amount of 44 ± 31 ug/100g before heat treatment, and meat products of this type also contain it in a similar amount, namely 23 ± 5 ug/100g. After heat treatment according to the instructions on the package, the acrylamide content in products wrapped in breadcrumbs increases by approximately 1.5-2 times for meat products and plant alternatives. This study found no statistically significant differences in the content of acrylamide between meat products intended for heat treatment before consumption and their plant analogues before and after heat treatment..

Key words: plant alternatives, burger, nugget, schnitzel

ÚVOD

Akrylamid je látka vznikající v potravinách s vysokým obsahem sacharidů a dostupných aminokyselin, při jejichž opracování je použita vysoká teplota (nad 120 °C). Jeho významným zdrojem jsou například bramborové lupínky či hranolky, chléb, snídaňové cereálie,

pražená káva a náhražky kávy apod. (Nařízení 2017/2158). Vzhledem k zařazení akrylamidu mezi potenciální karcinogeny se jeho možný obsah řeší i v dalších produktech, jako např. v masných výrobcích typu hambuger, nugget nebo masové kuličky (Tugba a Sema, 2021).

Rostlinné analogy živočišných potravin jsou v současné době na světě stále více produkovány s cílem dodat na trh alternativní výrobky z rostlinných surovin připomínající svým charakterem potraviny živočišného původu, napodobující vzhled, barvu, texturu a chuť klasických produktů z masa či z mléka, které ale byly získány jiným způsobem než představuje chov zvířat (Windhorst, 2021). Majoritními složkami rostlinných alternativ jsou sacharidy a bílkoviny a jejich výrobě je používána vysoká teplota. Existuje proto předpoklad tvorby akrylamidu. Některé rostlinné analogy jsou ještě před konzumací určeny k tepelné úpravě, čímž nastává další krok vlivu zvýšené teploty (McClements and Grossmann, 2021).

Cílem této práce bylo stanovit obsah akrylamidu v různých druzích rostlinných analogů masných výrobků určených k tepelné úpravě před konzumací a pro porovnání i obsah akrylamidu v masných výrobcích odpovídajícího typu.

MATERIÁL A METODIKA

Jako materiál bylo v tržní síti České republiky v období červenec-srpen 2023 zakoupeno celkem 18 vzorků rostlinných alternativ masných výrobků určených k tepelné úpravě nazývané např. jako vegan burger, vegi steak, rostlinný řízek nebo vegetariánské kuličky určených buď k chladírenskému nebo mrazírenskému skladování. K porovnání výsledků bylo zakoupeno 12 vzorků odpovídajících výrobků z masa nazývané na obale např. jako hovězí burger nebo kuřecí nuggetky.

Polovina každého výrobku byla tepelně opracována na pánvi dle návodu doporučeného výrobcem na obale. Ve vzorcích před tepelnou úpravou i po tepelné úpravě byl stanoven obsah akrylamidu s využitím vysokoúčinné kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí. Mez detekce použité metody pro akrylamid činí 20 ug/kg.

Statistické vyhodnocení bylo provedeno za použití F-testu a t-testu pro společné nebo různé rozptyly v programu Unistat 6.5 (Unistat, Velká Británie).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Tabulka č.1 uvádí rozsah obsahu akrylamidu stanoveného v analyzovaných rostlinných alternativách a masných výrobcích ve stavu po zakoupení z tržní sítě (tzn. před tepelnou úpravou) a po tepelné úpravě provedené na pánvi dle doporučení výrobce na obale. V tabulce je viditelné poměrně široké rozpětí mezi minimálními a maximálními hodnotami, které se pohybuje od hodnot nižších než mez detekce použité metody, což činí 20 ug/kg, až po nejvyšší

stanovenou hodnotu 98 ug/kg u rostlinné alternativy před tepelnou úpravou a hodnotu 170 ug/kg u rostlinné alternativy po tepelné úpravě. Bylo zjištěno, že obsah akrylamidu se výrazně liší u výrobků typu řízek či nugget, které jsou obaleny ve strouhance, proto byly rostlinné alternativy i masné výrobky rozděleny do dvou skupin dle tohoto hlediska. Strouhanka obsahuje další podíl sacharidů, který spolu s tepelnou předúpravou u výrobce zřejmě přispívá k tvorbě akrylamidu. Z tabulky č.1 je zřejmé, že obsah akrylamidu se v rostlinných alternativách i masných výrobcích, které neobsahují obal ze strouhanky, pohybuje před tepelnou úpravou u všech analyzovaných vzorků pod mezí detekce použité metody. Po tepelné úpravě množství akrylamidu v některých vzorcích se pouze mírně navýšil nad mez detekce, a to maximálně na 32 ug/kg u rostlinných, resp. max. na 30 ug/kg u masných výrobků. Podobně nízký obsah akrylamidu pod mezí detekce 10 ug/kg uvádí ve výrobcích typu hamburger Ölmez et al. (2008). Podobné hodnoty u masných výrobků po tepelné úpravě uvádí Tugba a Sema (2021), a to pro grilované masné výrobky 26,40 ± 5,03 ug/kg, pro grilované kuřecí prsa 30,83 ± 6,27 ug/kg a pro grilované hovězí 32,57 ± 4,72 ug/kg.

U výrobků obsahujících obal ze strouhanky byla zjištěna větší variabilita v množství akrylamidu (AA) před tepelnou úpravu, a to zejména pro rostlinné alternativy, kde v některých vzorcích byl obsah AA pod mezí detekce metody, ale byly analyzovány i vzorky s vyšším množstvím AA až do 98 ug/kg. Z této variability vyplývá i variabilita obsahu AA u rostl.altermativ po tepelné úpravě, kde se obsah AA pohyboval v rozmezí 28 – 170 ug/kg. U masných výrobků s obalem byla variabilita výsledků výrazně menší, minimální hodnoty byly před TÚ i po TÚ pod mezí detekce, maximální hodnoty činily 30 ug/kg, resp. 64 ug/kg. Výrazně vyšší hodnoty obsahu AA pro masné výrobky s obalem ze strouhanky uvádí Tugba a Sema (2021), a to pro nugget 172,83 ± 13,32 ug/kg a pro řízek 149,60 ± 6,07 ug/kg.

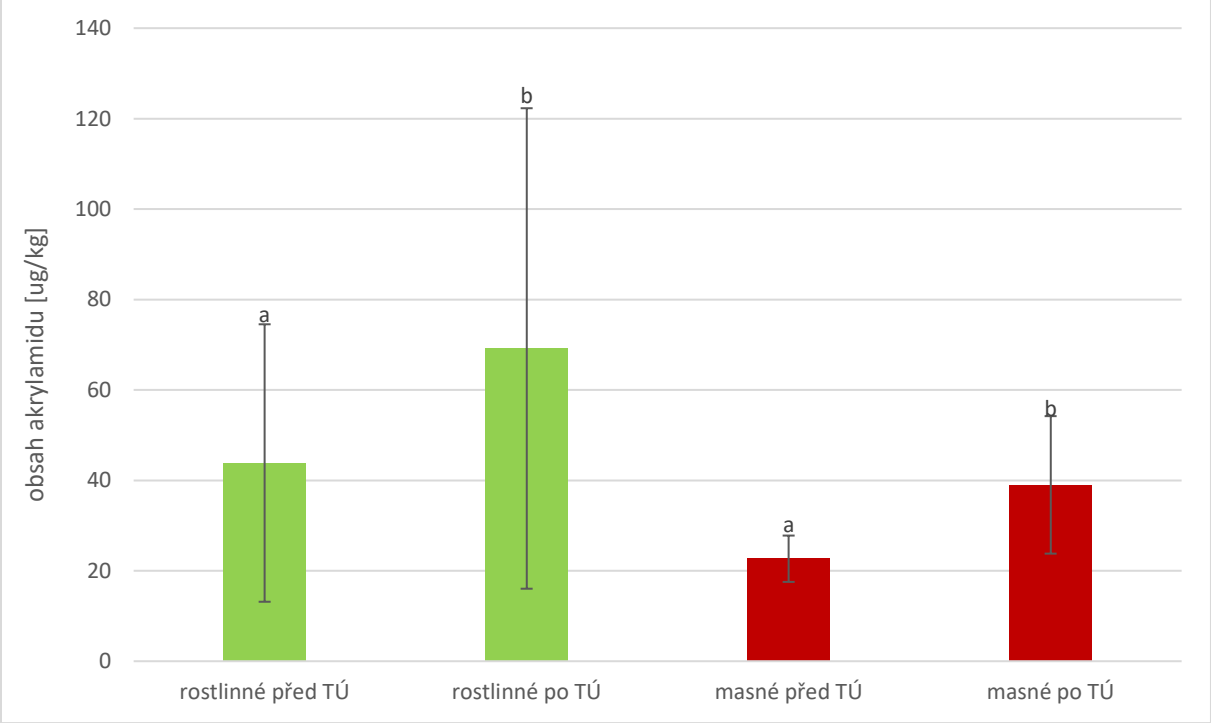
Průměrný obsah AA a variabilita v jednotlivých vzorcích u rostlinných i masných výrobků je patrný v grafu č.1, který uvádí, že vlivem tepelné úpravy došlo ke statisticky významnému ($p < 0,05$) zvýšení obsahu AA u rostl.alternativ i u masných výrobků. Velká variabilita obsahu AA u rostlinných alternativ se zřejmě odvíjí od různých technologických postupů výroby využitích u jednotlivých výrobců, což znázorňuje graf č.2.

Pro rostlinné alternativy obsah AA ve vědecké literatuře zatím není dostupný, ale nejvyšší hodnoty 170 ug/kg rozhodně nedosahují množství AA, které je obsaženo v potravinách rizikových na AA, jako jsou např. bramborové lupínky, jejichž průměrný obsah uvádí Tugba a Sema (2021) 500,00 ± 22,80 ug/kg nebo Ölmez et al. (2008) v rozmezí 59-2336 ug/kg. Pro bramborové lupínky a podobné rizikové potraviny, jako jemné pečivo, či praženou a instantní kávu a náhražky kávy bylo ustanoveno Nařízení Komise (EU) 2017/2158, kterým se stanoví zmírňující opatření a porovnávací hodnoty pro snížení přítomnosti akrylamidu v potravinách.

Tabulka č. 1, Minimální a maximální hodnoty zastoupení akrylamidu v rostlinných alternativách a masných výrobcích před a po tepelné úpravě

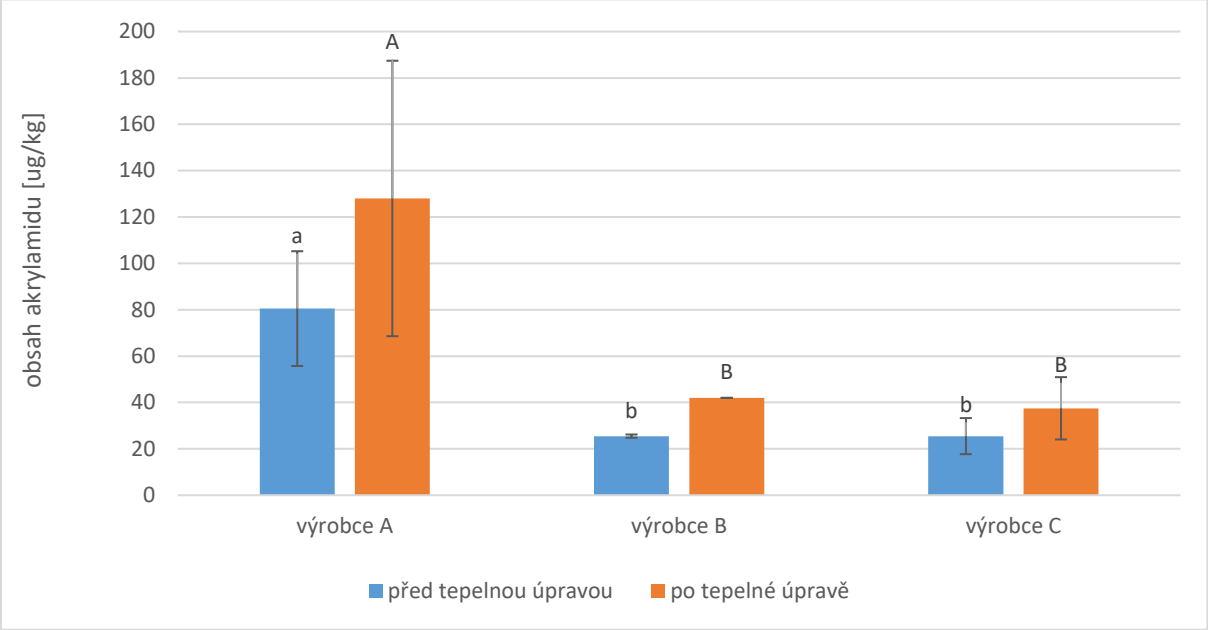
typ vzorku	obal ze strouhanky	tepelná úprava (TÚ)	obsah akrylamidu (ug/kg)	
			minimální hodnota	maximální hodnota
rostlinné alternativy	bez obalu	před TÚ	< 20	< 20
		po TÚ	< 20	32
	s obalem	před TÚ	< 20	98
		po TÚ	28	170
masné výrobky	bez obalu	před TÚ	< 20	< 20
		po TÚ	< 20	30
	s obalem	před TÚ	< 20	33
		po TÚ	< 20	64

Graf č. 1, Průměrné zastoupení akrylamidu v rostlinných alternativách a masných výrobcích s obalem ze strouhanky před a po tepelné úpravě (TÚ)



Pozn.: rozdílná písmena a,b značí statistickou významnost rozdílů na hladině významnosti $p < 0,05$

Graf č. 2, Průměrné zastoupení akrylamidu v rostlinných alternativách s obalem ze strouhanky před a po tepelné úpravě (TÚ) u vzorků od různých výrobců



Pozn.: rozdílná písmena a,b nebo A,B značí statistickou významnost rozdílů na hladině významnosti $p < 0,05$

ZÁVĚR

V této studii bylo zjištěno, že v masných výrobcích i jejich rostlinných alternativách před tepelnou úpravou se akrylamid vyskytuje pouze ve výrobcích, jejichž součástí je obal ze strouhanky a které jsou v rámci výroby předsmaženy. V ostatních typech výrobků rostlinných i masných byl obsah akrylamidu pod mezí detekce použité metody. Co se týče výrobků s obalem ze strouhanky, nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v obsahu akrylamidu ani v míře tvorby akrylamidu vlivem tepelného opracování mezi masnými výrobky a rostlinnými alternativami. Rostlinné analogy s obalem ze strouhanky obsahovaly před tepelnou úpravou akrylamid v množství 44 ± 31 ug/100g, v podobném množství ho obsahují i masné výrobky tohoto typu, a to 23 ± 5 ug/100g. Po tepelném opracování dle návodu na obalu se obsah akrylamidu zvýší ve výrobcích obalených ve strouhance u masných výrobků i rostlinných alternativ přibližně 1,5-2 násobně. Tato studie nezjistila statisticky významné rozdíly v obsahu akrylamidu u masných výrobků určených k tepelné úpravě před konzumací a u jejich rostlinných analogů před ani po tepelné úpravě.

PODĚKOVÁNÍ

Práce byla finančně podpořena projektem Interní tvůrčí agentury VETUNI č. 2024ITA21.

POUŽITÁ LITERATURA

1. McCLEMENTS, D.J., GROSSMANN, L. The science of plant-based foods: Constructing next-generation meat, fish, milk, and egg analogs. *Comprehensive reviews in food science and food safety,* 2021,vol. 20, p. 4049-4100.
2. NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) 2017/2158 ze dne 20. listopadu 2017, kterým se stanoví zmírňující opatření a porovnávací hodnoty pro snížení přítomnosti akrylamidu v potravinách. Úřední věstník Evropské unie, 2017, L 304/24, 21.11.2017, p. 24-44 (ve znění pozdějších předpisů).
3. ÖLMEZ, H., TUNCAY, F., ÖZCAN, N., DEMIREL, S. A survey of acrylamide levels in foods from the Turkish market. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2008, vol. 21, p. 564-568.
4. TUGBA, D., SEMA, A. Acrylamide levels of fast food products. *Fresenius Environmental Bulletin*, 2021, vol. 30, no. 04A, p. 4450-4456.
5. WINDHORST, H.-W. Liegt die Zukunft alternativer Proteine in Asien? *Fleischwirtschaft.* 2021, vol. 101**,** no. 3, p. 46-50.

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

RÔZNE SPÔSOBY SKLADOVANIA ČERVENÉHO VÍNA A ICH VPLYV NA JEHO ANTIOXIDAČNÉ A SENZORICKÉ VLASTNOSTI.

DIFFERENT METHODS OF RED WINE STORAGE AND THEIR EFFECT OF ANTIOXIDANT AND SENSORY PROPERTIES

Bartkovský Martin, Semjon Boris, Novotná Laura

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

ABSTRACT

The aim of our work was monitoring the different storage temperatures and their impact on the antioxidant properties of red wine. For our experiment, we chose wine of the Frankovka modrá variety. The samples were divided into three groups and stored for 12 months at different temperatures. During this storage period, we regularly evaluated the chemical and antioxidant properties of the wines. Higher temperature had the most significant effect on the wine, which after twelve months reached the lowest antioxidant activity (45.72 ± 1.02%), compared to the cellar sample (52.63 ± 0.44%).

Key words: broiler, meat, sensory analyze, storage

ÚVOD

Víno sa v minulosti dostalo do pozornosti ako zdravý nápoj po tom, ako sa na základe epidemiologických dôkazov zistila negatívna väzba medzi striedmou až miernou konzumáciou vína a úmrtnosťou v dôsledku ischemickej choroby srdca. Jeho úloha tkvie v odbúravaní voľných radikálov, zjednodušuje obnovu buniek, spomaľuje rast rakovinových buniek a znižuje hladinu cholesterolu. Ďalšie pozitívne účinky sú: regulácia krvného tlaku, prevencia proti osteoporóze a trombóze, tlmenie hnačky, posilnenie nervovej sústavy a pod. Za posledné roky štúdie ukázali, že polyfenoly z červeného vína, ako napríklad resveratrol, kvercetín, katechín a kyselina galová, sú potenciálnymi chemopreventívnymi látkami proti rakovine. Predovšetkým červené víno je jedným z najmenej škodlivých nápojov s obsahom alkoholu, pretože sa obsahuje nízke množstvo kalórií. Konzumácia červeného vína v primeranom množstve, má podľa klinických štúdií pozitívny vplyv na náš organizmus. Obsahuje totiž látku resveratrol (silný antioxidant), ktorý nájdeme v hroznových šupkách a má význam v prevencii kardiovaskulárnych ochorení a cukrovky (Stanner, 2004). Fľaše musia byť počas skladovania uložené vo vodorovnej polohe, a to kvôli vysychaniu korku a kontaktu vína so vzduchom. Podlaha pivnice by nemala byť betónová ani dláždená. Vhodná je podlaha vysypaná štrkom či

kamienkami. Dôležité je, aby bola pivnica dobre vetrateľná a situovaná na sever (Malík, 1994). V ideálnom prípade by sa červené víno malo skladovať pri teplote okolo 12 °C. Pre vína, ktoré budú skladované dlhšie ako rok, je nutné prísne udržiavať ideálnu teplotu 12 °C. Pre krátkodobé skladovanie stačí udržiavať teplotu vína medzi 8 – 18 °C. Vo všetkých prípadoch je dôležité udržiavať konštantnú teplotu. Striedanie rôznych teplôt môže poškodiť etikety vína, spôsobiť oxidáciu a predčasné starnutie vína (Zhang, 2023).

MATERIÁL A METODIKA

Pre pokus sme zvolili odrodu Frankovka modrá. Táto odroda je v našom vinohradníckom regióne dlhodobo známa a využívaná pre produkciu červených vín. Vzorky sme následne rozdelili do 3 skupín. A simulovali sme rôzne podmienky skladovania. Vzorka č.1 (Teplo) bola skladovaná pri zvýšenej teplote (40°C) s využitím termostatu Memmert model SF 110 (Schwabach-Uigenau, Nemecko). Striedavo sme teplotu znížili a zvýšili (±10 °C), aby sme simulovali skladovanie v nevhodných podmienkach v domácnosti, resp. veľkoskladoch. Vzorka č. 2 (Izba) bola uchovávaná pri štandardnej izbovej teplote po dobu 12 mesiacov. Teplota bola zaznamenávaná každý týždeň. Priemerná teplota bola na úrovni 20,25 ± 3,0 °C. Vzorka č. 3 (Pivnica) bola uchovávaná pri konštantnej pivničnej teplote 13,5 ± 1,0 °C. Počas sledovaného obdobia (12 mesiacov) boli v určitých časových intervaloch (3, 6 a 12 mesiacov) vykonané analýzy. Všetky vzorky boli skladované v horizontálnej polohe, napriek tomu, že nebol použitý korkový uzáver fliaš. Všetky vzorky boli zakúpené v obchodnej sieti. Stanovovali sme celkové polyfenoly, flavonoidy a antioxidačnú aktivitu sledovaných vzoriek.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tabuľke č. 1 popisujeme celkové polyfenoly po rôznych časoch skladovania. Vidíme, že s pribúdajúcim časom skladovania koncentrácia polyfenolov postupne klesá. Najmenšie straty sú pri skladovaní vína v pivnici a naopak tie najvyššie pri skladovaní v teple.

Tabuľka č. 1, Hodnoty celkových polyfenolov v sledovaných vínach

	Celkové polyfenoly (g/l)		
	izba	**pivnica**	**teplo**
1. mesiac	2,013±0,06^{b}	1,965±0,06^{b}	1,797±0,04^{a}
6. mesiac	1,920±0,04^{a}	1,945±0,04^{a}	1,682±0,01^{b}
12. mesiac	1,907±0,05^{a}	1,926±0,02^{a}	1,611±0,02^{b}

^{a,b,c} – štatisticky významný rozdiel (P<0,05) medzi stĺpcami, **Zdroj:** Vlastná tabuľka

Pri meraní celkových flavonoidov (Tabuľka č.2) sme opäť zaznamenali pokles s pribúdajúcim obdobím skladovania. Pri vzorke z izby si môžeme všimnúť značný pokles flavonoidov už po 6. mesiacoch. Pri vzorke z pivnice je pokles najzanedbateľnejší. Pri poslednej vzorke opäť vidíme najvyššie rozdiely v koncentrácií, a to ako po období 6., tak aj 12. mesiacov.

Tabuľka č. 2, Hodnoty celkových flavonoidov v sledovaných vínach

	Flavonoidy (mg/l)		
	izba	**pivnica**	**teplo**
1. mesiac	1,268±0,06[a]	1,319±0,03[b]	1,290±0,03[a]
6. mesiac	1,192±0,05[a]	1,312±0,02[b]	1,198±0,01[a]
12. mesiac	1,196±0,03[a]	1,298±0,01[b]	1,015±0,01[c]

[a,b,c] – štatisticky významný rozdiel (P<0,05) medzi stĺpcami, **Zdroj:** Vlastná tabuľka

Pri sledovaní antioxidačnej aktivity pri skladovaní vína s postupne pribúdajúcim obdobím skladovania môžeme pozorovať straty. Najvyššie zmeny vidíme pri vzorke Teplo. Vzorka Pivnica stráca svoju antioxidačnú aktivitu v najmenšom množstve. Najvyššie straty pozorujeme u každej vzorky po 12. mesiacoch.

Tabuľka č. 3, Hodnoty antioxidačnej aktivity v sledovaných vínach

	Antioxidačná aktivita (%)		
	izba	**pivnica**	**teplo**
1. mesiac	62,85±0,80[a]	61,45±1,50[b]	61,01±1,38[b]
6. mesiac	57,34±0,08[a]	60,42±1,06[b]	55,84±1,22[a]
12. mesiac	49,37±1,71[a]	52,63±0,44[b]	45,72±1,02[c]

[a,b,c] – štatisticky významný rozdiel (P<0,05) medzi stĺpcami, **Zdroj:** Vlastná tabuľka

Munin a Edwards-Lévy (2011) upozornili na nedostatočnú dlhodobú stabilitu polyfenolov pri skladovaní, pretože sú zvyčajne veľmi citlivé na svetlo a teplo, a zapuzdrenie sa zdá byť sľubným prístupom na získanie stability. Ghanim et al. (2011) skúmali účinok resveratrolu pomocou rastlinného extraktu na srdcové a cievne ochorenia. V skupine s príjmom resveratrolu nalačno sa v porovnaní s kontrolnou skupinou nezmenili koncentrácie LDL (lipoproteínov s nízkou hustotou), HDL (lipoproteínov s vysokou hustotou), cholesterolu, triglyceridov a leptínu. Táto štúdia poukázala na dôležitosť presného dávkovania na zabezpečenie definitívneho pozitívneho účinku. Ak sa nepoužila konzistentná účinná dávka, došlo k strate antioxidačnej schopnosti a nešpecifickým reakciám s bielkovinami.

Potravinové doplnky s resveratrolom boli spomenuté v prehľade Rahmana a kol. (2010). Opísalo sa široké spektrum priaznivých účinkov resveratrolu na ľudské zdravie.

Najvýznamnejšími výsledkami bolo zníženie kardiovaskulárnych ochorení (hypertenzia, hypertrofia, ischemická choroba srdca a arterioskleróza) v skupine ľudí s pravidelným miernym príjmom vína. Aj duševné zdravie konzumentov vína bolo lepšie ako duševné zdravie nepijúcich. V posledných rokoch experimentálne štúdie ukázali, že polyfenoly z červeného vína, ako napríklad resveratrol, kvercetín, katechín a kyselina galová, sú potenciálnymi chemopreventívnymi látkami proti rakovine. Červené víno však obsahuje širokú škálu rôznych polyfenolov a ochranné účinky neboli priradené konkrétnej frakcii alebo zlúčenine, takže zatiaľ nie je jasné, ktoré zlúčeniny prítomné v červenom víne sú obdarené ochrannou aktivitou. Preto má význam skúmať chemopreventívne účinky polyfenolov červeného vína na rakovinu ako celkového extraktu alebo frakcií (Shan, 2008).

ZÁVER

Skladovanie vína priamo ovplyvňuje kvalitu, na ktorú sú spotrebitelia v dnešnej dobe výrazne citlivý. Napriek tomu, že výrobcovia vín dávajú spotrebiteľom odporúčania ako skladovať víno, mnoho spotrebiteľov to nedodržiava. Na základe dosiahnutých výsledkov je pre víno najvhodnejšie čo najviac sa priblížiť teplotám odporúčaným od výrobcu. Pivničná teplota sa týmto podmienkam priblížila najviac z nami testovaných teplôt. V domácich podmienkach, kde nie je dostupná pivnica je vhodnejšie skladovanie v miestnosti so stálou teplotou kde nedochádza k zvyšovaniu teploty vína.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Vedeckou grantovou agentúrou Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky a Slovenskej akadémie vied projektom VEGA 1/0156/21 s názvom „Aplikácia viacnásobnej faktorovej analýzy na kvalitatívne a kvantitatívne ukazovatele vyrobeného vína pre dosiahnutie zníženia obsahu biogénnych amínov ”.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. GHANIM, H. et al. A resveratrol and polyphenol preparation suppresses oxidative and inflammatory stress response to a high-fat, high carbohydrate meal. In *J. Clin. End. Metab.*, 2011, vol. 94, no. 5, p. 1409-14.
2. MALÍK, F. Dobré víno. 2. vyd. Bratislava: Polygrafia vedeckej literatúry a časopisov SAV, 1994. 106 s. ISBN: 80-88780-04-7.
3. MUNIN, A., EDWARDS-LÉVI, F. Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds; a Review. Pharmaceutics. 2011, vol. 3, no 4, p. 793-829. ISSN: 24309309.

4. RAHMAN M. et al. Effectiveness of Resveratrol against Cardiovascular Disease. In: Mini-Reviews in Organic Chemistry. ISSN 1570-193X, 2010, vol 7, no 4, p. 256 – 261.
5. SHAN, H. – CUIRONG, S. – YUANJIANG, P. Red Wine Polyphenols for Cancer Prevention. In: Int J Mol Sci. ISSN 1422-0067, 2008, vol. 9, no. 5, p. 842-853.
6. STANNER, S. et al. A review of the epidemiological evidence for the 'antioxidant hypothesis'. Public health nutrition, 2004, 7.3: 407-422. ISSN: 15153272.
7. ZHANG, A. Ideal Red Wine Storage Temperature: A Handy Guide, [online]. [cit. 10-02-2024] Dostupné na internete: <https://www.vinovest.co/blog/Red-wine-storage-temperature#link-2>

Kontaktná adresa: Martin Bartkovský, Mgr., PhD., Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice; E-mail: martin.bartkovsky@uvlf.sk

ROZDÍLY FYZIKÁLNĚ CHEMICKÝCH PARAMETRŮ MEDŮ Z VÍCE ÚLŮ JEDNÉ LOKALITY

DIFFERENCES IN PHYSICO-CHEMICAL PARAMETERS OF HONEYS FROM SEVERAL HIVES OF ONE LOCATION

Bartlová Marie[1], Marcinčáková Dana[2], Marcinčák Slavomír[3], Kružík Vojtěch [4], Čížková Helena[4], Bodor Zsanett [5], Benedek Csilla [5], Tremlová Bohuslava[1], Pospiech Matej[1], Javůrková Zdeňka[1]

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

[2]Katedra farmakológie a toxikológie, 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] Ústav konzervace potravin, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6 – Dejvice

[5] Faculty of Health Sciences, Semmelweis University, Maďarsko, Üllői út 26, Budapest

ABSTRACT

The physicochemical properties and also the colour of the honey vary depending on the location where it was produced. One reason for this may be climatic conditions or the type of honey, but last but not least the composition is also influenced by the different preferences of bee colony in collecting pollen and honeydew. The aim of this work is to compare honey samples in the same locality by means of a test of identity/difference. Specifically, Slovak honeys from the areas of Humenné, Pčoliné, Čukalovce, Bela nad Cirochou and Stakčín were analysed. Differences in physico-chemical parameters as well as in the colour of the honey were found between the samples in the same locality. The highest average compliance value (43 %) was found for the honeys from the Strakčín site. The lowest average agreement (25 %) was found for honeys from the Belá nad Cirochou site.

Key words: beecolony, *Apis melifera*, sustainability, polynation

ÚVOD

Včelí společenství je schopné v krajině zabezpečit plnohodnotné opylení nejen kulturních, ale i původních rostlin. Z pozorování včel se ukazuje, že jednotlivá včelí

společenství (úly) mají různou preferenci sbíraného pylu a nektaru, čímž je zabezpečeno opylování více botanických druhů než jenom těch s vysokou atraktivitou (Khan a Ghramh a kol., 2021).

Fyzikálně-chemické parametry medu jsou ovlivněny různými faktory. Obsah vody souvisí zejména se stupněm vyzrálosti medu, zpracováním medu a v ojedinělých případech také s klimatickými podmínkami (Uran a kol. 2017; Manickavasagam a kol., 2022). Kyselost medu je dána obsahem organických kyselin. Tento parametr se zvyšuje jednak časem, ale také kvašením medu, kdy kvasinky zkvašují cukry za vzniku kyselin. Kyselost ovlivňuje chuť, stabilitu vůči mikroorganismům a také antioxidační aktivitu medu (Cavia a kol., 2007). Vodivost medu je parametr, který obvykle koreluje s podílem medovice v medech. Čím vyšší je vodivost medu, tím je tvořen větším podílem medovice. Existují však i květové medy, které mají vysokou vodivost, jako je například jahodník (*Arbutus unedo*), zvonovec (*Erica*), eukalyptus, lípa (*Tilia* spp.), vřes obecný (*Calluna vulgaris*), meduňka (*leptospermum*) nebo čajovník (*Melaleuca spp.)* (Pita-Calvo & Vázquez, 2017). Z chemických parametrů charakterizují danou lokalitu také sacharidy, protože nektar rostlin má různý obsah glukózy a fruktózy. Lze ale pozorovat také obsah dalších sacharidů, jako jsou například trehalóza, maltóza, rafinóza apod. (Pascual-Maté a kol., 2018). Národní legislativa a evropské předpisy (Vyhláška 76/2003 Sb., Směrnice Rady 2001/110/ES) tento fakt reflektují, a proto jsou pro některé druhové medy stanoveny výjimky, například pro sacharózu u citrusových medů nebo levandulového medu.

Barva medu jako fyzikální parametr nereprezentuje konkrétní látku. Na barvu má vliv obsah fenolických látek, které jsou rozpuštěné v medu. Dále je barva ovlivněna množstvím a barvou pylu a v neposlední řadě také obsahem minerálních látek, množstvím krystalů sacharidů, a obsahem vody. Pro měření barvy se běžně používá stupnice Pfund, i když v poslední době se ukazuje jako lepší měření v barevném spektru CIE Lab (Bodor a kol., 2021; Smetanska a kol., 2021).

Cílem práce bylo zjistit, jestli rozdílné včelí společenství bude mít vliv na fyzikálně-chemické složení medů, které pocházejí z jedné lokality.

MATERIÁL A METODIKA

Analyzováno bylo 20 medů ze Slovenské republiky. Fyzikálně-chemické parametry byly měřeny podle metodického postupu Bogdanov (2009). Konkrétně se analyzoval obsah vody, vodivost, a obsah fruktózy, glukózy, sacharózy, turanózy, maltózy, trehalózy, melibiózy a melezitózy. CIE Lab bylo měřeno podle Bodor a kol. (2021). Medy byly z lokalit Humenné, Pčoliné, Čukalovce, Belá nad Cirochou, Stakčín. Z každé lokality byly analyzovány 4 vzorky

medů, které byly vzájemně srovnány testem shodnosti/rozdílnosti s procentuálním vyjádřením shody, statistickým softwarem Xlstat 2024 (Lumivero, USA).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Rozdílnost medů z různých úlů na jednom stanovišti je mezi včelaři diskutované téma. Nejsou však zatím známé přesné důvody, proč k tomu dochází. Rovněž popis rozdílnosti medu je nejčastěji založen na senzorickém popisu. V této práci jsou fyzikálně-chemické parametry porovnány sumárně testem shodnosti. Pro lokalitu Humenné (H) je vzájemná shodnost uvedena v tabulce 1.

Tabulka č. 1, Shodnost fyzikálně chemických parametrů medu z lokality Humenné.

Společenství	H1	H2	H3	H4
H1	*	0,429	0,357	0,214
H2	0,429	*	0,429	0,357
H3	0,357	0,429	*	0,214
H4	0,214	0,357	0,214	*

* - 1,00 (100 %), H1-H4 včelí stanoviště 1 až 4.

Výsledky ukazují, že ani v jednom případě nebyly medy z jedné lokality totožné, nejblíže byla společenství H1 a H2, kde byla podobnost 43 % a stejná shoda byla u společenství H3 a H2. Vzorek H4 se od ostatních lišil nejvíce a průměrná shoda byla jenom 26 %. Průměrná shoda pro lokalitu Humenné byla 33 %. Tento med byl charakterizován včelařem jako med květový s příměsí akátu. Právě snůška akátu může být důvodem rozdílů mezi jednotlivými společenstvy. Akát je pro včely atraktivní, avšak kvete kratší dobu v závislosti na teplotě (Alilla a kol., 2022). Včelí společenství z této lokality, které bylo v době kvetení akátu v nejvyšším stupni rozvoje (největší zastoupení létavek), bylo schopno zachytit tuto snůšku nejvíce. Slabě rozvinuté společenství je schopné zabezpečit zdroje nektaru, ale s ohledem na menší počet létavek, rozloží snůšku na delší období, a má tedy menší podíl krátkodobě významných zdrojů, v tomto případě akátu.

Další oblastí, ze které byly analyzovány medy, je Pčoliné (P). Medy z této lokality byly označené, jako vícedruhové květové medy tmavé. Hodnoty shodnosti jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka č. 2, Shodnost fyzikálně chemických parametrů medu z lokality Pčoliné.

Společenství	P1	P2	P3	P4
P1	*	0,429	0,429	0,429
P2	0,429	*	0,357	0,429
P3	0,429	0,357	*	0,429
P4	0,429	0,429	0,429	*

* - 1,00 (100 %), P1-P4 včelí stanoviště 1 až 4.

Z výsledků medů z lokality Pčoliné vyplývá, že největší rozdíly byly zaznamenány mezi medy P2 a P3 (36 %). Ostatní vzorky měly totožnou shodu 43 %. Průměrná hodnota shody pro vzorky medu z lokality Pčoliné je 42 %.

Třetí lokalitou, ze které byly medy získány, byly Čukalovce (Č). Medy z této lokality byly označeny, jako vícedruhové květové medy tmavé. Shodnost mezi jednotlivými vzorky je uvedena v tabulce 3.

Tabulka č. 3, Shodnost fyzikálně chemických parametrů medu z lokality Čukalovce.

Společenství	Č1	Č2	Č3	Č4
Č1	*	0,429	0,357	0,429
Č2	0,429	*	0,286	0,286
Č3	0,357	0,286	*	0,357
Č4	0,429	0,286	0,357	*

* - 1,00 (100 %), Č1-Č4 včelí stanoviště 1 až 4.

U medů z lokality Čukalovce je největší shoda mezi Č1 a Č2 (43 %) a také mezi Č1 a Č4 (43 %). Největší rozdíl byl zjištěn mezi Č2 a Č3 (27 %) a také mezi Č2 a Č4 (27 %). Průměrná hodnota shodnosti pro medy z lokality Čukalovce je 36 %

Hodnoty shodnosti medů z lokality Belá nad Cirochou (B) jsou označeny v tabulce 4. Tyto medy byly označeny jako květové medy tmavé.

Tabulka č. 4, Shodnost fyzikálně chemických parametrů medu z lokality Belá nad Cirochou.

Společenství	B1	B2	B3	B4
B1	*	0,286	0,214	0,214
B2	0,286	*	0,286	0,214
B3	0,214	0,286	*	0,286
B4	0,214	0,214	0,286	*

* - 1,00 (100 %), B1-B4 včelí stanoviště 1 až 4.

Z výsledků vyplývá, že mezi medy byly velké rozdíly. Největší rozdíl byl zjištěn u vzorku B1 v porovnání se vzorky B3 a B4 (21 %). Největší shoda byla zjištěna u medů B1 a B2 a také mezi vzorky B2 a B3 (29 %). Průměrná shoda medů získaných z lokality Belá nad Cirochou je 25 %. Složení medů od včelstev ze stejné lokality může být ovlivněno mimo jiné také sílou a vitalitou včelstva a také způsobem sběru (Tomczyk a kol., 2019). Dalším důvodem může být výběr květů včelami. Bylo zjištěno, že včely si mohou vybírat květy na základě barvy, typu květenství, či velikost květů. Tyto parametry často souvisí s množstvím nektaru, které rostlina včelám nabízí (Shrestha a kol., 2020; Giurfa a kol., 1995; Duffield a kol., 1993). Pylová preference může být také geneticky podmíněná (Dag a kol., 2005).

Poslední lokalitou, ze které byly porovnány medy byl Stakčín (S). Tyto medy byly označeny jako květové světlé. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 5.

Tabulka č. 5, Shodnost fyzikálně chemických parametrů medu z lokality Stakčín.

Společenství	S1	S2	S3	S4
S1	*	0,500	0,429	0,429
S2	0,500	*	0,357	0,429
S3	0,429	0,357	*	0,429
S4	0,429	0,429	0,429	*

* - 1,00 (100 %), S1-S4 včelí stanoviště 1 až 4.

Největší shoda byla mezi medy S1 a S2 (50 %), nejvíce se lišily vzorky medů S2 a S3 (36 %). Průměrná hodnota shody je 43 %, což je nejvyšší hodnota z analyzovaných vzorků medů ze všech lokalit. Malé rozdíly v obsahu vody medů vyprodukovaných ve stejné lokalitě potvrzuje také Bijlsma a kol. (2006). Autoři také potvrdili rozdíly v obsahu vody u medů

produkovaných bezžihadlovými včelami (mají vyšší obsah vody) ve srovnání s medy od *Apis mellifera* v rámci stejné lokality.

ZÁVĚR

Výsledky této práce potvrdily, že jednotlivá včelí společenství produkují med o různém fyzikálně chemickém složení, což je ve shodě s tvrzením včelařů. Nejvyšší průměrná shoda byla 43 % u květového světlého medu z lokality Stakčín. Nejnižší průměrná shoda 25 % byla u květového tmavého medu z lokality Belá nad Cirochou. Rozdíly ve shodnosti výsledků by mohly být způsobeny nejen různou preferencí včelího společenství, ale také různým stupněm rozvoje včelstev v průběhu medové snůšky, která je multifaktoriálně ovlivněna řadou faktorů od nemocí až po včelařskou praxi.

PODĚKOVÁNÍ

Projekt byl podpořen vládou České republiky, Maďarska, Polska a Slovenska grantovou agenturou Visegrad Grants z International Visegrad Fund. Název projekty: Sustainable Beekeeping in the Visegrad Group, číslo: 22220064.

POUŽITÁ LITERATURA

1. ALILLA, R., NATALE FD, EPIFANI, C., PARISSE, B., COLA, G. The Flowering of Black Locust (Robinia pseudoacacia L.) in Italy: A Phenology Modeling Approach. *Agronomy*. 2022, vol. 12, no. 7.
2. BIJLSMA L., BRUIJN, LLM., MARTENS, E., SOMMEIJER, MJ. Water content of stingless bee honeys (Apidae, Meliponini): interspecific variation and comparison with honey of Apis mellifera. *Apidologie*. 2006, vol. 37, no. 4, p 480-486.
3. BODOR, Z., BENEDEK, C., URBIN, Á, SZABÓ, D., SIPOS, L. Colour of honey: can we trust the Pfund scale? – An alternative graphical tool covering the whole visible spektra. *Lwt – Food Science and Technology*. 2021, vol. 149.
4. BOGDANOV, S. Harmonised Methods of the International Honey Commision. *Bee Product Science*. 2009, pp. 1-63.

5. CAVIA, MM, FERNÁNDEZ-MUIÑO, M., ALONSO-TORRE, SR, HUIDOBRO, JF, SANCHO, MT. Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. *Analytical, Nutritional and Clinical Methods*. 2007, vol. 100, no. 4, p. 1728-1733.
6. DAG, A., STERN, RA, SHAFIR, S. Honey bee (Apis mellifera) strains differ in apple (Malus domestica) pollen foraging preference. *Journal of Apicultural Research*. 2005, vol. 44, no. 1, p. 15-20.
7. DUFFIELD, GE, GIBSON, RC, GILHOOLY, PM, HESSE, AJ, INKLEY, CR, GILBERT, FS, BARNARD, CJ. Choice of flowers by foraging honey bees (Apis me//ifera):possible morphological cues. *Ecological Entomology*. 1993, vol. 18, p. 191-197.
8. GIURFA, M., NÚÑEZ, J., CHITTKA, L., MENZEL, R. Colour preferences of flower-naive honeybees. *Journal of Comparative Physiology A*. 1995, vol. 177, no. 3.
9. KHAN, KA., GHRAMH, HA. Pollen source preferences and pollination efficacy of honey bee, Apis mellifera (Apidae: Hymenoptera) on Brassica napus crop. *Journal of King Saud University-Science*. 2021, vol. 33.
10. MANICKAVASAGAM, G., SAAID, M., OSMAN, R. The Trend in Established Analytical Techniques in the Investigation of Physicochemical Properties and Various Constituents of Honey: a Review. *Food Analytical Methods*. 2022, vol. 15, p. 3116-3152.
11. PASCUAL-MATÉ, A, OSÉS, SM, MARCAZZAN, GL, GARDINI, S, MUIÑO, MAF, SANCHO, MT. Sugar composition and sugar-related parameters of honeys from the northern Iberian Plateau. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2018, vol. 74, p. 34-43.
12. PITA-CALVO, C, VÁSQUEZ, M. Differences between honeydew and blossom honeys: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 2017, vol. 59, p. 79-87.
13. SMETANSKA, I., ALHARTHI, SS, SELIM, KA. Physicochemical, antioxidant capacity and color analysis of six honeys from different origin. *Journal of King Saud University-Science*. 2021, vol. 33, no. 5.
14. TOMCZYK, M., TARAPATSKYY, M, MALGORZATA D. The influence of geographical origin on honey composition studied by Polish and Slovak honeys. *Czech Journal of Food Science*. 2019, vol. 37, no. 4, p. 232-238.
15. SHRESTHA M, GARCIA JE, BURD M, DYER AG. Australian native flower colours: Does nectar reward drive bee pollinator flower preferences? *PLoS ONE*. 2020, vol. 15, no. 6.

16. URAN, H., AKSU, F., DÜLGER ALTINER, D. A research on the chemical and microbiological qualities of honeys sold in Istanbul. *Food Science and Technology*. 2017, vol. 37, p. 30-33.

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

MONITOROVANIE VYBRANÝCH KVALITATÍVNYCH PARAMETROV TRVANLIVÝCH POTRAVINOVÝCH PRODUKTOV

MONITORING OF SELECTED QUALITY PARAMETERS OF DURABLE FOOD PRODUCTS

Benešová Lucia[1], Jakabová Silvia[2], Zajác Peter[2], Čapla Jozef[2], Čurlej Jozef[2], Šimková Diana[2], Ailer Štefan[3], Golian Jozef[2]

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

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

[3]Ústav Záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika

ABSTRACT

This study focuses on the evaluation of selected characteristics of durable uncooked meat products. A key aspect of the analysis was the texture, which is essential for the final quality of the products. We used texturometric methods (TA.XT Plus), specifically the Warner Bratzler Blade kit, to measure the hardness and strength of the selected samples. In the study, two types of salami from four different producers were examined: Nitran salami and Malokarpatská salami. Nitran salami sample D1 (7.70 N.mm.sec^{-1}) achieved the highest toughness values, while sample B1 (3.12 N.mm.sec^{-1}) had the lowest values. In the case of firmness, sample D1 had the highest value (0.89 N.mm^{-1}), and sample B1 (0.34 N.mm^{-1}) had the lowest value. In Malokarpatská salami, the highest toughness value was for sample C2 (3.70 N.mm.sec^{-1}) and the lowest value was for sample A2 (2.34 N.mm.sec^{-1}), while sample C2 also had the highest firmness (0.42 N.mm^{-1}). The results showed significant differences in hardness and strength between individual samples, while statistical analysis pointed to significant differences between them, which was confirmed by the Kruskal-Wallis test. These findings contribute to a better understanding of the influence of various factors on the textural properties of meat products and are important for further research and development activities in the field of food technology.

Key words: meat products, texture analysis, Warner Bratzler Blade, quality, salami

ÚVOD

Kvalita trvanlivých tepelne neopracovaných masových výrobkov, ako sú sušené salámy a iné druhy surových údenín, je podmienená mnohými faktormi od suroviny až po finálny

produkt. Výber surovín je prvým a základným krokom k zabezpečeniu kvality. Mäso určené na výrobu musí pochádzať od zvierat chovaných v optimálnych podmienkach, aby bolo zabezpečené správne zrenie a kvalita mäsa (Lawrie and Ledward, 2006). Prísady ako korenie a prírodné konzervačné látky prispievajú k vytvoreniu jedinečného profilu výrobku, a musia preto vyhovovať najvyšším štandardom kvality (Toldrá, 2004).

Technologický proces, ktorý zahŕňa mletie, miešanie, nakladanie a zrenie, musí byť dôsledne monitorovaný a regulovaný. Správne nastavené podmienky zrenia ako sú teplota, vlhkosť a vzduchové podmienky sú kritické pre dosiahnutie požadovaných organoleptických vlastností výrobku (Casaburi et al., 2015). Mikrobiálna kvalita a kontrola sú rovnako dôležité; fermentáciu katalizovanú špecifickými baktériami je potrebné riadne riadiť, aby boli dosiahnuté požadované senzorické vlastnosti a aby sa zároveň zabránilo rastu patogénnych mikroorganizmov (Cocolin et al., 2001).

Stresové faktory v procese od chovu až po zabíjanie zvierat majú značný dopad na kvalitu mäsa. Zmeny v metabolických procesoch zvieraťa spôsobené stresom môžu negatívne ovplyvniť textúru, farbu a vôňu mäsa, a tým aj finálny výrobok (Díaz et al., 2014). Mäso od zvierat vystavených vysokej úrovni stresu často vedie k zrýchleniu poklesu pH po usmrtení, čo negatívne ovplyvňuje vlastnosti mäsa (Warriss, 2000).

Pri výrobe fermentovaných klobás sa zvyčajne volí bravčové chudé mäso a tuk kvôli ich výrazným textúrnym a chuťovým kvalitám (Ruiz and Pérez-Palacios, 2014). Clinquart et al. (2022), citujúc Flores et al. (2008), poukazujú na významnú rolu hodnoty pH v procese udržiavania technologickej kvality klobás. pH má podstatný dopad na uchovávanie vody v mäse, jeho trvanlivosť a spracovateľnosť a výrazne ovplyvňuje aj senzorické atribúty ako sú farba, krehkosť a chuť. Zníženie pH z pôvodných 7 na približne 5,5, ktoré nastáva po usmrcení zvieraťa v dôsledku glykolýzy, predpokladá normálne množstvo glykogénu v svaloch v momente smrti. Nedostatočné zásoby glykogénu môžu viesť k tzv. DFD (tmavé, pevné, suché) mäsu. Príčinou výskytu DFD mäsa môže byť vysoká teplota počas prepravy a dlhé čakanie v odpočívadlách pred zabíjaním.

MATERIÁL A METODIKA

Na analýzu boli použité 2 druhy salám: Nitran saláma a Malokarpatská saláma od 4 rôznych výrobcov. Meranie texturálnych vlastností trvanlivých tepelne neopracovaných mäsových výrobkov boli vykonané pomocou prístroja TA.XT Plus Texture Analyser (Stable Micro Systems). Na analýzu boli použitá sonda Warner Bratzler Blade „V“ (HDP/WBV) a nastavenie texturometra je uvedené v tabuľke 1. Salámy boli nakrájané na hranolčeky s rozmerom 1,4x1,4 cm. Každá vzorka bola meraná 15x. Namerané hodnoty sme následne

vyhodnotili pomocou programu XLSTAT (Addinsoft, Francúzsko). Vypočítali sme aritmetický priemer, smerodajnú odchýlku a pomocou štatistického testu Kruskal-Wallis sme zistili, či je medzi vzorkami štatisticky preukazný rozdiel na úrovni p = 0,001.

Tabuľka č. 1, Nastavenie testovacieho režimu texturometra

Testovací režim	Kompresia
Rýchlosť pohybu sondy pred testom	1,50 mm.s^{-1}
Rýchlosť pohybu sondy počas testovania	1,50 mm.s^{-1}
Rýchlosť pohybu sondy po skončení testovania	10,00 mm.s^{-1}
Cieľový režim	Vzdialenosť
Hĺbka preniknutia sondy do výrobku	25,00 mm
Typ spúšťača	Automaticky (sila)
Sila spúšťania	40,00 g
Nulovací režim	Automaticky (sila)
Režim prerušenia	Vypnutý
Zastaviť meranie	V štartovacej pozícii
Rozšírené funkcie	Zapnuté

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tabuľke 2 uvádzame základné variačno-štatistické ukazovatele pre namerané hodnoty tvrdosti a pevnosti Nitran salámy a Malokarpatskej salámy, ktoré boli analyzované od štyroch rôznych výrobcov. V tabuľke uvádzame priemerné namerané hodnoty a smerodajnú odchýlku. V parametri tvrdosť mala vzorka D1 najvyššiu priemernú hodnotu 7,70 N.mm.sec^{-1}. Naopak najnižšiu hodnotu mala vzorka B1, ktorá mala priemernú tvrdosť 3,12 N.mm.sec^{-1}. Pri texturometrickej analýze pevnosti sme merali Nitran salámu, ktorej vzorky boli odlišné v značke. Najpevnejšia bola vzorka D1 s priemernou pevnosťou 0,89 N.mm^{-1}. Najmenej pevná saláma bola vzorka B1 (0,34 N.mm^{-1}). Najtvrdšia Malokarpatská saláma, ktorú sme analyzovali bola vzorka C2 s priemernou hodnotou 3,70 N.mm.sec^{-1} a naopak najmenej tvrdá bola vzorka A2 (2,35 N.mm.sec^{-1}). Najmenšia priemerná pevnosť bola analyzovaná pri vzorke A2 (0,25 N.mm^{-1}). Najpevnejšia vzorka bola v tomto meraní C2 s priemernou hodnotou pevnosti 0,42 N.mm^{-1}.

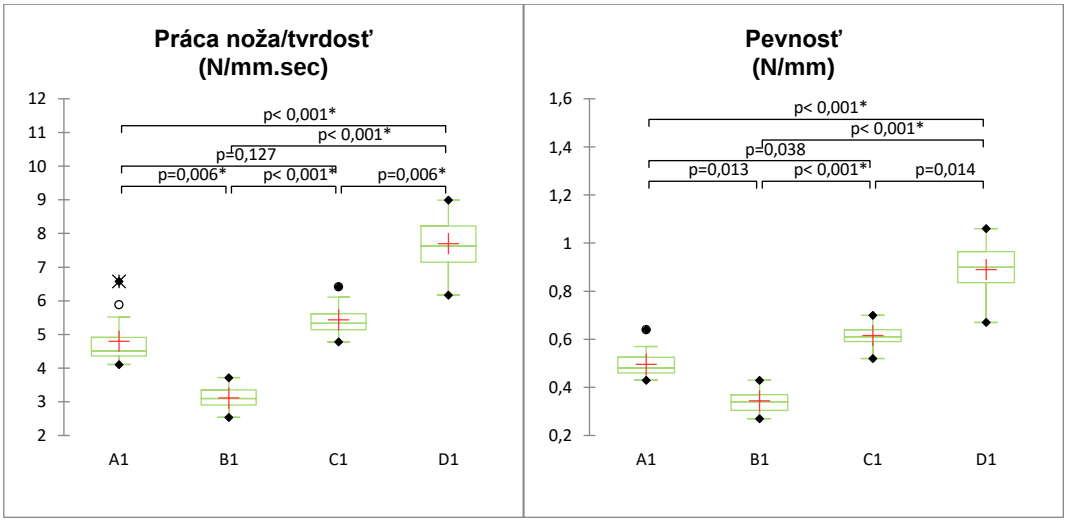
Tabuľka č. 2, Výsledky texturálnych vlastností pre jednotlivé vzorky salám

Nitran saláma	Práca noža/tvrdosť	Pevnosť	Malokarpatská saláma	Práca noža/tvrdosť	Pevnosť
Vzorka	(N.mm.sec^{-1})	(N.mm^{-1})	Vzorka	(N.mm.sec^{-1})	(N.mm^{-1})
A1	4,80 ± 0,69	0,50 ± 0,06	A2	2,34 ± 0,25	0,25 ± 0,03
B1	3,12 ± 0,35	0,34 ± 0,05	B2	2,52 ± 0,23	0,28 ± 0,03
C1	5,44 ± 0,46	0,62 ± 0,05	C2	3,70 ± 0,45	0,42 ± 0,04
D1	7,70 ± 0,78	0,89 ± 0,12	D2	3,14 ± 0,47	0,33 ± 0,06

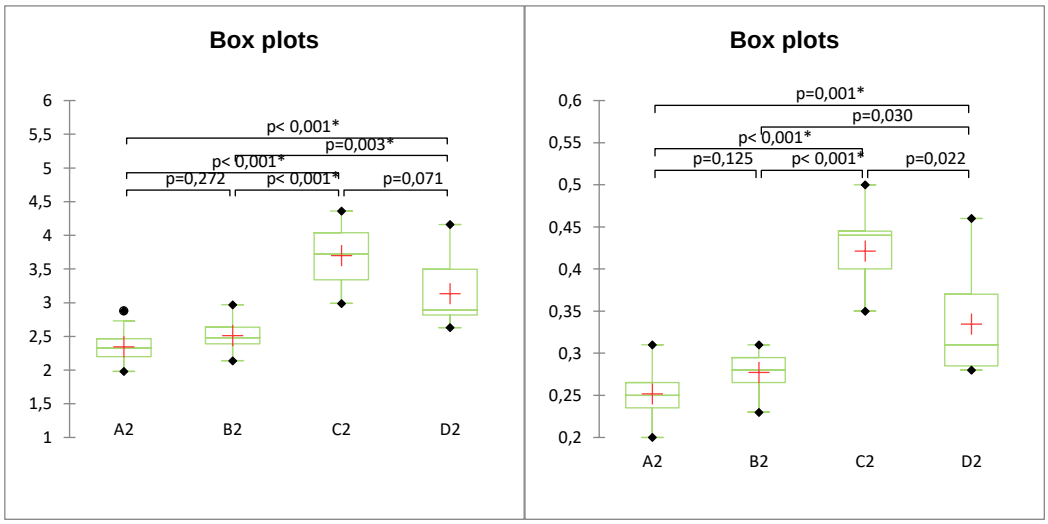
Poznámka: V tabuľke sú uvedené hodnoty pre texturálne parametre ako priemer ± smerodajná odchýlka

Na základe štatistického vyhodnotenia pomnocou Kruskal-Wallis testu boli zistené medzi vzorkami štatisticky preukazné rozdiely na s hodnotu $p < 0,001$ (obrázok 1 a obrázok 2). V prípade Nitran salámy boli zistené rovnaké preukazné rozdiely medzi vzorkami u oboch parametrov. Preukazné rozdiely boli medzi vzorkami A1 a D1, B1 a D1, a B1 a C1. V prípade vzoriek Malokarpatskej salámy Boli preukazné rozdiely s hodnotu $p < 0,001$ medzi vzorkami A2 a D2, A2 a C2, B2 a C2, pričom tieto zistenia opäť platili pre oba texturálne parametre.

Obrázok č. 1, Štatistické vyhodnotenie texturálnych parametrov pre Nitran salámy



Obrázok č. 2, Štatistické vyhodnotenie texturálnych parametrov pre Malokarpatské salámy



Tvrdosť salám bola nepochybne ovplyvnená časom skladovania a následnou stratou vlhkosti. Keďže obsah tuku v oboch druhoch salám bol podobný, považoval sa za významný faktor. Obsah tuku alebo jeho náhrady, napríklad inulínu, môže ovplyvniť textúrne parametre výrobku (Zhu et al., 2020). Pevnosť salámy súvisí s dobou jej zrenia, pričom tvrdosť kúskov

salámy je vyššia, ak má saláma nižší obsah vlhkosti a vyššiu hmotnosť mäsa. Bolo zistené, že salámy začínajú tvrdnúť už po 30 dňoch skladovania pri teplote 10 °C, zatiaľ čo strata šťavnatosti bola pozorovaná po 60 dňoch, podľa textúrnych meraní (Bañón et al., 2014). Alamprese et al. (2016) analyzovali salámy s rôznym obsahom vody a zistili, že tvrdosť výrobkov sa zvyšovala s klesajúcim obsahom tejto zložky. Pri nízkom obsahu vody zostávali hodnoty elasticity prakticky konštantné. Autori Lin a Huang (2008) sa venovali textúrnym vlastnostiam mäsových výrobkov. Z každej čínskej salámy odrezali štyri 1 cm diely a dvakrát ich stlačili pomocou analyzátora textúry (model TA-XT2, Stable Micro Systems, Surrey, Anglicko). Na stanovenie parametrov ako sú pružnosť, tvrdosť, súdržnosť a žuvacia schopnosť, použili 25 kg snímač zaťaženia a adaptér P/25A s rýchlosťou testu 2 mm/s a 60 % kompresnou deformáciou. Z každej vzorky náhodne vybrali tri kusy salámy a spracovali ich podľa postupu.

ZÁVER

V našej štúdii sme sa zamerali na meranie tvrdosti a pevnosti rôznych vzoriek salám. Štatistická analýza pomocou Kruskal-Wallis testu ukázala významné rozdiely medzi jednotlivými vzorkami oboch druhov salám. Konkrétne, v rámci Nitran salámy sa najtvrdšou vzorkou ukázala vzorka D1 s hodnotou tvrdosti 7,70 $N.mm.sec^{-1}$, zatiaľ čo najmäkšia bola vzorka B1 s tvrdosťou 3,12 $N.mm.sec^{-1}$. Podobne, vzorka D1 sa vyznačovala aj najvyššou pevnosťou 0,89 $N.mm^{-1}$, kdežto vzorka B1 mala pevnosť iba 0,34 $N.mm^{-1}$. Pri Malokarpatskej saláme bola najtvrdšia vzorka C2 s tvrdosťou 3,70 $N.mm.sec^{-1}$ a najmäkšia vzorka A2 s 2,34 $N.mm.sec^{-1}$. Pevnosť tejto salámy bola najvyššia u vzorky C2 s hodnotou 0,42 $N.mm^{-1}$, pričom ostatné vzorky sa pohybovali od 0,33 N/mm po 0,25 $N.mm^{-1}$. Výsledky naznačujú, že vzorka D1 z Nitran salámy a vzorka C2 z Malokarpatskej salámy preukázali najvyššiu tvrdosť a pevnosť vo svojich kategóriách, čo poukazuje na ich výnimočné texturné charakteristiky v rámci skúmaných vzoriek. Tieto zistenia prispievajú k lepšiemu porozumeniu vplyvu rôznych faktorov na textúrne vlastnosti mäsových výrobkov a sú dôležité pre ďalšie výskumné a vývojové aktivity v oblasti potravinárskej technológie.

POĎAKOVANIE

Analýzy a príspevok vznikli s finančnou podporou projektu Agentúry pre podporu výskumu a vývoja – projekt č. APVV-22-0402, projektu VEGA č. 1/0239/21. Práce boli realizované s podporou projektu „Podpora výskumných aktivít vo VC ABT“ č. 313011T465.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Alamprese, C. – Fongaro, L. – Casiraghi, E. Effect of fresh pork meat conditioning on quality characteristics of salami. In *Meat Science*. ISSN 0309-1740, vol. 119, p. 193-198.
2. Bañón, S. – Serrano, R. – Bedia, M. Factors limiting the shelf-life of salami pieces kept in retailing conditions. In *Italian Journal of Food Science*. ISSN 1120-1170, 2014, vol. 26, no. 3, p. 289-299.
3. Casaburi, A. – Di Monaco, R. – Cavella, S. – Toldrá, F. – Ercolini, D. – Villani, F. Technological activities of Staphylococcus carnosus isolated from Italian sausages. In *Meat Science.* ISSN 0309-1740, 2015, vol. 100, p. 2-10.
4. Clinquart, A. – Ellies-Oury, M. P. – Hocquette, J. F. – Guilier, L. – Santé-Lhoutellier, V. – Prache, S. Review: On-farm and processing factors affecting bovine carcass and meat quality. In *Animal*. ISSN 1751-732X, 2022, vol. 16, p. 100426.
5. Cocolin, L. – Manzano, M. – Cantoni, C. – Comi, G. Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of the 16S rRNA gene V1 region to monitor dynamic changes in the bacterial population during fermentation of Italian sausages. In *Applied and Environmental Microbiology*. ISSN 0099-2240, 2001, vol. 67, no. 11, pp. 5113-5121.
6. Díaz, I. – García-Cachán, M. D. – García-López, M. L. – Blanco-López, M. A. – García-Fernández, M. C. Meat quality and characteristics of consumer demand. In *Food Control*. ISSN 0956-7135, 2014, vol. 43, pp. 19-25.
7. Flores, A. – Linares, C. – Saavedra, F. – Serrano, A. B. – Lopez, E. S. Evaluation of changes in management practices on frequency of DFD meat in cattle. In *Journal of Animal and Veterinary Advances*. ISSN 1993-601X, 2008, vol. 7, p. 319-321.
8. Lawrie, R. A. – Ledward, D. A. *Lawrie's meat science*. 7th ed. United Kingdom : Woodhead Publishing, 2006. 442 p. ISBN 978-1-84569-159-2.
9. Lin, K.-W. – Huang, C.-Y. Physicochemical and textural properties of ultrasound-degraded konjac flour and their influences on the quality of low-fat Chinese-style sausage. In *Meat Science*. ISSN 0309-1740, vol. 79, no. 4, p. 615-622.
10. Ruiz, J. – Pérez-Palacios, T. Ingredients. Ed. Toldrá, F. – Hui, Y. H. – Astiasarán, I. – Sebranek, J. G. – Talon, R. In *Handbook of Fermented Meat and Poultry*. New York, USA : John Wiley & Sons, Ltd, 2014. ISBN 978-1-11852-265-3, p. 59-76.
11. Toldrá, F. *Dry-cured meat products*. United States : Food & Nutrition Press, Inc., 2004. 244 p. ISBN 978-0-47038-511-1.
12. Warriss, P. D. *Meat Science: An Introductory Text*. Oxford, U.S. : Oxford University Press, 2000. 310 p. ISBN 978-0-85199-424-6.

13. ZHU, Y. – Guo, L. – Tang, W. – Yang, Q. Beneficial effects of Jerusalem artichoke powder and olive oil as animal fat replacers and natural healthy compound sources in Harbin dry sausages. In *Poultry Science*. ISSN 1525-3171, 2020, vol. 99, no. 12, p. 7147-7158.

Kontaktná adresa: Benešová Lucia, AgroBioTech Research Centre, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic; E-mail: lucia.benesova@uniag.sk

RIADENIE SANITAČNÝCH POSTUPOV PRE ZABEZPEČENIE KVALITY VÍNA A PRODUKTOV Z HROZNA

MANAGEMENT OF SANITATION PROCEDURES TO ENSURE THE QUALITY OF WINE AND GRAPE PRODUCTS

Benešová Lucia[1], Ilková Laura[2], Janás Martin[2], Ailer Štefan[2]

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

[2]Ústav Záhradníctva, Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika

ABSTRACT

This research outlines the critical role of Clean-In-Place (C.I.P.) systems in the wine production process, emphasizing the necessity of maintaining high sanitation standards to ensure the quality and safety of wine and grape products. The study investigates the impact of microbial contaminants on the organoleptic properties of wine, underlining the effectiveness of C.I.P. systems in preventing quality degradation by ensuring thorough cleaning and sterilization without dismantling equipment. The automated C.I.P. system's ability to precisely control the cleaning agents' temperature and concentration, along with its efficiency in reducing water and chemical usage compared to manual cleaning, highlights its economic and environmental benefits. Additionally, the paper discusses the challenges associated with the initial costs and maintenance of C.I.P. systems and proposes future directions for enhancing environmental sustainability in industrial cleaning.

Key words: sanitation, wine, grape products, C.I.P.

ÚVOD

Potravinársky priemysel si vyžaduje precíznu starostlivosť a dôslednosť vo všetkých fázach výrobného procesu. Jedným z kľúčových aspektov, ktorý ovplyvňuje kvalitu vín, je správne čistenie a dezinfekcia výrobných zariadení a nádob. Táto problematika je známa pod skratkou C.I.P. (Clean-In-Place) a predstavuje efektívny systém čistenia, ktorý umožňuje udržať hygienu a sterilnosť vinárskych zariadení a priestorov. V procese výroby vína môže mať mikrobiálny kontaminant významný vplyv na organoleptické vlastnosti a trvanlivosť výsledného produktu. Preto je dôkladná implementácia C.I.P. neoddeliteľnou súčasťou výrobného procesu.

C.I.P. je automatizovaný systém čistenia, ktorý umožňuje očistiť a dezinfikovať výrobné zariadenia a nádoby, bez nutnosti demontáže alebo manuálneho čistenia. Tento postup zabezpečuje dôkladné odstránenie nečistôt, mikroorganizmov a iných zvyškov, čím sa udržuje vysoká hygienická úroveň a zabezpečuje kvalita výsledného produktu (Seiberling, 2007). Princípom C.I.P. systému je odstránenie priľnutých nečistôt pomocou chemických čistiacich prípravkov a fyzikálneho účinku prúdiaceho alebo striekajúceho čistiaceho média. Automatický C.I.P. systém aplikuje teplotu a koncentráciu čistiaceho prípravku, presne tak, ako ho nastaví obsluha. Aby bolo čistenie účinné, musí sa zabezpečiť účelná cirkulácia čistiaceho prípravku nevyhnutnú dobu (Kunová and Lopašovský, 2015). C.I.P. sa stal kľúčovým prvkom v potravinárskom a farmaceutickom priemysle, kde je dôležité udržiavať vysokú úroveň hygieny a zabezpečiť kvalitu produktov.

VÝHODY C.I.P.

- Zvýšenie efektivity a produktivity: C.I.P. proces umožňuje čistenie v mieste, bez nutnosti demontáže zariadení. To výrazne znižuje čas strávený na sanitáciu a zvyšuje efektivitu výroby.
- Zlepšenie hygienických štandardov: Automatizované C.I.P. systémy zabezpečujú dôkladné odstránenie nečistôt a mikroorganizmov, čím sa udržiava vysoká hygienická úroveň výrobného prostredia.
- Úspora vody a chemikálií: C.I.P. umožňuje presné dávkovanie čistiacich a dezinfekčných látok, čo znižuje spotrebu vody a chemikálií v porovnaní s manuálnym čistením.

NEVÝHODY C.I.P.

- Počiatočné náklady na vybavenie: Implementácia C.I.P. vyžaduje investíciu do automatizovaných systémov a vybavenia, čo môže byť pomerne nákladné.
- Náročnosť nastavenia a údržby: Správne nastavenie C.I.P. systému a jeho údržba vyžaduje odborné znalosti a zaškolenie personálu.
- Obmedzenie v prípade zvláštnych prípadov čistenia: V niektorých prípadoch môže byť manuálne čistenie stále potrebné na odstránenie špecifických nečistôt alebo kontaminantov (Reinhardt, 2011).

VÝZNAM C.I.P PRI VÝROBE VÍNA

Mikrobiálna kontaminácia výrobkov z hrozna a vína spravidla neohrozuje bezpečnosť zdravia spotrebiteľa, senzoricky (vizuálne a v chuťovom vnímaní) však znehodnotí produkt.

C.I.P. zabezpečuje čistotu a sterilitu výrobných zariadení a nádob v priebehu výrobného. Jeho dôležitosť spočíva v niekoľkých kritických aspektoch:

- Ochrana kvality vína: Dôkladné čistenie a dezinfekcia zariadení a nádob je nevyhnutná pre zachovanie vysokých organoleptických a chuťových vlastností vína. Kontaminácia mikroorganizmami alebo nečistotami by mohla viesť k degradácii kvality.
- Prevencia nadmerného vzniku sírovodíka: Nečistoty alebo zvyšky muštu, kvasiniek a iných látok môžu spôsobiť vznik nežiaducich aróm, ktoré by mohli ovplyvniť charakter vína.
- Predchádzanie zákalov vín: Správne vykonaný C.I.P. proces znižuje riziko kontaminácie mikroorganizmami, ktoré by mohli nezvratne ovplyvniť kvalitu a chuť vína.
- Zlepšenie trvanlivosti vín: Čistenie a dezinfekcia umožňuje predĺžiť archivačný potenciál vína a zabezpečiť, že si dlhšie zachová svoje organoleptické vlastnosti (Fugelsang, 2010).

PROCES C.I.P. VO VINÁRSTVE

1. Príprava a identifikácia komponentov – identifikácia všetkých komponentov a častí výrobného procesu, ktoré budú podliehať čisteniu a dezinfekcii.
2. Pred-čistenie – manuálne odstránenie hrubých nečistôt a zvyškov z povrchu komponentov. To môže zahŕňať ručné opláchnutie tlakovou vodou, alebo mechanické odstránenie väčších nečistôt.
3. Prvý cyklus čistenia – zavádza sa špecifický čistiaci roztok do výrobných zariadení a nádob. Tento roztok prechádza cez všetky potrebné komponenty, odstraňuje povrchové nečistoty a zvyšky.
4. Opláchnutie a odstránenie čistiaceho prostriedku – po prvom cykle čistenia sa použitý čistiaci roztok odstráni a zariadenia sa dôkladne opláchnu, aby sa odstránili všetky čistiace látky.
5. Dezinfekcia – nasleduje aplikačný cyklus dezinfekčného prostriedku. Dezinfekčný roztok (detergent) prechádza cez zariadenia a nádoby, odstraňuje mikroorganizmy a zabezpečuje sterilitu.
6. Opláchnutie a odstránenie dezinfekčného prostriedku – po dokončení dezinfekcie sa použitý dezinfekčný roztok odstráni (napr. peroxidmi) a zariadenia sa dôkladne opláchnu, aby sa odstránili zvyšky dezinfekčného prostriedku.
7. Kontrola čistoty a sterility – vykoná sa kontrola, či boli všetky kroky úspešne dokončené a či sú zariadenia čisté a sterilné (Ribéreau-Gayon et al., 2006).

Čistiace a dezinfekčné prostriedky pre výrobu muštov a vína:

- Alkalické čistiace prostriedky: Obsahujú hydroxidy a sú účinné pri odstraňovaní organických nečistôt, tukov a bielkovín. Príkladom môže byť čistič na báze hydroxidu sodného alebo draslíka.
- Kyslíkové čistiace prostriedky: Obsahujú peroxid vodíka alebo iné kyslíkové zlúčeniny. Sú účinné pri odstraňovaní organických nečistôt a zvyškov detergentov.
- Enzýmové čistiace prostriedky: Obsahujú enzýmy, ktoré rozkladajú organické zvyšky ako bielkoviny a tuky. Sú užitočné pri čistení fermentačných nádob.
- Disiričitan didraselný ($K_2S_2O_5$): Je síranovou soľou a má dezinfekčné vlastnosti, často používaný vo vinárstve na dezinfekciu nádob a zariadení.
- Kyselina citrónová: Má dezinfekčné účinky a je bezpečná pre životné prostredie. Môže byť použitá na dezinfekciu nádob a zariadení.
- Oxid siričitý (SO_2): Používa sa na dezinfekciu sudov a nádob vo vinárstve. Je účinný proti mikroorganizmom a plesniam.

Správny výber a použitie čistiacich prostriedkov a dezinfekčných látok je dôležitý pre zachovanie kvality vína a zabezpečenie bezpečnosti spotrebiteľov. Je dôležité dodržiavať výrobcom odporúčané dávkovanie a postupy použitia týchto látok. Pred použitím akýchkoľvek chemikálií je dôležité zabezpečiť správne vetranie a dodržiavať bezpečnostné pokyny výrobcu (Ribéreau-Gayon et al., 2006; Grainger, 2005).

KONTROLA ÚČINNOSTI C.I.P.

Kontrola účinnosti C.I.P. vo vinárstve je kritickým krokom. Na správnu implementáciu tejto kontroly sa často používajú:

- Mikrobiologické testy: Odoberajú sa vzorky z povrchu zariadení a nádob po dokončení cyklu C.I.P. a následne sa analyzujú mikrobiologické údaje. Tieto testy pomáhajú potvrdiť, či bol proces účinný pri odstraňovaní mikroorganizmov.
- Meranie teploty a času: Je dôležité monitorovať a zaznamenávať teploty a časy v rôznych fázach C.I.P. cyklu. Správne nastavenie a udržiavanie týchto parametrov sú nevyhnutné pre účinnosť procesu.
- Vizuálna kontrola: Počas a po C.I.P. procese sa vykonáva dôkladná vizuálna kontrola. Sleduje sa čistota povrchu, odstraňovanie zvyškov čistiacich látok a prítomnosť akýchkoľvek nečistôt.

- Meranie koncentrácie čistiacich látok: Kontrola koncentrácie čistiacich a dezinfekčných látok je nevyhnutná pre zabezpečenie ich optimálneho pôsobenia. Môžu sa použiť testovacie prúžky alebo analytické prístroje na meranie koncentrácie látok v roztokoch.
- Záznamy a dokumentácia: Dôležitou súčasťou kontroly je vedenie presných záznamov o každom C.I.P. cykle. To zahŕňa údaje o použitých chemikáliách, dávkovaní, teplotách a všetkých nezvyčajných situáciách (Máčaj, 2019).

BEZPEČNOSTNÉ ASPEKTY A UDRŽATEĽNOSŤ PRI VYUŽÍVANÍ C.I.P.

- Ochrana obslužného personálu: zabezpečenie školení personálu v oblasti bezpečnosti pri práci s čistiacimi a dezinfekčnými látkami. Poskytnutie vhodných osobných ochranných prostriedkov (OOP) ako rukavice, ochranné okuliare a ochranné oblečenie.
- Ventilácia a manipulácia s chemikáliami: zabezpečenie dostatočnej ventilácie pracovného prostredia pre minimalizáciu vplyvu výparov čistiacich látok. Manipulácia s chemikáliami v súlade s bezpečnostnými pokynmi a predpismi.
- Identifikácia nebezpečných látok: jasná identifikácia a označovanie nebezpečných chemikálií používaných pri C.I.P. procese je kľúčová pre prevenciu neočakávaných udalostí.
- Riziko poranenia a popálenia: v prípade použitia horúcich roztokov môže existovať riziko poranenia a popálenia. Zamestnanci by mali byť náležite zaškolení, vybavení a informovaní o možných rizikách (Krivosudský, 2013).

Environmentálne dopady čistiacich a dezinfekčných látok

- Rezíduá v odpadových vodách: používané čistiace a dezinfekčné látky môžu vstupovať do odpadových vôd, čo môže ovplyvniť kvalitu vodných zdrojov a ekosystémov. Osvedčené postupy likvidácie odpadov a monitorovanie výtokov sú nevyhnutné pre minimalizáciu týchto dopadov.
- Rezíduá účinných látok v pôde: neodstránené zvyšky čistiacich látok môžu zasiahnuť pôdu, čo môže mať dôsledky pre rastliny a mikroorganizmy v pôdnom ekosystéme. Dôsledná hygienická likvidácia a správna likvidácia odpadu sú kľúčové pre minimalizáciu týchto dopadov.
- Emisie výparov: Dôsledná ventilácia pracovného prostredia môžu pomôcť minimalizovať tieto vplyvy na bezpečnosť obslužného personálu.
- Vplyv na mikroorganizmy a faunu: niektoré účinné látky môžu ovplyvniť mikroorganizmy v pôdnom ekosystéme a vodné organizmy, čo môže mať sekundárne dôsledky na biodiverzitu. Použitie prírodu šetriacich postupov umožní minimalizovať tento vplyv (Máčaj, 2015).

Možnosti a trendy v environmentálne udržateľnom C.I.P.

Použitie ekologicky šetrných chemikálií:

- Cieľ: Výber čistiacich a dezinfekčných látok s nižším environmentálnym vplyvom, ako sú biologicky odbúrateľné a bezpečnejšie pre vodné a pôdne prostredie.
- Trendy: Rastúci dopyt po ekologicky šetrných alternatívach sústavného čistenia v priemyselných odvetviach vrátane vinárstva.
- Recyklácia a opakované použitie vody
- Cieľ: Implementácia systémov recyklácie vody v rámci C.I.P. procesov na minimalizáciu spotreby vody.
- Trendy: Zvýšená snaha o efektívne využívanie vody v rôznych odvetviach vzhľadom na narastajúci dôraz na udržateľnosť.
- Inteligentné riadenie spotreby energie
- Cieľ: Využívanie automatizovaných systémov a senzorov na optimalizáciu spotreby energie počas C.I.P. cyklov.
- Trendy: Technologický pokrok umožňuje lepšie sledovanie a riadenie energetických nákladov v priemyselných procesoch (Baldwin, 2009).

Obrázok č. 1, Automatické zariadenie C.I.P s prepojovacími ventilmi do rôznych častí prevádzky (foto: autori)



ZÁVER

Environmentálna udržateľnosť zdôrazňuje potrebu minimalizovať vplyvy na vodné, pôdne a vzdušné prostredie pri používaní čistiacich a dezinfekčných látok. Trendy v environmentálne udržateľnom C.I.P. ukazujú, že priemysel, vrátane vinárstva sa snaží integrovať ekologicky šetrné postupy a technológie pre minimalizáciu environmentálnych dopadov. Príspevok poskytuje ucelený pohľad na C.I.P. v priemysle a jeho aplikáciu vo vinárstve s dôrazom na efektívnosť, bezpečnosť a environmentálnu udržateľnosť.

POĎAKOVANIE

Analýzy a príspevok vznikli s finančnou podporou projektu Agentúry pre podporu výskumu a vývoja – projekt č. APVV-22-0402, projektu VEGA č. 1/0239/21. Poďakovanie patrí projektu Demand-driven research for the sustainable and innovative food, Drive-4SIFood 313011V336, spolufinancovaným Európskou úniou.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Baldwin, C. J. Sustainability in the Food Industry. New Jersey, USA : Wiley-Blackwell, 2009. ISBN 978-0-813-80846-8. 280 s.
2. Fugelsang, K. C. – Edwards, C. G. Wine Microbiology: Practical Applications and Procedures. Luxemburg : Springer, 2010. ISBN 978-1-4419-4121-3. 414 s.
3. Grainger, K. – Tattersall, H. Wine Production: Vine to Bottle. New Jersey, USA : Blackwell Publishing, 2005. ISBN 978-14051-1365-6. 152 s.
4. Jackson, R. S. Wine Science: Principles & Applications. Massachusetts, USA : Academic Press, 2014. ISBN 978-0-12-381468-5. 978 s.
5. Krivosudský, S. Bezpečnostné a ochranné prvky vo vinohradníctve a vinárstve. Bratislava : Agrospol, 2013.
6. Kunová, S. – Lopašovský, Ľ. Hygiena a sanitácia vo vinárstve. Nitra : SPU, 2015. ISBN 978-80-552-1384-2. 134 s.
7. Máčaj, J. Moderné metódy výroby a technológie vína. Bratislava : PriF UK, 2019.
8. Máčaj, J. Vplyv agrochemikálií na životné prostredie. Bratislava : PriF UK, 2015.
9. Reinhardt, K. A. – Reidy, R. F. Handbook of Cleaning for Semiconductor Manufacturing: Fundamentals and Applications. New York, USA : Wiley-Scrivener, 2011. ISBN 978-0-4706-2595-8. 614 s.
10. Ribéreau-Gayon, P. – Dubourdieu, D. – Donéche, B. – Lonvaud, A. Handbook of Enology, Volume 1: The microbiology of Wine and Vinifications. 2nd Edition. New Jersey, USA : John Wiley & Sons, 2006. ISBN 978-0-470-01035-8. 480 s.

11. Ribéreau-Gayon, P. – Glories, Y. – Maujean, A. – Dubourdieu, D. Handbook of Enology, Volume 2: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments. 2nd Edition. New Jersey, USA : John Wiley & Sons, 2006. ISBN 978-0-470-01037-2. 450 s.
12. Seiberling, D. A. Clean-In-Place for Biopharmaceutical Processes. Florida, USA : CRC Press, 2007. ISBN 978-0-8493-4069-7. 412 s.
13. Vine, R. P. – Harkness, E. M. – Browning, E. – Wagner, C. 1995. Winemaking: From Grape Growing to Marketplace. Luxemburg : Springer, 1995. ISBN 978-0-8342-1699-0. 439 s.

Kontaktná adresa: Benešová Lucia, AgroBioTech Research Centre, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic; E-mail: lucia.benesova@uniag.sk

MODERNÉ TECHNOLÓGIE V MÄSOVOM PRIEMYSLE: ROBOTICKÉ REZANIE, VNÍMANIE A DIGITÁLNY VÝVOJ

MODERN TECHNOLOGIES IN THE MEAT INDUSTRY: ROBOTIC CUTTING, PERCEPTION, AND DIGITAL DEVELOPMENT

Čapla Jozef, Zajác Peter, Čurlej Jozef, Bobko Marek, Fikselová Martina

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

ABSTRACT

As a rich source of protein, meat provides essential nutrition for humans. Meat consumption is expected to increase by 15% over the next decade, requiring an increase in the capacity of the meat industry. However, the harsh working environment and long-term heavy workload in the meat cutting industry are leading to labour shortages. Low margins and capacity require innovative processing methods. Therefore, new automation methods are urgently needed to meet these challenges. With the development of Industry 4.0, robotics and intelligent systems are gradually being applied in the meat cutting industry, which can provide a flexible, adaptable and sustainable processing method.

Key words: meat industry, cutting, robotics, digital development

ÚVOD

Mäso je kľúčovým zdrojom bielkovín, ktoré poskytujú zásadnú výživu pre ľudské telo (Xu et al., 2022). Podľa štatistík sa očakáva, že globálna produkcia mäsa sa v nasledujúcom desaťročí zvýši o 14 %. Preto zvýšená spotreba mäsových výrobkov apeluje na výrobcov a spracovateľov mäsa, aby zvýšili výrobnú kapacitu (OECD/FAO, 2022). Rozrábanie je základná operácia v potravinárskych prevádzkach na spracovanie mäsa, ktorá rozdeľuje jatočne opracované telá hospodárskych zvierat a definované tvary a veľkosti pre spotrebiteľské balenia a ďalšie spracovanie.

ROBOTIZÁCIA V MÄSOVOM PRIEMYSLE

V mäsovom priemysle sa začína uplatňovať robotizácia a inteligentné systémy, čo predstavuje značný posun od tradičných manuálnych procesov k efektívnejším a presnejším metódam. Tento prechod je poháňaný potrebou zvýšiť produkciu a efektivitu, zatiaľ čo sa zároveň riešia problémy s pracovnou silou a udržateľnosťou. Roboty a automatizované systémy

ponúkajú možnosť presného a konzistentného delenia jatočne opracovaných tiel, čo znižuje odpad a zlepšuje využitie surovín (Takács et al., 2020).

Integrácia pokročilých senzorických technológií umožňuje robotom rozoznať rôzne typy jatočne opracovaných tiel automaticky upraviť rezacie procesy pre optimálne výsledky. Táto schopnosť prispôsobiť sa rôznym veľkostiam a tvarom mäsa zvyšuje flexibilitu výroby a umožňuje rýchlejšie reakcie na zmeny v dopyte. Využitie robotov v mäsovom priemysle tiež znižuje riziko pracovných úrazov, ktoré sú bežné v náročnom a opakovanom prostredí mäsového priemyslu. Zlepšením pracovných podmienok a znížením fyzickej námahy pracovníkov sa otvárajú nové možnosti pre prilákanie a udržanie kvalifikovanej pracovnej sily (Xu et al., 2023).

INOVATÍVNE SPRACOVATEĽSKÉ METÓDY

Vývoj nových techník delenia a použitie inteligentných senzorov transformuje mäsový priemysel. Pokročilé metódy, ako je laserové rezanie a rezanie vodným lúčom ponúkajú presnejšie a čistejšie rezy, čo minimalizuje kontamináciu a zvyšuje bezpečnosť potravín. Tieto technológie tiež umožňujú rýchlejšie spracovanie s nižšími nákladmi na údržbu v porovnaní s tradičnými mechanickými metódami (Romanov et al., 2022).

Inteligentné senzorové technológie, ako sú 3D skenery a spektrálne analyzátory, zlepšujú schopnosť identifikovať a klasifikovať rôzne časti jatočného tela podľa ich kvality a vhodnosti pre konkrétne výrobky. Toto umožňuje presnejšiu a efektívnejšiu výrobu, čo vedie k zvýšeniu celkovej kvality mäsa a mäsových výrobkov.

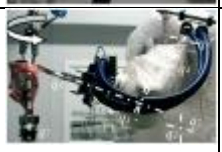
Robotizácia a senzorové technológie v mäsovom priemysle prispievajú k značnému zlepšeniu v oblasti produktivity, hygieny a pracovných podmienok. Súčasné inovácie zahŕňajú pokročilé robotické systémy pre rozrábanie mäsa z hospodárskych zvierat, hydiny a rýb, ktoré sú vybavené vysoko výkonnými senzormi a adaptívnymi riadiacimi stratégiami (Singh et al., 2012).

Pokročilé rezacie techniky, ako je ultrazvukové rezanie a rezanie vodným lúčom, prinášajú nové možnosti pre znižovanie odpadu a zvyšovanie efektivity. Ultrazvukové rezanie umožňuje presné a čisté rezy s minimálnou silou a bez poškodenia materiálu, zatiaľ čo rezanie vodným lúčom ponúka netepelnú metódu pre rezanie s vysokou presnosťou a minimálnou kontamináciou.

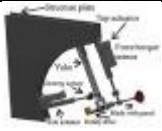
Inovatívny prístup v spracovaní mäsa predstavuje revolučný prístup, ktorý zjednodušuje výrobné procesy a zvyšuje ich flexibilitu a udržateľnosť. Tento koncept využíva modulárne spracovateľské jednotky, ktoré sú schopné samostatnej práce alebo integrácie do širších výrobných línií, čo umožňuje efektívnejšie využitie priestoru a zdrojov.

Zhrnutie týchto bodov poskytne komplexný prehľad o súčasnom stave a budúcom smerovaní robotizácie a inovácií v mäsovom priemysle, ktoré sú zamerané na zlepšenie efektivity, bezpečnosti a udržateľnosti výrobných procesov. Táto transformácia znamená významný posun od tradičných metód k technologicky pokročilým riešeniam, ktoré otvárajú nové možnosti pre priemysel (Nagel-Alne et al., 2022).

Tabuľka 1: Zariadenia využívajúce robotické rezanie v mäsovom priemysle pre hovädzí dobytok, ošípané, hydinu a ryby.

Druhy mäsa	**Účel**	**Primárne zariadenia**	**Príklady aplikácie v praxi**	**Záver**	**Odkaz**
Hovädzie/ bravčové mäso	Štvrtenie hovädzieho mäsa a vykosťovanie stehna	Štruktúrovaný svetelný systém. ATI šesťosový systém snímača sily/krútiaceho momentu Robot.	 	Robot spojený s hybridnou metódou kontroly videnia/sily sa použil na štvrťkovanie jatočných tiel hovädzieho mäsa. Proces vykosťovania šunky bol podrobne opísaný kvôli zložitosti operácie.	(Guire et al., 2010)
Bravčové mäso	Vykosťovanie stehna	Snímač sily 7-stupňový robot		7-stupňový robot kombinovaný so snímačom sily bol vyvinutý na vykosťovanie stehna pričom kosti sa používajú ako vodidlo na plánovanie trajektórie rezu. Plánovanie trajektórie rezania pri vykosťovaní stehna bolo optimalizované analýzou ľudského ramena.	(Alric et al., 2014)
Ošípané	Robotické mäsiarstvo a pitvanie	Snímač sily. Snímač rýchlosti frézy. 3D optický senzorový systém. Robot.	 	Presnosť segmentácie medzi rebrom a bočným svalom sa pohybovala od 14,40 do 22 mm na základe 43 operácií na jatočných telách ošípaných. Robotické pitvanie bolo úspešne vyvinuté na odstránenie čriev a žalúdka.	Wadie et al. (1995)
Ošípané	Krájanie bravčového karé	Senzor elektromagnetických vĺn. Robotické rameno (UR10).		Inteligentný nôž založený na senzore elektromagnetických vĺn dokázal rozpoznať kontakt a hĺbku pri krájaní bravčového karé. Informácie senzora integrované s modelom neurónovej siete mali vynikajúci predikčný výkon	Mason, et al. (2021)

				pre rezné indikátory kontaktu a hĺbky vo vzorkách bravčového karé.	
Ošípané	Narezávanie brušnej dutiny	2D kamera (iRvision). Robot FANUC (R1000iA).		Robotický systém narezávania brušnej dutiny bol efektívny aj presný a strojové videnie bolo mimoriadne vhodné na rezanie brušnej dutiny ošípaných. Úspešnosť navrhovaného robotického rezacieho systému na ošípaných presnej špecifikácie bola 95 %. Operačný čas procesu rezania robotom bol 4,2 s.	Liu et al. (2017)
Ošípané	Narezávanie brušnej dutiny	Binokulárna kamera (priemyselná kamera BumbleBee). Robot SIASUN (SR50A).		Robot na narezávanie brušnej dutiny integrovaný s binokulárnou kamerou bol hygienickejší a efektívnejší ako tradičná manuálna práca. Úspešnosť skonštruovaného robotického systému na rezanie bravčového brucha dosiahla v reálnom teste výrobnej linky 86,2 %. Operačný čas jedného jatočného tela bol 8 s.	Cong a spol. (2020)
Ošípané	Narezávanie brušnej dutiny	Lineárny laser SICK LMS400. Robot SIASUN (SR120b).		Rezací robot integrovaný s lineárnym laserom bol efektívnejší a hygienickejší ako manuálny robotník na linke na narezávanie brušnej dutiny. Miera úspešnosti navrhovaného robotického rezacieho systému na 150 ošípaných rôznych veľkostí bola 90 %, čo bolo viac ako pri 2D a 3D metódach videnia. Operačný čas jedného jatočného tela bol 5,1 s.	(Liu, 2017)
Ovce	Delenie zadných nôh	Kamera Intel Realsense D435i. Šesťrozmerný snímač sily. 6-stupňový robot.		Viacrozmerný model U-Net s dvojitou pozornosťou bol navrhnutý na realizáciu delenia zadných končatín jatočných tiel oviec. Robot použil hybridnú metódu riadenia sily a polohy na delenie zadnej nohy od jatočného tela ovce.	Xie, et al. (2021)

				Priemerná presnosť delenia bola 4,02 mm a priemerná zvyšková miera bola 6,28 %.	
Ovce	Delenie jatočných tiel chladených oviec	Špeciálne navrhnutá svorka. 6-stupňový robot (HSC-620L).		Na delenie chladených jatočných tiel oviec bol vyvinutý automatický segmentačný robot. Na upevnenie jatočného tela oviec bola navrhnutá špecifická svorka. Celkový prevádzkový čas jedného jatočného tela bol 156 s. Po automatickom delení jatočného tela oviec bola miera integrity 97,39 %.	Bao et al., (2021)
Ovce	Rezanie polovíc jatočne opracovaných tiel oviec	senzor Azure Kinect. Vlastnoručne vyrobený robot.		Vlastnoručne vyrobený robot spojený so systémom videnia bol úspešne použitý na rozrezanie polovičky na sedem častí v priebehu 22,6 s. Model Deeplab v3+ dokázal deliť a rezať rebro a chrbticu z tela polovičky ovce s vysokou presnosťou. Vypočítalo sa sedem kľúčových bodov na obrázku tela polovičky ovce, aby vytvorili dráhu rezu.	Mu et al. (2020)
Ovce/jahňacie	Rezanie hrudníka	Laserový senzor. Ultrazvukový senzor. Robot ABB (IRB6620).		6-stupňový robot mohol vykonávať rezanie hrudníka na jatočnom tele oviec/jahňaťa zaveseného na predných končatinách. Rýchlosť produkcie bola 8,5 jatočných tiel/min, s úspešnosťou 96 % u jahniat a 95 % u oviec. Koncový efektor bol sterilizovaný 2 s pred každým rezom.	Singh et al., (2012)
Brojlery	Odrezanie krídiel	2-DOF rezací robot 6-stupňový robot Stereo kamera Snímač sily/krútiaceho momentu		Trajektória rezu krídel bola získaná analýzou štatistických výsledkov röntgenových snímok. Hybridná stratégia riadenia polohy a sily bola vyvinutá pre odrezanie krídiel.	Singh et al., (2012)
Brojlery	Odrezanie krídiel	Snímač sily/krútiaceho momentu 3-DOF zariadenie		Anatomická štruktúra brojlera bola študovaná, aby sa vytvorila spoločná trajektória rezu krídiel.	Singh et al., (2012)

				Zariadenie pracujúce na základe detekčných algoritmov a riadiacich stratégií.	
Mrazené ryby	Rezanie s pevnou hmotnosťou a pevnou dĺžkou	3D laserové profilové snímače základnej úrovne (Gocator 2150) Zariadenie s rezacou pílou		3D rekonštrukčný model mrazených rýb bol získaný na základe laserového líniového senzora. Rezacie zariadenie spojené so spôsobom spracovania obrazu by mohlo automaticky deliť telo ryby na viacero plátkov s pevnou hmotnosťou alebo dĺžkou.	Mu (2020)
Pstruhové ryby	Rezanie brucha, odrezávanie hlavy, pitvanie a čistenie rýb rôznych veľkostí	Snímač fotoaparátu Vlastnoručne vyrobené zariadenie		Vlastnoručne vyrobené zariadenie v kombinácii s kamerovým snímačom dokázalo adaptívne spracovať pstruhové ryby rôznych veľkostí. Vlastnoručne vyrobené zariadenie so štyrmi podsystémami spracovania bolo navrhnuté na základe simulácie.	Bao et al., (2021)
Filety z lososa	Robotické dodatočné orezávanie	Kamera s 3D riadkovým skenovaním (SICK IVP ColorRanger) Čiarový laser (Z-Laser, Z18) 6-stupňový robot		Robot spojený so systémom 3D videnia by mohol adaptívne orezávať filety z lososa do 1,5 s pomocou metódy rezania pílou. Orezávanie pomocou metódy oscilačného pílenia bolo lepšie ako pri bežnom ťahaní, ktoré malo na nože menšie požiadavky.	Bao et al., (2021)
Losos a pstruh dúhový	Priemyselné zabíjanie lososových rýb	Line-scan laserový triangulačný systém		Zabíjacia linka vrátane systému videnia a robota by mohla byť použitá na automatické zabíjanie rýb. Úspešnosť jatočnej linky sa pohybovala od 85 do 95 %.	Cong et al. (2010)
Losos	Odrezanie hlavy	Akcelerometer Mikrofón Snímač fotoaparátu		Na odstraňovanie hlavy rýb sa použila stratégia riadenia PID prispôsobená rezacím zariadením. Zariadenie malo funkcie diagnostiky porúch a vzdialeného monitorovania.	Cong et al. (2010)
Ryby	Odrezanie hlavy	Senzor hmotnosti Kompaktné zariadenie		Spracovateľská kapacita Robofish2 sa pohybovala od 20 do 30 rýb za minútu so zvýšeným výnosom o 1 %. Snímač hmotnosti nahradil snímač zraku a definoval dráhu rezu pre každú rybu.	Mason et al. (2021)

Ryby	Odrezanie hlavy	Systém zraku Robot SCARA		Robot bol použitý na uchopenie rýb na operáciu odrezania hlavy s úspešnosťou 80 %. Systém videnia sa použil na posúdenie polohy rýb.	Mason et al. (2021)

Robotická automatizácia sa využíva pre kvalifikované a opakujúce sa úlohy v potravinárstve, ako je balenie, paletizácia a označovanie, zatiaľ čo v mäsovom priemysle pri rezaní mäsa má málo implementácií (Khan et al., 2018). Prostredie, ťažké zvieratá, opakujúce sa operácie a hygienické riziká sú dominantnými problémami, ktorým čelí mäsový priemysel pri delení jatočne opravovaných tiel. Navyše v dôsledku vážnych muskuloskeletálnych porúch a pandémie spôsobuje nedostatok pracovnej sily a kvalifikovaných pracovníkov obrovské problémy pri udržiavaní dodávateľských reťazcov (Einarsdóttir et al., 2022). V dôsledku toho sa veľká pozornosť venuje zvyšovaniu robotizácie, čím sa znižuje závislosť od pracovnej sily. Rozvoj robotizácie je úplnou zmenou paradigmy v mäsovom priemysle. Roboty dokážu vydržať vlhké a chladné prostredie, ako aj neustále pracovať, aby si zachovali požiadavky na konštantnú a konzistentnú
kvalitu svojej práce a výkonnosť. Je pozoruhodné, že roboty musia byť vyrobené z materiálov potravinárskej kvality, aby uspokojili hygienickú úroveň v mäsovom priemysle. Preto sú na výrobu rezacích robotov naliehavo potrebné niektoré špecifické materiály, čo je dôležitý krok k zavedeniu robotizácie v mäsovom priemysle.

Jatočne opracované tela sa líšia tvarom, veľkosťou a hmotnosťou, najmä v prípade veľkých zvierat, ako sú hospodárske zvieratá, čo má za následok značné problémy so spracovaním pre robotické aplikácie. Preto je vývoj obratných robotov s väčším počtom stupňov voľnosti nevyhnutný na delenie mäsa. Rastúca dostupnosť agilných robotov za konkurencieschopné ceny a modulárne konštrukcie robotov, ako sú rôzne robotické ramená a koncové efektory pre rôzne úlohy rezania, podporujú robotizáciu technicky a ekonomicky v odvetví delenia mäsa. Multimodálne senzory sú nevyhnutné pri automatizácii procesu rozrábania mäsa, keďže umožňujú sledovanie prostredia spracovania, monitorovanie podmienok rezania a optimalizáciu trajektórií robotov. Naliehavo potrebujeme sofistikované senzory na vývoj robotizácie, ktoré dokážu získavať multimodálne informácie a zabezpečiť optimálne spracovanie. Okrem hardvéru je pri robotickom rezaní nevyhnutný aj softvér, ktorý pôsobí ako ľudský mozog, čo umožňuje robotickým systémom reagovať na variácie tiel zvierat. Softvér, vrátane algoritmov na spracovanie obrazu, hlbokého učenia a riadiacich stratégií, dokáže vnímať rozdiely a robiť optimálne rozhodnutia pre roboty, aby konali (Barbar et al., 2022). Integrácia hardvéru a softvéru môže generovať robotické rezacie systémy poháňané AI,

čím sa zlepšujú možnosti inteligentného vnímania, rozhodovania a vykonávania. Preto je potrebné venovať viac úsilia multimodálnemu hardvéru a inteligentnému softvéru, ktoré predstavujú základ pre ďalší vývoj flexibilných a adaptívnych rezacích robotov.

S rýchlym rozvojom Industry 4.0 sa IoT, veľké dáta, blockchain a technológie DT čoraz viac uplatňujú v každodennom živote (Hassoun et al., 2022). Medzitým mäsový priemysel zažíva dôležitý prechod od konzervatívneho spracovania k digitálnemu vývoju (Barbut, 2020). Mäsový priemysel 4.0 je spojením robotiky, pokročilých senzorov a digitálnych technológií (Echegaray et al., 2022). Digitálne technológie môžu výrazne zlepšiť vysledovateľnosť produktov, energetickú efektívnosť a udržateľnosť v mäsovom priemysle. Digitálne technológie však majú obmedzené uplatnenie v oblasti spracovania mäsa. Na základe vyššie uvedenej analýzy s cieľom ďalšieho rozvoja Mäsového priemyslu 4.0 sú niektoré potenciálne smery budúceho výskumu robotizácie a inteligentných systémov v mäsovom priemysle zhrnuté takto:

- Pri rozrábaní JOT sú roboty využívané hlavne pre jednoduchšie úlohy, ich uplatnenie je obmedzené kvôli komplexnosti a hygienickým požiadavkám. Nedostatok pracovnej sily a potreba zvyšovania efektivity vyzdvihujú potrebu pokročilej robotizácie,

- vývoj robotov vyžaduje špecifické materiály potravinárskej kvality a vyšší počet stupňov voľnosti pre adaptáciu na rôzne veľkosti a tvary mäsa. Pokrok v senzorových technológiách a modulárnom dizajne robotov podporuje ich ekonomickú a technickú realizovateľnosť,

- efektívne spracovanie mäsa vyžaduje vysokú presnosť a adaptabilitu, ktoré môžu poskytnúť pokročilé senzorové systémy a inteligentný softvér. Tieto technológie umožňujú robotom flexibilne reagovať na variabilitu v mäse a zlepšovať rozhodovacie procesy.

Rozvoj robotiky v mäsovom priemysle si vyžaduje nové štandardy a právne predpisy zamerané na bezpečnosť a hygienu potravín. Je potrebná aktualizácia existujúcich noriem a legislatívy, aby podporovali inovácie a zabezpečili bezpečnosť potravín.

Toto vyhodnotenie poukazuje na potrebu komplexného prístupu k robotizácii v mäsovom priemysle, ktorý zahŕňa technologický vývoj, adaptáciu na špecifické požiadavky a vytvorenie vhodného regulačného rámca (Xu et al., 2023).

ZÁVER

Proces spracovania mäsa môže byť významne automatizovaný integráciou sofistikovaných rezacích robotov, pokročilých senzorických technológií a digitálnych systémov, ktoré riadia prechod od manuálnej práce k robotizovanej, efektívnej a inteligentnej výrobe. V dôsledku toho môžu robotizácia a inteligentné digitálne systémy poskytnúť nový prístup k výrobe v mäsovom priemysle a posunúť ho smerom k Meat Factory 4.0.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená projektom KEGA č. 001SPU-4/2023

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ALRIC, M. et al. Robotic solutions for meat cutting and handling. Technical Report ADIV. 2014, ewdom.irccyn.ec-nantes.fr/material/paper/paper1-Matthieu-Alric.pdf
2. BAO, X. - JUNSONG, L. - MAO, J. Kinematics Analysis and Trajectory Planning of Segmentation Robot for Chilled Sheep Carcass. In *Applied Engineering in Agriculture* (roč. 37, Issue 6, s. 1147–1154), 2021, American Society of Agricultural and Biological Engineers (ASABE). https://doi.org/10.13031/aea.14756
3. BARBAR, C. - BASS, P. D. - BARBAR, R. - BADER, J. - WONDERCHECK, B. Artificial intelligence-driven automation is how we achieve the next level of efficiency in meat processing. In *Animal Frontiers*, 2022 (roč. 12, Issue 2, s. 56–63). Oxford University Press (OUP). https://doi.org/10.1093/af/vfac017
4. BARBUT, S.. Meat Industry 4.0: A Distant Future? In *Animal Frontiers*, 2020 (roč. 10, Issue 4, s. 38–47). Oxford University Press (OUP). https://doi.org/10.1093/af/vfaa038
5. CONG, M. - ZHANG, J. - DU, Y. - WANG, Y. - YU, X. - LIU, D. A Porcine Abdomen Cutting Robot System Using Binocular Vision Techniques Based on Kernel Principal Component Analysis. In *Journal of Intelligent & Robotic Systems* (101, Issue 1). 2020, Springer Science and Business Media LLC. https://doi.org/10.1007/s10846-020-01280-3
6. ECHEGARAY, N. - HASSOUN, A. - JAGTAP, S. - TETTEH-CAESAR, M., KUMAR, M. - TOMASEVIC, I. - GOKSEN, G. - LORENZO, J. M. Meat 4.0: Principles and Applications of Industry 4.0 Technologies in the Meat Industry. In *Applied Sciences*, 2022 (roč. 12, Issue 14, s. 6986). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/app12146986

7. EINARSDÓTTIR, H. - GUÐMUNDSSON, B. - ÓMARSSON, V. Automation in the fish industry. In *Animal Frontiers*, 2022 (roč. 12, Issue 2, s. 32–39). Oxford University Press (OUP). https://doi.org/10.1093/af/vfac020
8. GUIRE, G. - SABOURIN, L. - GOGU, G. - LEMOINE, E. Robotic cell for beef carcass primal cutting and pork ham boning in meat industry. Industrial Robot: In *International Journal*, 2010, (roč. 37, Issue 6, s. 532–541). Emerald. https://doi.org/10.1108/01439911011081687
9. HASSOUN, A. - AÏT-KADDOUR, A. - ABU-MAHFOUZ, A. M. - RATHOD, N. B. - BADER, F. - BARBA, F. J. - BIANCOLILLO, A. - CROPOTOVA, J. - GALANAKIS, C. M. - JAMBRAK, A. R. - LORENZO, J. M. - MÅGE, I., OZOGUL, F. - REGENSTEIN, J. The fourth industrial revolution in the food industry—Part I: Industry 4.0 technologies. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2022, (63, Issue 23, s. 6547–6563). Informa UK Limited. https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2034735
10. KHAN, Z. H. - KHALID, A. - IQBAL, J. Towards realizing robotic potential in future intelligent food manufacturing systems. In *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2018 (roč. 48, s. 11–24). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.05.011
11. LIU, Y. - CONG, M. - ZHENG, H. - LIU, D. Porcine automation: Robotic abdomen cutting trajectory planning using machine vision techniques based on global optimization algorithm. In *Computers and Electronics in Agriculture* (143, s. 193–200). 2017, Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.compag.2017.10.009
12. MASON, A. - ROMANOV, D. - CORDOVA-LOPEZ, L. E. - KOROSTYNSKA, O. SMART KNIFE FOR ROBOTIC MEAT CUTTING. IEEE Sensors. 2021. https://doi.org/10.1109/sensors47087.2021.9639793
13. MU, S. - QIN, H. - WEI, J. - WEN, Q. - LIU, S. - WANG, S. - XU, S. Robotic 3D Vision-Guided System for Half-Sheep Cutting Robot. V J.-J. Jiang (Ed.), Mathematical Problems in Engineering, 2020 (s. 1–11). Hindawi Limited. https://doi.org/10.1155/2020/1520686
14. NAGEL-ALNE, G. E. - MURPHY, E. - MCCAUSLIN, B., HAUGE, S. J., SCHRØDER-PETERSEN, D. L. - HOLTHE, J. - ALVSEIKE, O. Meat safety legislation and its opportunities and hurdles for innovative approaches: A review. In Food Control, 2022 (Roč. 141, s. 109160). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109160

15. OECD-FAO. Technical report OECD/FAO, 2022. https://www.oecd-ilibrary.org/agriculture-and-food/world-meat-projections_727b6467-en
16. ROMANOV, D. - KOROSTYNSKA, O. - LEKANG, O. I. - MASON, A. Towards human-robot collaboration in meat processing: Challenges and possibilities. In Journal of Food Engineering, 2022 (roč. 331, s. 111117). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2022.111117
17. SINGH, J. - POTGIETER, J., - XU, W. L. Ovine automation: robotic brisket cutting. V Industrial Robot: An International Journal, 2012, (roč. 39, č.2, s. 191–196). Emerald. https://doi.org/10.1108/01439911211201654
18. TAKACS, K. - MASON, A. - CHRISTENSEN, L. B. - HAIDEGGER, T. Robotic grippers for large and soft object manipulation. IEEE 20th International Symposium on Computational Intelligence and Informatics (CINTI). 2020, https://doi.org/10.1109/cinti51262.2020.9305836
19. WADIE, I. - MADDOCK, N. - PURNELL, G. - KHODABANDEHLOO, K., CROOKS, A. - SHACKLOCK, A. - WEST, D. Robots for the meat industry. 1995, Industrial Robot: In *International Journal*, 1995, (roč. 22, č. 5, s. 22–24). Emerald. https://doi.org/10.1108/01439919510104111
20. XIE, Y. - LIAN, K. - LIU, Q. - ZHANG, C. - LIU, H. Digital twin for cutting tool: Modeling, application and service strategy. In *Journal of Manufacturing Systems* (roč. 58, s. 305–312). 2021, Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.jmsy.2020.08.007
21. XU, W., HE, Y., LI, J., DENG, Y., XU, E., FENG, J., DING, T., LIU, D., & WANG, W. Non-destructive determination of beef freshness based on colorimetric sensor array and multivariate analysis. In *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2022 (roč. 369, s. 132282). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.snb.2022.132282
22. XU, W. - HE, Y. - LI, J. - ZHOU, J. - XU, E. - WANG, W. - LIU, D. Robotization and intelligent digital systems in the meat cutting industry: From the perspectives of robotic cutting, perception, and digital development. In *Trends in Food Science & Technology*, 2023 (roč. 135, s. 234–251). Elsevier BV. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.03.018

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

UMELÁ INTELIGENCIA V PROCESE AUTENFIFIKÁCIE MÄSA

ARTIFICIAL INTELLIGENCE IN THE MEAT AUTHENTICATION PROCESS

Čurlej Jozef, Zajác Peter, Čapla Jozef

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

ABSTRACT

Safety and quality are fundamental requirements for every product introduced on the market. Compliance with these determinants is legislatively regulated and controlled by official control authorities. However, the phenomenon of product counterfeiting, including in the food production industry, is almost as old as humanity itself. There are numerous recorded cases of these practices, some of which, besides economic consequences, have led to consumer health damage or even death. Especially for the above reasons, ensuring consumer protection through authentication and detection of adulterants by employing reliable methods to uncover counterfeiting is crucial. Among the most common challenges of individual methodologies are their demands for time, finances, and personnel. Thanks to existing databases of collected data and standards in the online space, which are continuously supplemented and updated, it is possible to accelerate the system of uncovering unfair business practices through artificial intelligence in food science and technology. This contribution presents available authentication methods linked to the application of artificial intelligence.

Key words: Counterfeiting, Safety, Artificial Intelligence, Meat

ÚVOD

Bezpečnosť a autenticita potravín sú dôležitými a vzájomne prepojenými determinantmi v oblasti potravinárskej výroby, nakoľko zámena originálnych zložiek v produkte za iné v určitých prípadoch môže ohroziť zdravie spotrebiteľa (Everstin et al., 2013). Okrem zdravotných aspektov, identifikáciou nekalej obchodnej praktiky dochádza k poškodeniu dobrého mena výrobcu a následným ekonomickým stratám. Na základe dostupných údajov, tieto praktiky sú najčastejšie identifikované pri prémiovejších výrobkoch, vrátane mäsa. Z dôvodu požiadavky pre zabezpečenie autenticity potravín je nevyhnutná absolútna vysledovateľnosť na všetkých úrovniach výroby a distribúcie (Barge et al., 2020). V tomto smere presné označovanie a vedenie záznamov je legislatívnou požiadavkou, ktorá je rovnako posudzovaná orgánmi úradnej kontroly potravín (Esteki et al., 2021; Ševcová et al., 2021). Dostupnosť údajov uložených v rôznych registroch a platformách umožňuje získavanie

dôležitých informácií, analýzu tokov v dodávateľskom reťazci, čím sa predchádza podvodným praktikám s potravinami (Ulberth, 2020). Metódy odhaľovania falšovania môžu byť realizované pomocou viditeľných a skrytých nástrojov autentifikácie, ktoré dopĺňajú metódy vysledovateľnosti produktov cez dodávateľský reťazec (Kolasa, 2021). Opatrenia v boji pred neautentickými produktmi zahŕňajú prepojenie medzi fyzicky dostupnými produktmi a ich verziami dostupnými v digitálnej podobe, vrátane kontroly integrity toku potravín. V súvislosti s tým boli vyvinuté nové možnosti zabezpečujúce presnú identifikáciu bez rizika dodatočnej manipulácie (etikety s hologramami, RFID, optické kódy) (Soon a Manning, 2019). Avšak, v určitých prípadoch ich implementácia je obtiažná kvôli povahe výrobku (Barge et al., 2019) prípadne špecificite výroby (Comba et al., 2011). Všeobecne však platí, že akékoľvek preventívne opatrenia, hľadanie nových prístupov a metodík sa významne podieľajú na redukcii podvodných konaní vyskytujúcich sa na trhu s potravinami (Spink & Moyer, 2011). Pre ilustráciu praktiky falšovania v súvislosti s mäsom a mäsovými produktmi je možné uviesť nasledovný príklad: mäso niektorých genetických variant ošípaných, charakteristických rýchlejším rastom, môže obsahovať vyššie zastúpenie tuku, z tohto dôvodu nie je vhodné na výrobu vysoko kvalitnej šunky a zároveň je obvykle lacnejším. Teda, náhrada vysoko kvalitnej stehennej svaloviny lacnejšou, získanou zo stehien iných plemien ošípaných je atraktívnou možnosťou pre producentov, ktorých záujem je orientovaný na ekonomický zisk na úkor spotrebiteľa. Na detekciu tejto praktiky, pri metódach založených na analýze DNA, je zásadne dôležitá databáza genetických charakteristík rôznych plemien ošípaných (Böhme et al., 2019). V závere je teda možné konštatovať, dostupné technológie autentifikácie a vysledovateľnosti spolu s využitím umelej inteligencie umožňujú analýzu širšieho spektra zložitých dát a v relatívne krátkom čase poskytujú výsledky analýzy.

Mäso a mäsové produkty ako predmet nekalých obchodných praktík

Mäso vo výžive človeka predstavuje významný zdroj bielkovín, tuku a dôležitých esenciálnych aminokyselín (lyzín, treonín, methionín, fenylalanín, tryptofán, leucín, izoleucín a valín). Rovnako je zdrojom ďalších zdraviu prospešných látok a mikronutrientov (Aida et al., 2005). Je všeobecne známe, že mäso a mäsové produkty patria k cenovo drahším potravinárskym produktom, kde na výslednej cene produkcie mäsa sa podpisuje celé spektrum faktorov, akými sú miesto produkcie (krajina pôvodu), spôsob chovu zvierat (voľný chov versus konvenčný spôsob), tradície (spôsob chovu a usmrcovania), plemeno (s rýchlymi prírastkami, stres rezistentné atď.) a v neposlednom rade druh zvieraťa (ošípaná, hovädzí dobytok a i.). Zámena drahého mäsa lacnejším je teda lákavou a bežne pozorovanou praxou, aplikovanou niektorými producentmi po celom svete. Okrem ochrany hospodárskych záujmov, schopnosť

identifikovať zamenené druhy v mäsových výrobkoch je kardiálne dôležitá z náboženských či etických dôvodov (Spink, 2019). Taktiež, konzumácia výrobkov obsahujúcich nepriznané zložky (živočíšne, rastlinné proteíny) môže vyvolať nežiadúce reakcie u predisponovaných jednotlivcov (Ong et al., 2007). Identifikácia originality potravín a detekcia falšovania sú teda neustále aktuálnymi výzvami nevynímajúc mäsový priemysel. Na základe historických poznatkov, prvý prípad podvodu spojeného so zámenou mäsa bol zaznamenaný vo Florencii (Taliansko) už v 13. storočí n.l. Autenticita zloženia mäsových výrobkoch vrátane zastúpenia mäsa je dôležitá z hľadiska naplnenia legislatívnych požiadaviek chrániacich bezpečnosť a kvalitu produktov umiestňovaných na trh (odhalenie prítomnosti neuvedených druhov, či náhrada mäsa rastlinnými proteínmi) (Ballin et al., 2009). Z globálneho hľadiska, na základe štatistík vychádzajúcich zo zverejnených prípadov o vykonaných kontrolách, medzi najbežnejšie nekalé obchodné praktiky v obchode s mäsom a mäsovými produktami patria: náhrada mäsa alebo miešanie rôznych druhov mäsa. Ako príklady možno uviesť: zámena kuracieho a králičieho mäsa svalovinou pôvodom z mačky, zámena mäsa pôvodom ovca za mäso pôvodom koza, zámena mäsa pôvodom jeleň za svalovinu pôvodom ovca, zámena svaloviny pôvodom koza za svalovinu pôvodom pes alebo mačka, zámena hovädzieho mäsa svalovinou z ovce, zámena hovädzieho mäsa svalovinou pôvodom kôň, zámena mäsa pôvodom klokan za svalovinu pôvodom hovädzí dobytok. Za účelom odhalenia týchto substitúcii je nevyhnutná presná špecifikácia zastúpenia druhov zvierat vo vzorkách mäsových produktov, štandardne vykonávaná prostredníctvom metód založených na analýze DNA, poprípade spektrofotometrických metód (Chappalwar et al., 2020). Autenticita mäsa je teda otvorenou výzvou pre pracovníkov v oblasti výskumu, tvorcov legislatívy, subjektov na všetkých úrovniach výrobného procesu, nevynímajúc spotrebiteľov. V procese optimalizácie metodík pre autentifikáciu mäsových produktov je potrebné brať do úvahy celé spektrum vstupných faktorov, akými sú: pôvod mäsa (pohlavie), odrezky mäsa, plemeno, výživa zvierat, vek pri porážke, mäso z farmového chovu versus divina, bio versus konvenčné mäso, geografický pôvod, substitúcia mäsa inými druhmi mäsa, prípadne tukom či alternatívnymi zdrojmi proteínov. Ďalej, podmienky pri spracovaní mäsa (napr. ožiarenie, čerstvé versus rozmrazené mäso), spôsob prípravy mäsa a pridávanie nemäsových zložiek akými sú rôzne prídavné látky a voda.

Konvenčné nástroje identifikácie originality

V praxi sú využívané rôzne analytické metódy na identifikáciu pôvodu mäsa pri jednozložkových alebo zmesných vzorkách. Tieto metódy majú svoj pôvod v jednoduchších technikách založených na morfológii až po sofistikovanejšie prístupy, pri ktorých sa využívajú technológie založené na identifikácii zastúpených génov. Ako príklady spomenutých prístupov posudzovania originality možno uviesť: senzorické hodnotenie (farba, konzistencia, vôňa, mramorovania, a i.), posudzovanie na základe anatomických štandardov (identifikácia na základe stavcov, počtu rebier atď.), histologické analýzy (hrúbka svalových vlákien, hustota svalových vlákien, vzor svalových vlákien), chemické rozbory (stanovenie karoténu, glykogénu, a i.), biologické analýzy (PCR, ELISA, elektroforéza atď.) (Chappalwar et al., 2020).

Implementácia nástrojov umelej inteligencie v oblasti autentifikácie potravín

Etablované analytické metódy sú v mnohých prípadoch pomerne zložité a vyžadujú množstvo ľudskej práce. Ich efektiva je ovplyvnená viacerými faktormi (ľudské, materiálne, technické), ďalej v určitých prípadoch je nutná viacstupňová validácia získaných výsledkov. Z dôvodu redukcie rizika chybovosti a optimalizácie časovej náročnosti, postupné zavádzanie nástrojov pre automatizáciu vedie k optimalizácii a urýchleniu procesov na rôznych úrovniach produkcie, vrátane procesu kontroly kvality. Cieľom neustálej modernizácie a zvyšovania efektivity je nahrádzanie konvenčných metód rýchlymi prístupmi, ktoré využívajú široké spektrum zariadení súčasne a dokážu pracovať s veľkým množstvom zložitých dát. Umelá inteligencia v tomto smere už dnes zohráva dôležitú úlohu vo svete bezpečnosti potravín, rovnako pri zabezpečení kvality produkcie. Pre úspešnú aplikáciu systému umelej inteligencie na detekciu falšovania potravín sú potrebné dáta pre výkon samotnej analýzy, prebiehajúcej v dvoch úrovniach. Prvá využíva získané dáta o produkte na vytvorenie modelu založeného na vizuálnom posudzovaní, kde je hlavným cieľom kontrola kvality potravín na základe parametrov akými sú: farba, textúra, veľkosť, tvar, morfologické vlastnosti a iné. Klasifikácia sa teda vykonáva na základe vzhľadu výrobku uplatnením strojového učenia. Druhý stupeň analýzy využíva dáta pozostávajúce z parametrov akými sú: vlhkosť, pH, teplota, tlak, viskozita, ktoré majú za cieľ posúdiť fyzikálne vlastnosti výrobkov. Na daný účel môže byť využité IoT (Internet of things) pri získavaní dát z rôznych senzorov a následne pri posudzovaní falšovania na základe zloženia výrobkov. Identifikované rozdiely sa teda využívajú pri zostavovaní modelov, ktoré následne pri skenovaní potravín presne identifikujú originalitu produktu. Na podobnom princípe v súčasnosti fungujú zariadenia typu elektronický jazyk a elektronický nos, využívané pri analýze zloženia potravín. Kutyauripo et al. (2023) prezentujú

uplatnenie umelej inteligencie vo všetkých fázach agropotravinárskeho systému, od rastlinnej a živočíšnej produkcie až po konzumáciu potravín a odpadový manažment. Využitie umelej inteligencie pri zabezpečovaní kvality a bezpečnosti potravinárskych produktov, okrem vyššie uvedeného, dokáže byť nákladovo a časovo efektívne, čo je obzvlášť dôležité pre výrobcov a predajcov potravín. Ďalej, jej schopnosť učiť sa a prispôsobovať sa novým údajom zlepšuje jej presnosť a rýchlosť. Už v súčasnosti je prezentovaných viacero príkladov uplatnenia umelej inteligencie pri identifikácii falšovania potravinárskych produktov: mäso (Zhang et al., 2022a), jedlé oleje (Rozali et al. 2023), nápoje (Chakravartula et al., 2022). V tomto smere, medzi najbežnejšie techniky umelej inteligencie pri posudzovaní kvalitatívnych parametrov potravín patria: využívane umelej neurónovej siete (ANN), hlboké učenie (DL), fuzzy logika (FL), podporný vektorový stroj (SVM) a tzv. náhodný les (RF) (Rajesh et al., 2021).

Metódy založené na posudzovaní vzhľadu

Optické posudzovanie je súčasťou hodnotenia kvality potravín. Metóda je založená na vizuálnych analýzach, pri ktorých sa fotodokumentácie potravinových produktov využívajú pri modeloch strojového učenia (ML) a hlbokom učení (DL). Počítačom riadený systém optickej detekcie sa využíva pri automatickej a presnej klasifikácii potravinových produktov. Údaje sa zaznamenávajú prostredníctvom digitálnej kamery a následne sú využívané na účely predikcie pri strojovom učení. Aplikácia umelých neurónových sieti (ANN) za posledné roky stúpla na popularite, vďaka ich schopnosti učiť sa a bez predchádzajúcich znalostí o vlastnostiach produktov. Tieto siete sú inšpirované fungovaním nervovej sústavy u ľudí, fungujú ako záznamník a prispôsobujú váhu hodnotenia kritériám učenia. Neurónová sieť sa využíva v prípadoch, kde presný model nie je známy. Zložky potravinových produktov sa využívajú pri trénovaní neurónových sietí prostredníctvom obrázkov, za účelom oddelenia texturálnych a morfologických vlastností. Implementácia klasifikátorov ANN môže byť využitá pri kontrole kvality potravinových produktov. Ďalej, štruktúra neurónovej siete môže byť zostavená za účelom extrakcie vlastností, v procese detekcie falšovania potravín. Prístupy založené na optických analýzach sa považujú okrem iného za ekologické (bez vstupu chemických reagentov). Známych je niekoľko ďalších výhod tejto metódy, akými sú rýchlosť, efektivita dosahovania výsledkov a nízke náklady (Othman et al., 2023).

Metódy detekcie falšovania potravín založené na IoT

Umelá inteligencia spolu s IoT vytvára platformu pre zabezpečenie bezpečnosti a kvality potravín. Technológia IoT môže byť využitá za účelom detekcie falšovania. Pre zvýšenie kvality potravín môže byť integrovaná v rámci dodávateľského reťazca potravín, pre

monitoring podmienok a zdieľanie údajov so spotrebiteľmi. Systém funguje v troch fázach: Detekcia, Analýza a Predikcia. V prvom kroku sa údaje získavajú prostredníctvom rôznych senzorov. Ďalšiu fázu predstavuje navrhnutie a implementácia systému umelej inteligencie, ktorá využíva údaje získané zo senzorov. Systém kvality potravín môže byť postavený na sledovaní environmentálnych faktorov, akými sú: teplota, vlhkosť, obsah alkoholu či vystavenie pôsobeniu svetla, ktoré môžu negatívne ovplyvniť kvalitu potravín. V záverečnej fáze sa kreujú rozhodnutia o prítomnosti falšovania, predpovedá sa výsledok analýzy, či je zachovaná originalita produktu alebo sa jedná o falšovaný výrobok (Goyal et al., 2022).

Kontrola kvality potravín pomocou elektronických metód

Elektronický nos a elektronický jazyk sú zariadenia, ktoré fungujú rovnako ako ľudský nos a chuťové orgány, pozostávajú z radu senzorov. Tieto systémy nachádzajú uplatnenie v procese detekcie falšovania potravín, komplexné datasety získané zo senzorov týchto zariadení spolu s multivariačnou štatistikou tvoria rýchle a efektívne nástroje pre klasifikáciu, rozlišovanie, rozpoznávanie a identifikáciu vzoriek, ako aj predikciu úrovní koncentrácie rôznych zlúčenín (Roy et al., 2019). Pevné zlúčeniny sa analyzujú na základe ich textúry, tvaru, farby, tepelných a optických vlastností, v prípade tekutín sa analyzuje chuť a pri plynoch sa zastúpené zlúčeniny analyzujú na základe charakteristického pachu emitovaného z hodnotenej zmesi. Výhody strojového a hĺbkového učenia pre klasifikáciu a rozpoznávanie vzorov, na základe ktorých sa formuluje predpoklad o prítomnosti zložiek v produkte je možné implementovať aj v prípade spomenutých analytických metód. Pre vytvorenie počítačového systému detekcie falšovania potravín je potrebné využiť IoT zariadenia na zaznamenávanie údajov a modely strojového učenia na predpovede na základe získaných údajov (Goyal et al., 2022).

Príklady uplatnenia nástrojov umelej inteligencie pri odhaľovaní falšovania mäsa

Geng et al. (2022) využili kombináciu 3D digitálneho mikroskopického systému a konvolunčnej neurónovej siete (CNN) pri detekcii falšovaného mletého mäsa z rýb, kde dosiahli presnosť 93,27 % (Zhang et al., 2022b). Ďalej, vytvorili model CNN pre kvalitatívnu klasifikáciu a kvantitatívnu predikciu falšovania baraniny bravčovým mäsom, pričom dosiahli presnosť až 99,95 %, na základe hyperspektrálneho zobrazovania. CNN tiež dokázal rozlišovať termálne spektrá v zmesi falšovanej baraniny s bravčovým mäsom s presnosťou 99,97 % (Zheng et al., 2021). Okrem toho výkonnosť CNN prekonáva konvenčné metódy strojového učenia pri klasifikácii a regresii (Kong et al., 2022).

ZÁVER

Súčasné technológie prinášajú sofistikovanejšie nástroje detekcie falšovania mäsa. Pre jednoduché vzorky možno zvoliť ľahko reprodukovateľné metódy. Ak vzorky prešli procesom úpravy, napríklad boli uvarené, na rad prichádzajú molekulárne analýzy Vývoj v oblasti proteomiky posúva vpred identifikáciu a diferenciáciu peptidových bio-markerov medzi rôznymi druhmi mäsa, v surovom či tepelne spracovanom mäsovom produkte.

Cieľom tejto štúdie bolo spracovanie dostupnej literatúry so zameraním na oblasť autentifikácie mäsa a mäsových produktov, pri uplatnení nástrojov umelej inteligencie pre optimalizáciu získavania dát a ich analýzy v procese posudzovania originality produktov. V súčasnosti bolo publikovaných niekoľko štúdií zameraných na analýzu možností využitia techník strojového učenia pri detekcii falšovania potravín. Na základe publikovaných článkov, jednou z najväčších výziev je sprístupnenie získaných dát v online priestore, ich zdieľanie s cieľom formovania online databáz, s následným využitím v procese detekcie falšovaných potravín v globálnom spektre. V blízkej budúcnosti s veľkou pravdepodobnosťou pozornosť bude venovaná vývoju smartfónových aplikácií na detekciu falšovania potravín. Pre zabezpečenie funkčnosti takého systému nevyhnutnou bude integrácia so systémom detekcie falšovania potravín v reálnom čase.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Slovenskou agentúrou pre výskum a vývoj v rámci grantu zmluva č. APVV-19-0180.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Aida, A. A., Che-Man, Y. B., Wong, C. M. V. L., Raha, A. R., Son, R. 2005. Analysis of raw meats and fats of pigs using polymerase chain reaction for Halal authentication. *Meat Sci*, vol. 69, p. 47-52. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.06.020
2. Ballin, N. Z., Vogensen, F. K., Karlsson, A. H. 2009. Species determination - Can we detect and quantify meat adulteration? Meat Science, vol. 83, no. 2, p. 165−174. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.003
3. Barge, P., Biglia, A., Comba, L., Ricauda, A. D., Tortia, C., Gay, P. 2020. Radio Frequency Identification for meat supply chain digitalisation. *Sensors*, vol. 20, p. 4957. https://doi.org/10.3390/s20174957

4. Barge, P., Biglia, A., Comba, L., Gay, P., Ricauda, A. D., Tortia, C. 2019. The influence of food composition and tag ori-entation on UHF Rf Identification. *J. Food Eng*., vol. 246, p. 242-252. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.11.014
5. Böhme, K., Calo, M. P., Barros, V. J., Ortea, I. 2019. Review of recent DNA-based methods for main food authentication topics. *J. Agric. Food Chem*., vol. 67, p. 3854-3864. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b07016
6. Chakravartula, S. S. N., Moscetti, R., Bedini, G., Nardella, M., Massantini, R. 2022. Use of convolutional neural network (CNN) combined with FT-NIR spectroscopy to predict food adulteration: a case study on coffee. *Food Control*, vol. 135, p. 108816, https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108816
7. Chappalwar, A. M., Pathak, V., Goswami, M., Verma, A. K. 2020. Development of functional chicken patties with incorporation of mango peel powder as fat replacer. *Nutrition & Food Science*, vol. 50, no. 6, p. 1063-1073, https://doi.org/10.1108/NFS-07-2019-0230
8. Comba, L., Belforte, G., Gay, P. 2011. Modeling techniques for thecontrol of thermal exchanges in mixed continuous-discontinu-ous flow food plants. *J. Food Eng*., vol. 106, p. 177-187. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.04.015
9. Esteki, M., Cardador, M. J., Jurado, C. N., Martín, G. A., Arce, L., Simal, G. J. 2021. Chapter 8 - Innovations inanalytical methods for food authenticity. *Innov. Food Analysis*, p. 181-248. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819493-5.00008-X
10. Everstine, K., Spink, J., Kennedy, S. 2013. Economically motivated adulteration (EMA) of food: common characteristics of EMA incidents. *J. Food Protect*., vol. 76, no. 4, p. 723-735. https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-12-399
11. Geng, J., Liu, J., Kong, X., Shen, B., Niu, Z. 2022. The fishmeal adulteration identification based on microscopic image and deep learning. *Comput. Electron. Agric*., vol. 198, p. 106974. https://doi.org/10.1016/j.compag.2022.106974
12. Goyal, K., Kumar, P., Verma, K. 2022. Archives of Computational Methods in Engineering. *Archives of Computational Methods in Engineering,* vol. 29, p. 397-426. https://doi.org/10.1007/s11831-021-09600-y
13. Kolasa, K. M. 2021. *Food Fraud: A global threat with public health and economic consequences.* Hellberg, R., Everstine, K., Sklare, S. editors. 2020. Academic Press, an imprint of Elsevier, 50 Hampshire St, 5th Fl, Cambridge, MA 02139. Softcover book, 414 pp, ISBN: 9780128172421.
14. Kong, D., Shi, Y., Sun, D., Zhou, L., Zhang, W., Qiu, R., He, Y. 2022. Hyperspectral imaging coupled with CNN: a powerful approach for quantitative identification of

feather meal and fish by-product meal adulterated in marine fishmeal. *Microchem. J.,* vol. 180, p. 107517. https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107517

15. Kutyauripo, I., Rushambwa, M., Chiwazi, L. 2023. Artificial intelligence applications in the agrifood sectors, *J. Agric. Food Res*, vol. 11, p. 100502. https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100502
16. Ong, S. B,, Zuraini, M. I., Jurin, W. G., Cheah, Y. K., Tunung, R., Chai, L. C.,Haryani, Y., Ghazali, F. M., Son, R., 2007. Meat molecular detection: sensitivity of polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism in species differentiation of meat from animal origin. *ASEAN Food J*., vol. 14, no. 1, p. 51-59.
17. Othman S., Mavani, N. R. Hussain, M.A. Rahman, N. A., Ali, J.M. 2023. Artificial intelligence-based techniques for adulteration and defect detections in food and agricultural industry: A review. *Journal of Agriculture and Food Research*, vol. 12, p. 100590. https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100590
18. Rajesh, N., Jarinah, M., Ali, M., Othman, S., Hashim, M. A. H. H. 2021. Application of artificial intelligence in food industry - a guideline. *Food Eng. Rev.,* p. 0123456789. https://doi.org/10.1007/s12393-021-09290-z
19. Roy, R. B., Bipan, T., Rajib, B., Nabarun, B. 2019. 8 - Application of Electronic Nose and Tongue for Beverage Quality Evaluation. *The Science of Beverages*, vol. 3, p. 229-254. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815258-4.00008-1
20. Rozali, N. L., Azizan, K. A., Singh, R., Jaafar, S. N. S., Othman, A., Weckwerth, W., Ramli, U. S. 2023. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy approach combined with discriminant analysis and prediction model for crude palm oil authentication of different geographical and temporal origins. *Food Control*, vol. 146, p. 109509. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109509
21. Soon, J. M., Manning, L. 2019. Developing anti - counterfeiting measures: The role of smart packaging. *Food Res. Int*., vol. 123, p. 135-143. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.04.049
22. Spink, J. W. 2019. The current state of food fraud prevention: overview and requirements to address 'How to Start?' and 'How Much is Enough?'. *Curr. Opin. Food Sci.,* vol. 27, p. 130-138. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.06.001
23. Spink, J., Moyer, D. C. 2011. Defining the public health threat of food fraud. *J. Food Sci.,* vol. 76, p. 157-163. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02417.x
24. Ševcová, K, Zajác, P., Čapla, J., Čurlej, J. 2021. Development of the food act of the Slovak Republic from 1995 to 2021. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 15, p. 982-994. https://doi.org/10.5219/1689

25. Ulberth, F. 2020. Tools to combat food fraud-a gap analysis. *Food Chemistry*, vol. 330, no. 15, p. 127044. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127044
26. Zhang, Y., Zheng, M., Zhu, R., Ma, R. 2022a. Detection of adulteration in mutton using digital images in time domain combined with deep learning algorithm. *Meat Sci.* vol. 192, p. 108850. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.108850
27. Zhang, Y., Zheng, M., Zhu, R., Ma, R. 2022b. Adulteration discrimination and analysis of fresh and frozen-thawed minced adulterated mutton using hyperspectral images combined with recurrence plot and convolutional neural network. *Meat Sci.,* vol. 192, p. 108900. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.108900
28. Zheng, M., Zhang, Y., Gu, J., Bai, Z., Zhu R. 2021. Classification and quantification of minced mutton adulteration with pork using thermal imaging and convolutional neural network. *Food Control*, vol. 126, p. 108044. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108044

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

VLIV SOUS-VIDE METODY NA BAREVNÉ PARAMETRY A pH U VEPŘOVÉHO MASA

THE INFLUENCE OF THE SOUS-VIDE METHOD ON THE COLOR PARAMETERS AND pH OF PORK MEAT

Doležalová Jana, Ježek František, Žilka Daniel

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

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the color parameters and pH of the *m. infraspinatus* and *m. gluteus maximus* before and after processing by the sous vide method at temperatures of 60 and 75°C in times of 1, 2, 3 hours. There was a change (P<0.005) in all color parameters after sous vide treatment, in the a* parameter of the *m. gluteus maximus* only at a temperature of 60°C. Lightness L* of pork meat was statistically significant only in the *m. gluteus maximus* in 1h/60°C and 2h/75°C (P<0.05). For the parameter a*, there was an increase in the value at temperatures of 2h/60°C and 2h/75°C, but then a decrease at 3h. Statistical significance was demonstrated for the *m. infraspinatus* at 2 and 3h/75°C, 2h/60°C and 2h/75°C, for the *m. gluteus maximus* at 2h/60°C and 2h/75°C, then at 3h/ 60°C and 3h/75°C and 1/h75°C and 2h/75°C. P<0.05 in all cases. For the b* parameter, statistical significance was demonstrated only in the *m. gluteus maximus* at 2h/60°C and 2h/60° (P<0.001) and further at 2h/60°C and 2h/75°C and at 3h/60° C and 3h/75°C (P P<0.005). The pH values were higher at all times and temperatures in comparison to the meat at the beginning of the measurement, except for the pork tip at 2h/75°C. No statistical significance was found in the dependence of drip loss on increasing pH.

Keywords: CIE L*a*b*, Superchroma S-Spex, pH value, drip loss

ÚVOD

V současné době stále drtivá většina populace zůstává u konzumace masa, ikdyž se mezi spotřebiteli vyskytuje také určité množství jedinců, kteří vyznávají různé způsoby stravování, při nichž ke konzumaci masa nedochází. K nejčastějším metodám tepelného opracování patří pečení, smažení, grilování, dušení, uzení nebo opékání. Tyto tepelné úpravy doplňuje i metoda sous-vide, kterou poprvé popsal Benjamin Thompson v roce 1799 a znovu byl o tuto metodu projeven zájem v 70. letech minulého století.

Sous-vide je francouzský výraz pro „ve vakuu“ nebo „pod tlakem (Baldwin, 2012). To znamená, že syrová potravina je vakuově zabalena v tepelně stabilních plastových sáčcích a její

následné vaření probíhá pomocí přesně řízeného ohřevu a daného času ve vodní lázni či v páře. Tím je umožněn efektivní přenos tepla z vody nebo páry do potraviny. Využívá se nižších teplot a delšího času s ohledem na druh masa. Maso si zachová tvar, zvyšuje se křehkost a uchování přírodních šťáv (Botinestean et al., 2016). Menší nevýhodou u této tepelné úpravy je nedostatek rozsáhlých Maillardových reakcí (MR) na povrchu masa, které probíhají během úprav za vyšších teplot a jsou mimo jiné odpovědné za vývoj chuti a především za hnědou barvu na povrchu masa. (Roldan et al., 2015, Sanchez del Pulgar et al., 2012).

Barva masa je důležitý parameter, který hraje u spotřebitelů nemalou roli a je ovlivněna rychlostí změny teploty a časem při konkrétní teplotě. Obecně platí, že čím vyšší je rychlost ohřevu, tím červenější bude barva masa a čím delší bude doba při dané teplotě, tím bude barva masa bledší (Baldwin, 2012). Důvodem je denaturace oxymyoglobinu a deoxymyoglobinu na metmyoglobin v průběhu zahřívání. Poměr oxymyoglobinu, deoxymyoglobinu a metmyoglobinu určuje konečnou barvu vařeného masa.

Cílem této studie bylo stanovení barevných parametrů a pH u vepřové plece a špičky před a po úpravě metodou sous vide při teplotách 60 a 75°C v časech 1,2,3 hodiny a následné porovnání mezi jednotlivými faktory.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky vepřového masa byly zakoupeny od společnosti Steinhauser, s.r.o., konkrétně se jednalo o vzorky vepřové plece *(m. infraspinatus)* a vepřové špičky (*m. gluteus maximus)*, každý o váze asi 1 kg. Vepřové maso bylo nakrájeno na 7 plátků silných 1-2 cm. Jeden z plátků masa byl použit na měření parametru odkapu, ztráty a vaznosti masa. Byla použita zkouška na ztrátu odkapáním podle Honikela (1998). Podle této metody bylo maso umístěno do nádoby na podpůrnou síťku a utěsněno víčkem. Po období skladování (obvykle 24 hodin) při chladírenských teplotách (1 až 5 °C) se vzorky znovu zváží. V našem případě byl použit plastový kelímek o objemu 500 ml, zkouška trvala 24 hod při teplotě 4 °C.

Hodnoty pH byly stanoveny pH-metrem, Thermo Scientific Orion 4-Star (Thermo Fisher, USA) pomocí vpichové elektrody Orion model 420 A (Hamilton, USA). Před začátkem měření byla provedena kalibrace elektrody pomocí tří pufrů o hodnotách pH 4,0; 7,0 a 10,0.

Barva masa byla stanovena v systému CIELAB pomocí přenosného spektrofotometru Superchroma S – spex (Byk Gardner, Německo) využívající jako zdroj sférickou geometrii d/8°, světlo D65, standardní úhel pozorovatele je nastaven na 10° a průměr otvoru je 8 mm. Kalibrace byla provedena pomocí černého (L* = 0) a bílého standardu (L* = 100) a kontrola stability pomocí zeleného standardu. Všechna měření byla prováděna přes průtažnou tenkou polyetylenovou fólii, z důvodu zabránění znečištění přístroje. Měření bylo prováděno na

každém kusu třikrát, výsledná hodnota je průměrem těchto tří měření. Měření bylo prováděno na čerstvé řezné ploše. Po tepelné úpravě byla měření barvy prováděna po vychlazení masa obdobným způsobem jako u masa syrového.

Maso pro sous vide úpravu bylo baleno do varných sáčků Cryovac® CN 300 o tloušťce 60 µm a OTC (rychlost přenosu kyslíku) 13 cm3 / m2 /24 h/ bar při 23 °C a 0 % vlhkosti vzduchu (Sealed Air Polska Sp. Z o. o., Ożarów Mazowiecki, Polsko). Balení bylo provedeno pomocí zařízení Henkelman Lynx 32 (Henkelman Vacuum Systems, Hertogen-bosch, Nizozemí). Tepelné opracování bylo provedeno při teplotách 60 a 75 °C ve vodní lázni Softcooker Y09 (La Felsinea S.R.L., Tiazzola Sul Brenta, Itálie).

Warner-Bratzlerovy smykové testy vepřového masa byly provedeny pomocí univerzálního testovacího stroje (Instron 5544, Software IX Series, USA). Z masa byly vyříznuty vzorky obdélníkového průřezu 1 x 1 cm a 2 cm podél osy vlákna. Tyto vzorky byly stříhány v pravých úhlech k ose vlákna pomocí W-B střižného ostří s pravoúhlým otvorem. Čepel (nůž ve tvaru V) se pohybovala ke vzorku rychlostí 80 mm/min. Výsledek měření určí tvrdost masa, vyjádřený maximální silou (N) v závislosti na posunutí nože (mm) a tlak potřebný k přestřižení vzorku masa (MPa). Parametrem měřeným z křivky deformace síly byla maximální smyková síla (N). Počítač zaznamená průběh síly v závislosti na době analýzy až do úplného přestřižení vzorku. Průměr šesti hodnot smyku představoval parametr smyku W-B pro každý analyzovaný vzorek.

Výsledky byly statisticky zpracovány pomocí programu Microsoft Excel. Byl vypočten aritmetický průměr, směrodatná odchylka, korelace a mezi syrovým masem a masem upraveným sous-vide při teplotách 60 a 75 °C ve všech časech (1,2,3 hod.) byl proveden párový t-test, stejně jako při porovnání teplot po tepelné úpravě.

VÝSLEDKY A DISKUZE

V tabulce č. 1 jsou uvedeny výsledné hodnoty parametrů L*a* a *a pH vepřové plece. U parametru L* jsou po tepelné úpravě sous vide všechny hodnoty vyšší, což dokazuje světlejší barvu masa po tepelné úpravě. Mezi čerstvým a tepelně upraveným masem byly při všech teplotách a časech všechny hodnoty statisticky významné ($P<0,005$). Při porovnání teplot nebyly vzorky plece statisticky významné ($P>0,05$).

U parametru a* jsou mezi čerstvou a tepelně upravenou plecí statisticky významné rozdíly ve všech případech ($P<0,005$). Po tepelné úpravě došlo k nárůstu hodnot. Nejvyšší hodnota byla 8,39 ± 4,33 při 2h/60°C. U tepelně upraveného masa statistická významnost byla prokázána při 2 a 3h/75°C ($P<0,05$) a při 2h/60°C a 2h/75°C($P<0,05$).

U parametru b* jsou taktéž mezi čerstvou a tepelně upravenou plecí statisticky významné rozdíly ve všech případech (P<0,005), ale u tepelně upravené vepřové plece v žádném čase statistická významnost prokázána nebyla (P>0,05).

Hodnoty pH vepřové plece se pohybují v rozmezí od 5,81 ± 0,39 pro čerstvou plec až po 6,12 ± 0,32 pro 2h/60°C. Statistická významnost nebyla prokázána mezi čerstvým a tepelně upraveným masem ani pro tepelně upravené maso v různých časech a teplotách (P>0,05).

Tabulka č. 1, Výsledné parametry L*a*b* a pH u vepřové plece

	Čas[hod]	L*	a*	b*	pH
Čerstvé maso	0	50,84 ± 3,37	3,67 ± 2,87	6,42 ± 1,34	5,81 ± 0,39
Sous vide 60 °C	1	65,90 ± 7,52	7,32 ± 1,91	14,31 ± 3,24	5,88 ± 0,24
	2	64,78 ± 7,14	8,39 ± 4,33	14,79 ± 0,73	6,12 ± 0,32
	3	67,88 ± 3,96	6,90 ± 1,73	14,90 ± 1,51	5,97 ± 0,25
Sous vide 75°C	1	63,81 ± 10,23	6,21 ± 3,11	13,25 ± 1,06	5,98 ± 0,25
	2	62,80 ± 10,82	6,59 ± 4,45	13,22 ± 2,12	5,99 ± 0,26
	3	64,15 ± 9,86	5,50 ± 4,61	14,01 ± 1,89	6,07 ± 034

V tabulce č. 2 jsou uvedeny výsledné hodnoty parametrů L*a* a *a pH vepřové špičky. Ve srovnání s vepřovou plecí i zde došlo k nárůstu hodnot, po teplené úpravě bylo maso světlejší. Nejvyšší hodnota byla 61,01 ± 7,94 při 1h/60°C. Mezi čerstvým a tepelně upraveným masem byly při všech teplotách a časech všechny hodnoty statisticky významné (P<0,05). Při porovnání teplot byly vzorky plece statisticky významné při 1h/60°C a 2h/75°C (P<0,05).

U parametru a* jsou mezi čerstvou a tepelně upravenou plecí statisticky významné rozdíly pouze u teploty 60°C (P<0,005), při 75°C průkaznost prokázana nebyla (P>0,05). U tepelně upravené vepřové špičky byla průkaznost prokázana při 2h/60°C a 2h/75°C (P<0,05), dále při 3h/60°C a 3h/75°C a 1/h75°C a 2h/75°C (P<0,05).

U parametru b* jsou opět mezi čerstvou a tepelně upravenou vepřovou špičkou statisticky významné rozdíly ve všech případech (P<0,005). Pro tepelně upravené maso byla statistická významnost prokázána při 2h/60°C a 2h/60° (P<0,001) a dále při 2h/60°C a 2h/75°C a při 3h/60°C a 3h/75°C (P P<0,005). Hodnoty parametru b* se pohybovaly v rozmezí od 6,38 ± 1,11 pro čerstvé maso až po 15,35 ± 1,58 pro 3h/60°C.

V našem případě u všech parametrů obou druhů mas došlo po tepelné úpravě sous vide k nárůstu hodnot všech parametrů. Kurp et al. (2022) se zabývali podobnou tématikou, u parametru a* v

jejich případě, ale došlo k poklesu hodnot ve srovnání s čerstvým masem. Odlišnost může být způsobena jiným druhem masa, v jejich případě použili vepřovou panenku, popřípadě jinou sférickou geometriií přístroje.

Hodnoty pH u vepřové špičky jsou vyšší než u vepřové plece. Statistická významnost nebyla prokázána mezi čerstvým a tepelně upraveným masem ani pro tepelně upravené maso v různých časech a teplotách ($P>0,05$). Hodnota pH vepřové špičky se pohybuje pod hodnotou 6, v našem případě byly pravděpodobně zahrnuty i vzorky masa s vadou DFD, tedy hodnota $pH_{24}>6,0$ (Guárdia et al., 2005). Obdobný jev není neobvyklý, Faucitano et al. (2010) zjistili u 500 sledovaných vepřových pečení výskyt této vady ve 2 %.

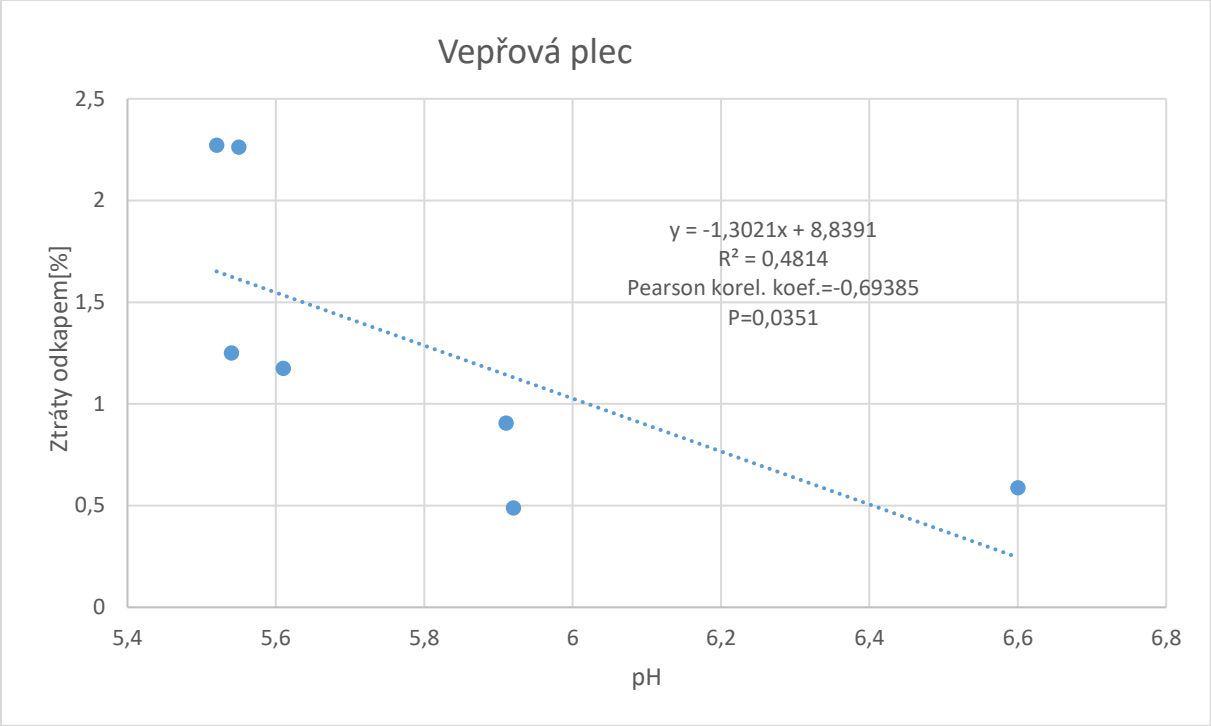
Tabulka č. 2, Výsledné parametry L*a*b* a pH u vepřové špičky

	Čas[hod]	L*	a*	b*	pH
Čerstvé maso	0	47,38 ± 3,26	6,45 ± 2,69	6,38 ± 1,11	6,12 ± 0,41
Sous vide 60°C	1	61,01 ± 7,94	9,18 ± 3,20	14,36 ± 2,60	6,14 ± 0,35
	2	58,41 ± 6,17	8,99 ± 2,33	13,60 ± 2,13	6,18 ± 0,28
	3	59,77 ± 4,64	9,09 ± 0,74	15,35 ± 1,58	6,18 ± 0,27
Sous vide 75°C	1	54,02 ± 6,13	8,22 ± 1,87	12,27 ± 1,43	6,23 ± 0,32
	2	56,51 ± 7,99	5,18 ± 1,53	11,71 ± 1,62	6,10 ± 0,34
	3	54,41 ± 8,00	6,64 ± 1,74	11,86 ± 2,71	6,18 ± 0,27

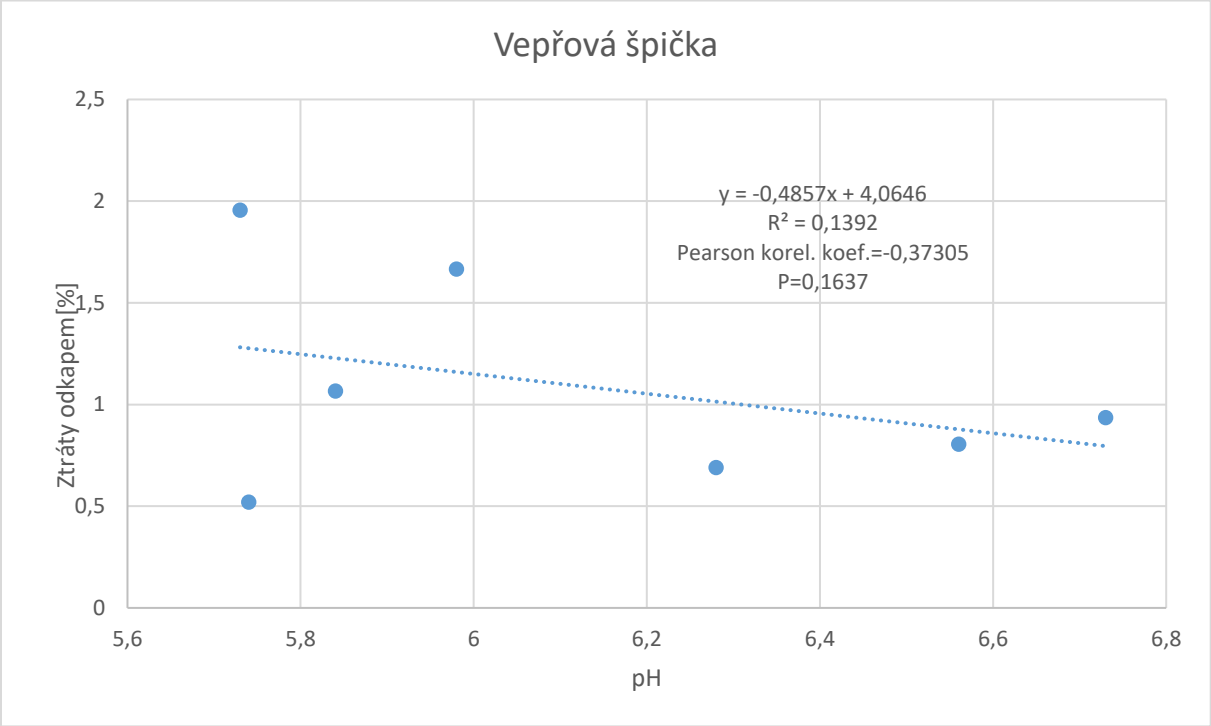
Ztráta odkápáním patří mezi přímé metody hodnocení schopnosti masa vázat vodu. V grafu č. 1 a č. 2 je znázorněna korelace ztrát odkapáním a hodnot pH. Průměrná hodnota ztráty odkapem u vepřové plece byla 1,28% a u vepřové špičky 1,09%. Nejedná se sice o statisticky významnou závislost ($P>0,05$), ale i tak je v grafu patrný trend, že se zvyšujícím se pH, se ztráty odkapem snižují (Ježek et al., 2023).

V tabulce č. 3 jsou uvedené průměrné hodnoty střižné síly získané W-B testem. Se zvyšující se teplotou dochází k nárůstu hodnot, což potvrzuje skutečnost, že maso při teplotě 75°C se vyznačuje větší tuhostí. Podle Destefanise et al. (2008), kteří klasifikovali hovězí maso na stupně křehkosti: „velmi jemné“ (WBs <32,96 N), „jemné“ (WBs 32,96 – 42,77 N), „přijatelně jemné“ (WBs 42,87 – 52,68 N), „tvrdé“ (WBs 52,78 – 62,59 N) a „velmi tvrdé“(WBs> 62,59 N), by hodnota 58,58 ± 14,31 u vepřové plece odpovídala klasifikaci „tvrdé“ a hodnota 44,21± 6,65 u vepřové špičky by spadala do kategorie „přijatelně jemné”.

Graf č. 1, Korelace ztrát odkapáním a hodnot pH u vepřové plece



Graf č. 2, Korelace ztrát odkapáním a hodnot pH u vepřové špičky



Tabulka č. 3, Hodnoty Warner – Bratzlerova testu (WB) u vepřového masa

Druh masa	Čas[hod]	teplota[°C]	WB[N]
Vepřová plec	2	0	31,48 ± 9,74
		60	34,80 ± 15,99
		75	58,58 ± 14,31
Vepřová špička	2	0	21,76 ± 4,97
		60	37,70 ± 11,03
		75	44,21 ± 6,65

ZÁVĚR

Zvolená tepelná úprava sous vide je vhodnou metodou pro úpravu masa. Ve všech parametrech barvy došlo ke změně. stejně tak i u pH, kde ale rozdíly nebyly statisticky významné. Pro konzumenty, kteří mají rádi maso více barevně výrazné, je možné maso dodatečně upravit opečením na pánvi. Z výsledku WB testu se jeví jako vhodnější teplota pro sous vide do 75°C.

POUŽITÁ LITERATURA

1. BALDWIN, D. E. Sous vide cooking: A review. In *International Journal of Gastronomy and Food Science*. ISSN 1878-450X 2012, vol. 1, no.1, 15–30.
2. BOTINESTEAN, C. et al. The effect of thermal treatments including sous-vide, blast freezing and their combinations on beef tenderness of *M. semitendinosus* steaks targeted at elderly consumers. In *LWT- Food science and Technology*. ISSN 0023-6438, 2016, vol. 74, p. 154-159.
3. DESTEFANIS G. et al. Relationship between beef consumer tenderness perception and Warner–Bratzler shear force. In *Meat Science.* ISSN 0309-1740, 2008, vol. 78, p. 153-156.
4. FAUCITANO, L. et al. Shelf life of pork from five different quality classes. In *Meat Science*. ISSN 0309-1740, 2010, vol. 84, p. 466–469.
5. GUÀRDIA, M.D. et al. Risk assessment of DFD meat due to pre-slaughter conditions in pigs. In *Meat Science*. ISSN 0309-1740, 2005, vol. 70, p. 709–716.
6. HONIKEL, K. O. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. In *Meat Science*. ISSN 0309-1740, 1998, vol. 49, no. 4, p. 447-457.
7. JEŽEK, F. et al. Vrchní šál, spodní šál, ořech a květová špička: chemické složení, hodnota pH a ztráta odkapáním z hlediska technologického použití vepřové kýty v masné výrobě. In *Maso*. ISSN 1210-4086, 2023, vol. 34, no.2, p. 18-24.

8. KURP, L. et al. Sous Vide Cooking Effects on Physicochemical, Microbiological and Sensory Characteristics of Pork Loin. In *Applied Sciences-Basel*. ISSN 2076-3417, 2022, vol. 12, no. 5, 2365.
9. ROLDAN, M. et al. Advanced glycation end products, physico-chemical and sensory characteristics of cooked lamb loins affected by cooking method and addition of flavour precursors. In *Food Chemistry*. ISSN 0308-8146, 2015,vol. 168, p. 487–495.
10. SANCHES DEL PULGAR, J. et al. Physico-chemical, textural and structural characteristics of sous-vide cooked pork cheeks as affected by vacuum, cooking temperature, and cooking time. In *Meat Science*. ISSN 0309-1740, 2012, vol. 90, no. 3, p. 828-835.

Kontaktní adresa: Ing. Jana Doležalová, Ph.D., Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika; E-mail: dolezalovaj@vfu.cz

MRAZENÉ OVOCIE A ZELENINA: BEZPEČNOSŤ A KVALITA PRE VEREJNÉ ZDRAVIE

FROZEN FRUITS AND VEGETABLES: SAFETY AND QUALITY FOR PUBLIC HEALTH

Dudriková Eva,[1] Zahumenská Jana,[1] Kováčová Mariana,[1] Lovayová Viera[2]

Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva v Košiciach, [2]Ústav lekárskej a klinickej mikrobiológie, LF UPJŠ v Košiciach

ABSTRACT

The goal of this presentation is description of benefits of frozen vegetables and fruits in human nutrition and important aspects of their quality. The benefits of eating frozen foods can include: (1) Nutritional values: Frozen vegetables and fruits retain most of their vitamins and nutrients because they are frozen right after harvest, when they are at the peak of their freshness and ripeness. This process minimizes the loss of nutrients, unlike canned vegetables and fruits, which are often heat-treated. (2) Shelf life: Frozen fruits and vegetables have a longer shelf life than fresh ones because freezing stops the ripening process and helps prevent decay. This allows consumers to have access to a wide variety of vegetables and fruits throughout the year, regardless of the season. (3) Convenience and availability: Frozen vegetables and fruits are readily available. They are packed in convenient portions and are ready to use, which makes meal preparation easier and saves time. (4) Variety: Frozen vegetables and fruits offer a wide range of options from single-species packages of frozen fruits (e.g. strawberries, raspberries, blueberries) vegetables (e.g. peas, beans) to vegetable and fruit mixes (e.g. vegetable soup mix, forest fruits) to special mixes or exotic fruits (e.g. mangoes, pineapple) that would be difficult to find out of season. (5) Price: Frozen fruits and vegetables can be more affordable than their fresh equivalents, especially out of season or in areas where fresh produce cannot be sourced locally. (6) Ways of use: Frozen vegetables and fruits are used in a wide range of recipes, from smoothies to soups and main dishes. They are also ideal for obtaining readily available vitamins and nutrients in the consumer's diet.

Key words: frozen fruits and vegetables, safety, quality, public health

ÚVOD

Na základe dostupných štatistických údajov o spotrebe základných potravín a nápojov na osobu za rok 2021 v porovnaní s rokom 2020 na Slovensku (údaje za rok 2022 ešte neboli zverejnené) bolo zaznamenané zníženie spotreby alkoholických nápojov o 9,5 %, cukru o 7,8 %,

nealkoholických nápojov o 5,1 %, obilnín o 4,8 % a tukov a olejov o 3,2 %. Toto zníženie možno hodnotiť pozitívne. Naopak, zvýšila sa spotreba mlieka a mliečnych výrobkov o 4,9 %, ovocia a ovocných výrobkov o 2,2 % a mäsa o 1,7 % (Sitárová, 2022). Spotreba zeleniny a zeleninových výrobkov klesla o 2,5 kg (2,3 %), čo predstavuje 104,5 kg, pričom spotreba čerstvej zeleniny klesla o 4,2 kg (4,8 %) na 71,1 kg. V porovnaní s rokom 2019/2020 mali vyššiu spotrebu zeleniny Rakúsko (116,7 kg) a Nemecko (105,6 kg). V Česku bola spotreba zeleniny v roku 2020 93,2 kg, na Slovensku 107 kg. Spotreba ovocia a ovocných výrobkov sa zvýšila o 1,5 kg (2,2 %) na 71,1 kg, pričom najväčší podiel na tomto zvýšení mali mandarínky (o 1,2 kg), pomaranče (o 1 kg) a banány (o 1,3 kg). Spotreba jabĺk naopak klesla o 2,5 kg. V roku 2019/2020 mali v štátoch strednej Európy najvyššiu spotrebu ovocia Nemecko (70,8 kg), Rakúsko (76,2 kg) a Poľsko (58,0 kg). V roku 2020 dosiahla spotreba ovocia na Slovensku 69,6 kg na osobu, zatiaľ čo v Česku to bolo 87,8 kg. V tomto štatistickom prehľade nie sú uvedené údaje o spotrebe mrazenej zeleniny a ovocia ani o konzervovaných neúdržných potravinách, ktoré tiež predstavujú dôležitý podiel na trhu. Ovocie a zelenina majú v ľudskej výžive nenahraditeľné miesto vďaka vysokému obsahu vitamínov, minerálnych látok, vlákniny a ďalších dôležitých látok ako antioxidanty, flavonoidy či enzýmy, ktoré pozitívne ovplyvňujú fyziologické procesy v organizme, zlepšujú kondíciu, posilňujú imunitný systém a sú zdrojom prírodnej energie (Dudriková et al., 2022; Jiang et al., 2022; Bouzari et al., 2015; Rickman et al., 2007). Tiež pozitívne ovplyvňujú mnohé chronické ochorenia a mentálne zdravie (Pathak, 2022; Głąbska et al., 2020; Wallace et al., 2020; Chapman et al., 2016). Cieľom príspevku je na základe literárnych údajov domácich a zahraničných autorov opísať: (1) benefity konzumácie mrazeného ovocia a zeleniny; (2) faktory ovplyvňujúce kvalitu a bezpečnosť mrazeného ovocia a zeleniny; (3) dôležité aspekty kvality a bezpečnosti mrazeného ovocia a zeleniny.

MATERIÁL A METODIKA

Na dosiahnutie zadaných cieľov práce boli použité v súčasnosti dostupné zdroje vedeckých a odborných zdrojov z domácej a svetovej literatúry.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Nie každé ovocie a zelenina sú dostupné v obchodnej sieti počas celého roka. Preto, ale aj z hľadiska predĺženia trvanlivosti dochádza v potravinárskom priemysle k využívaniu takých technológií, ktoré sú šetrné k výživovým faktorom takto spracovávaných komodít. Je všeobecne známe, že čerstvé a mrazené produkty sa často líšia najmä v cene a mnohí konzumenti dávajú prednosť čerstvým výrobkom pred mrazenými a konzervovanými.

Z mnohých vedeckých štúdií vyplýva, že zmeny v kvalite mrazených potravín rastlinného pôvodu nie sú vysoké a pri dodržaní technologických postupov, hygienických zásad výroby a systému HACCP nie je dôvod obávať sa konzumácie takýchto potravín.

Preto medzi benefity konzumácie mrazeného ovocia a zeleniny možno zahrnúť:

- **Výživové hodnoty**: Mrazená zelenina a ovocie zachovávajú väčšinu svojich vitamínov a živín, pretože sú mrazené tesne po zbere, keď sú na vrchole svojej čerstvosti a zrenia. Tento proces minimalizuje stratu živín, na rozdiel od konzervovanej zeleniny a ovocia, ktorá je často tepelne spracovaná.

  Mrazená zelenina:

  - ✓ Obsahuje vlákninu, vitamíny (napr. vitamín C, vitamín A), minerálne látky (napr. draslík, železo) a antioxidanty.
  - ✓ Výživová hodnota môže byť podobná čerstvej zelenine, keďže mrazenie zastavuje procesy, ktoré by mohli spôsobiť stratu živín.

  Mrazené ovocie:

  - ✓ Obsahuje vlákninu, vitamíny (napr. vitamín C, vitamín K), minerálne látky (napr. draslík, vápnik) a antioxidanty.
  - ✓ Mrazenie môže mať vplyv na textúru ovocia, ale výživová hodnota sa zvyčajne zachováva.

  Mrazené bylinky:

  - ✓ Obsahujú vitamíny (napr. vitamín K, vitamín C), minerálne látky (napr. železo, vápnik) a antioxidanty.
  - ✓ Mrazenie môže ovplyvniť chuť a textúru, ale väčšina živín sa zachováva.

- **Trvanlivosť**: Mrazené ovocie a zelenina majú dlhšiu trvanlivosť ako čerstvé, pretože mrazenie zastaví proces zrenia a pomáha predchádzať rozkladu. To umožňuje spotrebiteľom mať prístup k širokej škále zeleniny a ovocia po celý rok, bez ohľadu na sezónu.

- **Pohodlie a dostupnosť**: Mrazená zelenina a ovocie sú ľahko dostupné. Sú balené vo vhodných porciách a sú pripravené na použitie, čo uľahčuje prípravu jedál a šetrí čas.

- **Rozmanitosť**: Mrazená zelenina a ovocie ponúkajú širokú škálu možností od jednodruhových balení mrazeného ovocia (napr. jahody, maliny, čučoriedky) zeleniny (napr. hrášok, fazuľka) po zeleninové a ovocné zmesi (napr. zeleninová zmes do polievky, lesné ovocie) po špeciálne zmesi alebo exotické ovocie (napr. mango, ananás), ktoré by boli mimo sezóny ťažko dostupné.

- **Cena**: Mrazené ovocie a zelenina môžu byť cenovo dostupnejšie ako ich čerstvé ekvivalenty, najmä mimo sezóny alebo v oblastiach, kde nie je možné získať čerstvé produkty z miestnych zdrojov.
- **Spôsoby použitia**: Mrazená zelenina a ovocie sú využívané v širokom spektre receptov, od smoothies až po polievky a hlavné jedlá. Sú tiež ideálne na získanie ľahko dostupných vitamínov a živín v strave konzumentov.

Je všeobecne známe, že proces mrazenia nezničí všetky výživové faktory v ovocí alebo zelenine. Obsah živín sa môže znížiť tak pri čerstvých, ako aj mrazených výrobkoch. V prípade, že je mrazený produkt uskladnený po dlhú dobu, môže dôjsť k štiepeniu niektorých zložiek, pričom tento proces sa pri niektorých živinách môže začať pri uskladnení dlhšom než jeden rok. Na kvalitu a bezpečnosť mrazeného ovocia a zeleniny má vplyv mnoho faktorov (Kamboj et al., 2020; Parren˜o a Torres, 2015; Phothiset and Charoenrein, 2014; Chassagne-Berces et al., Abbott, 2004; 2009; Sousa et al., 2006). Významná je kvalita vstupnej čerstvej suroviny, pretože ovocie a zelenina môže ľahko podliehať nepriaznivým senzorickým, fyzikálno-chemickým zmenám. Na vzniku chýb sa môže podieľať nevhodná mikrocenóza, najčastejšie sa jedná o nežiaduce mikroorganizmy, ktoré vyvolávajú kazenie, ale môžu byť aj príčinou alimentárnych ochorení (napr. rod *Salmonella, E. coli, Listeria monocytogenes*, vírusy, mikroskopické vláknité huby a kvasinky) (Camboy et al., 2020; Ortiz-Sola et al., 2020; Cinar and Onbaşi, 2019; Jha, 2019; Nasheri et al., 2019; WHO, 2019; Vojkovska et al., 2017; CFIA, 2017; CDC, 2016). Opomenúť nemožno ani parazity, ako rod *Giardia, Cryptosporidium,* izolácia ktorých je známa z listového šalátu, jahôd a pod. (Trelis et al., 2022; Kim et al., 2021; Mridha et al., 2017; Paramithiotis et al., 2017; Dixon, 2016; Freedman et al., 2016; Marques et al., 2016; Vaerewijck et al., 2011; Cook et al., 2007).

Kvalita ovocia a zeleniny po mrazení môže závisieť od niekoľkých faktorov, ale všeobecne platí, že mrazenie je účinný spôsob zachovania výživných hodnôt a chuti. Tu je niekoľko dôležitých aspektov kvality a bezpečnosti mrazeného ovocia a zeleniny:

1. **Zachovanie výživných hodnôt**: Mrazenie je jedným z najlepších spôsobov zachovania vitamínov, minerálov a ďalších živín v ovocí a zelenine. To je spôsobené tým, že mrazenie rýchlo zastaví metabolické procesy a enzymatické reakcie, ktoré by mohli spôsobiť stratu živín.
2. **Textúra a chuť**: Mrazené ovocie a zelenina môžu mať niekedy odlišnú textúru a chuť v porovnaní s čerstvými. Niektoré druhy ovocia a zeleniny môžu po rozmrazení byť mierne mäkšie alebo tekutejšie. Avšak väčšina ľudí stále považuje ich chuť za prijateľnú.

3. **Vzhľad**: Pri mrazení môže dôjsť k drobným zmenám vo vzhľade ovocia a zeleniny, najmä ak je mrazená zelenina predbežne blanšírovaná (krátko povarená vo vriacej vode). Napríklad zelenina môže po mrazení vyzerat trochu menej žiarivo.
4. **Strata niektorých vlastností**: Mrazenie môže v niektorých prípadoch spôsobiť stratu niektorých vlastností ovocia a zeleniny, ako je napríklad šťavnatosť. Niektoré druhy ovocia a zeleniny, ako napríklad citrusové plody, môžu mať po rozmrazení trochu odlišnú konzistenciu.
5. **Bezpečnosť**: Mrazené ovocie a zelenina sú vo všeobecnosti bezpečné na konzumáciu, pokiaľ sú správne skladované a manipulované. Dôležité je dodržiavať pokyny týkajúce sa skladovania a rozmrazovania, aby sa minimalizoval riziko kontaminácie alebo straty kvality.

Celkovo platí, že mrazenie je účinný spôsob zachovania výživných hodnôt ovocia a zeleniny a väčšina ľudí si nevšimne výrazné rozdiely v chuti alebo kvalite.

ZÁVER

Mikrobiologické nebezpečenstvo u mrazených potravín, ako je ovocie a zelenina, spočíva predovšetkým v riziku kontaminácie mikroorganizmami, ktoré môžu spôsobiť potenciálne nebezpečné infekcie alebo otravy potravín:

1. **Baktérie**: Patria sem baktérie ako rod *Salmonella, Escherichia coli, Listeria monocytogenes* a *Clostridium botulinum.* Tieto baktérie môžu spôsobiť rôzne formy otravy potravín, vrátane infekčnej gastroenteritídy, botulizmu a listeriózy.
2. **Mikroskopické vláknité huby a kvasinky**: Niektoré druhy mikromycét a kvasiniek môžu rásť na mrazených potravinách a môžu produkovať toxíny, ktoré sú škodlivé pre ľudské zdravie. To môže viesť k ochoreniam, ako je napríklad mykotoxikóza.
3. **Parazity**: Hoci je riziko infekcie parazitmi z mrazených potravín pomerne nízke, niektoré druhy parazitov môžu prežiť aj mrazenie a môžu sa vyskytnúť v surovom ovocí a zelenine. To môže viesť k ochoreniam, ako sú napríklad kryptosporidióza alebo toxoplazmóza.
4. **Krížová kontaminácia**: Ak sa mrazené potraviny skladujú alebo manipulujú v blízkosti surových potravín, ako je mäso alebo druhá surová zelenina, môže dôjsť ku kontaminácii mikroorganizmami z týchto surových potravín na mrazené potraviny.

Pre minimalizáciu mikrobiologického nebezpečenstva u mrazených potravín je dôležité dodržiavať správne postupy manipulácie, skladovania a prípravy potravín. To zahŕňa rýchle zmrazenie potravín, správne skladovanie pri nízkych teplotách, dôkladné umývanie ovocia a zeleniny pred mrazením a dodržiavanie hygienických noriem počas manipulácie s potravinami.

LITERATÚRA

1. BOUZARI, A., HOLSTEGE, A., BARRETT, D.M. 2015. Mineral, Fiber, and Total Phenolic Retention in Eight Fruits and Vegetables: A Comparison of Refrigerated and Frozen Storage. Agricultural and Food Chemistry, 63, 951-956.
2. CDC - Centers for Disease Control and Prevention – CDC. 2016. Multistate outbreak of listeriosis linked to frozen vegetables - final update. Atlanta: CDC.
3. C.F.I.A. Canadian Food Inspection Agency. 2017. Bacterial Pathogens and Indicators in Frozen Berries and Frozen-Cut Fruits and Vegetables for Smoothies - April 1, 2017 to March 31, 2020 Food microbiology - Targeted surveys - Final report.
4. CINAR, A., ONBAŞI, E. 2021. Monitoring environmental microbiological safety in a frozen fruit and vegetable plant. Food Sci. Technol (Campinas) 41 (1), 232-237. https://doi.org/10.1590/fst.10420
5. CHPFFV - CODE OF HYGIENIC PRACTICE FOR FRESH FRUITS AND VEGETABLES. CXC 53-2003 Adopted in 2003. Revised in: 2010 (new Annex III for fresh leafy vegetables), 2012 (new Annex IV for Melons), 2013 (new Annex V for Berries), 2017.
6. COOK, N., NICHOLS, R.A.B., WILKINSON, N., PATON, C.A., BARKER, K., SMITH, H.V., 2007. Development of a method for detection of giardia cysts on lettuce and for simultaneous analysis of salad products for the presence of Giardia cysts and Cryptosporidium oocysts. Appl. Environ. Microbiol. 73 (22), 7388–7391. https://doi.org/10.1128/AEM.00552-07.
7. DIXON, B.R. 2016. Parasitic illnesses associated with the consumption of fresh produce an emerging issue in developed countries. Curr. Opin. Food Sci., 8, 104–109. https://doi.org/10.1016/ j.cofs.2016.04.009.
8. DUDRIKOVÁ, E., VÝROSTKOVÁ, J., MAĽOVÁ, J. 2022. Výživa ľudí. 1. diel. 2021 UVLF v Košiciach. ISBN 978-80-8077-740-1.
9. ECDC - European Centre for Disease Prevention and Control – ECDC. (2018). Rapid risk assessment: multi-country outbreak of Listeria monocytogenes serogroup IVb, multi-locus sequence type 6, infections linked to frozen corn and possibly to other frozen vegetables - final update. Suécia: ECDC.
10. EC - European Commission – EC. (2001, June 8). Comission Decision of 8 June 2001 laying down rules for the regular checks on the general hygiene carried out by the operators in establishments according to Directive 64/433/EEC on health conditions for the production and marketing of fresh meat and Directive 71/118/EEC on health

problems affecting the production and placing on the market of fresh poultry meat. Official Journal of the European Communities.

11. EC - European Commission – EC. (2016). Commission Notice on the implementation of food safety management systems covering prerequisite programs (PRPs) and procedures based on the HACCP principles, including the facilitation/flexibility of the implementation in certain food businesses. Official Journal of the European Communities.
12. FREEDMAN, M.R., FULGONI, V.L. 2016. Canned Vegetable and Fruit Consumption Is Associated with Changes in Nutrient Intake and Higher Diet Quality in Children and Adults: National Health and Nutrition Examination Survey 2001-2010. J Acad Nutr Diet, 116(6):940-8. doi: 10.1016/j.jand.2015.10.013. Epub 2015 Nov 24. PMID: 26617186.
13. GŁĄBSKA D, GUZEK D, GROELE B, GUTKOWSKA K. 2020. Fruit and Vegetable Intake and Mental Health in Adults: A Systematic Review. Nutrients, 1;12(1):115. doi: 10.3390/ nu12010115. PMID: 31906271; PMCID: PMC7019743.
14. ISO 18593:2018. (2018). Microbiology of the food chain — Horizontal methods for surface sampling. Retrieved from https://www.iso.org/ standard/64950.html.
15. JHA, P.K., XANTHAKIS, E., CHEVALLIER, S., et al. 2019. Assessment of freeze damage in fruits and vegetables. Food Research International, 121, 479-496.
16. JIANG, O., ARUN, M., MUJUMDAR, S., CHEN, B. 2022. Comparative freezing study of broccoli and cauliflower: Effects of electrostatic field and static magnetic field. Food Chemistry, 15, 133751.
17. KAMBOJ, S., GUPTA, N., BANDRAL, J. D. et al. 2020. Food safety and hygiene: a review. International Journal of Chemical Studies, 8(2), 358-368. http://dx.doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2f.8794.
18. KIM, M., SHAPIRO, K., RAJAL et al. 2021. Quantification of viable protozoan parasites on leafy greens using molecular methods. Food Microbiology, 103816.
19. Marques, C.S., Sousa, S., Castro, A. et al. 2016. Protozoa as the “Underdogs” for Microbiological Quality Evaluation of Fresh Vegetables. Appl. Sci., 12, 7145.
20. NASHERI, N., VESTER, A., PETRONELLA, N. (2019). Foodborne viral outbreaks associated with frozen produce. Epidemiology and Infection, 147, 291. http://dx.doi.org/10.1017/S0950268819001791. PMid:31625499.
21. ORTIZ-SOLA, J. et al., 2020. Occurrence of selected viral and bacterial pathogens and microbiological quality of fresh and frozen strawberries sold in Spain. International Journal of Food Microbiology, 314.

22. PARRENˇO, W.C., TORRES, M.D.A. 2015. Quality and Safety of Frozen Vegetables (378-415). In: Handbook of Frozen Food Processing and Packaging. Wenceslao Canet on 27 November 2015. Downloads/DK3876_C018.pdf
23. PATHAK, N. 2022. Role of vegetables in human nutrition and disease. Prevention. The Pharma Innovation Journal, 11(5): 1745-1748.
24. RICKMAN, J.C., BARRETT, D.M., BRUHN, C.M. 2007. Review Nutritional comparison of fresh, frozen and canned fruits and vegetables. Part 1. Vitamins C and B and phenolic compounds. Journal of the Science of Food and Agriculture, 87:930–944.
25. SITÁROVÁ, A. 2022. Spotreba potravín v SR v roku 2021. Štatistický úrad SR, 2022.
26. TRELIS, M., SÁEZ-DURÁN, S., PUCHADES, P., CASTRO, N., MIQUEL, A., GOZALBO, M., FUENTES, M.V. 2022. Survey of the occurrence of Giardia duodenalis cysts and Cryptosporidium spp. oocysts in green leafy vegetables marketed in the city of Valencia (Spain). International J. Food Microbiology, 379, 109847.
27. U.S. Food and Drug Administration – FDA. (2015). FSMA final rule for preventive controls for human food. Current good manufacturing practice and hazard analysis and risk-based preventive controls for human food. Maryland: FDA.
28. U.S. Food and Drug Administration – FDA. (2019a). Food safety: importance for at-risk groups. Maryland: FDA.
29. U.S. Food and Drug Administration – FDA. (2019b). Sprouts farmers market recalls frozen cut leaf spinach and frozen organic cut leaf spinach 16oz. Packages because of possible health risk. Maryland: FDA.
30. VAEREWIJCK, M.J., SABBE, K., BAR´E, J., HOUF, K., 2011. Occurrence and diversity of freeliving protozoa on butterhead lettuce. Int. J. Food Microbiol., 147 (2), 105–111. https:// doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.03.015.
31. VOJKOVSKA, H., et al., Occurrence and characterization of food-borne pathogens isolated from fruit, vegetables and sprouts retailed in Czech Republic. Food Microbiology, 2017. 63: p. 147-152. 10.
32. World Health Organization – WHO. (2019). Food safety. Geneva: WHO. Retrieved from: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/ detail/food-safety
33. WALLACE T.C, BAILEY R.L, BLUMBERG J.B. et al. 2020. Fruits, vegetables, and health: A comprehensive narrative, umbrella review of the science and recommendations for enhanced public policy to improve intake. Crit Rev Food Sci Nutr. 60(13):2174-2211. doi: 10.1080/10408398.2019.1632258. Epub 2019 Jul 3. PMID: 31267783.

POĎAKOVANIE

Štúdia prebiehala s finančnou podporou projektu KEGA 007UVLF-4/2024.

Kontaktná adresa: Eva Dudriková, doc. MVDr., PhD. Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice. E-mail: eva.dudrikova@uvlf.sk

POROVNANIE KULTIVAČNÝCH TESTOV NA DETEKCIU MASTITÍD U DOJNÍC

COMPARISON OF RAPID CULTIVATION TESTS FOR DETECTION OF MASTITIS IN DAIRY COWS

Farkašová Zuzana[1], František Zigo[1], Lacková Zuzana[1], Vargová Mária[2], Výrostková Jana[3]

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

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

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

ABSTRACT

Mastitis is an inflammation of the mammary gland, which has a particular importance in ruminants. The purpose of this study was to evaluate and compare two methods for cultivation of udder pathogens: classical laboratory cultivation on Columbia agar with 5% sheep blood versus MicroMast rapid plates. The results allowed assessing the incidence of mastitis and the prevalence of the pathogens. During the study have been investigated 227 cows in a dairy farm localized in the east of Slovakia. Subsequently, 141 quarter milk samples from the positive cows with California mastitis test score 1-4 have been undergone the laboratory culture on Columbia agar and MicroMast test in accordance with their respective steps. The values obtained from these tests showing sensitivity of positive samples using the MicroMast test at the level of 64.5%, and sensitivity of cultures on Columbia blood agar at the level of 61.7%. After biochemical identification of cultured isolates, the Columbia blood agar and MicroMast test identified both as the main pathogen present Staphylococcus aureus (S. aureus) with results of 13.4% and 14.9%, respectively. On the base of results, both tests are comparable and therefore a test that speeds up testing is more useful in practice.

Keywords: Cows, Mastitis, Cultivation, MicroMast test, Udder pathogens

ÚVOD

Kravské mlieko patrí vďaka svojmu špecifickému zloženiu a nutričnej hodnote medzi celosvetovo najpoužívanejšie živočíšne produkty. Na jeho výrobe sa podieľa približne 150 miliónov poľnohospodárov na celom svete, ktorí sa starajú o viac ako 6 miliárd ľudí. Získané mlieko je tradičnou surovinou na výrobu širokej škály mliečnych výrobkov, ktoré sú jedinečné

svojím zložením. Nariadenia EÚ však zdôrazňujú, že takéto výrobky musia pochádzať zo zdravých zvierat (Audarya a kol., 2022; FAO, 2022).

V súčasnosti je mastitída, zápal mliečnej žľazy, jednou z najvýznamnejších a najnáročnejších chorôb dojníc. Jeho výskyt má podstatný vplyv na ekonomiku fariem, a to aj napriek zlepšeniam hygieny produkcie mlieka a zootechnickej kontroly. Mastitída ovplyvňuje zdravotné a úžitkové parametre, ako je znížená produkcia mlieka, zvýšený počet somatických buniek (PSB) a priamo ovplyvňuje cenu mlieka, znížené kvalitatívne zložky (laktóza a kazeín, nevyhnutné pre spracovanie syra) a tiež zvyšuje nežiaduce prvky (lipáza a plazmín, ktoré ovplyvňujú dlhovekosť mlieka). Okrem toho nepriame straty spôsobené mastitídou zahŕňajú zvýšené utratenie chorých kráv, stratu prémií, predčasné zasúšanie a ďalšie súvisiace zdravotné problémy. Pri klinických formách mastitídy môžu náklady na liečbu dosiahnuť až 200 EUR na prípad (Čobirka a kol., 2020).

K dnešnému dňu bolo zaznamenaných viac ako 135 rôznych pôvodcov intramamárnej infekcie (IMI) u prežúvavcov vrátane baktérií, vírusov, kvasiniek a rias. Až 95 % IMI spôsobujú baktérie (Tančin a Uhrinčať, 2014). Vzhľadom na polyetiologickú povahu mastitídy nemôže byť toto ochorenie úplne eradikované z chovov hospodárskych zvierat, najmä kvôli environmentálnym patogénom, ako sú stafylokoky, streptokoky, mykoplazmy alebo *E. coli,* ktoré napadajú mliečnu žľazu z okolia. Ochorenie môže mať klinické prejavy so zjavnými zmenami vzhľadu mlieka (výsledky zápalovej odpovede) a príznakmi zápalu prsnej žľazy, ale môže byť aj subklinické, čo znamená, že infekcia je prítomná (a môže sa rozšíriť na iné zvieratá), ale bez viditeľných klinických príznakov (Foltýs a Kirchnerová, 2003).

Diagnostické testy na detekciu mastitídy sa delia na nepriame, pomocou ktorých určujeme PSB v mlieku v prípadoch subklinickej mastitídy a priame takzvané kultivačné metódy slúžiace na identifikáciu pôvodcov zápalu vemena vo všetkých formách mastitídy. Podľa miesta použitia ich rozdeľujeme na poľnohospodárske a laboratórne metódy. Laboratórna diagnostika pozostáva z bakteriologického, cytologického, biochemického vyšetrenia a laboratórnych testov na stanovenie počtu buniek v mlieku. Vyšetrujú sa vzorky mlieka od jednotlivých dojníc (štvrtina, polovica, zmiešané) alebo priemerné vzorky získané zo skupín dojníc (cisterny, bazény) (Škarda a Škardová, 2000). Vykonáva sa na krvnom agare alebo na špeciálnych agaroch.

Cieľom štúdie bolo porovnať dva testy na kultiváciu patogénov vemena zo vzoriek surového kravského mlieka pomocou klasickej laboratórnej kultivácie na Columbia agare s 5% pridaním ovčej krvi a platničiek MicroMast.

MATERIÁL A METODIKA

Pre praktické účely štúdie bola monitorovaná farma 270 kusov slovenského strakatého dobytka na východnom Slovensku. Počas štúdie bolo 227 dojníc dojených dvakrát denne v paralelnej dojárni 2 × 12 (BouMatic). Pred dojením sa mlieko z každej štvrtiny vemena podrobilo senzorickej analýze v nádobe s dvojitým dnom. Dezinfekcia strukov bola vykonaná penivým prípravkom G-Mix Power s obsahom oxidu chloričitého (Agromont, Nitra, Slovensko), po ktorom nasledovalo osušenie ceckov jednorazovou papierovou utierkou. Po ukončení automatizovaného dojenia bola vykonaná finálna dezinfekcia strukov pomocou prípravku na báze kyseliny mliečnej Power Blue Mix (Agromont, Nitra, Slovensko).

Na účely odberu vzoriek mlieka bola z 227 kráv každá krava dôkladne vyšetrená na základe klinického vyšetrenia a prehmatania vemena. Prvé streky mlieka z každej štvrte boli podrobené senzorickému vyšetreniu a hodnotené pomocou kalifornského testu (CMT) podľa Tančin a kol. (2006). Na laboratórnu diagnostiku bakteriálnych patogénov založenú na usmerneniach Národnej rady pre mastitídu (2001) sa na základe pozitívneho skóre CMT v rozmedzí od 1 do 4 bolo následne vyšetrených 141 štvrťových vzoriek mlieka (Tabuľka 1). Rovnaké vzorky boli použité na kultiváciu patogénov vemena na platniach MicroMast (Prášek, CZ) a na platniach s Columbia agarom doplneným o 5% ovčiu krv (Oxoid, Ltd, UK).

Tabuľka č. 1, Vyhodnotenie štvrťových vzoriek mlieka od 227 dojníc a interpretácia skóre CMT

CMT skóre	PSB	Mastitída	Vyšetrené štvrte (n = 908)	
			(%)	n
N (negatívne)	0 – 200 000	Zdravá	*80,0*	726
T (dubiózne)	200 000 – 400 000 (±50,000)	Latentná*	*2,5*	23
1	400 000 – 650 000 (±150,000)	Subklinická*	*6,1*	55
2	850 000 – 1 200 000 (±200,000)	Suklinická Serious mastitis*	*3,0*	27
3	1 500 000 – 5 000 000 (±300,000)	Klinická	*4,5*	41
4	Over 5 500 000	Akútna	*2,0*	18

CMT - kalifornský test, PSB - počet somatických buniek, latentná mastitída* - mlieko sa javí ako normálne, ale infekcia je prítomná vo vzorkách surového mlieka bez zmeny PSB s negatívnym skóre CMT, subklinická mastitída* - nie sú pozorované žiadne príznaky, vemeno a mlieko sa javia ako normálne, ale infekcia je prítomná s pozitívnym skóre CMT a zvýšeným PSB. Klinická mastitída* – príznaky sa pohybujú od miernej až po závažnú s pozitívnym CMT skóre, bakteriologickou kultiváciou, vysokou hladinou PSB, zmenou konzistencie mlieka s prítomnosťou vločiek, zrazenín alebo hnisu a znížením alebo stratou tvorby mlieka s klinickými príznakmi.

Inokulum z každej vzorky mlieka (0,2 ml) sa inokulovalo na platne s Columbia agarom doplneným 5 % ovčou krvou (Oxoid Ltd, UK), ktoré sa inkubovali pri teplote 37 °C a vyhodnotili po 24 hodinách. Na ďalšiu identifikáciu bakteriálnych patogénov spôsobujúcich mastitídu boli kolónie z krvného agaru subkultivované na základe morfologických charakteristík na rôzne selektívne kultivačné médiá: Edwards Medium, Staphylococcal Medium No. 110 a MacConkey Agar (Oxoid, Ltd., Basingstoke, Hants, UK). Subkultúry boli inkubované ďalších 24 hodín pri teplote 37 ° C a testy na aktivitu katalázy, hemolýzu, produkciu pigmentu, koagulázu a farbenie Gramom boli vykonané podľa Malinowského a kol. (2006). Identifikácia jednotlivých druhov bola vykonaná pomocou biochemických testov: STAPHYtest 24, STREPTOtest 24 alebo ENTEROtest 24 a vyhodnotená pomocou programu TNW ProAuto 7.0 (Erba-Lachema, Brno, CZ) s pravdepodobnosťou identifikácie druhu presahujúcou 90 %.

MicroMast Rapid Test – Tento test je určený na rýchlu 24-hodinovú kultiváciu vzoriek priamo v podmienkach farmy. Využíva súpravu na odber vzoriek mlieka, kultivačné platne a prenosný poľnohospodársky inkubátor. Štvrťové vzorky mlieka odobraté pozitívnym kravám boli kultivované na platniach MicroMast v rovnakom čase, v ten istý deň, pri teplote 37 °C. Výsledky boli analyzované po 24 hodinách pre každú platňu, ktorá je rozdelená do troch zón.

V prvej zóne "A" je kontaminácia vzoriek vylúčená, pretože všetky vzorky sú negatívne bez prítomnosti rastu. Druhá zóna "B" je určená na identifikáciu grampozitívnych patogénov, ako sú *Staphylococcus aureus*, koagulázovo negatívne stafylokoky (CNS), *Streptococcus agalactiae, Streptococcus uberis*, iné environmentálne streptokoky, *Enterococcus spp., Corynebacterium spp., Trueperella pyogenes* alebo *Bacillus spp.* Tretia zóna "C" je určená na identifikáciu gramnegatívnych patogénov vrátane *E. coli, Klebsiella* spp., iných *Enterobacteriaceae, Proteus vulgaris, Pseudomonas* spp., *Serratia marcescens* alebo *Pasteurella* spp. Následne, po kultivácii na platniach MicroMast, kolónie tvoriace jednotky (CFU) boli analyzované pomocou dodatočných testov a subkultivované na selektívnych médiách rovnakým spôsobom ako v predchádzajúcom postupe analýzy patogénov baktérií z krvného Columbia agaru.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Mastitída sa považuje za globálne ochorenie, ktoré sa prejavuje v rôznych formách (subklinických, chronických a klinických), spôsobených hlavne nákazlivými a environmentálnymi baktériami. Jedným z prvých indikátorov infekcie vemena je zvýšený počet somatických buniek (PSB), často spojený so zníženou produkciou mlieka (Tongeľ a Mihina, 2005). Somatické bunky zostávajú cenným nástrojom na počiatočné hodnotenie mlieka, pretože rozdiely medzi zdravými a chorými zvieratami sú evidentné. Kalifornský test (CMT) sa bežne

používa na farmách na rýchle hodnotenie štvrťových vzoriek mlieka, najmä na detekciu subklinických foriem mastitídy (Tančin a Tančinová, 2008).

Počas komplexného vyšetrenia vemena bol CMT vykonaný na prvých vzorkách predného mlieka každej z 227 dojníc. Z 908 skúmaných štvrtí bolo 18 atrofovaných alebo chýbala produkcia mlieka. Spomedzi hodnotených štvrtí bolo 726 (80,0%) negatívnych so skóre CMT 0. Zo 141 (15,6 %) skúmaných štvrtí s pozitívnym CMT bol najvyšší podiel so skóre 1 a 3 (Tabuľka 1). Okrem hodnotenia PSB sa hľadajú nové metódy zisťovania mastitídy spolu s vývojom nových testov, ktoré by poľnohospodárom umožnili rýchlo reagovať na pozitívne prípady. To zahŕňa zavedenie vhodných opatrení alebo začatie včasnej liečby, ktorá je zvyčajne účinnejšia a nákladovo efektívnejšia v porovnaní s neskoršími štádiami, keď si patogény vyvinú rezistenciu voči intramamárnym antibiotikám. V súčasnosti je riešením vývoj rýchlych metód testovania vzoriek na farme, ktorý znižuje čas a náklady spojené s prepravou vzoriek a laboratórnou detekciou (Prášek, 2023).

Na porovnanie dvoch kultivačných metód boli odobraté jednotlivé vzorky mlieka zo 141 pozitívnych štvrtí so skóre CMT 1-4. Tieto vzorky boli podrobené laboratórnej diagnostike na Columbia krvnom agare a súčasne boli inokulované na platničkách MicroMast. Po 24 hodinách kultivácie na krvnom agare boli potvrdené bakteriálne patogény vemena v 87 vzorkách (61,7 %). V 54 prípadoch (38,3 %) boli vzorky negatívne bez rastu kolónií na kultúrach (Tabuľka 2).

Pri použití rovnakého postupu bolo po kultivácii na platniach MicroMast zaznamenaných 91 pozitívnych vzoriek (64,5 %) v sektoroch B a C, určených na diferenciáciu medzi gram-pozitívnymi a gram-negatívnymi baktériami. V sektore A nebol pozorovaný žiadny rast na žiadnej platni, čo naznačuje nekontaminované vzorky. Zvyšných 50 vzoriek (35,5 %) bolo negatívnych bez rastu vo všetkých troch sektoroch. Pre ďalšiu analýzu bakteriálnych patogénov boli všetky kultúry zo subkultúry na krvnom agare a platniach MicroMast podrobené kultivácii selektívnych médií s identifikáciou pomocou biochemických testov. V oboch prípadoch boli najčastejšie izolované koagulázo-negatívne stafylokoky (CNS) a *Staphylococcus aureus*. *Escherichia coli* bola v oboch prípadoch izolovaná medzi inými patogénmi (Tabuľka 2).

Tabuľka č. 2, Porovnanie patogénov založených na kultivácii na Columbia krvnom agare a platničkami MicroMast

	Colombia krvný agar		MicroMast test	
	Pozitívne	**%** (zo 141 vzoriek)	**Pozitívne**	**%** (zo 141 vzoriek)
***Staphylococcus* spp.**				
S. aureus	19	*13,4*	21	*14,9*
*S. chromogenes**	8	*5,7*	17	*12,1*
*S. warneri**	9	*6,4*	11	*7,8*
*S. epidermidis**	4	*2,8*	3	*2,1*
S. intermedius	3	*2,1*	3	*2,1*
*S. hyicus**	2	*1,4*	-	-
*S. felis**	-	-	2	*1,4*
*S. sciuri**	1	*0,7*	1	*0,7*
*S. cohni urealyticus**	1	*0,7*	-	-
Ostatné patogény				
E. coli	22	*1,6*	20	*14,2*
Proteus spp.	7	*5,0*	3	*2,1*
E. faecalis	3	*2,1*	-	-
Zmiešaná IMI infekcia**	8	*5,7*	10	*7,1*
Spolu	**87**	***61,7***	**91**	***64,5***

KNS* – koagulázo-negatívne stafylokoky; Zmiešaná IMI infekcia** - zmiešaná intramamárna infekcia predstavuje pozitívnu vzorku s dvoma alebo viacerými patogénmi vemena, *Staphylococcus intermedius, Enterococcus faecalis*

Podľa Hogeveena a kol. (2021) a Woudstra a kol. (2023) predstavuje mastitída vemena významný zdravotný problém v dôsledku širokej škály pôvodcov. Holko a kol. (2019) vo svojej štúdii zistili, že mnohé prípady intramamárnych infekcií (IMI) v slovenských stádach dojníc sú spôsobené gram-pozitívnymi mikroorganizmami ako *Staphylococcus* spp. alebo *Streptococcus* spp., čo sa potvrdilo aj v našej štúdii. Prevalencia IMI spôsobených koliformnými baktériami však dosahuje až 20,0 % v závislosti od štruktúry poľnohospodárskeho podniku a hygienických podmienok. Naše výsledky ukazujú, že 41 % a 15 % IMI bolo spôsobených stafylokokmi a *Escherichia coli*. Z koagulázo-negatívnych stafylokokov boli *Staphylococcus warneri, Staphylococcus chromogenes* a *Staphylococcus epidermidis* potvrdené v oboch testoch po biochemickej identifikácii z pozitívnych vzoriek mlieka. Napriek akceptovanej úlohe týchto baktérií ako častých patogénov spôsobujúcich mastitídu u kráv sa patogenita rôznych druhov CNS (koagulázo-negatívne stafylokoky) značne líši (Sameer a kol., 2018). V štúdiách, ktoré uskutočnili Sawant a kol. (2009) a Thorberg a kol. (2009), boli KNS najrozšírenejšími patogénmi spôsobujúcimi subklinickú mastitídu u dojníc a bahníc. Hoci sú menej patogénni ako *S. aureus*, KNS môžu tiež spôsobiť pretrvávajúcu subklinickú alebo klinickú mastitídu. Po infekcii KNS sa významne zvyšuje PSB, CMT, spôsobujú klinickú mastitídu, ako aj produkciu termostabilných enterotoxínov.

Thorberg a kol. (2009) potvrdili a preukázali jeden alebo dva typy *S. epidermidis (Staphylococcus epidermidis)* v dvoch sledovaných stádach dojníc. Dominantné typy *S. epidermidis* z mlieka boli tiež izolované z kože ľudí, ktorí boli zodpovední za dojenie kráv, pretože izolácia *S. epidermidis* z ľudskej kože je bežnejšia ako izolácia z hovädzej kože. Autori dospeli k záveru, že ľudia, ktorí sú denne v kontakte so zvieratami, sú pravdepodobne hlavným zdrojom infekcie kráv. Ďalšie typy baktérií v našej štúdii boli počas sledovaného obdobia zastúpené *Streptococcus agalactiae, Trueperella pyogenes, E. coli, Enterococcus* spp. a *Bacillus* spp.

Dôležitosť využitia výsledkov diagnostiky sa prejavuje aj pri kontrole kráv a ich zaradení do chovu stáda. Identifikácia bakteriálnych patogénov vemena prostredníctvom biochemických testov a ich porovnanie s oboma metódami odhalilo rozdielne počty, najmä pre koagulázo-negatívne stafylokoky a *Proteus* spp. Relatívne podobná zhoda bola v prípade *S. aureus* a *E. coli*, ktoré boli najrozšírenejšie spomedzi testovaných vzoriek v oboch metódach (Tabuľka 2). Pri porovnaní testu MicroMast s laboratórnou diagnostikou pomocou kultivácie na Columbia krvnom agare sa pozorovala vyššia citlivosť pozitívnych vzoriek pri teste MicroMast na úrovni 64,5 % v porovnaní s kultiváciou na krvnom agare na úrovni 61,7 % (Tabuľka 2).

ZÁVER

Údaje použité v tejto štúdii nám umožnili preukázať, že hoci CMT neumožňuje identifikáciu patogénu, môže naznačovať prebiehajúci alebo začínajúci zápal vemena. Porovnaním dvoch metód kultivácie vzoriek mlieka bola citlivosť pozitívnych vzoriek pozorovaná pri teste MicroMast na úrovni 64,5 %, kultiváciou na krvnom agare na úrovni 61,7 %. V oboch prípadoch boli KNS a *E. coli* najčastejšie izolovanými patogénmi. Medzi nákazlivými patogénmi bol *S. aureus* izolovaný na úrovni 13,4 % Columbia agaru s 5% ovčej krvi a v 14,9 % po kultivácii na platniach MicroMast, po ktorej nasledovala identifikácia prostredníctvom biochemických testov. Potvrdenie prítomnosti *Staphylococcus* spp. a významného podielu koagulázo-negatívnych stafylokokov vo vzorkách mlieka mastitídnych kráv zdôrazňuje potenciálne zdravotné riziká pre spotrebiteľov. Preto je potrebné, aby poľnohospodári boli schopní identifikovať infekčné zvieratá čo najskôr. Používanie CMT doplnené rýchlymi kultivačnými testami je jedným zo spôsobov, ako môžu poľnohospodári priamo zachytiť subklinické infekcie spôsobené patogénmi vemena na farme, čím sa začne včasná liečba a zníži sa vplyv mastitídy na zdravie kráv. Na základe výsledkov porovnania citlivosti oboch použitých metód môžeme konštatovať, že MicroMast ako metóda včasnej detekcie mastitídy je porovnateľná, a preto použiteľná v praxi.

POĎAKOVANIE

Realizácia experimentu bola finančne podporená grantami APVV-22-0457 a VEGA 1-0162-23.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Audarya, S. D., Chhabra, D., Sharda, R., Gangil, R., Sikrodia, R., Jogi, J., Shrivastava, N. (2022). Epidemiology of bovine mastitis and its diagnosis, prevention, and control. IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.100582. https://www.intechopen.com/chapters/79344
2. Čobirka, M., Tančin, V., Slama, P. (2020). Epidemiology and Classification of Mastitis. Animals: an open access journal from MDPI, 10(12), 2212. https://doi.org/10.3390/ani10122212
3. FAO (2020). Dairy market review. Available at: https://www.fao.org/3/cb2322en/CB2322EN.pdf
4. Foltys, V., Kirchnerová, K. (2003). Application of control mastitis program in practice. Nitra: Institute of Scientific and Technical Information for Agriculture, 2003. Available at: http://www.agroporadenstvo.sk/zv/hd/drobnosti/mastitpr.htm.
5. Hogeveen, H., Huijps, K., Lam, T. J. Economic aspects of mastitis: New developments. N. Z. Vet. J. 2021, 59, 16–23. https://doi.org/10.1080/00480169.2011.547165
6. Holko, I., Tančin, V., Vršková, M., Tvarožková, K. (2019). Prevalence and antimicrobial susceptibility of udder pathogens isolated from dairy cows in Slovakia. The Journal of dairy research, 86(4), 436–439. https://doi.org/10.1017/S0022029919000694
7. Malinowski, E., Lassa, H., Kłlossowska, A., Smulski, S., Markiewicz, H. Kaczmarowski M. (2006). Etiological Agents of Dairy Cow´s Mastitis in Western Part of Poland. Polish Journal of Veterinary Sciences, 9, 91-194. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17020014/
8. NMC (2001). National Mastitis Council Recommended Mastitis Control Program. Mtg. Proc., Reno, NV. Natl. Mastitis Counc., Inc., WI, 408 p. ISBN 978-0-309-06997-7. http://www.nmconline.org/docs/NMC10steps.pdf
9. Prášek, J. (2023). Micromast test. Veterinary practice (in Czech) Available at: http://www.josefprasek.cz/micromast-examination-procedure/
10. Sameer, R., Organji, H. H., Abulreesh, K. E., Gamal, E. H., Osman, Mesha, H., & Almalki, K. (2018). Diversity and characterization of *Staphylococcus* spp. in food and

dairy products: a foodstuff safety assessment, Journal of Microbiology Biotechnology and Food Science, 7, 586-593. http://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.008

11. Sawant, A. A., Gillespie, B. E., Oliver, S. P. (2009). Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative Staphylococcus species isolated from bovine milk. Veterinary Microbiology 134 (2009) 73–81. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.006
12. Škarda J., Škardová O. (2000). Výživa. In: Program péče o produkci a zdraví stáda dojnic (in czech). Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha. 41 – 55. ISBN 80-7271-058-3
13. Tančin, V., Tančinová, D. Machine milking and milk quality (in slovak). Nitra: SCPV, 2008, p. 47 – 74. ISBN 978-80-88872-80-1.
14. Tančin, V., Kirchnerová, K., Foltys, V., Mačuhova, L., Tančinová, D. (2006). Microbial contamination and somatic cell count of bovine milk striped and after udder preparation for milking. Slovak Journal of Animal Science, 39, 214-217. http://www.cvzv.sk/slju/06_4/Tancin.pdf
15. Tančin, V., Uhrinčať, M. (2014). The effect of somatic cells on milk yield and milk flow at quarter level. Veterinarija ir Zootechnika (Vet. Med. Zoot.), 66, 69−72. https://doi.org/10.3168/jds.2011-4927
16. Thorberg, B. M., Kuhn, I., Aarestrup, F. M., Brandstrom, B., Jonsson, P., & Danielsson-Tham, M. L. (2006). Pheno- and genotyping of *Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine milk and human skin. Vet. Microbiol. 115, 163–172. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.01.013
17. Tongeľ, P., Mihina, Š. Mastitis - a Milk Thief. Nitra: Institute of Scientific and Technical Information for Agriculture, 2005. Available at:http://www.agroporadenstvo.sk/zv/hd/mlieko/mastitida.htm
18. Woudstra, S., Wente, N., Zhang, Y., Leimbach, S., Kirkeby, C., Gussmann, M. K., & Krömker, V. Reservoirs of *Staphylococcus* spp. And *Streptococcus* spp. Associated with Intramammary Infections of Dairy Cows. Pathogens 2023, 12, 699. https://doi.org/10.3390/pathogens12050699

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

JEDLÝ HMYZ AKO ALTERNATÍVNY ZDROJ PROTEÍNOV PRE OSOBITNÉ SKUPINY ĽUDÍ

EDIBLE INSECTS AS ALTERNATIVE SOURCE OF PROTEIN FOR SPECIAL GROUPS OF PEOPLE

Fikselová Martina[1], Hujová Barbora[1], Čaloudová Jana[2], Jakabová Silvia[1], Židek Radoslav[1], Lukáčová Stanislava[1], Zeleňáková Lucia[1], Kunová Simona[1], Čapla Jozef[1]

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

[2]VETUNI Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42, Brno, Czech Republic

ABSTRACT

Proteins are one of the key nutrients which are often not supplied in sufficient quantities in celiac disease and in senior age. Due to its high protein content (approximately 65%) and the absence of gluten, cricket powder may be one of the possible alternatives to increase protein intake for the mentioned groups of people. Another advantage is that the increase in protein content can already be achieved with the addition of a small amount of cricket powder. In this study, the formulation of gluten-free corn-based knäckebrot products intented also for seniors, up to 10 % cricket powder addition were developed and selected parametres such as smell, taste, protein and dry matter content were monitored compared to the control sample.

In the sensory evaluation participated 2 panels of evaluators: seniors (70-80 years), for whom increased protein intake is desirable, and the students (24- 26 years of age). In the sensory evaluation, the sample with 5% addition of cricket powder was the best accepted in all evaluation parameters. At the taste and smell of products, preferences for the selected flavour of the products differed between seniors and students. The dry matter content of the product did not change significantly with the addition of 10 % cricket powder, but a 65 % increase in protein content was achieved.

Key words: edible insects, *Acheta domesticus*, cricket powder, crisp bread, novel protein

INTRODUCTION

Not only due to the increasing world population but also from economic and ecological perspectives, there is a need to explore new protein sources that can partially replace or enrich the current long-term unsustainable animal production. Edible insects, often referred to as the food of the future, may be one of the potential alternatives given their favorable nutritional composition and low-demanding rearing practices (Tang et al., 2019). Among the most commonly utilized edible insect species within the European Union are adults of the house

cricket (*Acheta domesticus*), which are added to food either in the form of whole bodies or as powder. The powdered form is perceived more positively by consumers, as it has been demonstrated that individuals have better perception of insects when they are finely ground in the product (Ho et al., 2022).

For several years, insects have been incorporated into a variety of products to increase protein content, enhance product attractiveness, or reduce conventional animal protein content without compromising overall protein levels. The addition of cricket powder promises not only higher protein content but also supplementation of beneficial levels of minerals, vitamins, and the inclusion of favorable unsaturated fatty acids, including oleic and linoleic acids, and a proportion of probiotic fiber (Bawa et al., 2020). Popular category of foods into which insects are incorporated includes baked goods and snacks. Knäckebrot, due to its characteristic crisp texture, distinct flavor, and long shelf life, is a favored food item among consumers. Another significant benefit is the wide range of options available for enhancing the taste of this product.

The aim of this work was to test the application of cricket powder (CP) into gluten-free knäckebrot products in 10 % as maximum addition in order to prepare it sensoricallly attractive for seniors and people suffering from celiac disease.

MATERIALS AND METHODS

Gluten-free products with addition of cricket powder (*Acheta domesticus*)

For the purpose of analysis, a recipe for the gluten-free knäckebrot-like products was developed using corn flour. The products were enriched with cricket powder intended for human consumption. Other ingredients included sunflower, flax, and sesame seeds, water, sunflower oil, and salt.

Preparation procedure of cricket powder-enriched samples

During the preparation of knäckebrots, all dry ingredients such as corn flour, sunflower seeds, flaxseed, sesame, salt, and flavoring components and spices (salt, chia, paprika, pizza, thyme, curry) were weighed. After mixing the dry ingredients, warm water and oil were added. The mixture was then kneaded to form a dough, which was rolled out to the thickness of 1.5–2 mm and cut into squares measuring 10x6 cm. The products were baked for 20 minutes at temperature of 150–160 °C. Just for the sensory evaluation, 13 different samples were prepared, including 1 control sample with no cricket powder and flavoring addition, 6 samples with the 5% addition of cricket powder and various flavorings, and 6 samples with 10% addition of cricket powder and various flavorings (salt, chia, paprika, pizza, thyme, curry).

Determination of dry matter content in cricket powder-enriched samples

The determination of dry matter content was performed at homogenized samples using the moisture analyzer Kern DAB 200-2 (KERN & SOHN GmbH, Balingen, Germany) at 105 °C. The sample was weighed in triplicate at 2.000 ± 0.001 g, and after drying to the constant weight, the moisture content was determined.

Determination of protein content in cricket powder-enriched samples by the Kjeldahl method

The homogenized sample was weighed at analytical scales Sartorius TE214S-0CE (Sartorius Servis s.r.o., Bratislava, Slovakia) into a glass tube (Foss Analytical AB, Höganäs, Sweden), weight of sample 0.3000 ± 0.0001 g. To the samples, 5 ml of concentrated sulfuric acid (p.a., 96%, Centralchem, Bratislava, Slovakia) and a catalyst tablet containing 1.5 g of potassium sulfate (K2SO4) + 7.5 mg of selenium (Se) (1000 Kjeltabs Auto, Foss Analytical AB, Höganäs, Sweden) were added. The samples were thermally decomposed in the TecatorTM Digestor Auto (Foss Analytical AB, Höganäs, Sweden) at a temperature of 420 °C for 100 min. After cooling, 15 ml of deionized water (prepared using Rodem 6, purchased from ECOTEST s.r.o., Topoľčany, Slovakia) was added to the samples. Subsequently, the samples were distilled in the automatic distillation unit KjeltecTM 8200 (Foss Analytical AB, Höganäs, Sweden) with the addition of a mixture of acid-base indicators.

Prepared samples were titrated with the standard solution of HCl with the concentration of 0.1 $mol.dm^{-3}$ (Constantal HCl, 0.1 mol/l, Microchem s.r.o., Pezinok, Slovakia). The consumption of titration solution for the sample was subtracted from the consumption of standard solution for the blank titration. The result was evaluated according to the conversion equation:

$$Protein\ content\ in\ \%\ weight/m/m = \frac{consumption\ HCl\ (ml).0{,}14.6{,}25}{\text{weight (g)}}.$$

Sensory parameters of cricket powder-enriched samples

Sensory evaluation of the samples was performed by two sensory panel representatives, consisted of trained evaluators. The first panel consisted of students (aged from 24 to 26 years), and the second panel the seniors (aged from 70-80 years).

The control sample of knäckebrots with no added flavorings and cricket powder was given as the first, followed by individual samples with additions of cricket powder at 5% and 10% levels with different flavoring components (salt, chia, paprika, pizza, thyme, curry). Parameters for

each sample included smell and taste evaluation. Each parameter was scored on a scale from 1 to 5 based on the sensory characteristics of the individual samples.

Rating scale:

1. Insufficient
2. Adequate
3. Good
4. Very good
5. Excellent

RESULTS AND DISCUSSION

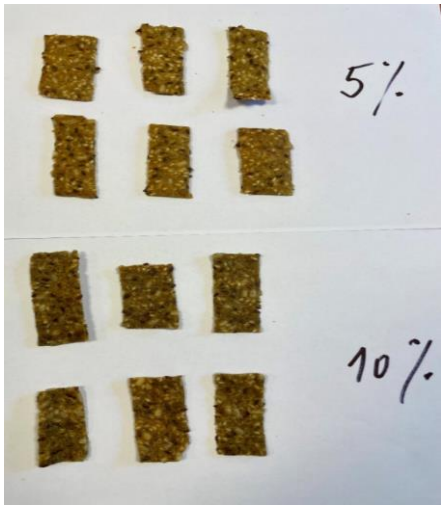
The suitability of insect powder addition at 5 and 10% was also confirmed by the study of Tao and Li (2018), who focused on the quality of rice-based extruded products enriched with edible insects. The study confirmed that adding 5% cricket powder had no significant impact on the extrusion process, physical, or sensory properties of the product compared to 10 and 15%.

Sensory evaluation of products enriched with cricket powder

The study by Bawa et al. (2020) reports that products enriched with 10% cricket powder were evaluated by consumers comparable to the control products. Consumption and acceptability of products containing edible insects are largely affected by their sensory properties. Differently processed crickets and products derived from them may vary in taste, smell and color. These parameters are affected by the type of insect, its developmental stage, as well as the feed provided and the method of rearing. Selecting the right feed can affect the taste and chemical composition of edible insects (Magara et al., 2021).

Our study focused primarily on the development and evaluation of gluten-free products with increased protein content for seniors, for whom increasing protein intake is desirable. Products containing cricket powder were positively perceived by both groups of evaluators.

Figure 1 Gluten- free knackebrots enriched by 5 % and 10 % addition of cricket powder



Sensory evaluation of smell of products enriched with cricket powder (CP)

Regarding the smell evaluation, seniors rated samples with 5% CP addition with the highest score, in the order of pizza, curry, and salty. The least favored samples were thyme with additions of 5 and 10% CP and the control sample. Samples with the same flavors but with different cricket powder additions (5% and 10%) did not seem equally aromatic to the evaluators. Study of Tao and Li (2018) suggests that the addition of cricket powder at 5% did not significantly impact the sensory evaluation of the product compared to the control sample.

Figure 2 Smell of gluten- free knackebrots evaluated by the panel of seniors (points)

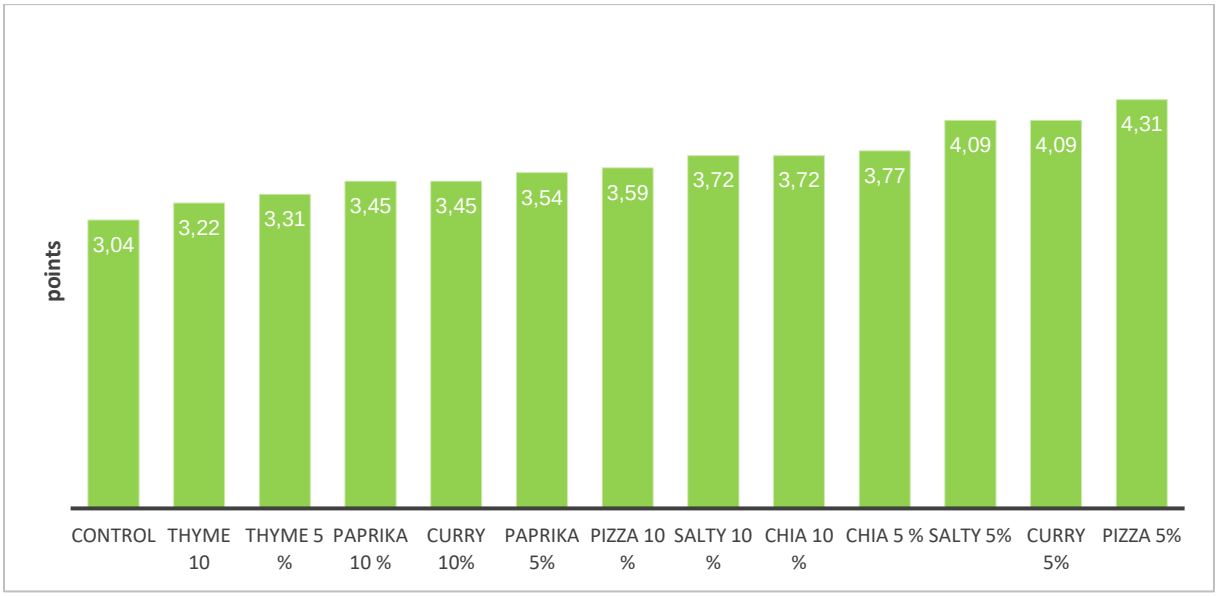
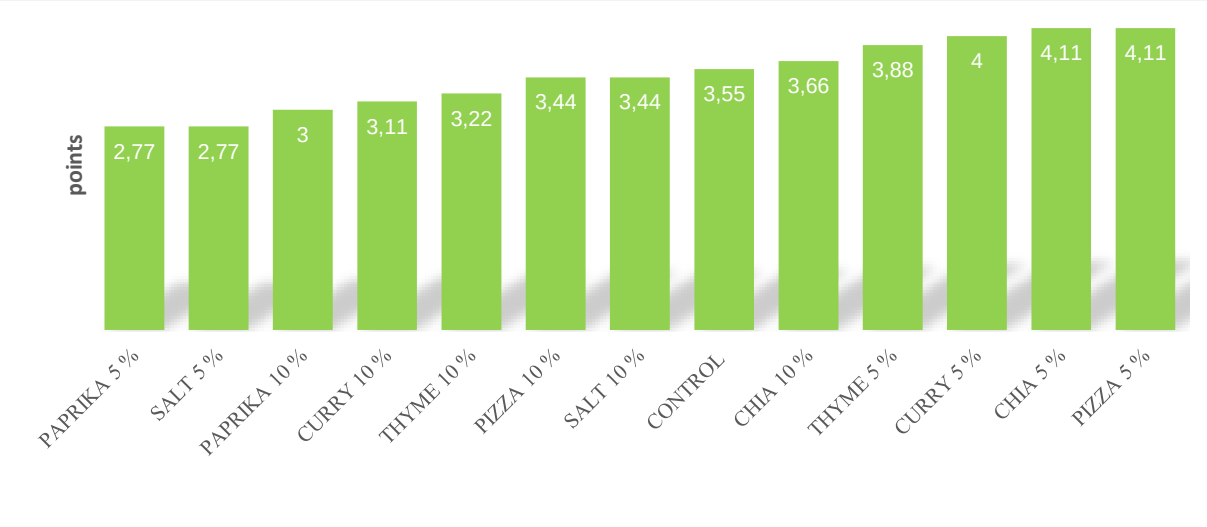


Figure 3 Smell of gluten- free knackebrots evaluated by the panel of students (points)



Similarly to the senior group, the samples with 5% CP were better rated for smell by the student group, specifically those with pizza, chia and curry flavors. Worse than the control sample, products (pizza, spicy, thyme, and curry) with the 10% addition of cricket powder were rated. The least favored smell was attributed by students to products with paprika flavor (10 and 5% CP) and salty with 5% CP addition.

Sensory evaluation of the taste of products enriched with cricket powder

Increasing the cricket powder addition to 10% resulted in different sensory properties of the resulting products, which may affect palatability for consumers.

Senior evaluators rated the taste of products with 5% CP to be the the highest, particularly those with pizza, curry, and salty flavors. The least acceptable flavors were found to be in control sample, paprika (5% CP), and thyme (10% CP). The samples which seniors rated as most flavorful coincided with those they considered most aromatic. Additionally, samples with the same flavor but different levels of added cricket powder were not perceived as equally tasty by evaluators.

Figure 4 Taste of gluten- free knackebrots evaluated by the panel of seniors (points)

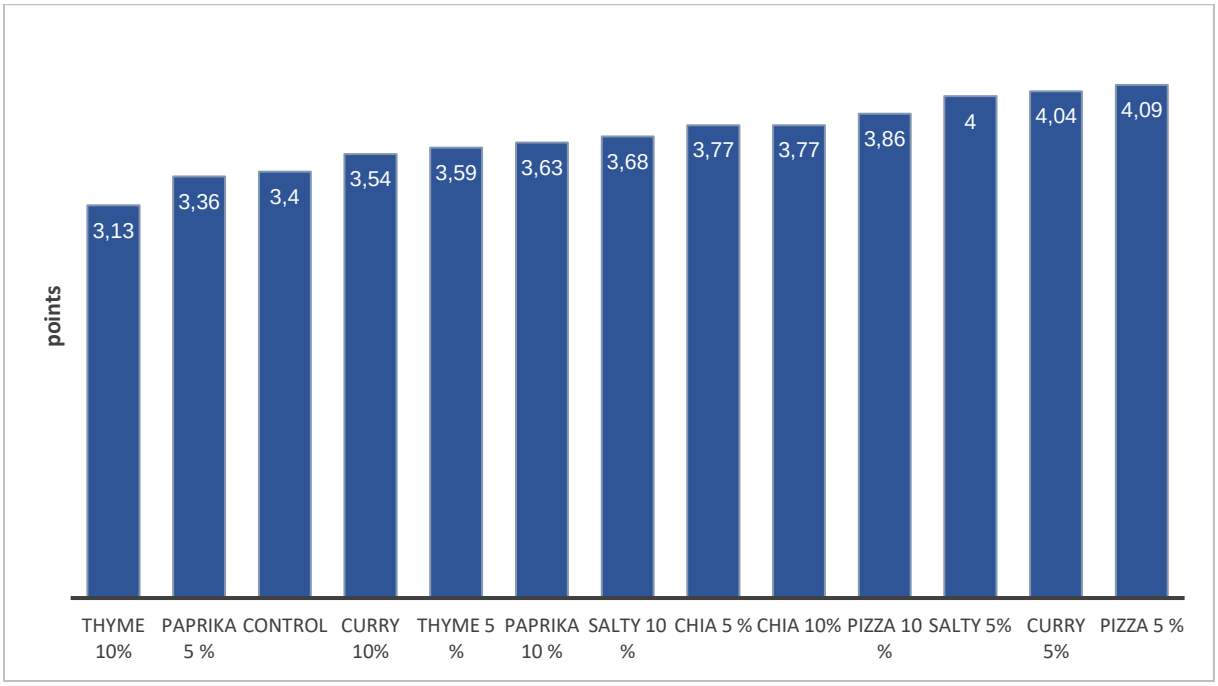
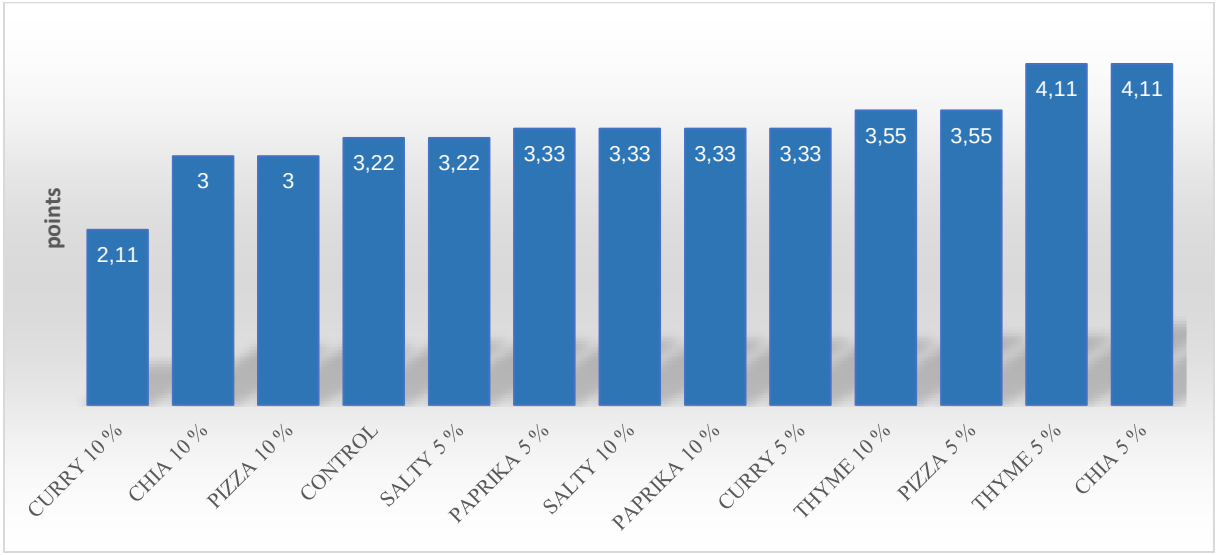


Figure 5 Taste of gluten- free knackebrots evaluated by the panel of students (points)



Among students, samples of thyme (5% CP), chia (5% CP), and pizza (5% CP) were rated the highest. The least favored were products with 10% CP with flavors of chia, pizza, and curry.

Differences in willingness to consume products containing edible insects and perception of their taste between seniors and students were also investigated in the Polish study by Skotnicka et al. (2023). The research showed that seniors have lower level of acceptance of dishes containing insects compared to young adults, although the differences in the responses were not statistically significant ($p = 0.05$), refuting the assumption that products containing edible insects should be primarily targeted towards young people. They rated products

containing mealworm (*Tenebrio molitor*) the highest, and the analysis showed that taste and texture had the strongest influence on the overall acceptance of these products.

Protein content and dry matter content in the products enriched with cricket powder (CP)

The main reason for edible insect addition to food is their favorable protein content. Studies show that the cricket powder contains approximately 65.5% protein (which may vary depending on the species, diet, and developmental stage), and adult crickets provide 13.2 to 20.3 grams of protein per 100 grams of serving. Due to the high protein content in cricket powder, an increase in protein can be achieved in products even with the addition of a small amount of CP (Bresciani et al., 2022). The study by Bawa et al. (2020) confirms that the use of cricket powder in the production of bread and cookies enriched with insects can yield favorable results in the nutritional profile of the products. They describe high protein, phosphorus, and iron content, and a low proportion of carbohydrates.

Gluten-free foods generally contain twice higher amount fat, especially saturated fats and cholesterol, compared to the gluten-containing products. Furthermore, they are associated with higher salt content and up to one-third less protein. Flours with low protein content (e.g., corn, rice), which are used as main ingredients in gluten-free baking, are inadequate sources of folates (Gažárová et al., 2023). For this reason, it is appropriate to develop new recipes for gluten-free products that increase protein and mineral content and are sensorially well-perceived by consumers.

The control sample contained 96.41% of dry matter. At 10% cricket powder addition, the dry matter content decreased by 0.43% to 95.98%. This decrease after 10% CP addition to the bread is also described by Mafu et al. (2022).

The control sample contained 13.45% of protein. At 10% cricket powder addition, the protein content in the product increased to 22.2%, i.e., by 65%. Significant protein enhancement in gluten-free bread with 10% cricket powder addition is described in the study by Kowalczewski et al. (2021). The addition of cricket powder led to a sevenfold increase in protein content, with a simultaneous increase in fat by 105%.

The recommended daily protein intake for adults up to 65 years old is 0.8 g of protein/kg of body weight/day, while for older individuals, the recommendation increases to 1.0 g of protein/kg of body weight/day. Due to frequent loss of appetite, older individuals have been observed to have lower protein intake (Wagner and Muchová, 2022). This fact is associated with the increased risk of muscle loss in seniors, which can lead to a condition called sarcopenia. It involves gradual muscle loss and muscle function decline. Although it is a common companion of aging, it can be prevented by regular intake of quality proteins (Sato et al., 2020).

CONCLUSION

Proteins support formation and maintenance of muscle mass, cells, and tissues, and help with osteoporosis. Therefore, older adults have slightly higher protein requirement than younger individuals. Proteins are one of the essential nutrients, and in the case of celiac disease and aging, insufficient amounts of them are absorbed by the body. Cricket powder, which is a rich source of bioactive components such as protein and others and gluten-free, may be a solution for the special population groups included sportsmen.

Based on our results, it can be confirmed that the chosen recipe for products such as corn knäckenbrot enriched up to the 10% cricket powder with seeds was suitable for producing gluten-free products acceptable for consumption by both students and seniors, with products containing cricket powder in the amount of 5% being perceived more positively. It has been confirmed that sensory parameters, particularly in terms of taste and smell, vary between seniors and students in the chosen flavor of the products. Due to the addition of cricket powder in the amount of 10%, there was found significant increase in protein content by 65%, which is particularly positive in terms of potential use in the nutrition of seniors and individuals with celiac disease.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was processed with the support of KEGA project 013SPU-4/2023.

REFERENCES

1. BAWA, Michael et al. 2020. Nutritional, sensory, and texture of bread and cookie enriched with house cricket (Acheta domesticus) powder. Journal of Food Processing and Preservation. Online. Vol. 44, Issue 8. Dostupné na:< https://doi.org/10.1111/jfpp.14601> [dátum citovania 2023-09-22].
2. BRESCIANI, A. et al. Technological Performance of Cricket Powder (*Acheta domesticus* L.) in Wheat-Based Formulations. In *Insects*, [online]. 2022, vol. 13, no. 6, article nr. 546. DOI: doi.org/10.3390/insects13060546.
3. GAŽAROVÁ, M.; LENÁRTOVÁ, P.; STRUHARŇANSKÁ, L. Nutritional value of gluten-free products using the front-of-pack labeling nutri-score. In *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny,* [online]. 2023, vol. 74, no. 4, p. 363–371. DOI: 10.32394/rpzh.2023.0277.
4. HO, I. et al. Will It Cricket? Product Development and Evaluation of Cricket (*Acheta domesticus*) Powder Replacement in Sausage, Pasta, and Brownies. In *Foods*, [online]. 2022, vol. 11, no. 19. DOI: 10.3390/foods11193128.

5. KOWALCZEWSKI, Ł. P. et al. Nutritional Value and Biological Activity of Gluten-Free Bread Enriched with Cricket Powder. In *Molecules*, [online]. 2021, vol. 26, no. 4, article nr. 1184. DOI: 10.3390/molecules26041184.
6. MAGARA, H. et al. Edible Crickets (*Orthoptera*) Around the World: Distribution, Nutritional Value, and Other Benefits Review. In *Sec. Nutrition and Sustainable Diets*, [online]. 2021, vol. 7. DOI: 10.3389/fnut.2020.537915.
7. MAFU, A. et al. Whole Wheat Bread Enriched with Cricket Powder as an Alternative Protein. In *Foods*, [online]. 2022, vol. 11, no. 21. DOI: 10.3390/foods11142142.
8. SATO, P. H. R.; FERREIRA, A. A.; ROSADO, E. L. The prevalence and risk factors for sarcopenia in older adults and long-living older adults. In *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 2020, vol. 89, article nr. 104089. DOI: 10.1016/j.archger.2020.104.
9. SKOTNICKA, M. et al. The Acceptance of Cream Soups with the Addition of Edible Insects (Mealworm, *T. molitor*; House Cricket, *A. domesticus*; Buffalo Worm, *A. diaperinus*; Grasshopper, *R. differens*) among Young People and Seniors in Poland. In *Nutrients*, [online]. 2023, vol. 15, no. 24. DOI: 10.3390/nu15245047.
10. TANG, C. et al. Edible insects as a food source: a review. *Food Production, Processing and Nutrition*, 2019, vol. 1, no. 1, article nr. 8. DOI: 10.1186/s43014-019-0008-1.
11. TAO, J.; LI, O. Y. Edible insects as a means to address global malnutrition and food insecurity issues. In *Food Quality and Safety*, [online]. 2018, vol. 2, no. 1, p. 17–26. DOI: 10.1093/fqsafe/fyy001.
12. WAGNER, K.-H.; MUCHOVÁ, J. *Zdravé starnutie. 60 otázok a odporúčaní pre prax so zameraním na výživu*. Bratislava: Univerzita Komenského v Bratislave, DOLIS GOEN, s. r. o., 2022. 34 s. ISBN 978-80-223-5491-2.

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

VPLYV RASTLINNÝCH SILÍC NA ORGANOLEPTICKÉ VLASTNOSTI MLETÉHO BRAVČOVÉHO MÄSA

THE INFLUENCE OF PLANT ESSENTIAL OILS ON THE SENSORY PROPERTIES IN MINCED PORK MEAT

Gondeková Martina [1], Hlebová Miroslava [2], Huba Ján [1], Záhradník Miroslav [1], Peškovičová Dana [1]

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

[2] Katedra biológie, Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda, Nám. J. Herdu 2, 917 01 Trnava, Slovensko

ABSTRACT

The aim of our study was to evaluate the effect of different concentrations (0 - control, 0.5; 1; 1.5 and 2%) of thyme (Thymus vulgaris L.), marjoram (Origanum Majorana L.) and oregano (Origanum Vulgare L.) essential oils (EOs) on the sensory quality of pork pure minced meat and meat with additives (salt, black pepper, ground cumin, fresh garlic) on the 0th, 10th and 15th days of storage at t +2 to +4 °C. The evaluated sensory attributes were odour, colour, appearance, overall acceptability and in case of baked meat samples also the taste was evaluated. In the minced pork meat sample, the evaluators noted that stabilized the color of the meat during the entire storage period, but at the same time they concluded that the taste and smell of the minced meat samples treated with higher concentrations of EOs were unacceptable. Especially higher concentrations of thyme had a very unpleasant smell and taste, which the panelists described as soapy during the sensory evaluation. In contrast, lower concentrations of thyme EOs received very good scores in the evaluation of color and appearance. The panelists named oregano EOs in lower concentrations (0.5 and 1%), followed by 0.5% marjoram oil, as the most acceptable EOs in taste.

Key words: essential oils, minced pork meat, sensory quality

ÚVOD

Potravinársky priemysel sa neustále vyvíja prostredníctvom uplatňovania inovatívnych nástrojov a smerom k efektívnejším, bezpečnejším, prírodným a ekologickejším riešeniam, ktoré spĺňajú požiadavky spotrebiteľov (Carpena et al., 2021). Potravinárske prídavné látky ponúkajú príležitosť nakŕmiť svet udržiavaním dostupnosti vhodných, výživných a cenovo dostupných potravín na ľudskú spotrebu a zároveň poskytujú spôsob, ako minimalizovať stratu

potravín a plytvanie potravinami (Mwale, M. M., 2023). Syntetické konzervačné látky boli široko používané v eliminácii baktérií a na predĺženie trvanlivosti potravín (Rathee et al., 2023). Keďže väčšina v súčasnosti používaných antimikrobiálnych a konzervačných látok je syntetických, a spotrebitelia ich nepovažujú za „prírodné“ alebo „čisté“, splnenie tejto požiadavky je výzvou pre bezpečnosť potravín (LaLonde et al., 2019). Okrem toho, vystavenie spotrebiteľov syntetickým konzervačným látkam môže viesť k nepriaznivým účinkom na zdravie.

Mäsový priemysel sa v posledných rokoch zameriava predovšetkým na vývoj zdravších mäsových výrobkov (Heck et al., 2019). Jednou z prírodných alternatív je aj používanie rastlinných silíc (RS) ako prírodných konzervantov. Rastlinné silice sú aromatické olejovité kvapaliny získané z rastlinného materiálu (kvety, puky, semená, listy, vetvičky, kôra, byliny, drevo, plody a korene). Vyznačujú sa preto veľmi silnou arómou, ktorá môže negatívne ovplyvniť organoleptické vlastnosti hotových potravinárskych výrobkov. Je to preto, že úrovne potrebné na dosiahnutie požadovaného antimikrobiálneho účinku môžu spotrebitelia vnímať negatívne (Laranjo et al. 2017). Okrem antibakteriálnych alebo iných vlastností RS je preto dôležité skúmať a hodnotiť aj ich organoleptický vplyv pre každý testovaný produkt.

V našej štúdii sme sa zamerali na spotrebiteľskú prijateľnosť rastlinných silíc rôznych koncentrácií (0 – kontrola, 0,5; 1; 1,5; 2 %) tymianu, majoránu a oregana v čistom bravčovom mletom mäse a v mäsovom mletom prípravku (soľ, čierne korenie, mletá rasca, čerstvý cesnak).

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky mäsa

Vzorky mletého bravčového mäsa pochádzali z lokálnej slovenskej mäsovýroby na východnom Slovensku, ktorá je zásobovaná mäsom zvierat pochádzajúcich z vlastnej farmy. Zvieratá boli jatočne realizované podľa požiadaviek nariadenia vlády Slovenskej republiky Zbierky zákonov č. 432/2012 ustanovujúceho požiadavky na ochranu zvierat počas usmrcovania po dosiahnutí hmotnosti 100 – 105 kg. Jatočná realizácia prebiehala na miestnom bitúnku. Po zabití boli jatočné polovičky na 24 hodín schladené pri t = + 2 až +4 ° C a prepravené do mäsovýroby, kde prebiehala rozrábka a príprava vzoriek. Bravčové mäso chudé (výrez) bolo zomleté na mlynčeku (5 mm) a rozdelené na dve rovnaké časti. Jedna polovica mletého mäsa bola ponechaná čistá a do druhej časti boli podľa firemného výrobného receptu pridané a zamiešané prísady - soľ, čierne korenie, mletá rasca a čerstvý cesnak. Vzorky mäsa boli zabalené, zavákuované a prenesené v chladiarenskom boxe pri t = +2 až +4 °C do NPPC-VÚŽV Nitra do Laboratória kvality mäsa.

Rastlinné silice

Vzorky mäsa (n = 66) o hmotnosti 350 g boli ošetrené postrekom RS od firmy Bodhi (Dovozca a distribútor Bodhi Herbal SPA Cosmetics, Bratislava, Slovenská republika), a to tymianovou (*Thymus vulgaris L.),* majoránovou (*Origanum Majorana L.*) a oreganovou (*Origanum Vulgare L.*) silicou. Všetky testované RS boli až do použitia skladované v hermeticky uzavretej kovovej fľaši v chladničke pri teplote +2 až +4 °C v tme. Pred hodnotením účinku RS na testované vzorky mäsa boli tieto nariedené v jedlom slnečnicovom oleji (bežný slnečnicový jedlý olej, Raciol, výrobca Palma, Slovenská republika) v rôznych koncentráciách (0,5; 1; 1,5 a 2 %). Slnečnicový olej bol vybraný ako riedidlo, pretože je to jedlý olej, ktorý sa používa v mnohých potravinových formuláciách. Jedlé oleje, ako je slnečnicový olej, by sa mohli navrhnúť ako riedidlá RS, pretože výskumníci už predtým spomenuli niekoľko nevýhod používania organických rozpúšťadiel ako riedidiel RS, ako je napríklad etanol (Tsitlakidou et al. 2021).

Senzorická analýza

Vzorky mäsa ošetrené RS na senzorickú analýzu boli vákuovo zabalené a umiestnené do chladničky pri +2 až +4 °C po dobu 10 a 15 dní. Kontrolné vzorky (bez pridania RS) boli na prvý deň uložené do mrazničky pri -20 °C až do dňa senzorickej analýzy. Po uplynutí doby skladovania 10 dní boli vzorky uložené do mrazničky pri - 20 °C až po dobu senzorickej analýzy. Deň pred senzorickým hodnotením boli vzorky vybraté z mrazničky a uskladnené cez noc v chladničke pri teplote +2 až +4 °C.

Senzorickú analýzu vykonalo v Laboratóriu senzorickej analýzy NPPC-VÚŽV Nitra 7 neškolených senzorických panelistov. Panelisti hodnotili štyri a päť senzorických atribútov na päťbodovej hedonickej škále. Hodnotenými senzorickými atribútmi boli vôňa, farba, vzhľad, chuť a celková prijateľnosť.

Vôňa, farba, vzhľad a celková prijateľnosť surového mäsa sa hodnotili ihneď po otvorení vákuového balenia pomocou päťbodovej stupnice: pre vôňu a vzhľad 1: veľmi nepríjemné, 2: nepríjemné, 3: prijateľné, 4: príjemné, a 5: veľmi príjemné; pre farbu 1: svetloružová, 2: ružová, 3: ružovo červená, 4: jasne červená a 5: červenohnedá a pre celkovú prijateľnosť 1: veľmi slabá, 2: slabá, 3: stredná, 4: veľmi dobrá a 5 : výborná. Každá testovaná RS mohla získať maximálne 35 bodov a minimálne 7 bodov.

Vzorky mäsa (250 g) boli umiestnené do malých porcelánových misiek, prikryté hliníkovou fóliou. Kuchynská úprava – pečenie, prebiehalo v elektrickej rúre po dobu 15 minút pri 200 °C. Vôňa, farba, vzhľad a celková prijateľnosť boli hodnotené na rovnakej škále ako surové mäso. Na hodnotenie chuti bola použitá 5-bodová stupnica: 1: veľmi nepríjemná, 2: nepríjemná, 3: prijateľná, 4: príjemná a 5: veľmi príjemná. Podľa našich výsledkov boli všetci členovia panelu schopní určiť špecifické chute a vône pre testované RS v hodnotených vzorkách mäsa.

Štatistická analýza

Pre každé ošetrenie sa všetky testy v tejto štúdii uskutočňovali v nezávislých triplikátoch. Výsledky uvedené v grafoch – obrázok 1 a obrázok 2 boli vyhodnotené pomocou STASTGRAPHIC Centurion XVI (verzia 16.1.11) (The Plains, Virginia, USA) (analýza rozptylu – jednofaktorová a multifaktorová ANOVA, hladina spoľahlivosti 95 %, $p < 0,05$) a boli zistené skupiny homogenity na základe účinnosti testovaných RS.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Rastlinné silice majú významný potenciál v potravinárskom priemysle, kde by sa dali využiť najmä na ochranu potravín pred nežiaducimi mikroorganizmami a tiež na predĺženie ich trvanlivosti (Angane et al., 2022). Ich využitie v potravinárskom priemysle je však veľmi obmedzené, a to najmä pre ich silnú arómu, ktorá by mohla mať negatívny vplyv na potraviny (Lourenço et al., 2019), napr. pri úprave mäsa môžu rastlinné silice negatívne ovplyvniť viaceré parametre ako fyzikálne, chemické a v neposlednom rade senzorické vlastnosti (Martín-Sánchez et al., 2011). Z fyzikálnych parametrov je farba pre konzumentov najdôležitejším ukazovateľom kvality mäsa a môže byť aj prvým ukazovateľom degradácie lipidov v mäse. Oxidáciou myoglobínu na oxymyoglobín a metmyoglobín môžu vzniknúť hnedé pigmenty na mäse, ktoré sú pre spotrebiteľa nežiaduce (Tomasevic et al., 2021). Chemické zmeny zahŕňajú oxidáciu lipidov, ktorá môže viesť k nežiaducim pachutiam v mäse (Dave a Ghaly, 2011), zmeny v mastných kyselinách v dôsledku oxidačnej degradácie PUFA alebo zmeny pH, ktoré môžu viesť k rozvoju nežiaducich mikroorganizmov (Gray a kol., 1996). Mnoho autorov uvádza negatívne účinky rastlinných silíc na kvalitu mäsa, ako je zmena farby (Monteschio et al., 2019), paštéty obsahujúce rozmarínové rastlinné silice vykazujú podstatne nižšie percento celkových nasýtených mastných kyselín (Estévez et al., 2007) alebo zníženie hodnoty TBARS po pridaní rastlinných silíc z oregana a šalvie do mletého hovädzieho mäsa (Fasseas et al., 2008). Okrem toho sa predpokladá, že rastlinné silice zvýraznia chuť a vôňu mäsa, aj keď to závisí od gastronomických preferencií a výchovy spotrebiteľa. Účinky na zmyslové atribúty zostávajú veľmi dôležité. Z tohto dôvodu je dôležité vykonať senzorickú analýzu, aby sa zistila korelácia medzi rastlinnými silicami a senzorickými vlastnosťami, vrátane vizuálnej kvality, farby, chuti a vône. Táto analýza uľahčuje lepšie pochopenie vplyvu rastlinných silíc na tieto kritické parametre (Ruiz-Hernández et al., 2021). Z tohto dôvodu sme hodnotili vplyv použitých RS na vybrané parametre (vôňa, chuť, vzhľad, farba a celková prijateľnosť) čistého mletého mäsa a mäsového mletého prípravku.

Vzorky čistého mletého mäsa sa hodnotili na 10. a 15. deň skladovania pred pečením. Výsledky ukázali, že po 10 dňoch skladovania čisté mleté mäso ošetrené majoránovou, tymianovou

a oreganovou RS v koncentrácii 0,5 % a oreganovou RS v koncentrácii 1 % získalo maximálne skóre (35 bodov), ako aj neošetrená kontrolná vzorka pre všetky hodnotené parametre (Obrázok č. 1A). Veľmi dobré výsledky dosiahlo aj čisté mleté mäso ošetrené rovnakými koncentráciami (0,5 a 1 %) majoránovej a tymianovej RS. Najhoršie bolo hodnotené čisté mleté mäso ošetrené 2% majoránovou RS, no z hľadiska celkovej prijateľnosti získalo najnižšie skóre mäso ošetrené 2% tymianovou RS (20 bodov).

Po 15 dňoch skladovania len vzorka mäsa ošetrená 0,5 % tymianovou RS získala maximálne hodnotenie (35 bodov) za dva parametre (vzhľad a farba) (Obrázok č. 1B). Veľmi uspokojivé hodnotenie (31 bodov) pre farbu a vzhľad dosiahli aj ostatné koncentrácie tymianovej RS (1 a 1,5%). Neošetrená kontrolná vzorka získala maximálne 28 bodov za všetky hodnotené parametre. V teste celkovej prijateľnosti získali vzorky čistého mäsa ošetrené 2 % tymianovou a 1,5 % oreganovou RS najnižšie skóre (14 bodov). Mäso ošetrené 2% tymianovou RS malo navyše najnižšie skóre vo všetkých hodnotených parametroch.

Veľmi podobným spôsobom boli hodnotené aj vzorky čistého mletého mäsa po upečení. Po 10 dňoch malo mäso ošetrené 0,5 % oreganovou a 0,5 % a 1 % tymianovou RS najvyššie celkové skóre pre tri parametre: vôňu, vzhľad a celkovú prijateľnosť. Čo sa týka chuti, neošetrená kontrolná vzorka dosiahla najvyššie skóre (35 bodov) (Obrázok č. 1C). Naopak tymiánová RS pri všetkých koncentráciách chutila panelistom najmenej. Aj vyššie koncentrácie (1,5 a 2%) majoránovej RS a 2 % koncentrácia oregánovej RS dostali veľmi slabé ohodnotenie v chuti.

Najprijateľnejšiu chuť pre hodnotiteľov (28 bodov) mala vzorka mäsa ošetrená 0,5% majoránovou a 0,5% a 1% oreganovou RS. Čo sa týka celkovej prijateľnosti, najvyššie skóre (35 bodov) získalo čisté mleté mäso ošetrené 0,5 % a 1 % tymianovou a 0,5 % oreganovou RS.

Po 15 dňoch skladovania mäso ošetrené tromi koncentráciami tymianovej RS (0,5; 1 a 1,5 %) získalo najvyššie skóre (35 bodov) za parameter farby a dve testované koncentrácie (1 a 1,5 %) za parameter vzhľad (Obrázok č. 1D). Z hľadiska chuti však mäso ošetrené tymianovou RS vo všetkých testovaných koncentráciách (0,5; 1; 1,5 a 2 %) dosiahlo najnižšie skóre (7 bodov). Najnižšie skóre (vo všetkých parametroch) získalo aj čisté mleté mäso ošetrené 2 % oreganovou RS. Táto vzorka čistého mletého mäsa tiež získala najnižšie celkové skóre prijateľnosti, rovnako ako mäso ošetrené 2% tymianovou RS (14 bodov pre obe RS). Výsledky teda ukazujú, že spotrebiteľská prijateľnosť mletého bravčového mäsa ošetreného RS klesala so zvyšujúcou sa koncentráciou rastlinných silíc vo všetkých parametroch, pričom najhoršie skóre malo mäso ošetrené najvyššími koncentráciami (1,5 a 2 %) tymianovej RS.

Všetci hodnotitelia uviedli, že pri vyšších koncentráciách tymianovej RS mali vzorky mäsa veľmi nepríjemnú vôňu a chuť, ktorú označili za mydlovú. Podobne vzorky ošetrené vyššou koncentráciou oreganovej RS vykazovali nepríjemný zápach ešte predtým, ako bolo mäso

upečené. Farba mäsa bola tiež opísaná ako tmavšia až veľmi tmavá pri vyšších použitých koncentráciách v porovnaní s kontrolou. Tiež Šojić a spol. (2019), ktorí testovali vplyv rastlinných silíc a extraktov na senzorickú kvalitu bravčových párkov, zistili, že po 4 dňoch skladovania boli párky ošetrené najvyššími koncentráciami rastlinných silíc hodnotené hodnotiteľmi lepšie ako neošetrená kontrolná vzorka, ale po 8 dňoch dosiahli maximálne skóre len párky ošetrené extraktmi. Podobne v inej štúdii títo autori uviedli, že šalviová rastlinná silica negatívne ovplyvnila senzorickú kvalitu (vôňu a chuť), najmä pri vyšších koncentráciách (Šojić et al. 2018). Podobné výsledky dosiahli Boskovic et al. (2017), ktorí aplikovali tymianovú rastlinnú silicu na bravčové mäso a zistili, že mäso bolo pre hodnotiteľov prijateľné len v nižších koncentráciách, čo je podobný výsledok ako v našej štúdii. V našom prípade boli najlepšie hodnotené vzorky mäsa ošetrené oreganovou rastlinnou silicou počas celej doby skladovania (10 a 15 dní). Podobne autor Al-Hijazeen (2019) pri hodnotení celkovej prijateľnosti kuracieho mäsa zistil, že oreganová rastlinná silica v koncentrácii 150 ppm nemá negatívny vplyv na vôňu mäsa. Môže to byť spôsobené tým, že oregano je veľmi časté a obľúbené korenie používané v marinádach pri varení mäsových výrobkov. Podobné zistenia uviedli Hernández et al. (2015) vo svojej štúdii, ktorí použili oreganovú rastlinnú silicu aj pri ošetrení hovädzieho mäsa.

Senzorické hodnotenie vzoriek mäsového prípravku sa tiež uskutočnilo po 10 a 15 dňoch skladovania za rovnakých podmienok, ako je opísané vyššie. Výsledky ukázali, že po 10 dňoch v troch testovaných koncentráciách (0,5; 1 a 1,5 %) získali maximálne skóre (35 bodov) vzorky mäsa ošetrené majoránkovou RS, ako aj kontrolná vzorka a to pri hodnotení parametrov, ako je vôňa, vzhľad a farba (Obrázok č. 2A). Avšak celkové skóre prijateľnosti pre majoránkovú RS bolo len 19 bodov pri týchto troch koncentráciách a iba 17 bodov pri 2 % koncentrácii.

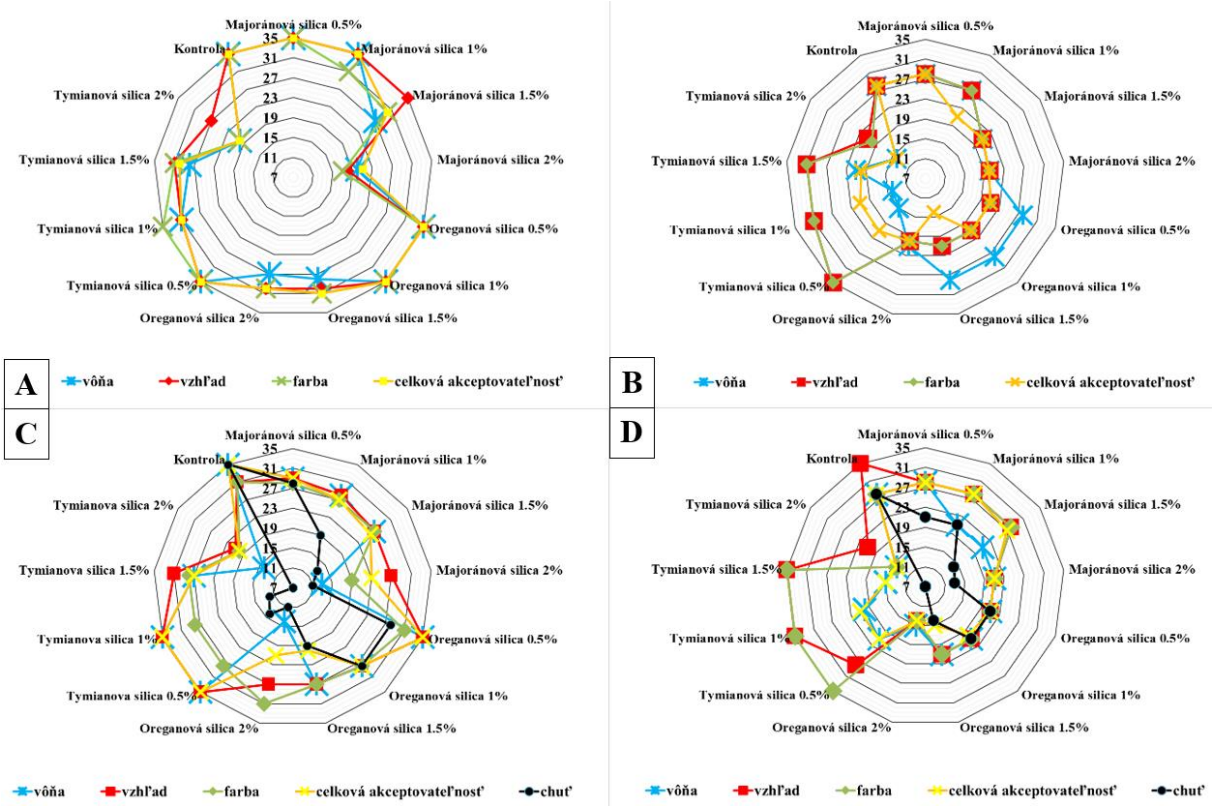
Vzorky mäsa ošetrené tymianovou RS boli vo všetkých testovaných koncentráciách hodnotené najhoršie. Najlepšie výsledky boli dosiahnuté s oreganovou RS vo všetkých parametroch a vo všetkých testovaných koncentráciách, vrátane 2%.

Po 15 dňoch skladovania vzoriek mäsového prípravku už mäso nebolo pre hodnotiteľov prijateľné a žiadna z rastlinných silíc nezískala maximálny počet bodov v žiadnom z hodnotených parametrov (Obrázok č. 2B). Vzorky mäsového prípravku ošetrené oreganovou rastlinnou silicou, ktoré dosiahli najvyššie skóre (0,5 – 19; 1 – 20; 1,5 – 21 a 2 % – 15) vo všetkých štyroch koncentráciách v porovnaní s ostatnými RS, boli zároveň hodnotené ako najprijateľnejšie (celková prijateľnosť). Naopak, vzorky mäsa ošetrené 2 % koncentráciou RS z majoránky a tymianu mali najnižšie skóre vo všetkých testovaných parametroch.

Obrázok č. 1,

(A-B) Celkové senzorické hodnotenie (vôňa, vzhľad, farba a celková prijateľnosť) vzoriek čistého mletého mäsa ošetrených RS (majorán, tymian a oregano) v koncentráciách 0,5; 1; 1,5 a 2 % po 10 (A) a 15 dňoch (B) skladovania;

(C-D) Celkové senzorické hodnotenie (vôňa, vzhľad, farba, celková prijateľnosť a chuť) vzoriek čistého mletého mäsa ošetrených RS (majorán, tymian a oregano) po upečení v koncentrácii 0,5; 1; 1,5 a 2 % po 10 (C) a 15 dňoch (D) skladovania.

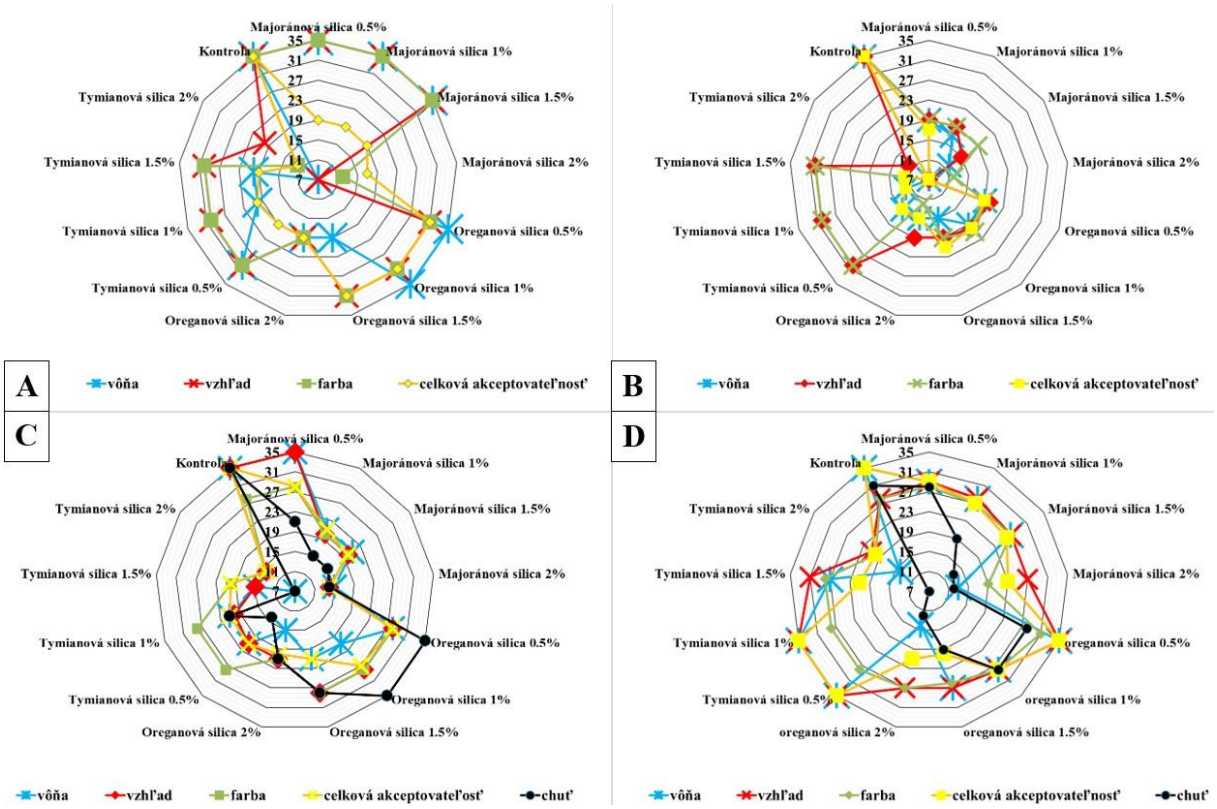


Po upečení vzoriek mäsového prípravku po 10 dňoch skladovania dosiahla v dvoch hodnotených parametroch (vôňa a vzhľad) najviac bodov (35 bodov) len majoránová RS v koncentrácii 0,5 %. Pri hodnotení chuti vzorky ošetrené oreganovou RS v dvoch koncentráciách (0,5 a 1 %) boli opäť hodnotené najlepšie (Obrázok č. 2C). Najhoršie boli hodnotené vzorky ošetrené tymianovou RS v koncentrácii 2 %, ktoré dosiahli najnižšie skóre vo všetkých parametroch. Hodnotitelia ich považovali za veľmi nepríjemné so silným korenistým zápachom. Naopak po 15 dňoch skladovania boli vzorky ošetrené 0,5% RS z oregana a tymianu hodnotené ako najlepšie (35 bodov) v troch parametroch (vôňa, vzhľad a celková prijateľnosť), a to aj v prípade tymianovej RS v koncentrácii 1%. Čo sa týka chuti, panelisti najlepšie hodnotili mäsový prípravok ošetrený oreganovou a majoránovou RS s koncentráciou 0,5 % (28 bodov pre obe RS) a tiež 1 % oreganovú RS (28 bodov) (obrázok 2D). Vzorky ošetrené tymianovou RS boli opäť hodnotené ako chuťovo neprijateľné so silným zápachom.

Obrázok č. 2,

(A-B) Celkové senzorické hodnotenie (vôňa, vzhľad, farba a celková prijateľnosť) vzoriek mletého mäsového prípravku ošetrených RS (majorán, tymian a oregano) v koncentráciách 0,5; 1; 1,5 a 2 % po 10 (A) a 15 dňoch (B) skladovania; (C-D)

Celkové senzorické hodnotenie (vôňa, vzhľad, farba, celková prijateľnosť a chuť) vzoriek mletého mäsového prípravku ošetrených rastlinnými silicami (majorán, tymian a oregano) v koncentrácii 0,5; 1; 1,5 a 2 % po 10 (C) a 15 dňoch (D) skladovania.



ZÁVER

Pri vzorke mletého bravčového mäsa hodnotitelia zaznamenali, že RS stabilizovali farbu mäsa počas celej doby skladovania, ale zároveň usúdili, že chuť a vôňa vzoriek mletého mäsa ošetrených vyššími koncentráciami RS sú neprijateľné. Najmä vyššie koncentrácie tymiánovej RS mali veľmi nepríjemnú vôňu a chuť, ktorú pri senzorickom hodnotení panelisti označili za mydlovú. Hulanková a spol. (2013) vo svojej štúdii tiež zistili, že mäso potierané vyššími koncentráciami malo výraznú arómu, ktorá bola pre hodnotiteľov dlhodobo neprijateľná. Naopak nižšie koncentrácie tymiánovej RS získali pri hodnotení farby a vzhľadu veľmi dobré ohodnotenie. Za chuťovo najprijateľnejšiu RS označili panelisti oregánovú RS v nižších koncentráciách (0,5 a 1%) nasledovanú 0,5 % majoránovou RS.

Mnohí iní autori však uviedli, že senzorické vlastnosti mäsových výrobkov sa po pridaní rastlinného silíc výrazne zlepšili (Skandamis a Nychas, 2001; Govaris et al., 2010). Rozdiely vo výsledkoch možno vysvetliť rozdielmi v zložení použitých RS, pretože aj menšie zložky môžu ovplyvniť konečnú chuť alebo vôňu upravovanej potraviny. Tejto problematike sa budeme venovať v ďalšej štúdii pri detailnej analýze použitých rastlinných silíc.

POĎAKOVANIE

Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Udržateľné systémy inteligentného farmárstva zohľadňujúce výzvy budúcnosti 313011W112, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

POUŽITÁ LITERATÚRA:

1. AL-HIJAZEEN, M. Effect of Origanum syriacum L. essential oil on the storage stability of cooked chicken meat. Brazilian Journal of Poultry Science, 2019, 21, eRBCA-2019. DOI: org/10.1590/1806-9061-2017-0719
2. ANGANE, M. et al. Essential oils and their major components: an updated review on antimicrobial activities, mechanism of action and their potential application in the food industry. Foods, 2022, 11(3), 464. DOI: 10.3390/foods11030464
3. BOSKOVIC, M. et al. Inhibition of Salmonella by thyme essential oil and its effect on microbiological and sensory properties of minced pork meat packaged under vacuum and modified atmosphere. International Journal of Food Microbiology, 2017, 258, 58-67. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.07.011
4. CARPENA, M. et al. Essential Oils and Their Application on Active Packaging Systems: A Review. Resources 2021, 10, 7. DOI: 10.3390/resources10010007
5. DAVE, D., & GHALY, A. E. Meat spoilage mechanisms and preservation techniques: a critical review. American Journal of Agricultural and Biological Sciences, 2011, 6(4), 486-510. DOI:10.3844/ajabssp.2011.486.510
6. ESTÉVEZ, M. et al. Rosemary Essential Oils versus BHT for the Inhibition of Lipid Oxidative Reactions in Liver Pâté. LWT - Food Sci. Tech. 2007, 40, 58–65. DOI: 10.1016/j.lwt.2005.07.010.
7. FASSEAS, M. K. et al. Antioxidant Activity in Meat Treated with Oregano and Sage Essential Oils. Food Chem. 2008, 106, 1188–1194. DOI: 10.1016/j. foodchem.2007.07.060.

8. GOVARIS, A. et al. The antimicrobial effect of oregano essential oil, nisin and their combination against Salmonella Enteritidis in minced sheep meat during refrigerated storage. International Journal of Food Microbiology, 2010, 137, 175–180. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.12.017
9. GRAY, J. I. et al. Oxidative quality and shelf life of meats. Meat science, 1996, 43, 111-123. DOI:10.1016/0309-1740(96)00059-9
10. HECK, R.T. et al. Hydrogelled emulsion from chia and linseed oils: A promising strategy to produce low-fat burgers with a healthier lipid profile. Meat Sci. 2019, 156, 174–182. DOI: 10.1016/j.meatsci.2019.05.034
11. HULANKOVA, R. et al. Combined antimicrobial effect of oregano essential oil and caprylic acid in minced beef. Meat science, 2013, 95(2), 190-194. DOI: 10.1016/j.meatsci.2013.05.003
12. LALONDE, T. et al. Essential oils as antimicrobials. Madridge Journal of Food Technology, 2019, 4(1), 163-169. DOI: 10.18689/mjft-1000125
13. LARANJO, M. et al. Use of essential oils in food preservation. In Antimicrobial Research: Novel Bioknowledge and Educational Programs; Mendez-Vilas, A., Ed.; Formatex Research Center: Badajoz, Spain, 2017; Volume 6, pp. 177–188. http://www.microbiology6.org/ebook.php
14. LOURENÇO, S. C. et al. Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications. Molecules, 2019, 24(22), 4132. DOI: 10.3390/molecules24224132
15. MARTÍN-SÁNCHEZ, A. M. et al. Lipolysis, proteolysis and sensory characteristics of a Spanish fermented dry-cured meat product (salchichón) with oregano essential oil used as surface mold inhibitor. Meat science, 2011, 89(1), 35-44. DOI: 10.1016/j.meatsci.2011.03.018
16. MONTESCHIO, J. O. et al. The Effect of Encapsulated Active Principles (Eugenol, Thymol and Vanillin) and Clove and Rosemary Essential Oils on the Structure, Collagen Content, Chemical Composition and Fatty Acid Profile of Nellore Heifers Muscle. Meat Sci. 2019, 155, 27–35. DOI: 10.1016/j.meatsci.2019.04.019
17. MWALE M. M. Health Risk of Food Additives: Recent Developments and Trends in the Food Sector. Health Risks of Food Additives - Recent Developments and Trends in Food Sector [Working Title]. 2023, IntechOpen. Available at: DOI: 10.5772/intechopen.109484.
18. RATHEE, P. et al. Polyphenols: natural preservatives with promising applications in food, cosmetics and pharma industries; problems and toxicity associated with synthetic

preservatives; impact of misleading advertisements; recent trends in preservation and legislation. Materials, 2023. 16(13), 4793. DOI:10.3390/ma16134793

19. RUIZ-HERNÁNDEZ K. et al. Physical, Chemical and Sensory Changes in Meat and Meat Products Induced by the Addition of Essential Oils: A Concise Review, Food Reviews International, 2021. DOI: 10.1080/87559129.2021.1939369
20. SKANDAMIS, P. N., & NYCHAS, G. J. Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. Journal of Applied Microbiology, 2001, 91(6), 1011-1022. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2001.01467.x
21. ŠOJIĆ, B. et al. Coriander Essential, I. M. Oil as Natural Food Additive Improves Quality and Safety of Cooked Pork Sausages with Different Nitrite Levels. Meat Sci. 2019a, 157, 107879. DOI: 10.1016/j.meatsci.2019.107879
22. ŠOJIĆ, B. et al. The effect of essential oil and extract from sage (Salvia officinalis L.) herbal dust (food industry by-product) on the oxidative and microbiological stability of fresh pork sausages. LWT, 2018, 89, 749-755. DOI:10.1016/j.lwt.2017.11.055
23. TOMASEVIC, I. et al. Recent advances in meat color research. Current Opinion in Food Science, 2021, 41, 81-87. DOI: 10.1016/j.cofs.2021.02.012
24. TSITLAKIDOU, P. et al. Sensory analysis, volatile profiles and antimicrobial properties of Origanum vulgare L. essential oils." Flavour and Fragrance Journal 37.1 (2022): 43-51. DOI:10.1002/ffj.3680
25. Zbierka zákonov č. 432/2012. Nariadenie vlády Slovenskej republiky z 12. decembra 2012, ktorým sa ustanovujú požiadavky na ochranu zvierat počas usmrcovania. https://www.slov-lex.sk/pravne-predpisy/SK/ZZ/2012/432/

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

POROVNANIE KONTAMINÁCIE PROSTREDIA CHOVOV BROJLEROVEJ HYDINY A MÄSOSPRAVUJÚCICH PODNIKOV

THE COMPARISON OF ENVIRONMENTAL CONTAMINATION OF BROILER FARMS AND MEAT PROCESSING FACILITIES

Gregová Gabriela[1], Szabóová Tatiana[1], Dančová Nikola[1], Regecová Ivana[2]

Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat

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

ABSTRACT

The microbial contamination of poultry meat is influenced by rearing conditions, feeding, pre-slaughter handling, slaughterhouse hygiene, and worker hygiene. The aim of our study was to compare the concentration of faecal contamination of the environment in broiler farming and in the poultry slaughterhouse environment. The total number of bacteria in the air from the slaughterhouse was more than 10^5 CFU·m^3. During broiler fattening, a higher concentration of CPM airborne microorganisms, coliform bacteria above 10^6 CFU/m^3 and molds up to 10^5 CFU/m^3 was detected. Examined air samples from the slaughterhouse contained *E. coli* resistant to ampicillin, tetracycline and enrofloxacin, but no ESBL was found. There was also a high rate of resistance to streptomycin, tetracycline and cotrimoxazole. The highest resistance to quinolones and beta-lactams was recorded in *E. coli* isolates from excrement and air from broiler breeding. We detected dangerous ATB-resistant ESBL, multi-resistant and quinolone-resistant *E. coli* isolates in broiler farms, but also in swabs from the slaughterhouse.

Key words: broiler, meat, contamination, environment, MIC

ÚVOD

V rámci koncepcie „One Health“ je v spoločnom záujme ochrany zdravia dôležité študovať prepojenie zdravia ľudí, zvierat a ekosystémov, pretože komplexný prístup s dôrazom na zníženie spotreby ATB vedie k produkcii zdravých potravín (OIE, 2006). Industrializácia hydinárskeho sektora má značný negatívny vplyv na ovzdušie, pôdu a vodu. Považuje za jednu z príčin straty biodiverzity, a taktiež vzniku a šírenia ATB rezistencie do prostredia (Viegas et al., 2023).

Dobré životné podmienky ľudí a zvierat, ktoré sú súčasťou prístupu One Health. Choroby zvierat ohrozujú ľudské zdravie, potravinovú bezpečnosť a spôsobujú straty produktivity zvierat. Adekvátne hygienické riadenie chovov hydiny je preto rozhodujúce, aby

sa predišlo negatívnym dôsledkom alimentárnych chorôb na ľudské zdravie a ekonomickým dôsledkom (Gomes et al., 2023).

Povrchovú mikrobiálnu kontamináciu hydinového mäsa ovplyvňujú podmienky prostredia chovu (mikroklíma, koncentrácia zvierat, vetranie, čistiace a dezinfekčné programy a pod.), kŕmenie, manipulácia pred porážkou, osobná hygiena pracovníkov, hygiena počas zabíjania a spracovania hydinového mäsa. Mikroorganizmy nachádzajúce sa na zabitej hydine pochádzajú z dvoch hlavných zdrojov: z prostredia na bitúnku (živá hydina, vybavenie, personál) a z tráviaceho traktu zvierat (Tsola et al., 2008).

Antibiotiká sa v produkcii hydiny vo veľkej miere používajú na liečbu chorých zvierat alebo na profylaktické účely. Tetracyklíny, chinolóny a sulfónamidy, ktoré patria medzi najpoužívanejšie ATB v terapii hydiny (Phillips et al., 2004).

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky vzduchu a stery z prostredia boli odoberané v týždňových intervaloch počas odchovu hydiny. Taktiež sme hodnotili kontamináciu (stery z prostredia a vzduch) z rôznych častí hydinového bitúnku.

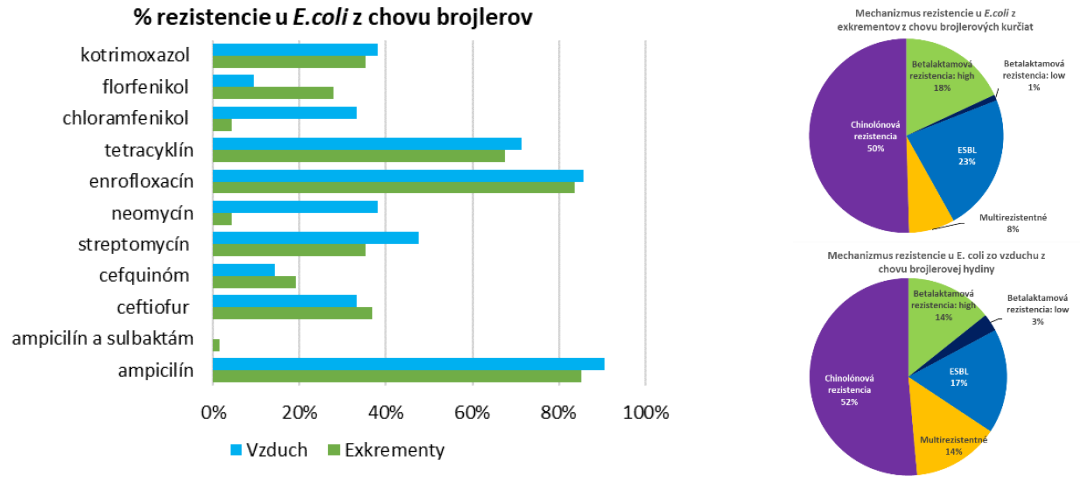
Bioaerosóly sa vzorkovali pomocou MAS-100 Eco na štandardné Petriho misky s živnými médiami (MPA, Endo agar; McConkey agar, Sabouraud agar-SA) a boli inkubované pri 37 °C počas 24 hodín (resp. SA pri 24°C počas 72 hod). Povrchové stery a exkrementy sa pred rozočkovaním nariedili (10^{-1} až 10^{-5}). Na stanovenie minimálnej inhibičnej koncentrácie (MIC) z izolátov *E. coli* sme použili kolorimetrickú mikrodiluènú metódu podľa smerníc CLSI M31-A3 [1]. Gény ESBL pre CTX-M a CMY-2 boli stanovené pomocou PCR.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vysoká teplota, vlhkosť a znečistenie časticami v chovných priestoroch podporuje rast a vývoj mikroorganizmov. Celkový počet baktérií vo vzduchu v chove brojlerov sa pohyboval od 1 x 10^5 do > 10^6 CFU/m^3, koliformných baktérií od 1,6 x 10^4 do > 10^6 CFU/m^3 a plesní od 1,7 x 104 do 3,95 x 10^5 CFU/m^3. Priemerná koncentrácia prachu bola 1,789 mg/m^3 a maximálna hodnota bola 7,52 mg/m^3. Zistili sme, že počas výkrmu brojlerov sa kontaminácia vzduchu zvýšila, zatiaľ čo koncentrácia prachu zostala konštantná. Vo vzduchu prevládali rody *Staphylococcus xylosus, Staphylococcus saprophytics, Staphytococus equorum, Enterococcus casseliflavus, Staphylococcus aureus, Staphylococcus arlettae, Macrococcus caseolyticus a Escherichia coli*.

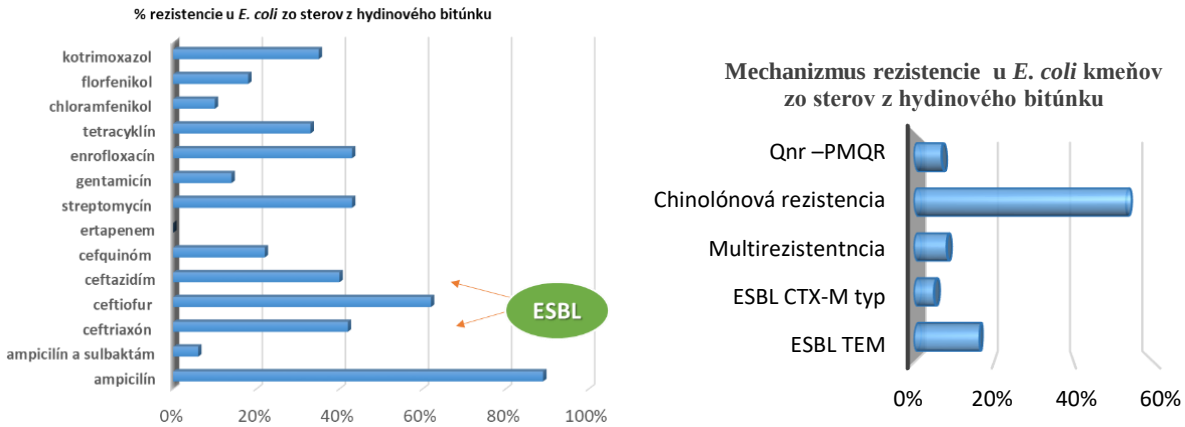
Antibiotiká používané na profylaxiu a terapiu hydiny často úzko súvisia s antibiotikami používanými v humánnej medicíne.

Obrázok č. 1, Výsledky rezistencie u *E. coli* izolátov z chovu brojlerov



Je pravdepodobné, že cefalosporíny sa podávali vo vode už v prvých dňoch života kurčiat, aby sa znížila ich mortalita a chorobnosť. Už trus týždňových kurčiat obsahoval *E. coli* rezistentné na cefalosporíny (ceftiofur a cefquinom), ktoré sa počas rastu postupne znižovali. V piatom týždni, keď ustupuje selekčný tlak antibiotík, sme pozorovali výskyt citlivých *E. coli*. Fenotypy ESBL boli prítomné častejšie vo fekálnych *E. coli* (24 pozitívnych fenotypov), ako aj vo vzduchu (len 6 pozitívnych fenotypov). Avšak vysoká hladina MIC pre enrofloxacín bola podobná vo fekálnych aj vzdušných izolátoch (Obr. 1).

Obrázok č. 1, Výsledky rezistencie u *E. coli* izolátov z hydinového bitúnku



Kmene *E. coli* zo sterov z bitúnku vykazovali vysokú rezistenciu na ampicilín (89 %), ceftiofur (62 %) a cefchinóm (22 %). Vysoká MICxG ceftazidímu (3,6 $mg.l^{-1}$) a ceftriaxónu (5,2 $mg.l^{-1}$) indikovala prítomnosť betalaktamáz s rozšíreným spektrom (ESBL) u 43 % izolátov (Obr. 2). Pomocou metódy PCR, z fenotypovo pozitívnych ESBL kmeňov sme u 16 detegovali gény CMY-2.

Van den Bogaard a kol. (2002) pozorovali podobný profil rezistencie v chovoch brojlerov a moriek u *E coli*, pričom u ľudí a u hydiny boli prítomné identické klony. Najčastejšia rezistencia u izolátov *E. coli* bola zaznamenaná na streptomycín a sulfametoxazol. Výsledky tejto holandskej štúdie silne naznačujú rozšírenie *E. coli* rezistentných na fluorochinolóny zo zvierat na farmárov, ale aj na konzumentov hydinového mäsa.

ZÁVER

Intenzívna produkcia brojlerov je veľmi významným zdrojom kontaminácie vzduchu a môže predstavovať zdravotné riziko pre chovateľov hydiny a ľudí žijúcich v blízkosti hydinových fariem. Naše výsledky ukázali predĺženú cirkuláciu príbuzných kmeňov *E. coli* v skúmanom bitúnku. Aby sa zabránilo šíreniu chorôb, je veľmi dôležitá asanácia a dezinfekcia chovov hydiny, ako aj hydinových bitúnkov.

POĎAKOVANIE

Táto publikácia vznikla vďaka podpore projektu KEGA 001UVLF-4/2022.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Phillips, I. et al. (2004). Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 53, 28 52.
2. Van Den Bogaard, A. E. ; London, N. ; Driessen,C.; Stobberingh, E. F.. (2002); Antibiotic resistance of faecal Escherichia coli in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 49, 497-505.
3. CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) (2008) : Performance standards for antimicrobial disk and dilution. Susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standard(3rd edn). CLSI Document M13-A3 28, 1-99.
4. Tsola E, Drosinos EH, Zoiopoulos P. Impact of poultry slaughter house modernisation and updating of food safety management systems on the microbiological quality and safety of products. Food Control. 2008; 19: 423-431.
5. Gomes, B.; Dias, M.; Cervantes, R.; Pena, P.; Santos, J.; Vasconcelos Pinto, M.; Viegas, C. One Health Approach to Tackle Microbial Contamination on Poultries—A Systematic Review. *Toxics* **2023**, *11*, 374. https://doi.org/10.3390/toxics11040374
6. Viegas, C.; Moniz, G.; Pargana, J.; Marques, S.; Resende, C.; Martins, C.; Arez, A.P.; Ceratto, N.; Viegas, S. Biodiversity and health: Investing in biodiversity protection

towards health gains. In *From Life Molecules to Global Health*; Principia Editora: Parede, Portugal, 2021;

7. OIE, 2006 Report of the sixth meeting of the oie working group on animal production food safety. www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Food_Safety/docs/pdf/AFFS_reports /A_Report_Nov_2006.pdf

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

RIZIKÁ SPOJENÉ S KONZUMÁCIOU RYBIEHO MÄSA

RISKS ASSOCIATED WITH THE CONSUMPTION OF FISH PRODUCTS A SEAFOOD

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

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

ABSTRACT

Fish are considered an essential part of the human diet due to their high nutritional value. Their popularity and availability in our country has been increasing recently. The positive benefit of the consumption of fish meat for the human body can replace the possible health risk in the form of zoonoses, if it concerns the consumption of raw fish and insufficiently heat-treated fish. Raw and undercooked fish can be carriers of various pathogens, including bacteria, viruses, parasites and fungi. In this review, we will take a closer look at selected bacterial zoonoses that are responsible for many diseases caused by eating contaminated fish. They are: *Salmonella spp., Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Listeria monocytogenes, and Plesiomonas shigelloides.*

Key words: fish meat, bacterial zoonoses, bacterial diseases, contaminated fish, health risk

ÚVOD

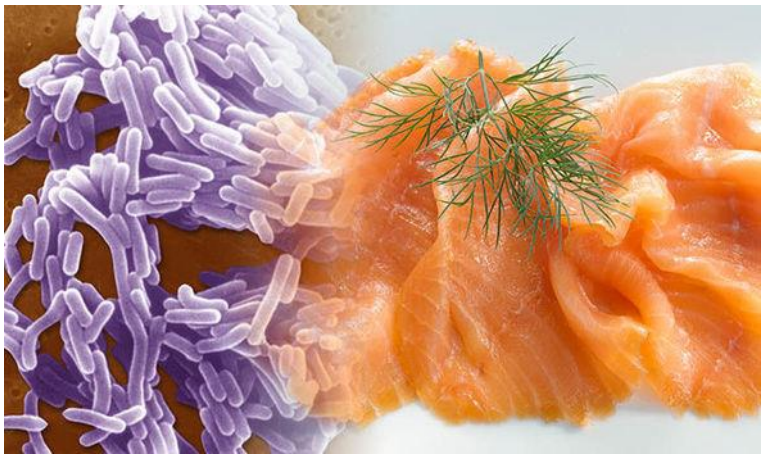
Ryby majú v našom jedálničku nezastupiteľnú úlohu. Ich obľúbenosť a dostupnosť u nás v poslednej dobe stúpa. Sú cenným zdrojom potravy, obsahujú vysoké množstvo kvalitných bielkovín, nízky obsah cholesterolu, nulový obsah sacharidov, sú bohaté na zinok, selén, železo a vitamín B12. Morské ryby sú zdrojom omega-3 mastných kyselín a jódu. Tuk z rybej pečene je zase zdrojom vitamínu A a D. Rybie mäso pre svoju výživovú hodnotu a dietetické účinky patrí medzi najhodnotnejšie potraviny živočíšneho pôvodu a v poslednej dobe dopytovo konkuruje hovädziemu, bravčovému a hydinovému mäsu (Tsoupras et al., 2022). Konzumácia rýb je zaujímavá aj z hľadiska racionálnej výživy, pretože rybie mäso má nízku kalorickú hodnotu a je ľahko stráviteľné. Pravidelný príjem rybieho mäsa zlepšuje srdcovú činnosť, znižuje riziko vzniku trombov, srdcových infarktov, mozgových príhod, pomáha udržiavať správnu hladinu cholesterolu v tele, pôsobí v prevencii proti cukrovke, depresii a celkovo zlepšujú duševné zdravie. Pôvod rýb určených na ľudskú spotrebu pochádza z rybolovu a akvakultúry. V súčasnosti sa ryby predávajú na spotrebu v rôznych úpravách, či

už ide o ryby celé, vypitvané, chladené, mrazené, údené, solené, alebo dehydrované. Pozitívny prínos konzumácie rybieho mäsa pre ľudský organizmus môže vystriedať potenciálne zdravotné riziko vo forme zoonóz, ak ide o konzumáciu surových rýb a pri nedostatočne tepelne upravených rybách. Surové a nedostatočne tepelne upravené ryby môžu byť zdrojom rôznych patogénov, medzi ktoré patria baktérie, vírusy, parazity a huby. Pôvodcami bakteriálnych ochorení, ktorými sa ľudia pri konzumácii kontaminovaných rýb môžu nakaziť je *Salmonella* spp., *Vibrio* spp., *Aeromonas* spp., *Campylobacter* spp, *Shigella* spp., *Yersinia* spp., *Clostridium* spp., *Bacillus cereus, Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus a Plesiomonas shigelloides.* Uvedené mikroorganizmy sa bežne nachádzajú v koži, žiabrach a v črevách rýb (Ziarati et al., 2022).

Listeria monocytogenes

Listerióza je zriedkavá, pritom závažná alimentárna infekcia s vysokou hospitalizáciou a úmrtnosťou v porovnaní s inými bakteriálnymi patogénmi. Ochorenie spôsobuje Gram- pozitívna, intracelulárna baktéria, *Listeria monocytogenes*, ktorá je dôležitým potravinovým patogénom. Jej tiolom aktivovaný hemolyzín je identifikovaný ako kľúčový, má schopnosť množiť sa v hostiteľských fagocytárnych bunkách a šíriť sa z bunky do bunky. Je rozšírená v prostredí odkiaľ sa často dostáva do potravinového výrobného reťazca. Rizikom sú preto tepelne neupravené ryby. Infekcia *L. monocytogenes* je zvyčajne udržiavaná pod kontrolou imunitného systému a najčastejšie sa vyskytuje u starších ľudí, pacientov s oslabenou imunitou, tehotných žien a novorodencov. Môže spôsobiť sepsu, meningitídu, encefalitídu, neonatálne infekcie, mŕtvo narodené deti alebo potraty (Halbedel et al., 2023).

Obrázok č. 1, Údený losos ako zdroj *Listeria monocytogenes*



https://www.express.co.uk/news/world/1048320/Listeria-outbreak-four-deaths-eu-countries-Listeriosis-salmon

***Salmonella* spp.**

Ochorenia vyvolané *Salmonella* spp. patria medzi najvýznamnejšie alimentárne zoonózy a zároveň sú celosvetovo na treťom mieste hlavných príčin ľudskej smrti spomedzi hnačkových ochorení. Rod *Salmonella* patrí medzi Gram-negatívne baktérie patriace do čeľade Enterobacteriaceae, v rámci rodu existujú dva druhy, *S. bongori* a *S. enterica*. Druhy *Salmonella* možno klasifikovať na týfusové a netýfusové, vzhľadom na ich schopnosť vyvinúť špecifické patológie u ľudí.

Tieto baktérie predstavujú veľkú hrozbu pre potravinársky priemysel, pretože sú schopné prispôsobiť sa podmienkam prostredia, ktoré sa výrazne líšia od ich normálneho rozsahu rastu. Niektoré kmene sú schopné rásť pri 54°C, iné pri 2-4°C. Infekcia môže byť spojená s jedlom alebo vodou a prítomnosť týchto baktérií úzko súvisí s nedostatočnou hygienou. Patogény vstupujú do organizmu vodou alebo potravinami infikovanými fekálnou mikrobiotou. Salmonelóza je potom u ľudí vyvolaná konzumáciou takto kontaminovaných rýb. Z toho dôvodu predstavuje životné prostredie dôležitý vektor šírenia *Salmonella* spp. (Ferrari et al., 2019).

Obrázok č. 2, *Salmonella* spp.



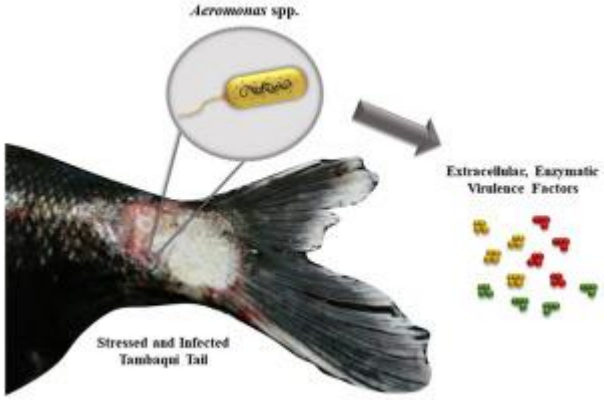
https://foodfakty.pl/nie-pozwol-aby-salmonella-zjadla-twoje-zyski-testuj-z-zaufaniem

Aeromonas hydrophila

Patrí do čeľade Aeromonadaceae, ide o fakultatívne anaeróbnu, Gram-negatívnu tyčinku, ktorá je prirodzene rozšírená vo vodnom prostredí. Jej prítomnosť bola potvrdená vo vodných živočíchoch a bola izolovaná v surových ale aj v mrazených rybách, pripravených na ľudskú spotrebu. U citlivých jedincov konzumujúcich ryby kontaminované *Aeromonas hydrophila* sa môžu vyvinúť invazívne extraintestinálne infekcie, ako je bakteriémia alebo infekcie žlčových ciest. Patogénny potenciál *A. hydrophila*, vrátane tvorby biotických biofilmov, sa považuje za multifaktoriálny a prítomnosť niekoľkých faktorov virulencie

umožňuje týmto baktériám priľnúť, napadnúť a zničiť hostiteľské bunky a prekonať imunitnú odpoveď hostiteľa (Wu et al., 2019).

Obrázok č. 3, *Aeromonas hydrophila*

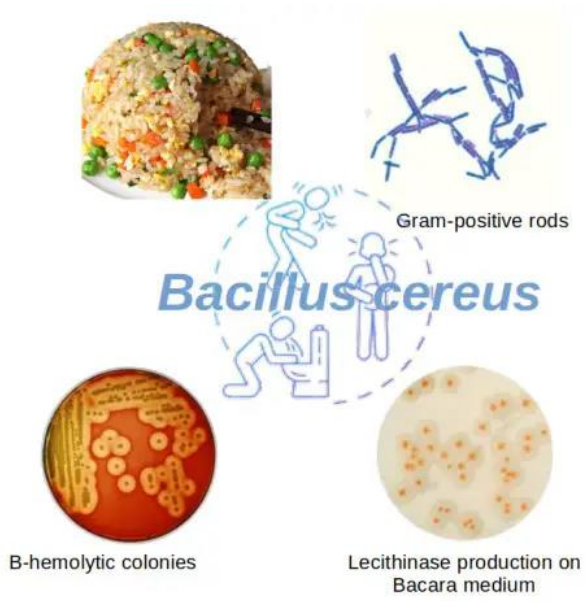


https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0882401020306392

Bacillus cereus

Bacillus cereus je Gram-pozitívna, fakultatívne anaeróbna spórotvorná tyčinka. V prírode je tento mikroorganizmus veľmi rozšírený a jeho spóry sú dokázateľné v širokom spektre potravín. Bežne sa nachádza v pôde, na zelenine, v mnohých surovinách i upravených potravinách. Zvýšené hladiny *Bacillus cereus* boli preukázané v surových ale aj varených rybách. Spóry, ktoré *B. cereus* vytvára, sú vysoko odolné voči extrémnym podmienkam, môžu klíčiť a rozmnožovať sa vo vlhkých, málo kyslých potravinách pri teplotách od 4-5°C do 55°C. Po tepelnom opracovaní potraviny nastanú priaznivé podmienky pre vyklíčenie spór a rozmnoženie tohto patogéna. *B. cereus* svojimi toxínmi (emetický, hnačkový) spôsobuje otravu jedlom. Emetický toxín vyvoláva nevoľnosť, malátnosť, zvracanie. Je považovaný za nebezpečnejší ako hnačkový toxín a jeho dlhodobým pôsobením vzniká zlyhanie pečene u ľudí. Hnačkový enterotoxín vyvoláva hnačkové ochorenie sprevádzané bolesťami brucha, vodnatou hnačkou a nevoľnosťou. Intoxikácie vyvolané *B. cereus* sa bežne prejavujú krátkodobými a miernymi príznakmi, ktoré odznejú rýchle a bez lekárskeho ošetrenia (Jovanovic et al., 2021).

Obrázok č. 4, *Aeromonas hydrophila*



https://microbeonline.com/gram-positive-bacilli-rods-and-diseases/

Plesiomonas shigelloides

Baktéria, ktorá patrí do čeľade Enterobacteriaceae, je Gram-negatívna, fakultatívne anaeróbna tyčinka s polárnym bičíkom. Rastie pri teplote 8°C - 45°C, s optimálnou teplotou medzi 25°C a 38°C, a pH v rozsahu 4 až 9 a môže rásť v koncentráciách solí v rozsahu od 0 do 4%. *P. shigelloides* bola izolovaná z črevného obsahu ľudí a zvierat, vyskytuje sa vo vodnom prostredí, najmä v tropických a subtropických oblastiach, vrátane sladkej a slanej vody. Je to dôležitý rybí patogén, ktorý spôsobuje značné straty v akvakultúre. Ryby sú touto baktériou infikované najmä v letnom období. Konzumácia surových alebo nedostatočne tepelne upravených rýb sa považuje za jeden z rizikových faktorov infekcie. Ochorenie spôsobené konzumáciou takto kontaminovaných rýb, sa spája u ľudí s prepuknutím gastrointestinálnych ochorení, infekcií močových ciest, peritonitíd, meningitíd, konjuktivitíd, endokarditíd, pneumónií, artritíd a cholecystitíd (Cortés-Sánches et al., 2021).

Obrázok č. 5, *Plesiomonas shigelloides*



https://www.vetbact.org/popup/image.php?imgtable=vetbact_images&imgid=689

ZÁVER

Príjem potravy patrí k primárnym fyziologickým potrebám človeka. Je však nevyhnutné, aby potraviny boli bezpečné a poskytovali potrebné živiny na vykonávanie základných životných funkcií a na udržanie zdravia. Bezpečnosť potravín môže byť ohrozená v ktorejkoľvek fáze potravinového reťazca, ak je potravina kontaminovaná patogénnymi mikroorganizmami. Ryby a zoonotické choroby pochádzajúce z vody spôsobili značné problémy v odvetví akvakultúry a rybnom hospodárstve na celom svete. Väčšina zoonotických chorôb pochádzajúcich z rýb sa prenáša na človeka najmä konzumáciou nesprávne tepelne upravených alebo surových rýb. Ale aj absencia alebo nedostatočné hygienické podmienky a postupy pri výrobe, spracovaní a konzervovaní, podporujú prenos patogénnych mikroorganizmov do potravín, čo vedie k závažným rizikám pre spotrebiteľa. Preto je potrebné znížiť u rybieho mäsa výskyt zoonotických ochorení správnym spracovaním rýb a správnej výrobnej praxe. Zaviesť kontrolné a preventívne opatrenia a sanitárne predpisy pre produkty rybolovu, na podporu bezpečnosti potravín, ktoré sú určené na ľudskú spotrebu a ochranu verejného zdravia.

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. FERRARI et al. Worldwide Epidemiology of *Salmonella* Serovars in Animal-Based Foods: a Meta-analysis. Applied and environmental microbiology 2019, 85(14), doi:10.1128/AEM 00591-19.
3. HALBEDEL et al. Large Multicountry Outbreak of Invasive Listeriosis by a Listeria monocytogenes ST394 Clone Linked to Smoked Rainbow Trout, 2020 to 2021, Microbiology Spectrum 2023, 11(3), doi: 10.1128/spectrum.03520-22.
4. JOVANOVIC et al. *Bacillus cereus* food intoxication and toxicoinfection. Comprehensive reviews in food science and food safety 2021, doi:10.1111/1541-4337.12785.
5. TSOUPRAS et al. Cardio-Protective Properties and Health Benefits of Fish Lipid Bioactives, The Effects of Thermal Processing. Marine drugs 2022, 20(3), doi:10.3390/md20030187.
6. ZIARATI et al. Zoonotic diseases of fish and their prevention and control. Veterinary Quarterly 2022, 42(1), doi:10.1080/01652176.2022.2080298.
7. WU et al. *Aeromonas* Isolates from Fish and Patients in Tainan City, Taiwan: Genotypic and Phenotypic Characteristics. Applied and environmental microbiology 2019, 85(21), doi:10.1128/AEM.01360-19.

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

FARBA SUŠENÉHO MÄSA S PRÍDAVKOM UŠĽACHTILÝCH BAKTERIÁLNYCH KULTÚR

COLOUR OF DRIED MEAT WITH THE ADDITION OF NOBLE BACTERIAL CULTURES

Hanuska Adam[1], Kročko Miroslav[1], Štefániková Jana[2], Baránek Tomáš

[1]Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika

[2]Výskumné centrum AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika

ABSTRACT

Biltong is a traditional South African dried meat product, which is made from strips of lean meat that are salted, seasoned, and dried. The aim of our research was to assess the effect of noble bacteria on the colour of biltong-type dried meat. Colour analysis was performed using an electronic eye IRIS visual analyzer (Alpha MOS, France). The colour of the dried meat was analysed a total of three times, after marinating before drying, after drying and finally after six months of storage. The RGB colour spectrum was used for the analysis. On a scale of 4096 colours, the proportion of each colour in the analysed image was represented as a percentage. Each sample was analysed in triplicate. Based on the analysis of the colour of the dried meat using the electronic eye, it can be concluded that the experimental groups with the addition of NaCl (K) and bacterial culture with NaCl (P1) had a dark colour with a greater red tint than the positive control with the addition of curing salt (P3). The curing salt stabilized the colour of the dried meat throughout the individual analyses. The dried meat sample where nitrite was present in the form of celery powder and bacterial culture (P2) showed a lighter colour. This was due to the decomposition of nitrite to nitric oxide, which reacted with myoglobin and metmyoglobin to produce a pink colour. The final colour of the experimental group P2 was more yellow and red than the other samples because it had a higher nitrosohemochrome content, which may have been due to the low pH, confirming the final colour shade. A similar phenomenon was observed in group P1, where neither nitrites nor nitrates were added, but the meat naturally contains these substances, which are subsequently reduced by bacterial activity.

Key words: dried meat, biltong, electronic eye, colour, bacterial cultures

ÚVOD

Uchovávanie čerstvých potravín, ako je mäso, je dôležité v boji proti globálnemu nedostatku potravín. Sušenie mäsa je bežná metóda jeho konzervovania s bohatou históriou v mnohých kultúrach po celom svete. V súčasnosti sa sušené mäso stalo obľúbeným potravinovým produktom na trhu vďaka svojej dlhej trvanlivosti, chuti a zdravotným výhodám (Mediani *et al.*, 2022). Príklady ako „pastirma“ v Turecku, „jerky“ v Severnej Amerike, „carne-de-sol“ v Brazílii, „biltong“ v Južnej Afrike, „kaddid“ v severnej Afrike a „cecina“ v Španielsku predstavujú len niektoré z mnohých typov sušených mäsových výrobkov po celom svete. Existuje niekoľko metód sušenia mäsa, vrátane sušenia horúcim vzduchom, sušenia za studena, sušenia na slnku, sušenia vo vákuu, sušenia ultrazvukom a sušenia mrazom (Dinçer, 2021).

Biltong je juhoafrický konzervovaný sušený mäsový výrobok, ktorý má svoju tradíciu a popularitu (Nortjé *et al.*, 2005). Hoci sa podobá na rôzne sušené mäsové výrobky na celom svete, líši sa svojím výrobným postupom, pretože sa vynecháva proces tepelného opracovania a namiesto toho sa spolieha na fázy prídavku octu, ochucovania a sušenia, ktoré zabezpečujú jeho mikrobiologickú bezpečnosť a trvanlivosť (Lewis *et al.*, 1957). Predpokladá sa, že jeho názov má holandský pôvod, pričom pomenovanie „bil“ sa vzťahuje na zadné štvrte zvieraťa a „tong“ na jeho filé v tvare jazyka (Petit *et al.*, 2014).

Biltong sa najčastejšie vyrába z hovädzieho mäsa alebo iných druhov mias. Často sa dochucuje korením, ako je aníz, koriander, nové korenie alebo cesnak. Tieto koreniny sa môžu kombinovať a pridávať spolu so soľou, pričom medzi ďalšie nepovinné zložky patria dusitany, cukor a soľanka. Tieto prísady prispievajú k červenkastému odtieňu konečného výrobku (Thomas, 1975; Osterhoff a Leistner, 1984; Prior, 1984). Biltong sa získava z dlhých kusov mäsa, zvyčajne s dĺžkou od 30 do 60 cm, ktoré sa potom nakrájajú na pásiky s rozmermi približne 20-30×4-5×2,5 cm (Van der Riet, 1982). Vo všeobecnosti sa biltong považuje za mikrobiologicky stabilný produkt vďaka prítomnosti soli, hodnotám pH od 4,8 do 5,8 a nízkej aktivity vody (a_w) (Van den Heever, 1970; Van der Riet, 1982; Attwell, 2003; Nortjé *et al.*, 2005; Dzimba *et al.*, 2007). V niektorých prípadoch sa ako konzervačné látky môžu použiť ocot alebo dusitany (Petit *et al.*, 2014).

Suché sušenie, tradičná metóda konzervovania mäsových výrobkov, sa v minulosti používalo na potlačenie rastu kaziacich a patogénnych mikroorganizmov (Collignan *et al.*, 2007; Burnham *et al.*, 2008; Naidoo, 2010; Naidoo a Lindsay, 2010). Ku konzervácii počas procesu sušenia dochádza odstránením alebo viazaním vlhkosti, čo vedie k zníženiu a_w vo výrobku (Rahman *et al.*, 2005; Dzimba *et al.*, 2007). Účinnosť sušenia sa výrazne líši v závislosti od faktorov, ako je rýchlosť prúdenia vzduchu, teplota a relatívna vlhkosť počas procesu sušenia (Burnham *et al.*, 2008). Tradičný biltong sa zvyčajne suší na vzduchu v tieni

počas zimy alebo sa vyrába v sušiacich boxoch s ventilátorom pri teplote okolia nepresahujúcej 22 °C (Nortjé *et al.*, 2006).

Farba mäsa je jedným z kľúčových faktorov, ktoré ovplyvňujú rozhodovanie spotrebiteľov. Čerstvá svalovina získava červenú farbu vďaka myoglobínu, guľovitému proteínu, ktorý obsahuje hemové skupiny. Farbu mäsa určuje koncentrácia a oxidačný stav myoglobínu. Myoglobín má vyššiu schopnosť viazať kyslík ako hemoglobín, čo mu umožňuje prenášať kyslík z pľúc do svalov (Hunt a King 2012). Po porážke zvieraťa sa väčšina krvi a hemoglobínu odstráni, čím sa zvýši koncentrácia myoglobínu. Myoglobín obsahuje len malé množstvo železa v tele pred porážkou zvieraťa, ale táto koncentrácia sa po porážke výrazne zvýši. Železo v myoglobíne je hlavným faktorom ovplyvňujúcim farbu mäsa (Senekal, 2020). Prítomnosť kyslíka umožňuje myoglobínu prejsť do stavu redukcie, čím vznikajú rôzne formy, ako sú redukovaný myoglobín, oxymyoglobín a metmyoglobín. Červená farba surového mäsa je výsledkom prítomnosti oxymyoglobínu pri vysokom tlaku kyslíka. Metmyoglobín, ktorý sa vytvára pod vplyvom okysličovania železného hemu pri nižšom tlaku kyslíka, spôsobuje hnedú pigmentáciu (Seideman *et al.*, 1984).

Typická farba mäsových výrobkov často vychádza z aktivity enzýmu nitrátreduktázy, ktorú vykazujú kataláza-pozitívne stafylokoky (Sun a Xi-bin, 2021). Stabilita farby v týchto výrobkoch je dosahovaná vďaka účinku nitrátreduktázy na tvorbu nitrozomyoglobínu (Mainar a Leroy, 2015) Koaguláza-negatívne stafylokoky (CNS) sú často jednými z najčastejších a prospešných mikroorganizmov, ktoré prispievajú k stabilizácii charakteristických farieb mäsových výrobkov prostredníctvom nitrátreduktázy a k vylepšeniu ich kvality a chuti prostredníctvom proteáz (Chen *et al.*, 2016). Baktérie druhu *Staphylococcus xylosus* (*S. xylosus*) a *Staphylocossus carnosus* (*S. carnosus*) patria do tejto skupiny CNS a sú často využívané v štartovacích kultúrach na podporu vývoja farby, textúry a chuti mäsových výrobkov (Wang *et al.*, 2022).

Existujú tri hlavné metódy vizuálneho vnímania farieb a identifikácie, ktoré zahŕňajú kolorimetriu, spektrofotometriu a počítačové videnie. Okrem tradičného merania farieb vo farebnom priestore CIELAB (hodnoty L*, a*, b*) sa často využívajú aj rôzne techniky spracovania obrazu ako objektívne a nenarušujúce hodnotenie kvality (Barbieri *et al.*, 2016).

V oblasti merania farieb vznikla v 60. rokoch 20. storočia ďalšia technológia, nazývaná počítačové videnie, ktorá má široké využitie od lekárskeho diagnostického zobrazovania až po diaľkový prieskum (Brosnan a Sun, 2004). Tento systém funguje na základe algoritmov, ktoré automaticky extrahujú a analyzujú informácie zo súboru alebo sekvencie obrazov objektu rýchlym, konzistentným, neinvazívnym a nákladovo efektívnym spôsobom (Wu a Sun, 2013). Počítačové videnie prekonáva nedostatky kolorimetrov tým, že dokáže určiť farebné údaje pre

každý pixel obrazu a má široké uplatnenie pri meraní farby potravín živočíšneho pôvodu (Milovanovic *et al.*, 2022).

Príkladom technológie počítačového videnia, ktorá umožňuje meranie farby mäsových výrobkov, je tzv. elektronické oko. Tento typ detekčnej technológie sa zakladá na identifikácii a analýze vizuálnych informácií a používa sa na posúdenie kvality potravín (Cui *et al.*, 2019). Ľudské oko je schopné rozlišovať farby na základe rozlišovania vlnových dĺžok. Farebné priestory sa líšia podľa citlivosti na základe priestoru odtieňa a sýtosti (HS), ako sú HSI (odtieň, sýtosť, intenzita), HSV (odtieň, sýtosť, hodnota), HSL (odtieň, sýtosť, svetlosť) a HSB (odtieň, sýtosť, jas) (Wu a Sun, 2013). Elektronické oko sa ukázalo ako vhodný nástroj pre hodnotenie kvality potravín, vďaka svojej nákladovo efektívnej, prenosnej a ľahko použiteľnej technológii (Li *et al.*, 2018). Ďalším príkladom zariadenia, ktoré môže byť užitočné pri meraní farby a tvaru potravín, je zariadenie IRIS Smart Vision, komercializované spoločnosťou Alpha M.O.S so sídlom vo Francúzsku (založená v roku 1992). Tento model je vybavený kamerou s vysokým rozlíšením umiestnenou v uzavretej skrini (Munekata *et al.*, 2023).

Cieľom nášho výskumu bolo posúdiť vplyv ušľachtilých baktérií na farbu sušeného mäsa typu biltong.

MATERIÁL A METODIKA

Sušené mäso

Vzorky hovädzieho mäsa (konkrétne nízka roštenka) sa po pridaní korenín (cukor, koriander a jablčný ocot) a testovaných zložiek (NaCl, dusitanová soliaca zmes, bakteriálna kultúra a zelerový prášok) marinovali 7 dní pri teplote 4 °C. Následne sa vzorky sušili 7 dní v klimatizovanej komore pri teplote 25 °C a 73 % vlhkosti. Po vysušení boli vzorky nakrájané na tenké plátky a vákuovo zabalené.

Vzorky

Každá experimentálna skupina vzoriek bola označená nasledovne:

- **K -** negatívna kontrola s NaCl (2 %),
- **P1 -** experimentálna skupina s bakteriálnou kultúrou (0,2 $g.kg^{-1}$) a NaCl (2 %),
- **P2 -** experimentálna skupina s bakteriálnou kultúrou (0,2 $g.kg^{-1}$), zelerovým práškom (10 $g.kg^{-1}$) a NaCl (2 %),
- **P3 -** experimentálna skupina s dusitanovou soliacou zmesou (2 %).

Bakteriálne kultúry

Z bakteriálnych kultúr sa hodnotili komerčné kmene, konkrétne *S. xylosus* a *S. carnosus* (Indasia, Nemecko). Na fermentáciu mäsa sa použilo 0,2 g tejto bakteriálnej kultúry na kilogram mäsa.

Zelerový prášok

V miestnom obchode bol zakúpený čerstvý koreň zeleru (*Apium graveolens* var. *rapaceum*). Zelerový koreň bol očistený, ošúpaný a nasolený. Metóda solenia sa uskutočnila vytvorením „soľnej kôry“ zmiešaním soli s minimálnym množstvom vody, aby sa vytvorila hmota, s ktorou sa ľahko manipulovalo. Táto hmota bola potom nanesená na zelerový koreň, ktorý bol zabalený do dvoch vrstiev gázy. Po tomto procese nasledoval proces sušenia. Koreň zeleru bol nakrájaný na tenké plátky, ktoré boli rozložené v tenkej vrstve na sitách a nechali sa prirodzene sušiť počas 1 mesiaca (v tmavej miestnosti s konštantnou teplotou 30 °C - v letnom období s prirodzeným prúdením vzduchu). Po hlavnom sušení sa suroviny ešte dosúšali pri teplote 50 °C počas 20 minút. Následne sa suroviny rozomleli na zelerový prášok.

Analýza farby

Vzorky sušeného mäsa sa pred hodnotením farby nehomogenizovali. Analýza farby sa vykonala pomocou elektronického oka IRIS visual analyzer (Alpha MOS, Francúzsko). Farba sušeného mäsa sa analyzovala celkovo trikrát, a to po marinovaní pred sušením, po sušení a nakoniec po šiestich mesiacoch skladovania. Na analýzu sa použilo farebné spektrum RGB. Na stupnici 4096 farieb bol podiel každej farby v analyzovanom obrázku reprezentovaný ako percento. Každá vzorka sa analyzovala v troch opakovaniach.

Štatistická analýza

Štatistická analýza sa vykonala pomocou pokročilého softvéru (AlphaSoft) dostupného k elektronickému oku IRIS visual analyzer (Alpha MOS, Francúzsko).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Farba vzoriek sušeného mäsa sa hodnotila prvýkrát potom ako sa pridali testované zložky do hovädzieho mäsa, ktoré sa marinovalo. To znamená, že farba vzoriek v tejto fáze výroby už nebola rovnaká. Z Obrázku č. 1 je zrejmé, že vzorky, do ktorých bola pridaná iba NaCl alebo bakteriálna kultúra s NaCl mali približne rovnakú farbu (K, P1). Vzorka, do ktorej bola pridaná bakteriálna kultúra aj s práškom zo sušeného zeleru (P2) mala bledšiu farbu.

V prípade experimentálnej skupiny s NaCl (K) a experimentálnej skupiny s bakteriálnou kultúrou a NaCl (P1) bola farba tmavá, no s väčším červeným odtieňom než v prípade pozitívnej kontroly (P3). Vzorka pozitívnej kontroly (P3) obsahovala dusitanovú soliacu zmes, čo je zdroj dusitanov. Táto vzorka bola použitá na sledovanie vplyvu dusitanov vo forme dusitanovej soliacej zmesi na farbu sušeného mäsa počas jeho spracovania. Bolo dokázané, že dusitanová soliaca zmes účinne stabilizovala farbu sušeného mäsa. Bez ohľadu na fázu (pred sušením, po sušení a aj po 6 mesiacoch skladovania), si experimentálna skupina P3 zachovala konzistentnú farbu. Experimentálna skupina P2, kde boli prítomné dusitany vo forme zelerového prášku a

bakteriálna kultúra, ktorá tieto dusitany rozkladala, vykazovala počas celej fázy sledovania svetlejšiu farbu v porovnaní s ostatnými vzorkami. Stalo sa to v dôsledku toho, že dusitany (NO^{2-}) pridané do mäsových výrobkov sa rozkladajú na oxid dusnatý (NO) **(Sebranek a Bacus, 2007; Honikel, 2008).** Oxid dusnatý potom ďalej reaguje s myoglobínom (Fe^{2+}) a metmyoglobínom (Fe^{3+}), čo vytvára ružovú farbu konzervovaného mäsa **(Alahakoon *et al.*, 2015).** Výsledná farba experimentálnej skupiny P2 bola žltšia a červenšia ako u ostatných vzoriek. Zvýšená intenzita červenej farby zodpovedá vyššiemu obsahu nitrózohemochrómu **(Parthasarathy a Bryan, 2012).** Na to, aby sa v mäse mohol vyskytovať nitrózohemochróm, ktorý je charakteristický ružovou farbou, je potrebné pôsobenie teploty. Keďže sa vzorky sušili pri teplote 25 °C nenastala ešte denaturácia bielkovín. Avšak vzhľadom na nízke pH nie je vylúčený vznik nitrózohemochrómu, čo potvrdzuje aj konečný odtieň farby. Podobný jav, avšak v menšom rozsahu, možno pozorovať aj u experimentálnej skupiny P1, do ktorej neboli pridané žiadne dusitany ani dusičnany, pretože mäso samotné obsahuje dusičnany a dusitany, ktoré sú následne redukované ušľachtilými baktériami rodu *Staphylococcus*.

Obrázok č. 1, Podiel farebných odtieňov (%) v jednotlivých experimentálnych skupinách

	Pomer farebných odtieňov (%)											
Dátum/vzorka	K			P1			P2			P3		
25.5.2023	37,2	24,5	5,3	29,8	27,5	11,8	21,3	17,2	17,1	50,7	11,7	6
	5,3	4,2	2,5	4,2	2,2	2,2	5,2	4,5	4,5	3,1	2,8	2,6
	1,8	1,4	1,3	2	1,8	1,3	3,3	2,6	1,9	2,2	1,6	1,1
5.6.2023	47	5,5	3,9	39,9	11,8	10,4	20	19,7	9,3	28,9	9,6	9
	3,8	3,8	2,8	3,8	3,5	2,5	6,1	4,2	3	8,5	7,1	4,5
	2,5	2,3	2	2,3	2,3	2	2,3	2,3	2,2	2,6	2,4	2,2
12.10.2023	22,5	16,2	7,5	22,2	8,8	8,4	11	9,6	8,5	28,2	17,7	6,1
	4	3,7	3,6	5	4,5	3,6	7,4	6,2	5,1	5,6	3,9	2,8
	2,9	2,5	1,9	3,3	2,8	2,1	4,5	4,3	2,9	2,6	1,7	1,6

Poznámka: K - negatívna kontrola s NaCl (2 %); **P1 -** experimentálna skupina s bakteriálnou kultúrou (0,2 $g.kg^{-1}$) a NaCl (2 %), **P2 -** experimentálna skupina s bakteriálnou kultúrou (0,2 $g.kg^{-1}$), zelerovým práškom (10 $g.kg^{-1}$) a NaCl (2 %); **P3 -** experimentálna skupina s dusitanovou soliacou zmesou (2 %).

Využitie technológie elektronického oka na hodnotenie kvality bolo preskúmané v čerstvom mäse rôznych druhov a v rôznych mäsových výrobkoch. Hodnotenie kvality prostredníctvom sa zameralo na hlavné aplikácie z hľadiska farby, úrovne mramorovania, predikcie kvality, detekcie chýb a triedenia. Jedným z kritických faktorov hodnotených v mäse

a mäsových výrobkoch je ich farebnosť, pričom sa osobitná pozornosť venuje vzťahu medzi farebnosťou a vnímanou čerstvosťou. Ak mäso nemá očakávanú charakteristickú farbu, je pravdepodobné, že bude vyradené alebo nezakúpené (Tomašević *et al.*, 2021). V tomto ohľade niektoré štúdie porovnávali výkon elektronického oka s kolorimetrami a pozorovali dobrú koreláciu medzi elektronickým okom a kolorimetrickými údajmi o kuracom mäse (Barbin *et al.*, 2016), najmä v prípade svetlosti, pričom sa dosiahli primerané regresné koeficienty aj v prípade červenosti a žlčovitosti (vo farebnom priestore CIELAB). Elektronické oko IRIS-Alphasoft bolo testované v rôznych oblastiach potravinárskeho priemyslu, ako je kontrola kvality varenej šunky (Barbieri *et al.*, 2016), analýza rybej omáčky (Nakano *et al.*, 2018), identifikácia pôvodu medu (Di Rosa *et al.*, 2018) a rozlišovanie rybieho produktu surimi (Zhang *et al.*, 2017). Elektronické oko IRIS-Alphasoft je dodávané s jednoduchým ovládaním a minimálnym školením a preukázalo svoju hodnotu pri monitorovaní výrobných procesov a zabezpečení kvality potravín (Ayustaningwarno *et al.*, 2021).

ZÁVER

Na základe analýzy farby sušeného mäsa pomocou elektronického oka možno konštatovať, že experimentálne skupiny s prídavkom NaCl (K) a bakteriálnej kultúry s NaCl (P1) mali tmavú farbu s väčším červeným odtieňom než pozitívna kontrola s prídavkom dusitanovej soliacej zmesi (P3). Dusitanová soliaca zmes stabilizovala farbu sušeného mäsa počas celej doby jednotlivých analýz. Vzorka sušeného mäsa, kde boli prítomné dusitany vo forme zelerového prášku a bakteriálnej kultúry (P2) vykazovala svetlejšiu farbu. To bolo spôsobené rozkladom dusitanov na oxid dusnatý, ktorý reagoval s myoglobínom a metmyoglobínom, vytvárajúc ružové sfarbenie. Výsledná farba experimentálnej skupiny P2 bola žltšia a červenšia ako u ostatných vzoriek, pretože mala vyšší obsah nitrózohemochrómu, ktorý mohol vzniknúť vďaka nízkemu pH, čo potvrdzuje konečný odtieň farby. Podobný jav bol pozorovaný aj u skupiny P1, kde neboli pridané dusitany ani dusičnany, avšak mäso prirodzene obsahuje tieto látky, ktoré sú následne redukované bakteriálnou aktivitou.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená projektom VEGA-1/0402/23, APVV-22-0402 a grantom Visegrad+ (č. 22230075).

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ALAHAKOON, A. U.; JAYASENA, D. D., RAMACHANDRA, S. and JO, CH. 2015. Alternatives to nitrite in processed meat: Up to date. In: *Trends in Food Science &*

Technology. (Online), vol. 45, no. 1, pp. 37-49. Available at: https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.05.008 [cit. 2024-04-19].

2. ATTWELL, E. 2003. Biltong wakes up. In: *South African Food Review*, vol. 30, pp. 11-13.
3. AYUSTANINGWARNO, F.; FOGLIANO, V.; VERKERK, R. and DEKKER, M. 2021. Surface color distribution analysis by computer vision compared to sensory testing: Vacuum fried fruits as a case study. In: *Food Research International*. (Online), vol. 143, pp. 110230. Available at: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110230 [cit. 2024-04-22].
4. BARBIERI, S.; SOGLIA, F.; PALAGANO, R.; TESINI, F.; BENDINI, A. et al. 2016. Sensory and rapid instrumental methods as a combined tool for quality control of cooked ham. In: *Heliyon*. (Online), vol. 2, no. 11, pp. e00202. Available at: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2016.e00202 [cit. 2024-04-20].
5. BARBIN, D. F.; MASTELINI, S. M.; BARBON, S.; CAMPOS, G. F. C.; BARBON, A. P. C. et al. 2016. Digital image analyses as an alternative tool for chicken quality assessment. In: *Biosystems Engineering*. (Online), vol. 144, pp. 85-93. Available at: https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2016.01.015 [cit. 2024-04-17].
6. BROSNAN, T. and SUN, D.-W. 2004. Improving quality inspection of food products by computer vision—a review. In: *Journal of Food Engineering*. (Online), vol. 61, no. 1, pp. 3-16. Available at: https://doi.org/10.1016/s0260-8774(03)00183-3 [cit. 2024-04-21].
7. BURNHAM, G. M.; HANSON, D.; KOSHICK, CH. M. and INGHAM, S. C. 2008. Death of *Salmonella* serovars, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* during the drying of meat: a case study using biltong and droëwors. In: *Journal of Food Safety*. (Online), vol. 28, no. 2, pp. 198-209. Available at: https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2008.00114.x [cit. 2024-04-18].
8. CHEN, Q.; KONG, B.; HAN, Q.; LIU, Q. and XU, L. 2016. The role of bacterial fermentation in the hydrolysis and oxidation of sarcoplasmic and myofibrillar proteins in Harbin dry sausages. In: *Meat Science*. (Online), vol. 121, pp. 196-206. Available at: https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.06.012 [cit. 2024-04-17].
9. COLLIGNAN, A.; SANTCHURN, S. J. and ZAKHIA-ROZIS, N. 2007. Dehydration of muscle foods. In: *HAL (Le Centre pour la Communication Scientifique Directe)*. (Online). Available at: https://hal.univ-reunion.fr/hal-01196088 [cit. 2024-04-13].
10. CUI, Y.; LIU, R.; LIN, Z.; CHEN, P.-J., WANG, L. et al. 2019. Quality evaluation based on color grading: quality discrimination of the Chinese medicine Corni Fructus

by an E-eye. In: *Scientific Reports*. (Online), vol. 9, no. 1. Available at: https://doi.org/10.1038/s41598-019-53210-5 [cit. 2024-04-11].

11. DI ROSA, A. R.; LEONE, F.; SCATTAREGGIA, C. and CHIOFALO, V. 2017. Botanical origin identification of Sicilian honeys based on artificial senses and multi-sensor data fusion. In: *European Food Research & Technology*. (Online), vol. 244, no. 1, pp. 117-125. Available at: https://doi.org/10.1007/s00217-017-2945-8 [cit. 2024-04-17].
12. DINÇER, E. A. 2021. Dried Meat Products Obtained by Different Methods from Past to Present. In: *Food Reviews International*. (Online), vol. 39, no. 5, pp. 2457-2476. Available at: https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1956944 [cit. 2024-04-20].
13. DZIMBA, F. E. J. M.; FARIA, J. A. F. and WALTER, E. H. M. 2007. Testing the sensory acceptability of biltong formulated with different spices. In: *African Journal of Agricultural Research*. (Online), vol. 2, no. 11, pp. 574-577. Available at: https://api.semanticscholar.org/CorpusID:55003498 [cit. 2024-04-14].
14. HONIKEL, K. O. 2008. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. In: *Meat Science*. (Online), vol. 78, no. 1-2, p. 68-76. Available at: https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.05.030 [cit. 2024-04-20].
15. HUNT, M. C. and KING, D. A. 2012. Meat colour measurement guidelines. In: *American Meat Association*. Available at: https://meatscience.org/docs/default-source/publications-resources/hot-topics/2012_12_meat_clr_guide.pdf [cit. 2024-04-13].
16. LEWIS, H. E.; MASTERTON, J. P. and WARD, P. G. 1957. The food value of biltong (South African dried meat) and its use on expeditions. In: *British Journal of Nutrition*. (Online), vol. 11, no. 1, pp. 5-12. Available at: https://doi.org/10.1079/bjn19570004 [cit. 2024-04-18].
17. LI, Z.; YANG, Z.; SONG, CH.; LI, CH.; PENG, Z. et al. 2018. E-Eye. In: *SenSys '18*. (Online). Available at: https://doi.org/10.1145/3274783.3274833 [cit. 2024-04-15].
18. MAINAR, M. S. and LEROY, F. 2015. Process-driven bacterial community dynamics are key to cured meat colour formation by coagulase-negative staphylococci via nitrate reductase or nitric oxide synthase activities. In: *International Journal of Food Microbiology*. (Online), vol. 212, pp. 60-66. Available at: https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.03.009 [cit. 2024-04-13].
19. MEDIANI, A.; HAMEZAH, H. S.; JAM, F. A.; MAHADI, N. F.; CHAN, S. X. Y. et al. 2022. A comprehensive review of drying meat products and the associated effects

and changes. In: *Frontiers in Nutrition*. (Online), vol. 9. Available at: https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1057366 [cit. 2024-04-20].

20. MILOVANOVIC, B.; ĐJEKIĆ, I.; TOMOVIĆ, V.; VUJADINOVIĆ, D. and TOMAŠEVIĆ, I. 2022. Color measurement of animal source foods. In: *Teoriâ I Praktika Pererabotki Mâsa*. (Online), vol. 6, no. 4, pp. 311-319. Available at: https://doi.org/10.21323/2414-438x-2021-6-4-311-319 [cit. 2024-04-16].
21. MUNEKATA, P. E. S.; FINARDI, S.; DE SOUZA, C. K.; MEINERT, C.; PATEIRO, M. et al. 2023. Applications of electronic nose, electronic eye and electronic tongue in quality, safety and shelf life of meat and meat products: a review. In: *Sensors*. (Online), vol. 23, no. 2, pp. 672. Available at: https://doi.org/10.3390/s23020672 [cit. 2024-04-14].
22. NAIDOO, K. 2010. *The microbial ecology of biltong in South Africa during production and at point of sale*. (Online). Available at: https://wiredspace.wits.ac.za/handle/10539/8281 [cit. 2024-04-19].
23. NAIDOO, K. and LINDSAY, D. 2010. Pathogens associated with biltong product and their in vitro survival of hurdles used during production. In: *Food Protection Trends*. (Online), vol. 30, no. 9, pp. 532-538. Available at: https://europepmc.org/article/AGR/IND44441874 [cit. 2024-04-20].
24. NAKANO, M.; SAGANE, Y.; KOIZUMI, R.; NAKAZAWA, Y.; YAMAZAKI, M. et al. 2018. Clustering of commercial fish sauce products based on an e-panel technique. In: *Data in Brief*. (Online), vol. 16, pp. 515-520. Available at: https://doi.org/10.1016/j.dib.2017.11.083 [cit. 2024-04-20].
25. NORTJÉ, K.; BUYS, E. M. and MINNAAR, A., 2005. Effect of γ-irradiation on the sensory quality of moist beef biltong. In: *Meat Science*. (Online), vol. 71, no. 4, pp. 603-611. Available at: https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.05.004 [cit. 2024-04-18].
26. NORTJÉ, K.; BUYS, E. M. and MINNAAR, A. 2006. Use of γ-irradiation to reduce high levels of *Staphylococcus aureus* on casein–whey protein coated moist beef biltong. In: *Food Microbiology*. (Online), vol. 23, no. 8, pp. 729-737. Available at: https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.02.001 [cit. 2024-04-16].
27. OSTERHOFF, D. R. and LEISTNER, L. 1984. South African biltong - another close look. In: *PubMed*. (Online), vol. 55, no. 4, pp. 201-2. Available at: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6533308 [cit. 2024-04-10].
28. PARTHASARATHY, D. and BRYAN, N. S. 2012. Sodium nitrite: The "cure" for nitric oxide insufficiency. In: *Meat Science*. (Online), vol. 92, no. 3, pp. 274-279. Available at: https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.03.001 [cit. 2024-04-19].

29. PETIT, T.; CARO, Y.; PETIT, A.-S.; SANTCHURN, S. J. and COLLIGNAN, A. 2014. Physicochemical and microbiological characteristics of biltong, a traditional salted dried meat of South Africa. In: *Meat Science*. (Online), vol. 96, no. 3, pp. 1313-1317. Available at: https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.11.003 [cit. 2024-04-16].
30. PRIOR, B. A. 1984. Role of micro-organisms in biltong flavour development. In: *Journal of Applied Bacteriology*. (Online), vol. 56, no. 1, pp. 41-45. Available at: https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1984.tb04694.x [cit. 2024-04-17].
31. RAHMAN, M. S.; SALMAN, Z.; KADIM, I. T.; MOTHERSHAW, A. and AL-RIZIQI, M. H. et al. 2005. Microbial and Physico-Chemical characteristics of dried meat processed by different methods. In: *International Journal of Food Engineering*. (Online), vol. 1, no. 2. Available at: https://doi.org/10.2202/1556-3758.1016 [cit. 2024-04-12].
32. SEBRANEK, J. G. and BACUS, J. N. 2007. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? In: *Meat Science*. (Online), vol. 77, no. 1, pp. 136-147. Available at: https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.03.025 [cit. 2024-04-15].
33. SEIDEMAN, S. C.; CROSS, H. R.; SMITH, G. C. and DURLAND, P. R. 1984. Factors associated with fresh meat color: a review. In: *Journal of Food Quality*. (Online), vol. 6, no. 3, pp. 211-237. Available at: https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.1984.tb00826.x [cit. 2024-04-12].
34. SENEKAL, E. 2020. Extending the shelf life of packaged biltong. In: *Researchcommons.waikato.ac.nz*. Available at: https://hdl.handle.net/10289/14128 [cit. 2024-04-16].
35. SUN, M. and XI-BIN, N. 2021. Screening and optimization of a nitrate reductase-producing *Staphylococcus simulans* UV-11 and its application. In: *Journal of Food Measurement and Characterization*. (Online), vol. 15, no. 3, pp. 2458-2468. Available at: https://doi.org/10.1007/s11694-021-00829-6 [cit. 2024-04-11].
36. THOMAS, P. L. 1975. Dried meat products. In: *CSIRO Food Research Quarterly*. (Online), vol. 35, pp. 73-78. Available at: https://alumni.csiro.au/wp-content/uploads/2020/10/Vol-35-No-4-Sep-1975.pdf [cit. 2024-04-14].
37. TOMAŠEVIĆ, I.; ĐJEKIĆ, I.; FONT-I-FURNOLS, M.; TERJUNG, N. and LORENZO, J. M. 2021. Recent advances in meat color research. In: *Current Opinion in Food Science*. (Online), vol. 41, pp. 81-87. Available at: https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.02.012 [cit. 2024-04-13].

38. VAN DEN HEEVER, L. W. 1970. Some public health aspects of biltong. In: *Journal of the South African Veterinary Medical Association*. (Online), vol. 41, no. 4, pp. 263-272. Available at: https://journals.co.za/doi/pdf/10.10520/AJA00382809_4454 [cit. 2024-04-19].
39. VAN DER RIET, W. B. 1982. Biltong a South African dried meat product. In: *Fleischwirtschaft*, vol. 62, no. 8.
40. WANG, H.; XU, J.; LIU, Q.; XIA, X.; SUN, F. et al. 2022. Effect of the protease from *Staphylococcus carnosus* on the proteolysis, quality characteristics, and flavor development of Harbin dry sausage. In: *Meat Science*. (Online), vol. 189, pp. 108827. Available at: https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.108827 [cit. 2024-04-15].
41. WU, D. and SUN, D.-W. 2013. Colour measurements by computer vision for food quality control – A review. In: *Trends in Food Science & Technology*. (Online), vol. 29, no. 1, pp. 5-20. Available at: https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.08.004 [cit. 2024-04-18].
42. ZHANG, X.; WEI, W.; HU, W.; WANG, X.; PAN, Y. et al. 2017. Accelerated chemotaxonomic discrimination of marine fish surimi based on Tri-step FT-IR spectroscopy and electronic sensory. In: *Food Control*. (Online), vol. 73, pp. 1124-1133. Available at: https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.10.030 [cit. 2024-04-20].

Kontaktná adresa: Hanuska Adam, Institute of Food Science, Faculty of Biotechnology and Food Science, Slovak University of Agriculture in Nitra, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic; E-mail: xhanuska@uniag.sk

KVANTITATÍVNE STANOVENIE DEOXYNIVALENOLU V KUKURICI SIATEJ

QUANTITATIVE DETERMINATION OF DEOXYNIVALENOL IN MAIZE

Harčárová Michaela, Naď Pavel, Marcin Andrej, Bujňák Lukáš, Hreško Šamudovská Alena

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

ABSTRACT

Maize is one of the most widely cultivated cereals in the world. In connection with the high maize production is a worldwide problem the risk of contamination through microscopic filamentous fungi and mycotoxins. One of the most important contaminant of maize is the mycotoxin deoxynivalenol. In our work, 50 maize samples were examined by ELISA analysis, and deoxynivalenol was present in 20 samples (40%). The average value of deoxynivalenol concentrations reached 0.376 $mg.kg^{-1}$. The resulting deoxynivalenol concentrations in the maize samples ranging from 0.034 $mg.kg^{-1}$ to 1.631 $mg.kg^{-1}$ and were in accordance to the currently valid EU regulations on maximum limits in food.

Key words: corn, mycotoxins, food safety

ÚVOD

Kukurica siata (*Zea mays* L.) je jednoročná, jednodomá plodina, ktorá patrí do čeľade lipnicovité. Pochádza zo Strednej Ameriky a do Európy a iných kontinentov sa dostala koncom 15. storočia (Rewilla et al., 2022). Šľachtenie kukurice sa sústreďuje na vývoj odolných a produkčných hybridov. Kukurica je strategická poľnohospodárska a technická plodina. Obsahuje asi 72 % škrobu, 10 % bielkovín, 4 % tuku a 3 % sacharidov (Ranum et al., 2014). Pestuje sa za účelom produkcie energetického krmiva pre kŕmenie všetkých druhov hospodárskych zvierat. V potravinárskom priemysle sa používa na výrobu kukuričnej múky, krupice alebo škrobu. Vyrába sa z nej lieh, olej, glukózový či fruktózový sirup (Gwirtz and Garcia-Casal, 2014).

Z poľnohospodárskeho hľadiska je možné kukuricu pestovať niekoľko rokov po sebe a vhodnými predplodinami sú okrem strukovín a ďatelinovín aj ostatné druhy obilnín. Práve s obilninami súvisí riziko kontaminácie kukurice mikroskopickými vláknitými hubami rodu *Fusarium*, pretože sú vhodným substrátom (vrátane kukurice) pre ich rast a rozmnožovanie. Spóry mikroskopických húb, ktoré sa môžu nachádzať v pozberových zvyškoch na poli a v pôde, inokulujú nový porast a zabezpečia tak ich rast a šírenie. Mikromycéty rodu *Fusarium*

sú okrem toho schopné za vhodných environmentálnych podmienok syntézy sekundárnych metabolitov, fuzáriotoxínov. Medzi celosvetovo najvýznamnejšie fuzáriotoxíny patrí okrem iných deoxynivalenol (Kamle et al., 2022). Deoxynivalenol (DON) je produkovaný predovšetkým druhom *Fusarium graminearum*. Potenciálny vplyv deoxynivalenolu na ľudské zdravie sa môže vyskytnúť po konzumácii kontaminovaných potravín z kukurice, ovsa, jačmeňa, pšenice alebo iných obilnín. DON bol zistený aj v pohánke, ciroku, pukancoch a iných potravinách na ľudskú spotrebu, ako je múka, chlieb, rezance, pivo a slad (Sobrova et al., 2010). Požitie vysoko kontaminovaných potravín môže viesť k akútnym gastrointestinálnym symptómom, ako je vracanie, hnačka a odmietanie potravy. Dlhodobá expozícia DON môže spôsobiť anorexiu, spomalenie rastu a potlačenie imunitných funkcií (Pereira et al., 2019). Hoci deoxynivalenol a jeho deriváty nie sú podľa IARC (Medzinárodná organizácia pre výskum rakoviny) klasifikované ako karcinogénne pre ľudí, predĺžená expozícia môže byť spojená so širokým spektrom nepriaznivých zdravotných komplikácií. DON môže pôsobiť teratogénne, neurotoxicky, embryotoxicky a imunosupresívne (IARC, 2002). U ľudí sa orálna LD_{50} pre DON pohybuje od 46 do 78 $mg.kg^{-1}$. Podľa Svetovej zdravotníckej organizácie (WHO) je pre deoxynivalenol a jeho acetylderiváty (3-ADON a 15-ADON) stanovený dočasný maximálny tolerovateľný denný príjem na 1 $\mu g.kg^{-1}$ telesnej hmotnosti (WHO, 1995). V potravinách sú maximálne limity deoxynivalenolu uvedené v Nariadení Komisie (ES) č. 1881/2006, ktorým sa stanovujú maximálne limity niektorých kontaminujúcich látok v potravinách, pri nespracovanej kukurici (okrem nespracovanej kukurice určenej na mokré mletie) je stanovený maximálny limit 1,750 $mg.kg^{-1}$.

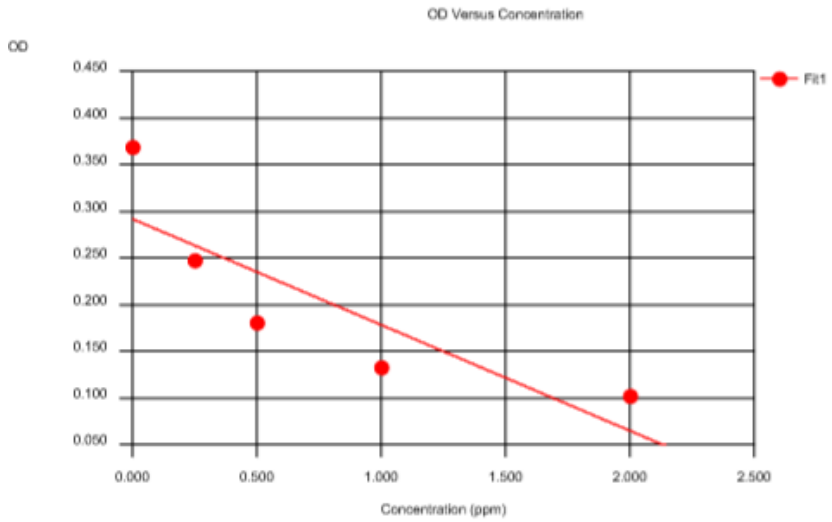
Táto práca bola zameraná na kvantitatívne stanovenie koncentrácií deoxynivalenolu ($mg.kg^{-1}$) v 50 vzorkách kukurice pomocou imunoenzymatickej ELISA analýzy.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky kukurice (á 500 g) v celkovom počte 50 ks boli získané z rôznych predajných skladov na východnom Slovensku. Vzorky boli spracované podľa protokolu Veratox for deoxynivalenol 5/5 (Neogen Corporation, Lansing, USA). Z každej vzorky kukurice bolo odvážených 10 g, ktoré boli pomleté. Ku pomletým vzorkám bolo pridaných 100 ml destilovanej vody. Následne prebiehalo premiešavanie vzoriek pomocou orbitálnej trepačky (Orbital Shaker-Biosan) a filtrácia cez filtračný papier Whatman 1 (Cytiva, Kent, UK). Filtráty (s minimálnym objemom 5 ml) boli použité na kvantitatívne stanovenie deoxynivalenolu pomocou ELISA testu, ktorého princípom je súťaženie neznačeného deoxynivalenolu zo vzoriek a štandardov (0; 0,25; 0,5; 1; a 2 ppm) o väzobné miesta protilátok, s enzýmom značeným deoxynivalenolom (konjugátom). Koncentrácie ($mg.kg^{-1}$; ppm) boli odčítané podľa

kalibračnej krivky (Obrázok 1) pomocou fotometra (Dynex Technologies, Inc., Chantilly, USA) pri vlnovej dĺžke 650 nm.

Obrázok č. 1, Kalibračná krivka



OD – optická hustota, concentration – koncentrácia (ppm)

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky kvantitatívneho stanovenia deoxynivalenolu vo vzorkách kukurice sú uvedené v tabuľke č. 1. Prítomnosť deoxynivalenolu bola potvrdená v 20 vzorkách z celkového počtu 50 vzoriek kukurice (40 %) s minimálnou koncentráciou deoxynivalenolu 0,034 mg.kg^{-1} a maximálnou koncentráciou deoxynivalenolu 1,631 mg.kg^{-1} a priemernou hodnotou koncentrácií 0,376 mg.kg^{-1}. Výsledné koncentrácie deoxynivalenolu sú v súlade s platnou legislatívou a nepresahujú maximálne hodnoty v potravinách.

Tabuľka č. 1, Koncentrácie deoxynivalenolu vo vzorkách kukurice (mg.kg^{-1})

Druh obilniny	**Deoxynivalenol**			
	n/n*	I (%)	Rozsah koncentrácií (mg.kg^{-1})	Priemerná hodnota koncentrácií (mg.kg^{-1})
Kukurica siata	50/20	40	0,034-1,631	0,376

n – celkový počet vzoriek, n* – počet vzoriek s výskytom deoxynivalenolu, I – incidencia deoxynivalenolu

Kukurica siata patrí medzi najpestovanejšie poľnohospodárske plodiny na svete. Široká škála odrôd a hybridov zabezpečuje použitie kukurice v potravinárskom, krmovinárskom a iných odvetviach (Carvajal-Moreno, 2022). Pestovanie kukurice so sebou prináša riziko

v podobe výskytu poľných mikroskopických vláknitých húb a ich sekundárnych metabolitov. Medzi poľné mikroskopické huby zaraďujeme rod *Fusarium*. Zástupcovia rodu *Fusarium* sú potenciálne toxinogénne miktomycéty a môžu produkovať mykotoxíny ako trichotecény, zearalenón a fumonizíny (Ekwomadu et al., 2021). Jedným z najvýznamnejších trichotecénov je deoxynivalenol. Prednostne sa môže vyskytovať v obilninách a v produktoch z nich. U ľudí konzumácia deoxynivalenolom kontaminovaných potravín môže vyvolať gastrointestinálne poruchy a po dlhodobom prijímaní znehodnotených potravín môže dôjsť okrem iných komplikácií k narušeniu funkcie imunitného systému (Pinton and Oswald, 2014). Keďže prítomnosti deoxynivalenolu v poľnohospodárskych plodinách sa nedá úplne zamedziť, v rámci Európskej Únie je platné Nariadenie Komisie (ES) č. 1881/2006 o maximálnych limitoch kontaminujúcich látok v potravinách. Z našich výsledkov vyplýva, že DON sa vyskytoval v 20 vzorkách z celkového počtu 50 vzoriek kukurice (40 %) a priemerná hodnota koncentrácií deoxynivalenolu bola 0,376 $mg.kg^{-1}$. Vyššia incidencia deoxynivalenolu 86 % bola potvrdená vo vzorkách kukurice v Maďarsku s priemernou hodnotou koncentrácií 1,872 $mg.kg^{-1}$ (Tima et al., 2016). Stopercentný výskyt deoxynivalenolu bol hlásený zo vzoriek kukurice z Belgicka, Nemecka a Švajčiarska, s priemernými hodnotami 0,557 $mg.kg^{-1}$; 0,216 $mg.kg^{-1}$ resp. 0,135 $mg.kg^{-1}$ (Eckard et al., 2011; Vandicke et al., 2019; Birr et al., 2021). Nižšia incidencia (25 %) bola zaznamenaná vo vzorkách z kukurice v Rumunsku a priemerná koncentrácia deoxynivalenolu bola 0,061 $mg.kg^{-1}$ (Mihalcea and Amariei, 2022). Je potrebné poznamenať, že výsledné koncentrácie deoxynivalenolu v nami vyšetrených vzorkách kukurice boli v súlade s aktuálne platným nariadením EÚ a nepresiahli maximálne limity.

ZÁVER

V súvislosti s produkciou bezpečných a kvalitných potravín je potrebné dbať na kvalitu surovín, ktoré sa na ich výrobu používajú. Výrobky z obilnín môžu predstavovať riziko výskytu mikroskopických vláknitých húb a ich sekundárnych metabolitov, mykotoxínov. Systém kontroly obsahu a koncentrácií mykotoxínov prebieha už po zbere a je prvým krokom v rámci preventívnych opatrení. Používanie rôznych eliminačných metód na fyzikálnej, chemickej a biologickej báze nezabráni úplnému odstráneniu mykotoxínov. S cieľom ochrániť konečných spotrebiteľov, je preto nevyhnutný neustály monitoring mykotoxínov a dodržiavanie maximálnych limitov v potravinách a surovinách na ich výrobu.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená prostredníctvom grantu VEGA č. 1/0698/24 a KEGA 006UVLF-4/2022.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BIRR, T. et al. Occurrence of *Fusarium* Mycotoxins and Their Modified Forms in Forage Maize Cultivars. In *Toxins* [online]. 2021, vol. 13, no. 2, p. 110 [cit. 2024-04-16]. Dostupné na internete: https://www.mdpi.com/2072-6651/13/2/110.
2. CARVAJAL-MORENO, M. Mycotoxin challenges in maize production and possible control methods in the 21st century. In *Journal of Cereal Science* [online]. 2022, vol. 103, 103293. [cit. 2024-04-17]. Dostupné na internete: https://www.researchgate.net/publication/353173935_Mycotoxin_challenges_in_maize_production_and_possible_control_methods_in_the_21st_centur.
3. ECKARD, S. et al. Incidence of *Fusarium* Species and Mycotoxins in Silage Maize. In *Toxins* [online]. 2011, vol. 3, no. 8, p. 949-967 [cit. 2024-04-16]. Dostupné na internete: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3202868/.
4. EKWOMADU, T. I. et al. *Fusarium* Mycotoxins, Their Metabolites (Free, Emerging, and Masked), Food Safety Concerns, and Health Impacts. In *International Journal of Environmental Research and Public Health*) [online]. 2021, vol. 18, 22, p. 11741 [cit. 2024-04-19]. Dostupné na internete: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8618243/.
5. GWIRTZ, J.A. – GARCIA-CASAL, M. N. Processing maize flour and corn meal food products. In *Annals of the New York Academy of Sciences* [online]. 2014, no. 1, p. 66-75 [cit. 2024-04-16]. Dostupné na internete: https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/nyas.12299.
6. IARC. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. In *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans.* ISBN 978-92-832-1282-9, 2002, vol. 82, p. 169-345.
7. KAMLE, M. et al. Deoxynivalenol: An Overview on Occurrence, Chemistry, Biosynthesis, Health Effects and Its Detection, Management, and Control Strategies in Food and Feed. In *Microbiology Research* [online]. 2022, vol. 13, no. 2, p. 292-314 [cit. 2024-04-18]. Dostupné na internete: https://doi.org/10.3390/microbiolres13020023.
8. MIHALCEA, A. – AMARIEI S. Study on Contamination with Some Mycotoxins in Maize and Maize-Derived Foods. In *Applied Sciences* [online]. 2022; vol. 12, no. 5, 2579 [cit. 2024-04-16]. Dostupné na internete: https://www.mdpi.com/2076-3417/12/5/2579.
9. NARIADENIE KOMISIE (ES) č. 1881/2006 z 19. decembra 2006, ktorým sa ustanovujú maximálne hodnoty obsahu niektorých kontaminantov v potravinách. [cit.

2024-04-16]. Dostupné na internete: https://op.europa.eu/sk/publication-detail/-/publication/d19ee06a-947d-49ee-983f-5bb600886a5a/language-sk.

10. PEREIRA, L. et al. Deoxynivalenol: insights on genetics, analytical methods and occurrence. In *Current Opinion in Food Science* [online]. 2019, vol. 30, p. 85-92 [cit. 2024-04-19]. Dostupné na internete: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214799318301255.
11. PINTON, P. – OSWALD, I. P. Effect of deoxynivalenol and other Type B trichothecenes on the intestine: a review. In *Toxins (Basel)* [online]. 2014, vol. 6, no. 5, 1615-43 [cit. 2024-04-16]. Dostupné na internete: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4052256/.
12. RANUM, P. – PEÑA-ROSAS, J. P. – GARCIA-CASAL, M. N. Global maize production, utilization, and consumption. In *Annals of the New York Academy of Sciences* [online]. 2014, 1312.1, p. 105-112 [cit. 2024-04-15]. Dostupné na internete: https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/nyas.12396.
13. REVILLA, P. et al. Traditional Foods From Maize (*Zea mays* L.) in Europe. In *Front in Nutrition* [online]. 2022, vol. 8 [cit. 2024-04-15]. Dostupné na internete: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnut.2021.683399/full.
14. SOBROVA, P. et al. Deoxynivalenol and its toxicity. In *Interdisciplinary Toxicology* [online]. 2010, vol. 3, no. 3, 94-9 [cit. 2024-04-16]. Dostupné na internete: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21217881/.
15. TIMA, H. et al. *Fusarium* mycotoxins in cereals harvested from Hungarian fields. In *Food Additives and Contaminants Part B Surveillance* [online]. 2016, no. 9, p. 127-131 [cit. 2024-04-22]. Dostupné na internete: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26892197/.
16. VANDICKE, J. et al. Mycotoxins in Flanders' Fields: Occurrence and Correlations with *Fusarium* Species in Whole-Plant Harvested Maize. In *Microorganisms* [online]. 2019, vol. 7, no. 11, p. 571 [cit. 2024-04-22]. Dostupné na internete: https://www.mdpi.com/2076-2607/7/11/571.
17. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Evaluation of certain food additives and contaminants. In *Evaluation of certain food additives and contaminants*. [online]. 1995, p. 54 [cit. 2024-04-15]. Dostupné na internete: https://iris.who.int/handle/10665/37246.

Kontaktná adresa: Harčárová Michaela, Department of Animal Nutrition and Husbandry, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: michaela.harcarova@uvlf.sk

POROVNANIE VPLYVU DVOCH PRÍPRAVKOV HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA BUNKOVÚ IMUNITU U PRASIAT

COMPARISON OF THE EFFECTS OF TWO PREPARATIONS OF HUMIC SUBSTANCES ON CELLULAR IMMUNITY IN PIGS

Hreško Stanislav[1], Mudroňová Dagmar[2], Hreško Šamudovská Alena[1], Harčárová Michaela[1], Bujňák Lukáš[1]

[1]Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

[2]Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

ABSTRACT

In this study, two preparations of humic substances were compared in terms of their effect on some immune parameters of pigs. A total of 18 crossbred piglets (Slovakian White × Landrace) were divided into three groups: two experimental groups and one control group. Pigs in two experimental groups were fed a diet supplemented with different humic substances (HUMAC® Natur AFM – group „HN“ and HUMAC® Natur AFM MycotoxiSorb – group „HNM“) in the amount of 6 g/kg. In the group HNM was a significant increase in the phagocytic activity of phagocytes in comparison to the control group. None of the preparation had a significant effect on the count of lymphocytes and their subpopulations in comparison to the control group. However, a significantly higher count of helper T cells and significantly higher CD4:CD8 ratio was observed in the HN group in comparison to the HNM group.

Key words: piglets, immunity, humic substances, lymphocyte

ÚVOD

V oblasti výživy zvierat je neutíchajúca snaha hľadať nové bioaktívne látky, ktoré by pozitívne ovplyvnili zdravie zvierat a zlepšili produkčné ukazovatele. Humínové látky sú skupinou prírodných organických zlúčenín, o ktoré vo výžive zvierat vzrástol záujem v posledných dvoch desaťročiach. Tieto látky vznikajú v pôde a v prevažnej miere pozostávajú z frakcií humínových kyselín, fulvových kyselín a humínov, v menšej miere obsahujú ulmové kyseliny a v stopových množstvách minerálne látky, ako sú železo, mangán, meď a zinok (Aiken a kol. 1985, Stevenson 1994). Svoje uplatnenie si humínové látky našli už v poľnohospodárstve, v priemysle, v humánnej a veterinárnej medicíne, vo farmakológii a aj v oblasti ochrany životného prostredia. V podobe humátov sa využívajú ako hnojivo

v rastlinnej výrobe (Veselá a kol. 2005). V medicíne sa využívajú pre svoje analgetické, antimikrobiálne a protizápalové účinky (EMEA 1999).

Experimentálne boli humínové látky podávané rôznym druhom zvierat do krmiva (El-Husseiny a kol. 2008, Taklimi a kol. 2012, Abdel-Mageed 2012, Arif a kol. 2016) alebo do vody (Mirnawati a Marlida 2013, Lala a kol. 2017). Popri zlepšení produkčných parametrov boli u zvierat zaznamenané aj imunostimulačné účinky, ktoré sa prejavili zvýšenou aktivitou buniek imunitného systému (Cetin a kol. 2011, Dabovich a kol. 2003, Mudroňová a kol., 2020).

Cieľom tejto preliminárnej práce bolo zhodnotiť vplyv humínových látok na vybrané ukazovatele imunitného profilu (percentuálne zastúpenie subpopulácií lymfocytov a fagocytárna aktivita fagocytov) u prasiatok.

MATERIÁL A METODIKA

Na experiment bolo použitých 18 kusov prasiatok krížencov Slovenskej bielej ošípanej x Landrace vo veku 34 dní s priemernou počiatočnou hmotnosťou 11,89 kg/ks. Priestory, v ktorých boli zvieratá umiestnené, spĺňali štandardné zootechnické požiadavky s priemernou teplotou 20 ± 1,5 °C a relatívnou vlhkosťou 68 ± 4,5 %. Prasatá boli počas celého pokusu kŕmené kompletnou kŕmnou zmesou na báze kukurice, pšenice, jačmeňa a sójového extrahovaného šrotu s nutričným zložením zodpovedajúcim normám pre príslušnú kategóriu zvierat. Zvieratá boli na začiatku pokusu rozdelené do troch skupín: kontrolná skupina bez prídavku HL (n=6), pokusná skupina „HN“ s prídavkom 0,6 % HUMAC® Natur AFM (Humac s.r.o., Košice, Slovakia) (n=6) a pokusná skupina „HNM“ s prídavkom 0,6 % HUMAC® Natur AFM MycotoxiSorb (Humac s.r.o., Košice, Slovakia) (n=6). Charakteristiky použitých prípravkov s HL sú uvedené v Tabuľke č. 1.

Tabuľka č.1, Charakteristika prípravkov s humínovými látkami

Parameter	HUMAC® Natur AFM (Humac s.r.o., Košice, Slovakia)	HUMAC® Natur AFM MycotoxiSorb (Humac s.r.o., Košice, Slovakia)
Veľkosť častíc	do 100 µm	do 200 µm
pH	5,8	5,8
Vlhkosť	max. 15 %	max. 21 %
Humínové kyseliny	min. 65 % v sušine	min. 65 % v sušine
Fulvové kyseliny	min. 5 % v sušine	min. 5 % v sušine
Hrubá vláknina	-	24,3 g/kg
Popol nerozpustný v HCl	-	3,69%

Na tretí a siedmy deň pokusu bola všetkým zvieratám odobratá krv zo *sinus ophtalmicus*. Prídavkom antikoagulantu (heparín 10 – 20 IU.ml^{-1} v PBS, Zentiva, Česká republika) vo všetkých vzorkách bolo zabránené zrazeniu krvi. Analýza vybraných imunologických parametrov sa vykonala pomocou prietokového cytometra BD FACSCanto™ (Becton Dickinson Biosciences, USA) a softvéru BD FACS Diva™. Hodnotené subpopulácie lymfocytov boli identifikované s použitím kombinácií priamo značených myšacích anti-prasacích monoklonálnych protilátok: CD3e/CD21 a CD4/CD8a (Tabuľka č. 2). Na základe prítomnosti charakteristických znakov boli bunky identifikované ako: T lymfocyty (CD3+), B lymfocyty (CD21+), pomocné T lymfocyty (CD4+CD8-), cytotoxické T lymfocyty (CD4-CD8+) a dvojito pozitívne T lymfocyty (CD4+CD8+). Zo zistených výsledkov bol vyhodnotený aj pomer lymfocytov CD4:CD8. Pomocou komerčného testu Phagotest® (Celonic, Nemecko) bola vykonaná analýza fagocytárnej aktivity. Štatistická analýza bola vykonaná pomocou jednocestnej ANOVY (Tukey's multiple comparisons test) s použitím štatistického softvéru GraphPad Prism 8.0. Výsledky sú vyjadrené ako priemer ± štandardná chyba priemeru (SEM).

Tabuľka č. 2, Špecifikácia a množstvo protilátok použitých na analýzu pomocou prietokovej cytometrie

Protilátka	Fluorochróm	Klon	Množstvo na 50 µL krvi	Výrobca
anti-CD3e	FITC	BB23-8E6	4 µL	BD Biosciences, USA
anti-CD4	FITC	MIL 17	4 µL	AbD Serotec, UK
anti-CD8a	R-PE	MIL 12	2 µL	AbD Serotec, UK
anti-CD21	R-PE	BB6-11C9.6	2 µL	SuthernBiotech, USA

Výskum bol realizovaný na základe schválenia Etickou komisiou UVLF v Košiciach, č. povolenia EKVP/2023-01.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vplyv účinku podávaných humínových látok na vybrané imunologické parametre bol hodnotený na základe percentuálneho zastúpenia lymfocytov a ich subpopulácií (Graf 1_{a-g}) a na základe fagocytárnej aktivity fagocytov (Graf 1_h). Celkový počet lymfocytov nebol prídavkom humínových látok signifikantne ovplyvnený ani pri jednom z testovaných prípravkov, bol však zaznamenaný trend zvýšenia T lymfocytov na tretí ($p = 0,0731$) aj na siedmy ($p = 0,0866$) deň pokusu, ako aj trend zvýšenia B lymfocytov na tretí ($p = 0,0619$) deň pokusu u zvierat skupiny HNM. Ostatné subpopulácie lymfocytov neboli v porovnaní s kontrolnou skupinou ovplyvnené ani jedným z podávaných prípravkov. V skupine HN bolo na siedmi deň pokusu zaznamenané signifikantne vyššie zastúpenie pomocných T lymfocytov v porovnaní s HNM skupinou ($p <$

0,05) (Graf 1_d), ale v porovnaní s kontrolnou skupinou toto zvýšenie nebolo signifikantné. Pomer buniek CD4+ ku CD8+ (Graf 1_g), ako ukazovateľ imunitnej stimulácie, nebol signifikantne ovplyvnený u žiadnej pokusnej skupiny oproti kontrole. Na siedmi deň bola zaznamenaná signifikantne vyššia hodnota tohto ukazovateľa v skupine HN v porovnaní s druhou pokusnou skupinou HNM ($p < 0,05$).

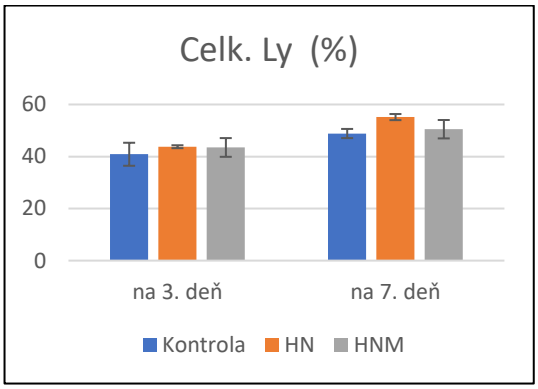
Trend v náraste počtu sledovaných subpopulácií lymfocytov (CD3+, CD21+, CD4-CD8+, CD4+CD8+) bol pozorovaný aj v našej predchádzajúcej štúdii (Bujňák a kol, 2023), v ktorej boli prasiatkam podávané humínové látky v prípravku HUMAC® Natur AFM (Humac s.r.o., Košice, Slovakia) v 0,5 % koncentrácii. Zaznamenané bolo aj signifikantné zvýšenie podielu T pomocných lymfocytov (CD4+CD8-) ($P < 0,001$) a nesignifikantne zvýšený pomer CD4+ k CD8+ v porovnaní s kontrolnou skupinou. K signifikantnému zvýšeniu percentuálneho podielu CD4+ lymfocytov došlo aj u brojlerov kŕmených kŕmnou zmesou s prídavkom humínových látok v 0,8 % koncentrácii (Mudroňová a kol., 2020). Taktiež tu bol zaznamenaný významný pokles CD8+ lymfocytov, čo viedlo k štatisticky vyššiemu pomeru CD4:CD8. Tieto výsledky je možné čiastočne porovnať so zisteniami Wanga a kol. (2008), ktorí zistili vyšší relatívny počet lymfocytov u ošípaných, ktorých krmivo bolo suplementované humínovými látkami v 10 % koncentrácii. Podobné výsledky boli zistené aj u hydiny, ktorá bola kŕmená krmivom s prídavkom humátu (0,15 %) (Cetin a kol. 2011).

Podávanie humínových látok nemalo na tretí deň pokusu preukázateľný vplyv na fagocytárnu aktivitu fagocytov, avšak na siedmy deň bola v pokusnej skupine HNM pozorovaná signifikantne vyššia fagocytárna aktivita v porovnaní s kontrolnou skupinou. Ani zvýšenie prípravku HUMAC® Natur AFM (Humac s.r.o., Košice, Slovakia) o 0,1 % v porovnaní s našou predchádzajúcou štúdiou (Bujňák a kol, 2023) signifikantne neovplyvnilo fagocytárnu aktivitu, hoci boli v oboch štúdiách zaznamenané vyššie hodnoty tohto parametra v pokusných skupinách pri porovnaní s kontrolnými skupinami. Naše terajšie výsledky naznačujú, že prípravok HUMAC® Natur AFM MycotoxiSorb (Humac s.r.o., Košice, Slovakia) má výraznejší efekt na ovplyvnenie fagocytárnej aktivity fagocytov v krvi zvierat. Pozitívny vplyv humínových látok na fagocytárnu aktivitu bol preukázaný vo viacerých štúdiách vykonaných na hydine (ELnaggar a El-Kelawy, 2018; Mudroňová a kol., 2020; Mudroňová a kol., 2021).

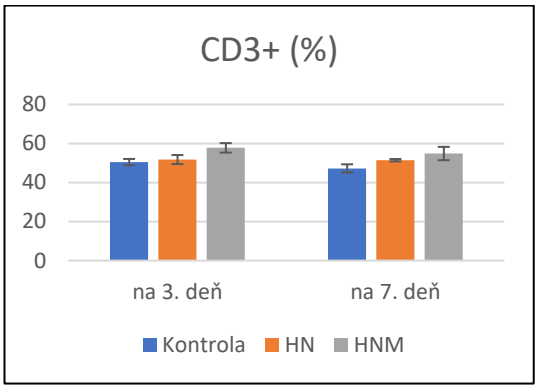
Na základe našich výsledkov, ako aj z výsledkov rôznych iných štúdií vyplýva, že humínové látky môžu mať okrem iných aj imunostimulačný účinok, ktorý však môže byť ovplyvnený zložením humátov, ich množstvom použitých v prípravkoch, spôsobom podávania v diétach, druhom zvierat a podľa ELnaggara a El-Kelawyho (2018) aj chovom zvierat v rôznych regiónoch sveta líšiacich sa podnebím. Teoreticky môže imunomodulačný efekt

humínových látok vyplývať z tvorby komplexov humátov so sacharidmi, ktoré sa viažu na povrch T lymfocytov a NK buniek a ovplyvňujú ich funkcie, vrátane tvorby cytokínov, čím môžu ďalej ovplyvňovať ostatné bunky imunitného systému (Terratol 2019).

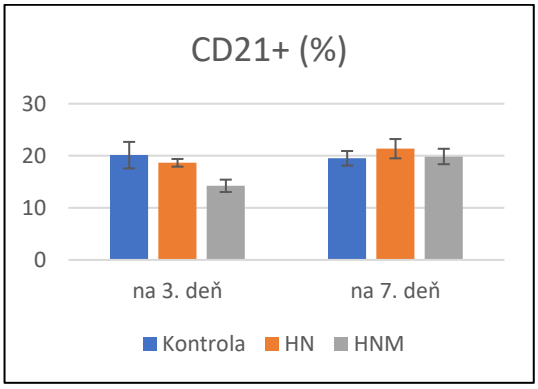
Graf 1$_{a-h}$, Porovnanie percentuálneho zastúpenia subpopulácií lymfocytov a fagocytárnej aktivity: (a) Celkový podiel lymfocytov; (b) CD3+; (c) CD21+; (d) CD4+CD8-; (e) CD4-CD8+; (f) CD4+CD8+; (g) pomer CD4:CD8; (h) fagocytárna aktivita



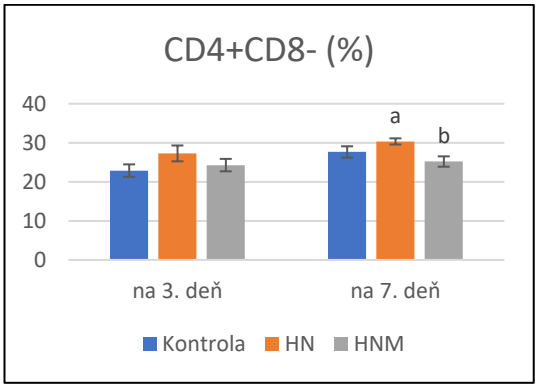
(a)



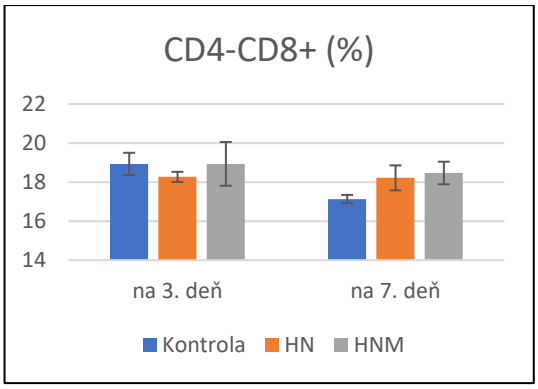
(b)



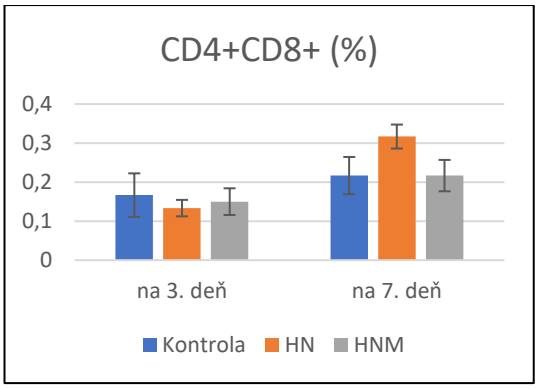
(c)



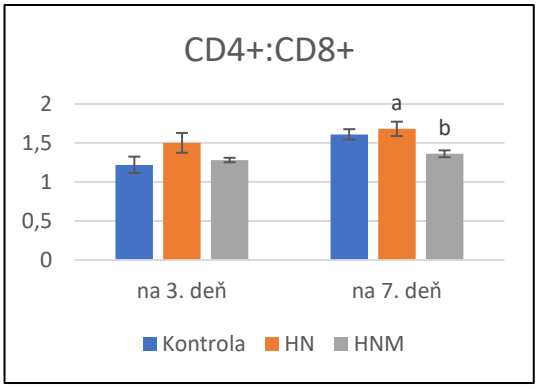
(d)



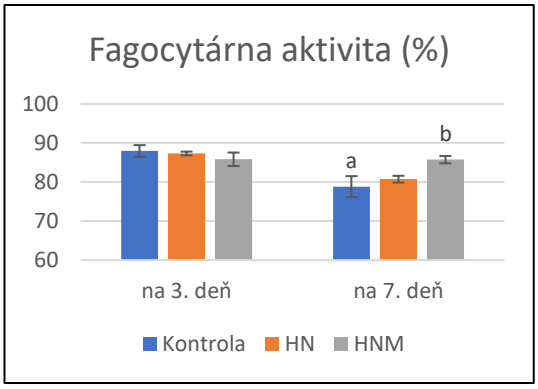
(e)



(f)



(g)



(h)

a,b – signifikantnosť ($P < 0,05$)

ZÁVER

Na základe výsledkov tejto, ale aj iných štúdií, možno konštatovať, že prídavok humínových látok do kŕmnych zmesí prasiat by mohol mať imunomodulačný účinok. Prípravok HUMAC® Natur AFM MycotoxiSorb (Humac s.r.o., Košice, Slovakia) výraznejšie ovplyvnil fagocytárnu aktivitu, aj keď pozitívny trend na percentuálne zastúpenie subpopulácií lymfocytov preukázali oba sledované prípravky.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola vytvorená z podpory projektu VEGA č. 1/0698/24 - Sledovanie účinku kŕmnych doplnkových látok prírodného pôvodu a alternatívnych kŕmnych komponentov na produkciu a zdravie monogastrických zvierat.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ABDEL-MAGEED, M.A.A. Effect of dietary humic substances supplementation on performance and immunity of Japanese quail. In *Egyptian Poultry Science*, 2012, vol. 32, no. 3, p. 645-660.
2. AIKEN, G.R. et al. An introduction to humic substance in soil, sediment, and water. In *G. R. Aiken, D. M. McKnight, R. L. Wershaw, and P. MacCarthy: Humic Substances in Soil, Sediment, and Water.*, ed. Wiley, New York, NY, 1985, 1-13.
3. ARIF, M. et al. Impacts of dietary humic acid supplementation on growth performance, some blood metabolites and carcass traits of broiler chicks. In *Indian Journal of Animal Sciences*, 2016, vol. 86, no. 9, p. 1073-1078.
4. BUJŇÁK, L. et al. The effect of dietary humic substances on cellular immunity and blood characteristics in piglets. In *Agriculture*, 2023, vol. 13, no. 3, p. 1-12.

5. CETIN, E. et al. Effect of dietary humate and organic acid supplementation on social stress induced by high stocking density in laying hens. In *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2011, vol. 10 no. 18, p. 2402-2407.
6. DABOVICH, L.A. et al. Evaluation of nutriceutical effects on pig immunity: Effects of Promox. In *2003 Southern Section ASAS meeting.* Pork Industry Institute, Department of Animal and Food Science, Texas Tech University, Lubbock, 2003, TX (Vol. 79409).
7. EL-HUSSEINY, O.M. et al. The influence of biological feed additives on broiler performance. In *International Journal of Poultry Science*, 2008, vol.7, no. 9, p. 862-871.
8. ELNAGGAR, A.S. a El-Kelawy, M.I. Effect of humic acid supplementation on productive performance, blood constituents, immune response and carcass characteristics of sasso chicken. In *Egyptian Journal of Animal Production*, 2018, vol. 55, no. 1, p. 75-84.
9. EMEA. Committee for veterinary medicinal products. In *Humic acids and their sodium salts.* Available from www.emea.eu.int/pdfs/vet/mrls/055499en.pdf (Last modified April 21, 2008. Accessed February 1999).
10. LALA, A.O. et al. Response of broiler chickens to varying dosage of humic acid in drinking water. In *Journal of Animal Production Research*, 2017, vol. 29, no. 1, p. 288-294.
11. MIRNAWATI, Y.R. a Marlida, Y. Effects of humic acid addition via drinking water on the performance of broilers fed diets containing fermented and non-fermented palm kernel cake. *Archiva Zootechnica*, 2013, 16(1), 41-53.
12. MUDROŇOVÁ, D. et al. The effect of humic substances on gut microbiota and immune response of broilers. In *Food and Agricultural Immunology*, 2020, vol. 31, no. 1, p. 137-149.
13. MUDROŇOVÁ, D. et al. Effects of dietary supplementation of humic substances on production parameters, immune status and gut microbiota of laying hens. In *Agriculture*, 2021, vol. 11, no. 8, p. 744.
14. STEVENSON, F.J. *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*; Wiley-Inter-Science: New York, NY, USA, 1994, p. 34-41.
15. TAKLIMI, S.M.S. et al. Influence of different levels of humic acid and esterified glucomannan on growth performance and intestinal morphology of broiler chickens. In *Agricultural Sciences*, 2012, vol.3, no. 05, p. 663-668.

16. TERRATOL, L.L.C. Effects of humic acid on animals and humans. Available online: https://fulvic.info/wp-content/uploads/2019/01/M-Terratrol_Article-1.pdf (accessed on 10.8.2022).
17. VESELÁ, L. a kol. Struktura a vlastnosti přírodních huminových látek typu oxihumolitu. In *Chemické Listy*, 2005, vol. 99, no. 10, p. 711-717.
18. WANG, Q. et al. Effects of supplemental humic substances on growth performance, blood characteristics and meat quality in finishing pigs. In *Livestock Science*, 2008, vol. 117, no. 2-3, p. 270–274.

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

HODNOTENIE VPLYVU PRÍDAVKU HUMÍNOVÝCH LÁTOK DO KRMIVA BROJLEROVÝCH KURČIAT NA CHEMICKÉ ZLOŽENIE PRSNEJ A STEHENNEJ SVALOVINY

EVALUATION OF THE INFLUENCE OF THE ADDITION OF HUMIC SUBSTANCES TO THE FEED OF BROILER CHICKENS ON THE CHEMICAL COMPOSITION OF BREAST AND THIGH MUSCLES

Hreško Šamudovská Alena, Jančatová Tereza, Harčárová Michaela, Marcin Andrej, Hreško Stanislav, Mihok Tomáš, Naď Pavel, Bujňák Lukáš

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

ABSTRACT

In this study, the influence of two different concentrations of the preparation of humic substances on chemical composition of breast and thigh muscle in broiler chickens was monitored. Ninety 1-day-old broiler chickens (hybrid Ross 308) were divided into three groups. Humic substances were added to the feed mixtures of the experimental groups in the amount of 6 g/kg (group H1) and 9 g/kg (group H2) during the entire experimental period. The experimental period lasted 6 weeks. The addition of the monitored humic preparation to the feed mixtures in the quantities used had no significant effect on the chemical composition of the breast and thigh muscles. However, a statistically significant linear trend of an increase in protein content ($P < 0.05$) and a decrease in fat content ($P < 0.05$) in the thigh muscle with increasing concentration of humic substances in the feed was recorded.

Key words: meat quality, natural feed additives, poultry

ÚVOD

Humínové látky sú organické zlúčeniny vznikajúce rozkladom rastlinných a živočíšnych zvyškov. Bežne sa vyskytujú v pôde, rašeline, lignite, hnedom uhlí, odpadových vodách, prírodných vodách a ich sedimentoch. Ich hlavnými zložkami sú humínové, fulvové a ulmové kyseliny (Stevenson 1994). V súčasnosti sa humínové látky využívajú v poľnohospodárstve, priemysle, v oblasti ochrany životného prostredia a v biomedicíne. U koní, prežúvavcov, ošípaných a hydiny sa humínové kyseliny používajú na liečbu hnačiek, dyspepsie a akútnych intoxikácií. Majú analgetický, antimikrobiálny a protizápalový účinok (EMEA 1999).

Existuje aj celý rad vedeckých publikácii poukazujúcich na výhody použitia humínových látok ako kŕmnych aditív. Predpokladá sa, že môžu stabilizovať črevnú mikroflóru (Agboola a kol. 2021, Omidiwura a kol. 2022) alebo viesť k zväčšeniu absorpčnej plochy prostredníctvom zvýšenia klkov črevnej sliznice (Abdel-Mageed 2012, Taklimi a kol. 2012), a tým zabezpečiť lepšie využitie živín z krmiva, čo môže viesť k zvýšeniu intenzity rastu zvierat, k zlepšeniu konverzie krmiva (Abdel-Mageed 2012, Taklimi a kol. 2012, ELnaggar a El-Kelawy 2018, Hammod a kol. 2021) a k zvýšeniu jatočnej výťažnosti (Abdel-Mageed 2012, Marcinčáková a kol. 2015). Existuje aj niekoľko štúdií, ktoré uvádzajú možný vplyv prídavku humínových látok do krmiva alebo do pitnej vody na chemické zloženie svaloviny hydiny (Ozturk a kol. 2010, 2012, Semjon a kol. 2020, Gálik a kol. 2023).

Cieľom tejto práce bolo v podmienkach malochovu sledovať vplyv rôznej koncentrácie humínových látok na chemické zloženie prsnej a stehennej svaloviny u brojlerových kurčiat.

MATERIÁL A METODIKA

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

Kurčatá boli v priebehu pokusu kŕmené komerčne vyrábanými kompletnými kŕmnymi zmesami (Tomáš spol. s r. o., Dolná Ždaňa, Slovenská republika) na báze pšenice, sójového extrahované šrotu, kukurice a repkového extrahovaného šrotu podľa rastových fáz: BR1 1. – 2. týždeň, BR2 3. – 5. týždeň, BR3 6. týždeň. V pokusných skupinách boli k uvedeným kŕmnym zmesiam pridané humínové látky (HUMAC MycotoxiSorb; Humac s.r.o, Košice, Slovensko; veľkosť častíc do 200 µm, pH 5,8; vlhkosť max. 21 %, humínové kyseliny min. 65 % a fulvové kyseliny 5 % v sušine): v skupine H1 v množstve 6 g/kg a v skupine H2 v množstve 9 g/kg. Príjem krmiva a napájanie bolo počas celého pokusu zabezpečené *ad libitum*.

Na konci pokusu, vo veku kurčiat 6 týždňov, bolo 8 kurčiat z každej skupiny po odvážení usmrtených a jatočne opracovaných (odstránenie peria, hlavy, krku, behákov, vnútorností). Následne boli odobrané vzorky prsnej a stehennej svaloviny, v ktorých bol stanovený obsah sušiny/vody, bielkovín a tuku. Vzorky svaloviny boli pred analýzou rozomleté. Chemická analýza vzoriek svaloviny bola vykonaná analytickými metódami podľa Nariadenia komisie (ES) č. 152/2009.

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

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Mnohí autori, ktorí sa zaoberali skrmovaním humínových látok u hydiny, zaznamenali možný vplyv na chemické zloženie prsnej alebo stehennej svaloviny. Napríklad, Semjon a kol. (2020), ktorí sledovali účinok prídavku humínových látok v rôznej koncentrácii (0,8 a 1 %) do kŕmnych zmesí u brojlerových kurčiat, zaznamenali významné zníženie obsahu vody a významné zvýšenie obsahu bielkovín v prsnej aj stehennej svalovine brojlerov, ktorým bola podávaná kŕmna zmes s prídavkom humínových látok v 0,8 % koncentrácii. Obsah tuku bol prídavkom uvedenej koncentrácie humínových látok do krmiva v prsnej svalovine znížený a v stehennej svalovine zvýšený. Podobný vplyv bol zaznamenaný aj u prsnej svaloviny brojlerových kurčiat s prídavkom humínových látok do krmiva vo vyššej koncentrácii. Chemické zloženie stehennej svaloviny nebolo ovplyvnené.

Ovplyvnenie obsahu vody vo svalovine prídavkom humínových látok do krmiva (v množstve 5 g/kg) bolo zaznamenané aj v našej skoršej štúdii na morkách (Hreško Šamudovská a kol. 2023). Avšak v prsnej aj stehennej svalovine moriek bol obsah vody významne zvýšený. Zvýšenie obsahu vody v prsnej svalovine bolo zaznamenané aj u brojlerových kurčiat, ktorým bolo podávané krmivo s prídavkom acidifikovaných humínových látok v 0,7 % koncentrácii (Hudák a kol. 2021).

Avšak v tejto štúdii na brojlerových kurčatách realizovanej v malochove sme nezaznamenali štatisticky významný vplyv humínových látok na obsah vody/sušiny v prsnej ani v stehennej svalovine (Tabuľka 1, 2). Podobné výsledky vo svojej štúdii zaznamenali Ozturk a kol. (2010, 2012) u brojlerov a Gálik a kol. (2023) u bažantov.

Rovnako, v tejto našej štúdii realizovanej v malochove brojlerových kurčiat, nebol prídavkom sledovaného prípravku humínových látok do krmiva štatisticky významne ovplyvnený ani obsah bielkovín a tuku v prsnej a stehennej svalovine kurčiat (Tabuľka 1, 2). Avšak pri hodnotení chemického zloženia stehennej svaloviny bol zaznamenaný štatisticky významný lineárny trend zvýšenia obsahu bielkovín a zníženia obsahu tuku prídavkom humínových látok do krmiva. So zvyšujúcou sa koncentráciou humínových látok v krmive sa lineárne zvýšil obsah bielkovín ($P < 0,05$) a lineárne znížil obsah tuku v stehennej svalovine brojlerových kurčiat ($P < 0,05$).

Významné zvýšenie obsahu bielkovín v stehennej svalovine prídavkom rovnakého prípravku humínových látok do krmiva (v množstve 5 g/kg, počas 10 týždňov) sme

zaznamenali v našej skoršej štúdii na morkách. Obsah tuku v stehennej svalovine nebol významne ovplyvnený, ale prídavok sledovaného prípravku počas piatich týždňov výkrmu moriek viedol k signifikantnému zníženiu obsahu tuku v prsnej svalovine v porovnaní s kontrolnou skupinou (Hreško Šamudovská a kol. 2023). Taktiež významné zvýšenie obsahu bielkovín a významné zníženie obsahu tuku vo svalovine vplyvom prídavku humínových látok do krmiva zaznamenali Gálik a kol. (2023) vo svojej štúdii na bažantoch, ELnaggar a El-Kelawy (2018) u kurčiat, ktoré prijímali krmivo s obsahom humínových kyselín v 0,1 % koncentrácii a Mao (2019), ktorý sa venoval štúdiu fulvových kyselín u brojlerových kurčiat.

Odlišné výsledky vo svojom experimente zaznamenali Ozturk a kol. (2012). V prsnej a v stehennej svalovine brojlerových kurčiat, ktorým bola podávaná kŕmna zmes s prídavkom humínových látok v množstve 1 g/kg, bolo zistené významné zníženie obsahu bielkovín v porovnaní s kontrolnou skupinou. Obsah tuku nebol ovplyvnený. Zníženie obsahu bielkovín v prsnej svalovine bolo zaznamenané aj u brojlerových kurčiat, ktorým bolo podávané krmivo s prídavkom acidifikovaných humínových látok v 0,7 % koncentrácii. Okrem zníženia obsahu bielkovín bolo zistené aj významné zníženie obsahu tuku. Zníženie obsahu tuku v prsnej svalovine bolo spozorované taktiež u kurčiat, ktoré prijímali kŕmnu zmes obohatenú o neacidifikované humínové látky v rovnakej koncentrácii (Hudák a kol. 2021).

Z výsledkov rôznych štúdií je zrejmé, že vplyv humínových látok na chemické zloženie svaloviny hydiny môže byť rozdielny. Túto nekonzistentnosť výsledkov možno pripísať zloženiu (obsah humínových a fulvových kyselín) a množstvu podávaných prípravkov na báze humínových látok, spôsobu aplikácie (do krmiva alebo do vody), dĺžke ich suplementácie, alebo druhu použitých zvierat.

Tabuľka č. 1, Chemické zloženie prsnej svaloviny (% čerstvej hmoty)

Parameter (%)	Kontrola	H1	H2	SEM	*P* hodnota	*P* hodnota lineárny trend	
Sušina	24,98	24,78	24,73	0,128	0,721	0,453	ns
Voda	75,02	75,22	75,27	0,128	0,721	0,453	ns
Bielkoviny	21,26	21,95	21,29	0,200	0,282	0,944	ns
Tuk	0,436	0,531	0,543	0,028	0,236	0,124	ns

ns – nesignifikantný vplyv

Tabuľka č. 2, Chemické zloženie stehennej svaloviny (% čerstvej hmoty)

Parameter (%)	Kontrola	H1	H2	SEM	*P* hodnota	*P* hodnota lineárny trend	
Sušina	24,92	23,52	23,82	0,324	0,179	0,165	ns
Voda	75,08	76,49	76,18	0,324	0,179	0,165	ns
Bielkoviny	17,38	18,03	18,71	0,256	0,079	0,026	*
Tuk	4,521	3,624	3,308	0,221	0,078	0,031	*

ns – nesignifikantný vplyv; *signifikantný vplyv (P < 0,05)

ZÁVER

Prídavok sledovaného humínového prípravku do kŕmnych zmesí v použitých množstvách nemal významný vplyv na chemické zloženie prsnej a stehennej svaloviny. Bol však zaznamenaný štatisticky významný lineárny trend zvýšenia obsahu bielkovín a zníženia obsahu tuku v stehennej svalovine so zvyšujúcou sa koncentráciou humínových látok v krmive. Vzhľadom na dosiahnuté výsledky, pre stanovenie vhodnej koncentrácie sledovaného prípravku humínových látok a pre zhodnotenie jeho možného využitia ako kŕmenej doplnkovej látky prírodného pôvodu vo výžive hydiny, budú potrebné ďalšie štúdie.

POĎAKOVANIE

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

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ABDEL-MAGEED, M. A. A. Effect of dietary humic substances supplementation on performance and immunity of Japanese quail. In *Egyptian Poultry Science Journal*. 2012, vol. 32, no. 3, p. 645-660.
2. AGBOOLA, A. F. at al. Influence of humic acid supplemented diets on intestinal microbiome and laying performance of egg-type chicken. In *Nigerian Journal of Animal Production*. 2021, vol. 48, no. 6, p. 276-286.
3. ELNAGGAR, A. S. – EL-KELAWY, M. I. Effect of humic acid supplementation on productive performance, blood constituents, immune response and carcass characteristics of sasso chicken. In *Egyptian Journal of Animal Production*. 2018, vol. 55, no. 1, p. 75-84.

4. EMEA. Committee for veterinary medicinal products. *Humic acids and their sodium salts*. 1999. Dostupné na internete: <www.emea.eu.int/pdfs/vet/mrls/055499en.pdf> Last modified April 21, 2008.
5. GÁLIK, B. et al. The effect of humic substances on the meat quality in the fattening of farm pheasants (Phasianus colchicus). In *Agriculture*. 2023, vol. 13, no. 2, p. 295.
6. HAMMOD, A. J. et al. Probiotic and humic acid as feed additives and their effects on productive and economic traits of broiler. In *Indian Journal of Ecology*. 2021, vol. 48, no. 13, p. 35-37.
7. HREŠKO ŠAMUDOVSKÁ, A. a kol. Ovplyvnenie chemického zloženia prsnej a stehennej svaloviny u moriek prídavkom humínových látok do krmiva. In *GRANT Journal*. 2023, vol. 12, no. 2, s. 101-104.
8. HUDÁK, M. et al. Effect of broilers chicken diet supplementation with natural and acidified humic substances on quality of produced breast meat. In *Animals*. 2021, vol. 11, no. 4, p. 1087.
9. MAO, Y. Modulation of the growth performance, meat composition, oxidative status, and immunity of broilers by dietary fulvic acids. In *Poultry science*. 2019, vol. 98, no. 10, p. 4509-4513.
10. MARCINČÁKOVÁ, D. et al. Effect of supplementation of the diet with humic acids on growth performance and carcass yield of broilers. In *Folia Veterinaria*. 2015, vol. 59, p. 165-168.
11. NARIADENIE KOMISIE (ES) č. 152/2009 z 27. januára 2009, ktorým sa stanovujú metódy odberu vzoriek a analýzy na účely úradných kontrol krmív.
12. OMIDIWURA, B. R. A. – OLAJIDE, O. C. – OLANIYAN, O. S. Potentials of pepper elder (Peperomia pellucida) and humic acid as feed additives in noiler chicken production. In *Nigerian Journal of Animal Production*. 2022, vol. 49, no. 2, p. 86-94.
13. OZTURK, E. et al. Effects of humic substances supplementation provided through drinking water on performance, carcass traits and meat quality of broilers. In *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2010, vol. 94, no. 1, p. 78-85.
14. OZTURK, E. et al. Performance, carcass, gastrointestinal tract and meat quality traits, and selected blood parameters of broilers fed diets supplemented with humic substances. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2012, vol. 92, no. 1, p. 59-65.
15. 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. In *Poultry Science*. 2020, vol. 99, no. 3, p. 1750-1760.

16. STEVENSON, F. J. *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. Wiley-Inter-Science: New York, NY, USA, 1994, p. 34-41.
17. TAKLIMI, S. M. S. – GHAHRI, H. – ISAKAN, M. A. Influence of different levels of humic acid and esterified glucomannan on growth performance and intestinal morphology of broiler chickens. In *Agricultural Sciences*. 2012, vol. 3, no. 5, p. 663-668.

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

MORFOMETRICKÁ ANALÝZA JEJUNA BROJLEROVÝCH KURČIAT PO APLIKÁCII 0,7 % KONCENTRÁCIE HUMÍNOVÝCH LÁTOK

MORPHOMETRIC ANALYSIS OF BROILER CHICKENS JEJUNUM AFTER APPLICATION OF 0.7% CONCENTRATION OF HUMIC SUBSTANCES

Hudec Erik[a], Karaffová Viera.[a], Almášiová Viera. [a], Andrášková Sandra [a], Hreško Šamudovská Alena [b], Naď Pavel [b], Marcin Andrej [b], Bujňák Lukáš [b]

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

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

ABSTRACT

Humic substances (HL) are natural organic compounds found in soil, coal, water and other sources, which are formed during the decomposition of plant and animal residues by the action of microorganisms and abiotic factors of the environment. They are added to feed to normalize metabolic processes, to improve digestion and absorption of nutrients in feed, improve natural resistance, increase slaughter yield as well as improve product properties of broiler chickens. The aim of our work was to monitor the effect of the addition of 0.7% concentration of humic substances on morphometric parameters (crypt depth, villus height and villus area). 60 one-day-old broiler chickens of the Ross 308 breed were included in the experiment, divided into 2 groups: control, and group with 0.7% addition of humic substances. Jejunal samples were rinsed in 0.09% NaCl solution and fixed in 4% formaldehyde solution. They were cut on a slide microtome and stained with Hematoxylin-eosin. From our results of the morphometric analysis of the jejunum in broilers, we can conclude that the addition of humic substances to the feed mixture in a concentration of 0.7% positively (however non-significantly) affected the villi heights and villi areas compared to the control group. The depth of intestinal crypts was on the other side non- significantly lowered in the group with addition of humic substances compared to control group.

Key words: broilers, morphometry, humic substances

ÚVOD

Kuracie mäso je obľúbenou zložkou našej stravy, ľudia ju konzumujú najmä pre jej organoleptické vlastnosti, ale aj z nutričných dôvodov. Znamená to, že je značný záujem o hľadanie nových spôsobov na zlepšenie produkčných parametrov u tohto druhu zvierat

(Skalická a kol., 2021). V minulosti sa na zlepšenie produkčných parametrov využívali antibiotiká, ale tie ako stimulátory rastu boli v EÚ zakázané v roku 2006. Veľa naturálnych látok, ako sú probiotiká, prebiotiká, organické kyseliny, rastlinné extrakty a éterické oleje sa používajú ako náhrada antibiotík (Akaichi a kol., 2022).

Humínové látky (HL) sú prírodné organické zlúčeniny nachádzajúce sa v pôde, uhlí, vode a iných zdrojoch, ktoré vznikajú pri rozklade rastlinných a živočíšnych zvyškov pôsobením mikroorganizmov a abiotických faktorov prostredia (Marcinčák a kol., 2023; Korsakov a kol., 2019). Sú zložené z kyseliny humínovej, humusu, kyseliny ulmovej, kyseliny fulvovej a minerálov (Arif a kol., 2019). Humínová kyselina je rozpustná vo vode za alkalických podmienok a má molekulovú hmotnosť 5000 - 100 000 Da. Jej absorpcia v gastrointestinálnom trakte zvierat je veľmi nízka, menej ako 0,1 %. Kyselina fulvová je rozpustná vo vode pri akomkoľvek pH a kvôli svojej nízkej molekulovej hmotnosti (okolo 2000 Da) sa dobre vstrebáva z črevného traktu a vylučuje sa v priebehu niekoľkých hodín z tela (Islam a kol., 2005; Vašková, J. a kol., 2023).

HL sa vyznačujú imunostimulačnými, protizápalovými a antivírusovými vlastnosťami vďaka schopnosti vytvárať ochranný film na sliznici čreva proti infekciám a toxínom (Gálik a kol., 2023). Prísady na báze HL sa používajú v krmive brojlerových kurčiat už mnoho rokov. Do krmiva sa pridávajú na zlepšenie metabolických procesov ako aj prirodzenej odolnosti, na zvýšenie jatočného výnosu a produkčných parametrov brojlerových kurčiat (Korsakov a kol., 2019).

MATERIÁL A METODIKA

Do experimentu bolo zaradených 60 jednodňových brojlerových kurčiat plemena ROSS 308. Kurčatá boli rozdelené do dvoch skupín, pričom v každej bolo po 30 kusov brojlerov. Kontrolnej skupine (K) bola podávaná kompletná kŕmna zmes bez prídavku HL. V druhej skupine (H) boli brojlerom do kompletnej kŕmnej zmesi pridávané huminové látky (HUMAC®Natur; Humac s.r.o.) v koncentrácií 0,7%. Počas celej doby pokusu mali obe skupiny zvierat adlibitný prístup ku krmivu a vode. Experiment bol vykonaný v chovnom zariadení za štandardných podmienok pre výkrm brojlerov. Automatickým záznamníkom Testo 174H boli denne merané mikroklimatické podmienky v kotercoch. Každý deň bol sledovaný zdravotný stav brojlerov, správanie a prípadné úhyny. Rovnako na dennej báze bol kontrolovaný aj trus. Brojlerom boli podávané kŕmne zmesi: HYD 01 (štartérova - do 11 dňa), HYD 02 (produkčná - od 12 do 35 dňa) a HYD 03 (ukončujúca - od 36 do 42 dňa). Na 42. deň výkrmu boli zvieratá utratené v súlade s platnou legislatívou.

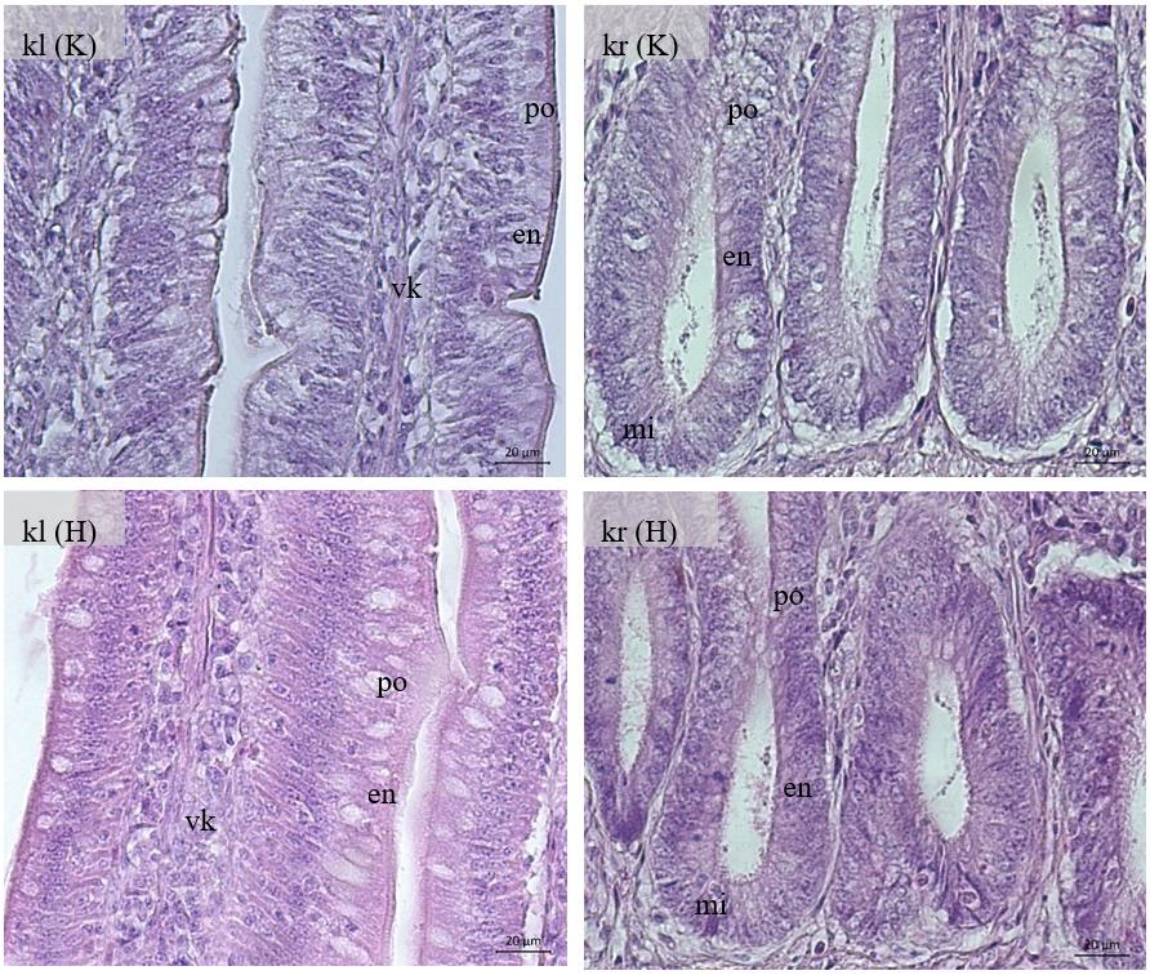
Na prípravu vzoriek pre morfometrickú analýzu boli úseky jejuna prepláchnuté v 0,09 % roztoku NaCl a následne fixované v 4% roztoku formaldehydu minimálne po dobu 24 hodín. Spracované histologické vzorky boli narezané na sánkovom mikrotóme (pfm) na rezy o hrúbke 4µm a ofarbené Hematoxylín – eozínom. Na fotodokumentáciu bol použitý svetelný mikroskop Nikon LABOPHOT 2 s kamerovým adaptérom (DS Camera Control Unit DS-U2) a analyzované pomocou počítačového softvéru NIS-Elements AR 3.0 (Laboratory imaging, CZ, Praha). Z morfometrických parametrov boli merané hĺbky krýpt, výšky klkov a plochy klkov. Výsledné hodnoty boli štatisticky spracované pomocou programu GraphPad prism 9.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Črevné klky sú slizničné výbežky tenkého čreva, ktoré značne zväčšujú plochu nevyhnutnú pre absorpciu živín. Sú pokryté najmä absorbčnými enterocytmi, medzi ktorými sa ojedinelo vyskytujú aj pohárikovité bunky vylučujúce hlien. Črevné (Liberkuhnove) krypty sú slizničné invaginácie, ktoré takisto zväčšujú plochu absorpcie, no zároveň zohrávajú dôležitú úlohu v procese regenerácie epitelu a plnia aj endokrinné funkcie. Vnútri klkov ako aj v okolí krýpt sa nachádza väzivo s bohatou sieťou krvných aj lymfatických kapilár, ktoré slúžia na transport vstrebaných živín do systémovej krvi, resp. lymfy (Cigánková a kol., 2018; Cigánková a kol., 2017). V histologických rezoch z obidvoch nami pozorovaných skupín sme zaznamenali typickú štruktúru črevných klkov ako aj krýpt. Na povrchu klkov aj krýpt sa vyskytoval typický jednovrstvový cylindrický epitel tvorený enterocytmi so súvislým kefkovitým lemom ako aj bledými pohárikovitými bunkami. V oblasti krýpt sme zaznamenali normálny priebeh regenerácie epitelu prostredníctvom mitotických delení kmeňových buniek (Obrázok č. 1).

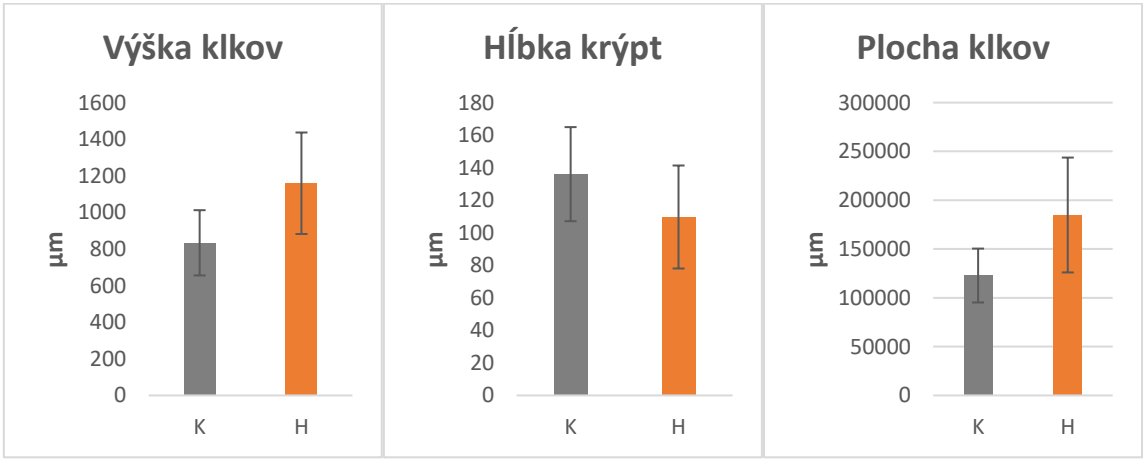
Humínové látky zvyšujú príjem krmiva a stráviteľnosť živín zväčšením dĺžky klkov ako aj následným zväčšením plochy klkov pre absorpciu živín, čo sa v konečnom dôsledku podieľa na zlepšení výkonnosti rastu[8]. Toto sa potvrdilo aj nám, kde priemerná výška klku (v kontrolnej skupine bola 833,968 µm a u skupiny s podávaním humínových látok to bolo 1159,43 µm. Takisto sme pozorovali nárast plochy klku, kde v K skupine bola 122837,13 μm^2 a v H skupine 184852,08 μm^2. Pri hĺbke krýpt sme pozorovali zníženie v H skupine, kde bol priemer 136,03 µm oproti K skupine, kde bol priemer 109,69 µm. Podobné výsledky zaznamenali aj Taklimi a kol. (2012) pri pridaní 0,3 % koncentrácie HL do krmiva. Franco a kol. (2006) pozorovali, že výška klkov v duodene sa zvyšovala až do veku 21 dní, zatiaľ čo v jejune pokračovala až do 42 dní. Hĺbka krýpt v duodene sa začala zvyšovať, keď mali vtáky 21 dní, a v jejune bol tento nárast pozorovaný len do veku 21 dní.

Obrázok č. 1, Výška klkov (kl) a hĺbka krýpt (kr) v K a H skupine (zv. 400 ×)



en – enterocyt, **po** – pohárikovitá bunka, **mi** – mitóza, **vk** – väzivo klku

Graf č. 1, Priemerné hodnoty výšky klkov, hĺbky krýpt a plochy klkov merané v jejune brojlerov



K – kontrolná skupina, **H** – skupina s prídavkom HL v krmive

Hoci existuje veľa vedeckých prác, ktoré potvrdzujú priaznivé účinky HL na zdravie a produkčné parametre brojlerových kurčiat, imunitný a tráviaci systém, mineralizáciu kostí, črevnú mikroflóru a iné (Arif a kol., 2019; Marcinčák a kol., 2023), je ťažké porovnať skutočné účinky produktov HL v dôsledku rôznych prípravkov a zdrojov HL (zloženie HL, technológia spracovania...) použitých v rozličných experimentoch.

ZÁVER

Z našich výsledkov morfometrickej anlýzy jejuna u brojlerov môžeme konštatovať, že prídavok humínových látok (HUMAC®Natur; Humac s.r.o.) do kŕmnej zmesi v koncentrácií 0,7 % pozitívne (avšak štatisticky nevýznamne) ovplyvnil výšky a plochy črevných klkov, naopak negatívne (avšak štatisticky nevýznamne) ovplyvnil hĺbky črevných krýpt. Takisto sme počas pokusu nezaznamenali negatívny vplyv prídavku humínových látok v koncentrácii 0,7 % na celkové zdravie zvierat.

POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla vďaka podpore projektu VEGA 1/0698/24 „Sledovanie účinku kŕmnych doplnkových látok prírodného pôvodu a alternatívnych kŕmnych komponentov na produkciu a zdravie monogastrických zvierat“.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AKAICHI, A. et al.. Effects of humic acid and organic acids supplements on performance, meat quality, leukocyte count, and histopathological changes in spleen and liver of broiler chickens. *Res. Vet. Sci*. 2022, 150, 179–188. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2022.104880
2. ARIF M. et al. Humic acid as a feed additive in poultry diets: a review. *Iran J Vet Res*. 2019, 20(3):167-172.
3. CIGÁNKOVÁ, V. a kol. *Veterinárna histológia I.*. 1. vyd. Košice : UVLF, 2018. 191 s. ISBN 978-80-8077-588-9.
4. CIGÁNKOVÁ, V. a kol. *Veterinárna histológia II.*. 1. vyd. Košice : UVLF, 2017. 226 s. ISBN 978-80-8077-549-0.
5. FRANCO, J. R. G. et al. Influence of delayed placement and dietary lysine levels on small intestine morphometrics and performance of broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science* . 2006, 8. https://doi.org/10.1590/S1516-635X2006000400006.

6. GÁLIK B. et al. The Effect of Humic Substances on the Meat Quality in the Fattening of Farm Pheasants (Phasianus colchicus). *Agriculture*. 2023, 13(2):295. https://doi.org/10.3390/agriculture13020295
7. ISLAM, K. M. S., et al. Humic acid substances in animal agriculture. In *Pakistan Journal of Nutrition*. 2005, 4, 3, 126–134. https://doi.org/10.3923/pjn.2005.126.134
8. KORSAKOV, K. V. et al. Humic Acids as the Key to High Productivity of Broiler Chickens. In *Annals of Agri-Bio Research*. 2019, 24(2) : 294-302.
9. MARCINČÁK S. et al. Humic Substances as a Feed Supplement and the Benefits of Produced Chicken Meat. *Life*. 2023; 13(4):927. https://doi.org/10.3390/life13040927
10. SKALICKÁ, M., et al. Impact of Dietary Humic Substances Supplementation on Selected Minerals in Muscles of Broiler Chickens. *Folia Veterinaria*. 2021, 65, 51-59. https://doi.org/10.2478/fv-2021-0027
11. TAKLIMI, S. et al. Influence of different levels of humic acid and esterified glucomannan on growth performance and intestinal morphology of broiler chickens. *Agricultural Sciences*. 2012, 03, 663-668. https://doi.org/10.4236/as.2012.35080
12. VAŠKOVÁ, J. et al. Therapeutic Efficiency of Humic Acids in Intoxications. *Life*. 2023, 13(4),971. https://doi.org/10.3390/life13040971

Kontaktná adresa: Hudec Erik, Katedra morfologických disciplín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; E-mail: erik.hudec@uvlf.sk

VÝSKYT A ANTIBIOTICKÁ REZISTENCIA *AEROMONAS* SPP. U PSTRUHA DÚHOVÉHO

OCCURRENCE AND ANTIBIOTIC RESISTANCE OF *AEROMONAS* SPP. IN RAINBOW TROUT

Hudecová Patrícia, Hajdučková Vanda, Király Ján, Koščová Jana

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

ABSTRACT

Representatives of the genus *Aeromonas* cause high economic losses in fish farms and pose a risk of human infection. To prevent and reduce the occurrence of outbreaks, there is excessive application of antibiotics and chemotherapeutic drugs, which results in the development of antibiotic resistance and endangering the health of animals and people. The aim of this work was to detect presence of *Aeromonas* spp. in gastrointestinal tract of rainbow trout and determine the sensitivity of individual isolates to 15 antimicrobial agents. A total of 7 *Aeromonas* spp. isolates were isolated and identified, while all isolates showed resistance to β-lactams and 6 isolates to macrolide antibiotics.

Key words: aquaculture, antibiotic resistance, *Aeromonas* spp., rainbow trout

ÚVOD

Akvakultúra dosiahla v posledných rokoch celosvetovo významný ekonomický rozvoj a je považovaná za najrýchlejšie sa rozvíjajúci sektor v potravinárskom priemysle. Na druhej strane, najzávažnejšiu hrozbu v chovoch rýb predstavujú ekonomické straty v dôsledku infekčných chorôb, ktoré spôsobujú vysokú mortalitu, pričom sa uvádza, že až 55 % infekcií u rýb je bakteriálneho pôvodu (Matínez-Lara et al. 2021). K významným patogénom rýb vyvolávajúcich závažné ochorenia patrí *Aeromonas salmonicida, A. hydrophila*, *A. caviae*, *Vibrio alginolyticus*, *V. ordalii* alebo *Yersinia ruckeri* (Pessoa et al. 2019, Pajdak-Czaus et al. 2019, Wibowo et al. 2021). V rámci prevencie a terapie bakteriálnych infekcií dochádza k zvýšenej aplikácii antibiotík a chemoterapeutík, čo má za následok zvýšený rozvoj antibiotickej rezistencie a ovplyvňovanie nielen zdravia zvierat, ale aj ľudí (Adenaya et al. 2023).

Zástupcovia rodu *Aeromonas* predstavujú Gram-negatívne, fakultatívne anaeróbne baktérie tyčinkového tvaru, schopné kolonizovať a infikovať niekoľko druhov hostiteľov, medzi ktorých patrí aj človek. U ľudí sú zástupcovia ako *A. hydrophila, A. caviae, A. sorbia* a

v ojedinelých prípadoch aj *A. salmonicida* schopní vyvolať infekcie gastrointestinálneho traktu, mäkkých tkanív, kĺbov alebo hepatobiliárneho a respiračného systému. Človek sa najčastejšie nakazí konzumáciou nedostatočne tepelne opracovaného rybieho mäsa, ale aeromonády sa prenášajú aj ďalšími potravinami ako zelenina alebo hovädzie či bravčové mäso (Pessoa et al. 2019).

MATERIÁL A METODIKA

Získaný črevný obsah pstruha dúhového bol vyšetrený kultivačne, pomocou vopred pripravených živných médií – použil sa krvný agar (KA) a Endo agar (EA), kultivácia prebiehala pri 37 °C po dobu 24 hod. Následná postkultivačná identifikácia získaných izolátov *Aeromonas* spp. bola vykonaná pomocou biochemickej súpravy NEFERMtest 24N (Erba Lachema, Česká Republika), podľa pokynov výrobcu a potvrdená na génovej úrovni pomocou PCR metódy sekvenovaním 16S rRNA (Tabuľka č. 1).

Tabuľka č. 1, Zoznam použitých primérov pre sekvenovanie

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

Zo získaných izolátov *Aeromonas* spp. bola stanovená citlivosť na antibiotiká pomocou kvalitatívnej diskovo-difúznej metódy. Inokulá boli pripravené z nočnej kultúry (18 hod.) z KA a upravené na zákal zodpovedajúci hustote 0,5 McFarland (1,5 x 10^8 KTJ/ml). Na vykonanie diskovo-difúznej metódy bol použitý Mueller-Hinton agar (MHA), na ktorý sa naočkovalo 100 µl inokula, ktoré sa pomocou roztierky rovnomerne nanieslo na celý povrch živnej pôdy, s následným pridaním 15 rôznych antibiotických diskov, ktoré sa aplikovali na povrch naočkovaného média v príslušných rozostupoch: ampicilín (10 µg), amoxicilín (25 µg), amoxicilín s kyselinou klavulánovou (30 µg), oxytetracyklín (30 µg), tetracyklín (30 µg), penicilín (10 µg), neomycín (30 µg), ciprofloxacín (5 µg), gentamycín (10 µg), chloramfenikol (30 µg), erytromycín (15 µg), streptomycín (25 µg), moxifloxacín (5 µg), ceftazidim (30 µg) a cefotaxim (30 µg). Dané antibiotiká patria do rôznych antibiotických skupín (betalaktámové antibiotiká, aminoglykozidy, tetracyklíny, makrolidy, fluorochinolóny a amfenikoly). Citlivosť na antibiotiká bola vyhodnotená po 24 hod. kultivácii pri teplote 37 °C meraním priemeru inhibičných zón.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Zo pstruha dúhového bez klinických príznakov infekcie boli v mesiacoch od apríla do augusta 2023 získané vzorky črevného obsahu (n = 48), ktoré boli podrobené mikrobiologickému vyšetreniu. Po kultivácii na KA bol hodnotený vzhľad kolónií, forma rastu a hemolýza a na EA schopnosť fermentovať laktózu, čo sa považuje za dôležitý diferenciačný znak na odlíšenie Gram-negatívnych baktérií. Pomocou biochemickej súpravy NEFERMtest 24N (Erba Lachema) bolo 7 izolátov identifikovaných ako *Aeromonas* spp., pričom na génovej úrovni bol potvrdený výskyt 2 izolátov *A. salmonicida* (izolát 1 a 2) a 5 izolátov *A. salmonicida* subsp. *masoucida* (izoláty 3, 4, 5, 6, 7). Podľa viacerých štúdií bol potvrdený výskyt *A. salmonicida* bez prítomnosti klinických príznakov, a to u lososa atlantického, ostrieža európskeho, morského vlka alebo kambaly veľkej (Koppang et al. 2000, Skrodoenyté-Arbačiauskiené 2010, Coscelli et al. 2014).

U siedmych získaných izolátov bola stanovená citlivosť na antibiotiká (Tabuľka č. 2), pričom veľkosť zóny bola meraná v milimetroch po 24 hodinách a baktéria hodnotená vo vzťahu k antibiotikám ako senzitívna (≥ 18 mm), intermediárna (13 – 17 mm) alebo rezistentná (< 13 mm) (Okonko et al. 2009, Odeyemi 2017). Všetky izoláty vykazovali rezistenciu na β-laktámové antibiotiká (ampicilín, amoxicilín, penicilín), pričom 4 izoláty preukázali rezistenciu aj voči cefalosporínovým antibiotikám (ceftazidím) a 6 izolátov voči makrolidovým antibiotikám (erytromycín). Podľa štúdie Bello-López et al. (2019) sú aeromonádové infekcie často ťažko eradikovateľné, z dôvodu prítomnej β-laktámovej antibiotickej rezistencie, spôsobenej expresiou AmpC β-laktamáz v kombinácii s nízkou permeabilitou vonkajšej membrány baktérie. Výsledky našej práce sú zhodné so štúdiou Mustafa et al. (2019), ktorá potvrdila antibiotickú rezistenciu *A. salmonicida* voči erytromycínu, ceftazidímu a taktiež aj ampicilínu a amoxicilínu. Ďalšie práce potvrdzujú výskyt rezistencie *Aeromonas* spp. voči ceftazidímu, amoxicilínu a taktiež aj voči enrofloxacínu alebo oxytetracyklínu (Ahmed et al. 2018, Syrova et al. 2018). Zvýšená rezistencia *Aeromonas* spp. voči makrolidovým antibiotikám (erytromycín) bola potvrdená nielen u pstruha dúhového, ale aj pri rôznych sladkovodných druhoch rýb ako sumček kanálový, tilapia alebo kapor (Stratev et al. 2013, Nhinh et al. 2021).

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

	Izolát 1 (mm)	Izolát 2 (mm)	Izolát 3 (mm)	Izolát 4 (mm)	Izolát 5 (mm)	Izolát 6 (mm)	Izolát 7 (mm)
Penicilín	-	-	-	-	-	-	-
Ampicilín	-	-	-	-	-	-	-
Amoxicilín	-	-	-	-	-	-	-
Amoxicilín klavulanát	26	15	20	26	26	25	18
Ceftazidím	12	12	16	12	12	14	15
Cefotaxim	25	21	28	31	25	32	32
Gentamicín	19	19	19	19	19	19	18
Neomycín	19	17	15	19	19	18	15
Streptomycín	17	14	15	16	17	16	14
Moxifloxacín	22	28	26	22	22	27	28
Ciprofloxacín	26	31	34	25	26	33	34
Oxytetracyklín	25	24	26	27	25	26	25
Tetracyklín	28	24	26	26	28	25	26
Chloramfenikol	29	27	27	30	29	29	26
Erytromycín	-	10	0,8	15	-	-	-

ZÁVER

Práca bola zameraná na výskyt baktérií *Aeromonas* spp. u pstruha dúhového a na stanovenie rezistencie na antibiotiká u jednotlivých izolátov. Zo 48 vzoriek črevného obsahu bolo izolovaných 7 zástupcov rodu *Aeromonas*, pričom všetky izoláty vykazovali rezistenciu voči β-laktámovým a 6 izolátov voči makrolidovým antibiotikám. Pre spomalenie šírenia antibiotickej rezistencie je potrebné v akvakultúre obmedziť aplikáciu antibiotík a chemoterapeutík a venovať pozornosť možným alternatívnym náhradam, ktoré majú opodstatnenie najmä z preventívneho hľadiska. Taktiež, z dôvodu potenciálneho rizika prenosu infekcie na človeka, je potrebné vykonávať základné preventívne opatrenia založené na konzumácii tepelne dostatočne opracovaného rybieho mäsa a zamedzenia kontaminácie rybieho mäsa a produktov v procese ich spracovania.

POĎAKOVANIE

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

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ADENAYA, A. et al. Usage of antibiotics in aquaculture and the impact on coastal waters. In *Marine Pollution Bulletin*. ISSN 1879-3363, 2023, vol. 188, p. 114645.
2. AHMED, H. A. et al. *Aeromonas hydrophila* in fish and humans; prevalence, virulotyping and antimicrobial resistance. 2018, p. 113-124.
3. BELLO-LÓPEZ, J. M. et al. Horizontal gene transfer and its association with antibiotic resistance in the genus *Aeromonas* spp. In *Microorganisms.* ISSN 2076-2607, 2019, vol. 7, n. 9, p. 363.
4. COSCELLI, G. A. et al. Acute *Aeromonas salmonicida* infection in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Histopathological and immunohistochemical studies. In *Aquaculture*. ISSN 0044-8486, 2014, vol. 430, p. 79-85.
5. KH MUSTAFA, K. et al. Antimicrobial Resistance of *Aeromonas salmonicida* Isolated From Common carp (*Cyprinus carpio*) Fishes in Erbil City/Iraq. In *Baghdad Science Journal.* ISSN 2411-7986, 2019, vol. 16, n. 3, p. 713-718.
6. KOPPANG, E. O et al. Non-pigment-producing isolates of *Aeromonas salmonicida* subspecies *salmonicida*: isolation, identification, transmission and pathogenicity in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. In *Journal of Fish Diseases*. ISSN 1365-2761, 2000, vol. 23, n. 1, p. 39-48.
7. MARTÍNEZ-LARA, P. et al. Granulomatosis in fish aquaculture: A mini review. In *Reviews in Aquaculture*. ISSN 1873-5622, 2021, vol. 13, n. 1, p. 259-268.
8. NHINH, D. T. et al. Prevalence, virulence gene distribution and alarming the multidrug resistance of *Aeromonas hydrophila* associated with disease outbreaks in freshwater aquaculture. In *Antibiotics.* ISSN 2079-6382, 2021, vol. 10, n. 5, p. 532.
9. OKONKO, I. O. et al. Antibiotics sensitivity and resistance patterns of uropathogens to nitrofurantoin and nalidixic acid in pregnant women with urinary tract infections in Ibadan, Nigeria. In *Middle-East J. Sci. Res*. ISSN 1990-9233, 2009, vol. 4, n. 2, p. 105-109.
10. ODEYEMI, O. A, – Asmat, A. Antibiotic resistance profiling and phenotyping of *Aeromonas* species isolated from aquatic sources. In *Saudi journal of biological sciences.* ISSN 2213-7106, 2017, vol. 24, n. 1, p. 65-70.
11. PAJDAK-CZAUS, J. et al. *Yersinia ruckeri*—A threat not only to rainbow trout. In *Aquaculture research.* ISSN 1365-2109, 2019, vol. 50, n. 11, p. 3083-3096.
12. PESSOA, R. B. G. et al. The genus *Aeromonas*: A general approach. In *Microbial pathogenesis*. ISSN 1096-1208, 2019, n. 130, p. 81-94.

13. SKRODENYTĖ-ARBAČIAUSKIENĖ, V. et al. Identification of *Aeromonas salmonicida* in European perch from North Lithuanian rivers during mass mortalities in 2008. In *Central European journal of biology*. ISSN 1644–3632, 2010, vol. 5, p. 831-838.
14. STRATEV, D. – VASHIN, I. – DASKALOV, H. Antimicrobial resistance of β-haemolytic *Aeromonas hydrophila* strains isolated from rainbow trouts (*Oncorhynchus mykiss*). In *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*. ISSN 1313-3543, 2013, vol 14, n. 4, p. 289-296.
15. SYROVA, E. et al. Antibiotic resistance and virulence factors in mesophilic *Aeromonas* spp. from Czech carp fisheries. In *Journal of applied microbiology*. ISSN 1364-5072, 2018, vol. 125, n. 6, p. 1702-1713.
16. WIBOWO, R. H. et al. Identification of *Vibrio* spp. causing vibriosis in spiny lobsters (*Panulirus homarus* L.) in Bengkulu marine temporary shelter ponds. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. IOP Publishing, ISSN 1755-1315, 2021. p. 012019.

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

HODNOCENÍ ANTIBIOTICKÉ REZISTENCE IZOLÁTŮ *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

EVALUATION OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS ISOLATES*

Hulánková Radka, Svobodová Irena

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

ABSTRACT

The aim of the study was to determine and evaluate antimicrobial resistance of porcine (N=70), bovine (N=54) and caprine and ovine (N=12) intestinal isolates of *Clostridium perfringens* against six antibiotics (benzylpenicillin-BEN; clindamycin-CLI; meropenenem-MER; metronidazole-MET; piperacillin/tazobactam-PIT; and vancomycin-VAN), using disk diffusion method and EUCAST breakpoints. Most of isolates (83.8%) were resistant to CLI, followed by BEN and PIT (30.1% and 13.2%, respectively), as opposite to VAN (0.7%), MET (2.2%) a MER (4.4%). Only 11% of isolates were completely sensitive and three isolates (2.2%) were multiresistant. The results prove food animals to be an important reservoir of resistant strains of zoonotic *Clostridium perfringens*. The resistance is also posing a risk for human health by potentially complicating therapy of clostridial infections transmitted via food producing animals.

Key words: disk diffusion method, multiresistance, antibiotics, food animals

ÚVOD

Antibiotická rezistence je u bakterií závažným celosvětovým problémem, který ovlivňuje kvalitu a bezpečnost potravin živočišného původu. Šíření bakterií s určitým stupněm rezistence v životním prostředí, v zemědělství i mezi potravinovými zvířaty limituje použití léčebných přípravků i účinnost léčby bakteriálních infekcí. Mezi významné patogenní bakterie spojované s potravinami patří *Clostridium perfringens* (CP). Jedná se o sporotvornou anaerobní tyčinku, pro kterou je typická produkce celé řady bakteriálních toxinů. Šest toxinů je zařazeno mezi toxiny hlavní, které určují typ (A-G), kromě nich je CP producentem širokého spektra faktorů virulence. Celá řada antibiotik (např. ionofory) je používána ve výkrmu hospodářských zvířat a drůbeže profylakticky jako antikokcidika. Svým mechanismem účinku se však jedná o antibiotika, která kromě pozitivního vlivu na konverzi krmiva a vlastního antikokcidického účinku mj. ovlivňují složení střevního mikrobiomu (Butaye et al., 2003). Celý koloběh přenosu

bakterií, včetně těch, které jsou rezistentní, mezi zvířaty, potravinami a člověkem je známý a velmi dobře zdokumentovaný (Ishii, 2019; Kirbis et al. 2015; Urban-Chmiel, 2022). Přenos genů rezistence napříč potravním řetězcem je proto vhodné sledovat, hodnotit a především v praxi provádět preventivní opatření tak, jak je to myšleno v konceptu One Health.

Metody stanovení antibiotické rezistence lze rozdělit na metody molekulárně biologické, které jsou v současnosti velmi populární a na vědecké úrovni i velmi rozšířené a na metody rutinní, fenotypové, prováděné především klinickými laboratořemi. Jejich výhodou je zejména rychlost, jednoduchost a spolehlivost.

Cílem práce bylo stanovení a vyhodnocení antibiotické rezistence izolátů CP získaných z různých druhů potravinových zvířat diskovou difuzní metodou.

MATERIÁL A METODIKA

Bakteriální izoláty CP byly získány od Státního veterinárního ústavu v Jihlavě. V pokusu bylo použito celkem 136 izolátů CP ze střevního obsahu zvířat. Celá skupina izolátů byla rozdělena na 3 menší skupiny podle původu vzorků (prasata = 70, skot = 54, malí přežvýkavci = 12).

Antibiotické disky použité v této práci byly zakoupeny od komerčního dodavatele (Thermo Fisher Scientific, Velká Británie). Konkrétně se jednalo o benzylpenicilin (BEN; 1 IU), klindamycin (CLI; 2 µg), meropenem (MER; 10 µg), metronidazol (MET; 5 µg), piperacilin-tazobaktam (PIT; 30-6 µg) a vankomycin (VAN; 5 µg).

Postup stanovení citlivosti k vybraným druhům antibiotik byl prováděn v souladu s manuály publikovanými EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*). Všechny kultivace, tj. oživení deponovaných kultur i samotné testování probíhaly na Fastidious Anaerobe Agaru (FAA, Neogen, USA), suplementovaným 7 % beraní krve, po dobu 18±2 h při teplotě 37 °C v anaerobním prostředí (Anaerobic system Oxoid, Thermo Fisher Scientific, Velká Británie). Samotné inokulum (zákal McFarland 1,0) se nanášelo na povrch předsušených půd a do 15 minut se na něj pokládaly disky s antibiotiky. Po inkubaci se změřil průměr (mm) vzniklých inhibičních zón digitálním posuvným měřidlem, a to zepředu po sejmutí víčka v odraženém světle. Hraniční hodnoty velikostí inhibičních zón jsou uvedeny v tabulce 1. Pro kontrolu kvality byl použit sbírkový kmen *Clostridium perfringens* ATCC 13124 (CCM Brno, Česká republika) a EUCAST QC Tables v. 14.0. Výskyt rezistence byl porovnáván Fisherovým exaktním testem v programu TIBCO Statistica v. 7.1.

Tabulka č. 1: Hraniční hodnoty velikostí inhibičních zón (breakpoints) pro *Clostridium perfringens* (EUCAST, 2024)

Antibiotikum (ATB)	Obsah ATB v disku	Velikost inhibiční zóny (mm)	
		S ≥	R <
Benzylpenicilin	1 IU	15	15
Klindamycin	2	19	19
Meropenem	10	25	25
Metronidazol	5	16	16
Piperacilin-Tazobactam	30-6	24	24
Vankomycin	5	12	12

VÝSLEDKY A DISKUZE

V průběhu pokusu byly vyšetřeny izoláty CP animálního původu, u kterých byla zaznamenána významná míra rezistence k několika druhům antibiotik. Nejvíce izolátů (83,8 %) vykázalo rezistenci vůči klindamycinu, dále byla prokázána rezistence vůči benzylpenicilinu (30,1 %) a piperacilin-tazobactamu (13,2 %). Rozdíly v poměru citlivosti/rezistence mezi různými živočišnými druhy byly statisticky významné pouze u benzylpenicilinu a klindamycinu, s obecně nižší mírou rezistence u izolátů z malých přežvýkavců (tabulka 2). Většina izolátů byla citlivá vůči působení vankomycinu, metronidazolu a meropenemu, kde se celkově hodnocená rezistence pohybovala pod 10 % u izolátů od všech vyšetřených zvířat. Nejvíce izolátů bylo rezistentních pouze vůči jednomu antibiotiku (56,6 %), nejčastěji klindamycinu. Pouze 11 % kmenů bylo citlivých vůči všem testovaným antibiotikům. Na druhou stranu dva izoláty ze selat (1,5 %) vykazovaly rezistenci ke čtyřem antibiotikům (BEN-CLI-MER-MET a BEN-CLI-MER-PIT) a jeden izolát ze selete (0,7 %) dokonce rezistenci vůči pěti ze šesti testovaných antibiotik (BEN-CLI-MER-MET-VAN). Dalších 11 izolátů (6 bovinních, 5 porcinních, celkem 8,1 %) vykazovalo rezistentní profil BEN-CLI-PIT.

Při mezidruhovém srovnání rezistence lze konstatovat, že nejvyšší rezistenci vykazovaly izoláty porcinního původu, kde dominoval klindamycin, následovaný penicilinem. U izolátů bovinního původu byla situace podobná, u izolátů získaných z ovcí a koz byly počty rezistentních izolátů velmi nízké (tabulka 2).

Izoláty CP byly testovány pouze na antibiotika, pro který Evropský výbor pro testování antimikrobiální citlivosti stanovil breakpointy a která se používají v humánní medicíně pro léčbu klostridiových infekcí. U humánních infekcí je lékem první volby penicilin v kombinaci s klindamycinem ve vysokých koncentracích, dále lze použít metronidazol. U pacientů, kteří mají alergii na betalaktamová antibiotika je lékem první volby klindamycin (Fu et al., 2022).

Tabulka č. 2: Počet rezistentních izolátů *Clostridium perfringens*

	Prase domácí N = 70	**Tur domácí N = 54**	**Ovce a kozy N = 12**	**Celkem N = 136**
Benzylpenicilin	17 (24,3 %)[a]	23 (42,6 %)[b]	1 (8,3 %)[a]	41 (30,1 %)
Klindamycin	63 (90,0 %)[a]	44 (81,5 %)[ab]	7 (58,3 %)[b]	114 (83,8 %)
Meropenem	4 (5,7 %)	2 (3,7 %)	0	6 (4,4 %)
Metronidazol	2 (2,9 %)	1 (1,9 %)	0	3 (2,2 %)
Piperacilin-Tazobaktam	8 (11,4 %)	10 (18,5 %)	0	18 (13,2 %)
Vankomycin	1 (1,4 %)	0	0	1 (0,7 %)

Písmena [a,b] značí statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) v poměru rezistentních a citlivých kmenů.

Ve veterinární medicíně se pro léčbu průjmových onemocnění telat, selat i drůbeže používají nejvíce amoxicilin a penicilin (Smola a kol., 2022). Z pohledu četnosti použití penicilinu pro léčbu klostridiových infekcí lze očekávat, že rezistence bude u tohoto antibiotika nejčastější. Ve studii prováděné na izolátech z chovů prasat v České republice byla zjištěna vysoká míra rezistence vůči penicilinovým antibiotikům (rezistence vůči penicilinu 46 %) a klindamycinu (30 %) (Nedbalcová a Zouharová, 2018). Vysoká rezistence vůči penicilinu (64 %) byla zjištěna též v Rumunsku u prasat a telat (Beres et al., 2023). Výsledky naší studie však do popředí staví klindamycin s nejvyšší četností rezistence u izolátů získaných z prasat (90 %). Klindamycin patří mezi linkosamidy, ve veterinární medicíně se používá přednostně u malých zvířat, a to pro léčbu infekcí dutiny ústní, ran, abscesů, kostí a kloubů. Hospodářská zvířata se klindamycinem běžně neléčí, použití metronidazolu je u potravinových zvířat dokonce zakázáno (Papoušková a kol., 2020). Zvyšující se rezistence vůči penicilinům a klindamycinu je dlouhodobým trendem i u humánních izolátů (Gajdács et al., 2017).

Přenos rezistence prostřednictvím mobilních genetických elementů a konjugovaných plazmidů mezi různými kmeny CP, případně i mezi různými bakteriálními druhy je známý, ovšem u CP zatím nedostatečně publikovaný. Anaerobní bakterie jsou přirozeně rezistentní k aminoglykosidům, polymyxinům a některým fluorochinolonům. *C. perfringens* vykazuje rezistenci i vůči tetracyklinům, chloramfenikolu, bacitracinu a linkosamidům (Adams et al., 2018; Garcia Vela et al., 2023). Potvrzení přítomnost genů odpovědných za rezistenci vůči linkomycinu (skupina *lnu*) molekulárními metodami by vysvětlilo vysokou míru rezistence vůči klindamycinu a bude tak předmětem dalšího výzkumu.

Přímé srovnání výsledků této studie s jinými publikovanými údaji je obtížné. Celá řada autorů používá americkou metodiku CLSI (*Clinical and Laboratory Standard Institute*, USA)

nikoli EUCAST, kde se pracuje s jinými koncentracemi antibiotik, upřednostněno je stanovení minimálních inhibičních koncentrací diluční metodou a pro anaerobní bakterie je k dispozici pouze jednotné schéma vyhodnocení. Opomenout nelze ani rozdílný původ testovaných kmenů, kde je nutné přihlédnout k historii použití antibiotik u potravinových zvířat vhledem k jejich cenové dostupnosti a profylaktickému způsobu podání.

ZÁVĚR

V práci jsou shrnuty údaje o zjištěné fenotypové rezistenci izolátů CP vůči skupině šesti antibiotik. Přítomnost izolátů CP rezistentních k antibiotikům používaným pouze v humánní medicíně (MET), či s velmi omezeným použitím u zvířat (CLI) potvrzuje šíření bakterií celým potravinovým i krmivovým řetězem. Monitoring rezistence dostupnými a rychlými metodami u lidí i zvířat a především prevence dalšího šíření rezistentních kmenů bakterií musí být prioritou ve společné strategii boje a prevence vzniku a šíření rezistence u původců zoonóz.

PODĚKOVÁNÍ

Práce vznikal za finanční podpory projektu NAZV QK22010086 (Multiplexní detekce a identifikace genů zodpovědných za antimikrobiální rezistenci a produkci toxinů u významných bakteriálních agens v potravinách).

POUŽITÁ LITERATURA

1. ADAMS, V. et al. Antibiotic resistance plasmid and mobile genetic elements of *Clostridium perfringens*. In *Plasmid*. 2018, vol. 99, p. 32-39.
2. BERES, C. et al. Prevalence and Characterisation of *Clostridium perfringens* Isolates in Food-Producing Animals in Romania. In *Microorganisms*. 2023, vol. 11, no. 6, 1373.
3. BUTAYE, P. et al. Antimicrobial Growth Promoters Used in Animal Feed: Effects of Less Well Known Antibiotics on Gram-Positive Bacteria. In *Clinical Microbiology Reviews.* 2003, vol. 16, no. 2, p. 175-188.
4. EUCAST. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 14.0, 2024. http://www.eucast.org
5. FU, Y. et al. *Clostridium perfringens*-Induced Necrotic Diseases: An Overview. In *Immuno.* 2022, vol. 2, p. 387-407.
6. GAJDÁCS, M., et al. Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria: Rubik's Cube of Clinical Microbiology? In *Antibiotics* 2017, vol. 6, no. 4, 25.

7. GARCIA VELA, S. et al. Pathogenicity and Antibiotic Resistance Diversity in *Clostridium perfringens* Isolates from Poultry Affected by Necrotic Enteritis in Canada. In *Pathogens*. 2023, vol. 12, 16 p.
8. ISHII, S. Ecology of Pathogens and Antibiotic-resistant Bacteria in Environments: Challenges and Opportunities. In *Microbes. Environ.* 2019, vol. 34, no. 1, p. 1-4.
9. KIRBIS, A., KRIZMAN, M. Spread of antibiotic resistant bacteria from food of animal origin to humans and vice versa. In *Procedia Food Science*. 2015, vol. 5, p. 148 – 151.
10. NEDBALCOVÁ, K., ZOUHAROVÁ, M. Rezistence izolátů *Clostridium perfringens* typ A z chovů prasat v ČR k vybraným antimikrobikům. In *Veterinářství.* 2018, roč. 68, č. 9, s. 640-644.
11. SMOLA, J. a kol. *Volby antimikrobiálních látek pro racionální léčbu infekčních onemocnění hospodářských zvířat (skotu, prasat a drůbeže).* Certifikovaná metodika. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2022, 46 s. ISBN 978-80-7403-284-4
12. PAPOUŠKOVÁ, A. a kol. *Vybrané kapitoly z veterinární bakteriologie II.: antimikrobiální rezistence, gramnegativní bakterie*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2000, 194 s. ISBN 978-80-7305-917-0
13. URBAN-CHMIEL, R. et al. Antibiotic Resistance in Bacteria-A Review. In *Antibiotics*. 2022, vol. 11, p. 1079-1119.

Kontaktní adresa: Svobodová Irena, Department of Animal Origin Food & Gastronomic Sciences, University of Veterinary Sciences Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Czech Republic; E-mail: svobodovai@vfu.cz

OVPLYVNENIE HLADÍN PROZÁPALOVÉHO CYTOKÍNU IL-1 PO APLIKÁCII PROBIOTICKÉHO KRMIVA U PSTRUHOV DÚHOVÝCH INFIKOVANÝCH *AEROMONAS SALMONICIDA*

THE EFFECT OF PROBIOTIC FEED ON THE LEVELS OF PROINFLAMMATORY CYTOKINE IL-1 IN RAINBOW TROUT INFECTED WITH *AEROMONAS SALMONICIDA*

Chomová Natália [1], Ratvaj Marek [1], Cingeľová Maruščáková Ivana [1], Popelka Peter [2], Koščová Jana [1], Žitňan Rudolf [3], Palíková Miroslava [4], Mareš Jan [5], Faldyna Martin [6], Mudroňová Dagmar [1]

[1]Katedra mikrobiológie a imunológie, UVLF, Košice, SR;

[2]Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, UVLF, Košice, SR;

[3]Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra, SR;

[4]Ústav ekologie a chorob zoozvířat, zvěře, ryb a včel, Veterinární univerzita Brno, ČR;

[5]Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, Mendelova univerzita, Brno, ČR;

[6]Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno, ČR

ABSTRACT

The objective of the project was to study the impact of the introduction of an autochthonous probiotic strain *Lactobacillus plantarum* R2 BiocenolTM CCM 8674 (new nom. *Lactiplantibacillus plantarum*) on the expression of the selected immunological molecules in rainbow trout during the infection. Fish were divided into two groups, both infected with *Aeromonas salmonicida* through the immersion bath. One group received probiotic feed for 11 weeks, while the other group was given commercial food as a control. In the 7th week, infection was induced and samples for the analysis of the gene expression were collected from the spleen, head kidney, distal intestine, skin, and gills in the 8th and 10th week. After quantifying the gene expression of the pro-inflammatory IL-1 cytokine, we observed a significant down-regulation of this cytokine in all organs except for the skin. In the second sampling, there was an unexpected increase in transcriptional levels in the head kidney, but all other organs showed a trend of decreasing mRNA levels similar to the first sampling. It can be concluded that the addition of probiotics to feed can significantly modulate the immune response and reduce the progression of infection. Probiotic supplementation can regulate pro-inflammatory molecules, indicating potential for preventing diseases and modulating immune response in aquaculture during periods of stress.

Key words: rainbow trout, probiotics, immunomodulation, aquaculture, furunculosis

ÚVOD

Zvyšujúci sa dopyt po živočíšnych bielkovinách pochádzajúcich z akvakultúry súvisí s nárastom počtu obyvateľstva a vyúsťuje do stáleho zintenzívňovania chovu rýb (Tong *et al*., 2019, Shen *et al*. 2020). Tento trend však prínaša so sebou mnohé úskalia a nástrahy tákajúce sa udržania kvality vody, dostatočných podmienok pre chov, avšak najmä profylaxie a liečby chorôb v akvakultúre (Asche *et al.* 2022). Zvýšená komerčná produkcia rýb je výsledkom nárastu ekonomického tlaku na chovateľov. Aby bol svetový trh, produkcia a celkový dopyt uspokojený je potrebné pochopiť fyziológiu a patofyziológiu imunity u rýb (Zhao *et al.* 2020). Antibiotiká zastávajú popredné miesta v liečbe a prevencií bakteriálnych infekcií vyskytujúcich sa v akvakultúre. Ich neúvažená, nadbytočná a neopodstatná aplikácia však vedie k vývoju ďalších rezistentných kmeňov, šíreniu antibiotickej rezistencie a má negatívny environmentálny dopad. Všetky tieto faktory viedli k eliminácii a zákazu používania antibiotík v akvakultúre v mnohých krajinách (Gupta *et al*. 2021). Z dôvodu obrovských strát spôsobenými mnohými ochoreniami je bezodkladné nájsť alternatívne riešenie v tejto oblasti. Perspektívnymi sa zdajú byť imunostimulátory prírodného pôvodu, ktoré okrem eliminácie šírenia antibiotickej rezistencie majú schopnosť zlepšovať vlastnosti okolitého prostredia. Ich aplikácia pôsobí stimulačne na odolnosť voči patogénom, podporujú imunitnú odpoveď a potláčajú zápalové procesy v tele. Ich rastúcu popularitu vo vedeckom svete podporuje skutočnosť, že sú ľahko dostupné a pri ich aplikácii nedochádza k vedľajším účinkom (Beltrán, Esteban 2022).

MATERIÁL A METODIKA

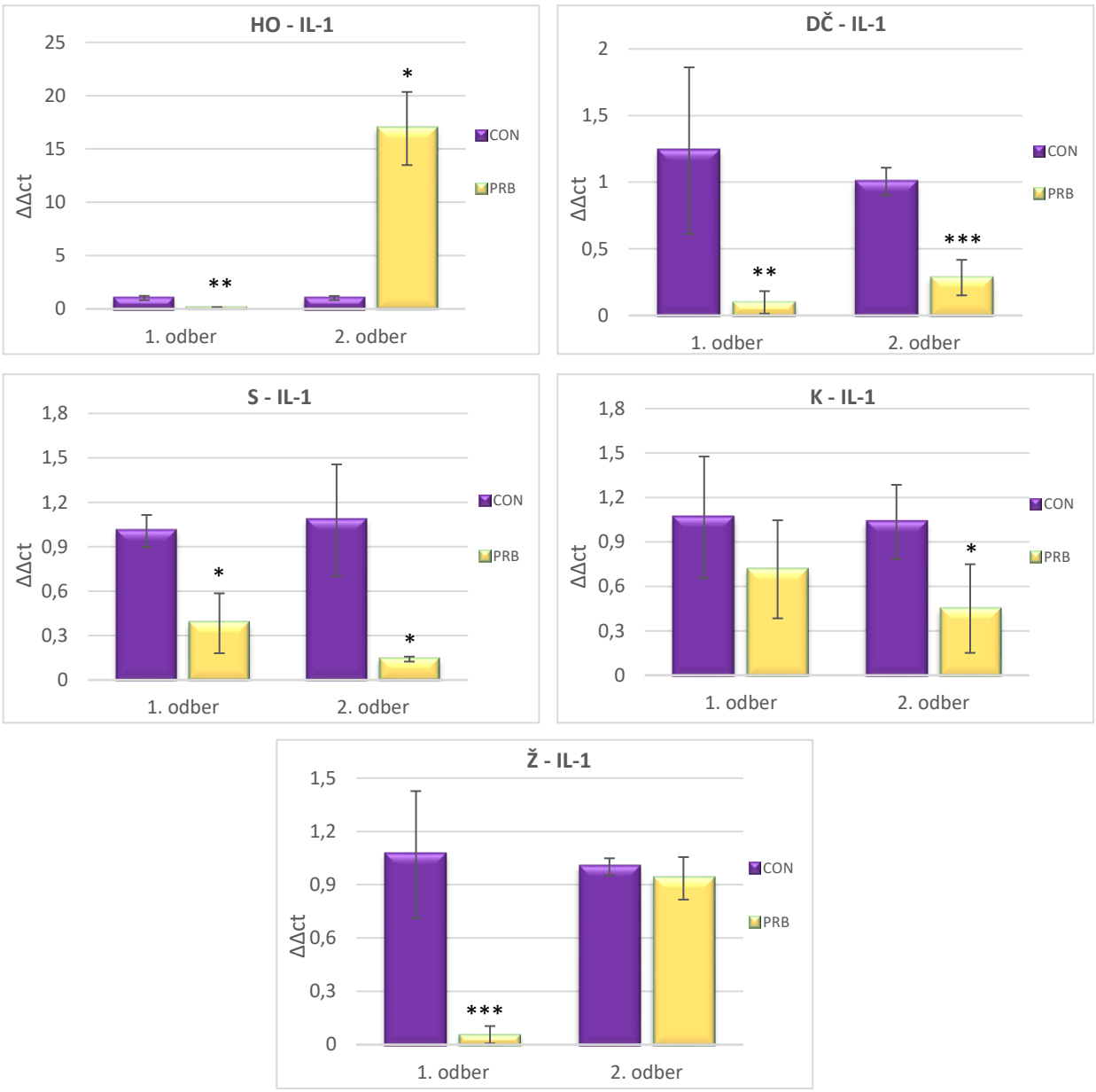
Úvod experimentu prebiehal na Ústave zoológie, rybárstva, hydrobiológie a včelárstva na Mendelovej univerzite v Brne, kde bolo privezených 600 jedincov juvenilných pstruhov dúhových (Oncorhynchus mykiss) s priemernou hmotnosťou 77,74 g ± 0,39 g. Ryby boli rozdelené do tankov s objemom 1000 litrov a vlastným recirkulačným systémom biofiltračným systémom (Nexus 31O EvolutionAqua). Aklimatizácia prebieha 14 dní a následne boli ryby rozdelené do kontrolnej (CON) a probiotickej skupiny (PRB). Probioticka skupina počas celej dĺžky experimentu (11 týždňov) prijímala pripravené komerčné krmivo EFICO Enviro 921 3mm (BioMar, Denmark) obalené aerosilom a škrobovým hydrogélom s prídavkom kmeňa *L.plantarum* R2 Biocenol™. Kontrolná skupina bola kŕmená komerčným krmivom bez prídavku probiotík. Po siedmych týždňoch boli ryby prevezené do akreditovaného zariadenia na Ústav ekológie a chorôb zoozvierat, zvery, rýb a včiel na Fakulte veterinárnej hygieny a ekológie, Veterinárnej univerzity v Brne, kde bola uskutočnená infekcia rýb 30 minútovým ponorom do kúpeľa *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* s koncentráciou $7{,}33 \times 10^5$ /1 ml. Po omráčení rýb úderom do

hlavy, preťatí miechy a vykrvení, prebehla pitva jednotlivých rýb. Pre analýzu génovej expresie boli odobratých 8 vzoriek z kože, žiabier, hlavovej obličky, distálneho čreva a sleziny v ôsmom a desiatom týždni experimentu. Zo vzoriek bola následne izolovaná RNA pomocou komerčného kitu a spektofotometricky overená koncentrácia a čisota pomocou prístroja Nanodrop. Po prepísaní vzoriek do cDNA bola PCR vykonávaná využitím CFX Manager Software (CFX Manager version 2.0, BioRad, Hercules, CA, USA). Relatívna génová expresia bola vyhodnotená prostredníctvom $2^{-\Delta\Delta CT}$ metódy a výsledky boli vyjadrené ako priemer vzoriek ± štandardná odchýlka (SD). Štatistická analýza bola vykonaná nepárovým T-testom použitím programu GraphPad Prism.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Ako ukazujú výsledky Dang *et al.* (2022) a El-Kady *et al.* (2022) génová expresia rôznych interleukínov a ďalších molekúl figurujúcich v imunitnej odpovedi sa líši v závislosti od tkaniva. Výrazné zníženie transkripčných hladín pre IL-1 bolo zaevidované pri prvom infekčnom odbere v hlave obličky a žiabrach v probiotickej skupine v porovnaní s kontrolnou skupinou. Avšak, po troch týždňoch od infekcie bol v hlave obličky u rýb suplementovaných probiotikami zaznamenaný nečakaný nárast expresie mRNA hladín pre IL-1. Prekvapivé prudké zvýšenie hladiny IL-1 v hlave obličky v druhom odbere v našej štúdii však koreluje s výsledkami Jinendiran *et al.* (2019), ktorí taktiež po probiotickej suplementácii a následnej infekcii *A. salmonicida* zaznamenali zvýšenie hladín tohto cytokínu. Z nižšie uvedených grafov vyplýva, že v slezine, ako aj v distálnom čreve došlo k signifikantnej down-regulácii IL-1 v prípade oboch odberov. V koži bol pozorovaný podobný trend v prvom infekčnom odbere, avšak po troch týždňoch bolo zaznamenané štatisticky významné zníženie transkripčných hladín cytokínu IL-1. Transkripčné hladiny mRNA pre IL-1 vykazovali v probiotickej skupine vo všetkých orgánoch a odberoch podobný trend poklesu, čo naznačuje tlmenie silnej zápalovej reakcie po infekcii, keďže táto molekula je považovaná za silne prozápalovú (Sakai, Hikima, Kono 2021). Toto tvrdenie podporujú aj výsledky ďalších skúmaných cytokínov a imunologicky významných molekúl.

Obrázok č. 1, Relatívna génová expresia molekuly IL-1 v hlave obličky (HO), distálnom čreve (DČ), slezine (S), koži (K) a žiabroch (Ž). Hladiny štatistickej významnosti sú označené hviezdičkami (* - p<0,05, ** - p<0,01, * - p<0,001)**



ZÁVER

Z pozorovania imunomodulačnej aktivity probiotického prípravku po infekcii patogénom *Aeromonas salmonicida*, sústredeného na expresiu prozápalového IL-1, ktorý pôsobí ako jeden z najhlavnejších mediátorov zápalu vyplýva, že prídavok probiotík do krmiva môže potláčať zápalovú reakciu a modulovať celkovú imunitnú odpoveď s čím korešpondujú aj ďalšie získané výsledky. Túto hypotézu je však nevyhnutné overiť priamo v chovných zariadeniach a vyhodnotiť jej zdravotný a ekonomický prínos pre rybárov. Práve z tohto dôvodu bude nasledujúca časť in vivo experimentov realizovaná priamo vo farmovom chove.

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. TONG, J. et al. Microbial community evolution and fate of antibiotic resistance genes along six different full-scale municipal wastewater treatment processes, In Bioresource Technology. [online]. 2019, vol. 272 [cit. 2023-12-21]. Dostupné na internete: <doi: 10.1016/j.biortech.2018.10.079> p. 489-500
2. SHEN, X. *et al.* Prevalence and distribution analysis of antibiotic resistance genes in a large-scale aquaculture environment, In *Science of The Total Environment*. [online]. 2020, vol. 711, no. 134626 [cit. 2023-12-21]. Dostupné na internete: <doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.134626>
3. ASCHE, F. *et al.* Aquaculture: Externalities and policy options, In *Review of Environmental Economics and Policy*, [online]. 2022, vol. 16, no. 2 [cit. 2023-12-21]. Dostupné na internete: <https://www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1086/721055>
4. ZHAO, Y. *et al.* Antibiotic resistome in the livestock and aquaculture industries: Status and solutions, In *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, [online]. 2020, vol. 51, no. 19 [cit. 2023-12-21]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1080/10643389.2020.1777815>
5. GUPTA, A. *et al*. Immunomodulation by dietary supplements: A preventive health strategy for sustainable aquaculture of tropical freshwater fish, *Labeo rohita* (Hamilton, 1822), In *Reviews in Aquaculture* [online]. 2021, vol 13, no. 4 [cit. 2021-12-14]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1111/raq.12581> p. 2364 – 2394
6. BELTRÁN, J.M.G., ESTEBAN, M. Á. Nature-identical compounds as feed additives in aquaculture. In *Fish & Shellfish Immunology*, [online]. 2022, vol. 123 [cit. 2023-12-21]. Dostupné na internete: <doi: 10.1016/j.fsi.2022.03.010> p. 409-416
7. DANG, Y. *et al.* Effects of probiotics on growth, the toll-like receptor mediated immune response and susceptibility to *Aeromonas salmonicida* infection in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, In *Aquaculture* [online]. 2022, vol. 561, no. 73668 [cit. 2024-02-28]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738668>
8. EL-KADY, A.A. *et al.* The effects of some commercial probiotics as water additive on water quality, fish performance, blood biochemical parameters, expression of growth and immune-related genes, and histology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), In

Aquaculture [online]. 2022, vol. 546, no. 737249 [cit. 2024-02-28]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737249>

9. JINENDIRAN, S. *et al.* Modulation of innate immunity, expression of cytokine genes and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* infection in goldfish (*Carassius auratus*) by dietary supplementation with *Exiguobacterium acetylicum* S01, In *Fish & Shellfish Immunology* [online]. 2019, vol. 84 [cit. 2024-02-28]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.10.026> p. 458 – 469
10. SAKAI, M. – HIKIMA, J. – KONO, T. Fish cytokines: current research and applications, In *Fisheries Science* [online]. 2021, vol. 87 [cit. 2024-02-28]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1007/s12562-020-01476-4> p. 1 – 9

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

VÝSKYT BIOGÉNNYCH AMÍNOV V TEPELNE OŠETRENOM MÄSE KAPRA RYBNIČNÉHO

OCCURRENCE OF BIOGENIC AMINES IN HEAT-TREATED MEAT OF COMMON CARP

Jakabová Silvia [1], Árvay Július [1], Benešová Lucia[2], Golian Jozef [1]

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

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

ABSTRACT

Biogenic amines, organic compounds present in a variety of foods such as fish, originate from the breakdown of amino acids during fish spoilage, significantly affecting food quality and potentially endangering consumers' health. Elevated levels of these amines often signal poor fish quality and health hazards upon consumption. In a study involving common carp (*Cyprinus carpio*), fish fillets were subjected to heat treatment and freeze storage to explore the impact of processing methods on biogenic amine levels. Using the HPLC-DAD method with pre-column derivatization involving dansyl chloride, four distinct biogenic amines were identified in the samples, with spermidine being the most abundant, followed by putrescine, spermine, and tyramine. The concentrations of putrescine and spermidine in fresh carp fillets were measured at 2.80±0.06 mg.kg^{-1} DW and 15.23±0.10 mg.kg^{-1} DW, respectively, with an increase observed after one month of storage in freezer, accompanied by the presence of spermine. Freeze storage and baking had impact on increase of tyramine occurrence. Statistical analysis using Tukey pairwise test revealed significant differences among the experimental variants ($P<0.05$). Consequently, further experimental exploration is warranted to monitor biogenic amine trends in processed freshwater fish products.

Key words: common carp, heat-tratment, freeze-storage, biogenic amines, HPLC-DAD

ÚVOD

Biogénne amíny sú organické zlúčeniny, ktorých prítomnosti vo výžive sa dostáva relatívne veľa pozornosti. Nízke koncentrácie biogénnych amínov sú prirodzenou charakteristikou mnohých potravín, kde sa vyskytujú ako prirodzené metabolické produkty alebo intermediáty. Najčastejšie vznikajú relevantnou dekarboxyláciou aminokyselín v enzýmových reakciách tkanív alebo mikrobiálneho charakteru (Kalač, Křížek, 2002; Velíšek, 2002). Vyššie koncentrácie BA možno nájsť v fermentovaných potravinách, ako sú syry,

trvanlivé klobásy, pivo, víno, kyslá kapusta atď. (Velíšek, 2002). V niektorých nefermentovaných potravinách je prítomnosť a obsah biogénnych aminov predovšetkým ukazovateľom kvality pôvodného materiálu/potraviny a štandardu hygienického reťazca, najmä počas skladovania. Okrem mnohých iných potravín to platí predovšetkým o rybách a rybích výrobkoch (Kalač, Křížek, 2002). Bakteriálny metabolizmus v rybom mäse vedie k produkcii biogénnych amínov. Histidín, lyzín a arginín sú prekurzory pre tvorbu histamínu, kadaverínu a putrescíne (Buňka et al., 2013). Konzumácia biogénnych amínov v nízkych koncentráciách nepredstavuje pre zdravého človeka veľké zdravotné riziko, ale v prípade vyšších koncentrácií môže nastať alimentárna intoxikácia (Bjornsdottir et al., 2009; Noori et al., 2018). Biogénne amíny, vrátane tryptamínu, tyramínu, histamín, putrescínu, kadaverínu, spermínu a spermidínu, sú nízkomolekulové zlúčeniny vznikajúce mikrobiálnou dekarboxyláciou aminokyselín. Stanovenie biogénnych amínov v potravinárskych výrobkoch má stálu pozornosť kvôli ich nežiaducim účinkom na človeka, ako napr. vyrážka, migréna, hypertenzia a hypotenzia (Brinket al., 1990; Jiang et al., 2023). Okrem toho sa považujú polyamíny ako potenciálne prekurzory karcinogénnych nitrozamínov (Karovičová, Kohajdová, 2005).

Kapor rybničný (*Cyprinus carpio*) je jedným z najviac konzumovaných druhov rýb v strednej Európe. Je obľúbený pre svoje jemné a ľahko stráviteľné mäso s vysokou nutričnou hodnotou. Predáva sa čerstvý a mrazený v celku, filetovaný alebo nakrájaný na plátky. Mäso kapra je možné ďalej spracovávať a vyvíjať potravinárske produkty, čo rozširuje sféru využitia tejto suroviny (Křížek et al., 2015). Ako surovina je náchylný na rýchle kazenie (Noori et al., 2018). Koncentrácie biogénnych amínov v čerstvej rybe sú veľmi nízke, ich obsah sa zvyšuje v priebeh skladovania (Veciana-Nogués et al., 1997). Histamín a tyramín predstavujú najvyššie toxikologické riziko (Kordiovská et al., 2006).

Cieľom tejto práce bolo zistiť a porovnať koncentrácie vybraných biogénnych amínov a ich variabilitu v mäse kapra rybničného po tepelnom ošetrení a skladovaní mrazením.

MATERIÁL A METODIKA

Na experiment boli použité vzorky kapra rybničného (*Cyprinus carpio*), odchované na Slovensku, predajca METRO Cash & Carry SR s.r.o. Pre analýzu sa použili 2 jedince o hmotnosti 2000g rovnakého veku, pitvané, chladené, z ktorých analyzovali filety bez kože v jednotlivých variantoch tepelných úprav a skladovania. Experimentálne varianty boli nasledovné: *čerstvé* - filety čerstvé, spracované v deň, keď boli dodané (13.11.2023), vzorky boli následne lyofilizované (teplota -50°C, tlak max. 0,05 mBar); *pečené* - tepelná úprava čerstvej svaloviny pečením pri 180°C po dobu 15 min. Vzorky boli vo vreckách na pečenie uzatvorené celú dobu pečenia. Následne boli vzorky po ochladení lyofilizované; *mrazené 1*

mesiac - uskladnenie čerstvej svaloviny mrazením vo vákuovaných sáčkoch pri teplote -18°C po dobu 1 mesiaca, následne boli vzorky lyofilizované; *mrazené 3 mesiace* - uskladnenie čerstvej svaloviny mrazením vo vákuovaných sáčkoch pri teplote -18°C po dobu 3 mesiaca, následne boli vzorky lyofilizované.

Stanovenie biogénnych amínov prebehlo podľa procedúry a podmienok stanovenia publikovanej v práci Jakabová et al. (2023) s miernou modifikáciou, pričom navažoval sa homogenizovaný lyofilizovaný materiál v množstve 2,0000±0,0001 g. V skratke: zo vzoriek sa pripravil supernatant, ktorý sa zalkalizoval a derivatizoval pomocou danzylchloridu, nasledovala inkubácia, extrakcia kvapalina-kvapalina pomocou heptánu, odparenie a rekonštrukcia v mobilnej fáze – acetonitril. Analýza bola metódou HPLC-DAD na prístroji Agilent 1260 Infinity II (Agilent Technologies, Nemecko), na separáciu sa využila kolóna Zorbax Eclipse XDB C18 150 mm x 3,0 mm x 3,5 um (Agilent Technologies, USA) s predkolónou Agilent EC-C18 30 mm x 4,6 mm x 2,7 um (Agilent Technologies, USA) pri prietoku 0,6 $ml.min^{-1}$ mobilnej fázy - voda a acetonitril pri gradientovej elúcii, zber údajov prebehol pri 254 nm. 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 (Hammer et al., 2001). Úroveň štatistickej významnosti bola stanovená na $p < 0,05$ pre všetky analyzované biogénne amíny.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

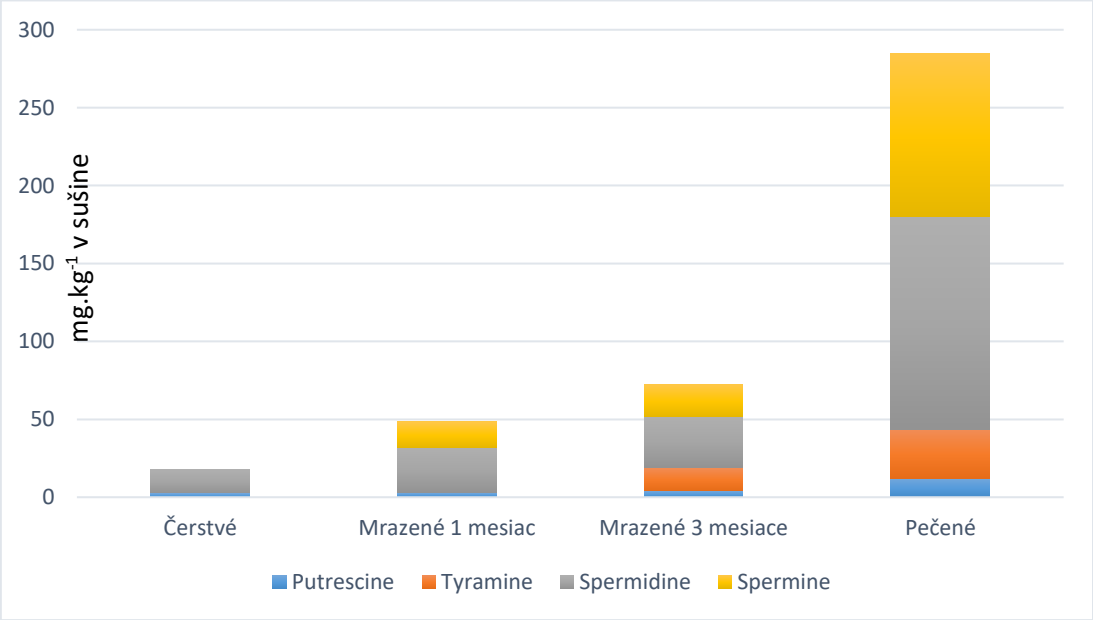
Sledovali sme vplyv skladovania mrazením a tepelného ošetrenia na koncentrácie biogénnych amínov v mäse kapra rybničného. Z 8 analyzovaných biogénnych amínov sme zistili zastúpenie putrescínu a spermidínu u všetkých experimentálnych variantoch, pričom koncentrácie stúpali s dĺžkou skladovania mrazením a tiež pri tepelnom ošetrení pečením. V čerstvých vzorkách mäsa kapra rybničného sme zistili detekovateľné a kvantifikovateľné koncentrácie len u putrescínu a spermidínu. Vo vzorkách skladovaných 1 mesiac mrazením bol zistený spermín a pri trojmesačnom skladovaní mrazením sme zaznamenali prítomný tyramín. Vzrast koncentrácie jednotlivých biogénnych amínov vzhľadom na dĺžku skladovania mrazením je možné vyjadriť cez lineárnu regresiu. Pre putrescín bol vypočítaný koeficient determinácie R=0,985, tyramín mal R=0,945, spermidín mal R=0,869 a spermín mal R=0,866. Grafické znázornenie vzrastu koncentrácie jednotlivých biogénnych amínov vzhľadom na dĺžku skladovania mrazením resp. vzhľadom na tepelné ošetrenie pečením uvádza obrázok 1. Sumárne štatistické hodnotenie všetkých vzoriek je uvedené v tabuľke 1.

Tabuľka č. 1, Sumárne štatistické hodnotenie všetkých experimentálnych variantov na obsah biogénnych amínov v mäse kapra rybničného

	Putrescín	Tyramín	Spermidín	Spermín
Počet pozitívnych nálezov	12	6	12	9
Min. (mg.kg^{-1})	2,75	14,7	15,1	16,3
Max. (mg.kg^{-1})	12,4	31,7	137,4	105,2
Priemerné koncentrácie (mg.kg^{-1})	5,61	23,2	53,3	47,4
SD (mg.kg^{-1})	4,08	8,97	50,5	43,2

Vzorky kapra rybničného ošetrené tepelne pečením boli po tepelnej úprave prevedené na lyofilizát a rovnako ako v lyofilizátoch pripravených z čerstvého mäsa resp. mäsa skladovaného mrazením boli tieto vzorky analyzované na obsah biogénnych amínov. U mäsa s tepelnou úpravou pečením sme zistili najvyššie koncentrácie biogénnych amínov v porovnaní s ostatnými experimentálnymi variantmi. Možno konštantovať, že tepelná úprava mala za následok vzrast koncentrácie vybraných biogénnych amínov, pričom celková suma biogénnych amínov vzrástla z pôvodného variantu čerstvej tepelne neupravenej svaloviny 18,02±0,11 mg.kg^{-1} na 179,9±1,52 mg.kg^{-1}, čo predstavuje takmer 10-násobný nárast.

Obrázok č. 1, Zastúpenie biogénnych amínov v experimentálnych variantoch v mäse kapra rybničného s tepelným ošetrením a skladovaním mrazením



Vzorky jednotlivých experimentálnych variantov vykazovali nárast biogénnych amínov, pričom rozdiely medzi variantmi boli významné medzi všetkými sledovanými variantmi v prípade spermidínu a spermínu. V prípade putrescínu a tyramínu neboli zaznamenané

štatistické rozdiely pre vzorky čerstvé vs. skladované 1 mesiac mrazením. V ostatných variantoch boli štatisticky významné rozdiely v obsahoch putrescínu a tyramínu. Výsledky štatistického porovnania jednotlivých experimentálnych variantov navzájom uvádza tabuľka 2.

Tabuľka č. 2, Štatistické porovnanie jednotlivých experimentálnych variantov v mäse kapra rybničného s tepelným ošetrením a skladovaním mrazením pre jednotlivé biogénne amíny

		Čerstvé	Mrazené 1 mesiac	Mrazené 3 mesiace	Pečené
Putrescín	Čerstvé		0,1897	5,13E-06	5,15E-14
	Mrazené 1 mesiac	-		2,11E-05	5,31E-14
	Mrazené 3 mesiace	***	***		2,56E-13
	Pečené	***	***	***	
Tyramín	Čerstvé		1	1,53E-13	5,06E-14
	Mrazené 1 mesiac	-		1,53E-13	5,06E-14
	Mrazené 3 mesiace	***	***		5,86E-14
	Pečené	***	***	***	
Spermidín	Čerstvé		4,97E-08	1,34E-08	5,06E-14
	Mrazené 1 mesiac	***		0,001638	5,06E-14
	Mrazené 3 mesiace	***	**		5,06E-14
	Pečené	***	***	***	
Spermín	Čerstvé		2,94E-10	9,65E-12	5,06E-14
	Mrazené 1 mesiac	***		1,23E-05	5,06E-14
	Mrazené 3 mesiace	***	***		5,06E-14
	Pečené	***	***	***	

Poznámka: číselné hodnoty vyjadrujú vypočítané p-hodnoty pre Tukeyov test; * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$

Vplyv rôznych teplôt skladovania (3 ± 2°C; 24 ± 1°C a –18 ± 1°C) na tvorbu biogénnych aminov v svalovine štyroch hybridných línií kapra (*Cyprinus carpio*) vzhľadom na mikrobiálnu kontamináciu bol skúmaný autormi Kordiovská et al. (2006). Autori uvádzajú podobne ako v našej štúdii detekovateľné množstvá v prípade putrescínu, spermidínu a spermínu, pričom histamín ani tyramín neboli v mäse kapra rybničného detekované ani po 3-mesačnom skladovaní mrazením. Autori odporúčajú súhrnnú hladinu putrescínu a kadaverínu ako najobjektívnejší indikátor kvality mäsa, ktorého obsah najlepšie koreluje s počtom rastúcich baktérií.

ZÁVER

Biogénne amíny boli prítomné už v čerstvom mäse a ich obsah sa počas skladovania zvyšoval v závislosti na dĺžke skladovania a vzrastal tiež s tepelným ošetrením pečením. Boli zistené najmä koncentrácie putrescínu, spermidínu, spermínu a tyramínu. Pri nižších skladovacích teplotách v súlade s požiadavkami legislatívy bol obsah biogénnych amínov v súlade s normami stanovené platnou legislatívou. Obsahy jednotlivých biogénneho amínov v mäse skladovanom mrazením počas 1 mesiaca sa nelíšili od hodnôt zistených v čerstvej svalovine. Celková suma biogénnych amínov vzrástla takmer 10-násobne pri tepelnom ošetrení pečením, avšak celkové koncentrácie biogénnych amínov neprekročili 200 $mg.kg^{-1}$. Histamín nebol zaznamenaný v žiadnom z experimentálnych variantov.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-22-0402, č. APVV-17-0508 a projektom VEGA 1/0239/21.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Bjornsdottir, K., Bolton, G. E., McClellan-Green, P. D., Jaykus, L. A., Green, D. P. Detection of gram-negative histamine-producing bacteria in fish: a comparative study. In. *Journal of Food Protection*, ISSN 0362-028X, 2009, vol. 72, no. 9, p. 1987-1991.
2. Buňka, F., Budinský, P., Zimáková, B., Merhaut, M., Flasarová, R., Pachlová, V., Kubáň, V., Buňková, L. Biogenic amines occurrence in fish meat sampled from restaurants in region of Czech Republic. In. *Food Control*, ISSN 0956-7135, 2013, vol. 31, no. 1, p. 49-52.
3. Hammer, Ø.; Harper, D.A.T.; Ryan, P.D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. In. *Palaeontologia Electronica*, ISSN 1094-8074, 2001, vo. 4, p. 9.
4. Jakabová, S., Árvay, J., Benešová, L., Zajác, P., Čapla, J., Čurlej, J., Golian, J. (2023). Evaluation of biogenic amines in goat and sheep cheeses of Slovak origin. In. *Journal of Microbiology, Biotechnology, and Food Sciences*, ISSN 1338-5178, 2023, vol. 13, no. 2, e10000.
5. Jiang, W., Xu, Y., Li, C., Dong, X., Wang, D. Biogenic amines in commercially produced Yulu, a Chinese fermented fish sauce. In. *Food Additives & Contaminants: Part B*, ISSN 1939-3210, 2014, vol. 7, no. 1, p. 25-29.
6. Karovičová, J., Kohajdová, Z. Biogenic amines in food. In. *Chemical papers*, ISSN 1336-9075, 2005, vol. 59, no. 1, p. 70-79.

7. Kordiovská, P., Vorlová, L., Borkovcová, I., Karpiskova, R., Buchtová, H., Svobodová, Z., Křížek, M., Vácha, F. The dynamics of biogenic amine formation in muscle tissue of carp (*Cyprinus carpio*). In. *Czech Journal of Animal Science*, ISSN 1212-1819, 2006, vol. 51, no. 6, p. 262.
8. Křížek M., Pavlíček T., Vácha F. Formation of selected biogenic amines in carp meat. In. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, ISSN 1097-0010, 2002, vol. 82, p. 1088–1093.
9. Křížek, M., Matějková, K., Dadáková, E., Spička, J., Vácha, F., Vrchotová, N. Changes in the content of biogenic amines and fatty acids in high pressure-processed carp flesh (*Cyprinus carpio*). In. *Journal of Food Protection*, ISSN 0362-028X, 2015, vol. 78, p. 8, p. 1592-1596.
10. Noori, S. M. A., Khanzadi, S., Fazlara, A., Najafzadehvarzi, H., Azizzadeh, M. Effect of lactic acid and ajwain (*Carum copticum*) on the biogenic amines and quality of refrigerated common carp (*Cyprinus carpio*). In. *LWT*, ISSN 0023-6438, 2018, vol. 97, p. 434-439.
11. Veciana-Nogués M.T., Mariné-Font A., Vidal-Carou M.C. Biogenic amines as hygienic quality indicators of tuna. Relationships with microbial counts, ATP-related compounds, volatile amines and organoleptic changes. In. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, ISSN 1520-5118, 1997, vol. 45, p. 2036–2041.
12. Velíšek J. Chemie potravin. vol. 3. OSSIS, Pelhřimov. 2002, p. 123–130.

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

LEPEK - NEBEZPEČÍ V POTRAVINÁCH

GLUTEN - HAZARDS IN FOODS

Javůrková Zdeňka, Tremlová Bohuslava

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

ABSTRACT

Food allergies affect up to 2.4% of consumers. The negative effects of allergen consumption may vary for individual allergens and consumers. For the protection of their health, it is necessary to carry out continuous monitoring of their presence in food in particular, if they are not indicated in the composition of the product. Between 2020 and 2024, according to the RASFF system, 231 foodstuffs were intercepted where the allergen was incorrectly declared or was not listed in the composition at all. Of the total, 19.05% of reports were related to gluten. Of these reports, the Czech Republic was listed as the country of origin only in two cases.

Key words: allergens, RASFF, food safety

ÚVOD

Zdravotní problémy spotřebitelů jsou v některých případech způsobeny alergeny nacházejícími se v potravinách. Podle vědeckých studií je prevalence alergií na potraviny 1,4 – 2,4 % (Schäfer et al., 2001). Jedním z nejčastějších alergenů rostlinného původu je pšeničná a sójová bílkovina. Tyto bílkoviny mohou vyvolat nežádoucí reakce v rozmezí od zažívacích potíží, respiračních problémů, kožních reakcí až po život ohrožující anafylaktický šok (Sicherer, 1999). Gliadin je složkou obilného proteinu lepku, který je zodpovědný za různé zdravotní potíže. Osoby trpící celiakií nebo alergií na lepek potřebují držet po celý život bezlepkovou dietu. Z tohoto důvodu je pro ně informace o přítomnosti lepku v potravině nezbytná (Rasmussen et al., 2022). Při celiakii dochází k poškození horní vrstvy sliznice tenkého střeva, což ovlivňuje normální vstřebávání dalších živin (Laube et al., 2011). Nepříznivé účinky gliadinu se u člověka vyskytují pouze u osob citlivých na pšeničné proteiny. U ostatních spotřebitelů tyto proteiny nezpůsobují žádné alergické reakce či jiné potíže. Výskyt potíží po konzumaci lepku je u 5 % až více než 30 % osob (Waga, 2004).

V nařízení Evropské komise č. 828/2014 jsou uvedena povolená tvrzení o nepřítomnosti či sníženém obsahu lepku v potravinách a jejich podmínky. Tvrzení „bez lepku“ lze použít pouze tehdy, neobsahuje-li potravina více než 20 mg/kg lepku. Tvrzení „velmi nízký obsah lepku“ lze použít pouze tehdy, pokud u potravin, jež sestávají z jedné nebo více složek

vyrobených z pšenice, žita, ječmene, ovsa nebo jejich kříženců, které byly speciálně zpracovány tak, aby v nich byl snížen obsah lepku, nebo tyto složky obsahují, činí obsah lepku v potravině ve stavu, v němž je prodávána konečnému spotřebiteli, nejvýše 100 mg/kg. Dále také jsou zde uvedeny dodatečné požadavky na potraviny obsahující oves (Evropská komise, 2014).

I přes veškerá omezení a kontrolu ve výrobě se stále setkáváme se záchytem potravin obsahujících lepek, který není na potravině deklarován. Tato práce se zaměřuje na výsledky kontrol a záchyt problematických potravin na trhu EU zapsaných do systému RASFF v letech 2020 až do současnosti.

MATERIÁL A METODIKA

Výsledky počtů oznámení nebezpečí v potravinách byly získány z „RASFF window“ a to v letech 2020 až dubna 2024 (dřívější data nejsou dostupná). Dále byly získané výsledky porovnány s výsledky uváděnými ve Zprávách o činnosti systému Rychlého varování pro potraviny a krmiva (RASFF) v České republice za roky 2020 až 2022.

Výsledky byly přepočítány na procenta pro jednotlivé skupiny a roky pro všechny členy systému RASFF a Českou republiku. Bylo sledováno, v jakých potravinách byl prokázán lepek bez uvedení této informace na obalu produktu.

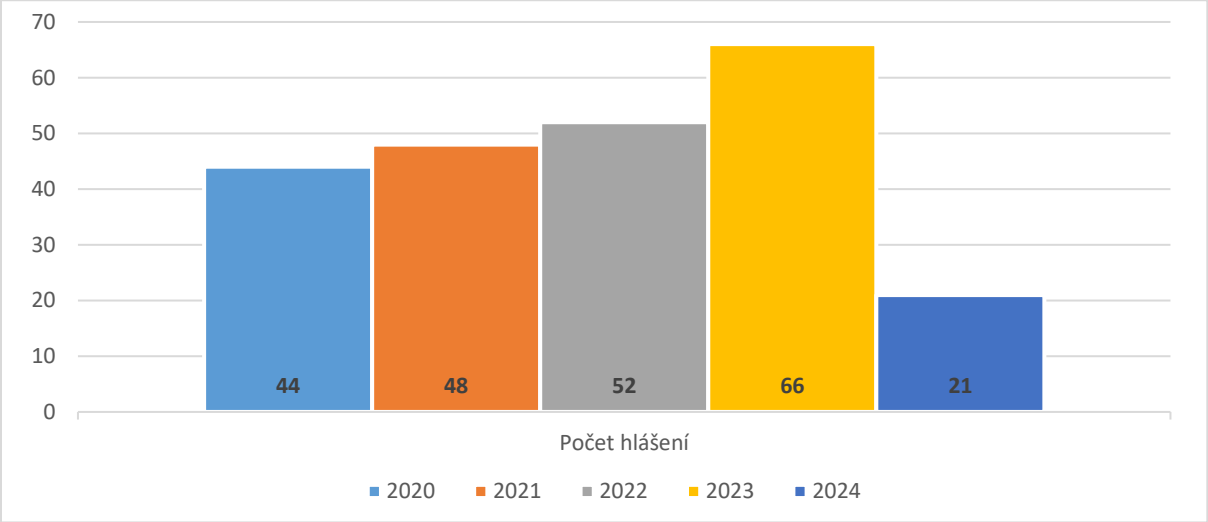
VÝSLEDKY A DISKUZE

V období 2020 až 2024 (duben) bylo v systému 231 hlášení o výskytu nedeklarovaných alergenů. V roce 2020 se 91 % hlášení v systému RASFF týkalo potravin, v roce 2021 90 % a v roce 2022 85 % (Fišnar, 2020; 2021; 2022). Počet hlášení v jednotlivých letech uvádí obrázek č. 1. Podíl jednotlivých alergenů v hlášeních v systému RASFF uvádí obrázek č. 2.

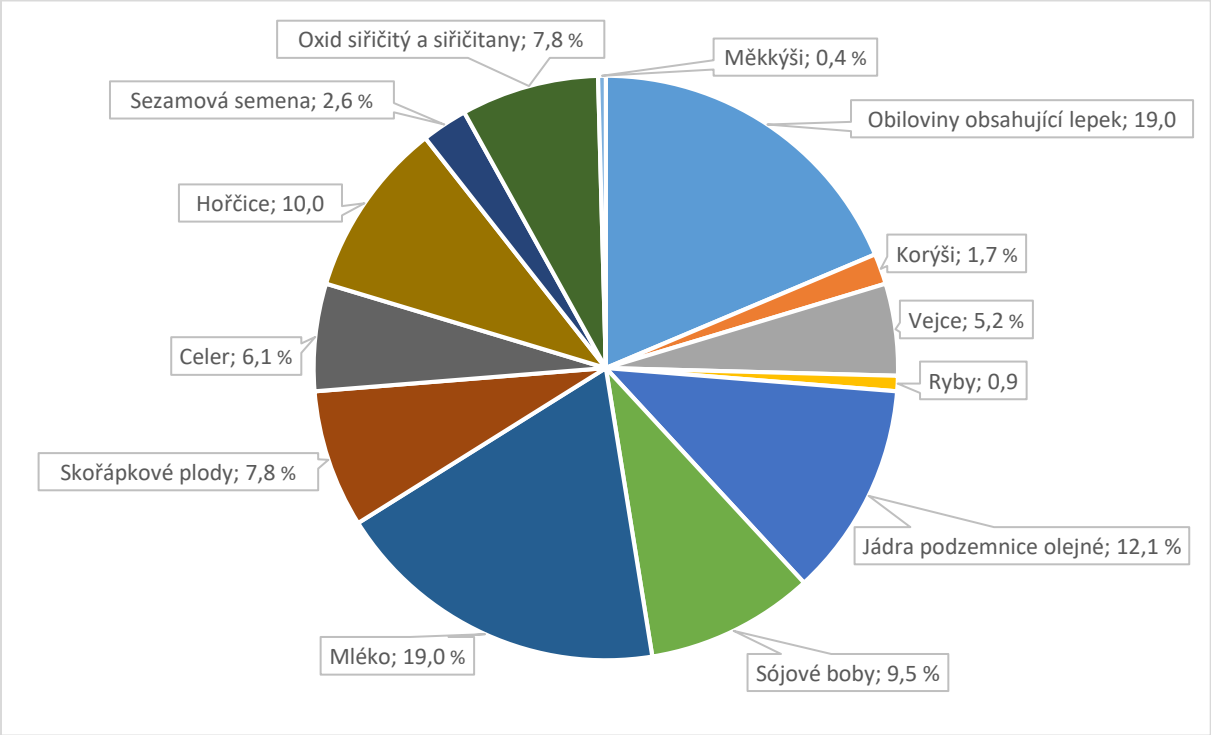
Dle hlášení v systému RASFF byly v uvedených letech zachyceny produkty se špatně nebo nedeklarovaným lepkem, s příliš vysokým obsahem lepku nebo se stopami lepku v různých skupinách potravin. Z celkového počtu hlášení nebezpečných potravin obsahujících špatně nebo nedeklarovaný alergen se 44 týkalo právě přítomnosti lepku v potravinách (19,05 %). V některých případech byly u zachycených potravin nalezeny i další alergeny. Například u hlášení týkajícího se směsi koření byla nalezena kromě lepku také hořčice a u jahod s čokoládovým krémem (Fragole con crema di Chocolate) bylo prokázáno nedeklarované kravské mléko, ořechy a sója.

Nedeklarovaný lepek byl uveden jako příliš vysoký obsah lepku v 36,36 %, stopy lepku ve 4,55 % a nedeklarovaný lepek 59,09 % hlášení.

Obrázek č. 1, Počet hlášení o nedeklarovaných alergenech v letech 2020 až duben 2024



Obrázek č. 2, Procentuální podíl alergenů v hlášeních týkajících se potravin v období 2020 až duben 2024



V roce 2020 byla zachycena zmrzlina s nedeklarovaným lepkem pocházející z České republiky, oznámení podalo Polsko (Fišnar, 2020). V roce 2021 bylo podáno další oznámení z Polska, kdy zemí původu byla Česká republika, tentokrát se týkalo nedeklarovaného lepku v bílé bezlepkové pohankové mouce (Fišnar, 2021).

ZÁVĚR

Zdravotní nezávadnost potravin je vždy nejdůležitější vlastností potravin. V některých případech dochází z ohrožení této vlastnosti přítomností nedeklarovaného alergenu v potravině. U některých potravin se jedná o nedeklarovaný lepek, vysoký obsah lepku a v některých případech se jedná o stopy lepku. Nejčastěji u alergiků dochází k zažívacím potížím, případně i k dalším, závažnějším zdravotním obtížím. Z tohoto důvodu je velice důležité provádět důkladnou kontrolu a zabránit, aby se takového zdravotně závadné potraviny dostali do tržní sítě a ke spotřebitelům.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce vznikla za podpory projektu Veterinární univerzity Brno č. 2024ITA25 (Vedlejší produkty rostlinného původu jako součást nových biodegradibilních/jedlých produktů pro ochranu životního prostředí a mechanismus ochrany zdraví před alergenními složkami potravin).

POUŽITÁ LITERATURA

1. EVROPSKÁ KOMISE. Prováděcí nařízení Komise (EU) č. 828/2014 - ze dne 30. července 2014, o požadavcích na poskytování informací o nepřítomnosti či sníženém obsahu lepku v potravinách spotřebitelům. *Úřední věstník L 228*, 31. 7. 2014, s. 5-8. Dostupné z: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=uriserv%3AOJ.L_.2014.228.01.0005.01.CES
2. FIŠNAR, J. *Zpráva o činnosti systému Rychlého varování pro potraviny a krmiva (RASFF) v České republice za rok 2020*. Praha: Ministerstvo zemědělství. 2021. Dostupné z: https://eagri.cz/public/portal/mze/potraviny/bezpecnost-potravin/system-rychleho-varovani-pro-potraviny ISBN 978-80-7434-623-1
3. FIŠNAR, J. *Zpráva o činnosti systému Rychlého varování pro potraviny a krmiva (RASFF) v České republice za rok 2021*. Praha: Ministerstvo zemědělství. 2022. Dostupné z: https://eagri.cz/public/portal/mze/potraviny/bezpecnost-potravin/system-rychleho-varovani-pro-potraviny ISBN 978-80-7434-663-7
4. FIŠNAR, J. *Zpráva o činnosti systému Rychlého varování pro potraviny a krmiva (RASFF) v České republice za rok 2022*. Praha: Ministerstvo zemědělství. 2022. Dostupné z: https://eagri.cz/public/portal/mze/potraviny/bezpecnost-potravin/system-rychleho-varovani-pro-potraviny ISBN 978-80-7434-726-9
5. LAUBE, T., KERGARAVAT, S. V., FABIANO, S. N., HERNÁNDEZ, S. R., ALEGRET, S., PIVIDORI, M. I. Magneto immunosensor for gliadin detection in

gluten-free foodstuff: Towards food safety for celiac patients. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2011, roč. 27, s. 46–52 [cit. 26. 3. 2024]. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.bios.2011.06.006

6. RASMUSSEN, S. N., VIGRE, H., MADSEN, C. B. Risk of consuming products with or without precautionary wheat or gluten labelling for persons with coeliac disease. *Food and Chemical Toxicology* [online]. 2022, roč. 166, s. 113231 [cit. 26. 3. 2024]. ISSN 0278-6915. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.113231
7. SCHÄFER, T., BÖHLER, E., RUHDORFER, S., WEIGL, L., WESSNER, D., HEINRICH, J., FILIPIAK, B ., WICHMANN, H. E., RING, J. Epidemiology of food allergy/food intolerance in adults: associations with other manifestations of atopy. *Allergy* [online]. 2001, roč. 56, č. 12, s. 1172–1179 [cit. 10. 4. 2024]. ISSN 1398-9995. Dostupné na: https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2001.00196.x
8. SICHERER, S.H., Food allergy: When and how to perform oral food challenges. *Pediatric Allergy and Immunology* [online]. 1999, roč. 10, č. 4, s. 226–234 [cit. 10. 4. 2024]. ISSN 1399-3038. Dostupné na: https://doi.org/10.1034/j.1399-3038.1999.00040.x
9. WAGA, J. Structure and allergenicity of wheat gluten proteins-a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* [online]. 2004, roč. 54, č. 4, s. 327–338 [cit. 26. 3. 2024]. ISSN 1230-0322. Dostupné na: http://journal.pan.olsztyn.pl/structure-and-allergenicity-of-wheat-gluten-proteins-a-review-,97806,0,2.html

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

VLIV MINERÁLNÍHO SLOŽENÍ PŮDY NA VLASTNOSTI MEDU

THE EFFECT OF SOIL MINERAL COMPOSITION ON HONEY PROPERTIES

Javůrková Zdeňka[1], Štarha Pavel[2], Schmidlová Simona[1], Tremlová Bohuslava[1], Pospiech Matej[1], Bartlová Marie[1]

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

[2] *Ústav matematiky – odbor počítačové grafiky a geometrie, Fakulta strojního inženýrství, Vysoké učení technické v Brně, Antonínská 548/1, 601 90 Brno, Česká republika*

ABSTRACT

Honey is a food of variable composition which is affected by various factors. One of the factors which may affect its composition is the soil type of the area where the honey comes from. The study tested the relationship between the mineral composition of 31 samples of authentic honey from the Czech Republic and data obtained from soil probes within the range of the bee habitat of the hive location (3 km). Both positive and negative correlations were confirmed between the compared parameters.

Key words: soil type, *Apis melifera*, calcium, potassium

ÚVOD

Med se skládá především z fruktózy, glukózy, vody, bílkovin, volných aminokyselin, minerálů, enzymů a vitamínů. Složení medu je variabilní a závisí především na květovém zdroji, geografickém původu, sezónních a environmentálních faktorech a metodách zpracování (Kek et al., 2017). Minerální látky se do medu dostávají transportem přes rostliny produkující nektar a jsou v medu stabilní po dlouhou dobu (Pohl, 2009; Chua et al., 2012).

Geografický původ medu souvisí nejenom s botanickými taxony charakteristickými pro danou oblast, ale také s typem půd, které se v dané oblasti vyskytují. Med je potravina, která je produkována bez přímého vlivu člověka na složení, proto by obsah minerálů v medu mohl odrážet obsah minerálů v půdě a v rostlinách v dané oblasti původu medu. Z tohoto důvodu se minerální profil medů používá na prokázání geografického původu medu. Důvodem je snadné stanovení celého profilu minerálních látek a snadná mineralizace vzorku (Chudzinska and Baralkiewicz, 2010).

Existují výzkumy, ve kterých autoři provedli klasifikaci medů podle obsahu minerálních látek. Tuzen et al. (2007) ve své studii sledovali obsah Cd, Pb, Fe, Mn, Cu, Ni, Cr, Zn, Al a Se

v medu různého botanického původu z Turecka. Jejich výsledky prokázaly korelace s botanickým a geografickým původem medu.

Cílem této práce bylo ověřit vztah mezi minerálním složením medu a složením půdy ve snůškové vzdálenosti jednotlivých stanovišť.

MATERIÁL A METODIKA

K hodnocení bylo použito 31 autentických vzorků medů z České republiky získaných od včelařů. Minerální profil medů byl vyšetřen atomovým absorpčním spektrometrem ICP-MS 7900 (Agilent, USA) podle normativního postupu STN EN 15763, UNI EN 13805, UNI EN 13804. Analyzovány byly minerální látky: B, Na, Mg, Al, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Pb, Cd, As. Mineralizace vzorků medu byla provedena mikrovlnným mineralizátorem D – 72800 (Berghof products, GER).

Charakteristika půdního profilu byla získána z aplikace "Komplexní průzkum půd" (KPP), což byl první moderní soustavný průzkum půd na území ČSSR, který proběhl v letech 1961–1970. Aplikace zobrazuje hlavní výstupy KPP převedené do digitální podoby. Pro hodnocení byla použita data získané ze sond v doletové vzdálenosti stanovišť (3 km), ze kterých byly získány vzorky medu.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Vztah mezi minerálním složením medu a půdy byl ověřen na základě korelace mezi hodnoty získanými z analýzy medu a z datových podkladů monitoringu půdního profilu v České republice. Výsledky jsou shrnuty v tabulce č. 1. Intenzita zelené barvy indikuje sílu vztahu těchto hodnot.

Jak je z tabulky č. 1 zřejmé, byla potvrzena pozitivní i negativní korelace mezi srovnávanými parametry. Překvapivý je výsledek obsahu Ca v medu, který nekoreluje s množstvím Ca v půdě (R=-0,18, $CaCO_3$). Neočekávaným výsledkem je také nepotvrzení vztahu obsahu K v půdě a K v medu (R=0,07, K_2O). Tento výsledek neodpovídá studii Jovetić et al. (2017), která prokázala negativní korelaci obsahu Ca a K v medu a půdě. Vliv na složení medu má spoustu faktorů, které jsou ovlivněny využitím půdy v daných lokalitách a také antropogenními faktory, které zřejmě natolik ovlivnily minerální složení medu a tím byla ovlivněna korelace mezi minerálním složením medu a půdy (Pospiech et al., 2024).

Tabulka č. 1, Korelace mezi minerálním složením medu a vybranými analytickými hodnotami půdy

Minerální látky	Org. uhlík v % (C_t)	Humus v % (C_t 1,724)	$CaCO_3$	pH akt. (H_2O)	pH vým. (KCL)	Titrační acidita mval/100 g	H^{+1}	S mval/100g	T mval/100g	V %	P_2O_5	K_2O
B	0,04	0,05	0,15	0,20	0,29	-0,27	-0,13	0,01	-0,11	0,06	0,14	0,12
Na	-0,15	-0,15	-0,25	0,05	-0,19	0,07	0,06	0,22	-0,10	0,03	-0,15	-0,07
Mg	**0,72**	**0,72**	-0,22	0,09	-0,19	0,26	**0,63**	-0,11	0,02	-0,26	0,05	0,17
Al	0,01	0,01	-0,10	0,11	0,05	-0,04	-0,09	0,11	0,23	0,13	0,14	-0,09
K	**0,36**	**0,36**	-0,34	-0,08	-0,27	0,23	**0,43**	-0,09	0,07	-0,01	-0,03	0,07
Ca	-0,32	-0,32	-0,18	-0,07	-0,10	0,02	-0,23	0,17	0,31	0,21	0,07	0,07
Cr	-0,30	-0,31	-0,01	-0,09	-0,17	0,12	-0,09	0,00	-0,01	0,29	-0,25	0,01
Mn	**0,54**	**0,54**	-0,26	0,11	-0,28	0,32	**0,54**	-0,22	-0,08	-0,16	0,05	0,03
Fe	0,06	0,06	-0,08	0,12	0,04	-0,04	-0,03	0,15	0,28	0,16	0,13	-0,02
Ni	**0,68**	**0,68**	-0,21	0,20	-0,29	**0,45**	**0,71**	-0,29	-0,15	-0,35	-0,13	0,08
Cu	**0,67**	**0,67**	-0,29	0,01	-0,20	0,24	**0,60**	-0,05	0,02	-0,28	-0,02	0,17
Zn	0,14	0,14	0,00	0,07	-0,03	0,09	0,15	-0,05	0,01	-0,05	-0,15	-0,07
Pb	-0,04	-0,04	-0,19	-0,17	-0,20	0,06	0,05	-0,03	0,02	-0,02	-0,03	-0,23
Cd	**0,61**	**0,61**	-0,17	0,07	-0,21	0,31	**0,56**	-0,19	-0,21	-0,20	-0,22	-0,03
As	**0,64**	**0,64**	-0,22	-0,03	-0,32	0,30	**0,65**	-0,22	-0,09	-0,22	-0,05	0,16

Vysvětlivky: tučně - statisticky významná korelace ($p < 0,05$)

Org. uhlík v % (C_t) …….	Obsah oxidovatelného uhlíku	H^{+1} …….	Výměnný vodík
Humus v % (C_t 1,724) …….	Obsah humusu	S mval/100g …..	Obsah výměnných bází
$CaCO_3$ …….	Obsah uhličitanů	T mval/100g …..	Maximální sorbční kapacita
pH akt. (H_2O) ……...	Aktivní půdní reakce pH/H_2O	V % ……	Stupeň sorbčního nasycení
pH vým. (KCL) ……...	Výměnná půdní reakce pH/KCl	P_2O_5 ……	Přijatelná kyselina fosforečná
Titrační acidita mval/100 g .	Spotřeba hydroxidu sodného při titraci zeminy	K_2O ……	Přijatelné draslo

ZÁVĚR

Silná korelační závislost byla potvrzena mezi minerálními látkami Mg, Ni, Cu, Cd, As obsaženými v medu a organickým uhlíkem, humusem v půdě a kyselostí. Korelace byla dále potvrzena mezi Mn, K v medu a organickým uhlíkem, humusem v půdě a kyselostí. Závislost mezi Ca v medu a $CaCO_3$ nebyla potvrzena a nebyla potvrzena ani závislost mezi K v medu a K_2O v půdě. Důvodem může být vstup těchto prvků do půdy lidskou činností, která je závislá na pěstovaných plodinách a jejich potřebách k minerálním látkám. Minerální látky, které neřadíme mezi základní nutrienty rostlin, a tedy nejsou využívány v podobě hnojiv, mají proto významnější vliv na určení geografického původu medu než minerální látky běžně používané jako hnojiva.

PODĚKOVÁNÍ

Projekt byl podpořen vládou České republiky, Maďarska, Polska a Slovenska grantovou agenturou Visegrad Grants z International Visegrad Fund. Název projekty: Sustainable Beekeeping in the Visegrad Group, číslo: 22220064.



POUŽITÁ LITERATURA

1. CHUA, L.S., ABDUL-RAHAMAN, N.L., SARMIDI, M.R., AZIZ, R. Multi-elemental composition and physical properties of honey samples from Malaysia. *Food Chemistry*. 2012, vol. 135, no. 3, p. 880-887.
2. CHUDZINSKA, M., BARALKIEWICZ, D. Estimation of honey authenticity by multielements characteristics using inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) combined with chemometrics. *Food and Chemical Toxicology*. 2010, vol. 48, no. 1, p. 284-290.
3. JOVETIĆ, M., TRIFKOVIĆ, J., STANKOVIĆ, D., MANOJLOVIĆ, D., MILOJKOVIĆ-OPSENICA, D. Mineral content as a tool for the assessment of honey authenticity. *Journal of AOAC International*. 2017, vol. 100, no. 4, p. 862-870.
4. KEK, S. P., CHIN, N. L., TAN, S. W., YUSOF, Y. A., CHUA, L. S. Classification of honey from its bee origin via chemical profiles and mineral content. *Food Analytical Methods*. 2017, vol. 10, p. 19-30.
5. POHL, P. Determination of metal content in honey by atomic absorption and emission spectrometries. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2009, vol. 28, no. 1, p. 117-128.
6. POSPIECH, M., LJASOVSKÁ, S., BARTLOVÁ, M., ČÍŽKOVÁ, H., KRUŽÍK, M., TITĚRA, D., PRUS, B., TREMLOVÁ, B. Vliv půdního pokryvu na základní parametry medů. *Bezpečnosť a kvalita potravín. Zborník vedeckých prác*. 2024, p. 174–151.
7. TUZEN, M., SILICI, S. İ. B. E. L., MENDIL, D., SOYLAK, M. Trace element levels in honeys from different regions of Turkey. *Food chemistry*. 2007, vol. 103, no. 2, p. 325-330.

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

FYZIKÁLNĚ CHEMICKÉ PARAMETRY MASNÝCH VÝROBKŮ JERKY

PHYSICOCHEMICAL PARAMETERS OF JERKY MEAT PRODUCTS

Ježek František, Kameník Josef, Dušková Marta, Veselá Helena

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

ABSTRACT

Jerky meat products are among the popular products in the snack group. The aim of this work was to compare the physico-chemical parameters of different types of jerky meat products purchased in the market of the Czech Republic. A total of 25 jerky samples were evaluated. The samples were measured for color and shear force, and pH, a_w, fat dry matter, protein and collagen were analyzed. Differences in the color parameters L^* - lightness and a^* - redness were found between the individual types of jerky. Differences were also found when analyzing shear force. No significant differences were found for the parameters pH, a_w, dry matter, fat, total protein, collagen. The differences found are due to the method of preparation, drying temperature, composition of the marinating mixture or the use of tenderizers and humectant.

Key words: dried meat, turkey, tenderness, quality, water activity

ÚVOD

Jerky patří mezi nejstarší masné výrobky, které lidé konzumují. Vyrábí se solením a sušením, vyznačuje se chutí a texturou a je pohodlným a zdravým snackem. Jeho zpracování je poměrně jednoduché a díky nízké aktivitě vody (a_w) nevyžaduje při jeho distribuci chlazení (Lim et al., 2014). Jerky se stalo populární a lze jej snadno nalézt v maloobchodech po celém světě. Snacky ze sušeného masa mají příznivé senzorické vlastnosti a dlouhou trvanlivost. Nejdůležitějšími senzorickými atributy jerky jsou jeho textura, barva a chuť. Více než 1 000 těkavých sloučenin vzniká v jerky při zahřívání a tyto sloučeniny pocházejí hlavně z oxidace lipidů a Maillardových reakcí. Maillardovy reakce se dramaticky zrychlují při teplotách nad 140 °C v důsledku dehydratace povrchu masa. Avšak pouze těkavé sloučeniny, jako jsou pyraziny, imidazoly, thiofeny a furany, hrají významnou roli v celkovém vývoji chuti, a to kvůli jejich velmi nízkým prahovým hodnotám zápachu a charakteristickému aroma (Luo et al., 2020). Jerky se tradičně připravují z nakrájené svaloviny, která se nasolí a suší bez startovacích kultur. Současné metody zahrnují přidávání mikrobiálních startovacích kultur ve fázi solení a zrání (Scheinberg et al., 2014). Pro dosažení stability se jerky suší na a_w 0,70 až 0,85. Překážky

pro mikrobiální přežívání a růst zahrnují teplotu sušení, nízkou a_w a konzervační látky, jako je sůl a organické kyseliny v závislosti na složení marinovací směsi (Lim et al., 2014).

Kvalita sušeného masa je ovlivněna řadou faktorů, jako je množství intramuskulárního tuku, věk a plemeno zvířat, technika sušení a použité přísady. Fyzikálně-chemické parametry (pH, aktivita vody, obsah bílkovin, kolagenu, soli ad.), mikrobiologické parametry a senzorické vlastnosti jsou základními ukazateli pro určení kvality sušeného masa. Z hlediska senzorické jakosti masa je křehkost jedním z nejdůležitějších texturních parametrů. V případě sušeného masa je ovlivněna zbytkovou vlhkostí, která je přibližně 20 %. Textura může být následně ovlivněna použitím různých druhů zkřehčujících a zvlhčujících látek, které ovlivňují velikost střižní síly při instrumentální analýze. Barva bývá ovlivněna především použitím různých přidaných látek, popř. může být změněna použitím mraženého masa, u kterého dochází k uvolnění exudátu a vlivem zmrazení a rozmrazení dochází k denaturaci a ovlivnění redoxního systému myoglobinu mechanickým poškozením (Cheng et al., 2023).

Cílem této práce bylo analyzovat a porovnat fyzikálně chemické parametry (pH, a_w, obsah sušiny, tuku, bílkovin a kolagenu) masných výrobků jerky vyrobených z různých druhů masa a zakoupených v tržní síti České republiky. Součástí práce bylo také stanovení barevných parametrů a velikosti střižní síly pomocí instrumentálních metod.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky masných výrobků jerky od různých výrobců byly zakoupeny v tržní síti České republiky. Celkem bylo v práci hodnoceno 25 vzorků masných výrobků jerky (hovězí n = 12, vepřové n = 2, krůtí n = 8, zvěřinové n = 3). Instrumentální hodnocení barvy bylo provedeno pomocí spektrofotometru KonicaMinolta CM-5 (KonicaMinolta, Japonsko). Přístroj byl nastaven na zdroj světla D65 a standardní úhel pozorovatele 10°, měřící štěrbina 8 mm. Kalibrace byla provedena na černou a bílou barvu. Každý vzorek byl měřen 8x na různých místech na povrchu. Měřeny byly parametry L^* - světlost, a^* - červená a b^* - žlutá. Po vytemperování na teplotu místnosti bylo provedeno měření tuhosti (křehkosti) vzorků dle Warner-Bratzlera. Instrumentální měření textury bylo provedeno na přístroji INSTRON 5544 (InstronCorporation, USA). Bylo provedeno měření střižní síly (N), velikost vzorků byla 2 cm^2. Rychlost příčníku byla 80 mm/min. Výsledek byl získán z šesti dílčích měření. Hodnota pH byla měřena ve výluhu pH-metrem WTW pH 340i (WTW GmBh, Německo) s elektrodou Double Pore (Hamilton Bonaduz AG, Švýcarsko). Aktivita vody byla stanovena na přístroji Novasina LabMaster (Novasina, Švýcarsko). Pro stanovení obsahu sušiny byla použita metoda sušení při teplotě 103 ± 2 °C po dobu 24 hodin. Po vychladnutí v exsikátoru byly vzorky zváženy a byl vypočten obsah sušiny. Obsah tuku byl stanoven na přístroji Soxtec™ 2055

(FOSS, Sweden). Jako extrakční rozpouštědlo byl použit petrolether. Vzorky o hmotnosti 3 g byly ponechány v sušárně po dobu tří hodin při teplotě 135 ± 2 °C a extrahovány činidlem na přístroji po dobu 86 minut. Obsah celkových bílkovin byl stanoven na přístroji Kjeltec™ 2300 (FOSS, Sweden) metodou podle Kjeldahla, kdy stanovujeme veškerý dusík v analyzovaném vzorku, a pro přepočet obsahu dusíku na obsah bílkovin je použit faktor 6,25. Obsah kolagenu byl stanoven spektrofotometricky při vlnové délce 550 nm na spektrofotometru GENESYSTM 6 (Thermo Electron Corporation, USA) jako množství 4–hydroxyprolinu. Statistické porovnání výsledků bylo provedeno dvouvýběrovým *t*-testem s nerovností rozptylů v programu Microsofts Office EXCEL 2016.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky měření barevných parametrů u různých druhů masného výrobku jerky jsou uvedeny v tabulce č. 1. Nejnižší hodnota L^* byla zjištěna u jerky z masa zvěřiny, které bylo signifikentně tmavší (P = 0,001), než jerky z masa krůtího. Podobně hovězí jerky bylo významně tmavší (P = 0,015), než krůtí jerky. V případě červené barvy (a^*) byly rovněž zjištěny rozdíly (P < 0,05) mezi hovězím jerky a jerky ze zvěřiny, a mezi krůtím jerky a herky ze zvěřiny. V parametru b^* (žlutost) nebyly mezi jednotlivými druhy jerky zjištěny rozdíly (P > 0,05). Tmavnutí jerky je výsledkem poklesu a_w (Kim et al., 2010). Změny barevných parametrů jsou ovlivněny délkou sušení a marinování jerky, přičemž s délkou sušení a fermentace obvykle klesá hodnota L^* (Lim et al., 2014). V některých případech je světlost jerky dávána do spojitosti s reakcemi neenzymového hnědnutí (Luo et al., 2020; Kim et al., 2010). Přídavek některých zkřehčujících a změkčujících látek může mít vliv na vyšší hodnoty a^*, například glycerol, sorbitol, kiwi, ananas významně zvyšuje červenou barvu. Přídavek kiwi může zvyšovat také parametr b^* (Kim et al., 2010). Rozdíly v hodnotách L^*, a^* a b^* jsou dány také použitou metodou sušení masa (Lim et al., 2012).

Tabuka č. 1, Výsledky měření barevných parametrů u různých druhů masného výrobku jerky

Parametr CIE	HOVĚZÍ	VEPŘOVÉ	KRŮTÍ	ZVĚŘINOVÉ
L^*	$28,13 \pm 2,70^{ac}$	$36,60 \pm 4,77$	$37,40 \pm 3,10^{b}$	$27,70 \pm 1,54^{c}$
a^*	$6,68 \pm 3,16^{ab}$	$11,65 \pm 1,03$	$11,49 \pm 1,98^{b}$	$5,90 \pm 1,16^{c}$
b^*	$6,95 \pm 4,87$	$16,82 \pm 2,96$	$16,18 \pm 2,91$	$5,05 \pm 1,58$
$^{a, b, c}$ Rozdílné indexy v řádcích ukazují statisticky významné rozdíly (P ≤ 0,05)				

Tabuka č. 2, Výsledky měření velikosti střižní síly dle Warner-Bratzlera u různých druhů masného výrobku jerky

Střižní síla (N)	HOVĚZÍ	VEPŘOVÉ	KRŮTÍ	ZVĚŘINOVÉ
Průměr ± S.D.	89,66 ± 38,34[a]	53,64 ± 16,31	52,47 ± 34,59[bc]	55,73 ± 24,79[c]
Max.	152,90	78,02	76,93	80,74
Min.	33,05	35,79	28,00	31,18
[a, b, c] Rozdílné indexy v řádcích ukazují statisticky významné rozdíly (P ≤ 0,05)				

Hodnoty střižní síly masných výrobků jerky jsou uvedeny v tabulce č. 2. Nejvyšší hodnoty střižní síly byly zjištěny u jerky z hovězího masa. U krůtího jerky (P = 0,002) a zvěřinového jerky (P = 0,040) byly hodnoty střižní síly významně nižší. Na texturu jerky má vliv teplota a délka šušení a skladování (Lim et al., 2012). Texturní vlastnosti jerky jsou spojovány s obsahem sušiny a a_w, například ošetření sojovou omáčkou nebo pastou ze sojových bobů či červené papriky vede k vyššímu obsahu vlhkosti a tím ke snížení velikosti střižní síly (Lim et al., 2014). Texturní vlastnosti jerky jsou výsledkem gelovatění svalových proteinů vyvolaného kyselinami a uvolněnou vody. V přítomnosti startovací kultury se pH jerky snižuje, což umožňuje solubilizovaným myofibrilárním proteinům během fermentace agregovat za vzniku gelu. Tento proces vede k vytvoření uspořádané proteinové sítě, která přispívá k pevnosti jerky (Luo et al., 2020). Velikost střižní síly lze ovlivnit rovněž použitím zkřehčujících a zvlhčujících látek, např. sorbitolu (Kim et al., 2010).

Tabuka č. 3, Výsledky měření fyzikálně chemických parametrů u různých druhů masného výrobku jerky

Parametr	HOVĚZÍ	VEPŘOVÉ	KRŮTÍ	ZVĚŘINOVÉ
pH (min. – max.)	5,47 ± 0,17 (5,20 – 5,76)	5,36 ± 0,06 (5,31 – 5,42)	5,61 ± 0,13 (5,35 – 5,74)	5,37 ± 0,11 (5,23 – 5,48)
a_w (min. – max.)	0,73 ± 0,10 (0,49 – 0,87)	0,82 ± 0,06 (0,77 – 0,87)	0,77 ± 0,08 (0,62 – 0,87)	0,81 ± 0,04 (0,75 – 0,85)
Sušina (min. – max.)	74,09 ± 6,97 (62,43 – 88,81)	66,47 ± 3,29 (63,60 – 69,36)	70,67 ± 6,31 (62,15 – 81,45)	69,03 ± 2,95 (66,17 – 72,77)
Tuk (min. – max.)	7,14 ± 3,34 (1,79 – 15,12)	8,33 ± 1,72 (6,09 – 9,89)	3,85 ± 1,08 (2,14 – 5,89)	6,21 ± 2,73 (3,18 – 9,29)
Bílkoviny (min. – max.)	48,57 ± 8,49 (33,66 – 62,16)	47,12 ± 0,96 (46,59 – 48,55)	54,58 ± 7,49 (40,66 – 65,21)	51,47 ± 3,65 (47,86 – 56,98)
Kolagen (min. – max.)	1,94 ±0,66 (1,09 – 3,21)	1,36 ± 0,30 (1,15 – 1,57)	1,19 ± 0,43 (0,74 – 1,97)	2,01 ± 0,73 (1,24 – 2,68)

Výsledky fyzikálně chemických parametrů masných výrobků jerky uvádí tabulka č. 3. Hodnoty pH se pohybovaly od 5,36 (vepřové jerky) do 5,61 (krůtí jerky). Tyto hodnoty jsou podobné hodnotám, které uvádí jiní autoři (Luo et al., 2020; Lim et al., 2014). Pokles pH souvisí s produkcí organických kyselin, především kyseliny mléčné, bakteriemi podílejícími se na fermentaci sacharidů (Zhou et al., 2021). Výsledky měření a_w jsou srovnatelné s výsledky měření Luo et al. (2020) a Lim et al. (2012). Hodnoty a_w souvisí s koncentrací soli a sacharidů v marinovací směsi (Zhou et al., 2021) a také se snižují v průběhu sušení a následném skladování jerky (Lim et al., 2012). Rovněž obsah sušiny je v souladu se zjištěním jiných autorů (Lim et al., 2014; Kim et al., 2010) a je ovlivněn metodou sušení (Lim et al., 2012) nebo přídavkem zkřehčujících a zvlhčujících látek (Kim et a., 2010). Obsah bíkovin byl v rozmezí 47,12 % (vepřové jerky) až 54,58 % (krůtí jerky). Bílkoviny a tuk jsou působením endogenních a mikrobiálních enzymů rozkládány na peptidy, aminokyseliny, mastné kyseliny a další těkavé látky, které mají rozhodující vliv na tvorbu chuti fermentovaných masných výrobků. Oxidace proteinů se obecně může projevit změnami karbonylových derivátů, sulfhydrylových skupin a proteinových struktur. Kromě toho karbonylace proteinů do určité míry ničí strukturu a funkci proteinu a kyselé prostředí podporuje gelovatění proteinu (Zhou et al., 2021). Obsah kolagenu v masných výrobcích jerky není dobře zmapován, je dán použitým druhem masa. Kolagen byl použit jako složka marinovací směsi u kachního jerky, kde zvýšil obsah vlhkosti, aktivitu vody, křehkost a celkovou přijatelnost (Kim et al., 2020).

ZÁVĚR

Zjištěné významné rozdíly v barvě a textuře analyzovaných druhů masných výrobků jerky jsou dány druhem použitého masa a jsou ovlivněny různým počtem hodnocených vzorků. Mezi fyzikálně chemickými parametry nebyly zjištěny významné rozdíly a byly v souladu se zjištěním předchozích studií. Vlastnosti masných výrobků jerky mohou být ovlivněny metodou přípravy, teplotou sušení, složením marinovací směsi či použitím zkřehčovacích a zvlhčovacích látek. Uvedené dílčí výsledky jsou součástí širší studie, jejíž výsledky budou dále upřesněny a dále publikovány.

PODĚKOVÁNÍ

Tato studie byla podpořena grantem č. 214/2024/FVHE Interní grantové agentury Veterinární univerzity Brno.

POUŽITÁ LITERATURA

1. CHENG, H. et al. Effect of freezing raw meat on the physicochemical characteristics of beef jerky. In *Meat Science*, ISSN: 0309-1740, 2023, vol. 197, 109082.
2. KIM, G.-D. et al. Textural and sensory properties of pork jerky adjusted with tenderizers or humectant. In *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, ISSN: 2636-0772, 2010, vol. 30, no. 6, p. 930-937.
3. KIM, T.-K. et al. Quality characteristics of duck jerky: combined effects of collagen and konjac. In *Poultry Science*, ISSN: 1525-3171, 2020, vol. 99, no. 1, p. 629-636.
4. LIM, H. J. et al. Effect of curing time on the physicochemical and sensory properties of beef jerky replaced salt with soy sauce, red pepper paste and soybean paste. In *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, ISSN: 1011-2367, 2014, vol. 27, no. 8, p. 1174-1180.
5. LIM, D.-G. et al. Effects of different drying methods on quality traits of hanwoo beef jerky from low-valued cuts during storage. In *Korean Journal For Food Science Of Animal Resources*, ISSN: 1225-8563, 2012, vol. 32, no. 5, p. 531-539.
6. LUO, Y. et al. Effect of fermentation and postcooking procedure on quality parameters and volatile compounds of beef jerky. In *Food Science and Nutrition,* ISSN: 2048-7177, 2020, vol. 8, no. 5, p. 2316-2326.
7. SCHEINBERG, J. A. et al. High-pressure processing and boiling water treatments for reducing *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella* spp., and *Staphylococcus aureus* during beef jerky processing. In *Food Control*, ISSN: 0956-7135, 2014, vol. 39, no. 1, p. 105–110
8. ZHOU, Y. et al. Effect of inoculation of starter on physicochemical properties and texture characteristics of fermented beef jerky. In *Journal of Food Processing and Preservation*, ISSN:1745-4549, 2021, vol. 45, no. 9, p. e15744.

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

RIZIKÁ SPOJENÉ S KONZUMÁCIOU PRODUKTOV Z RÝB A MORSKÝCH PLODOV

RISKS ASSOCIATED WITH THE CONSUMPTION OF FISH PRODUCTS A SEAFOOD

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

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

ABSTRACT

Fish and seafood are an excellent source of many important nutrients that are necessary for a healthy and balanced lifestyle. Fish are a rich source of protein, vitamins, minerals and omega-3 fatty acids. Their regular consumption can contribute to the prevention of many health problems. On the other hand, many times seafood is served and consumed in a raw, unheated state and can also represent a source of microorganisms and their metabolites that threaten the health of the consumer. Some microorganisms occur naturally in seafood, while others enter them during processing as secondary contamination. Bacterial pathogens in seafood that are most often associated with foodborne illnesses include species of *Vibrio, Salmonella, Shigella, Clostridium botulinum, Bacillus cereus*. Most sushi ingredients are eaten raw and cold. Microorganisms present can be a source of danger to the consumer on the one hand, but so can their secondary metabolites, e.g. toxins. *Listeria monocytogenes*, *Vibrio* spp. *Shigella* spp., *E. coli* are often detected in raw fish.

Key words: fish products, seafood, microbiota, food safety

ÚVOD

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 ohrozeniu zdravia. Potraviny môžu byť kontaminované baktériami alebo ich toxínmi a po konzumácii môžu predstavovať zdravotné riziko (Cortés-Sánchez et al., 2011). U alimentárnych infekcií je veľmi významný ľudský faktor, pretože k prenosu dochádza takmer vždy fekálne-orálnou cestou. Invazívne mikroorganizmy sa dostávajú do tráviaceho traktu spolu s potravinou alebo vodou. Podľa WHO sú zoonózy definované ako ochorenia, ktoré sú prenosné zo zvierat na človeka priamym kontaktom, prostredníctvom vektorov, alebo

kontaminovanými potravinami, vodou a kontaktom so životným prostredím. Zoonózy ohrozujú životy ľudí na celom svete. Jedna z častých príčin vzniku zoonóz je konzumácia nedostatočne tepelne opracovaného mäsa, vrátane rýb a mlieka. V posledných rokoch sa rybie mäso považuje za alternatívu ku konzumácii hovädzieho, bravčového a hydinového mäsa z dôvodu dopytu po zdravšom životnom štýle.

Ryby, výrobky z rýb vrátane plodov z mora patria k najvýznamnejším a najhodnotnejším potravinám živočíšneho pôvodu pre svoju výživovú hodnotu a dietetické účinky. Sú dôležitým zdrojom esenciálnych mastných kyselín, proteínov, taurínu, sterolov, minerálov a vitamínov, a preto by mali predstavovať súčasť ľudskej výživy. Obsahuje plnohodnotné a ľahko stráviteľné bielkoviny, málo glycidov, málo väziva a neobsahuje elastín, takže na jeho tepelnú úpravu je potrebný relatívne krátky čas v porovnaní s inými druhmi mäsa, čím sa zachováva jeho biologická hodnota (Pipová, 2012).

Ryby sa do potravinového reťazca dostávajú odlišným spôsobom ako mäso jatočných zvierat. U rýb sa väčšinou jedná o výlov vo veľkých množstvách priamo z ich prirodzeného prostredia, ktoré môže nežiadúcim spôsobom ovplyvniť ich vlastnosti a kvalitu, čo v konečnom dôsledku môže mať za následok aj poškodenie zdravia konzumenta. Za najzávažnejšie potencionálne riziká uvádzané v súvislosti s mäsom rýb patrí prítomnosť jedovatých metabolitov, morských biotoxínov, histamínu, parazitov, rôznych kontaminantov (ťažké kovy, ropné deriváty) a mikroorganizmov (Pipová, 2012).

Hoci štatistiky uvádzajú, že konzumácia rýb a produktov rybolovu je na Slovensku jedna z najnižších v porovnaní s ostatnými krajinami Európskej únie (EÚ), pokrmy obsahujúce plody mora v spracovanom, ale aj surovom stave, získavajú čoraz väčšiu obľubu. V súčasnosti sú na trhu takéto potraviny dostupné v rôznej forme, či už v surovom, mrazenom, či chladenom stave, ale aj spracované v podobe šalátov, sendvičov, sushi a iných polotovarov. Takisto sú plody mora ponúkané v rôznych reštauráciách a stánkoch s rýchlym občerstvením. Mnohé z nich sú podávané v surovom stave (napr. sushi, poké), a môžu predstavovať mikrobiologické riziko pre konzumenta, nakoľko táto potravinová matrica je veľmi vhodným substrátom pre rast a rozmnožovanie baktérií a to aj patogénnych (Bírošová a Sirotná, 2019).

Mikrobiálna kontaminácia zdravých jedincov odpovedá kontaminácii sedimentu a vodného prostredia, v ktorom sa živočíchy nachádzajú. Najčastejšie sú zastúpené rody *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Vibrio* a zástupcovia čeľade Enterobacteriaceae. Ryby a vodné živočíchy môžu obsahovať i mikroorganizmy spôsobujúce ochorenia človeka. Z najvýznamnejších patogénov sú predovšetkým *Aeromonas hydrophila* a *Vibrio parahaemolyticus*, ako aj prítomnosť patogénnych mikroorganizmov, ktoré

sú schopné rásť a rozmnožovať sa za chladiarenských podmienok, napríklad *Listeria monocytogenes* (Pipová a kol., 2006).

Morské plody

V Európe patria k najčastejšie konzumovaným plodom mora najmä hlavonožce ako chobotnice a sépie (krájané na charakteristické kolieska), ďalej mušle ako ustrice, slávky, hrebenatky a podobne. Spomedzi kôrovcov sú to hlavne krevety, kraby, langusty a homáre. Tieto kôrovce mávajú veľmi delikátne mäso, ktoré však zvykne byť pomerne drahé, a preto sa zvykne napodobovať lacnou náhradou farbenej zmesi rybieho a krabieho mäsa známej ako krabie tyčinky či surimi. Konzumácia plodov mora môže predstavovať pre konzumenta aj riziko, a to najmä z hľadiska prítomnosti mikroorganizmov. Zloženie mikrobioty morských živočíchov závisí od rôznych faktorov, ako je chemické a mikrobiologické znečistenie vody, v ktorej žijú, ale aj od typu a fyziológie živočícha. Na druhej strane kôrovce a mäkkýše, ktoré na rozdiel od rýb vodu filtrujú, môžu obsahovať vyššie počty niektorých klinicky významných patogénov (Bírošová a Sirotná, 2019). Prvú skupinu tvoria baktérie, ktoré sa môžu prirodzene vyskytovať v prostredí živočíchov určených na konzumáciu. Ide najmä o druhy *Vibrio* spp. (*V. parahaemolyticus*, *V. cholerae*, *V. vulnificus*), neproteolytické *Clostridium botulinum* typu B, E a T, ako aj *Plesiomonas shigelloides* a *Aeromonas* spp. Do druhej skupiny patria baktérie, ktoré sa všeobecne vyskytujú v prostredí (*Listeria monocytogenes*, proteolytické *C. botulinum* typu A a B, *C. perfringens* a *Bacillus* spp.). Do tretej skupiny zahrnul baktérie, ktorých typickým habitatom je človek alebo zvieratá (*Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni* a *Staphylococcus aureus*). Tieto baktérie nie sú prirodzenou mikrobiotou vodných živočíchov, ale sa do nich dostávajú kontamináciou počas ďalšieho spracovania (Huss a kol., 2003).

Obrázok č. 1, Morské plody



https://www.denishenry.cz/inspirace/ryby-a-morske-plody-prehled--jak-zpracovat/

Sushi

Japonské slovo sushi pôvodne znamenalo ľahké ryžové jedlo. Časom sa ale definícia zúžila na kombináciu octom ochutenej ryže kombinovanej s inými surovinami. Väčšina zložiek sushi je konzumovaná v surovom a studenom stave takže sa dá povedať, že mikrobiologické nebezpečenstvo pri tomto jedle existuje. Mikroorganizmy, či už patogénne, alebo potenciálne patogénne, sa môžu do ryby dostať a pomnožiť v hociktorom kroku, či už pri prvotnom spracovávaní ryby, preprave, skladovaní, či samotnej príprave sushi. Často sú v surových rybách detegované druhy rodu *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Vibrio* spp., *Listeria* spp. či *S. aureus* a *E. coli*, ale aj iní zástupcovia čeľade Enterobacteriaceae. (Bírošová a Sirotná, 2019).

Obrázok č. 2, Sushi



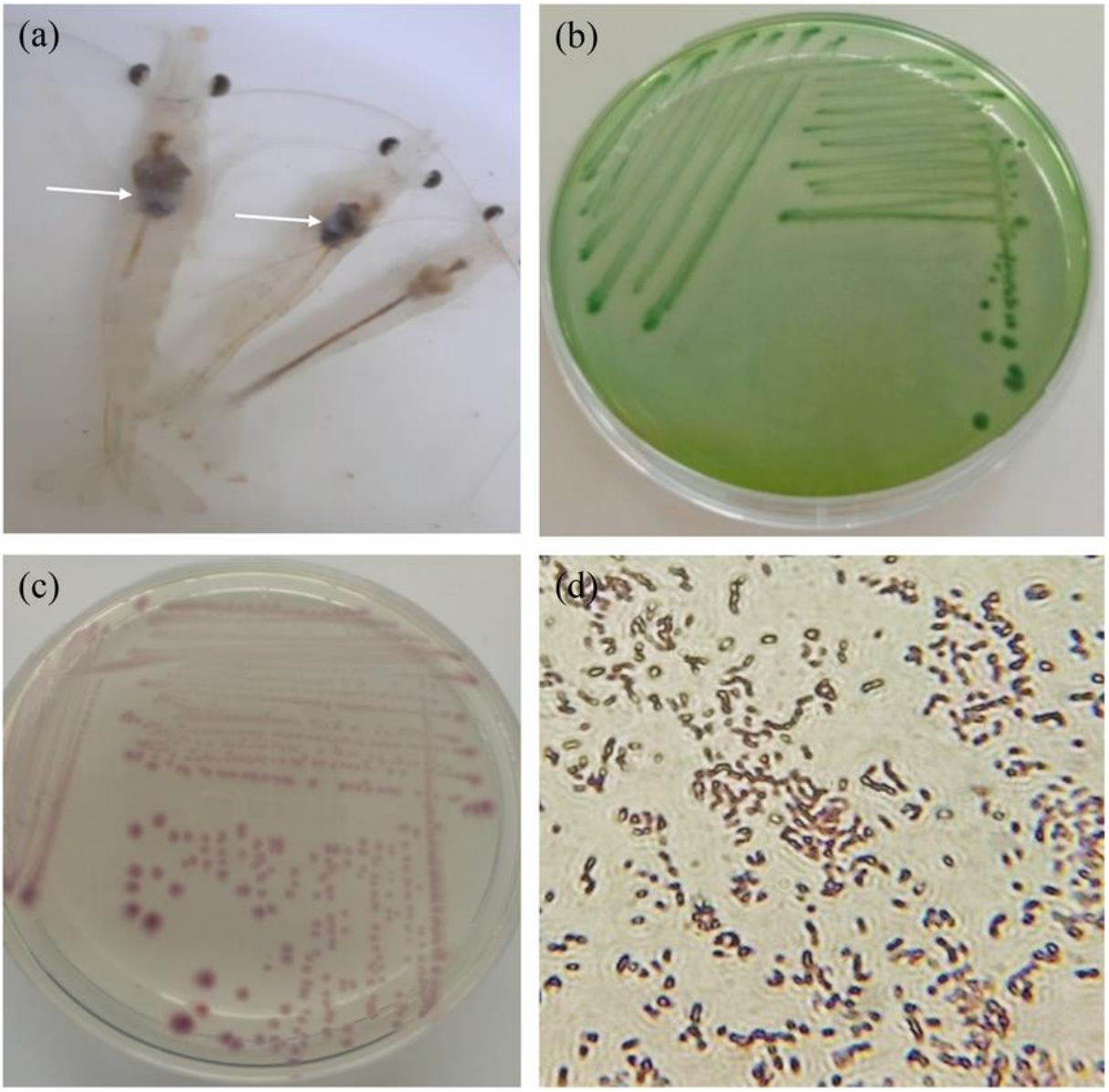
https://sita.sk/hygienici-preverili-azijske-restauracie-vysledky-su-hrozive/

Na základe rýchleho výstražného systému pre potraviny a krmoviny (RASFF), patrila medzi najčastejšie sa vyskytujúce patogény v produktoch akvakultúry za rok 2023 *Listeria monocytogenes* a *Vibrio vulnificus.*

Vibrio parahaemolyticus a *Vibrio vulnificus*

Vibriá sú primárne vodné mikroorganizmy a ich výskyt vo vode závisí od množstva Na^+, živín a teploty. Sú Gram-negatívne, fakultatívne anaeróbne tyčinky, rastú pri teplote 20 °C. Patrí do skupiny halofilných baktérií, vyskytuje sa v morskej vode, sedimente a planktóne. U človeka sú pôvodcom miernej až ťažkej gastroenteritídy alebo pôvodcom infekcie rán. K nákaze dochádza najčastejšie po požití surových alebo tepelne nedostatočne opracovaných morských kôrovcov (krevety, homáre, kraby, raky), prípadne iných morských živočíchov, vrátane rýb. Klinické príznaky infekcie kolíšu od miernych vodnatých hnačiek až po ťažký priebeh podobný dyzentérii (Pilipčinec a kol, 2018).

Obrázok č. 3, Krevety ako zdroj nákazy *V. parahaemolyticus*



https://www.researchgate.net/figure/AHPND-disease-symptoms-of-shrimp-and-the-isolation-of-Vibrio-parahaemolyticus-Moribund_fig2_368655325

Krevety (a), V. parahaemolyticus (d) a kultivácia na živných pôdach (b, c),

Listeria monocytogenes

Listérie sa vyskytujú bežne v prírode, v pôde, na rastlinách alebo v povrchových vodách. Častý je ich výskyt v siláži a odpadových vodách. Sú Gram – pozitívne, fakultatívne anaeróbne krátke tyčinky. Jedna z najdôležitejších vlastností *L. monocytogenes* je schopnosť rásť v širokom teplotnom rozmedzí (0 – 44 °C), v širokom rozmedzí pH (4,5 – 9,5) a sú pomerne odolné k vyšším hodnotám NaCl (5-10%). Najčastejšou príčinou listeriózy je konzumácia kontaminovaných potravín – tepelne neošetrené mlieko a výrobky, mäsové výrobky, zelenina a výrobky z rýb (Pilipčinec a kol., 2019). Pri nedodržaní teploty alebo

sekundárnej kontaminácii pri manipulácii, sa môže *L. monocytogenes* dostať do potravín. Rizikové sú potraviny dlhodobo skladované pri chladiarenských teplotách s neutrálnym pH, v ktorých sa listérie môžu pomnožiť do vysokých počtov (Pipová a kol., 2006).

Obrázok č. 4, Údený losos ako zdroj nákazy *L. monocytogenes*



https://www.intralox.com/media/news/preventing-listeria-in-seafood-processing-plants

ZÁVER

Ryby, produkty z rýb a morské plody majú z nutričného hľadiska veľmi priaznivé zloženie a preto sú vysoko cenené. Nakoľko ide o potraviny živočíšneho pôvodu, predstavujú vhodný zdroj pre rast a rozmnožovanie mikroorganizmov, prípadne produkciu ich toxínov, ktoré môžu pre konzumenta predstavovať zdravotné riziko. Nemalú hrozbu tiež môžu predstavovať prítomné baktérie rezistentné voči antibiotikám. Z tohto hľadiska je preto potrebné, aby sa venovala dostatočná pozornosť mikrobiologickej analýze plodov mora, vrátane rýb, ako aj pokrmov z nich.

POĎAKOVANIE

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

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BÍROŠOVÁ, L. a SIROTNÁ, Z. Hodnotenie rizika mikrobiálnej kontaminácie potravín typu „sushi“ a potravín obsahujúcich plody mora. 2019, ISBN: 978-80-89738-20-5.
2. CORTÉS-SÁNCHEZ et al. Plesiomonas: A Review on Food Safety, Fish-Borne Diseases, and Tilapia The Scientific World Journal 2021, 10, doi 10.1155.

3. HUSS, H.H., Ababouch, L., Gram, L. (2003) Assessment and management of seafood safety and quality. Rome: FAO; 2003. FAO Fish Tech Paper. (444)konference o současných poznatcích informačních a komunikačních technologiích a jejich využití. Praha : Univerzita Karlova, 1990. ISBN 80-01-02079-7. s. 17-28.
4. PILIPČINEC, E. a kol. *Špeciálna bakteriológia: Gram-negatívne baktérie.* UVLF Košice. 2018, s. 295, ISBN 978-80-8077-571-1.
5. PILIPČINEC, E. a kol. *Špeciálna bakteriológia: Gram-pozitívne baktérie.* UVLF Košice. 2019, s. 21 – 25, ISBN 978-80-8077-632-9.
6. PIPOVÁ, M. a kol. *Hygiena a technológia spracovania sladkovodných a morských rýb*. UVLF Košice. 2006, ISBN 80-8077-048-4.
7. PIPOVÁ, M. Môže byť konzumácia rýb nebezpečná? [online]. 2012. Dostupné na internete: <https://www.zzz.sk/clanok/13400-moze-byt-konzumacia-ryb-nebezpecna>.

Kontaktná adresa: Király Ján, Department of Microbiology and Immunology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: jan.kiraly@uvlf.sk

VPLYV 0,6 % PRÍDAVKU HUMÍNOVÝCH LÁTOK A FERMENTOVANÉHO KRMIVA NA RASTOVÉ PARAMETRE SVALSTVA U BROJLEROVÝCH KURČIAT

EFFECT OF 0,6 % HUMIC SUBSTANCES AND FERMENTED FEED ON MUSCLE GROWTH PARAMETERS IN BROILER CHICKENS

Kiššová Zuzana[1], Karaffová Viera[1], Hudec Erik[1], Mudroňová Dagmar[2], Bartkovský Martin[3], Makiš Andrej[3], Faldyna Martin[4] , Marcinčák Slavomír[3]

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

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

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

[4]Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno, ČR

ABSTRACT

Substances of natural origin can positively influence the performance of broiler chicken, while offering a promising alternative for boosting the immune system, improving feed conversion or influencing skeletal muscle growth without the risk of antibiotic resistance. The aim of this experiment was to investigate the effect of administration of a novel formulation of humic substances specifically designed to detoxify the body and a fermented feed mixture on gene expression of selected myogenic growth factors (IGF2, MYF5, PAX7, SOX9) and LGR5 (stem cell marker) from chicken pectoral muscle samples. The addition of humic substances at a concentration of 0.6 %, increased the gene expression levels for IGF2 and SOX9 compared to control, while the expression of gene encoding PAX7 protein was increased in the experimental group with the addition of 10 % fermented feed. On the other hand, the measured expression of other myogenic growth factors (IGF2, MYF5, SOX9) was the lowest in the group fed with fermented feed additives only. In the light of these obtained results, we suggest that the used concentration of humic substances in broiler chicken diet had a positive effect on the promotion of skeletal muscle myogenesis. However, in the combined group, where chickens were fed a mixture of humic substances and fermented feed, there was no expected increase in the beneficial effects on the monitored parameters in broilers.

Key words: humic substances, broiler chicken, fermented feed, myogenesis

ÚVOD

Mäso získané zo zvierat zohráva v ľudskej strave dôležitú úlohu vďaka obsahu mastných kyselín, bielkovín, minerálnych látok alebo vitamínov. Konzumácia hydinového mäsa sa stáva stále populárnejšou vo svetovom meradle. Podľa súčasných prognóz, do roku 2030, bude hydina tvoriť 41 % všetkých prijatých bielkovín z mäsa v diéte ľudí (OECD a FAO, 2021). Novodobý chov hydiny sa zameriava hlavne na zlepšenie úžitkovosti, zdravotného stavu zvierat a produkciu zdravotne nezávadného mäsa pre konzumentov (Long et al., 2020). Vďaka metódam intenzívneho chovu je hydinové mäso lacnejšie a dostupnejšie, avšak prináša mnohé problémy v chove v podobe zvýšenia stresu, zníženej imunity a infekčných ochorení. Najčastejšie hlásené zoonotické alimentárne infekcie v EÚ sú spôsobené hlavne pôvodcami z rodov *Campylobacter* a *Salmonella*, kde primárnym prameňom nákazy je hydinové mäso a vajcia (EFSA, 2023). Použitie prírodných látok ako sú humínové látky, éterické oleje, probiotické mikroorganizmy alebo fermentované kŕmne zmesi, predstavuje potenciálnu účinnú prevenciu infekčných ochorení s pozitívnym dopadom na kvalitu potravín a znižovanie negatívneho vplyvu reziduí antimikrobiálnych látok na životné prostredie, čo si zasluhuje zvýšenú pozornosť v hroziacej post-antibiotickej ére.

Humínové látky (*Humic substances*; HS) sú prírodné látky vznikajúce prevažne z rastlinnej biomasy vďaka biologickému a chemickému rozkladu za spoluúčasti mikroorganizmov (Zavarzina et al., 2021). Už staročia sú známe ich pozitívne účinky pri liečbe celého radu ochorení ako sú zápaly rôznych orgánov, gastrointestinálne ochorenia, otravy, rakovina, cukrovka, infekčné ochorenia alebo anémia. Novodobý výskum sa zameriava hlavne na humínové kyseliny pre ich mnohostranné pozitívne účinky na organizmus na molekulárnej úrovni u ľudí, aj u zvierat (Mudroňová et al., 2020). Pri štúdiu chemického zloženia HS sa zistilo, že vďaka vysokému obsahu funkčných skupín obsiahnutých v ich štruktúre sú schopné vytvárať silné väzby s toxickými kovmi, s PCB látkami a s rôznymi plesňovými toxínmi (mykotoxíny) vyskytujúcimi sa v potravinách (Vašková et al., 2023).

Intenzívny chov brojlerových kurčiat kladie vysoké nároky na selekciu rýchlo rastúcich zvierat, čím je ovplyvnené hromadenie tukového tkaniva nad rámec fyziologických hodnôt, čo je však nežiaduce. Novodobé štúdie však dokazujú, že profil mastných kyselín (MK) v potrave ovplyvňuje rast a metabolizmus tukového tkaniva spôsobom, ktorým možno manipulovať s cieľom znížiť hromadenie tuku (Kim a Voy, 2021). Polynenasýtené MK (PUFA) sa klasifikujú ako n-3 alebo n-6 na základe polohy prvej dvojitej väzby vo vzťahu k metylovému koncu molekuly. Zistilo sa, že zloženie MK v prsnom a stehennom svalstve je priamo závislé od MK v diéte zvierat (Long et al., 2020), takže obohatenie kŕmnej dávky o n-3 PUFA predstavuje

sľubný spôsob manipulácie s profilom n-3 PUFA v hydinovom mäse. Dokazujú to aj štúdie, kde pridávanie ľanového alebo rybieho oleja, prípadne ich zmesi do diét brojlerovej hydiny účinne zvýšilo obsah MK - konkrétne n-3 PUFA vo svalstve (López-Ferrer et al., 2001a; López-Ferrer et al., 2001b).

V predkladanom experimente sme používali na skrmovanie brojlerových kurčiat komerčnú kŕmnu zmes s prídavkom 0,6 % HUMAC® Natur AFM MycotoxiSorb, špeciálne vyvinuté pre zníženie mykotoxínov v krmive, ďalej 10 % zmes troch rôznych fermentovaných krmív a taktiež ich kombináciu na sledovanie zmeny rastových parametrov v prsnej svalovine.

MATERIÁL A METODIKA

Kurčatá (160 ks; plemeno ROSS 308; mäsový hybrid) vo veku 1 deň boli privezené priamo od dodávateľa (Hydina Slovensko s.r.o., Spišské Tomášovce) a umiestnili sa na hlbokú podstielku na mieste vykonávania experimentu (Chovné zariadenie Katedry výživy a chovu zvierat UVLF v Košiciach). Zvieratá boli rozdelené do štyroch experimentálnych skupín, pričom všetky skupiny boli kŕmené dvakrát denne rovnakými priemyselne vyrábanými kŕmnymi zmesami (KZ) BR1 („štartér“), BR2 („rast“) a BR3 („finiš“) s prístupom vody *ad libitum*. V každej experimentálnej skupine bola sledovaná u každého kurčaťa samostatne spotreba krmiva a pitnej vody, a taktiež priebežne sledovaný klinický a zdravotný stav. Z dôvodu biochemickej analýzy krvi sa na 42. deň výkrmu odobrala krv. Usmrtenie sa vykonalo cervikálnou dislokáciou na 45. deň výkrmu, a následne sa kurčatá jatočne opracovali. Zistila sa výťažnosť jatočného tela a jednotlivých častí, vykonal sa odber mäsa (odber z prsného svalstva) a orgánov pre ďalšie laboratórne vyšetrenia.

Ako prídavky do KZ v experimente sme testovali vplyv humínových látok v koncentrácii 0,6 % (v KZ), ktoré boli dodané od značky HUMAC® Natur AFM MycotoxiSorb (prírodne aktivované humínové látky – hlavne s vysokým obsahom humínových kyselín) a zmes troch rôznych fermentovaných krmív :

1) zmes kukuričný šrot a ľanové výlisky (v pomere 3:2) fermentovanú kmeňom *Mortierella alpina*, kde sa získali MK - kyselina arachidónová a kyselina eikozapentaénová;

2) pšeničné otruby fermentované pomocou vláknitej hube *Actinomucor elegans,* kde sa získala MK kyselina gama-linolénová;

3) ľanové výlisky, fermentované kmeňom *Aspergillus oryzae*, ktorý bol využitý najmä ako producent extracelulárnej xylanázy.

Následne sa jednotlivé zložky zmiešali do jedného celku a pridávali sa ako fermentované krmivo do KZ.

Experimentálne skupiny zvierat vyzerali nasledovne:

1. skupina: Kontrola (K) - 40 ks, kŕmené KZ BR1, BR2 a BR3 bez prídavku iných zložiek;
2. skupina: Fermentované krmivo (10 % F) - 40 ks, kurčatá kŕmené KZ BR1, BR2 a BR3. Od 11. do 42. dňa výkrmu bolo kurčatám do KZ pridávané fermentované krmivo v dávke 10 %;
3. skupina: Humínové látky (0,6 % H) - 40 ks, kurčatá kŕmené KZ KZ BR1, BR2 a BR3 s prídavkom 0,6 % HUMAC® Natur AFM MycotoxiSorb od prvého dňa výkrmu;
4. skupina: Kombinovaná (H + F) - 40 ks, kurčatá kŕmené KZ BR1, BR2 a BR3. Od 11. do 42. dňa výkrmu bolo kurčatám do KZ pridávané fermentované krmivo v dávke 10 % a od 1. dňa bolo pridávané aj 0,6 % HUMAC® Natur AFM MycotoxiSorb.

Celkovú RNA sme z tkaniva prsného svalstva izolovali pomocou reagencie TRI Reagent® (Molecular Research Center, Ohio, USA) a prepísali do cDNA pomocou kitu iScript™ cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad, California, USA). Analýzu kvantitatívnej génovej expresie (qPCR) sme uskutočnili cez softvér CFX Manager Software (CFX Manager version 2.0, Bio-Rad, California, USA) pomocou prístroja Thermocycler CFX 96 (Bio-Rad, California, USA). Použité primery sú uvedené v Tabuľke č. 1. Z každej experimentálnej skupiny bolo náhodne vybraných 7 zvierat pre na stanovenie relatívnej expresie génov IGF2, PAX7, MYF5, SOX9 a LGR5 (prsný sval). GAPDH (glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenáza) slúžil ako referenčný gén pre vnútornú kontrolu.

Tabuľka č. 3, Primery použité v práci

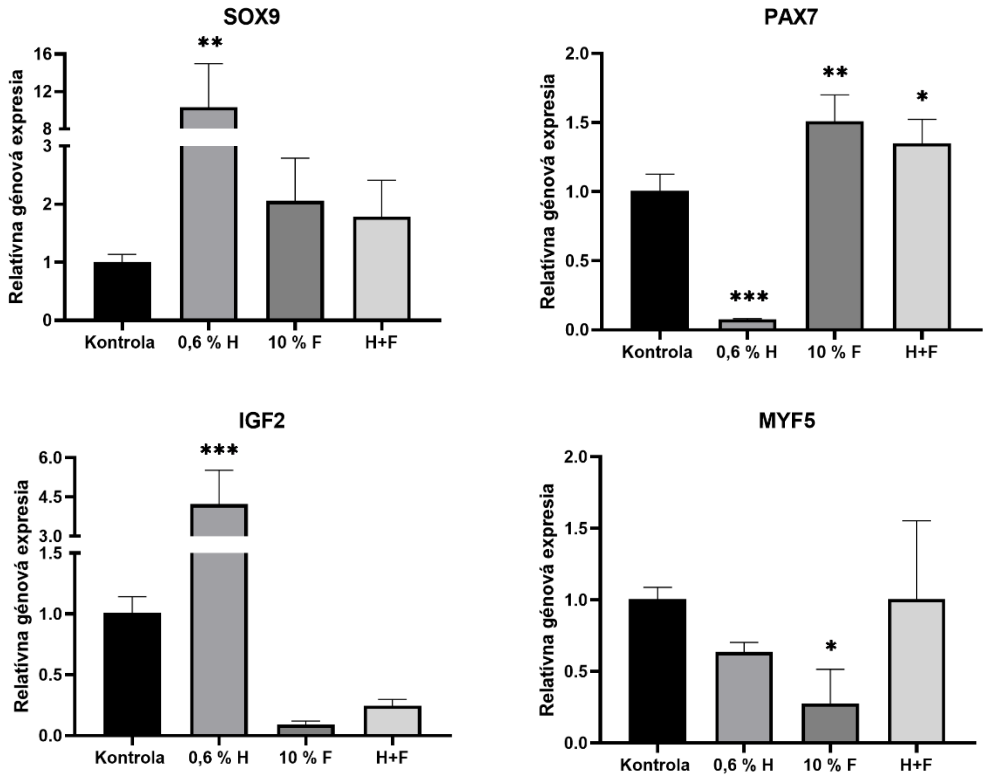
Gén	Názov primeru	Sekvencia 5´→ 3´	Referencia
GAPDH	GAPDH - F	CCTGCATCTGCCCATTT	De Boever et al., 2008
	GAPDH - R	GGCACGCCATCACTATC	
IGF2	IGF2 - F	CTCTGCTGGAAACCTACTGT	Mudroňová et al., 2018
	IGF2 - R	GAGTACTTGGCATGAGATGG	
MYF5	MYF - F	CAGAGACTCCCCAAAGTGGAGAT	Xiao et al., 2017
	MYF - R	GTCCCGGCAGGTGATAGTAGTTC	
PAX7	PAX7 -F	AGGCTGACTTCTCCATCTCTCCT	Adhikari et al., 2019
	PAX7 -R	TGTAACTGGTGGTGCTGTAGGTG	
SOX9	SOX9 - F	CCACCATGTCGGATGACTCC	Ghiselli et al., 2021
	SOX9 - R	GGTGTTCTCTTGAGGTCGGG	
LGR5	LGR5 - F	TGGGCTCCACAGCCTAGAGA	Ghiselli et al., 2021
	LGR5 - R	CCTACAAACGCACGCTCAGG	

Protokol pre relatívnu kvantifikáciu génovej expresie pozostával z nasledovných krokov: denaturácia pri 95 °C po dobu 5 min, amplifikácia v 40 cykloch tvorených 4 krokmi, a to denaturáciou pri 94 °C po dobu 30 s, hybridizáciou pri 60 °C po dobu 30 s a extenziou pri 72 °C po dobu 30 s a meraním fluorescencie. Po finálnej extenzii pri 72 °C po dobu15 min bola urobená analýza krivky topenia. Relatívnu normalizovanú expresiu sme hodnotili pomocou metódy $2^{-\Delta\Delta CT}$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Používanie antibiotík ako stimulátorov rastu je v Európskej únii od roku 2006 zakázané, preto je potrebné podrobne preskúmať látky prírodného pôvodu, aby sa mohli využívať ako alternatívne riešenie v tejto oblasti. Zrýchlený rast prsnej svaloviny je žiaducou vlastnosťou v chove brojlerovej hydiny (Kim a Voy, 2021), pričom kostrový sval vykazuje schopnosť regenerácie priamo závislú od kmeňových buniek tzv. satelitných buniek. Riadenie aktivity týchto kmeňových buniek je kľúčové z hľadiska vývoja kostrových svalov a v tomto zmysle je dôležitá prítomnosť proteínov IGF2 a MYF5, ktoré majú špecifickú úlohu v regulácii diferenciácie svalstva v procese myogenézy. Tieto proteíny sa priamo zúčastňujú aj v procese regenerácie prostredníctvom koordinácie funkcie satelitných buniek (Torrente et al., 2020). Pre riadenie génovej expresie v bunkách sú nevyhnutné tzv. transkripčné faktory - proteíny, ktoré majú strategickú úlohu pri diferenciácii prekurzorových buniek kostrového svalstva počas embryonálneho vývoja. Medzi tieto transkripčné faktory patria aj PAX7 a SOX9, ktoré sa zúčastňujú na riadení expresie dôležitých myogénnych regulátorov (Florkowska et al., 2020).

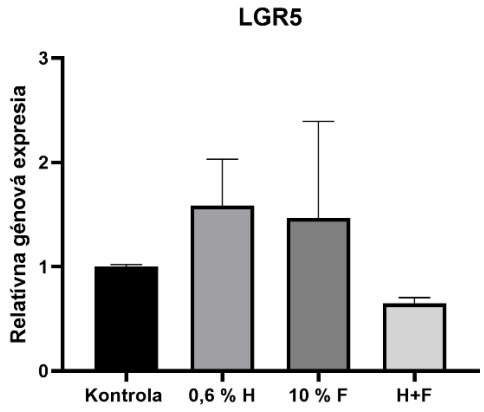
Obrázok č. 1, Génová expresia vybraných markerov myogenézy



Výsledky sú vyjadrené ako priemer ± SD (n=7). Štatistická významnosť rozdielov bola vyhodnotená pomocou Dunnettovho viacnásobného porovnávacieho testu. Výsledky sa významne líšili v porovnaní s kontrolnou skupinou zvierat v hladinách štatistickej významnosti (p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001).*

V našej štúdii hlavne prídavok 0,6 % HS do KZ zvýšil relatívnu génovú expresiu pre myogénny rastový faktor IGF2 ($p < 0,001$) ako aj pre transkripčný faktor SOX9 ($p < 0,01$) (Obrázok č. 1). Predpokladáme, že aktiváciou transkripčného faktora SOX9 došlo k aktivácii signálnej dráhy, čo vyústilo do zvýšenej génovej expresie IGF2. Zaujímavým zistením však bolo, že génová expresia pre transkripčný faktor PAX7 bola zvýšená iba v prípade experimentálnej skupiny zvierat kŕmených s prídavkom 10 % fermentovanej KZ ($p < 0,01$) oproti kontrole. Naopak, Mudroňová a kol. (2020), v predchádzajúcej štúdii zistili, že vplyv prídavku 0,8 % HS do krmív pre brojlery, mal za následok významné zníženie expresie génov pre IGF2 (Mudroňová et al., 2020). Na základe získaných výsledkov predpokladáme, že koncentrácia pridávaného HS môže mať rozhodujúci vplyv na myogenézu. Je potrebné uviesť, že vplyv rôznych koncentrácií HS alebo ich kombinácie s podávaním fermentovaného krmiva na myogénne faktory nebol u hydiny doteraz skúmaný.

Obrázok č. 2, Génová expresia LGR5 markera kmeňových buniek



Okrem svojej funkcie ako transkripčný proteín SOX9 spolu s proteínom LGR5 predstavujú aj markery kmeňových buniek (Ghiselli et al., 2021). Analýzu týchto proteínov, sme vybrali práve z dôvodu, pretože sme predpokladali ich zvýšenie v skupine, kde humínové látky zvýšili aj expresiu myogénneho rastového faktoru IGF2. Napriek tomu že expresia LGR5 bola zvýšená v experimentálnej skupine 0,6% H aj 10 % F, nezaznamenali sme žiadnu štatistickú významnosť porovnaní s kontrolnou skupinou (Obrázok č. 1 a 2).

V kombinovanej skupine zvierat H + F, kde sme očakávali potenciujúci účinok prídavku 0,6 % humínových látok a 10 % fermentovanej KZ, avšak avšak ten v prípade expresie sledovaných markerov (IGF2, MYF5, PAX7, SOX9 a LGR5) nebol ovplyvnený. Našou hypotézou je, že nakoľko humínové kyseliny obsahujú štrukturálne segmenty schopné stimulovať rôzne biologické aktivity v hostiteľovi, predpokladáme, že ak sú tieto molekuly

príliš veľké, segmenty môžu byť chránené inými časťami molekulárnej štruktúry. V dôsledku toho sa stávajú nedostupnými pre interakciu s inými biogénnymi molekulami alebo s receptormi pre iné bunky v organizme.

V ďalšom výskume bude potrebné overiť presný mechanizmus účinku HS na molekulárnej úrovni, porovnať vlastnosti HS s nízkou a vysokou molekulovou hmotnosťou na imunitný systém pre schopnosť väzby cytokínov a zistiť vplyv na indukciu rastu kostrového svalstva na širšej škále myogénnych rastových faktorov. V experimente sa nám nepodarilo potvrdiť priamy účinok prídavku 10 % fermentovaného krmiva do KZ brojlerovej hydiny na rast kostrového svalstva ani kombinácie humínových látok a fermentovaného krmiva v diéte brojlerovej hydiny.

ZÁVER

Látky prírodného pôvodu môžu pozitívne ovplyvniť úžitkovosť brojlerovej hydiny pričom ponúkajú sľubnú alternatívu pre posilnenie imunitného systému, zlepšenie konverzie krmiva alebo ovplyvnenie rastu kostrového svalstva, bez rizika vzniku rezistencie na antibiotiká. Cieľom tohto experimentu bolo skúmať vplyv podávania novej receptúry humínových látok špeciálne určených na detoxikáciu organizmu a fermentovanej KZ na génovú expresiu vybraných myogénnych rastových faktorov (IGF2, MYF5 PAX7, SOX9) a LGR5 (marker kmeňových buniek) zo vzoriek prsného svalstva kurčiat. Prídavok humínových látok v koncentrácii 0,6 % zvýšil génovú expresiu pre IGF2 a SOX9 v porovnaní s kontrolou, kým expresia génu kódujuci proteín PAX7 bola zvýšená v experimentálnej skupine s prídavkom 10 % fermentovaného krmiva. Na druhej strane zaznamenaná expresia ostatných génov pre myogénne rastové faktory (IGF2, MYF5, SOX9) bola najnižšia v skupine so samotným fermentovaným krmivom. Na základe získaných výsledkov predpokladáme pozitívny vplyv použitej koncentrácie humínových látok v krmnej zmesi na podporu myogenézy kostrového svalstva. V kombinovanej skupine, však nedošlo k očakávanému zosilneniu pozitívnych účinkov na sledované parametre u brojlerových kurčiat. V tomto smere je potrebný podrobnejší výskum širšej škály myogénnych rastových faktorov v prsnej svalovine.

POĎAKOVANIE

Táto výskumná práca vznikla s podporou Agentúry na podporu výskumu a vývoja pod číslom APVV-18-0039 (50 %) a APVV-21-0129 (50 %).

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ADHIKARI, P. et al. An approach to alternative strategies to control avian coccidiosis and necrotic enteritis. In *Journal of Applied Poultry Research* [online]. 2019, 29:515-534. doi:10.1016/j.japr.2019.11.005
2. 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. In *Veterinary Immunology and Immunopathology* [online]. 2008, 122:312-317. doi: 10.1016/j.vetimm.2007.12.002
3. EFSA Journal. The European Union One Health 2022 zoonoses report background foonoses from 12. december 2023 [online]. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8442.
4. FLORKOWSKA, A. et al. Pax7 as molecular switch regulating early and advanced stages of myogenic mouse ESC differentiation in teratomas. In *Stem Cell Research & Therapy* [online]. 2020, 11(1):238. doi:10.1186/s13287-020-01742-3
5. GHISELLI, F. et al. Isolation, culture, and characterization of chicken intestinal epithelial cells. In *BMC Molecular and Cell Biology* [online]. 2021, 22:12. https://doi.org/10.1186/s12860-021-00349-7
6. KIM, M. a VOY, B.H. Fighting fat with fat: n-3 Polyunsaturated fatty acids and adipose deposition in broiler chickens. In *Frontiers in Physiology* [online]. 2021, 12:9;1-8. ISSN 1664042X. doi:10.3389/fphys.2021.755317
7. LONG, S. et al. Effects of dietary fatty acids from different sources on growth performance, meat quality, muscle fatty acid deposition, and antioxidant capacity in broilers. In *Animals* [online]. 2020, 10:3. ISSN 20762615. doi:10.3390/ani10030508
8. LÓPEZ-FERRER, S. et al. (a) N-3 enrichment of chicken meat. 1. Use of very long-chain fatty acids in chicken diets and their influence on meat quality: Fish oil. In *Poultry Science* [online]. 2001, 80:741–752. doi: 10.1093/ps/80.6.741
9. LÓPEZ-FERRER, S. et al. (b) N-3 enrichment of chicken meat. 2. use of precursors of long-chain polyunsaturated fatty acids: Linseed oil. In *Poultry Science* [online]. 2001, 80:753–76. doi: 10.1093/ps/80.6.753
10. MUDROŇOVÁ, D. et al. Effect of fungal gamma-linolenic acid and beta-carotene containing prefermented feed on immunity and gut of broiler chicken. In *Poultry Science* [online]. 2018, 97:4211-4218. doi: 10.3382/ps/pey306
11. MUDROŇOVÁ, D. et al. The effect of humic substances on gut microbiota and immune response of broilers. In *Food and Agricultural Immunology* [online]. 2020, 31:1,137–149. ISSN 14653443. doi:10.1080/09540105.2019.1707780

12. OECD and FAO. OECD-FAO Agricultural Outlook 2021-2030. Paris: OECD Publishing. 2021. doi: 10.1787/19428846-en
13. TORRENTE, Y. et al. Role of insulin-like growth factor receptor 2 across muscle homeostasis: Implications for treating muscular dystrophy. In *Cells* [online]. 2020, 14;9(2):441. doi: 10.3390/cells9020441
14. VAŠKOVÁ, J. et al. Therapeutic efficiency of humic acids in intoxications. In *Life* [online]. 2023, 13:4, 1–23. ISSN 20751729. doi:10.3390/life13040971
15. XIAO, Y. et al. Association of growth rate with hormone levels and myogenic gene expression profile in broilers. In *Journal of Animal Science and Biotechnology* [online]. 2017, 8:43. doi:10.1186/s40104-017-0170-8
16. ZAVARZINA, A. G. et al. Humic substances: Hypotheses and reality (a Review). In *Eurasian Soil Science* [online]. 2021, 54:12, 1826–1854. ISSN 1556195X. doi:10.1134/S1064229321120164

Kontaktná adresa: Kiššová Zuzana, Department of Morphological Disciplines, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: zuzana.kissova@uvlf.sk

VPLYV PRÍDAVKU HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA PRODUKČNÉ PARAMETRE A BUNKOVÚ IMUNITNÚ ODPOVEĎ U OŠÍPANÝCH

THE EFFECT OF HUMIC SUBSTANCES SUPPLEMENTATION ON PRODUCTION PARAMETERS AND CELLULAR IMMUNE RESPONSE IN PIGS

Kollár Moskáľová Lenka [a], Mudroňová Dagmar [a], Hreško Šamudovská Alena [b], Ratvaj Marek [a], Bujňák Lukáš [b]

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

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

ABSTRACT

The aim of this study was to assess the effects of dietary humic substances on immune response and production parameters in crossbred pigs (Slovakian White x Landrace). The pigs were 35 days old and weighed an average of 11.67 kg. A total of 24 pigs were included in the experiment and divided into two groups, with one group receiving natural humic substances supplementation (experimental) and the other group serving as the control. The experimental group showed a significant increase in CD4+CD8- lymphocytes compared to the control group. Additionally, there was a trend towards improved phagocytic activity, engulfing capacity of phagocytes, and higher numbers of other lymphocyte subpopulations as CD3+, CD21+, CD4-D8+, CD4+CD8+, CD4+CD25+, in the experimental group. However, there were no significant differences in the monitored production parameters between the two groups.

Key words: humic substances**,** productive performance, cellular immune response, pigs

ÚVOD

Humínové látky (HL) sú skupinou prírodných organických bioaktívnych zlúčenín, ktoré sa tvoria v pôde v procese nazývanom humifikácia (Peña-Méndez a kol., 2005; Yang a kol., 2021). Sú to prirodzene sa vyskytujúce organické zložky pôdy a hnedého uhlia, ktoré sú komplexné zmesi polyaromatických a heterocyklických chemických látok s bočnými reťazcami viacerých karboxylových kyselín (Rath a kol., 2006).

HL sú často využívané ako vo veterinárnej medicíne, tak aj v poľnohospodárstve. Trend týchto látok však pomaly prichádza aj do odvetvia humánnej medicíny. Cenené sú najmä vďaka ich detoxikačnému (napr. schopnosť viazať ťažké kovy alebo bakteriálne toxíny v čreve), antibakteriálnemu a antivirotickému (Mudroňová et al., 2020).

Taktiež sa HL používajú ako terapia proti hnačke a pre svoj analgetický, imunostimulačný účinok najmä vo veterinárnej praxi v Európe (Wang a kol., 2008). HL pozostávajú z kyseliny humínovej, humusu, kyseliny ulmovej, kyseliny fulvovej, humínu a niektorých mikroprvkov. Humínové kyseliny môžu pôsobiť antimikrobiálne, čím môžu znížiť rast plesní a následne znížiť hladinu toxínov (Arif a kol., 2019). Pri skúmaní prirodzenej štruktúry humínových kyselín sa zistilo, že zvyšujú odolnosť živočíchov proti chorobám a stresu (Yilmaz a Dizman, 2023).

Cieľom tejto práce bolo zistiť vplyv prídavku 0,5% HL na produkčné parametre a bunkovú imunitnú odpoveď u prasiat.

MATERIÁL A METODIKA

Zvieratá boli rozdelené do dvoch skupín. V každej skupine bolo 12 zvierat. Celkový počet zvierat bol teda 24 krížencov plemien Slovenská biela x Landrace vo veku 35 dní (50 % samcov a 50 % samíc v oboch skupinách). Experiment trval 28 dní, pričom obom skupinám bolo podávané rovnaké krmivo. Prasatá boli zvážené pred a po experimente, aby sa určil priemerný denný prírastok telesnej hmotnosti. Denný príjem krmiva v oboch skupinách bol zaznamenávaný. Konverzný pomer krmiva sa stanovil ako pomer medzi príjmom krmiva a prírastkom telesnej hmotnosti. Krmivo obsahovalo obilné zrná ako kukuricu, pšenicu, a jačmeň, sójový šrot a minerálno-vitamínovo-aminokyselinovým premixom. Pitná voda a kŕmne zmesi boli k dispozícii prasiatkam ad libitum. Doplnok HL (HUMAC® Natur AFM; Humac, s.r.o., Košice, Slovensko) obsahoval zmes humínových a fulvokyselín (min. 65 % a 5 % v sušine).

Táto štúdia bola schválená etickou komisiou UVMP v Košiciach (2022-11).

Testovanie aktivity fagocytov a subpopulácií lymfocytov

Na stanovenie fagocytárnej aktivity a pohlcovacej aktivity fagocytov bol použitý komerčný test Phagotest® (Celonic, Nemecko). Pri použití komerčného testu bol dodržaný postup uvádzaný výrobcom. Na identifikáciu vybraných subpopulácií sa použil priamy test imunofarbenia lymfocytov.

Použité boli dve kombinácie konjugovaných myších anti-prasacích monoklonových protilátok, a to CD3e-FITC + CD21- R-PE (BD Biosciences, USA; SuthernBiotech, USA) a CD4-FITC + CD8a-R-PE + CD25-PE-Cy7 (AbD Serotec, UK; eBioscience, USA). Heparinizovaná krv bola inkubovaná s monoklonovými protilátkami 15 minút v tme pri laboratórnej teplote. Po inkubácii sa 1 ml BD FACS lyzačného roztoku pridal do skúmaviek, ktoré boli následne inkubované ďalších 20 minút v tme pri laboratórnej teplote a následne sa centrifugovali (300 x g počas 5 minút). Bunky boli následne premyté a dvakrát centrifugované s 1 ml fyziologického fosfátového pufra (PBS; MP Biomedicals, Francúzsko) pri 300 x g počas

5 minút. Nakoniec boli bunky resuspendované v 200 µl PBS roztoku. Nasledovala analýza prietokovým cytometrom.

Analýza fagocytárnej aktivity, ako aj identifikácia subpopulácií lymfocytov sa vykonala prietokovom cytometri BD FACSCanto™ pomocou softvéru BD FACS Diva™ (Becton Dickinson Biosciences, USA).

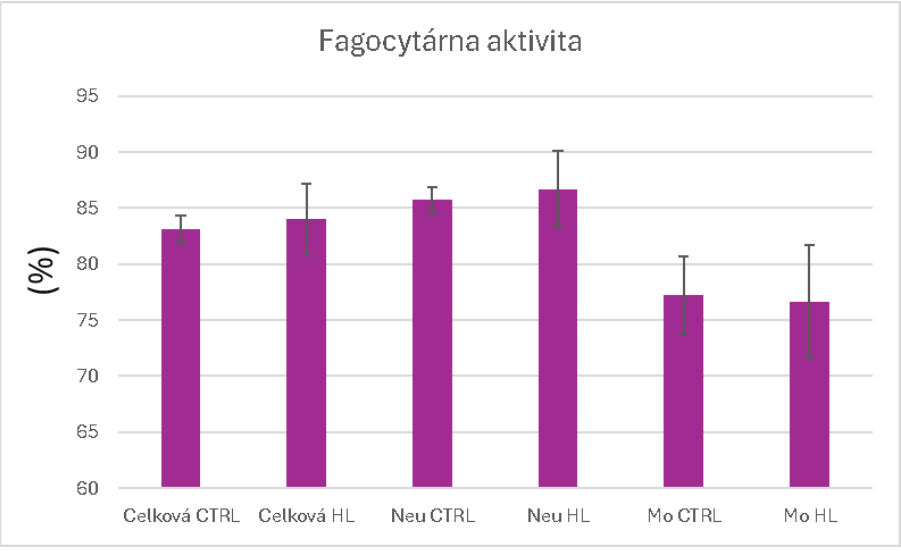
Štatistické vyhodnotenie

Štatistické vyhodnotenia bolo vykonané pomocou nepárového T-testu (štatistický softvér GraphPad Prism 8.0). Hodnoty líšiace sa na hladine významnosti $P < 0,05$, $P < 0,01$ a $P < 0,001$ boli považované za štatisticky významné.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

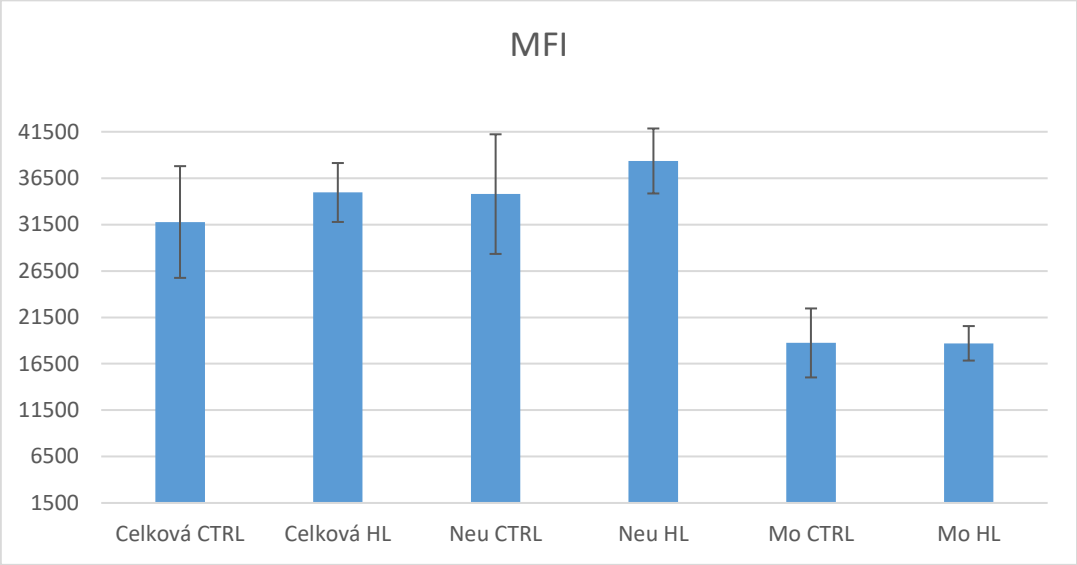
Prídavok HL do kŕmnej zmesi pre prasatá významne nevplýval na percento aktívnych fagocytov (Obrázok č. 1) a taktiež nebola významne ovplyvnená pohlcovacia schopnosť fagocytov (Obrázok č. 2). Avšak v experimentálnej skupine oproti kontrolnej boli zaznamenané vyššie hodnoty týchto parametrov (Obrázok č. 1 – 2). Mudroňová a kol., 2020 zaznamenali pri použití prídavku 0,8 % HL pre bojlerové kurčatá v experimentálnej skupine signifikantne výrazne vyššiu fagocytárnu aktivitu, ako aj vyššiu priemernú intenzitu fluorescencie. Podobne aj štúdia Habibiana a kol., 2010 poukazuje na signifikantný nárast fagocytárnej aktivity po použití 0,5% HL.

Obrázok č. 1, Fagocitárna aktivita - Vplyv humínových látok na aktivitu fagocytov v krvi prasiat hodnotenú.



Celková CTRL – celková fagocytárna aktivita pre kontrolnú skupinu, Celková HL – celková fagocytárna aktivita pre experimentálnu skupinu, Neu CTRL – fagocytárna aktivita neutrofilov pre kontrolnú skupinu, Neu HL – fagocytárna aktivita neutrofilov pre experimentálnu skupinu, Mo CTRL – fagocytárna aktivita monocytov pre kontrolnu skupinu, Mo HL – fagocytárna aktivita monocytov pre experimentálnu skupinu. *Zdroj : vlastný obrázok*

Obrázok č. 2, Priemerná intenzita fluorescencie (MFI) - Vplyv humínových látok na pohlcovaciu schopnosť fagocytov.



Celková CTRL – celková MFI pre kontrolnú skupinu, Celková HL – celková MFI pre experimentálnu skupinu, Neu CTRL – MFI neutrofilov pre kontrolnú skupinu, Neu HL – MFI neutrofilov pre experimentálnu skupinu, Mo CTRL – MFI pre kontrolnú skupinu, Mo HL – MFI pre experimentálnu skupinu. *Zdroj : vlastný obrázok*

Prídavok HL do krmiva prasiat významne zvýšil podiel pomocných T-buniek (CD4+CD8-) ($p < 0,001$) (Tabuľka č. 1). Výsledky tiež poukazujú na tendenciu k zvýšeniu počtu ďalších sledovaných subpopulácií lymfocytov ako sú CD3+, CD21+, CD4-CD8+, CD4+CD8+, CD4+CD25+ (Tabuľka č. 1) v prípade experimentálnej skupiny v porovnaní s kontrolnou skupinou. Avšak toto zvýšenie nebolo štatisticky významné. Takisto pomer CD4+ a CD8+ (Tabuľka č. 1) lymfocytov, ako marker imunitnej stimulácie, nepoukazoval na signifikantné zvýšenie. U vybraných subpopulácií lymfocytov sú uvádzané percentuálne hodnoty. Štúdia Mudroňovej a kol., 2020 zaznamenala výrazné zvýšenie percenta CD4+ lymfocytov a pokles CD8+ lymfocytov po aplikácii 0,8% prídavku HL. Konečný pomer CD4+ a CD8+ lymfocytov, ako marker imunitnej stimulácie, vykazoval významné zvýšenie u brojlerových kurčiat. Štúdia Cetina a kol., 2011 zaoberajúca sa nosnicami zaznamenala zvýšenie počtu lymfocytov po podaní HL. Mudroňová a kol., 2021 vo svojej štúdii zameranej na nosnice poukazuje na významné zvýšenie podielu IgM a zníženie podielu CD3+ lymfocytov po aplikácii 0.5% HL. Štúdia Wanga a kol., 2008 zaoberajúca sa vplyvom HL na výkrmové ošípané zaznamenala rozdiel v relatívnych počtoch lymfocytov. Medzi 0. a 8. týždňom bol vyšší pri skupine, ktorej bolo podávané krmivo s prídavkom 10 % HL oproti skupine bez prídavku.

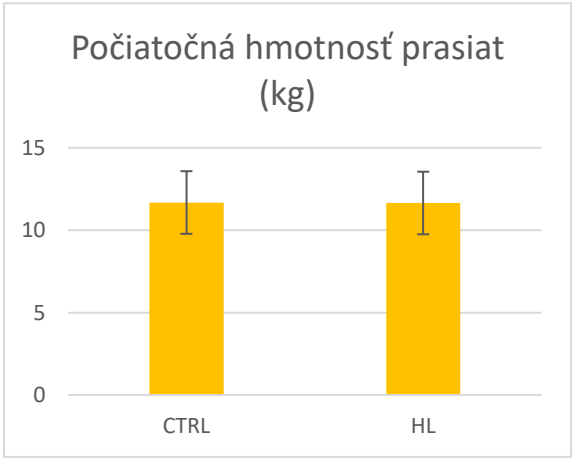
Tabuľka č. 2, Vplyv humínových látok na percento lymfocytov

	Kontrola X ± SD (%)	Experimentálna skupina X ± SD (%)	P - hodnota
CD3+	63,94±3,9	67,6±5,42	0,2832
CD21+	10,08±1,57	10,9±1,91	0,505
CD4+CD8-	14,16±2,16	21±1,55	0,0004
CD8+CD4-	14,22±3,10	16,7±2,8	0,2392
CD4+CD8+	1,9±0,51	3,1±0,96	0,0507
CD4+CD25+	1,98±0,32	2,3±0,29	0,1935
CD4:CD8	1,1±0,33	1,3±0,14	0,2257

X – priemerná hodnota, SD – smerodajná odchýlka. Lymfocyty boli rozdelené na základe povrchových znakov (CD). *Zdroj : vlastná tabuľka*

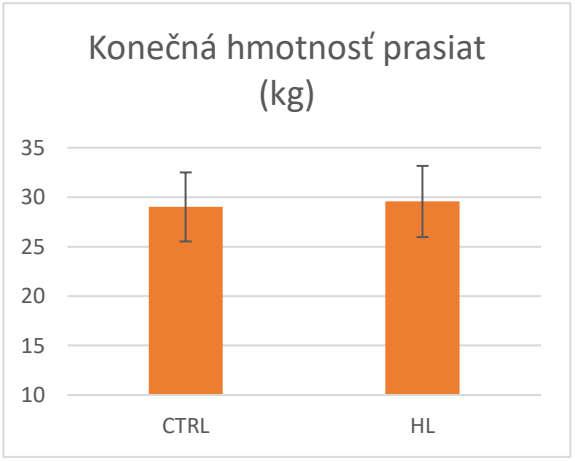
V experimentálnej skupine s prídavkom HL 0,5% v krmive neboli zaznamenané významné zmeny v sledovaných produkčných parametroch ako počiatočnej a konečnej váhy oproti kontrolnej skupine (Obrázok č. 3 – 4). Tak isto neboli zaznamenané štatisticky významné zmeny v konverzii krmiva, ktorá predstavovala pre experimentálnu skupinu 1,76 kg/ kg/ skupinu a 1, 82 1,76 kg/ kg/ pre kontrolnú skupinu. Štúdia Yasara a kol., 2002 zaznamenala po aplikácii humínových kyselín zvýšenie prírastku hmotnosti u potkanov. Zlepšenie prírastku hmotnosti pripisovali zvýšenému príjmu krmiva a zlepšeným pomerom prírastku ku krmivu. Rovnako, HL môžu vytvoriť ochranný film na hlienovom epiteli gastrointestinálneho traktu proti infekciám a toxínom, čím sa zabezpečí lepšie využitie živín z krmiva pre zvieratá (Islam a kol., 2005). Naopak štúdia Ratha a kol., 2006 zaznamenala po podaní HL zníženie telesnej hmotnosti, pričom pomer konverzie krmiva bol numericky vyšší.

Obrázok č 3, Počiatočná hmotnosť prasiat (kg) na začiatku experimentu.



CTRL – kontrolná skupina, HL – experimentálna skupina. *Zdroj : vlastný obrázok*

Obrázok č. 4, Konečná hmotnosť prasiat (kg) po experimente.



CTRL – kontrolná skupina, HL – experimentálna skupina *Zdroj : vlastný obrázok*

ZÁVER

Z výsledkov tejto štúdie vyplýva, že prídavok 0,5 % HL môže pozitívne ovplyvniť niektoré bunkové imunitné parametre u prasiat. Počas štúdie došlo k významnému zvýšeniu podielu CD4+CD8- lymfocytov v experimentálnej skupine oproti kontrolnej. V prípade sledovaných produkčných parametrov nedošlo k štatisticky významným zmenám. Výsledky teda naznačujú, že bunková imunita prasiat môže byť pozitívne ovplyvnená aj nízkou koncentráciou HL, avšak nami zvolená koncentrácia HL mala významný vplyv len na niektoré ukazovatele bunkovej imunity. Preto budú potrebné ďalšie štúdie na určenie vhodnej koncentrácie a potvrdenie stimulačného účinku na imunitu tohto druhu zvierat.

POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla vďaka podpore projektov VEGA 1/0454/22 a VEGA 1/0698/24.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ARIF, M. a kol. Humic acid as a feed additive in poultry diets: A review. In *Iranian Journal of Veterinary Research*. 2019, roč. 20, č. 3, s. 167–172. ISSN 17281997.
2. CETIN, E. a kol. *Effect of dietary humate and organic acid supplementation on social stress induced by high stocking density in laying hens* [online]. 2011. Dostupné na: doi:10.3923/javaa.2011.2402.2407
3. HABIBIAN, R. a kol. *Effect of humic acid on humoral immune response and phagocytosis*. 2010.
4. ISLAM, K.M.S. a kol. Humic Acid Substances in Animal Agriculture. In *Pakistan Journal of Nutrition* [online]. 2005, roč. 4, č. 3, s. 126–134. ISSN 16805194. Dostupné na: doi:10.3923/pjn.2005.126.134
5. MUDROŇOVÁ, D. a kol. The effect of humic substances on gut microbiota and immune response of broilers. In *Food and Agricultural Immunology* [online]. 2020, roč. 31, č. 1, s. 137–149. ISSN 14653443. Dostupné na: doi:10.1080/09540105.2019.1707780
6. MUDROŇOVÁ, D. a kol. Effects of dietary supplementation of humic substances on production parameters, immune status and gut microbiota of laying hens. In *Agriculture (Switzerland)* [online]. 2021, roč. 11, č. 8. ISSN 20770472. Dostupné na: doi:10.3390/agriculture11080744
7. PEÑA-MÉNDEZ, E.M. a kol. Humic substance - Compounds of still unknown structure: Applications in agriculture, industry, environment, and biomedicine. In

Journal of Applied Biomedicine [online]. 2005, roč. 3, č. 1, s. 13–24. ISSN 12140287. Dostupné na: doi:10.32725/jab.2005.002

8. RATH, N.C. a kol. Effects of humic acid on broiler chickens. In *Poultry Science* [online]. 2006, roč. 85, č. 3, s. 410–414. ISSN 15253171. Dostupné na: doi:10.1093/ps/85.3.410
9. WANG, Q. a kol. Effects of supplemental humic substances on growth performance, blood characteristics and meat quality in finishing pigs. In *Livestock Science* [online]. 2008, roč. 117, č. 2–3, s. 270–274. ISSN 18711413. Dostupné na: doi:10.1016/j.livsci.2007.12.024
10. YANG, F. a kol. Natural and artificial humic substances to manage minerals, ions, water, and soil microorganisms. In *Chemical Society Reviews* [online]. 2021, roč. 50, č. 10, s. 6221–6239. ISSN 14604744. Dostupné na: doi:10.1039/d0cs01363c
11. YASAR, S. a kol. Performance and ileal histomorphology of rats treated with humic acid preparations. In *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* [online]. 2002, roč. 86, č. 7–8, s. 257–264. ISSN 09312439. Dostupné na: doi:10.1046/j.1439-0396.2002.00383.x
12. YILMAZ, R.F. a kol. The use of humic acids in the fight against Varroa destructor (Mesostigmata: Varroidae). In *Acarological Studies* [online]. 2023, roč. 5, č. 1, s. 1–10. Dostupné na: doi:10.47121/acarolstud.1146616

Kontaktná adresa: Kollár Moskáľová, Lenka, Department of Microbiology and Immunology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: lenka.moskalova@student.uvlf.sk

HUMÍNOVÉ LÁTKY A ICH VPLYV NA KVALITU A BEZPEČNOSŤ MÄSA

HUMIC SUBSTANCES AND THEIR INFLUENCE ON THE QUALITY AND SAFETY OF MEAT

Koréneková Beáta, Kožárová, Ivona

Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

ABSTRACT

This work deals with the composition of humic substances and assessment of the effect of humic substances as an organic supplement in diets of various animals. Research findings on the protective effect of humic acids on animal health are presented. The work also points to the impact of the application of humic substances on the safety, quality of meat and the improvement of sensory properties of the meat produced.

Key words: humic substances, quality, safety, meat

ÚVOD

Humínové látky vznikajú rozkladom organickej hmoty a bežne sa nachádzajú prirodzene v prírode a to v pôde, v rašeline a vo vode. Aktívne zložky humínových látok pozostávajú z humínov, humínových kyselín a fulvových kyselín. Humíny sa vyznačujú čiernou farbou, majú vysokú molekulovú hmotnosť a sú vo vode úplne nerozpustné pri akejkoľvek hodnote pH. Humínové kyseliny sú tmavohnedej až čiernej farby, majú strednú molekulovú hmotnosť a sú nerozpustné v kyslom prostredí s pH < 2, ale sú rozpustné v alkalickom prostredí. Fulvové kyseliny sú najsvetlejšie z humínových látok a ich farba je svetlo žltá až žltohnedá. Rozpustné sú bez ohľadu na pH prostredia a majú najnižšiu molekulovú hmotnosť. So zvyšujúcou sa ich molekulovou hmotnosťou sa zvyšuje obsah uhlíka a kyslíka, ich kyslosť a mení sa aj stupeň polymerizácie (Peña-Méndez a kol., 2005).

Humínové látky a ich vplyv na bezpečnosť mäsa

Po obmedzení používania antibiotík ako kŕmnych doplnkových látok na podporu rastu produkčných zvierat výskumníci hľadali nové kŕmne doplnkové látky, ktoré nie sú škodlivé pre ľudské zdravie (Enberg a kol., 2000). Zmesi na báze humínových kyselín majú potenciál byť alternatívou k antibiotickým stimulátorom rastu v krmive pre brojlery (Ceylan a kol., 2003). Humínové kyseliny sa používajú ako alternatívny rastový stimulátor na zlepšenie úžitkovosti a zdravia hydiny (Arif a kol., 2019). Humáty sa používajú ako súčasť substitučnej terapie pri poruchách tráviaceho traktu, ako je podvýživa a hnačka (EMEA, 1999). Humáty sa aplikujú

tiež na zlepšenie konverzie krmiva u teliat (Kuchnert a kol., 1991) a ako prípravky, ktoré zvyšujú úžitkovosť zvierat (Yoruk a kol., 2004).

Pozitívne účinky humínových kyselín boli pozorované u moriek kŕmených diétou kontaminovanou aflatoxínom B1 a to na črevnú mikrobiotu, integritu čriev a celkovú bunkovú imunitu. To výrazne posilnilo dôvod na ich použitie ako praktického a účinného spôsobu ochrany proti toxicite aflatoxínom B1 (Maguey-Gonzáles a kol., 2024).

Experimentálne bol zistený pozitívny vplyv prídavku humínových látok a fermentovaných produktov do krmiva brojlerových kurčiat, doplnené o kokcidiostatikum salinomycín na obsah jeho rezíduí v jedlých tkanivách. Napriek tomu, že rezíduá salinomycínu boli vo všetkých vzorkách pod maximálnym limitom rezíduí Európskej únie, nevyhnutná a opodstatnená je v záujme ochrany ľudského zdravia potreba kontroly rezíduí antimikrobiálnych látok vrátane kokcidiostatík v živočíšnych produktoch (Hricková a kol., 2024).

Humínové látky a ich vplyv na kvalitu mäsa

Humínové látky s vysokým podielom humínových kyselín (viac ako 40 %) boli klasifikované Európskou komisiou ako kŕmne suroviny použiteľné vo výžive zvierat od roku 2013 (Marcinčák a kol., 2023).

V prípade králika domáceho sa ako najúčinnejší spôsob doplnku výživy javí spojenie pridávania humínových látok a rastlinných olejov do krmiva. Je to vďaka ich synergickému účinku a ich vplyvu na ich optimálny rastový vývoj a produkciu králičieho mäsa so zníženým obsahom tuku. Tento pozitívny efekt sa prejavil po 0,5 % aplikácii humínových kyselín do krmiva králikov a to v znížení obsahu vnútro svalového tuku ako aj v znížení celkového množstva cholesterolu v krvnom sére králikov (Lacková a kol., 2022).

Zistené bolo tiež u brojlerových kurčiat, že prídavok humínových látok ako rastového stimulátora v pitnej vode alebo v diéte zlepšuje ich rast a kvalitu mäsa kurčiat (Disetlhe a kol., 2019), vplývajú na prírastok hmotnosti brojlerových kurčiat a tiež zvyšuje hmotnosť a produkciu vajec u nosníc (Arif a kol., 2019). Použitie humínových kyselín v množstve 1 až 1,5 g/kg krmiva do diéty brojlerových kurčiat má pozitívny účinok z hľadiska jatočných ukazovateľov, ako aj pri získaní najcennejších častí kurčiat ako sú prsia a stehná. Je to dosiahnuté vďaka intenzívnemu rastu svalového tkaniva kurčiat (Simakova a kol., 2021). Humínové látky zvyšujú obsah bielkovín a znižujú obsah tuku v prsnej svalovine. Prispievajú tak k zlepšeniu senzorických vlastností mäsa (Marcinčák a kol., 2023). Aplikácia humínových látok sa prejavuje vplyvom na farbu mäsa, na obsah vody zadržiavanej v mäse, na pH prsnej a stehennej svaloviny, na obsah vápnika, fosforu, glukózy, celkových proteínov, triglyceridov a cholesterolu ako aj na jatočnú výťažnosť brojlerov (Ozturk a kol. 2012). Prídavok humínových

kyselín vyvoláva merateľné zmeny v hodnotách pH a vo parametroch farby mäsa pochádzajúceho konkrétne z kuracích pŕs (Ozturk a kol., 2014). Humínové kyseliny zlepšujú vzhľad mäsa, najmä pokiaľ ide o svetlosť a sčervenanie (Hudák a kol. 2021). Zmenu farby mäsa vyvolanú doplnkom humínových látok možno vysvetliť zvýšenou rezorpciou minerálov z kŕmnej zmesi (Semjon a kol., 2020). Fyzikálne vlastnosti mäsa brojlerov ako sú hodnota pH mäsa a farba mäsa sú veľmi podstatné, nakoľko mäso z brojlerov sa v súčasnosti zvyčajne konzumuje porciované vo forme hydinových dielov alebo tiež ako rôzne spracované hydinové produkty (Džinić a kol., 2015).

Senzorické hodnotenie vareného mäsa pochádzajúceho z prsného svalu brojlerových kurčiat, ktoré boli kŕmené diétou s prídavkom 0,1 % humínových kyselín samostatne, alebo v kombinácii aj s 0,02 % organických kyselín, poukázalo na signifikantný vplyv týchto prídavkov na zlepšenie farby a vône mäsa prsnej svaloviny kurčiat a to konkrétne na jemnosť, šťavnatosť a celkovú prijateľnosť mäsa kurčiat (Akaichi a kol., 2022). Významné zlepšenie niektorých senzorických charakteristík môže súvisieť so schopnosťou humínových kyselín zvyšovať oxidačnú stabilitu tukov, ktoré sa nachádzajú v mäse (Hudák a kol., 2021). Humínové látky obsahujú polyfenolické zložky a vykazujú in vitro dostatočnú antioxidačnú kapacitu, ktorá môže inhibovať oxidačný proces (Karadirek a kol., 2016). Antioxidačný účinok humínových látok pravdepodobne súvisí s obsahom elektrón-donorových fenolových skupín a prítomnosťou kyslých skupín (–COOH, –OH) ako uvádza Dell'Anno a kol. (2020).

ZÁVER

Na záver môžeme konštatovať, že v rôznom rozsahu a forme použité humínové látky ako doplnky výživy zvierat sa prejavili na zlepšení celkového zdravotného stavu zvierat. Prídavky humínových látok ovplyvnili aj bezpečnosť a kvalitu mäsa a tak mali pozitívny účinok na zdravie konzumentov. Aplikácia humínových látok zlepšila tiež organoleptické deskriptory mäsa, ako sú farba a vôňa vareného mäsa.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Akaichi, A., Jebali, A., Benlarbi, M., Mahjoub, T., Kaboudi, K., Chaouacha-Chekir, R.B., a Haouasf, Z. Boudhrioua, N.: Effects of humic acid and organic acids supplements on performance, meat quality, leukocyte count, and histopathological changes in spleen and liver of broiler chickens, Res. Vet. Sci., 150, 2022, 179-188.
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. Iranian J. Vet. Res., 20, 2019, 167-172.

3. Ceylan, N., Ciftci, I., Ilhan, Z.: The effects of some alternative feed additives for antibiotic growth promoters on the performance and gut microflora of broiler chicks. Turkish J. Vet. Anim. Sci., 27, 2003, 727-733.
4. Džinić, N. Puvača, N. Tasić, T., Ikonić, P. Okanović, D.: How meat quality and sensory perception is influenced by feeding poultry plant extracts, Poult. Sci. J., 71, 2015, 673-682.
5. Disetlhe, A.R.P, Marume, U. Mlambo, V. Hugo, A.: Effects of dietary humic acid and enzymes on meat quality and fatty acid profiles of broiler chickens fed canola-based diets, Asian-Australas. J. Anim. Sci., 32, 2019, 711-720.
6. Dell'Anno, M. Hejna, M., Sotira, S., Caprarulo, V., Reggi, S., Pilu, R.,Miragoli, F., C allegari, M.L., Panseri, S., Rossi, L.: Evaluation of leonardite as a feed additive on lipid metabolism and growth of weaned piglets, Anim. Feed Sci. Technol., 266, 2020, 114519.
7. EMEA, Committee for Veterinary Medicinal Products. Humic Acids and Their Sodium Salt summary report. The European Agency fort the Evaluation of Medicinal Products. EMEA/MRL/554–99-final, 1999, Canary Wharf, London, E14 4HB, UK.
8. Enberg, R. M., Hedemann. M.S., Leser, T.D., Jensen, B.B.: Effect of Zinc Bacitracin and Salinomycin on Intestinal Microflora and Performance of Broilers. Poul. Sci. 79, 2000, 1311-1319.
9. Maguey-González, J.A. Liu, J., Zhang, G.: Assessment of the Impact of Humic Acids on Intestinal Microbiota, Gut Integrity, Ileum Morphometry, and Cellular Immunity of Turkey Poults Fed an Aflatoxin B1-Contaminated Diet, Toxins, 2024, 16, 122, 1-16.
10. Hricikova, S., Kožárová, I., Koréneková, B., Marcinčák, S.: The Effect of the Supplementation of Humic Substances and Fermented Products in the Feed on the Content of Salinomycin Residues in Poultry Tissues, Foods 2024, 13, 1, 68.
11. 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, 4, 1-15.
12. Karadirek, S. Kanmaz, N. Balta, Z. Demirçivi, P. Üzer, A. Hızal, J.: Determination of total antioxidant capacity of humic acids using CUPRAC, Folin-Ciocalteu, noble metal nanoparticle-and solid-liquid extraction-based methods, Talanta., 153, 2016, 120-129.
13. Kuchnert, V.M., Bartels. K.P., Kroll, S., Lange, N.: Huminsarehaltige tierarzneimittel in therapie and prophylaxe bei gastrointestinalen erkrankungen von hund und katze. Mon. Vet., 46, 1991, 4-8.

14. Lacková, Z, Zigo, F., Farkašová, Z., Ondrašovičová, S.: The Effect of Humic Substances as an Organic Supplement on the Fattening Performance, Quality of Meat, and Selected Biochemical Parameters of Rabbits, Life, 2022,12, 1016, 1-6.
15. Marcinčák, S., Semjon, B., Marcinčáková, D., Reitznerová, A., Mudroňová, D., Vašková, J., Nagy J.: Humic Substances as a Feed Supplement and the Benefits of Produced Chicken Meat, Life, 13, 927, 2023, 1-13.
16. 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, 59-65.
17. Ozturk, E, Coskun, I., Ocak, N., Erener, G., Dervisoglu, M., Turhan, S.: Performance, meat quality, meat, mineral contents and caecal microbial population responses to humic substances admistered in drinking water in broilers. Br. Poul. Sci., 55, 5, 2014, 668-674.
18. Peña-Méndez, E.M.; Havel, J.; Patočka, J. Humic substances -Compounds of still unknown structure: Applications in agriculture, industry, environment, and biomedicine. J. Appl. Biom., 2005, 3, 13–24.
19. Semjon, B. Marcinčáková, D., Koréneková,B., Bartkovský, M. Nagy, J. Turek, P. Mar cinčák, S.: Multiple factorial analysis of physicochemical and organoleptic properties of breast and thigh meat of broilers fed a diet supplemented with humic substances. Poult. Sci., 2020, 90, 1750-1760.
20. Simakova, I., V., Vasiliev, A.A., Vyacheslavovich K. at al.: Role of Humic Substances in Formation of Safety and Quality of Poultry Meat, 2021, Intech Open, 184 pp.
21. Yoruk, M.A., Gul, M., Hayirli, A., Macit, M.: The effects of supplementation of humate and probiotic on egg production and quality parameters during the late laying period in hens. Poult. Sci., 83, 2004, 84-88.

POĎAKOVANIE

Predkladaná práca bola podporená projektom VEGA 1/0662/24.

Kontaktná adresa: MVDr. Beáta Koréneková, PhD., Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Komenského 73, 041 81 Košice, SR, E-mail: beata.korenekova@uvlf.sk

MIKROBIOLOGICKÁ KVALITA KONZERVOVANÉHO ZELENÉHO HRÁŠKU

MICROBIOLOGICAL QUALITY OF PRESERVED GREEN PEAS

Kováčová Mariana, Záhumenská Jana, Dudriková Eva, Výrostková Jana, Eftimová Megyesy Zuzana

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

ABSTRACT

Microbiological control is very important tool used in the food industry to prevent food born diseases. Therefore, the present investigation was undertaken to assess the microbiological quality of deep-frozen and sterilized green peas. In total, four samples of deep-frozen and four samples of sterilized green peas were examined. The microbiological analysis was focused on the total number of microorganisms, the presence of psychrotrophic microorganisms, coliform microorganisms and moulds, as well as the presence of genus *Salmonella*. The inspection of all samples ended up with a very good rating, with the exception of one sample (MH4) of deep-frozen spinach, which, although according to the applicable legislation, met the limits, but among the tested quantity, it had the worst results.

Key words: microbial quality, green peas, sterilization, deep-freezing

ÚVOD

Zelenina tvorí dôležitú súčasť zdravej výživy. Ľudskému organizmu dodáva široké spektrum mikroživín, biologicky aktívnych látok a vlákniny. Vďaka svojmu priaznivému zloženiu, nutričnému profilu a obsahu vlhkosti je však zároveň náchylná na rýchle mikrobiologické znehodnotenie. Hlavnými limitujúcimi faktormi akéhokoľvek spracovania potravín a hlavne zeleniny je mikrobiálne kazenie. Znehodnotenie zeleniny mikroorganizmami je spojené predovšetkým s aktivitou aeróbnych mezofilných baktérií, koliformných baktérií a mikroskopických vláknitých húb (Koreňová a Kuchta, 2023).

Potraviny určené na ľudskú spotrebu musia spĺňať legislatívne mikrobiologické požiadavky, ktoré sú stanovené pre hlbokozmrazenú zeleninu v prílohe č. 10 štvrtej hlave druhej časti Potravinového kódexu Výnosu Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky zo 6. februára 2006 č. 06267/2006-SL, ktorý udáva mikrobiologické požiadavky na potraviny a na obaly na ich balenie. Okrem detekcie prítomnosti mikroorganizmov a patogénnych mikroorganizmov bližšie špecifikovaných

v tomto výnose musia byť ostatné patogénne mikroorganizmy a ich toxíny v takom množstve, ktoré nesmie spôsobiť ohrozenie zdravia ľudí.

Zelený hrášok sa najčastejšie konzervuje použitím mraziarenských teplôt alebo sa spracováva použitím vysokej teploty tzv. sterilizácie. Zmrazovanie predstavuje energeticky náročnú metódu uchovávania potravín pod 0 °C. Počas zmrazovania dochádza k premene tekutej zložky t.j. vody na ľad, čo výrazne znižuje mikrobiálnu a enzymatickú aktivitu prítomných baktérii (Anurag et al., 2015). Medzi patogéne baktérie, ktoré sú nebezpečné pre potravinársky priemysel patrí *Listeria monocytogenes, Salmonella, E. colli, Pseudomonas* spp. Prítomnosť psychrotrofných makroorganizmov (*Listeria monocytogenes* a *Pseudomonas* spp.) je riziková pre ich schopnosť rastu pri nízkych teplotách, ktoré sú používané v potravinárskom priemysle, ktorý tieto chladiarenské teploty používa pri zachovaní kvality produktov a pri predĺžení skladovateľnosti produktov (Manani et al., 2006; Cinar and Onbaşi, 2021).

Sterilizácia zeleniny ako aj jej skladovanie vedie k zmenám fyzikálnych vlastností a chemického zloženia, ako je farba, bioaktívne zlúčeniny a antioxidanty. Avšak hlavnou a najdôležitejšiu úlohou sterilizácie je inaktivácia a usmrtenie prítomných mikroorganizmov použitím vysokých teplôt v kombinácii s nevyhnutným časom čím získame zdraviu neškodnú potravinu (Qu et al., 2021).

Cieľom tejto práce bolo zhodnotiť mikrobiologickú kvalitu hlbokozmrazeného a sterilizovaného zeleného hrášku určeného na priamu spotrebu.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky hlbokozmrazeného (n = 4; MH1,MH2,MH3 a MH4) a sterilizovaného (n = 4; SH1,SH2, SH3 a SH4) zeleného hrášku boli zakúpené v obchodených siatiach nachádzajúcich sa na území Slovenskej republiky. Odber vzorkovanej dávky bol uskutočnený náhodným výberom. Zabalený obsah zeleniny sa premiešal a celkom 50 g vzorky sa asepticky prenieslo do sterilného sáčku, kde sa pridalo 450 ml sterilnej 0,1 % peptónovej vody a prebehla následná homogenizácia na prístroji Stomacher 400 (Seward Medical, London, UK).

Z odobratých vzoriek zeleného hrášku boli pripravené desaťnásobné riedenia podľa STN EN ISO 6887-5. V ďalšom kroku bola vykonaná analýza celkového počtu mikroorganizmov (STN EN ISO 4833), psychrotrofných baktérií (STN ISO 6730), koliformných baktérií (STN ISO 4832) a mikroskopických vláknitých hub (STN ISO 7954). Vzorky boli tiež analyzované na prítomnosť rodu *Salmonella* (STN EN ISO 6579-1).

Vybrané riedenia boli následne vyočkované na povrch vopred predsušeného média špecifického pre danú baktériu. Hodnotenie celkového počtu mikroorganizmov bolo vykonané pri teplote 30 ± 1 °C, 72 h ± 3h za použitia PCA agaru (HiMedia, India), ktorý patrí medzi

neselektívne rastové médium bežne používané na monitorovanie celkového bakteriálneho rastu vo vzorke. Psychrotrofné baktérie boli izolované použitím PCA agaru pri teplote 7 ± 1 °C, 10 dní. Na stanovenie prítomnosti koliformných baktérií bolo použité selektívno-diagnostické médium VČŽL agar (HiMedia, India), ktorý sa podrobil inkubácií pri teplote 30 ± 1 °C, 24 h. Mikroskopické vláknité huby boli stanovené za použitia DRBC agaru (HiMedia, India) t.j. selektívno-diagnostického agaru a inkubácie pri 25 ± 1 °C po dobu 5 dní.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky stanovenia CPM boli u hlbokozmrazeného zeleného hrášku nasledovné: MH1 4,15 log/g; MH2 4,47 log/g; MH3 3,74 log/g a najvyššie množstvo CPM bolo vo vzorke MH4 4,55 log/g. Sterilizovaný zelený hrášok mal vo všetkých testovaných vzorkách (SH1,SH2, SH3 a SH4) počet kolóny pod limitom detekovateľnosti (< 10 KTJ/g).

Výsledky analýzy prítomnosti psychrotrofných mikroorganizmov udávajú, že ich počet vo vzorkách hlbokozmrazeného (n = 4) bol nasledovný: MH1 2,45 10 KTJ/g; MH2 2,39 KTJ/g; MH3 2,08 KTJ/g a MH4 3,11 KTJ/g. Psychrotrofné baktérie sa vo vzorkách sterilizovaného zeleného hrášku (n = 4) vyskytovali v množstve menšom ako 10 KTJ/g.

Vo Výnose MP SR č. 06267/2006-SL, ktorým sa vydáva hlava PK SR o mikrobiologických kritériách sa uvádza, že v hlbokozmrazenej zelenine sa môžu nachádzať koliformné baktérie, a mikroskopicky vláknité huby (Tabuľka č. 1). Táto legislatíva avšak neudáva maximálne limity pre konzervované hermeticky zatvorené výrobky zo zeleniny. Výnos MP SR č. 06267/2006-SL, stanovuje mikrobiologické požiadavky na zeleninové výrobky hermeticky neuzatvorené, kde udáva limity na koliformné baktérie, kvasinky, mikroskopicky vláknité huby a sulfitredukujúce klostrídie.

Výsledky tejto práce potvrdili neprítomnosť koliformných baktérií v troch vzorkách hlbokozmrazeného zeleného hrášku. Prítomnosť koliformných baktérií bola pozitívna v jednej vzorke hlbokozmrazeného zeleného hrášku (MH4). Ich množstvo bolo avšak pod limitom, na základe čoho môžeme konštatovať dodržanie vysokej hygieny v celom výrobnom procese.

Tabuľka č. 1, Mikrobiologické kritéria pre hlbokozmrazenú zeleninu

	n	c	m	M
Koliformné baktérie	5	2	5.10^3	2.10^4
Mikroskopické vláknité huby	5	2	10^3	5.10^3

n – počet vzoriek určený na mikrobiologickú analýzu; **c** - je počet vzoriek z rozsahu výberu (n), v ktorých sa pripúšťa najviac medzná hodnota (M), pričom platí, že vo vzorkách v počte (n) mínus (c) môže byť najviac hodnota (m); **m** - je množstvo mikroorganizmov, ktoré sa pripúšťa v rozsahu výberu (n) v ustanovenom množstve vzorky; **M** - je medzná (výstražná) hodnota počtu mikroorganizmovv ustanovenom množstve vzorky, ktorý sa ešte pripúšťa, ale len v počte vzoriek, ktorý je menší ako (c) alebo sa rovná (c). **Zdroj:** Výnos MP SR č. 06267/2006-SL

Mikroskopické vláknité huby, vytvárajú tenké vlákna nazývané hýfy. Sú prítomne všade tam, kde je sa nachádza vysoký obsah vlhkosti a živín, ktoré udržiavajú ich rast. Sú považované sa za jednu z najčastejších príčin kontaminácie potravín (Adeyeye, 2016). V tejto práci bola zaznamenaná prítomnosť mikroskopických vláknitých húb len u vzorky MH4 (hlbokozmrazený hrášok) v množstve $2x10^1$ KTJ/g.

Alimentárne ochorenia predstavujú ochorenia, u ktorých sú zdrojom nákazy suroviny alebo potraviny. Medzi najčastejších pôvodcov alimentárnych ochorení patria predovšetkým skupina mezofilných mikroorganizmov, ktorá zahŕňa väčšinu patogénnych druhov, napr. rodu *Salmonella*, *Campylobacter*, *Staphylococcus* alebo *Escherichia coli* (Wahyono et al., 2018). Potraviny, ktoré zaraďujeme k rizikovým potravinám sú tie, ktoré svojim zložením poskytujú ideálne prostredie pre rast a množenie patogénov a to v takom prípade, kedy nedošlo k správnemu technologickému ošetreniu alebo došlo k chybám v procese skladovania. V tejto práci sme sa zamerali na dekciu prítomnosti baktérií rodu *Salmonella*. Podľa WHO trpí otravou *Salmonellou* ročne 550 miliónov ľudí a z toho asi 220 miliónov sú deti do 5 rokov. *Salmonella* je jednou zo štyroch kľúčových globálnych príčin hnačkových ochorení (WHO, 2021).

Z našich výsledkov jasne vyplýva, že baktérie *Salmonella* boli nedetekované vo všetkých (n = 8) analyzovaných vzorkách zeleného hrášku čím nepredstavujú riziko pre zdravie ľudí.

Manani et al. (2006), vo svojej práci kde testovali (n = 50) vzoriek hlbokozmrazeného hrášku, zaznamenali CPM v rozmedzí 4,5 ± 0,8 log/g, psychrotrofné baktérie 4,2 ± 0,9 log/g, kvasinky a mikroskopické vláknité huby 2,4 ± 1,4 log/g bez prítomnosti *Salmonella*. Výsledky novšej štúdie vykonanej Mazhari et al. (2024), ktorý okrem iného sledovali taktiež mikrobiologickú kvalitu mrazeného zeleného hrášku (n = 4) , kde zaznamenali v 50 % prítomnosť baktérií rodu *Enterobacteriaceae* a *E.coli*, 25 % prítomnosť *S. typhi, Pseudomonas* a *Klebsiella.* Výsledky našej práce udávajú významne lepšiu mikrobiologickú kvalitu analyzovaných vzoriek mrazeného zeleného hrášku.

ZÁVER

Významným faktorom, ktorý pôsobí na prítomnosť zeleniny a ovocia v obchodných sieťach je ich sezónnosť. Z dôvodu sezónnosti, ale hlavne z hľadiska zabezpečenia mikrobiologickej kvality a predĺženia trvanlivosti dochádza v potravinárskom priemysle k využívaniu takých technológií, ktoré sú šetrné k ich nutričnej hodnote ale predovšetkým slúžia na udržiavanie mikrobiologických limitov a zdravotnej bezpečnosti potravín. Pravidelné kontrolovanie mikrobiologickej kvality potravín predstavuje významný nástroj zabezpečenia produkcie vysokokvalitných a bezpečných potravín.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená projektom KEGA 007UVLF-4/2024.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ADEYEYE, S. Fungal mycotoxins in foods: A review. In *Cogent Food and Agriculture*. ISSN 2331-1932, 2016, vol. 2, no. 1., p. 1213127.
2. ANURAG, R.K. et al. Storage quality of shelled green peas under modified atmosphere packaging at different storage conditions. In *Journal of Food Science and Technology*. ISSN 0975-8402, 2016, vol. 53, no. 3, p. 1640-8.
3. CINAR, A., ONBAŞI, E. 2021. Monitoring environmental microbiological safety in a frozen fruit and vegetable plant. In *Food Science and Technology*. ISSN SSN 1678-457X, 2021, vol. 41, no. 1, p. 232-237.
4. KOREŇOVÁ, J. – KUCHTA, T. Nové trendy v konzervovaní ovocia a zeleniny. In *Trendy v potavinárstve*. ISSN 1336-085X, 2023, p. 9-10.
5. MANANI, I.A. – COLLISON, E.K. – PUCHANE, S. Microflora of Minimally Processed Frozen Vegetables Sold in Gaborone, Botswana. In *Journal of Food Protection*. ISSN 0362-028X, 2006, vol. 69, no. 11, p 2581-2586 .
6. MAZHARI, B.B.Z. et al. Microbial Profile and Antibiotic Susceptibility Pattern of Frozen Food in India. In *Journal of Pure and Applied Microbiology*. ISSN 2581-690X, 2024, vol. 18, no. 1, p. 257-268.
7. QU, Z. et al. Quality of green beans (*Phaseolus vulgaris L.*) influenced by microwave and hot water pasteurization. In *Food Control*. ISSN 0956-7135, 2021, vol. 124, p. 107936.
8. STN EN ISO 4833. Slovenská technická norma - Mikrobiológia potravinárskeho reťazca. Horizontálna metóda na stanovenie počtu mikroorganizmov.
9. STN EN ISO 6579-1. Slovenská technická norma - Mikrobiológia potravinárskeho reťazca. Horizontálna metóda na dôkaz, stanovenie počtu a sérotypizáciu baktérií rodu Salmonella.
10. STN EN ISO 6887-5. Slovenská technická norma - Mikrobiológia potravinárskeho reťazca. Úprava analytických vzoriek, príprava základnej suspenzie a desaťnásobných riedení na mikrobiologické skúšanie.
11. STN ISO 4832. Slovenská technická norma - Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu koliformných baktérií. Metóda počítania kolónií.

12. STN ISO 7954. Slovenská technická norma - Mikrobiológia. Všeobecné pokyny na stanovenie počtu kvasiniek a plesní.
13. VÝNOS Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky zo 6. februára 2006 č. 06267/2006-SL, ktorým sa vydáva hlava Potavinového kódexu Slovenskej republiky upravujúca mikrobiologické požiadavky na potraviny a na obaly na ich balenie.
14. WAHYONO, N. D. – UTAMI, M. M. D. A Review of the Poultry Meat Production Industry for Food Safety in Indonesia. In *Journal of Physics Microbiology*. ISSN 1742-6596, 2018, vol. 953, p. 1-4.
15. WORLD HEALTH ORGANIZATION *SALMONELLA* (Non-Typhoidal) [(accessed on 10 November 2021)]. Available online: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal).

Kontaktná adresa: Kováčová Mariana, Department of Food Hygiene, Technology and afety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: mariana.kovacova@uvlf.sk

REZÍDUÁ ANTIMIKROBIÁLNYCH LÁTOK V MÄSE

RESIDUES OF ANTIMICROBIAL SUBSTANCES IN MEAT

Kožárová Ivona, Hriciková Simona

Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, UVLF v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

Food-producing animals may be treated with antimicrobials, which may leave residues in the foodstuffs from treated animals including meat**.** Meat contaminated with antimicrobial residues threatens human health. This article describes the specific requirements for official controls and applicable measures for cases of non-compliance or suspected non-compliance with Union rules applicable to the use of antimicrobials on food-producing animals and to their residues in meat.

Key words: meat, antimicrobials, residues, rules

ÚVOD

V nariadení Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 2017/625 sa okrem iného stanovujú aj osobitné pravidlá pre úradné kontroly týkajúce sa látok, ktorých použitie môže viesť k rezíduám v mäse. Rezíduum je definované ako rezíduum látok s farmakologickým účinkom, metabolitov takýchto látok, produktov rozkladu takýchto látok a iných príbuzných látok prítomných vo zvieratách alebo v produktoch živočíšneho pôvodu (Delegované nariadenie Komisie (EÚ) č. 2022/1644). Overenia dodržania požiadaviek vzťahujúcich sa na prítomnosť rezíduí farmakologicky účinných látok určených na použitie vo veterinárnych liekoch v mäse sa vykonáva úradným veterinárnym lekárom, pod dozorom úradného veterinárneho lekára alebo, ak sú zavedené dostatočné záruky, na zodpovednosť úradného veterinárneho lekára na bitúnkoch, v rozrábkarňach a v prevádzkarňach na manipuláciu so zverou. Farmakologicky účinnosť majú aj antimikrobiálne látky.

Antimikrobiálne látky sú nariadením Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 2019/6 definované ako látky používané na liečbu alebo prevenciu infekcií alebo infekčných chorôb zvierat určených na výrobu potravín zahŕňajúc antibiotiká, antivirotiká, antimykotiká a antiprotozoíká. Overenia dodržania požiadaviek vzťahujúcich sa na prítomnosť rezíduí antimikrobiálnych látok v mäse zahŕňa vykonávanie úradných kontrol spojených s odberom úradných vzoriek za účelom zistenia, či produkty živočíšneho pôvodu vrátane mäsa sú v súlade s nariadením Komisie (EÚ) č. 37/2010 stanovujúcim maximálne limity rezíduí v potravinách

živočíšneho pôvodu. Odber úradných vzoriek môže byť cielený, náhodný alebo vykonávaný v prípade podozrenia. Cielený odber vzorky je odber úradnej vzorky alebo vzoriek s cieľom maximalizovať možnosť zistenia nedodržania maximálnych limitov. Náhodný odber vzorky je odber úradnej vzorky alebo vzoriek podľa štatistických kritérií na zabezpečenie reprezentatívnych údajov. Odber vzorky v prípade podozrenia je odber úradných vzoriek v nadväznosti na nevyhovujúce výsledky kontrol alebo v nadväznosti na akékoľvek podozrenie nedodržania alebo na preukázané nedodržanie pravidiel Európskej únie (EÚ) týkajúcich sa farmakologicky účinných látok (Delegované nariadenie Komisie (EÚ) č. 2022/1644).

V zmysle delegovaného nariadenia Komisie (EÚ) č. 2022/1644 sa rezíduá alebo skupiny látok analyzujú vo vzorkách odobratých zo zvierat určených na výrobu potravín, v prípade potreby vrátane ich výkalov, telesných tekutín a nespracovaných živočíšnych produktov, krmiva, vody a vedľajších živočíšnych produktov. Pri mäse sa odoberajú vzorky len z čerstvého alebo mrazeného mäsa a jedlých mäsových drobov. Vzorky z miest vpichu môžu byť vhodné na kontrolu nezákonného používania látok.

Pravidlá týkajúce sa osobitných požiadaviek na úradné kontroly a opatrení uplatniteľných v prípadoch nedodržiavania alebo podozrenia na nedodržiavanie pravidiel EÚ, ktoré sa vzťahujú na používanie farmakologicky účinných látok v prípade zvierat určených na produkciu potravín a na ich rezíduá sú stanovené delegovaným nariadením Komisie (EÚ) 2019/2090.

OPATRENIA, KTORÉ SA MAJÚ PRIJAŤ NA BITÚNKU V PRÍPADE NEDODRŽIAVANIA ALEBO PODOZRENIA NA NEDODRŽIAVANIE PRAVIDIEL

Ak úradný veterinárny lekár vykonávajúci úradné kontroly na bitúnku alebo úradný veterinárny asistent vykonávajúci pod dozorom úradného veterinárneho lekára alebo na zodpovednosť úradného veterinárneho lekára určité úlohy v rámci týchto kontrol má podozrenie alebo dôkaz, že zvieratá boli podrobené nezákonnému ošetreniu, úradný veterinárny lekár zabezpečí, aby sa prijali tieto opatrenia:

a) nariadi sa, aby prevádzkovateľ držal príslušné zvieratá oddelené od ostatných skupín zvierat, ktoré sa nachádzajú na bitúnku alebo sa naň privážajú, za podmienok, ktoré stanoví príslušný orgán,
b) zabezpečí sa, aby boli zvieratá zabité oddelene od ostatných skupín zvierat, ktoré sa nachádzajú na bitúnku,
c) nariadi sa, aby prevádzkovateľ oddelil jatočné telá, mäso, vedľajšie jatočné produkty a vedľajšie produkty z príslušných zvierat s cieľom bezodkladne ich identifikovať a držať oddelene od ostatných produktov živočíšneho pôvodu a aby sa takéto produkty

neprepravovali, nespracovávali ani neodstraňovali bez predchádzajúceho povolenia príslušného orgánu,

d) nariadi sa odber vzoriek potrebných na zistenie prítomnosti zakázaných alebo nepovolených látok alebo povolených látok v prípade podozrenia z ich používania alebo ich zisteného používania za iných podmienok než tie, ktoré sú stanovené v právnych predpisoch.

Ak sa zistí nezákonné ošetrenie, príslušný orgán prevádzkovateľovi nariadi, aby odstránil jatočné telá, mäso, vedľajšie jatočné produkty a vedľajšie produkty, ako sa stanovuje v nariadení Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009, bez odškodnenia alebo náhrady.

Ak úradný veterinárny lekár vykonávajúci úradné kontroly na bitúnku alebo úradný veterinárny asistent vykonávajúci pod dozorom úradného veterinárneho lekára alebo na zodpovednosť úradného veterinárneho lekára určité úlohy v rámci týchto kontrol má podozrenie, že zvieratá nachádzajúce sa na bitúnku boli ošetrené povoleným veterinárnym liekom, ale nebola dodržaná ochranná lehota uvedená v nariadení Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 2019/6, úradný veterinárny lekár nariadi, aby sa príslušné zvieratá oddelili od ostatných skupín zvierat nachádzajúcich sa na bitúnku alebo naň privážaných za podmienok, ktoré stanoví príslušný orgán. Úradný veterinárny lekár okrem toho:

a) odloží zabitie na náklady prevádzkovateľa až do uplynutia ochrannej lehoty, alebo

b) 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.

Zabitie možno odložiť len dočasne za predpokladu, že úradný veterinárny lekár overil, že sú dodržané právne predpisy EÚ v oblasti dobrých životných podmienok zvierat a že príslušné zvieratá je možné držať oddelene od ostatných zvierat. Po odložení zabitia môže príslušný orgán odobrať na náklady prevádzkovateľa vzorky s cieľom overiť, či sú po zabití zvierat po uplynutí ochrannej lehoty dodržané maximálne limity rezíduí.

Ak úradný veterinárny lekár vykonávajúci úradné kontroly na bitúnku alebo úradný veterinárny asistent vykonávajúci pod dozorom úradného veterinárneho lekára alebo na zodpovednosť úradného veterinárneho lekára určité úlohy v rámci týchto kontrol má dôkaz, že zvieratá nachádzajúce sa na bitúnku boli ošetrené povoleným veterinárnym liekom, ale nebola dodržaná ochranná lehota uvedená v nariadení Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 2019/6, úradný veterinárny lekár nariadi, aby sa príslušné zvieratá oddelili od ostatných skupín zvierat nachádzajúcich sa na bitúnku alebo naň privážaných za podmienok, ktoré stanoví príslušný orgán. Úradný veterinárny lekár okrem toho:

a) odloží zabitie na náklady prevádzkovateľa až po uplynutí ochrannej lehoty. alebo
b) nariadi prevádzkovateľovi, aby zvieratá zabil oddelene. V takom prípade ich úradný veterinárny lekár vyhlási za nevhodné na ľudskú spotrebu a zároveň prijme všetky potrebné preventívne opatrenia na ochranu verejného zdravia a zdravia zvierat.

OPATRENIA, KTORÉ SA MAJÚ PRIJAŤ V PRÍPADE ZISTENIA, ŽE REZÍDUÁ FARMAKOLOGICKY ÚČINNÝCH LÁTOK PREKRAČUJÚ MAXIMÁLNE LIMITY REZÍDUÍ

Ak boli prekročené maximálne limity rezíduí farmakologicky účinných látok stanovené nariadením Komisie (EÚ) č. 37/2010 a potvrdilo sa nedodržanie pravidiel, príslušný orgán vykoná:

a) vyšetrovanie v poľnohospodárskom podniku pôvodu alebo odoslania zvierat vrátane kontrol zvierat alebo skupín zvierat v ich poľnohospodárskych podnikoch pôvodu alebo mieste odoslania s cieľom zistiť rozsah a pôvod nedodržania pravidiel a stanoviť mieru zodpovednosti prevádzkovateľa,
b) požiada chovateľa zvierat alebo zodpovedného veterinárneho lekára, aby predložil záznamy o predpísaných liekoch a ošetreniach a všetku dokumentáciu odôvodňujúcu povahu ošetrenia.

Príslušný orgán následne:

a) vyhlási jatočné telá a produkty, ktorých sa nedodržiavanie pravidiel týka, za nevhodné na ľudskú spotrebu a nariadi prevádzkovateľovi, aby všetky produkty odstránil ako materiál kategórie 2, ako je stanovené v nariadení (ES) č. 1069/2009,
b) prijme akékoľvek ďalšie opatrenia nevyhnutné na ochranu verejného zdravia,
c) nariadi prevádzkovateľovi, aby prijal primerané opatrenia na riešenie príčin nedodržiavania pravidiel,
d) vykoná dodatočné úradné kontroly vrátane odberu následných vzoriek s cieľom overiť, či opatrenia prijaté prevádzkovateľom na riešenie príčiny nedodržiavania pravidiel sú účinné.

V prípade opakovaného nedodržania pravidiel tým istým prevádzkovateľom vykonáva príslušný orgán pravidelné dodatočné úradné kontroly vrátane odberu vzoriek a analýzy v prípade zvierat a produktov od príslušného prevádzkovateľa počas najmenej šiestich mesiacov odo dňa, keď bol zistený druhý prípad nedodržania pravidiel.

ZÁVER

Zdravie zvierat určených na produkciu potravín je reálne prepojené so zdravím ľudí. Konzumácia mäsa kontaminovaného rezíduami antimikrobiálych látok predstavuje možné riziko pre spotrebiteľov alebo určité skupiny obyvateľstva. Pravidlá týkajúce sa osobitných požiadaviek na úradné kontroly a opatrení uplatniteľných v prípadoch nedodržiavania alebo podozrenia na nedodržiavanie pravidiel EÚ, ktoré sa vzťahujú na používanie farmakologicky účinných látok v prípade zvierat určených na produkciu potravín a na ich rezíduá prispievajú k bezpečnosti potravín a ochrane ľudského zdravia.

POĎAKOVANIE

Spracovanie príspevku bolo podporené projektom VEGA č. 1/0662/24.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Delegované Nariadenie Komisie (EÚ) č. 2019/2090 z 19. júna 2019, ktorým sa dopĺňa nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 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. Delegované nariadenie Komisie (EÚ) č. 2022/1644 zo 7. júla 2022, ktorým sa dopĺňa nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2017/625 o špecifické požiadavky na vykonávanie úradných kontrol používania farmakologicky účinných látok povolených ako veterinárne lieky alebo ako kŕmne doplnkové látky a zakázaných alebo nepovolených farmakologicky účinných látok a úradných kontrol ich rezíduí. Úradný vestník Európskej únie L 248, 26. 9. 2022, s. 3–17.
3. 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. 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. Úradný vestník Európskej únie L 95, 7. 4. 2017, s. 1–142.

5. 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.
6. 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.

Kontaktná adresa: Kožárová Ivona, Department of Food Hygiene, Technology and Safety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: ivona.kozarova@uvlf.sk

SENZORICKÁ KVALITA FERMENTOVANÉHO MÄSOVÉHO VÝROBKU PO PRÍDAVKU STÉVIE CUKROVEJ (*STEVIA REBAUDIANA*)

SENSORY QUALITY OF FERMENTED MEAT PRODUCT AFTER THE ADDITION OF STEVIA (*STEVIA REBAUDIANA*)

Kročko Miroslav, Hanuska Adam, Bobko Marek, Mesárošová Andrea

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

ABSTRACT

Stevioside is an extract from Stevia rebaudiana Bertoni and is a new renewable food material on the world market. Grinded pork with the addition of spices and starter culture was divided into five experimental groups. The starter culture contained the bacterial species *Staphylococcus xylosus, Pediococcus pentosaceus* and *Lactobacillus plantarum*. The experimental groups successively contained table sweetener in amounts of 0.1 and 0.2 g. kg^{-1} and dried stevia leaves in the same amount. Products with the addition of stevia rebaudiana in the amount of 0,2 g. kg^{-1} and 0.1 g. kg^{-1} after sensory analysis were characterized by a decreased acidity after 30 days of maturation.

Key words: fermented salami, starter culture, sensory analysis, steviol, *Stevia rebaudiana*

ÚVOD

Sacharidy sa predovšetkým používajú ako substrát pre žiaduce okyslenie mikroflórou. Prídavok do fermentovaných mäsových výrobkov ovplyvňuje intenzitu fermentácie, jej rýchlosť a okyslenie výrobkov. Pridávané množstvo prestavuje 0,4 až 0,8 %, maximálne 3 %. Dôležitým faktorom ich trvanlivosti je zvyšovanie kyslosti fermentovaných mäsových výrobkov. Pri ich výrobe sa používajú monosacharidy (glukóza a fruktóza), disacharidy (laktóza a sacharóza), ale aj oligosacharidy (škrobový sirup) (Kameník et al., 2012).

Na množstve pridaného cukru závisí rýchlosť fermentácie. Veľmi rýchlo je fermentovaná glukóza, pomalšie sacharóza a najpomalšie škrobový sirup. Veľmi časté je používanie rôznych zmesí cukrov, jednu časť tvoria rýchlo skvasiteľné cukry, čím sa dosiahne potrebné okyslenie na začiatku fermentácie. Bobko et al. (2021) a Kadlec et al. (2011) tvrdia, že nevhodné dávkovanie cukru alebo príliš vysoká teplota pri fermentácii môže spôsobiť neúmerné pomnoženie baktérii rodu *Lactobacillus*, taktiež k nadmernému okysleniu a silnej tvorbe oxidu uhličitého, ktorý spôsobí pórovitosť, praskanie alebo nafúknutie výrobkov. Marianski a Marianski, (2010) tvrdia, že baktérie mliečneho kysnutia dokážu rôzne typy cukrov

spracovávať inak. Zatiaľ čo dextrózu (glukózu) dokážu priamo rozkladať na kyselinu mliečnu tak ostatné cukru musia rozštiepiť na monosacharidy a ž následne na kyselinu mliečnu (tento proces je časovo náročnejší).

Stévia rebaudiana Bertoni (nazývaná aj ako stévia sladká, stévia cukrová, sladká tráva alebo medové lístky) je druh rastliny, ktorá má okolo 200 druhov a zaradujeme ju do kmeňa Eupatoriaceae, čeľaď Astrovité (*Asteraceae*). Je to vytrvalá rastlina, ktorá dorastá do výšky 1 až 1,5 m (Lemus-Mondaca et al., 2012).

Steviozid je extrakt pochádzajúci zo Stévie rebaudiana Bertoni a je to nový obnoviteľný potravinový materiál na svetovom trhu. Stéviozidové glykozidy sú diterpény izolované a identifikované ako steviozid a rebaudiozid A, B, C, D, E, F a dulcozid (Geuns, 2003). Glykozidy nachádzajúce sa v listoch rastliny tvoria až 15% obsahu, v závislosti od odrody. Obsah rebaudiozidu B je zanedbateľný v porovnaní s obsahom steviozidu. Purifikované extrakty získané z listov Stévie, ktoré sú ponúkané na trhu obsahujú až 80% steviozidu alebo 90% rebaudiozidu A (Gardana et al., 2010). Sladivosť rebaudiozidov sa zvyšuje so zvyšujúcim sa počtom cukrových jednotiek viazaných na aglykón. Rebauzioid A, ktorý má ďalšiu jednotku glukózy v porovnaní so steviozidom, je vynikajúci, pokiaľ ide o sladivosť a kvalitu chuti. Čistý steviozid zvyčajne vytvára výraznú horkú chuť (de Oliveira et al., 2007).

MATERIÁL A METODIKA

Pripravené rozomleté mäsové dielo, ktoré sme pripravili sa rozdelilo na päť častí. Do všetkých piatich vzoriek sme pridali 0,2 g.kg-1 štartovacej kultúry Lyocarni SHI-59 (Clerici Sacco, Taliansko). Táto štartovacia kultúra obsahovala bakteriálne druhy *Staphylococcus xylosus, Pediococcus pentosaceus* a *Lactobacillus plantarum*. Prvá časťdiela sa označila ako kontrolná skupina. Do druhej časti diela sa pridalo 0,2g. kg^{-1} stolového sladidla na báze erytritolu a glykozidov steviolu (erythritol rastlinného pôvodu a glykozidy steviolu (Reb A 97%, Francúzsko), do tretej časti sa pridalo tiež stolové sladidlo na báze erytritolu a glykozidov steviolu v množstve 0,1g. kg^{-1}. Štvrtá a piata vzorka mäsového diela obsahovala 0,2g. kg^{-1} a 0,1g.kg^{-1} podrvených listov Stévie cukrovej. Listy stévie sa pred použitím sušili v sušičke G21 Paradiso Cube (Vitality, Česká republika) a následne podrvili v mažiari. Pripravené skupiny sa označili nasledovne:

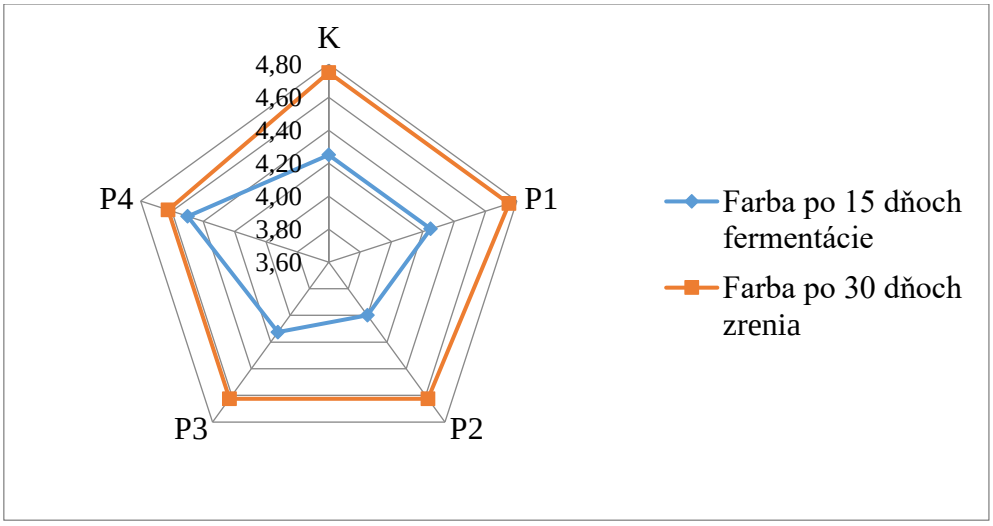
Vzorka č. 1.- štartovacia kultúra (K); Vzorka č. 2.- štartovaciu kultúra so stolovým sladidlom na báze erytritolu a glykozidov steviolu v množstve 0,2g. kg^{-1} (P1); Vzorka č. 3.- štartovacia kultúra so stolovým sladidlom na báze erytrhitolu a glykozidov steviolu v množstve 0,1g. kg^{-1} (P2); Vzorka č. 4.- štartovacia kultúra so sušenými listami stévie cukrovej v množstve

0,2g.kg^{-1} (P3); Vzorka č. 5.- štartovacia kultúra so sušenými listami stévie cukrovej v množstve 0,1g.kg^{-1} (P4).

Každá skupina mäsového diela sa dôkladne premiešala a zvlášť sa plnila do bravčových čriev s priemerom 32 mm. Počas príprav mäsového diela sa potupovalo tak, aby sa predišlo možnosti jeho sekundárnej kontaminácie mikroorganizmami. Mäsové výrobky sa následne vysušili a zároveň sa vyfarbili v klimatizovanej komore po dobu cca 10 hodín. Po tejto fáze nasledovalo údenie studeným dymom cca 2 hodiny. Po vyúdení sa opäť vložili do klimatizovanej komory. V komore sa menila (postupne) relatívna vlhkosť z 90 % na 75% a teplota z 18°C na 16°C. Senzorickou analýzou sa sledovali parametre ako je farba na reze, vzhľad po tepelnej úprave, vôňa, chuť, šťavnatosť výrobku, kyslosť a celkové výsledné posúdenie výrobku. Výrobok prešiel 20 minútovým varom a senzorická analýza prebiehala po 15 dňoch fermentácie a 30 dňoch zrenia. Na senzorickej analýze mäsových výrobkov sa zúčastnili piati hodnotitelia.

Senzorická analýza sa uskutočnila v senzorickom laboratóriu a zúčastnili sa ho 5 hodnotiaci členovia, ktorí posudzovali vzorky fermentovaných mäsových výrobkov, ktoré prešli 20 minútovým tepelným ošetrením. Výrobky sa hodnotili na základe vopred zvolených deskriptorov a posudzovali sa jednotlivo. V priebehu senzorického hodnotenia vzoriek sa posudzoval vzhľad po tepelnom opracovaní, farba na reze, vôňa, kyslosť, výsledné posúdenie, chuť a šťavnatosť výrobkov. Hodnotenie výrobkov sa uskutočnilo pomocou päť bodovej stupnice. Ako najlepší sa ohodnotil ten výrobok, ktorému pripadlo päť bodov. Senzorické hodnotenie mäsových výrobkov sa uskutočnilo po 15 dňoch fermentácie a 30 dňoch zrenia.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

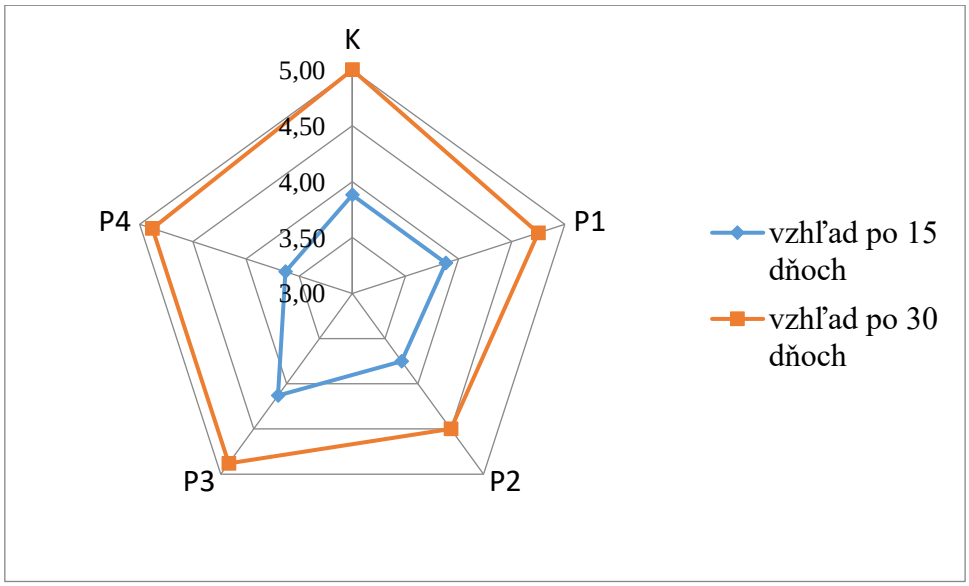


Obrázok č. 1, Senzorická analýza farby tepelne upravených mäsových výrobkov po 15 a 30 dňoch zrenia a skladovania

Najvyšším počtom bodov sa ohodnotili tie mäsové výrobky, ktoré po tepelnom spracovaní a rozrezaní mali najpriaznivejšie vyfarbenie a mozaika výrobku vytvárala prirodzenú štruktúru mäsového výrobku. Použitá červená paprika by mala ovplyvniť farbu a výrobok zafarbiť do červených odtieňov. Mozaika výrobku by mala mať nepravidelnú štruktúru a nepravidelné striedanie tučných a chudých zŕn výrobku.

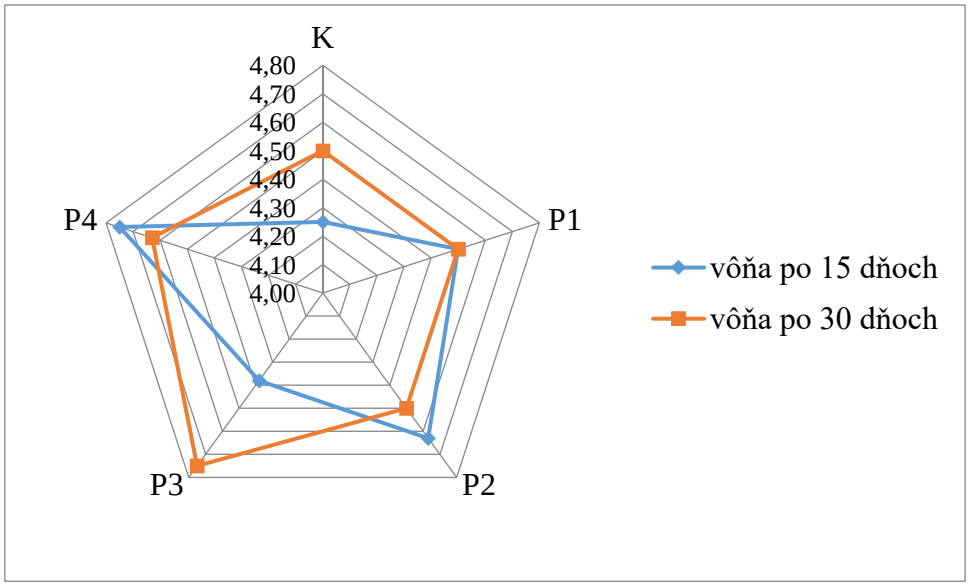
Senzorickým hodnotením po 15 dňoch fermentácie sa zistilo najvyššie bodové hodnotenie pridelené za farbu vzorkám P4, ktoré obsahovali sušené listy stévie v množstve 0,1 g. kg^{-1}. Najnižšie bodové ohodnotenie za farbu získala vzorky P2, ktorá obsahovali stolové sladidlo v množstve 0,1 g. kg^{-1}. Rovnaké ohodnotenie farby po 15 dňoch fermentácie získala kontrolná vzorka a vzorka P1, ktorá obsahovala stolové sladidlo v množstve 0,2 g. kg^{-1}.

Po 30 dňoch zrenia sa intenzita charakteristickej farby mäsových výrobkov v porovnaní s výsledkami získanými po 15 dňoch fermentácie výrazne zvýšila. Najvyšší bodový nárast sa po 30 dňoch zrenia v porovnaní s výsledkami zistenými po 15 dňoch fermentácie zistil vo vzorkách P2 a naopak najnižší nárast sa zaznamenal vo vzorkách P4.



Obrázok č. 2, Senzorická analýza celkového vzhľadu po tepelne upravených mäsových výrobkov po 15 a 30 dňoch zrenia a skladovania

Tepelne opracované výrobky, ktoré sa vyznačovali súdržnou a celistvou konzistenciou s lesklým rezom sa ohodnotili najvyšším počtom bodov. Najvyššie bodové ohodnotenie pridelené za vzhľad a konzistenciu po 15 dňoch fermentácie získali vzorky P3, ktoré obsahovali sušené listy stévie v množstve 0,2 g. kg^{-1}. Najnižší počet bodov pridelených za vzhľad a konzistenciu získali vzorky P4, ktoré obsahovali sušené listy stévie cukrovej v množstve 0,1 g. kg^{-1}.

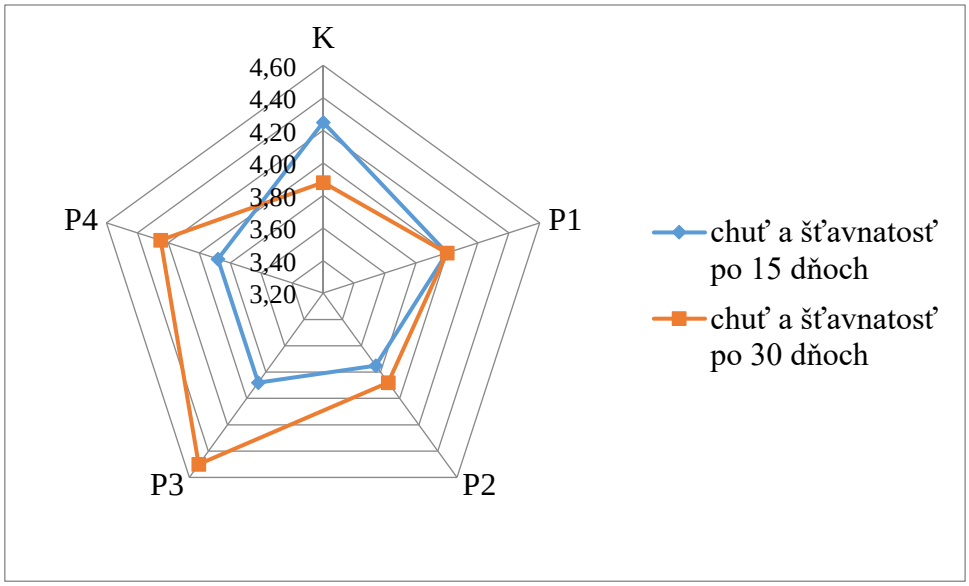


Obrázok č. 3, Senzorická analýza vône po tepelne upravených mäsových výrobkov po 15 a 30 dňoch zrenia a skladovania

Výrobky, ktoré sa vyznačovali charakteristickou vôňou po použitých koreninách a údení získali najvyššie bodové ohodnotenie. Po 15 dňoch fermentácie sa zistili nasledovné bodové ohodnotenia vône fermentovaných mäsových výrobkov: 4,25 (K), 4,50 (P1), 4,63 (P2), 4,38 (P3) a 4,75 (P4). Z nasledujúcich výsledkov vyplýva, že najvyššie bodové ohodnotenie pridelené za vôňu po 15 dňoch fermentácie získali vzorky P4, ktoré obsahujú sušené listy stévie v množstve 0,1 g. kg^{-1}. Najnižšie bodové ohodnotenie za vôňu získali vzorky kontrolnej skupiny.

Nasledujúce výsledky senzorickej analýzy vône mäsových výrobkov sa získali po 30 dňoch zrenia. Intenzita charakteru vône mäsových výrobkov sa v porovnaní s výsledkami získanými po 15 dňoch fermentácie výrazne menila : 4,50 (K, P1 a P2), 4,75 (P3) a 4,63 (P4). Najvyššie bodové ohodnotenie získali vzorky P3, ktoré obsahujú 0,2 g. kg^{-1} sušených listov stévie. Najnižšie bodové ohodnotenie získala kontrolná vzorka, vzorka P1 a P2. Najvyšší nárast intenzity vône zistenej po 30 dňoch zrenia sa v porovnaní s výsledkami zistenými po 15 dňoch fermentácie zistil vo vzorkách P3. Vo vzorkách P1 sa intenzita vône po 30 dňoch zrenia v porovnaní s výsledkami získanými po 15 dňoch fermentácie výrazne nemenila a vo vzorkách P2 a P4 sa mierne znížila.

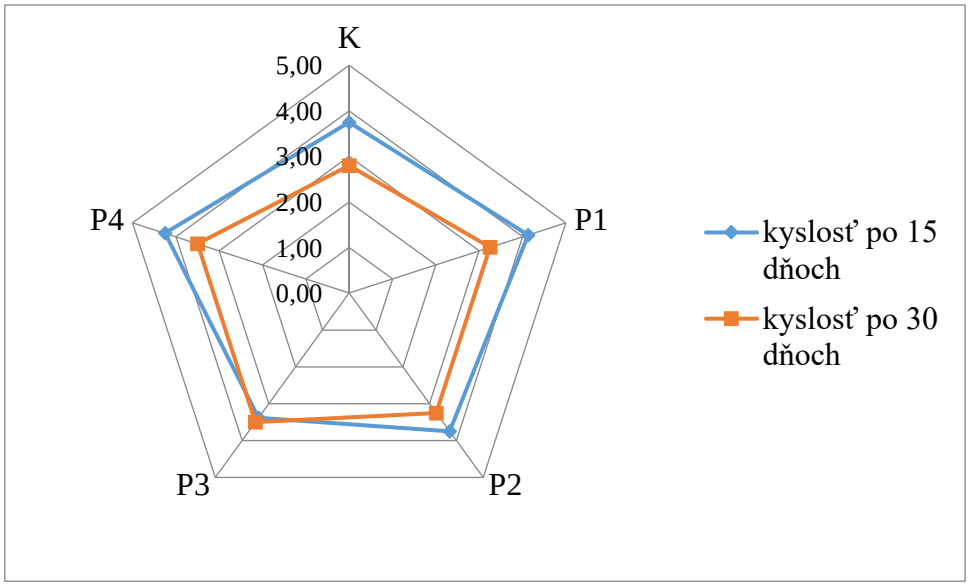
Špecifická vôňa a chuť mäsových výrobkov je najmä ovplyvnená množstvom korenia, ktoré je použité pri výrobe a spôsobom údenia (Toldrá et al. 2007).



Obrázok č. 4, Senzorická analýza chuti a šťavnatosti po tepelnej úprave mäsových výrobkov v priebehu 15 a 30 dňa zrenia a skladovania

Výrobok s najvyšším bodovým ohodnotením by mal mať priemernú slanú chuť, harmonicky vyvážené množstvo korenín a na zhryze by mal byť vláčny. Najnižšie bodové ohodnotenie za chuť a šťavnatosť po 15 dňoch fermentácie získali vzorky P2 , ktoré obsahovali stolové sladidlo v množstve 0,1 g. kg^{-1}. Najvyššie bodové ohodnotenie pridelené za chuť a šťavnatosť mäsových výrobkov po 15 dňoch fermentácie získali kontrolné vzorky.

Avšak najvyšší bodový nárast sa po 30 dňoch zrenia v porovnaní s výsledkami zistenými po 15 dňoch zistil vo vzorkách P3, ktoré obsahuje sušené listy stévie cukrovej v množstve 0,2 g. kg^{-1}. Naopak najnižší nárast sa zaznamenal vo vzorke P2, ktorá obsahovala stolové sladilo v množstve 0,1 g. kg^{-1}. Vo vzorkách P1 sa intenzita vône po 30 dňoch zrenia v porovnaní s výsledkami získanými po 15 dňoch fermentácie výrazne nemenila a v kontrolných vzorkách sa mierne znížila.

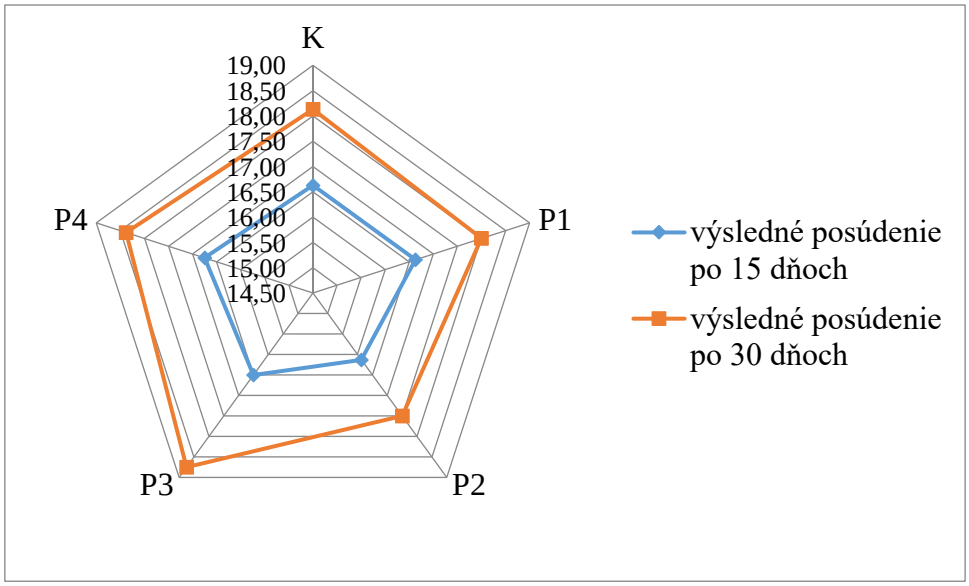


Obrázok č. 5, Senzorická analýza kyslosti po tepelnej úprave mäsových výrobkov v priebehu 15 a 30 dňa zrenia a skladovania

Najnižšie bodové ohodnotenie za kyslosť získali vzorky P3, ktorá obsahovali sušené listy stévie cukrovej v množstve 0,2 g. kg^{-1} a v porovnaní s ostatnými vzorkami sa vyznačovali zvýšenou kyslosťou. Najvyššie bodové ohodnotenie za kyslosť po 15 dňoch fermentácie získali vzorky P4, ktoré obsahovali sušené listy stévie v množstve 0,1 g. kg^{-1}. Z výsledkov vyplýva, že vzorky P4 sa vyznačovali priaznivou veľmi nízkou kyslosťou, čo pravdepodobne zapríčinil prídavok stévie cukrovej. Táto látka zo senzorického hľadiska potlačila kyslosť spôsobenú vytvorenou kyselinou mliečnou probiotickou kultúrou *Lactobacillus casei*.

Senzorickou analýzou uskutočnenou po 30 dňoch zrenia sa v porovnaní z výsledkami zistenými po 15 dňoch fermentácie zaznamenala zvýšená hodnota kyslosti, čoho dôkazom sú nižšie stanovené bodové hodnoty: 2,80 (K), 3,25 (P1a P2) a 3,50 (P3 a P4). Výnimkou sú len vzorky P3, ktoré sa vyznačovali bodovým nárastom po 30 dňoch zrenia v porovnaní s výsledkami zistenými po 15 dňoch fermentácie. Tieto vzorky sa vyznačovali ešte nižšou intenzitou kyslosti ako po 15 dňoch fermentácie. Rovnakou kyslosťou ako vzorky P3 sa vyznačovali aj vzorky skupiny P4.

Ruiz-Moyano et al. (2011) uvádzajú, že zvýšenie hodnôt súvisí s produkciou kyseliny octovej, alebo kyseliny mliečnej.



Obrázok č. 6, Senzorická analýza celkového posúdenia bez kyslosti po tepelnej úprave mäsových výrobkov v priebehu 15 a 30 dňa zrenia a skladovania

Z výsledkov senzorickej analýzy vyplýva, že najvyššie bodové ohodnotenie pridelené za výsledné posúdenie po 15 dňoch získali vzorky P4, ktoré obsahovali sušené listy stévie cukrovej v množstve 0,1 g. kg^{-1}. Najnižšie bodové ohodnotenie za výsledné posúdenie získali vzorky P2, ktoré obsahovali stolové sladidlo v množstve 0,1 g. kg^{-1}.

Najvyššie bodové ohodnotenie po 30 dňoch zrenia získali vzorky P3, ktoré obsahovali sušené listy stévie v množstve 0,2 g. kg^{-1} a naopak najnižší nárast sa zaznamenal vo vzorkách P1 a P2, ktoré obsahovali stolové sladidlo v množstve 0,2 g. kg^{-1} a 0,1 g. kg^{-1}.

ZÁVER

Z výsledkov vyplýva, že prídavok stévie cukrovej (*Stevia rebaudiana*) v sušenej alebo v komerčnej forme do mäsového diela, určeného na výrobu fermentovaných mäsových výrobkov, nespôsobuje nepriaznivé technologické zmeny v týchto výrobkoch. Prídavok najmä sušených listov tejto plodiny priaznivo ovplyvňuje senzorické vlastnosti, tým že znižuje vnímanie kyslosti fermentovaných mäsových výrobkov. Kyslosť týchto výrobkov je zapríčinená tvorbou kyseliny mliečnej autochtónnymi ale hlavne alochtónnymi kyslomliečnymi baktériami, pridávanými vo forme štartovacích alebo probiotických kultúr.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená projektom VEGA 1/0402/23 a APVV APVV-22-0402

ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

1. BOBKO, M. – HAŠČÍK, P. – ČANIGOVÁ, M. et al. 2021. Technológie výroby potravín živočíšneho pôvodu. Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2021, 483 s. ISBN 978-80-552-2420-6.
2. DE OLIVEIRA, B.H. - PACKER, J. F.- CHIMELLI, M. & DE JESUS, D. A. 2007. Enzymatic modification of stevioside by cell-free extract of Gibberella fujikuroi. In *Journal of Biotechnology* [online]. vol 131, no 1, p 92-96.
3. GEUNS, J. M.C. 2003. Stevioside. In *Phytochemistry* [online]. vol 64, no 5, pp 913-921.
4. KAMENÍK, J. 2011. *Trvanlivé masné výrobky.* 1. vydanie, Brno: VFU, 2011. 248 s. ISBN 978-80-7305-106-8
5. KADLEC, P. – MELZOCH, K. – VOLDŘICH, M. et al. 2011. *Technologie potravin: Co byste měli vědět o výrobě potravin?* Ostrava: KEY Publishing s.r.o. 2011. 536 s. ISBN 80-7418-051-4.
6. LEMUS-MONDACA, R.- VEGA-GÁLVEZ, A.- ZURA-BRAVO, L. & AH-HEN, K. 2012. Stevia rebaudiana Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. In *Food Chemistry*. vol 132, no 3, p
7. MARIANSKI, S. – MARIANSKI, A. 2012. *Sauerkraut, kimchi pickles and Relishes*. USA: Bookmagic, LLC. 2012. 78 s. ISBN 978-0-9836973-2-9
8. TOLDRÁ, F.- HUI, Y. H.-ASTIASARÁN, I.- NIP, W.K.- SEBRANEK, J. G.- SILVEIRA, E. T. F.- STAHNKE, L. H.- TALON, R. 2007. Handbook of Fermented Meat and Poultry. Ames, Iowa: Blackwell Pub. ISBN 0813814774.

Kontaktná adresa: Kročko Miroslav, Institute of Food Science, Faculty of Biotechnology and food sciences, SUA in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra; E-mail: miroslav.krocko@uniag.sk

VPLYV SKRMOVANIA FERMENTOVANÝCH KRMÍV NA KVALITATÍVNE PARAMETRE A PROFIL MASTNÝCH KYSELÍN PRSNEJ SVALOVINY U BROJLEROVÝCHC KURČIAT

EFFECT OF FEEDING FERMENTED FEEDS ON THE QUALITY PARAMETERS AND FATTY ACID PROFILE OF BREAST MEAT IN BROILER CHICKENS

Makiš Andrej, Semjon Boris, Bartkovský Martin, Reitznerová Anna, Mesarčová Lýdia, Marcinčák Slavomír

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská 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 form wheat bran and cornmeal using microscopic filamentous fungi, which are suitable for polyunsaturated fatty acid (PUFA) production. A 120 one-day-old Ross 308 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 reduced the n – 6 PUFA contend and thus 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 do komerčných kŕmnych zmesí na profil mastných kyselín, oxidačnú stabilitu tukov a kvalitu prsnej svaloviny brojlerových kurčiat.

MATERIÁL A METODIKA

Pokus bol realizovaný v priestoroch experimentálneho zverinca UVLF KE. 120 kusov 1-dňových kurčiat plemena Ross 308 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. – 40. 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 %. 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 40. deň, boli zvieratá omráčené, usmrtené cervikálnou dislokáciou a prsná svalovina bola skladovaná v chladničke po dobu 7 dní pri teplote 4 °C a následne analyzovaná alebo v mraziacom boxe pri -18 °C až do analýzy.

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 prsnej svaloviny. Najvyšší obsah vody bol stanovený v FH skupine (75,72 % ± 0,36) a naopak najnižší obsah vody bol zaznamenaný v experimentálnej skupine FP (74,08 % ± 0,19). Najvyšší obsah tuku prsnej svaloviny bol stanovený v experimentálnej skupine FH (1,62 % ± 0,05). Najvyšší obsah bielkovín bol zaznamenaný v experimentálnej skupine FP (22,45 ± 0,17). Rozbor chemického zloženia mäsa nám síce poukazuje na najnižší obsah vody v experimentálnej skupine FP 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	75,28 ± 0,12^{b}	1,46 ± 0,09^{a}	20,93 ± 0,20^{c}
FP	74,08 ± 0,19^{c}	0,52 ± 0,36^{b}	22,45 ± 0,17^{a}
FH	75,72 ± 0,36^{a}	1,62 ± 0,05^{a}	21,96 ± 0,13^{b}
***p* – hodnota**	<0,0001	<0,0001	<0,0001

K – kontrolná skupina, FP – experimentálna skupina s prídavkom 10 % fermentovaných produktov, FH – experimentálna skupina s prídavkom 10 % fermentovaných produktov a 0,7 % humínových látok. Hodnoty zahŕňajúce rovnaký horný index (a, b, c) nie sú štatisticky významné (*Tukeyho test, p < 0,05*)

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	0,063 ± 0,033^{2}	0,149 ± 0,173	0,103 ± 0,104	0,4711
7. deň	0,167 ± 0,066^{ab1}	0,223 ± 0,035^{a}	0,116 ± 0,037^{b}	0,0058
9 mesiac	0,168 ± 0,071^{1}	0,159 ± 0,024	0,146 ± 0,046	0,7695
***p* - hodnota**	0,0112	0,4274	0,5614	

Hodnoty zahŕňajúce rovnaký horný index (a, b, c) a (1,2) nie sú štatisticky významné (*Tukeyho test, p < 0,05*).

Výsledky stanovenia profilu vybraných MK v surovej prsnej 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 prsnej svalovine brojlerových kurčiat

MK / skupina	K	FP	FH	*p* - hodnota
C14:0	0,543 ± 0,07a	0,088 ± 0,03ab	0,101 ± 0,02b	<0,0001
C16:0	23,828 ± 0,56b	23,516 ± 0,22b	25,061 ± 0,38a	<0,0001
C18:0	8,919 ± 0,50a	8,106 ± 0,66b	7,426 ± 0,37b	0,0007
C18:1 – 9c	28,738 ± 1,14c	30,847 ± 0,26b	33,812 ± 0,73a	<0,0001
C18:1 – 11c	5,015 ± 0,17a	4,428 ± 0,04b	3,516 ± 0,41c	<0,0001
C18:2 – 9c, 12 LA	16,890 ± 0,56b	17,589 ± 0,41a	16,445 ± 0,41b	0,0025
C18:3 – 6c, 9c, 12c GLA	0,160 ± 0,01	0,158 ± 0,03	0,163 ± 0,01	0,8948
C18:3 – 9c, 12c, 15c ALA	0,720 ± 0,06c	0,945 ± 0,04b	1,179 ± 0,08a	<0,0001
C20:4 – 5c, 8c, 11c, 14c ARA	4,415 ± 0,61a	3,187 ± 0,34b	2,143 ± 0,39c	<0,0001
C20:5 – 5c, 8c, 11c, 14c, 17c EPA	0,268 ± 0,06a	0,281 ± 0,04a	0,171 ± 0,05b	0,004
C22:6 – 4c, 7c, 10c, 13c, 16c, 19c DHA	0,385 ± 0,11a	0,293 ± 0,03a	0,177 ± 0,06b	0,0006
ΣSFA	34,087 ± 1,00a	31,799 ±1,31b	33,693 ± 1,06a	0,0071
ΣMUFA	40,091 ± 1,96c	48,120 ± 0,97a	44,407 ± 0,71b	<0,0001
ΣPUFA	25,822 ± 0,53a	19,575 ± 0,90c	21,373 ± 1,76b	<0,0001
Σn – 6	23,388 ± 0,78a	18,446 ± 0,56c	19,864 ± 0,65b	<0,0001
Σn – 3	2,434 ± 0,21a	1,635 ± 0,12c	2,054 0,08b	<0,0001
Σn – 6 / Σn – 3	9,609 ± 0,31b	11,279 ± 0,58a	9,662 ± 0,59c	<0,0001

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 (*Tukeyho test, p < 0,05*).

ZÁVER

Výsledky tejto štúdie poukazujú na pozitívny vplyv fermentovaných krmív samostatne, ako aj v kombinácii s humínovými látkami, pridanými do základných krmív brojlerov. Prostredníctvom prídavku fermentovaných krmív do krmiva dokážeme nie len ovplyvniť zloženie MK v prsnej svalovine a tým zvýšiť kvalitu produkovaného mäsa, ale aj zhodnotiť druhotný potravinársky produkt. Výsledky tejto štúdie nám potvrdili, že výskum v oblasti

fermentovaných krmív má vplyv na kvalitu produkovaného mäsa a treba ho ďalej rozvíjať, aby sme dosiahli požadované produkty.

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

HODNOTENIE BIOLOGICKÝCH ÚČINKOV VYBRANÝCH DRUHOV MEDU POMOCOU MODELOVÝCH ORGANIZMOV

EVALUATION OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF SELECTED HONEYS USING MODEL CELL LINE

Marcinčáková Dana[1], Kolesárová Mária[1], Marcinčák Slavomír[2], Legáth Jaroslav[1]

[1]Katedra farmakológie a toxikológie,

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

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach,

Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

ABSTRAKT

Med sa využíva ako tradičná medicína v rôznych kultúrach po celé generácie, a to nielen pre jeho nutričnú hodnotu, ale aj pre jeho terapeutické schopnosti. Tento výskum bol zameraný na hodnotenie vplyvu medu na bunkovú odpoveď a cytotoxicitu. Ako bunkové línie boli použité prasacie črevné epiteliálne bunkové línie (IPEC-1, CVCL 2245) a boli použité štyri koncentrácie medu: 0,125 mg/ml, 0,25 mg/ml, 0,5 mg/ml a 1 mg/ml. Test MTS bol využitý na hodnotenie metabolickej aktivity a systém xCELLigence na monitorovanie buniek v reálnom čase. Zvýšenie koncentrácie medu spôsobilo zvýšenie metabolickej aktivity a zníženie proliferácie buniek ($P < 0,001$). Antioxidačná aktivita bola hodnotená meraním obsahu fenolov (TPC), metódou Folin-Ciocalteau a testom DPPH v 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylovom roztoku v etanole. Lipový a repkový med vykazovali vyššie koncentráciách fenolov a lepšiu vychytávaciu aktivitu s rastúcimi koncentráciami medu. To potvrdzuje naše predpoklady, že med môže chrániť živé bunky znížením oxidačného poškodenia, zvýšiť bunkovú metabolickú aktivitu a podporiť bunkovú proliferáciu prostredníctvom svojich antioxidačných vlastností.

Kľúčové slová: DPPH, fenoly, proliferácia buniek, MTT, RTCA

ÚVOD

Med sa prvýkrát používal ako starodávny liek vo viacerých kultúrach, hlavne na liečbu rán. Jeho používanie kolísalo v priebehu storočí, čo súviselo aj s objavom antibiotík. V priebehu rokov a so zvyšujúcou sa rezistenciou na antibiotiká došlo k nárastu používania proti bakteriálnym infekciám (Minden-Birkenmaier et al. 2018).

Med má nielen pozitívne vlastnosti ako liečivo, ale ešte častejšie je využívaný v potravinárskej výrobe. Med možno použiť na liečebné účely, ako sú: hojenie popálenín, kašľa a prechladnutia, antiseptická masť s antibakteriálnymi a protiplesňovými vlastnosťami. Tiež na starostlivosť o

pleť s jej hydratačnými vlastnosťami, na liečbu akné s jej antibakteriálnymi vlastnosťami, bylinné výluhy a na čistenie od parazitov (Rasmussen 2023).

Hlavným cieľom tejto štúdie je zhodnotiť vplyv medu na bunkovú odpoveď. Rôzne koncentrácie medu budú analyzované a hodnotené pomocou bunkových kultúr. Boli použité dve metódy: MTT na hodnotenie životaschopnosti alebo metabolickej aktivity buniek a systém xCELLigence, ktorý monitoruje bunkovú odpoveď v reálnom čase s testovanými látkami. Pre túto štúdiu boli porovnávané biologické vlastnosti lipového a repkového medu.

MATERIÁL A METODIKA

Repkový a lipový med boli dodané zo súkromného včelína so sídlom v Košiciach (Slovensko). Kvetinový pôvod vzoriek upresnili včelári podľa umiestnenia úľa a dostupných zdrojov kvetov. Vzorky boli pre účely testovania na biologickom organizme riedené sterilnou vodou na zásobné koncentrácie 1,25 mg/ml, 2,5 mg/ml, 5 mg/ml a 10 mg/ml.

Hodnotenie antioxidačných vlastností

Test DPPH na hodnotenie schopnosti vychytávať voľné radikály, hodnotí antioxidačnú aktivitu medu. Metóda je založená na prenose elektrónov, ktorý vytvára roztok v etanole 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl (Sigma Aldrich, Nemecko). V kyvete sa vzorky medu (0,1 ml) zmiešali s 3,9 ml roztoku DPPH v metanole (0,0035 g/100 ml) (v troch opakovaniach). Po 5 minútach inkubácie v tme bola meraná absorbancia pomocou UV-spektrofotometra (Helios y v 7.1, Thermospecttronic, Veľká Británia). Na výpočet percenta inhibície/účinku vychytávania DPPH bol použitý nasledujúci vzorec:

$\% = A_0 – A_1 \times 100/A_0$

A_0 – Absorbancia kontroly (DPPH) A_1 – Absorbancia vzorky (DPPH + extrakčné vzorky)

Na stanovenie *celkového obsahu fenolov* v medových extraktoch bola použitá technika Folin-Ciocalteu. Na meranie celkovej antioxidačnej kapacity: 5 ml FC činidla sa zmiešalo s 1 ml vzorky a 4 ml roztoku hydrogénuhličitanu sodného (7,5 g/100 ml) po zriedení vodou (1:10). Zmes sa inkubovala v tme 30 minút, absorbancia bola meraná pri 765 nm. Vzorky boli testované trikrát a výsledky boli vyjadrené ako ekvivalenty kyseliny galovej (GAE) v mg/g použitého extraktu (Siddiqui et al., 2017).

Hodnotenie biologickej aktivity pomocou modelového organizmu

Kultivácia buniek

Pre túto štúdiu bola použitá línia epitelových buniek prasacieho čreva (IPEC-1, CVCL 2245). Bunky ošípaných boli pestované za kontrolovaných podmienok. Bunkové línie boli skladované pri -80 °C. Po rýchlom rozmrazení boli bunky subkultivované v rastovom médiu – Earl's Minimal Essential Medium (EMEM; Lonza, Valais, Švajčiarsko) doplnenom 10 % (v/v)

fetálnym bovinným sérom (FBS; Lonza, Valais, Švajčiarsko), 1 % L-glutamín, 0,1 % gentamicín (Sigma Aldrich; St. Louis, USA) a 1 % penstreptén. Kultivácia buniek prebieha v inkubátore pri teplote 37 °C, v atmosfére s 5% obsahom CO_2. Bunky boli pravidelne kontrolované na neprítomnosť kontaminácie mykoplazmami.

Systém xCELLigence – RTCA

Analyzátor buniek v reálnom čase alebo systém xCELLigence (RTCA), monitoruje priľnavosť buniek dotykom so zlatými elektródami, stroj deteguje pohyb. Zlaté mikroelektródy monitorujú životaschopnosť buniek. Bunky sa naočkovali do troch 16-jamkových E platní s celkovým počtom 48 jamiek, pričom každá jamka obsahovala 5000 buniek. Po 22 hodinách kultivácie, sa pridávali Bunky bez ošetrenia slúžili ako kontrolné bunky (Milek et al. 2020).

Výsledky sa zaznamenávajú každú hodinu, v reálnom čase, kde je možné vidieť akékoľvek zmeny v bunkovej adhézii: ako je oddelenie buniek od zlatých mikroelektród, pohyb adhézií, morfológia, počet a životaschopnosť buniek vytvára bunkový index (CI) v priebehu daný čas. CI sa zaznamenáva každú hodinu až do konca experimentu. Čím nižší CI, tým nižšia adhézia buniek na platni s jamkami. To môže tiež naznačovať zmenu v správaní, narušenie morfológie buniek, bunky sú menej alebo už neadherujú. Nula znamená žiadnu bunkovú adhéziu, zatiaľ čo 1,0 je normalizovaný bunkový index. Vyššia hodnota CI je spôsobená zvýšenou adherenciou buniek. Údaje je možné exportovať do programu Microsoft Excel na štatistické vyhodnotenie. Percento aktivity bolo vypočítané podľa vzorca:

Proliferatívna aktivita % = CI vzorka x 100 / CI kontrola

MTS test

Pre tento výskum bol tiež použitý MTS test (CellTiter 96®AqueousOne Solution Cell Proliferation Assay, Promega, Madison, WI, USA), ktorý meria metabolickú aktivitu a životaschopnosť buniek *in vitro* (Marcinčáková et al. 2022) pomocou kolorimetrického spektrofotometra (ELISA Reader Apollo 11 LB 913 - Berthold Technologies, Nemecko). Bunky sa naočkujú do platní (8600 buniek na jamku). Po inkubácii sa bunky ošetria zvolenými koncentráciami 20 µl vzoriek medu a potom sa ďalej inkubujú.

Po 48 hodinách pôsobenia sa pridá tetrazoliové farbivo, MTS činidlo. Pred odčítaním vzoriek sa bunky kultivujú v inkubátore počas 2 hodín. Kontrolné bunky sa používajú na porovnanie s ošetrenými bunkami. Ak má farba vysokú intenzitu (intenzívnejšia fialová), tým sú bunky metabolicky aktívnejšie a majú vyššiu životaschopnosť. MTS činidlo umožňuje bunkám zmeniť sa na purpurové kryštály formazanu, potom je možné merať absorbanciu pri 490 nm. Na výpočet bol použitý tento vzorec:

% metabolickej aktivity = (vzorka absorpcie) x 100 / (kontrola absorpcie)

Štatistická analýza

Výsledky získané z xCELLigence / bunkového analyzátora v reálnom čase sa zaznamenali v programe Microsoft Excel s pridanými časovými intervalmi, priemerným percentom a štandardnou odchýlkou (± SD, n=3) koncentrácií. Výsledky MTT testu boli spracované pomocou programu Microsoft Excel.

Softvér GraphPad Prism 5.0, jednosmerný test Anova a Dunnettov test boli použité na experimentálnu analýzu oproti kontrolnej skupine a na identifikáciu významnosti výsledkov. Hodnota $P < 0,05$ vyjadruje štatisticky významný rozdiel oproti kontrolným bunkám.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Hlavnými biologickými látkami medu sú vitamíny, bielkoviny, enzýmy, najväčšiu časť sušiny tvoria cukry; pričom sacharóza, glukóza a fruktóza sú hlavnými zložkami nektáru. Med má vysoký obsah fenolov a obsahuje zlúčeniny flavonoidov. Flavonoidy pomáhajú regulovať bunkovú aktivitu a bojujú proti voľným radikálom v dôsledku oxidačného stresu, čo zabezpečuje silné antioxidačné vlastnosti medu (Džugan et al. 2018). Táto štúdia je zameraná na vyhodnotenie účinkov medu na antioxidačnú aktivitu, účinky na bunkovú proliferáciu, metabolickú aktivitu.

Antioxidačná aktivita bola meraná pomocou DPPH v roztoku 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl v etanole a celkový obsah fenolu bol hodnotený metódou Folin-Ciocalteau. So zvyšujúcou sa koncentráciou sa zvyšuje aj inhibícia DPPH s 28,19 % v repkovom semene a 34,44 % v lipovom mede, s najvyššou koncentráciou 10 mg/ml. Celkový obsah fenolov v 10 mg/ml bol tiež najvyšší v oboch medoch. Pri porovnaní výsledkov z tabuliek 1 a 2 sa ukázalo, že lipový med má vyššie antioxidačné vlastnosti a celkový obsah fenolov ako repkový med. Doterajšie štúdie ukázali, že antioxidačná aktivita sa môže líšiť v závislosti od druhu medu. Zistilo sa, že nižšiu antioxidačnú aktivitu mali svetlejšie akáciové a lipové medy; a tmavšie medy (jedľový, lesný a smrekový) majú vyššiu antioxidačnú aktivitu. Antioxidačná aktivita a farba medu spolu podstatným spôsobom súvisia (Bertoncelj et al. 2007). Pohánkový med má najvyššiu antioxidačnú aktivitu, zatiaľ čo repkový med má najnižšiu, nezávisle od použitej metódy. Tiež sa preukázalo, že repkový med má nižšiu antioxidačnú aktivitu ako lipový med (s 28,29 % v repkovom a 34,44 % v lipovom).

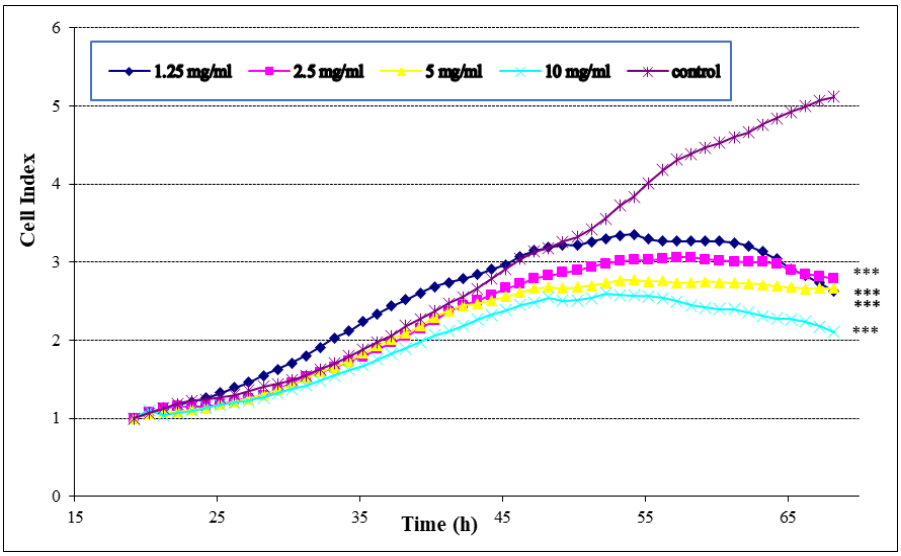
Tabuľka 1, Antioxidačné vlastnosti medu

Koncentrácia medu	Antioxidačné vlastnosti - vychytávanie DPPH	
	repkový med	**lipový med**
1,25 mg/ml	7,19 ±0,71	8,25 ±0,32
2.5 mg/ml	9,24 ±0,34	10,93 ±0,13
5 mg/ml	15,45 ±0,92	20,39 ±1,54
10 mg/ml	28,19 ±2,35	34,44 ±5,24
Koncentrácia medu	**Obsah celkových fenolov (mg/ml ±sd)**	
	repkový med	**lipový med**
1,25 mg/ml	0,19 ±0,02	0,29 ±0,02
2.5 mg/ml	0,24 ±0,04	0,27 ±0,04
5 mg/ml	0,55 ±0,02	0,65 ±0,19
10 mg/ml	**0,79 ±0,05**	**0,89 ±0,15**

Analýza buniek v reálnom čase (RTCA) – xCELLigence

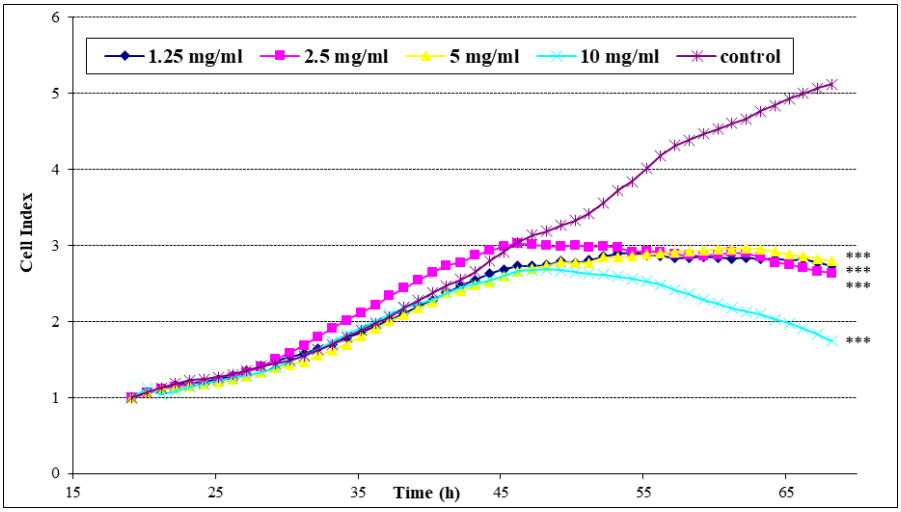
Na sledovanie buniek po expozícii testovaným vzorkám medov bol použitý systém xCELLigence alebo bunková analýza v reálnom čase. Zmeny bunkového indexu, ktoré vyjadrujú zmeny v bunkovej proliferácii, sú zaznamenané na obrázku 1 (repkový med) a obrázku 2 (lipový med). Po pridaní všetkých testovaných koncentrácií oboch medov môžeme pozorovať pokles bunkovej proliferácie ($P < 0,001$). Trend proliferačných kriviek je u oboch medov podobný. Najvýraznejší pokles proliferácie vykazuje najvyššiu koncentráciu oboch medov, zatiaľ čo proliferácia buniek ošetrených inými testovanými koncentráciami bola porovnateľná na konci sledovania (48 hodín po ošetrení).

Obrázok 1, Zmeny v proliferácii buniek ošetrených repkovým medom



Štatisticky odlišné v porovnaní s kontrolou * - P < 0,001**

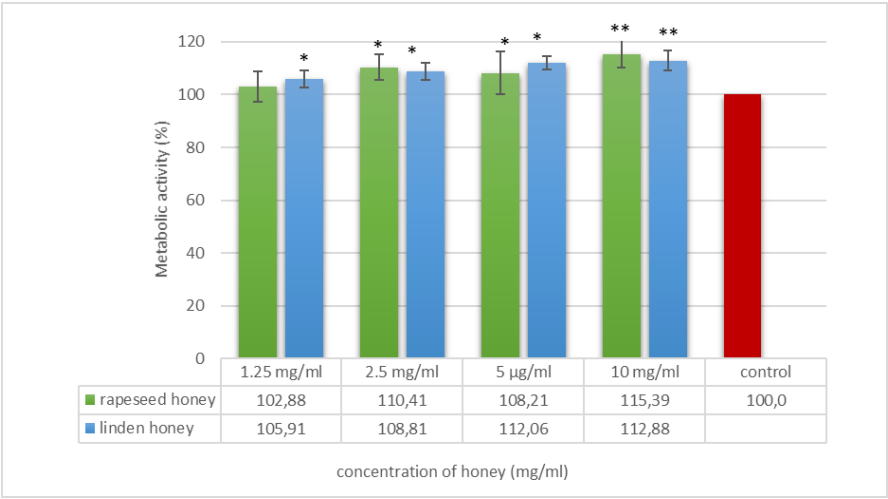
Obrázok 1, Zmeny v proliferácii buniek ošetrených lipovým medom



Štatisticky odlišné v porovnaní s kontrolou * - P < 0,001**

Zmeny v metabolickej aktivite ošetrených buniek boli hodnotené pomocou MTS testu a vyjadrené v percentách zmien v porovnaní s kontrolnými bunkami bez ošetrenia (100 %). Metabolická aktivita buniek sa menila v súlade s rastúcimi koncentráciami medov (Obrázok 3). Hodnoty sa menili podobne medzi všetkými testovanými vzorkami; bol to koncentračne závislý rast metabolickej aktivity, výrazne odlišný od kontrolných buniek ($P < 0,05$; $P < 0,001$), s výnimkou najnižšej koncentrácie repkového medu, ktorá nespôsobila významnú zmenu v životaschopnosti buniek ($P > 0,05$).

Obrázok 3, Metabolická aktivita buniek po 48 hodinách pôsobeniam medov



	1.25 mg/ml	2.5 mg/ml	5 µg/ml	10 mg/ml	control
rapeseed honey	102,88	110,41	108,21	115,39	100,0
linden honey	105,91	108,81	112,06	112,88	

Štatisticky odlišné v porovnaní s kontrolou * - P < 0,05; ** - P < 0,001

Negatívny vplyv medu na bunky bol tiež pozorovaný v štúdii Ghashm et al. (2010), v ktorej med Tualang indukoval skorú apoptózu v bunkových líniách orálneho spinocelulárneho karcinómu (OSCC) a ľudského osteosarkómu (HOS), čo malo za následok jadrové zmršťovanie, kondenzáciu chromatínu, bunkovú proliferáciu a fragmentované jadrá oboch

bunkových línií. Bez ošetrenia medom Tualang bunky nadobudli polygonálny tvar, ktorý sa považuje za normálny rast buniek. Bola skúmaná antiproliferatívna a apoptotická aktivita Tualangu a zistilo sa, že je väčšia so vzorkami medu ako bez nich. Preukázanie schopnosti zastaviť proliferáciu v bunkových líniách OSCC a HOS. Len niekoľko článkov sa zaoberalo antikarcinogénnymi schopnosťami medu, pretože väčšina skorších štúdií o mede sa sústredila na jeho antimikrobiálne vlastnosti a vlastnosti pri hojení rán (Gribel a Pashinskii 1990).

V prípade karcinómu prsníka u myší a fibrosarkómu vyvolaného metylcholantrénom mali včelie produkty zásadnú úlohu pri kontrole rastu nádoru a metastáz (Ghashm et al. 2010). Je evidentné, že je potrebný ďalší výskum na určenie molekulárnych dráh stojacich za apoptózou a antikarcinogénnym výskumom. Iné štúdie špecificky skúmali polyfenoly medu a ukázali, že niektoré majú väčší potenciál v prevencii rastu rakovinových buniek ako farmakologické činidlo.

ZÁVER

Cieľom tejto práce bolo zhodnotiť biologické vlastnosti medu. Hodnotenie antioxidačných vlastností, zapojenie MTS testu a xCELLigence analýzy naznačuje, že získané výsledky boli štatisticky vysoko významné. Najvýznamnejšími antioxidačnými a zároveň antiproliferatívnymi zložkami medu sú flavonoidy (kaempferol, katechín a kvercetín) a fenolové kyseliny (kyselina kávová a kyselina galová). Fenolické zložky majú antioxidačné vlastnosti a nachádzajú sa v rôznych koncentráciách vo všetkých druhoch medov. Tieto vplyvy sú väčšinou určené geografickou oblasťou, zdrojom potravy včiel a klímou.

POĎAKOVANIE

Štúdia vznikla vďaka podpore Národného referenčného laboratória pre pesticídy Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BERTONCELJ, J., DOBERSEK, U., JAMNIK, M. et al.. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, 2007, 105(2), pp.822–828.
2. DZUGAN, M., TOMCZYK, M., SOWA, P. et al. 2018. Antioxidant Activity as Biomarker of Honey Variety. Molecules, 23(8), p.2069.
3. GRIBEL, N., PASHINSKII, V.G. 1990. The antitumor properties of honey. Vopr Onkol 1990, 36(6):704-709.

4. MILEK, Michal - MARCINČÁKOVÁ, Dana - KOLESÁROVÁ, Mária - LEGÁTHOVÁ, Diana - DZUGAN, Malgorzata. The effect of adding spices to green walnut tinctures on their polyphenolic profile, antioxidant capacity and action on renal cells. In *Applied Sciences*. ISSN 2076-3417, 2022, vol. 12, no. 7, art. no. 3669, p. [1-13].
5. MARCINČÁKOVÁ, D. et al. POTENTIAL ROLE OF *AGRIMONIA EUPATORIA L.* EXTRACT IN CELL PROTECTION AGAINST TOXICITY INDUCED BY BISPHENOL A. In *FOLIA VETERINARIA* [online]. 2022, vol. 66, no. 1 [cit. 2023-01-12]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.2478/fv-2022-0004>. ISSN 2453-7837.
6. RASMUSSEN, M. 2013. Seven Health Uses for Honey. The Permaculture Research Institute. Available on Internet: <https://www.permaculturenews.org/2013/07/05/seven-health-uses-for-honey/>
7. MINDEN-BIRKENMAIER, B., BOWLIN, G. 2018. Honey-Based Templates in Wound Healing and Tissue Engineering. *Bioengineering*, 5(2), p.46.
8. SIDDIQUI, N., RAUF, A., LATIF, A. et al. 2017. Spectrophotometric determination of the total phenolic content, spectral and fluorescence study of the herbal Unani drug Gul-e-Zoofa (Nepeta bracteata Benth). *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 12(4), pp.360–363.
9. GHASHM, A.A., OTHMAN, N.H., KHATTAK, M.N., et al. 2010. Antiproliferative effect of Tualang honey on oral squamous cell carcinoma and osteosarcoma cell lines. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10(1).

Kontaktná adresa: Marcinčáková Dana, Department of Pharmacology and Toxicology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: dana.marcincakova@uvlf.sk

MIKROBIOLOGICKÉ A NUTRIČNÉ PARAMETRE LARIEV MUCHY ČIERNEJ (*HERMETIA ILLUCENS*) PO BIOKONVERZII POTRAVINOVÝCH ZVYŠKOV

MICROBIOLOGICAL AND NUTRITIONAL PARAMETERS OF BLACK SOLDIER FLY LARVAE (*HERMETIA ILLUCENS*) AFTER BIOCONVERSION OF FOOD WASTE

Mašková Zuzana[1], Tančinová Dana[1], Kolesár Eduard[3], Urminská Dana[1], Ivanišová Eva[2], Urminská Jana[2], Hleba Lukáš[1], Barboráková Zuzana[1]

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, [1]Ústav biotechnológie, [2]Ústav potravinárstva, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika; [3]ecol Trade, s.r.o., J. Haška 1, 949 01 Nitra, Slovenská republika

ABSTRACT

Every year, a huge amount of food waste is produced all over the world, the disposal of which is associated with significant economic, environmental and social impacts. A new solution for recycling this type of waste is its biodegradation using insect larvae. One of the promising insect species is the black soldier fly (*Hermetia illucens*), which larvae are able to convert waste organic material of low value into nutritionally valuable insect biomass. This study is devoted to the larvae analyzes after the bioconversion process, from the point of view of microbiological indicators, and the level of the nutritionally significant biomass components content. In terms of the feed used, two variants of the experiment were created: I. feeding with boiled rice with thawed peas and II. feeding with moldy boiled rice with thawed peas. Analyzes of protein content in larvae before and after bioconversion showed a higher increase (by 41.91%) in the case of variant II. A higher increase in fat (by 44.81%) was recorded in the variant I. As part of microbiological indicators, the total count of microorganisms (TCM), coliform bacteria (CB), sporulating bacteria (SB), yeast (Y) and microscopic filamentous fungi (MFF) were monitored using the plate dilution method. At the end of the experiment, we noted a slight increase in TCM to values of 7.57 log KTJ.g^{-1} (I.) and 7.49 log KTJ.g^{-1} (II.). The average counts of CB reached 7.84 log KTJ.g^{-1} (I.) and 7.60 log KTJ.g^{-1} (II.). We recorded a slight decrease in the number of SB in the variant I. (to 4.25 log KTJ.g^{-1}) and, on the contrary, a significant increase in their count (to 6.12 log KTJ.g^{-1}) in the variant II. Yeasts were generally recorded in higher numbers than filamentous micromycetes and reached 6.11 log KTJ.g^{-1} (I.) and 5.94 log KTJ.g^{-1} (II.). Filamentous micromycetes grew in higher counts (5.07 KTJ.g^{-1}) only in variant II.

Key words: black soldier fly larvae, proteins, fats, feeding, microorganisms

ÚVOD

Ročne sa na celom svete vyprodukuje obrovské množstvo potravinového odpadu, v celkovom objeme asi 1,6 gigaton (De Clercq et al., 2017). S jeho likvidáciou sa po celom svete spájajú významné ekonomické, environmentálne a sociálne dopady (Chen et al., 2020). Skládky a spaľovne sú v súčasnosti jeho hlavnou konečnou destináciou (Cerda et al., 2018). Tieto metódy však môžu generovať veľké množstvo výluhov, zápachu, dioxínov a skleníkových plynov (Liu a kol., 2017b). Možným spôsobom naloženia s potravinovým odpadom je jeho recyklácia formou opätovného použitia vo forme krmiva pre zvieratá (Dou et al., 2018), alebo kompostovanie (Li et al., 2013). Ako ďalšie riešenie recyklácie potravinového odpadu sa v posledných rokoch ukazuje chov lariev muchy čiernej (*Hermetia illucens,* Black soldier fly larvae, BSFL) (Gold et al., 2018). Cielený chov lariev na organickom odpade a vedľajších produktoch potravinárskeho a poľnohospodárskeho priemyslu predstavuje sľubnú cestu pre recykláciu týchto zdrojov (Gold et al., 2020). Je známe, že larvy tohto hmyzu sú schopné premieňať širokú paletu organických odpadov, vrátane potravinových zvyškov, vedľajších produktov potravinárskeho a poľnohospodárskeho priemyslu, ale aj živočíšneho hnoja (Lalander et al., 2019) na biomasu lariev a zvyšok podobný kompostu (zmes zvyškov substrátu a exkrementov hmyzu). Larválna biomasa je pritom bohatá na cenné zložky – bielkoviny a tuky, a preto môže slúžiť ako surovina pre rôzne ďalšie aplikácie, ako je napríklad výroba krmív pre domáce a hospodárske zvieratá (napr. hydina, ošípané, ryby) (Bosch et al., 2014, Lalander et al., 2019), resp. do budúcna potenciálne ako zložka potravín na ľudskú výživu (van Huis et al., 2013), nakoľko v poslednom desaťročí došlo k rýchlemu rozmachu priemyselného chovu hmyzu v reakcii na celosvetovo rastúci dopyt po vysokokvalitných bielkovinách na ľudskú spotrebu (van Huis, 2016). Navyše spracovanie odpadu pomocou lariev muchy čiernej môže mať menší vplyv na životné prostredie ako súčasný stav (napr. kompostovanie) (Gold et al., 2020).

Reálne využitie biomasy lariev muchy čiernej v praxi na výživové alebo krmovinárske účely závisí od mnohých faktorov. Najdôležitejším kritériom je samozrejme bezpečnosť takýchto produktov a v neposlednej miere tiež kvalita a nutričná hodnota získanej biomasy. Predkladaná štúdia sa venuje analýzam lariev po ich uplatnení sa v biokonverzii potravinových zvyškov, a to jednak z hľadiska vybraných mikrobiologických ukazovateľov, ale aj na úrovni zhodnotenia zastúpenia nutrične významných zložiek biomasy – bielkovín a tukov.

MATERIÁL A METODIKA

Experiment bol zameraný na zhodnotenie vybraných mikrobiologických a nutričných parametrov lariev muchy čiernej (*Hermetia illucens*) po ich aplikácii do rôzne starých kuchynských zvyškov s cieľom ich biodegradácie a zároveň získania potenciálne hodnotného zdroja bielkovín a tukov vo forme lariev.

Podmienky chovu a kŕmenia lariev

Chov lariev prebiehal v priestoroch bez prístupu priameho svetla, pri teplote 27 ± 1 °C a relatívnej vlhkosti vzduchu 40 ± 1 %. Larvy boli udržiavané v plastových uzatvárateľných nádobách s vetraním prostredníctvom sieťky. Prúdenie vzduchu v miestnosti bolo zabezpečené stojanovými ventilátormi.

Kŕmenie prebiehalo v 2 variantoch (I. a II.) a každý variant v 4 opakovaniach, pričom každé opakovanie bolo realizované v samostatnej nádobe. V každej nádobe bolo chovaných celkom 100 g lariev počiatočnej hmotnosti, celkom teda 400 g lariev v rámci jedného variantu.

Vo variante č. I. bola ako krmivo použitá zmes uvarenej guľatozrnnej ryže (990 g) s rozmrazeným hráškom (150 g), pripravená v ten istý deň, ako bola padaná larvám. Vo variante č. II. bola použitá tá istá zmes, avšak pripravená 5 dní dopredu a prirodzene zaplesnivená. Celkové množstvo 1140 g príslušného krmiva bolo naraz na začiatku experimentu pridané do každej kultivačnej nádoby k larvám s počiatočnou hmotnosťou 100 g. Chov prebiehal 8 dní, pričom posledné 1 – 2 dni dochádzalo k hladovaniu lariev. Na 8. deň od založenia pokusu boli larvy oddelené od vzniknutého kompostu a usmrtené zamrazením pri teplote -80 °C.

V jednotlivých variantoch krmiva bola stanovená vlhkosť a aktivita vody (a_v). Vlhkosť bola stanovená výpočtom rozdielu hmotnosti 5 g počiatočnej vzorky pred a po sušení v sušiarni po dobu 4 hodín pri teplote 225 °C do konštantnej hmotnosti. Na meranie a_v bol použitý prístroj LabMaster aw (Novasina, Lachen, Švajčiarsko).

Mikrobiologické analýzy

Usmrtené vzorky lariev, odobraté pred a po experimente, boli podrobené mikrobiologickým analýzam zameraným na kvantitatívnu detekciu ukazovateľov: celkový počet mikroorganizmov (CPM), koliformné baktérie (KB), sporulujúce baktérie (SB), kvasinky (KV) a mikroskopické vláknité huby (MVH). Vo všetkých prípadoch bola použitá platňová zrieďovacia metóda, vždy v dvoch opakovaniach. Základné riedenia vzoriek (10^{-1}) boli pripravené z 5 g rozomletých a zhomogenizovaných lariev a 45 ml sterilného fyziologického roztoku. Zmesi boli pretrepané na trepačke po dobu 30 minút a následne boli použité na prípravu pomocných riedení. Pri stanovení sporulujúcich baktérií boli potrebné riedenia

zahriate na teplotu 80 °C po dobu 10 minút a následne schladené, aby došlo k usmrteniu vegetatívnych foriem mikroorganizmov. Konkrétne podmienky kultivácie vzoriek sú uvedené v tabuľke č. 1. Získané výsledky počtov jednotlivých skupín mikroorganizmov boli vyjadrené v log KTJ.g^{-1}.

Tabuľka č. 1, Charakteristika podmienok kultivácie vzoriek

Analyzovaný ukazovateľ	Živné médium	Spôsob očkovania	Objem inokula [ml]	Použité riedenia	Kultivácia	
					Teplota [± 1 °C]	Čas [deň]
CPM	GTK	zaliatím	1,0	10^{-4} - 10^{-6}	30	1
KB	VČŽL	povrchovo	0,1	10^{-4} - 10^{-6}	37	1
SB	MPA	zaliatím	1,0	10^{-3} - 10^{-5}	30	1
MVH	DRBC	povrchovo	0,1	10^{-2} - 10^{-4}	25	7
KV	DRBC	povrchovo	0,1	10^{-2} - 10^{-4}	25	7

CPM – celkový počet mikroorganizmov; KB – koliformné baktérie; SB – sporulujúce baktérie; MVH – mikroskopické vláknité huby; KV – kvasinky; GTK – agarová živná pôda s glukózou, tryptónom a kvasničným extraktom; VČŽL – agarová živná pôda s kryštálovou violeťou, neutrálnou červenou, žlčovými soľami a laktózou; MPA – mäsopeptónový agar; DRBC – agar s dichlóranom, bengálskou červeňou a chloramfenikolom

Analýzy tukov a bielkovín

Na detekciu množstva tuku vo vzorkách lariev bol použitý prístroj Ancom XT15 Fat Extractor (USA). Podľa pokynov výrobcu, celkom 1,5 g vzorky bolo naväžené (W1) do špeciálneho filtračného vrecka (XT4, Ancom, USA) a sušené po dobu 3 hodín pri teplote 105 °C, aby sa pred extrakciou odstránila vlhkosť. Ďalej boli vzorky premiestnené na 15 minút do vrecka s vysúšadlom, opätovne odvážené (W2) a následne extrahované petroléterom počas 60 minút pri 90 °C. Po tomto postupe boli vzorky vybraté, sušené v sušiarni po dobu 30 minút pri teplote 105 °C, vložené do vrecka s vysúšadlom a znova odvážené (W3). Na výpočet obsahu tuku (% tuku) bol použitý vzorec [(W2-W3)/W1] x 100.

Stanovenie koncentrácie bielkovín v larvách muchy čiernej prebiehalo podľa metodiky Bradford (1976).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Začiatok experimentu zahŕňal prípravu krmiva, ktoré bolo jednorazovo podané larvám. Pripravené krmivo bolo analyzované z pohľadu vlhkosti a aktivity vody (a_v). Jednotlivé namerané parametre sú zhrnuté v tabuľke č. 2.

Tabuľka č. 2, Vybrané parametre krmiva použitého v jednotlivých variantoch

Ukazovateľ	vlhkosť [%]		a_v	
Variant	I.	II.	I.	II.
Priemer	**67,62**	**72,88**	**0,831**	**0,818**
SD	1,64	0,55	0,002	0,006
Min	65,79	72,50	0,829	0,813
Max	68,97	73,51	0,833	0,824
CV	2,43	0,75	0,240	0,733

SD - smerodajná odchýlka; CV - variačný koeficient; I. variant – ryža s hráškom; II. variant – ryža s hráškom, prirodzene zaplesnivené; a_v – aktivita vody

Po ukončení chovu lariev a zároveň biokonverzii podaného krmiva sme sa zamerali na detekciu prítomných mikroorganizmov a analýzu vybraných nutričných parametrov v BSFL. Hmyz vo všeobecnosti ukrýva v črevách rôzne mikroorganizmy, ktoré hrajú kľúčovú úlohu v rôznych aspektoch jeho fyziológie (Jang et Kikuchi, 2020). Pochádzajú jednak z požitého krmiva, alebo predstavujú prirodzenú mikrocenózu ich tráviaceho traktu. Mnohé mikroorganizmy môžu prežívať podmienky v črevách a dokonca sa môžu rozmnožovať (Engel et Moran, 2013). Následne môžu byť vo veľkých množstvách vylučované do zvyškov (Wynants et al., 2019). Výsledky analýz detegovaných počtov rôznych skupín baktérií v našich vzorkách mrazom usmrtených lariev uvádza tabuľka č. 3.

Čo sa týka celkového počtu mikroorganizmov (CPM) v porovnaní s mikrocenózou lariev pred experimentom sme na konci chovu v jednotlivých variantoch zaznamenali mierny nárast (z pôvodného priemerného počtu 7,10 log KTJ.g^{-1} na 7,57 log KTJ.g^{-1} v I. variante, resp. 7,49 log KTJ.g^{-1} v II. variante). Wynants et al. (2019) vykonali štúdiu, cieľom ktorej bolo získať prehľad o mikrobiálnej kvalite, bezpečnosti a zložení bakteriálnej komunity BSFL chovaných v rôznych zariadeniach na rôznych tokoch organického odpadu. Autori štúdie uvádzajú, že aj keď sa predpokladá, že substrát je dôležitým zdrojom baktérií, ich výsledky naznačujú, že mikrobiotu v larvách pravdepodobne ovplyvňujú mnohé abiotické i biotické faktory. Výsledky ich štúdie odhalili vyšší CPM v jednotlivých variantoch kŕmenia, ako v našej štúdii,

a pohyboval sa od 8,0 do 9,8 log KTJ.g^{-1}. Navyše zistili, že CPM sa v priebehu všetkých cyklov výrazne znižoval.

Tabuľka č. 3, Výsledky mikrobiologických analýz lariev muchy čiernej

Ukazovateľ	CPM (log KTJ.g^{-1})			KB (log KTJ.g^{-1})			SB (log KTJ.g^{-1})		
Variant	0.	I.	II.	0.	I.	II.	0.	I.	II.
Priemer	**7,10**	**7,57**	**7,49**	**0,00**	**7,84**	**7,60**	**4,41**	**4,25**	**6,12**
SD	-	0,02	0,05	-	0,05	0,08	-	0,16	0,06
Min	-	7,56	7,41	-	7,79	7,51	-	4,09	6,04
Max	-	7,59	7,53	-	7,91	7,70	-	4,46	6,18
CV	-	0,26	0,67	-	0,64	1,05	-	3,76	0,98

CPM - celkový počet mikroorganizmov; KB - koliformné baktérie; SB - sporulujúce baktérie; SD - smerodajná odchýlka; CV - variačný koeficient; 0. – pred začiatkom pokusu; I. variant – po kŕmení ryžou s hráškom; II. variant – po kŕmení prirodzene zaplesnivenou ryžou s hráškom

Jeon et al. (2011) podobne analyzovali larvy kŕmené varenou ryžou a v ich črevách detegovali zástupcov kmeňov Proteobacteria (54,01 %), Firmicutes (42,27 %) a neklasifikované baktérie (3,52 %). Najvyššie zastúpenie mala baktéria *Proteus mirabilis* (36,91 %). Autori zároveň zistili, že gastrointestinálny trakt lariev kŕmených potravinovým odpadom vykazoval väčšiu bakteriálnu diverzitu, ako v prípade lariev kŕmených varenou ryžou. Autori Gorrens et al. (2021) sa venovali analýzam mikrocenózy BSFL, kŕmených krmivom pre kurčatá alebo substrátmi bohatými na vlákninu. Identifikácia získaných izolátov odhalila, že všetky baktérie patrili do Proteobacteria (66,3 %), Firmicutes (30,2 %), Bacteroidetes (2,9 %) alebo Actinobacteria (0,6 %). Ako najčastejších zástupcov baktérií označili rody *Enterococcus* (29,1 %), *Escherichia* (22,1 %), *Klebsiella* (19,8 %), *Providencia* (11,6 %), *Enterobacter* (7,6 %) a *Morganella* (4,1 %). Gorrens et al. (2021) zároveň sumarizovali výsledky štúdií iných autorov a dospeli k záveru, že v črevách lariev sa pravidelne vyskytuje súbor rodov, ako sú *Enterococcus*, *Providencia*, *Morganella* a *Dysgonomonas*, hoci početnosť sa medzi štúdiami a v rámci nich relatívne líši. Informácií o funkciách týchto perzistentných mikroorganizmov je však stále málo.

Výskyt koliformných baktérií v larvách pred našim experimentom nebol zaznamenaný. Nepovažujeme to za veľmi pravdepodobné a pripisujeme to vyšším riedeniam, ktoré boli použité vzhľadom na očakávaný vysoký počet zástupcov baktérií tejto skupiny v larvách po kŕmení potravinovými zvyškami, čo sa aj potvrdilo. Priemerné počty koliformných baktérií boli

7,84 log KTJ.g^{-1} v prípade I. variantu a 7,60 log KTJ.g^{-1} v prípade II. variantu. Wynants et al. (2019) uvádzajú, že počet zástupcov čeľade *Enterobacteriaceae* sa v ich štúdii v žiadnom cykle významne nemenil.

Čo sa týka sporulujúcich baktérií, v našej štúdii sme zaznamenali mierne zníženie ich počtu v I. variante (z pôvodného počtu 4,41 log KTJ.g^{-1} na 4,25 log KTJ.g^{-1}) a naopak výraznejšie zvýšenie ich počtu (na 6,12 log KTJ.g^{-1}) v II. variante, kde bolo použité zaplesnivené krmivo. Wynants et al. (2019) uvádzajú počty aeróbnych sporulantov v larvách muchy čiernej na úrovni 3,7 až 7,5 log KTJ.g^{-1} a uvádzajú, že neboli pozorované žiadne významné zmeny alebo významné poklesy. Bližšiu analýzu zástupcov sporulujúcich baktérií sme v našej práci nevykonávali, no autori Grabowski et Klein (2017) uvádzajú, že v štúdiách jedlého hmyzu bol identifikovaný predovšetkým *Bacillus cereus*. Výskum Yu et al. (2011) ukázal, že z BSFL možno izolovať i kmene *Bacillus subtilis*. Dokonca sa ukázalo, že keď boli zámerne pridávané do substrátu, tak zvyšovali rast lariev, a to pravdepodobne vďaka ich pomoci pri trávení substrátu. Znepokojenie môže vyvolávať predovšetkým prítomnosť baktérie *B. cereus*, nakoľko je to známy potenciálny producent tepelne odolného toxínu cereulidu. Wells-Bennik et al. (2016) zastávajú názor, že v prípade väčšieho množstva prítomných spór v kombinácii s pH, ktoré nie je dostatočne nízke na to, aby sa zabránilo klíčeniu spór, možno predpokladať, že priaznivá teplota, a_v a matrica bohatá na živiny by mohli podporiť klíčenie endospór. Stenfors Arnesen et al. (2008) uvádzajú, že hoci sa za prahovú hustotu buniek na produkciu cereulidu vo všeobecnosti považuje 4 až 5 log KTJ.g^{-1}, niektoré štúdie uvádzajú ešte nižšie hustoty produkcie toxínov. V dôsledku toho nemožno úplne vylúčiť možnú produkciu cereulidu. Pozornosť by sa preto mala venovať prítomnosti *B. cereus*, či už ako endospóry alebo vo vegetatívnom stave, pred a počas spracovania lariev na krmivo, potravinu alebo iné produkty (Fasolato, 2018).

V rámci mykologických ukazovateľov bola naša pozornosť venovaná kvantifikácii mikroskopických vláknitých húb a kvasiniek. Získané údaje sú spracované v tabuľke č. 4. Počty kvasiniek boli v prípade obidvoch spôsobov kŕmenia zvýšené z pôvodnej hodnoty 4,04 log KTJ.g^{-1} na 6,11 log KTJ.g^{-1} v I. variante a 5,94 log KTJ.g^{-1} v II. variante. Kvasinky boli vo všeobecnosti zaznamenané vo vyšších počtoch ako vláknité mikromycéty. Tie boli v larvách pred experimentom zaznamenané v počte 3,70 log KTJ.g^{-1} a na konci experimentu I. variantu boli vyrastené len v nízkych počtoch (<3,3 KTJ.g^{-1}), pravdepodobne na úkor kvasiniek. V prípade II. variantu, kde boli larvy kŕmené zaplesniveným krmivom, bol detegovaný aj vyšší počet vláknitých mikromycét (5,07 KTJ.g^{-1}). V štúdii Wynants et al. (2019) tiež venovali pozornosť výskytu húb v BSFL a dospeli k záveru, že ich počty sa v priebehu všetkých cyklov výrazne znížili. Spomínaní autori v niektorých vzorkách lariev a/alebo zvyškov zistili aj

prítomnosť potenciálnych potravinových patogénov, ako sú *Salmonella* spp. a *Bacillus cereus*. Park et al. (2015) však uvádzajú, že larvy majú schopnosť produkovať antimikrobiálne peptidy potláčajúce počet patogénnych a iných baktérií v ich prostredí. Táto možnosť je stále predmetom štúdia, ale mohla by pôsobiť ako bariéra pre vonkajšiu mikrobiálnu kolonizáciu lariev a podporovať udržanie vrodenej mikrobiálnej črevnej komunity.

Tabuľka č. 4, Výsledky mykologických analýz lariev muchy čiernej

Ukazovateľ	KV (log KTJ.g^{-1})			MVH (log KTJ.g^{-1})		
Variant	0.	I.	II.	0.	I.	II.
Priemer	**4,04**	**6,11**	**5,94**	**3,70**	**<3,3**	**5,07**
SD	-	0,07	0,41	-	-	0,25
Min	-	6,00	5,34	-	<3,0	4,74
Max	-	6,15	6,21	-	<3,6	5,32
CV	-	1,15	6,90	-	-	4,93

KV - kvasinky; MVH – mikroskopické vláknité huby; SD - smerodajná odchýlka; CV - variačný koeficient; 0. – pred začiatkom pokusu; I. variant – po kŕmení ryžou s hráškom; II. variant – po kŕmení prirodzene zaplesnivenou ryžou s hráškom

Tabuľka č. 5, Hmotnosť 100 ks lariev muchy čiernej [g] na začiatku experimentu a v jednotlivých variantoch na konci experimentu

Variant	Priemer	SD	Min	Max	CV	Prírastok hmotnosti [%]
0.	3,20	-	-	-	-	-
I.	9,65	0,10	9,60	9,80	1,04	201,56
II.	8,85	0,41	8,40	9,20	4,63	176,56

SD - smerodajná odchýlka; CV – variačný koeficient; 0. – pred začiatkom pokusu; I. variant – po kŕmení ryžou s hráškom; II. variant – po kŕmení prirodzene zaplesnivenou ryžou s hráškom

Okrem typu substrátu a metód chovu pravdepodobne ovplyvňuje mikrobiálne počty zozbieraných lariev i načasovanie ich zberu. Načasovanie obyčajne závisí od veku a vývojového štádia lariev, čo zase môže ovplyvniť nielen ich mikrobiotu, ale aj určité vnútorné parametre. V našej štúdii sme sledovali tiež prírastky na hmotnosti kŕmených lariev (tabuľka č. 5) a podiel nutrične dôležitých parametrov, ako sú tuky a bielkoviny (tabuľka č. 6). Hmotnosť 100 ks lariev na začiatku experimentu predstavovala 3,20 g. Väčší prírastok na hmotnosti

(201,56 %) po 8 dňoch chovu sme zaznamenali v I. variante pokusu, kde 100 ks lariev na konci pokusu vážilo 9,65 g. V II. variante larvy dosiahli priemernú hmotnosť 8,85 g, a teda hmotnostný prírastok pre sledované obdobie chovu predstavoval 176,56 %.

Tabuľka č. 6, Podiel [%] bielkovín a tukov z celkovej biomasy lariev muchy čiernej na začiatku experimentu a v jednotlivých variantoch na konci experimentu

Ukazovateľ	bielkoviny [%]			tuky [%]		
Variant	0.	I.	II.	0.	I.	II.
Priemer	**18,08**	**22,85**	**26,68**	**7,52**	**10,89**	**9,22**
SD	0,10	1,07	0,15	-	0,59	0,19
Min	18,0	21,4	26,5	-	10,12	8,99
Max	18,2	23,9	26,8	-	11,54	9,45
CV	0,55	4,68	0,56	-	5,42	2,06

SD - smerodajná odchýlka; CV - variačný koeficient; 0. – pred začiatkom pokusu; I. variant – po kŕmení ryžou s hráškom; II. variant – po kŕmení prirodzene zaplesnivenou ryžou s hráškom

Larvy múch čiernych sú veľmi bohaté na tuk, ktorý má extrémnu kvantitatívnu (15 - 49 % sušiny) a kvalitatívnu variabilitu v závislosti od chemického zloženia chovného substrátu (St-Hilaire et al., 2007). Predpokladá sa, že tukové telieska lariev predstavujú kľúčové tkanivo pre humorálnu imunitu hmyzu a najmä pre syntézu antimikrobiálnych peptidov (Park et al., 2015) a tiež sa predpokladá, že obsah tuku sa zvyšuje počas vývoja lariev (Liu et al., 2017a). Larvy sa vyznačujú tiež vysokým obsahom bielkovín (obyčajne > 40 % sušiny) s priaznivým spektrom aminokyselín na použitie ako krmivo pre zvieratá. Keďže dospelí jedinci (muchy) sa nekŕmia, larvy konzumujú organickú hmotu čo najviac a ukladajú tuky a bielkoviny vo svojom tele, aby podporili ich metabolizmus počas kukly a dospelosti. Približné zloženie lariev v štádiu predkukly, najmä obsah hrubého proteínu a hrubého tuku, sa však líši v závislosti od typu substrátu a štádia rastu (napr. larvy, predkukly a kukly) (Newton et al., 2005). Nami namerané hodnoty, spracované v tabuľke č. 6, predstavujú percentuálny podiel sledovaných nutričných parametrov z celkovej biomasy lariev, pričom podiel vody v larvách sa podľa literatúry pohybuje na úrovni 50 – 70 %, opäť v závislosti od mnohých faktorov, ako sú vek lariev, kŕmenie, prostredie a ďalšie podmienky chovu. Podiel bielkovín v I. variante narástol o 26,38 %, v II. variante až o 41,91 %. Podiel tukov mal naopak vyšší nárast v I. variante (44,81 %), v II. variante stúpol o 22,61 %. Na základe uvedeného sa javí, že krmivo silne kontaminované

mikroskopickými vláknitými hubami malo pravdepodobne väčší vplyv na nárast bielkovinového podielu.

ZÁVER

Komunita črevných mikroorganizmov u hmyzu môže byť značne ovplyvnená kŕmnym substrátom. Výber substrátu teda môže byť dôležitým faktorom, ktorý ovplyvňuje bezpečnosť krmív, resp. potravín. Nežiaduce mikroorganizmy, ktoré môžu byť prítomné v substráte z potravinových zvyškov, sa môžu preniesť do črevného traktu lariev a následne spôsobiť ochorenie u tradičných hospodárskych zvierat, ktorým sa podáva krmivo na báze lariev, alebo u ľudí konzumujúcich výrobky z lariev. V našej práci sme v rámci 2 variantov pokusu sledovali mikrobiotu lariev po kŕmení relatívne čerstvým substrátom z varenej ryže a rozmrazeného hrášku a po kŕmení tým istým, ale prirodzene zaplesniveným substrátom. V prípade celkového počtu mikroorganizmov, koliformných baktérií a kvasiniek sme nezaznamenali výrazné rozdiely v mikrocenóze lariev I. a II. variantu. V rámci sporulujúcich baktérií a mikroskopických vláknitých húb sme výrazne vyššie počty detegovali v larvách z II. variantu. Rodové alebo druhové zastúpenie mikroorganizmov si vyžaduje ďalšie experimenty, no na základe publikovaných dát iných štúdií môžeme za potenciálny problém považovať výskyt toxinogénnych sporulujúcich baktérií. Prikláňame sa k názoru, že i napriek priaznivému nutričnému zloženiu (najmä čo sa týka bielkovín a tukov), v prípade potenciálneho využitia biomasy lariev muchy čiernej pre ľudskú spotrebu alebo pre živočíšnu výživu, rovnako ako v prípade iných zložiek krmív prípadne potravín, sú potrebné technológie dekontaminácie.

POĎAKOVANIE

Táto štúdia vznikla s podporou projektu VEGA 1/0512/22 - Biokonverzia kuchynského odpadu na vysoko hodnotné krmivo využitím lariev muchy čiernej.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BOSCH, G. – ZHANG, S. – OONINCX, D. G. – HENDRIKS, W. H. Protein quality of insects as potential ingredients for dog and cat foods. In *Journal of nutritional science*, 2014, vol. 3, p. 29.
2. BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. In *Analytical biochemistry*, 1976, vol. 72, no. 1-2, p. 248-254.

3. CERDA, A. – ARTOLA, A. – FONT, X. – BARRENA, R. – GEA, T. – SÁNCHEZ, A. Composting of food wastes: Status and challenges. In *Bioresource technology*, 2018, vol. 248, p. 57-67.
4. CHEN, C. – CHAUDHARY, A. – MATHYS, A. Nutritional and environmental losses embedded in global food waste. In *Resources, Conservation and Recycling*, 2020, vol. 160, p. 104912.
5. DE CLERCQ, D. – WEN, Z. – GOTTFRIED, O. – SCHMIDT, F. – FEI, F. A review of global strategies promoting the conversion of food waste to bioenergy via anaerobic digestion. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2017, vol. 79, p. 204-221.
6. DOU, Z. – TOTH, J. D. – WESTENDORF, M. L. Food waste for livestock feeding: Feasibility, safety, and sustainability implications. In *Global food security*, 2018, vol. 17, p. 154-161.
7. ENGEL, P. – MORAN, N. A. The gut microbiota of insects–diversity in structure and function. In *FEMS microbiology reviews*, 2013, vol., 37, no. 5, p. 699-735.
8. FASOLATO, L. – CARDAZZO, B. – CARRARO, L. – FONTANA, F. – NOVELLI, E. – BALZAN, S. Edible processed insects from e-commerce: Food safety with a focus on the *Bacillus cereus* group. In *Food microbiology*, 2018, vol. 76, p. 296-303.
9. GOLD, M. – VON ALLMEN, F. – ZURBRÜGG, C. – ZHANG, J. – MATHYS, A. Identification of bacteria in two food waste black soldier fly larvae rearing residues. In *Frontiers in Microbiology*, 2020, vol. 11, p. 582867.
10. GOLD, M. – TOMBERLIN, J. K. – DIENER, S. – ZURBRÜGG, C. – MATHYS, A. Decomposition of biowaste macronutrients, microbes, and chemicals in black soldier fly larval treatment: A review. In *Waste Management*, 2018, vol. 82, p. 302-318.
11. GORRENS, E. – VAN MOLL, L. – FROONINCKX, L. – DE SMET, J. – VAN CAMPENHOUT, L. Isolation and identification of dominant bacteria from black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) envisaging practical applications. In *Frontiers in Microbiology*, 2021, vol. 12, p. 665546.
12. GRABOWSKI, N. T. – KLEIN, G. Microbiology of processed edible insect products–results of a preliminary survey. In *International journal of food microbiology*, 2017, vol. 243, p. 103-107.
13. JANG, S. – KIKUCHI, Y. Impact of the insect gut microbiota on ecology, evolution, and industry. In *Current opinion in insect science*, 2020, vol. 41, p. 33-39.
14. JEON, H. – PARK, S. – CHOI, J. et al. The Intestinal Bacterial Community in the Food Waste-Reducing Larvae of *Hermetia illucens*. In Current Microbiology, 2011, vol. 62, p. 1390–1399.

15. LALANDER, C. D. S. Z. – DIENER, S. – ZURBRÜGG, C. – VINNERÅS, B. Effects of feedstock on larval development and process efficiency in waste treatment with black soldier fly (*Hermetia illucens*). In *Journal of cleaner production*, 2019, vol. 208, p. 211-219.
16. LI, Z. – LU, H. – REN, L. – HE, L. Experimental and modeling approaches for food waste composting: A review. In *Chemosphere*, 2013, vol. 93, no. 7, p. 1247-1257.
17. LIU, X. – CHEN, X. – WANG, H. – YANG, Q. – UR REHMAN, K. – LI, W. – CAI, M. – LI, Q. – MAZZA, L. – ZHANG, J. – YU, Z. Dynamic changes of nutrient composition throughout the entire life cycle of black soldier fly. In *PLoS One*, 2017a, vol. 12, no. 8, p. e0182601.
18. LIU, Y. – XING, P. – LIU, J. Environmental performance evaluation of different municipal solid waste management scenarios in China. In *Resources, Conservation and Recycling*, 2017b, vol. 125, p. 98-106.
19. NEWTON, L. – SHEPPARD, C. – WATSON, D. – BURTLE, G. – DOVE, R. Using the black soldier fly, *Hermetia illucens*, as a value-added tool for the management of swine manure. In *Animal and Poultry Waste Management Center, North Carolina State University, Raleigh, NC*, 2005, vol. 17, p.18.
20. PARK, K. H. – KWAK, K. W. – NAM, S. H. – CHOI, J. Y. – LEE, S. H. – KIM, H. G. – KIM, S. H. Antibacterial activity of larval extract from the black soldier fly *Hermetia illucens* (Diptera: *Stratiomyidae*) against plant pathogens. In *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 2015, vol. 3, p. 176-179.
21. STENFORS ARNESEN, L. P. – FAGERLUND, A. – GRANUM, P. E. From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. In *FEMS microbiology reviews*, 2008, vol., 32, no. 4, p. 579-606.
22. ST-HILAIRE, S. – SHEPPARD, C. – TOMBERLIN, J. K. – IRVING, S. – NEWTON, L. – MCGUIRE, M. A. – MOSLEY, E. E. – HARDY, R. W. – SEALEY, W. Fly prepupae as a feedstuff for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. In J*ournal of the world aquaculture society*, 2007, vol. 38, no. 1, p. 59-67.
23. VAN HUIS, A. Edible insects are the future? In *Proceedings of the Nutrition Society*, 2016, vol. 75, no. 3, p. 294-305.
24. VAN HUIS, A. et al. *Edible insects: Future prospects for food and feed security*. Rím : Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2013. 187 p. ISBN 978-92-5-107595-1.
25. WELLS-BENNIK, M. H. – EIJLANDER, R. T. – DEN BESTEN, H. M. – BERENDSEN, E. M. – WARDA, A. K. – KRAWCZYK, A. O. – NIEROP GROOT,

M. N. – XIAO, Y. – ZWIETERING, M. H. – KUIPERS, O. P. – ABEE, T. Bacterial spores in food: survival, emergence, and outgrowth. In *Annual review of food science and technology*, 2016, vol. 7, p. 457-482.

26. WYNANTS, E. et al. Assesing the Microbiota of Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia Illucens*) Reared on Organic Waste Streams on Four Different Locations at Laboratory and Large Scale. In *Environmental Microbiology*, 2019, vol. 77, p. 913-930.
27. YU, G. – CHENG, P. – CHEN, Y. – LI, Y. – YANG, Z. – CHEN, Y. – TOMBERLIN, J. K. Inoculating poultry manure with companion bacteria influences growth and development of black soldier fly (Diptera: *Stratiomyidae*) larvae. In *Environmental entomology*, 2011, vol. 40, no. 1, p. 30-35.

Kontaktná adresa: Ing. Mašková Zuzana, PhD., Institute of Biotechnology, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak Agricultural University in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic; E-mail: zuzana.maskova@uniag.sk

POUŽITIE EXTRAKTU Z VÝLISKOV RAJČIAKA JEDLÉHO AKO ANTIOXIDANTU V MÄKKOM MÄSOVOM VÝROBKU

TOMATO POMACE EXTRACT AS AN ANTIOXIDANT IN RAW COOKED MEAT PRODUCT

Mesárošová Andrea, Bobko Marek, Bobková Alica, Demianová Alžbeta, Poláková Katarína, Jurčaga Lukáš

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

ABSTRACT

The utilization of by-products from the food industry for enhancing the nutritional and functional properties of meat products has garnered considerable interest due to sustainability concerns and the pursuit of healthier food options. This study explores the potential of incorporating tomato pomace extract, a by-product of tomato processing, into pork sausages in various concentrations. In our study we observed significant decrease of malondialdehyde produced during storage of pork sausages with tomato pomace extract addition. Those results demonstrate that the inclusion of tomato pomace extract improves sausage's antioxidant activity and phenolic compounds content while enhances the stability of lipids contributing to the extended shelf life of the product.

Key words: sausage, tomato, lidpid oxidation, storage

ÚVOD

Celosvetová produkcia rajčiaka jedlého *(Lycopersicon esculentum)* je na úrovni zhruba 170 miliónov ton ročne. Z toho objemu, asi 127,5 milióna ton rajčiaka sa spotrebuje v čerstvom stave a zvyšných zhruba 42,5 milióna ton je priemyselne spracovaných na rôzne konečné produkty (Damasceno *et al.*, 2019). Počas priemyselného spracovania však vzniká veľké množstvo vedľajších produktov – výliskov, z ktorých väčšina nie je vhodne spracovaná. Keďže výlisky rajčiaka jedlého sú bohaté na vodu a živiny, podliehajú skaze a pri nesprávnom zaobchádzaní sa môžu stať kontaminantom. Ak sa však s týmito vedľajšími produktmi zaobchádza rozumne, môžu vytvárať vysokú ekonomickú hodnotu (Lu *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2022). Štandardný postup teda nielen plytvá zdrojmi, ale aj vážne znečisťuje životné prostredie. Rajčiakové výlisky sú tvorené približne zo 60 % semenami a 40 % šupkou, s priemerným obsahom bielkovín na úrovni 21,9 %. Spracované vedľajšie produkty taktiež obsahujú

zlúčeniny s vysokou pridanou hodnotou, ako sú vitamíny, karotenoidy, lykopén, flavonoidy a rozpustná vláknina (Mildner-Szkudlarz *et al.*, 2016).

Zvyšujúci sa dopyt spotrebiteľov po mäsových ako aj bezmäsitých údeninách podnecuje spoločnosti vyrábajúce mäsové výrobky, aby používali nové technológie spracovania a testovali nové prísad. V posledných rokoch došlo k výraznému nárastu používania potravinovej vlákniny ako napr. ryžových otrúb, nemäsových bielkovín a hydrokoloidov. Zahrnutie týchto funkčných zložiek do receptúry mäsových výrobkov môže viesť k dosiahnutiu požadovaných vlastností a môže tiež zlepšiť imidž údenín u spotrebiteľov, ktorích cieľom je stravovať sa s čo najvyšším ohľadom na ich zdravie (Weiss *et al.*, 2010; Savadkoohi *et al.*, 2014). Párky ako spracované mäsové výrobky sú bežné v rôznych a rôznorodých kultúrach po celom svete. Výroba údenín je špecifická použitým množstvom a rôznorodosťou ingrediencií, aby bol finálny produkt kvalitný a bezpečný, ale aj nákladovo efektívny (Farahnaky *et al.*, 2008).

V našej štúdií sme pozorovali pridanie extraktu výliskov rajčiaka jedlého do bravčových párkov za účelom zlepšenia oxidačných vlastností a predĺženia skladovateľnosti týchto mäsových výrobkov. Rovnako dôležité je použitie vedľajších produktov spracovania potravín, čím je možné znížiť záťaž na životné prostredie a podporiť cirkulárnu ekonomiku v potravinárstve.

MATERIÁL A METODIKA

Výroba mäsového výrobku

Na výrobku párkov bolo použité bravčové mäso (plece a bok), čierne korenie, soľ, červená paprika sladká, červená paprika pálivá, muškátový orech a kutrovacia zmes. Kontrolná skupina (Kont_0) bola pripravená bez pridania antioxidantu, kontrolná skupina s použitím kyseliny askorbovej (Kont-C), experimentálna skupina s použitím extraktu 3 $ml.kg^{-1}$ (Exp_3) a experimentálna skupina s použitím extraktu 5 $ml.kg^{-1}$ (Exp_5).

Príprava a analýza extraktu

Extrakt z výliskov rajčiaka jedlého *(Lycopersicon esculentum)* bol pripravený podľa metodiky Shirahigue *et al.* (2010). Sušené a homogenizované výlisky (20 g) boli extrahované v 100 ml 80% etanolu v trepačke a nechali sa odstáť 24 hodín v tmavom prostredí. Supernatant bol vákuovo filtrovaný vo vákuovej rotačnej odparke pri 65 °C až do úplného odparenia rozpúšťadla. Zvyšky boli rozpustené vo vode na konečný objem 50 ml.

Na vyšetrenie extraktu boli použité dve spektrofotometrické analýzy. Celková antioxidačná kapacita (TAC) bola stanovená pomocou zachytávania voľných radikálov s použitím DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl) podľa Brand-Williams *et al.* (1995).

Stanovenie celkového obsahu polyfenolov (TPC) bolo realizované modifikovanou Folin–Ciocalteuovou spektrofotometrickou metódou podľa Bobková *et al.* (2021). Princíp metódy je v reakcii polyfenolov s Folin-Ciocalteuovým činidlom, ktoré v alkalickom prostredí poskytuje modrý komplex.

Meranie pH výrobkov

Na meranie hodnôt pH mäsových výrobkov bol použitý stolný pH meter s vpichovou sondou (Orion Star™ A211 Benchtop pH meter). Pred meraním vzoriek bola pH elektróda kalibrovaná pomocou kalibračných roztokov (Hamilton AG Bonaduz, pH 4, 7 a 10) pri teplote 20 ± 1 °C.

Meranie oxidačnej stability

Oxidačná stabilita párkov bola meraná pomocou metodiky TBARS publikovanej v našej predchádzajúcej práci Jurčaga *et al.* (2022) pomocou UV-VIS spektrofotometra. Konečné výsledky boli vypočítané pomocou kalibračnej krivky a vyjadrené ako množstvo malóndialdehydu (MDA) (mg) prítomného v 1 kg vzorky.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Analýza extraktu

Počas nášho merania sme stanovili celkovú antioxidačnú kapacitu (TAC) extraktu rajčiaku jedlého na úrovni 12,07 ± 3,14 %. Celkové množstvo polyfenolov (TPC) merané v nami použitom extrakte bolo 16,68 ± 0,11 g ekvivalentu kyseliny gálovej (GAE) na kilogram suchej hmoty.

Savatovic et al., (2012) pozorovali celkovú oxidačnú stabilitu extraktov získaných zo šiestich druhov rajčiaka jedlého. Autori uvádzajú rozsah 11.3 ± 0.50 až 19.1 ± 0.90 % inhibície DPPH, čo naznačuje, že antioxidačná kapacita rajčiaka jedlého (*Lycopersicon esculentum*) je veľmi závislá od jeho variety. Elbadrawy a Sello (2016) skúmali celkovú antioxidačnú kapacitu extraktov šupiek rajčiaka obyčajného s použitím rôznych extrakčných činidiel. Autori uvádzajú najnižšiu kapacitu pri použití metanolu (44,30 ± 0,88 %) a naopak najvyššiu pri použití chloroformu (81,03 ± 1,00 %). Azabou et al., (2020) potvrdili, že aj celkové množstvo polyfenolov v extraktoch rajčiaka jedlého je závislé na použitom extrakčnom činidle. Autori pozorovali najlepšiu extrakciu polyfenolov pri použití etanolu a naopak, najnižšiu pri použití hexánu pri extrakcií rastlinného materiálu. Z týchto výsledkov je zrejmé, že celková antioxidačná kapacita ako aj celkové množstvo polyfenolov v extraktoch rajčiaka jedlého je závislá od variety, použitého extrakčného činidla alebo navážky rastlinného materiálu.

Výsledky merania pH

Počas našej štúdie sme pozorovali signifikantne nižšiu *($p \leq 0,05$)* hodnotu pH vo vzorkách skupiny Kont_C s prídavkom kyseliny askorbovej počas celej doby skladovania. Tento trend je vysvetliteľný nízkou hodnotou pH samotnej kyseliny askorbovej. Naopak, už po siedmych dňoch skladovania vidíme zvýšenie hodnôt pH v skupinách s pridaných extraktom výliskov rajčiaka jedlého. Na konci doby skladovania (21. deň) boli pozorované hodnoty pH s nižšou variabilitou medzi skupinami, aj keď v experimentálnych skupinách bolo zvýšenie pH priamoúmerné prídavku extraktu.

Tabuľka č. 3 Hodnoty pH párkov počas skladovania

	1. deň	7. deň	14. deň	21. deň
Kont_0	$6,71 \pm 0,03^{a}$	$6,71 \pm 0,03^{b}$	$6,76 \pm 0,02^{a}$	$6,70 \pm 0,03^{ab}$
Kont_C	$6,65 \pm 0,03^{b}$	$6,68 \pm 0,03^{c}$	$6,71 \pm 0,02^{b}$	$6,62 \pm 0,05^{b}$
Exp_3	$6,69 \pm 0,04^{ab}$	$6,75 \pm 0,02^{a}$	$6,74 \pm 0,04^{a}$	$6,66 \pm 0,06^{ab}$
Exp_5	$6,74 \pm 0,05^{a}$	$6,75 \pm 0,02^{a}$	$6,75 \pm 0,02^{a}$	$6,72 \pm 0,04^{a}$

Horný index (a, b) označuje štatisticky preukazný rozdiel medzi meraniami v stĺpci po štatistickej analýze (ANOVA) pri $\alpha = 0,05$; Kont_0 – kontrolná skupina bez pridania antioxidantu, Kont_C – kontrolná skupina si prídavkom kyseliny askorbovej (0,5 $g.kg^{-1}$), Exp_3 – experimentálna skupina s prídavkom extraktu z výliskov rajčiaka jedlého (3 $ml.kg^{-1}$), Exp_5 – experimentálna skupina s prídavkom extraktu z výliskov rajčiaka jedlého (5 $ml.kg^{-1}$).

Modzelewska-Kapituła *et al.* (2012) pozorovali zmeny pH po pridaní práškového extraktu rajčiaka jedlého do sekanej v koncentrácií od 0,2 až 1,0%. Autori opisujú pokles pH so zvyšujúcim sa prídavkom extraktu. Rovnako, zníženie hodnôt pH v párkoch bolo potvrdené po pridaní rajčiakovej pasty (Deda *et al.*, 2007) ako aj rajčiakového prášku (Eyiler a Oztanpo, 2011). V našej štúdií nebol pozorovaný trend, čo môže byť vysvetlené rozdielnou formou a koncentráciou extraktu.

Výsledky merania oxidačnej stability

Koncentrácia malóndialdehydu (MDA) v pozorovaných vzorkách sa signifikantne nelíšili *($p \geq 0,05$)* na začiatku skladovania (1. deň) ani po týždni chladiarenského skladovania (7. deň). V 14. deň už pri skladovaných vzorkách pozorujeme signifikantné rozdiely *($p \leq 0,05$)* v koncentrácií MDA. Podľa očakávaní, v skupine bez prídavku antioxidantu (Kont_0) bola táto koncentrácia najvyššia, naopak najnižšia v skupine s použitou kyselinou askorbovou (Kont_C). U experimentálnych skupín je antioxidačný účinok extraktu priamo-úmerný koncentrácií. Vyššia koncentrácia extraktu (5 $ml.kg^{-1}$) má porovnateľný efekt ako prídavok 0,5$g.kg^{-1}$ kyseliny askorbovej. Na konci doby skladovania (21. deň) bola opäť štatisticky významne vyššia

koncentrácia MDA v kontrolnej skupine Kont_0 v porovnaní s ostatnými skupinami. Rozdiely pozorované medzi skupinami s prídavkom antioxidantu neboli štatisticky preukazné.

Tabuľka č. 4 Hodnoty koncentrácie MDA párkov počas skladovania

	1. deň	7. deň	14. deň	21. deň
Kont_0	$0,113 \pm 0,005^{a}$	$0,146 \pm 0,017^{a}$	$0,186 \pm 0,010^{a}$	$0,264 \pm 0,011^{a}$
Kont_C	$0,107 \pm 0,005^{a}$	$0,133 \pm 0,006^{a}$	$0,152 \pm 0,005^{c}$	$0,186 \pm 0,010^{b}$
Exp_3	$0,111 \pm 0,004^{a}$	$0,140 \pm 0,005^{a}$	$0,170 \pm 0,006^{b}$	$0,216 \pm 0,022^{b}$
Exp_5	$0,109 \pm 0,011^{a}$	$0,142 \pm 0,012^{a}$	$0,163 \pm 0,012^{bc}$	$0,202 \pm 0,010^{b}$

Horný index (a, b, c) označuje štatisticky preukazný rozdiel medzi meraniami v stĺpci po štatistickej analýze (ANOVA) pri $\alpha = 0,05$; Kont_0 – kontrolná skupina bez pridania antioxidantu, Kont_C – kontrolná skupina si prídavkom kyseliny askorbovej (0,5 $g.kg^{-1}$), Exp_3 – experimentálna skupina s prídavkom extraktu z výliskov rajčiaka jedlého (3 $ml.kg^{-1}$), Exp_5 – experimentálna skupina s prídavkom extraktu z výliskov rajčiaka jedlého (5 $ml.kg^{-1}$).

Kim a Chin (2013) uvádzajú, že pridanie rajčiakového prášku vo varených párkoch nevykazovalo signifikantný vplyv na množstvo tvoreného MDA počas prvých 21 dní skladovania. Až v 28. deň malo pridanie prášku za následok inhibíciu oxidácie lipidov, čo ukazuje, že rajčiakový prášok spomaľuje oxidáciu lipidov počas dlhodobého skladovania. Podobne, pridanie paradajkového prášku (Kim *et al.*, 2011) a paradajkového pretlaku (Bázan-Lugo *et al.*, 2011) do párkov významne znížilo oxidáciu lipidov počas skladovania. Okrem toho bolo pozorované, že oxidácia sa znižovala so zvyšujúcou sa koncentráciou rajčiakového prídavku, čo ukazuje, že antioxidačná účinnosť je závislá od dávky. Doménech-Asensi *et al.* (2013) použili rajčiakovú pastu vo výrobe typického mäsového výrobku (mortadella). Napriek tomu, že zmeny medzi skupinami neboli štatisticky preukazné, autori potvrdili zlepšenie oxidačnej stability po pridaní rajčiakovej pasty. Rovnako potvrdili, že toto zlepšenie bolo závisle od koncentrácie prídavku.

ZÁVER

V našej štúdií sme pozorovali vplyv prídavku extraktu rajčiaka jedlého na pH a oxidačnú stabilitu párkov. V neskorších fázach skladovania sme pozorovali zníženie tvorby MDA vo vzorkách párkov s použitím extraktu výliskov rajčiaka jedlého. Naše výsledky naznačujú potenciál využitia vedľajšieho produktu pri spracovaní rajčiakov ako prírodného antioxidantu pre mäsový priemysel. Táto snaha môže znamenať zmiernenie dopadu spracovania rajčiaka na životné prostredie ako aj zlepšenie vlastností mäsových výrobkov na základe požiadaviek moderných zákazníkov. Tento výskum je stále vo počiatočnej fáze a pred

zavedením do praxe je potrebný výskum v mnohých oblastiach ako je bezpečnosť a hygiena potravín, mikrobiológia či senzorická analýza.

POĎAKOVANIE

Táto práca vznikla vďaka podpore Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu SR, projektom KEGA 001SPU-4/2023 a VEGA 1/0402/23.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AZABOU, S. et al. Phytochemical profile and antioxidant properties of tomato by-products as affected by extraction solvents and potential application in refined olive oils. In *Food Bioscience* [online]. 2020. Vol. 36, s. 100664. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100664>.
2. BÁZAN-LUGO, E. et al. Color compensation in nitrite-reduced meat batters incorporating paprika or tomato paste. In *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online]. 2011. Vol. 92, no. 8, s. 1627–1632. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1002/jsfa.4748>.
3. BOBKOVÁ, A. et al. Detection of changes in total antioxidant capacity, the content of polyphenols, caffeine, and heavy metals of teas in relation to their origin and fermentation. In *Foods* [online]. 2021. Vol. 10, no. 8, s. 1821. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.3390/foods10081821>.
4. BRAND-WILLIAMS, W. et al. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. In *LWT* [online]. 1995. Vol. 28, no. 1, s. 25–30. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/s0023-6438(95)80008-5>.
5. DAMASCENO, M.M.C. et al. Extraction of tomato by-products' bioactive compounds using ohmic technology. In *Food and Bioproducts Processing* [online]. 2019. Vol. 117, s. 329–339. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.08.005>.
6. DEDA et al. Effect of tomato paste and nitrite level on processing and quality characteristics of frankfurters. In *Meat Science* [online]. 2007. Vol. 76, no. 3, s. 501–508. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.01.004>.
7. DOMÉNECH-ASENSI, G. et al. Effect of the addition of tomato paste on the nutritional and sensory properties of mortadella. In *Meat Science* [online]. 2013. Vol. 93, no. 2, s. 213–219. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.08.021>.
8. ELBADRAWY, E. - SELLO, A. a. A. Evaluation of nutritional value and antioxidant activity of tomato peel extracts. In *Arabian Journal of Chemistry* [online]. 2016. Vol. 9,

s. S1010–S1018. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.11.011>.

9. EYILER, E. - ÖZTAN, A. Production of frankfurters with tomato powder as a natural additive. In *LWT* [online]. 2011. Vol. 44, no. 1, s. 307–311. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.07.004>.
10. FARAHNAKY, A. et al. THE USE OF TOMATO PULP POWDER AS a THICKENING AGENT IN THE FORMULATION OF TOMATO KETCHUP. In *Journal of Texture Studies* [online]. 2008. Vol. 39, no. 2, s. 169–182. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2008.00136.x>.
11. JURČAGA, L. et al. EFFECT OF AMELANCHIER EXTRACT ON LIPID OXIDATION AND SENSORY FEATURES OF PORK SAUSAGES. In *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* [online]. 2022. s. e9433. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.55251/jmbfs.9433>.
12. KIM, H.S. - CHIN, K.B. Antioxidant activity of tomato powders as affected by water solubility and application to the pork sausages. In *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* [online]. 2013. Vol. 33, no. 2, s. 170–180. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.5851/kosfa.2013.33.2.170>.
13. KIM, I.-S. et al. Quality of low-fat pork sausages with tomato powder as colour and functional additive during refrigerated storage. In *Journal of Food Science and Technology* [online]. 2010. Vol. 48, no. 5, s. 591–597. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0182-2>.
14. LI, J. et al. The structural and functional characteristics of soluble dietary fibers modified from tomato pomace with increased content of lycopene. In *Food Chemistry* [online]. 2022. Vol. 382, s. 132333. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132333>.
15. LU, Z. et al. Sustainable valorisation of tomato pomace: A comprehensive review. In *Trends in Food Science and Technology* [online]. 2019. Vol. 86, s. 172–187. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.020>.
16. MILDNER-SZKUDLARZ, S. et al. Physical and Bioactive Properties of Muffins Enriched with Raspberry and Cranberry Pomace Powder: A Promising Application of Fruit By-Products Rich in Biocompounds. In *Plant Foods for Human Nutrition (Dordrecht. Print)* [online]. 2016. Vol. 71, no. 2, s. 165–173. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1007/s11130-016-0539-4>.
17. MODZELEWSKA-KAPITUŁA, M. Effects of tomato powder on color, lipid oxidation and sensory properties of comminuted meat products. In *Journal of Food Quality*

[online]. 2012. Vol. 35, no. 5, s. 323–330. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2012.00457.x>.

18. SAVADKOOHI, S. et al. Color, sensory and textural attributes of beef frankfurter, beef ham and meat-free sausage containing tomato pomace. In *Meat Science* [online]. 2014. Vol. 97, no. 4, s. 410–418. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.03.017>.
19. SAVATOVIC, M.S. et al. Kinetic behaviour of DPPH radical scavenging activity of tomato waste extracts. In *Journal of the Serbian Chemical Society* [online]. 2012. Vol. 77, no. 10, s. 1381–1389. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.2298/jsc120410065s>.
20. SHIRAHIGUE, L.D. et al. Wine industry residue as antioxidant in cooked chicken meat. In *International Journal of Food Science & Technology (Print)* [online]. 2010. Vol. 45, no. 5, s. 863–870. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02201.x>.
21. WEISS, J. et al. Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. In *Meat Science* [online]. 2010. Vol. 86, no. 1, s. 196–213. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.008>.

Kontaktná adresa: Mesárošová Andrea, Institute of Food Sciences, Slovak University of Agriculture in Nitra, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic; E-mail: xmesarosova@uniag.sk

VPLYV HUMÍNOVÝCH LÁTOK A ICH KOMBINÁCIE S POLYNENASÝTENÝMI MASTNÝMI KYSELINAMI NA SVALOVINU A IMUNITU BROJLEROV

EFFECT OF HUMIC SUBSTANCES AND THEIR COMBINATION WITH POLYUNSATURATED FATTY ACIDS ON MUSCLE AND IMMUNITY OF BROILERS

Mudroňová Dagmar[1], Karaffová Viera[2], Kubicová Lucia[1], Makiš Andrej[3], Semjon Boris[3], Klempová Tatiana[4], Marcinčák Slavomír[3]

[1]Katedra mikrobiológie a imunológie

[2]Katedra morfologických disciplín

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

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

ABSTRACT

Because of their positive impact on health and the progression of various diseases, polyunsaturated fatty acids (PUFA) as well as humic substances (HS) have garnered significant interest from both experts and the wider population. Omega-3 PUFAs primarily have an anti-inflammatory, anti-cholesterol and antioxidant effect on the organism. HS predominantly demonstrate anti-inflammatory and detoxifying properties. Our hypothesis was that the combination of PUFA and HS will create a synergistic effect, thereby enhancing their positive effect on immunity and thus on the whole organism. Therefore, the aim of this study was to compare the effect of individual supplements and their mutual combination on the myogenic growth factors and selected parameters of the cellular immune answer of broilers. HS (0.6%) and/or 10% of fermented feed containing PUFA were fed broilers during fattening. On the day 38, peripheral blood for analysis of cellular immune answer and breast musclules for analysis of relative gene expression of myogenic factors were taken. Results showed significant stimulation of engulfing capacity of phagocytes by HS and increase of oxidative burst in broilers fed by PUFA. HS did not influence proportions of lymphocyte subpopulations while PUFA increased percentage of T helper cells. In the combined group, an increase of proportion of T cytotoxic cells was noted. HS significantly up-regulated gene expression for IGF-2, MYF-5 and PAX-7, but without positive influence on the final body weight of broilers. PUFA increased only expression of IGF-2 gene. The expected synergistic effect was not achieved by combining HS with PUFA.

Key words: broiler, humic substances, PUFA, myogenic factors, immune cells

ÚVOD

HS sú produktom degradácie biomasy – humifikácie prostredníctvom biologických, fyzikálnych a chemických transformačným procesov, pričom pričom vznikajú konjugované humínové komplexy s pôdnymi minerálmi. HS obsahujú humínové a fulvové kyseliny a humín (Lehmann, Kleber 2015). HS sú schopné viazať rôzne typy ekotoxínov, predovšetkým ťažké kovy, organické kontaminanty či rádionuklidy. Detoxifikačný potenciál HS sa využíva nielen pre sanáciu životného prostredia, ale aj pre detoxikáciu krmív či dokonca organizmu od mykotoxínov, bakteriálnych toxínov, ťažkých kovov a iných organických toxínov (Yang a kol. 2021). Vplyv HS na imunitný systém spočíva v schopnosti tvoriť so sacharidmi pevné komplexy, ktoré podnecujú tvorbu glykoproteínov schopných viazať sa na NK bunky a T-lymfocyty. Správajú sa ako modulátory a umožňujú následnú komunikáciu medzi spomínanými bunkami imunitného systému (Riede a kol. 1991). Omega-3 a omega-6 PUFA sú pre svoje účinky populárne nielen u chovateľov hydiny, kde po ich suplementácii v krmive dochádza k zlepšeniu kvality mäsa, vajec, zlepšeniu imunitnej odpovede, ale aj v humánnej medicíne pri prevencii a terapii mnohých ochorení, a to najmä kardiovaskulárnych. Metabolity, známe aj ako pro-resolvujúce lipidové mediátory (SPM), odvodené od omega-3 a omega-6 PUFA majú dôležité imunitno-regulačné funkcie. SPM zahŕňajú prostaglandíny, leukotriény, tromboxány, marezíny, protektíny a resolvíny (Rodrigues a kol. 2016). Vo všeobecnosti, mediátory odvodené od omega-6 PUFA zosilňujú zápal, agregáciu krvných doštičiek a vazokonstrikciu a naopak, omega-3 PUFA majú protizápalový a vazodilatačný účinok, taktiež znižujú agregáciu trombocytov (Bentsen 2017). Konzumácia takzvanej „západnej stravy“, ktorá je typická nadmerným príjmom omega-6 PUFA a nízkym obsahom omega-3 prispieva k vývoju civilizačných ochorení spojených s tvorbou trombov a aterómov a prispieva tiež k vzniku alergií a chronických zápalov. Napriek pomerne veľkému množstvu štúdií zaoberajúcich sa HS a PUFA, o účinku ich vzájomnej kombinácie sa nevie veľa. Preto cieľom tejto štúdie bolo porovnať vplyv krmiva obohateného o humínové látky a/alebo PUFA vyprodukované vláknitými hubami *Mortierella alpina* a *Cunninghamella elegans* na myogénne faktory v prsnom svalstve brojlerov a ich bunkovú imunitnú odpoveď.

MATERIÁL A METODIKA

V experimente bolo použitých 160 1-týždňových brojlerových kurčiat plemena COBB 500, ktoré boli rozdelené do 4 skupín (n = 40). Kontrolnej skupine (K) boli podávané len základné kŕmne zmesi. Prvá experimentálna skupina (F) dostávala od 11. dňa do kŕmnej zmesi prídavok 10 % fermentovaného krmiva s obsahom kyseliny γ-linolénovej, α-linolénovej

a eikozapentaénovej. Krmivo druhej experimentálnej skupiny (H) bolo od 2. dňa suplementované 0,6 % HS (Humac®Natur AFM Mycotoxisorb). Kombinovanej skupine (FH) boli od 2. dňa do kŕmnej dávky pridávané HS a od 11. dňa výkrmu aj 10 % fermentovaného krmiva. Na prípravu fermentovaného krmiva bol použitý kmeň *C. elegans* CCF 2591 produkujúci kyselinu γ-linolénovú a kmeň *M. alpina* CCF 2861 produkujúci kyseliny α-linolénovú a eikozapentaénovú. Krmivá predfermentované oboma kmeňmi boli zmiešané v pomere 1 : 1 a následne pridané do kŕmnej zmesi v množstve 10 %. Fermentované krmivá boli pripravené podľa metodiky Klempovej a kol. 2020. Vzorky na analýzy boli odobrané na 38. deň, po ukončení výkrmu. V heparinizovanej periférnej krvi bola testovaná aktivita fagocytov – percento fagocytujúcich buniek a ich pohlcovacia schopnosť pomocou komerčného kitu Phagotest® (Glycotope, Nemecko) a oxidatívne vzplanutie fagocytov pomocou Phagobursttest® (Glycotope, Nemecko). Fenotypizácia vybraných subpopulácií lymfocytov bola realizovaná po izolácii mononukleárnych buniek pomocou separačnej tekutiny LMS 1077 (PAA Laboratories GmbH, Rakúsko). Následne boli bunky identifikované priamym imunofluorescenčným značením antimyšacími monoklonovými protilátkami v nasledujúcich kombináciách: CD4-FITC + CD8a-PE + CD45-APC a CD3-FITC + IgM-PE (Southern Biotech, USA). Analýzy oboch testov na stanovenie aktivity fagocytov ako aj fenotypizácia lymfocytov boli realizované na prietokovom cytometri BD FACS Canto™.

Relatívna expresia génov pre myogénne faktory bola analyzovaná v prsnom svalstve brojlerov. Vzorky *musculus pectoralis* boli odobrané v množstve 20 mg z každej skupiny do RNA lateru a skladované pri -70°C až do vykonania analýzy. Následne prebehla izolácia celkovej RNA pomocu kitu RNAeasy mini kit (Qiagen, Nemecko) podľa inštrukcií výrobcu. Čistota a množstvo vyizolovanej RNA bolo stanovené spektrofotometricky na prístroji Implen (Implen, Nemecko). V ďalšom kroku prebehla reverzná transkripcia RNA na cDNA použitím kitu iScript RNA (Bio-rad, USA) a oligo dT primerov. Kvantitatívna Real-Time PCR bola prevedená pomocou Sybr Green supermix (Bio-rad, USA) a špecifických primerov pre vybrané gény (IGF-1, IGF-2, MYF-5, PAX-7 + referenčný gén GAPDH) na prístroji LightCycler 480 II Instrument (Roche, Švajčiarsko) podľa preddefinovaného programu. Cq hodnoty („cycle quantification“) sledovaných génov boli vyjadrené ako priemer Cq hodnôt referenčných génov a relatívna expresia každého génu bola vyjadrená ako $2^{-\Delta Cq}$. Štatistická analýza bola vykonaná v programe GraphPad Prism.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Aplikácia PUFA, HS ako aj ich kombinácie signifikantne zvýšila percento aktívnych fagocytov v porovnaní s kontrolou (Obr. č. 1a). V skupine H, kde bol aplikovaný prídavok HS

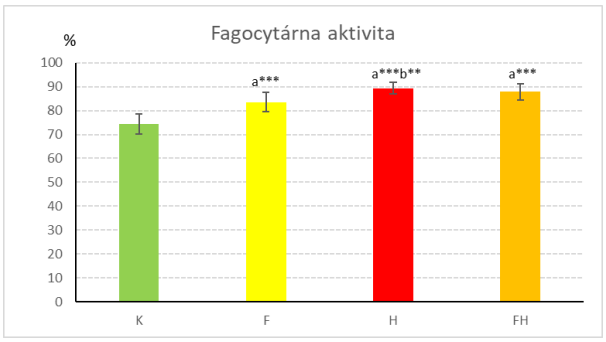
bolo zaznamenaná dokonca signifikantne vyššia fagocytárna aktivita ako v skupine suplementovanej len PUFA. V skupinách, kde boli aplikované HS (skupiny H a FH) bola signifikantne zvýšená aj pohlcovacia kapacita fagocytov, prídavok PUFA ju však neovplyvňoval (Obr. č. 1b). Nárast fagocytárnej aktivity po aplikácii 0,8% HS do krmiva brojlerov bol zaznamenaný aj v štúdii Mudroňovej a kol. (2020). Stimulácia fagocytózy po suplementácii HS bola pozorovaná aj u ďalších druhov zvierat, napríklad potkanov (Habibian, Morshedihi a Delirezha 2010) alebo prasiat (Weber a kol. 2014). Vplyv kombinácie HS a PUFA na pohlcovaciu kapacitu nebol synergický – MFI v FH skupine bola nižšia ako po aplikácii samotných HS, ale vyššia ako po aplikácii PUFA. V niektorých experimentoch bolo pozorované dokonca zníženie pohlcovacej aktivity fagocytov po podaní PUFA (Rodrigues a kol. 2016). Naopak, PUFA signifikantne zvýšili oxidatívne vzplanutie fagocytov, a to v porovnaní so všetkými ostatnými skupinami (Obr. č. 1c). Zvýšenú produkciu reaktívnych foriem kyslíka pod vplyvom PUFA potvrdilo aj množstvo ďalších štúdií (Mudroňová a kol. 2018; Rodrigues et al. 2016; Paschoal a kol. 2013). Dôležitým zistením je, že kombinácia HS a PUFA mala na úroveň oxidatívneho vzplanutia porovnateľný vplyv ako samotné HS, teda významne menej stimulačný ako PUFA, čo si vysvetľujeme práve antioxidačnými vlastnosťami HS, keďže PUFA majú výrazný pro-oxidatívny charakter.

HS a PUFA mali odlišný účinok na zastúpenie vybraných subpopulácií lymfocytov v krvi brojlerov (Obr. č. 2). Kým HS významne neovplyvnili percentuálne zastúpenie T lymfocytov (Obr. č. 2b) ani subpopulácie B lymfocytov (Obr. č. 2a), po aplikácii PUFA bolo v porovnaní s kontrolou zaznamenané signifikantné zníženie IgM+ B lymfocytov a proporčné zvýšenie CD3+ lymfocytov, ktoré sa manifestovalo zvýšením CD4+ subpopulácie (Obr. č. 2c). Zaujímavým výsledkom bolo signifikantné zvýšenie cytotoxických T lymfocytov v kombinovanej skupine, a to v porovnaní so všetkými ostatnými skupinami (obr. č. 2d). Na základe predchádzajúcich štúdií na hydine je možné konštatovať, že vplyv HS na zastúpenie jednotlivých subpopulácií lymfocytov závisí od zloženia HS, aplikovanej koncentrácie, ale aj od kategórie hydiny, ktorej sú HS aplikované (Mudroňová a kol. 2020, 2021). Rovnako, rôzne typy PUFA ovplyvňujú rôznym spôsobom imunitnú odpoveď a rovnako použitá koncentrácia má významný vplyv na celkový efekt. Toto sa potvrdilo aj práci Kendickej (2021), keď po prídavku 10 % predfermentovaného krmiva so zvýšeným obsahom GLA a ALA do krmiva brojlerov neboli zaznamenané výrazné rozdiely v zastúpení subpopulácií lymfocytov. Po prídavku 15 % už bolo pozorované výrazné zvýšenie zastúpenia IgM+ B lymfocytov, avšak subpopulácie T lymfocytov neboli významne ovplyvnené. Obohatenie stravy o n-3 PUFA z rybieho oleja (5 %) významne zvýšilo koncentráciu IgG v sére a IgM+ B bunky u kurčiat (Wang a kol. 2000). Sugano a kol. (2001) vo svojej práci uvádza, že suplementácia omega-3 PUFA v

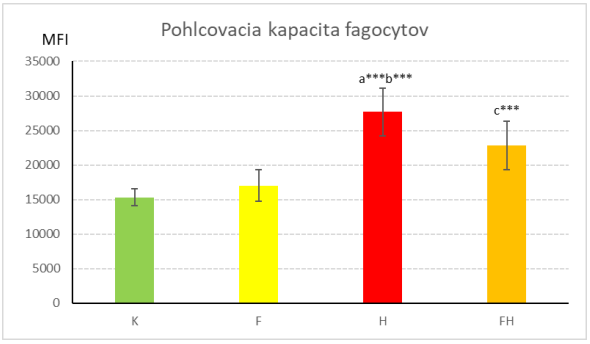
krmive zvyšuje hladinu IgM. Toto zvýšenie je výraznejšie v strave bohatej na kyselinu dokosahexaénovú (DHA) ako v strave bohatej na kyselinu eikozapentaénovú (EPA). V našej štúdii, kde v krmive dominovali GLA, ALA a EPA, sme pozorovali signifikantné zvýšenie T pomocných lymfocytov (CD4+) oproti kontrole, čo je v súlade s výsledkom, ktorý sme dosiahli po aplikácii krmiva obohateného len GLA v predchádzajúcej štúdii (Mudroňová a kol., 2018). V kombinovanej FH skupine došlo k zvýšeniu T cytotoxických lymfocytov, čo je pravdepodobne výsledok predovšetkým pôsobenia HS, ktoré stimulujú T lymfocyty (Riede a kol. 1991).

Obrázok č. 1, Vplyv PUFA a HS a ich kombinácie na a) percento aktívnych fagocytov, b) pohlcovaciu schopnosť fagocytov (MFI) a c) oxidatívne vzplanutie fagocytov u brojlerov

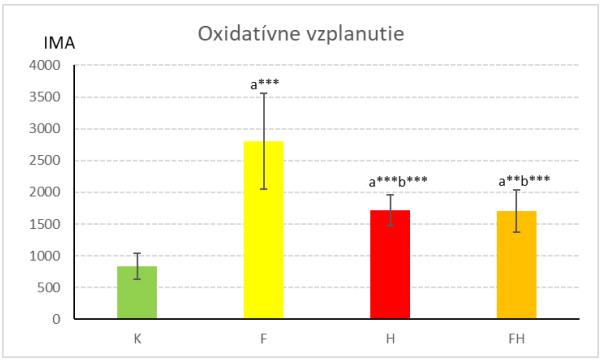
a)



b)

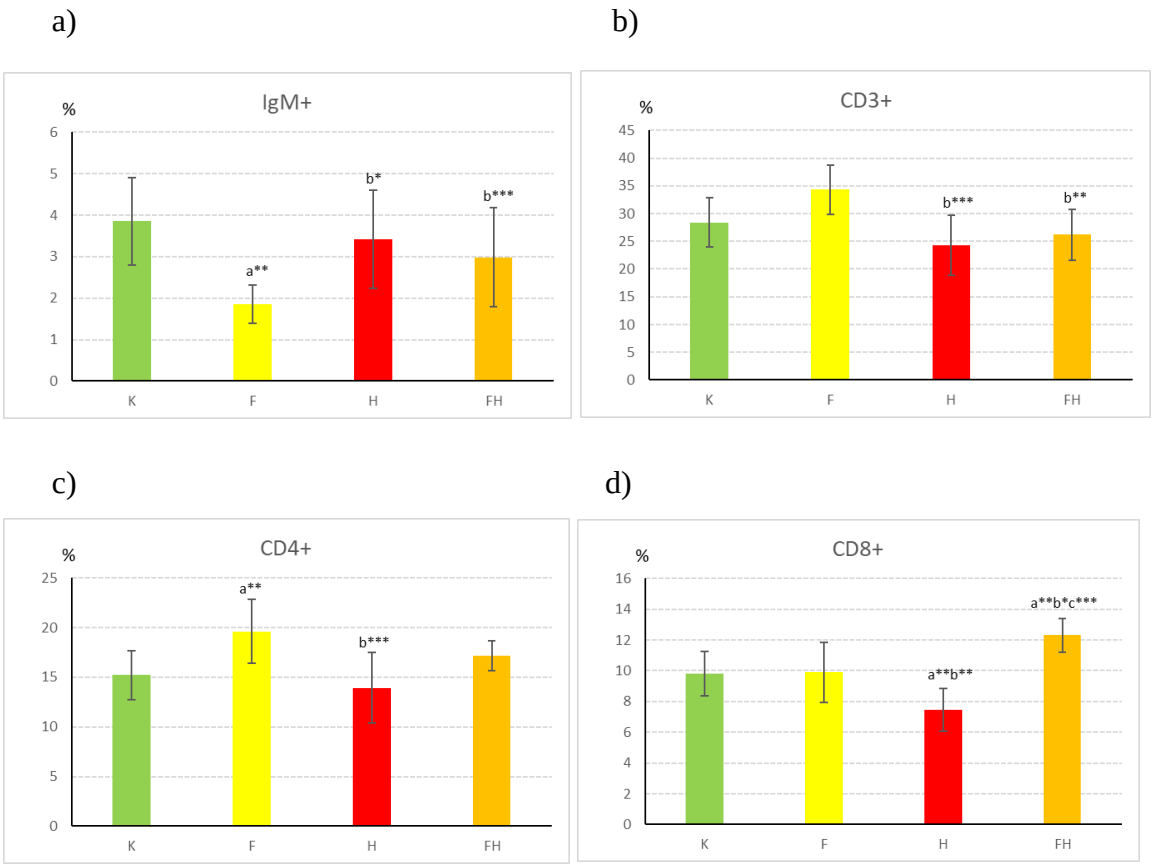


c)



*a – signifikantný rozdiel oproti kontrole; b – signifikantný rozdiel oproti skupine F; c – signifikantný rozdiel oproti skupine H; ** – p < 0,01; *** – p < 0,001*

Obrázok č. 2, Vplyv PUFA a HS a ich kombinácie na zastúpenie a) IgM+ lymfocytov, b) CD3+ lymfocytov, c) CD4+ lymfocytov, d) CD8+ lymfocytov v periférnej krvi brojlerov



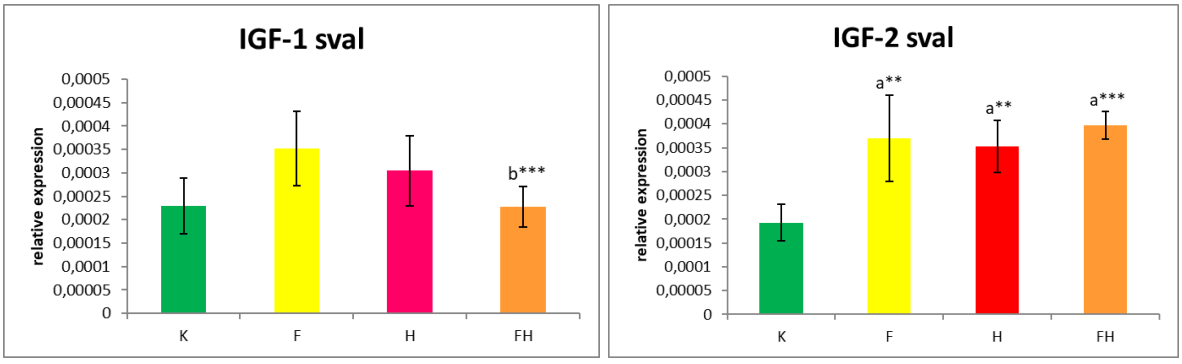
*a – signifikantný rozdiel oproti kontrole; b – signifikantný rozdiel oproti skupine F; c – signifikantný rozdiel oproti skupine H; * – p < 0,05;** – p < 0,01; *** – p < 0,001*

Aplikácia HS mala na relatívnu génovú expresiu myogénnych faktorov v prsnom svalstve brojlerov oveľa výraznejší vplyv ako aplikáciu PUFA. V skupine H bola signifikantne zvýšená expresia génov pre IGF-2, MYF-5 aj PAX-7. U kurčiat suplementovaných PUFA došlo iba k významnému zvýšeniu expresie génu pre IGF-2. Zaujímavé výsledky boli dosiahnuté v kombinovanej skupine, kde expresia génu pre IGF-2 bola signifikantne zvýšená oproti kontrole a expresie génov pre MYF-5 a PAX-7 boli naopak významne znížené (Obr. č. 3). Napriek pozitívnemu ovplyvneniu myogénnych faktorov v skupine H, konečná jatočná hmotnosť brojlerov nebola zvýšená. Naopak, k jej zvýšeniu došlo v skupine F, kde bol signifikantne ovplyvnený iba IGF-2. Rovnaký výsledok – zvýšenie génovej expresie pre myogénne faktory bez vplyvu na jatočnú hmotnosť brojlerov po aplikácii HS sme dosiahli aj v našej poslednej štúdii (Hudec a kol. *in press*), čo potvrdzuje našu hypotézu, že dlhodobé podávanie HS počas výkrmu nie je vhodné, keďže HS na seba viažu rôzne molekuly vrátane živín a napriek tomu, že majú potenciál stimulovať myogenézu, k zlepšeniu produkčných

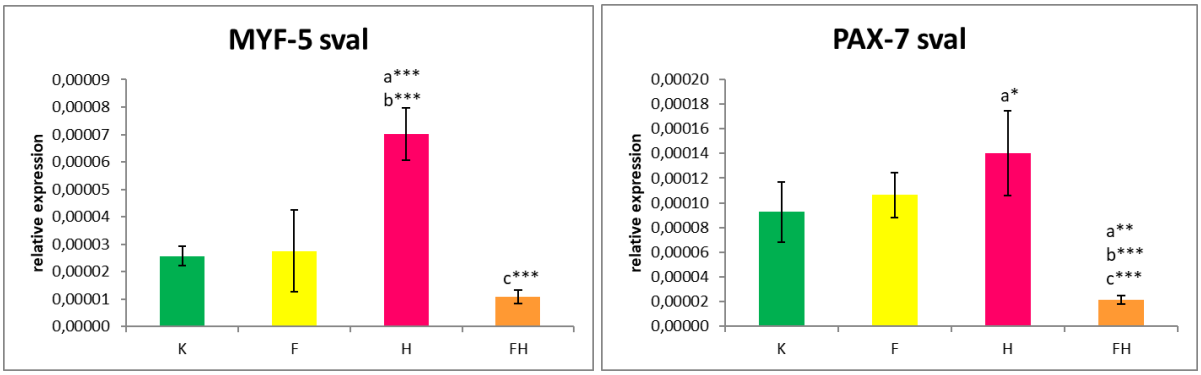
parametrov nedôjde. Podobne, po aplikácii prefermentovaného krmiva s obsahom GLA bolo zaznamenané zvýšenie expresie génu pre IGF-2 s následným pozitívnym vplyvom na jatočnú hmotnosť brojlerov (Mudroňová a kol. 2018). Pozitívny vplyv na produkčné parametre brojlerov po prídavku GLA do krmiva brojlerov bol pozorovaný aj v štúdii od Baču a kol. (2014), ktorí naviac zaznamenali významné zlepšenie kvality prsného svalstva so zvýšeným zastúpením omega-3 PUFA.

Obrázok č. 3, Vplyv PUFA a HS a ich kombinácie na relatívnu génovú expresiu myogénnych faktorov a) IGF-1, b) IGF-2, c) MYF-5, d) PAX-7 v prsnej svalovine brojlerov

a) b)



b) d)



*a – signifikantný rozdiel oproti kontrole; b – signifikantný rozdiel oproti skupine F; c – signifikantný rozdiel oproti skupine H; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$*

ZÁVER

Výsledky experimentu potvrdili imunomodulačný potenciál oboch aplikovaných látok – HS aj PUFA, pričom HS stimulujú predovšetkým pohlcovaciu schopnosť fagocytov a PUFA oxidatívne vzplanutie fagocytov a T pomocné lymfocyty. Napriek tomu, že HS významne zvyšujú génovú expresiu myogénnych faktorov v prsnom svalstve, nevedie to k zlepšeniu

jatočnej hmotnosti brojlerov. Naopak, aplikáciou fermentovaného krmiva s obsahom PUFA je možné zlepšiť ako produkčné parametre kurčiat, tak aj kvalitu svaloviny zvýšením obsahu PUFA. Kombináciou HS a PUFA nebol dosiahnutý očakávaný synergický účinok.

POĎAKOVANIE

Práca vznikla vďaka podpore projektov APVV-21-0129 a VEGA 1/0454/22.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BAČA a kol. Effect of adding prefermented cereal product containing gammalinolenic acid to broiler feed on production indicators and fatty acid profile of chicken breast. In *Research in Veterinary Science*. 2014, vol. 83, p. 39–41.
2. BENTSEN, H. Dietary polyunsaturated fatty acids, brain function and mental health. In *Microbial Ecology in Health and Disease* [online]. 2017, vol. 28, [cit. 2023.02.27]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1080/16512235. 2017. 1281916>
3. HABIBIAN, R. – MORSHEDI, A. – DELIREZH, N. Effect of humic acid on humoral immune response and phagocytosis. In *Global Veterinaria*. 2010, vol. 4, no. 2, p. 135–139.
4. KENDICKÁ, M. Vplyv biotechnologicky obohateného krmiva s obsahom polynenasýtených mastných kyselín na imunitu nosníc. Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach. In *Diplomová práca*. 2021. p. 35–40.
5. KLEMPOVÁ, T. a kol. Dual production of polyunsaturated fatty acids and beta-carotene with *Mucor wosnessenskii* by the process of solid-state fermentation using agro-industrial waste. In *Journal of Biotechnology*. 2020, vol. 10, p. 1–11.
6. LEHMANN, J. – KLEBER, M. The contentious nature of soil organic matter. In *Nature*. 2015, p. 60-68.
7. MUDROŇOVÁ, D. a kol. Effect of fungal gamma-linolenic acid and beta-carotene containing prefermented feed on immunity and gut of broiler. In *Poultry Science* [online]. 2018. ISSN 0032-5791, vol.97, p. 4211–4218.
8. MUDROŇOVÁ, D. a kol. The effect of humic substances on gut microbiota and immune response of broilers. In *Food and Agricultural Immunology*. ISSN: 0954-0105. 2020, vol.31, p. 137–149.
9. MUDROŇOVÁ, D. a kol. Effects of dietary supplementation of humic substances on production parameters, immune status and gut microbiota of laying hens. In *Agriculture*. ISSN 2077-0472, 2021, vol. 11, no. 8, p. 744.

10. RIEDE, U. N. a kol. Humate induced activation of human granulocytes. In *Virchows Archiv*. B, Cell Pathology Including Molecular Pathology. 1991, vol. 60, no. 1, p. 27-34.
11. RODRIGUES, F.G a kol. Endoscopic ultrasound in the diagnosis of foreign bodies of the colon and rectum. In *Image in medicine*. 2016, vol.62, p. 818-821.
12. SUGANO, M. a kol. Lipids and immunology. In *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* [online]. 2001, [cit.2023.01.26]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1046/j.1440-60 47.2000.00152.x
13. WANG, Y.A. a kol. Dietary polyunsaturated fatty acids alter lymphocyte subset proportion and proliferation, serum immunoglobulin G concentration, and immune tissue development in chicks.. In *Poultry Science*. ISSN 0032-5791, 2000, vol. 79, p. 1741-1748.
14. WEBER, T.E. a kol. Effects of dietary humic and butyric acid on growth performance and response to lipopolysaccharide in young pigs. In *Journal of Animal Science*. 2014, vol. 92, p. 612-619.
15. YANG, F. – TANG, CH. – ANTONIETTI, M. Natural and artificial humic substances to manage minerals, ions, water, and soil microorganisms. In *Chemical Society Reviews* [online]. 2021, [cit.2022.09.24]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1039/D0 CS01363C>

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 ZDRAVIA ZVIERAT V KONTEXTE ZDRAVOTNEJ BEZPEČNOSTI POTRAVÍN

ANIMAL HEALTH LEGISLATION IN THE CONTEXT OF FOOD LEGISLATION

Nagyová Alena[1], Takáčová Daniela.[1], Korim Peter[1], Nagy Jozef[2]

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

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

ABSTRAKT

To ensure food safety and animal health, the EU lays down rules on communicable animal diseases. Regulation (EU) 2016/429 of the European Parliament and of the Council on communicable animal diseases and amending and repealing certain acts in the field of animal health ("Animal Health Legislation") sets out the rules for the prevention and control of animal diseases that can be transmitted to animals or humans and sets the overall framework for the new European Animal Health Legislation. Products of animal origin can pose a risk of spreading transmissible animal diseases. Animal health requirements and animal health measures, such as disease control measures and emergency measures, ensure that animal diseases are not spread by products of animal origin. EU animal health legislation is supplemented or implemented by EU Commission Regulations.

Key words: legislation, animal health, food safety

ÚVOD

Prenosné choroby zvierat majú nepriaznivý dopad nielen na samotné zvieratá a prevádzkovateľov, ale významne môžu ovplyvniť verejné zdravie a bezpečnosť potravín. Jednou z ciest prenosu pôvodcu choroby môžu byť aj produkty živočíšneho pôvodu, vrátane čerstvého mäsa a mäsových výrobkov. Na úrovni EÚ sú právnymi predpismi ustanovené pravidlá prevencie a kontroly chorôb zvierat, ktoré sa môžu prenášať na zvieratá alebo ľudí. Zodpovednosť za vykonávanie opatrení prevencie a kontroly šírenia chorôb medzi zvieratami a za monitorovanie produktov majú prevádzkovatelia potravinárskych podnikov. Úradný veterinárni lekári majú vzdelanie, odbornú kvalifikáciu a špecifickú odbornosť na vykonávanie úradných kontrol na overovanie dodržiavania pravidiel ustanovených na úrovni EÚ a národnej v oblasti požiadaviek na zdravie zvierat a bezpečnosť potravín.

Pravidlá prevencie a kontroly chorôb zvierat, ktoré sa môžu prenášať na zvieratá alebo ľudí

Prenosné choroby zvierat a opatrenia potrebné na kontrolu týchto chorôb môžu ohroziť jednotlivé zvieratá, celé populácie zvierat, držiteľov zvierat, môžu mať hospodárske dôsledky, ale aj významný vplyv na verejné zdravie a bezpečnosť potravín. Nariadenie (EÚ) 2016/429 (právna úprava v oblasti zdravia zvierat“) stanovuje pravidlá prevencie a kontroly chorôb zvierat, ktoré sa môžu prenášať na zvieratá alebo ľudí. Prevencia a kontrola prostredníctvom regulačných opatrení nie je pri všetkých prenosných chorobách zvierat možná ani žiadúca, preto sa v tomto nariadení stanovuje prioritizácia a kategorizácia chorôb vzbudzujúcich obavy Únie. Bol zostavený harmonizovaný zoznam prenosných chorôb zvierat, ktoré predstavujú riziko pre zdravie zvierat alebo verejné zdravie. Nariadenie identifikuje päť chorôb (slintačka a krívačka; klasický mor ošípaných; africký mor ošípaných; vysokopatogénna aviárna influenza; africký mor koní) a tento zoznam chorôb dopĺňa delegované nariadenie (EÚ) 2018/1629 (v súčasnosti 58 chorôb, môže byť prehodnocovaný a zmenený). Choroba, ktorá je iná ako choroba zo zoznamu, sa považuje za objavujúcu sa chorobu (ak spĺňa kritéria zaradenia chorôb do zoznamu a vznikla vývojom alebo zmenou existujúceho pôvodcu choroby alebo je známou chorobou, ktorá sa rozširuje do novej geografickej oblasti alebo na nový druh alebo na novú populáciu, je prvýkrát diagnostikovaná v Únii alebo spôsobuje ju neidentifikovaný alebo v minulosti neidentifikovaný pôvodca choroby).

Choroby zo zoznamu si vyžadujú rôzne riadiace postupy, ktoré by sa mali uplatňovať na druhy zvierat, ktoré môžu danú chorobu prenášať tak, že sú na ňu vnímavé alebo ako vektory. Vykonávacie nariadenie (EÚ) 2018/1882 o uplatňovaní niektorých pravidiel prevencie a kontroly chorôb na kategórie chorôb zo zoznamu a o vytvorení zoznamu druhov a skupín druhov predstavujúcich značné riziko šírenia uvedených chorôb zo zoznamu zohľadňuje rôzne faktory (druhy vnímavé na určité choroby zo zoznamu, rezervoáre a vektory chorôb, či sa choroba zo zoznamu v Únii v súčasnosti vyskytuje alebo nevyskytuje, ako sa choroba prenáša medzi zvieratami a zo zvierat na ľudí, jej možný vplyv na zdravie zvierat a ľudí vrátane miery chorobnosti a úmrtnosti) a stanovuje päť kategórií chorôb (A, B, C, D, E), pričom určité choroby môžu byť zaradené do viacerých kategórií na základe uplatňovania rôznych pravidiel prevencie a kontroly. Choroby zvierat sa zaraďujú do kategórií na základe osobitných opatrení, ktoré sa na ne majú vzťahovať a uvádzajú sa druhy zvierat, na ktoré by sa uvedené pravidlá mali uplatňovať. Choroba kategórie A je choroba zo zoznamu, ktorá sa v Únii bežne nevyskytuje a v prípade ktorej sa hneď po jej zistení musia prijať opatrenia na okamžitú eradikáciu (slintačka a krívačka); choroba kategórie B je choroba zo zoznamu, ktorá sa musí kontrolovať vo všetkých členských štátoch s cieľom jej eradikácie v celej Únii (brucelóza);

choroba kategórie C je choroba zo zoznamu, ktorá je relevantná pre niektoré členské štáty a v súvislosti s ktorou sú potrebné opatrenia na zabránenie jej šíreniu do častí Únie, ktoré sú úradne bez výskytu danej choroby alebo v ktorých sú v prípade dotknutej choroby zo zoznamu zavedené eradikačné programy (infekčná bovinná rinotracheitída); choroba kategórie D je choroba zo zoznamu, v prípade ktorej sú potrebné opatrenia na zabránenie jej šíreniu v dôsledku jej vstupu do Únie alebo premiestňovania medzi členskými štátmi (infekčná anémia koní); choroba kategórie E je choroba zo zoznamu, v prípade ktorej je potrebný dohľad v rámci Únie (antrax).

Právna úprava v oblasti zdravia zvierat ustanovuje zodpovednosť prevádzkovateľov v prípade držaných zvierat a produktov za minimalizáciu rizika šírenia chorôb, vykonávanie opatrení prevencie a kontroly šírenia chorôb medzi zvieratami a za monitorovanie produktov za ktoré sú zodpovední. Opatrenia biologickej bezpečnosti sa podľa potreby vykonávajú prostredníctvom riadiacich opatrení a môžu zahŕňať postupy týkajúce sa vstupu do zariadenia a odchodu z neho pre zvieratá, produkty, vozidlá a osoby; postupy používania vybavenia; podmienky premiestňovania na základe súvisiacich rizík; podmienky dovezenia zvierat alebo produktov do zariadenia; karanténu, izoláciu alebo oddelenie najnovšie dovezených alebo chorých zvierat; systém bezpečnej likvidácie uhynutých zvierat a iných vedľajších živočíšnych produktov.

Ak existujú dostatočné dôvody na podozrenie, že zvieratá alebo produkty môžu predstavovať riziko pre zdravie ľudí alebo verejné zdravie príslušný orgán prijme primerané opatrenia na informovanie verejnosti o charaktere rizika a o opatreniach, ktoré sa prijali alebo sa majú prijať na zabránenie uvedenému riziku. Vzhľadom na rôzne profily chorôb, výskyt ohnísk určitých chorôb zo zoznamu podlieha okamžitému nahlasovaniu Únii, zatiaľ čo výskyt ohnísk ostatných chorôb podlieha podávaniu správ Únii. Hlavným účelom nahlasovania chorôb a podávania správ o nich je získať spoľahlivé, transparentné a dostupné epidemiologické údaje. Kľúčovým prvkom stratégie kontroly choroby je dohľad, ktorým sa má zabezpečiť skoré zistenie výskytu prenosných chorôb zvierat a ich efektívne nahlasovanie. Na účely zisťovania chorôb zo zoznamu a objavujúcich sa chorôb sú prevádzkovatelia povinní sledovať zdravotný stav zvierat. V prípade chorôb zo zoznamu, v súvislosti s ktorými je potrebný dohľad v rámci Únie príslušný orgán vykonáva dohľad prostredníctvom zberu, porovnávania a analyzovania príslušných informácií o stave choroby. Pre choroby, ktoré sa musia kontrolovať vo všetkých členských štátoch s cieľom eradikovať ich v rámci Únie členské štáty zriadia povinný eradikačný program, ktorý sa uplatňuje dovtedy, kým nie sú splnené podmienky na udelenie štatútu bez výskytu choroby na území dotknutého členského štátu alebo jeho pásma. Ak sa choroby zo zoznamu týkajú iba niektorých členských štátov a v súvislosti s ktorými sú potrebné

opatrenia na zabránenie ich rozšíreniu do Únie predložia Komisii na schválenie voliteľný eradikačný program. Vykonávacie nariadenie Komisie (EÚ) 2020/2002 stanovuje pravidlá uplatňovania nariadenia (EÚ) 2016/429, pokiaľ ide o nahlasovanie chorôb zo zoznamu Únii a podávanie správ Únii o nich, formáty a postupy predkladania programov dohľadu Únie a eradikačných programov a podávania správ o nich, formáty a postupy pre žiadosti o uznanie štatútu bez výskytu choroby a pokiaľ ide o počítačový informačný systém.

Delegované nariadenie Komisie (EÚ) 2020/687, ktorým sa dopĺňa nariadenie Európskeho parlamentu a rady (EÚ) 2016/429, pokiaľ ide o pravidlá prevencie a kontroly určitých chorôb zo zoznamu dopĺňa pravidlá týkajúce sa informovanosti o chorobách, pripravenosti na ne a ich kontroly, ktoré sa majú uplatňovať na choroby kategórie A v prípade suchozemských zvierat ako aj určité opatrenia na kontrolu chorôb kategórie B a C (v prípade chorôb kategórií B a C sa opatrenia uvedené v tomto nariadení uplatňujú spolu s pravidlami v oblasti dohľadu a eradikácie, ktoré sú stanovené v delegovanom nariadení Komisie (EÚ) 2020/689). Pokiaľ ide opatrenia v prípade choroby kategórie A nariadenie ustanovuje aby príslušný orgán vykonal šetrenie výskytu choroby v rôznych fázach: pri podozrení na chorobu, pri potvrdení choroby a keď je potrebné vylúčiť jej šírenie do epidemiologicky súvisiacich zariadení a miest, ako aj do susediacich zariadení a pásiem. V prípade podozrenia na chorobu kategórie A alebo jej potvrdenia opatrenia na kontrolu chorôb sa uplatňujú nielen v zariadeniach kde sa držia zvieratá, ale príslušný orgán rozšíri opatrenia na kontrolu chorôb aj na potravinárske podniky. Premiestňovanie zvierat a produktov živočíšneho pôvodu v rámci reštrikčného pásma predstavuje riziko šírenia choroby kategórie A. Právna úprava špecifikuje zákazy premiestňovania druhov zo zoznamu a produktov z uvedených zvierat z a do zariadení v rámci ochranného pásma. Produkty živočíšneho pôvodu, ktoré sa považujú za bezpečné komodity alebo boli podrobené príslušnému ošetreniu na zmiernenie rizika v súlade s prílohou VII nariadenia alebo produkty, ktorými sa môže šíriť choroba a ktoré boli získané alebo vyprodukované pred obdobím monitorovania príslušnej choroby, produkty vyprodukované v ochrannom pásme, ktoré boli získané z držaných zvierat druhov zo zoznamu držaných mimo ochranného pásma, držaných a zabitých mimo ochranného pásma alebo držaných mimo ochranného pásma a zabitých v ochrannom pásme sú oslobodené od uvedených zákazov.

Právna úprava zároveň ustanovuje možnosť príslušnému orgánu udeliť výnimky zo zákazov, keď sa prijmú určité opatrenia na zmiernenie rizika a ak sú splnené určité procesné podmienky. Výnimky sa môžu udeliť najmä vtedy ak príslušný orgán môže kontrolovať posilnenie opatrení biologickej bezpečnosti a ak sú splnené všeobecné a osobitné podmienky týkajúce sa príslušných zvierat a produktov získaných z uvedených zvierat. Pred udelením povolenia príslušný orgán posúdi riziká vyplývajúce z tohto povolenia a z posúdenia musí

vyplynúť, že riziko šírenia choroby kategórie A je zanedbateľné. Premiestňovanie čerstvého mäsa z držaných zvierat druhov zo zoznamu zo zariadení v ochrannom pásme sa povolí ak sa premiestňujú do zariadenia na spracovanie, aby sa podrobili niektorému z príslušných ošetrení na zmiernenie rizika, ktoré sú stanovené v prílohe VII a príslušný orgán zabezpečí, aby premiestňovanie do zariadenia na spracovanie spĺňalo tieto podmienky: a) čerstvé mäso musí byť označené v súlade s bodom 2 prílohy IX na bitúnku po prehliadke post mortem a musí byť označené takouto značku dovtedy, kým nie je ošetrené; b) premiestnenie čerstvého mäsa zo zariadenia pôvodu do spracovateľského zariadenia sa musí vykonať v zapečatených nádobách; c) zariadenie na spracovanie sa musí nachádzať v tom istom reštrikčnom pásme alebo čo najbližšie k reštrikčnému pásmu a jeho prevádzka musí podliehať dozoru úradných veterinárnych lekárov. Ustanovené sú aj osobitné podmienky na povoľovanie premiestňovania čerstvého mäsa získaného z držaných zvierat druhov zo zoznamu zo zariadení nachádzajúcich sa v pásme dohľadu, kedy príslušný orgán udelí povolenie na premiestňovanie čerstvého mäsa a získaného zo zvierat druhov zo zoznamu, ktoré sa držia v zariadeniach nachádzajúcich sa v pásme dohľadu, ak: a) sa čerstvé mäso premiestňuje do zariadenia na spracovanie, aby sa podrobilo niektorému z ošetrení na zmiernenie rizika, ktoré sú stanovené v prílohe VII a príslušný orgán zabezpečí, aby čerstvé mäso bolo označené v súlade s prílohou IX, ak sa získava na bitúnku a takáto značka sa na ňom ponecháva do jeho ošetrenia, a b) ošetrenie sa aplikuje v zariadení nachádzajúcom sa v tom istom reštrikčnom pásme alebo čo najbližšie k reštrikčnému pásmu a jeho prevádzka podlieha dohľadu úradných veterinárnych lekárov. Označenie, ktoré sa má aplikovať na čerstvé mäso pozostáva buď: a) z identifikačného označenia stanoveného v nariadení (ES) č. 853/2004 s dodatočným diagonálnym krížom pozostávajúcim z dvoch rovných čiar pretínajúcich sa v strede pečiatky, ktoré umožňujú, aby informácie uvedené na ňom zostali čitateľné; alebo b) z jednej oválnej pečiatky širokej 6,5 cm a vysokej 4,5 cm, na ktorej sa musia čitateľne uviesť tieto informácie: — v hornej časti celý názov alebo kód ISO členského štátu veľkými písmenami, — uprostred schvaľovacie číslo bitúnku, — v dolnej časti jednu z týchto skratiek: CE, EC, EF, EG, EK, EY, EO, ES, EU, EB, WE alebo EZ, — dve rovné čiary pretínajúce sa v strede pečiatky takým spôsobom, aby informácie boli viditeľné — písmená musia byť vysoké najmenej 0,8 cm a čísla najmenej 1 cm.

V prípade chorôb kategórií B a C existujú eradikačné programy. Eradikačné programy sa v závislosti od predmetnej choroby vzťahujú na zariadenie, pásmo alebo členský štát. Choroby kategórie D sa považujú za choroby, ktoré predstavujú značné riziko šírenia pri premiestňovaní zvierat medzi členskými štátmi. Podstatnú časť každého eradikačného programu predstavuje dohľad a štatút bez výskytu choroby je v mnohých prípadoch výsledkom úspešného dohľadu a procesu eradikácie. Dohľad je potrebný pre choroby kategórie E a okrem

toho popri iných opatreniach je kľúčový nástroj na udržanie štatútu bez výskytu choroby po jeho získaní. Pravidlá týkajúce sa týchto programov sú stanovené v delegovanom nariadení Komisie (EÚ) 2020/689. Delegované nariadenie Komisie (EÚ) 2020/688 dopĺňa pravidlá prevencie a kontroly chorôb zvierat, ktoré sa môžu prenášať na zvieratá alebo na ľudí, stanovené v článku 5 ods. 1 nariadenia (EÚ) 2016/429, pokiaľ ide o premiestňovanie držaných suchozemských zvierat v rámci Únie.

Produkty živočíšneho pôvodu môžu predstavovať riziko šírenia prenosných chorôb zvierat. Nariadenie (EÚ) 2016/429 stanovuje všeobecné povinnosti prevádzkovateľov týkajúce sa zdravia zvierat vo všetkých fázach produkcie, spracovania a distribúcie produktov živočíšneho pôvodu zo suchozemských zvierat vrátane premiestňovania zásielok týchto produktov v rámci Únie. Stanovujú sa v ňom najmä povinnosti prevádzkovateľov týkajúce sa šírenia chorôb zo zoznamu a objavujúcich sa chorôb, a to najmä vtedy, keď príslušný orgán zaviedol v mieste produkcie alebo spracovania týchto produktov núdzové opatrenia alebo obmedzenia premiestňovania. Za kontrolu šírenia chorôb zo zoznamu a objavujúcich sa chorôb preto nie sú zodpovední len prevádzkovatelia, ale aj príslušné orgány. Delegované nariadenie (EÚ) 2020/2154 dopĺňa nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2016/429, pokiaľ ide o požiadavky na zdravie zvierat, certifikáciu a nahlasovanie pri premiestňovaní produktov živočíšneho pôvodu zo suchozemských živočíchov v rámci Únie. S cieľom neohroziť zdravotný štatút Únie právne predpisy stanovujú pre vstup zvierat a produktov do Únie podmienky, ktoré nie sú menej prísne ako požiadavky uplatniteľné na premiestňovanie v rámci Únie. Delegované nariadenie Komisie (EÚ) 2020/692, ktorým sa dopĺňa nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2016/429 stanovuje dopĺňajúce pravidlá týkajúce sa zdravia zvierat, pokiaľ ide o vstup zásielok určitých druhov a kategórií zvierat a produktov živočíšneho pôvodu z tretích krajín alebo území do Únie, premiestňovania a zaobchádzania s nimi po vstupe do Únie.

ZÁVER

Politika EÚ v oblasti bezpečnosti potravín má za cieľ chrániť zdravie ľudí a záujmy spotrebiteľov. EÚ zaisťuje dodržiavanie noriem v oblastiach hygieny potravín, zdravia zvierat a zoonotických ochorení prenášaných potravinami. Prenosné choroby zvierat sa môžu ľahko šíriť cez hranice štátov a v prípade zoonóz môžu mať vplyv na verejné zdravie a bezpečnosť potravín. Nariadenie (EÚ) 2016/429 o prenosných chorobách zvierat a zmene a zrušení určitých aktov v oblasti zdravia zvierat („právna úprava v oblasti zdravia zvierat“) stanovuje pravidlá prevencie a kontroly chorôb zvierat, ktoré sa môžu prenášať na zvieratá alebo ľudí. Rozsah pôsobnosti tohto nariadenia sa zameriava na choroby s vysokou mierou relevantnosti pre

verejné zdravie. Pravidlami uvedenými v tomto nariadení sa stanovuje zoznam a kategorizácia prioritných chorôb vzbudzujúcich obavy Únie a stanovujú sa povinnosti v oblasti zdravia zvierat. Dôležitým nástrojom na zabránenie zavlečeniu a šíreniu prenosnej choroby zvierat je dodržiavanie pravidiel pri premiestňovaní zvierat a produktov živočíšneho pôvodu medzi členskými štátmi EÚ a pri ich vstupe z tretích krajín.

LITERATÚRA

www.eur-lex.eu

Poďakovanie

Príspevok bol podporený projektom KEGA 020UVLF-4/2024

Kontaktná adresa: Alena Nagyová, MVDr., PhD. Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice; e-mail: alena.nagyova@uvlf.sk

VLIV PORUŠENÍ TEPLOTY SKLADOVÁNÍ DRŮBEŽÍHO MASA NA RŮST A MNOŽENÍ *ESCHERICHIA COLI*

EFFECT OF POULTRY MEAT STORAGE TEMPERATURE VIOLATION ON THE GROWTH AND MULTIPLICATION OF *ESCHERICHIA COLI*

Necidová Lenka[1], Bursová Šárka[1], Zouharová Alena[1], Bartáková Klára[1], Haruštiaková Danka[2]

[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

ABSTRACT

In this study, the effect of inadequate transport on the result of ß-glucuronidase positive *Escherichia coli* count of chilled poultry was evaluated. During transport chilled poultry meat products must be kept at a temperature below 4 °C (Regulation (EC) No 853/2004). Chilled poultry meat (chicken legs with skin and breast without skin) was packaged in air packaging and in modified atmosphere (MAP) for the purposes of the experiment. The model experiments simulated an increase of temperature during the transport to 8, 11, 14, 17, 20 and 25 °C. The exposure time was 1, 2, 3, 3.5 and 4 h. The *E. coli* count in the samples were determined by plate method (ČSN ISO 16649-2) immediately after exposure to higher temperature (0 h), 3 h and 24 h after returning to the adequate temperature (4 °C). Most frequent *E. coli* detection and the highest *E. coli* count were observed in chicken legs in air packaging, the 4 % samples (12/294) exceeded the limit recommended by the standard ČSN 569609 2.7 log CFU.g^{-1}. The *E. coli* count was not influenced by temperature and by duration of exposure to higher temperature in chicken breast (both in air packaging and in MAP) and in chicken legs in MAP. The *E. coli* counts are mainly influenced by the initial contamination of the chicken meat.

Key words: packaging, transport, microbiological quality

ÚVOD

Drůbeží maso je vzhledem k jeho fyzikálním a chemickým vlastnostem náchylné k mikrobiálnímu kažení, které závisí na úrovni bakteriální kontaminace jatečně upravených těl (JUT), hygienických postupech při manipulaci a na době a teplotě skladování. Podle legislativních předpisů musí být čerstvé drůbeží maso zchlazeno na teplotu nepřesahující 4 °C, jakmile je maso rozbouráno/rozporcováno a případně zabaleno. Dále před přepravou masa nesmí jeho teplota přesáhnout 4 °C a musí být zachována i v průběhu přepravy (nařízení

Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004). Převoz masa při nevhodných teplotách může vést ke zvýšení počtu mikroorganismů a zvýšit tak riziko vzniku onemocnění z potravin nebo snížit trvanlivost.

U zdravých žijících zvířat jsou svaly prakticky sterilní, ale kůže, peří, trávicí a močové cesty nejsou. V důsledku toho mohou mikroorganismy, vyskytující se vně i uvnitř těla zvířat, kontaminovat JUT zejména během kuchání a stahování kůže. Zdrojem další kontaminace po porážce a během ní mohou být vzduch, povrchy zařízení a voda. Počty *E. coli* jako indikátorového mikroorganismu vypovídají o mikrobiologické kvalitě chlazeného drůbežího masa (Fernandes, 2009; Rouger et al, 2017). Čerstvé maso brojlerů je typicky kontaminováno bakteriemi *Campylobacter* spp., v menší míře *Salmonella* spp. a *Escherichia coli* (EFSA, 2022). Chlazení a balení masa patří mezi hlavní strategie pro udržení kvality čerstvého masa a zlepšení jeho trvanlivosti. Potraviny, jejichž trvanlivost byla prodloužena balicími plyny, musí mít na obalu uvedeno "baleno v ochranném prostředí". K tomuto účelu lze použít pouze plyny schválené podle nařízení (ES) č. 1333/2008 (nařízení (EU) č. 1169/2011). U chlazené drůbeže balené v MAP se obvykle atmosféra skládá z 20–75 % CO_2 a zbytek vyplňuje dusík (Zouharová et al., 2022).

Cílem této práce je posouzení vlivu typu balení (prosté a s modifikovanou atmosférou) a porušení teploty skladování při transportu chlazeného drůbežího masa na růst a množení *E. coli*.

MATERIÁL A METODIKA

Pro modelové studie s chlazenou porcovanou drůbeží byly vybrány dva tržní druhy: kuřecí stehna (vzorky s kůží) a kuřecí prsa (vzorky bez kůže). Chlazená kuřecí stehna a kuřecí prsa byla v případě prostého balení umístěna vždy po jednom kuse do plastových misek z polypropylenu a překryta průtažnou polyetylenovou folií. Vzorky, balené v ochranné atmosféře (MAP) v polypropylenových miskách zatavených polyetylenovou folií naplněných směsí plynů používaných v tržní síti pro tvorbu ochranné atmosféry, byly v tržní síti od stálého dodavatele. Vzorky byly dopraveny do laboratoře při teplotě maximálně 4 °C a při této teplotě byly skladovány až do zahájení pokusu.

Modelové pokusy simulovaly zvýšení teploty při transportu vzorků na 8, 11, 14, 17, 20 a 25 °C. Doba expozice teplot byla 1, 2, 3, 3,5 a 4 h. Analýzy byly provedeny ihned po expozici zvýšené teplotě (0 h), za 3 h a za 24 h po návratu do adekvátní teploty. V rámci jedné šarže byly prováděny 3 paralelní stanovení. Jako kontrolní vzorky byly použity vzorky chlazených kuřecích stehen a prsou skladovaných při teplotě 4 ± 1 °C (teplota požadovaná legislativou).

U analytických vzorků byly po jejich zpracování (ČSN EN ISO 7218) sledovány počty ß-D-glukuronidáza pozitivních *E. coli* plotnovou metodou dle ČSN ISO 16649-2 Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda stanovení počtu β-glukuronidázopozitivních *Escherichia coli* - Část 2: Technika počítání kolonií vykultivovaných při 44 °C s použitím 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glukuronidu.

Původní hodnoty KTJ/g byly převedeny pomocí dekadického logaritmu (log KTJ/g). K vyhodnocení vlivu teploty, délky přerušení chladicího řetězce a doby vyšetření vzorku na hodnotu počtu *E. coli* a byl použit obecný lineární model (GLM). Teplota a délka porušení chlazení byla v modelu použita jako spojitá proměnná, doba vyšetření vzorku jako kategoriální proměnná. Analýza byla provedena samostatně pro každý druh masa a pro oba druhy balení. Ke zpracování dat byl použit software Statistica, verze 14. Statistické testy byly zhodnoceny na hladině významnosti 0,05.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Záchyty *E. coli* u vzorků kuřecích stehen a prsou v obou typech balení včetně jejich minimálních a maximálních stanovených počtů uvádí tabulky č. 1-4.

Z 315 vzorků kuřecích **stehen v kůži v prostém balení** (tabulka č. 1) se vyšší počet *E. coli* vyskytoval ve 170 vzorcích s maximální hodnotou 3,65 log KTJ.g^{-1}. U 145 vzorků byl stanoven počet *E. coli* pod mezí detekce použité plotnové metody (< 1,70 log KTJ.g^{-1}). Z 315 **vzorků kuřecích prsou v prostém balení** (tabulka č. 2) byl vyšší počet *E. coli* zaznamenán ve 46 vzorcích a pohyboval se od 1,70 do 2,81 log KTJ.g^{-1}. U ostatních 269 vzorků byl stanoven počet *E. coli* pod mezí detekce (< 1,70 log KTJ.g^{-1}). U vzorků kuřecích stehen v kůži v prostém balení byl zjištěn vztah počtu *E. coli* s teplotou (P = 0,002), délka porušení chlazení a doba vyšetření vzorku po porušení chlazení vztah s počtem *E. coli* nevykazovala (P = 0,051 a P = 0,269). Vztah počtu *E. coli* k teplotě, délce porušení chlazení a vyšetření vzorku po porušení chlazení nebyl u vzorků kuřecích prsou v prostém balení prokázán (teplota: P = 0,403; délka porušení chlazení: P = 0,837; vyšetření vzorku po porušení chlazení: P = 0,452).

Jako maximální limitní hodnotu doporučující počet *E. coli* pro kategorii *Maso porcované, dělené maso balené* uvádí ČSN 569609 5.10^2 KTJ.g^{-1}, což odpovídá hodnotě 2,7 log KTJ.g^{-1}. U kuřecích stehen v prostém balení byla tato hodnota překročena u 12 vzorků odebraných v průběhu experimentu při teplotách 8, 11, 14, 20 a 25 °C, u kuřecích prsou v prostém balení pouze jedenkrát (8 °C). Vyšší počet záchytů *E. coli* a překročení doporučujících limitních hodnod byl častější u vzorků s kůží (stehna), protože kůže může být zdrojem fekální kontaminace včetně bakterií *E. coli*.

Tabulka č. 1. Záchyt *E. coli* ve vzorcích **kuřecích stehen v kůži v prostém balení** (počet pozitivních vzorků/celkový počet vzorků; % pozitivních vzorků), stanovený minimální a maximální počet *E. coli* (log KTJ.g^{-1}) a počet vzorků, které překročily limit 2,7 log KTJ.g^{-1})

Teplota	Vzorky odebrané před zahájením experimentu (výchozí počet)				Vzorky odebrané v průběhu modelového experimentu			
	Záchyt	Min.	Max.	>2,7 log	Záchyt	Min.	Max.	>2,7 log
4 °C	5/9 (56 %)	< 1,70	1,70	0	5/24 (21 %)	< 1,70	1,70	0
8 °C	6/6 (100 %)	1,70	2,18	0	18/45 (40 %)	< 1,70	2,78	1
11 °C	6/6 (100 %)	1,70	2,18	0	24/45 (53 %)	< 1,70	3,46	1
14 °C	5/9 (56 %)	< 1,70	1,70	0	19/45 (42 %)	< 1,70	2,88	1
17 °C	5/9 (56 %)	< 1,70	1,70	0	19/45 (42 %)	< 1,70	2,18	0
20 °C	4/6 (44 %)	< 1,70	2,00	0	33/45 (73 %)	< 1,70	3,65	3
25 °C	4/6 (44 %)	< 1,70	2,00	0	37/45 (82 %)	< 1,70	3,59	6
celkem	15/21 (71 %)			0	155/294 (53 %)			12

Tabulka č. 2. Záchyt *E. coli* ve vzorcích **kuřecích prsou v prostém balení** (počet pozitivních vzorků/celkový počet vzorků; % pozitivních vzorků) a stanovený minimální a maximální počet *E. coli* (log KTJ.g^{-1}) a počet vzorků, které překročily limit 2,7 log KTJ.g^{-1})

Teplota	Vzorky odebrané před zahájením experimentu (výchozí počet)				Vzorky odebrané v průběhu modelového experimentu			
	Záchyt	Min.	Max.	>2,7 log	Záchyt	Min.	Max.	>2,7 log
4 °C	1/9 (11 %)	< 1,70	1,70	0	2/24 (8 %)	< 1,70	2,00	0
8 °C	0/6 (0 %)	< 1,70	<1,70	0	11/45 (24 %)	< 1,70	2,81	1
11 °C	0/6 (0 %)	< 1,70	<1,70	0	8/45 (18 %)	< 1,70	1,70	0
14 °C	1/9 (11 %)	< 1,70	1,70	0	12/45 (27 %)	< 1,70	2,48	0
17 °C	1/9 (11 %)	< 1,70	1,70	0	3/45 (7 %)	< 1,70	2,00	0
20 °C	2/6 (33 %)	< 1,70	1,70	0	2/45 (4 %)	< 1,70	2,00	0
25 °C	2/6 (33 %)	< 1,70	1,70	0	5/45 (11 %)	< 1,70	2,30	0
celkem	3/21 (14 %)			0	43/294 (15 %)			1

Z 315 vzorků kuřecích **stehen v MAP** (tabulka č. 3) se vyšší počet *E. coli* vyskytoval v 87 vzorcích s maximální hodnotou 3,30 log KTJ.g^{-1}. U 228 vzorků byl stanoven počet *E. coli* pod mezí detekce použité plotnové metody (< 1,70 log KTJ.g^{-1}). Z 315 **vzorků kuřecích prsou v MAP** (tabulka č. 4) byl vyšší počet *E. coli* zaznamenán v 87 vzorcích a pohyboval se od 1,70 do 2,95 log KTJ.g^{-1}. U ostatních 228 vzorků byl stanoven počet *E. coli* pod mezí detekce (< 1,70 log KTJ.g^{-1}). Vztah počtu *E. coli* k teplotě, délce porušení chlazení a vyšetření vzorku po porušení chlazení nebyl u vzorků kuřecích stehen v kůži v balení MAP prokázán (teplota: P = 0,393; délka porušení chlazení: P = 0,738; vyšetření vzorku po porušení chlazení: P = 0,248). Stejně tak tomu bylo i u kuřecích prsou v balení MAP (teplota: P = 0,661; délka porušení chlazení: P = 0,940; vyšetření vzorku po porušení chlazení: P = 0,541).

Limitní hodnota doporučující maximální počet *E. coli* pro kategorii *Maso porcované* (ČSN 569609) 2,7 log KTJ.g^{-1} byla u drůbežích stehen balených v MAP překročena u 4 vzorků, u prsou v MAP ve 2 případech.

Tabulka č. 3. Záchyt *E. coli* ve vzorcích **kuřecích stehen v modifikované atmosféře** (počet pozitivních vzorků/celkový počet vzorků; % pozitivních vzorků), stanovený minimální a maximální počet *E. coli* (log KTJ.g^{-1}) a počet vzorků, které překročily limit 2,7 log KTJ.g^{-1})

Teplota	Vzorky odebrané před zahájením experimentu (výchozí počet)				Vzorky odebrané v průběhu modelového experimentu			
	Záchyt	Min.	Max.	>2,7 log	Záchyt	Min.	Max.	>2,7 log
4 °C	4/9 (44 %)	< 1,70	3,30	1	4/24 (17 %)	< 1,70	1,70	0
8 °C	2/6 (33 %)	< 1,70	1,70	0	12/45 (27 %)	< 1,70	2,78	1
11 °C	2/6 (33 %)	< 1,70	1,70	0	11/45 (24 %)	< 1,70	2,00	0
14 °C	4/9 (44 %)	< 1,70	3,30	1	9/45 (20 %)	< 1,70	2,00	0
17 °C	4/9 (44 %)	< 1,70	3,30	1	16/45 (36 %)	< 1,70	2,18	0
20 °C	2/6 (44 %)	< 1,70	1,70	0	11/45 (24 %)	< 1,70	3,23	2
25 °C	2/6 (33 %)	< 1,70	1,70	0	16/45 (36 %)	< 1,70	2,00	0
celkem	8/21 (38 %)			1	79/294 (27 %)			3

Tabulka č. 4. Záchyt *E. coli* ve vzorcích **kuřecích prsou v modifikované atmosféře** (počet pozitivních vzorků/celkový počet vzorků; % pozitivních vzorků) a stanovený minimální a maximální počet *E. coli* (log KTJ.g^{-1}) a počet vzorků, které překročily limit 2,7 log KTJ.g^{-1})

Teplota	Vzorky odebrané před zahájením experimentu (výchozí počet)				Vzorky odebrané v průběhu modelového experimentu			
	Záchyt	Min.	Max.	>2,7 log	Záchyt	Min.	Max.	>2,7 log
4 °C	0/3 (0 %)	< 1,70	<1,70	0	8/24 (33 %)	< 1,70	2,18	0
8 °C	4/6 (67 %)	< 1,70	2,18	0	9/45 (20 %)	< 1,70	2,00	0
11 °C	4/6 (67 %)	< 1,70	2,18	0	21/45 (47 %)	< 1,70	2,95	1
14 °C	2/6 (33 %)	< 1,70	1,70	0	15/45 (33 %)	< 1,70	2,30	0
17 °C	2/6 (33 %)	< 1,70	1,70	0	17/45 (38 %)	< 1,70	3,08	1
20 °C	2/6 (33 %)	< 1,70	2,40	0	6/45 (13 %)	< 1,70	1,70	0
25 °C	2/6 (33 %)	< 1,70	2,40	0	17/45 (38 %)	< 1,70	2,48	0
celkem	8/21 (38 %)			0	93/294 (32 %)			2

Miranda et al. (2008) vyšetřovali 116 ks chlazených drůbežích stehen zakoupených v tržní síti, 55 ks byly bio produkty, 61 ks pocházelo z konvenčních chovů. U 81,8 % bio drůbežího masa detekovali *E. coli* v množství nad detekčním limitem (1 log KTJ.g^{-1}) u 81,8 % vzorků, u masa, průměrné počty byly 1,82 log KTJ.g^{-1} (SD = 0,731) z konvenčních chovů byl záchyt nad detekčním limitem u 62,3 % vzorků s průměrným množstvím 1,36 log KTJ.g^{-1} (SD = 0,405). Lee et al. (2023) uvádí celkovou prevalenci *E. coli* v maloobchodních vzorcích drůbežího masa v jižní Kalifornii (USA) 47,51 % (105/221). Teles et al. (2021) prokázali přítomnost *E. coli* u 47,36 % vzorků drůbežího masa z místních brazilských supermarketů.

ZÁVĚR

Nejvyšší počet záchytů *E. coli* (71 % na počátku experimentu a 53 % v jeho průběhu) včetně nejvyššího počtu vzorků (12/294), které překročily hodnoty doporučující maximální počty *E. coli* u děleného masa uváděnou ČSN 569609 (2,7 log KTJ.g^{-1}), byla byl zaznamenán ve vzorcích chlazených drůbežích stehen v prostém balení. Jelikož ve třech ze čtyř případů

nebyl prokázán vliv porušení chladicího řetězce na počty *E. coli*, lze konstatovat, že na počty této bakterie má vliv především počáteční kontaminace masa.

PODĚKOVÁNÍ

Práce byla zpracována s podporou projektu NAZV QK21020245.

POUŽITÁ LITERATURA

1. ČSN ISO 16649-2 Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda stanovení počtu β-glukuronidázopozitivních *Escherichia coli* - Část 2: Technika počítání kolonií vykultivovaných při 44 °C s použitím 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glukuronidu. Praha: Český normalizační institut. 2003. 12 p.
2. ČSN EN ISO 7218 Mikrobiologie potravin a krmiv. Všeobecné požadavky a doporučení pro mikrobiologické zkoušení. Praha: Český normalizační institut. 2008. 68 p.
3. ČSN 569609 Pravidla správné hygienické praxe – Mikrobiologická kritéria pro potraviny. Principy stanovení a aplikace. Praha: Český normalizační institut. 2008. 40 p.
4. European Food Safety Authority. The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, 2023, vol. 21, no. 12, 222 p.
5. FERNANDES, R. Microbiology handbook meat products. Leatherhead Publishing and Royal Society of Chemistry, UK, 2009, 297 p.
6. LEE, K. Y., LAVELLE, K., HUANG, A., ATWILL, E. R., PITESKY, M., LI, X. Assessment of Prevalence and Diversity of Antimicrobial Resistant *Escherichia coli* from Retail Meats in Southern California. *Antibiotics*, 2023, vol. 12, no. 4, p. 782.
7. MIRANDA, J. M., VA´ ZQUEZ, B. I., FENTE, C. A. CALO-MATA, P., CEPEDA, A., FRANCO, C. M. Comparison of Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*, Staphylococcus aureus, and Listeria monocytogenes Strains Isolated from Organic and Conventional Poultry Meat. *Journal of Food Protection*, 2008, vol. 71, no. 12, p. 2537–2542.
8. NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1333/2008 ze dne 16. prosince 2008 o potravinářských přídatných látkách. Úřední věstník Evropské unie, 2008, L 354, 31. 12. 2008, s. 16–33. (ve znění pozdějších předpisů)
9. 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, 78 p. (ve znění pozdějších předpisů).

10. NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (EU) č. 1169/2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům. Úřední věstník Evropské unie, 2011, L 304, s. 18–63. (ve znění pozdějších předpisů)
11. ROUGER, A., TRESSE, O., ZAGOREC, M. Bacterial Contaminants of Poultry Meat: Sources, Species, and Dynamics. *Microorganisms*, 2017, vol. 5, no. 3, p. 50.
12. TELES, P. F. S., BOIAGO, M. M., FRIGO, A., RAMPAZZO, L., ARAÚJO, D. N., KICH, J. D., REBELATTO, R., FURIAN, T. Q., STEFANI, L. M. Genetic Similarities of Escherichia Coli Isolated from Different Substrates of the Broiler Production Chain. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 2021, vol. 23, no.1, p. eRBCA-2020-1361.
13. ZOUHAROVÁ, A., BARTÁKOVÁ, K., BURSOVÁ, Š., NECIDOVÁ, L., HARUŠTIAKOVÁ, D., KLIMEŠOVÁ, M., VORLOVÁ, L**.** Meat and fish packaging and its impact on the shelf life – a review. *Acta Veterinaria Brno*, 2023, vol. 92, pp. 95–108.

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

MULTIPLEXNÍ DETEKCE A IDENTIFIKACE VÝZNAMNÝCH DRUHŮ KLOSTRIDIÍ A GENŮ ZODPOVĚDNÝCH ZA PRODUKCI JEJICH TOXINŮ

MULTIPLEX DETECTION AND IDENTIFICATION OF IMPORTANT CLOSTRIDIA SPECIES AND GENES RESPONSIBLE FOR THE TOXINS PRODUCTION

Nesvadbová Michaela, Svobodová Irena

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

ABSTRACT

Clostridia are a polyphyletic class of anaerobes that are prolific toxin producers. In this study, we describe a multiplex qPCR method for the detection of important pathogens closely related to foodborne diseases – *Clostridium perfringens*, *Clostridioides difficile*, *Clostridium botulinum* and genes responsible for the production of their major toxins (*cpa*, *cpb*, *cpe*, *tcdA*, *tcdB*, *cdt*, *bontA*, *bontB*, *bontE* and *bontF*). The limit of detection, diagnostic sensitivity, and specificity were determined. There was no cross-detection of species within the multiplex qPCR, and non-target bacteria were not creating falsely positive results. The system's uniqueness lies in the multiplexing of different samples, but also in its high sensitivity making it possible to detect 10 DNA copies per reaction or even less. The multiplex qPCR method offers quick, simple, and precise identification of significant pathogens. It could be used in food safety investigations, clinical diagnosis, and surveillance of the spreading determinants of pathogens in epidemiological studies.

Key words: *Clostridium perfringens*, *Clostridioides difficile*, *Clostridium botulinum*, toxins, qPCR

ÚVOD

Rod *Clostridium* zahrnuje grampozitivní anaerobní bakterie, pro které je typická tvorba endospor. Všichni významní zástupci jsou běžně přítomni v půdě, vodě i trávicím traktu živočichů. Mezi významné patogenní druhy se řadí *Clostridium botulinum*, způsobující botulismus a *Clostridioides difficile*, které je zodpovědné za infekce střevního traktu. *Clostridium perfringens* má díky velké produkci toxinů široké spektrum patogenního účinku jak u člověka, tak u zvířat. Pro celý rod je společná produkce řady potentních toxinů s afinitou

k různým tkáním. Všechny toxiny lze detekovat z biologického materiálu biochemickými nebo imunologickými testy, ovšem daleko rychlejší a mnohdy přesnější je samotná detekce genů, které za produkci toxinů odpovídají.

Clostridium perfringens náleží mezi významné zoonotické patogeny, které způsobují onemocnění jak člověka, tak i zvířat. Řadí se mezi anaerobní mikroorganismy, které za nepříznivých podmínek vytváří spory. Taktéž je producentem celé řady faktorů virulence, a to jak toxinů, které se používají pro jeho rozdělení na typy, tak extracelulárních enzymů s patogenním působením na tkáně. Pro rozdělení na jednotlivé typy se využívají různé metody detekce jeho hlavních toxinů *(alfa – α, beta – β, epsilon – ε, iota – ι*, enterotoxin – cpe a netB toxin) přičemž v současnosti převažují detekce na molekulární úrovni. Geny odpovídající za produkci daného toxinu jsou uloženy chromozomálně nebo na plazmidech. Podle typizačního schématu z roku 2018 (Rood et al., 2018) je *C. perfringens* rozděleno do 7 typů (A–G, tabulka 1); každý typ odpovídá za specifický syndrom u člověka nebo zvířat. Pro člověka jsou patogenní typy A, C a F, přičemž typy C a F způsobují různě závažná průjmová onemocnění, zatímco typ A vyvolává plynatou sněť (gangrénu), která je vždy život ohrožující. U zvířat se patogenní efekt uplatňuje především ve střevním traktu (dyzentérie a průjmy, typy A-G), tak extraintestinálně (např. postižení ledvin u ovcí, typ D). Nejzávažnější nozologickou jednotkou je nekrotická enteritida výkrmové drůbeže (typ G), která po celém světě odpovídá za značné ekonomické ztráty (Nesvadbová a Svobodová, 2021).

Tabulka 1: Typy *Clostridium perfringens* dle produkce hlavních toxinů (dle Rood et al., 2018)

Typ/toxin	**α**	**β**	**ε**	**ι**	**Enterotoxin**	**NetB**
gen	*cpa*	*cpb*	*etx*	*iap, ibp*	*cpe*	*netB*
A	+	-	-	-	-	-
B	+	+	+	-	-	-
C	+	+	-	-	±	-
D	+	-	+	-	±	-
E	+	-	-	+	±	-
F	+	-	-	-	+	-
G	+	-	-	-	-	+

Dalším významným patogenním druhem klostridií je *Clostridium botulinum*. Typická je pro něj produkce jednoho z nejsilnějších bakteriálních toxinů vůbec – botulotoxinu (BoNT). Druhy *C. botulinum* historicky zahrnovaly všechny bakterie, které produkují BoNT. Uvnitř

druhu jsou však patrné čtyři fylogeneticky odlišné linie, známé jako *C. botulinum* skupiny I-IV, seskupené na základě genetické heterogenity a fyziologických faktorů. Kmeny skupiny I a II jsou nejčastěji spojovány s případy lidského botulismu, zatímco kmeny skupiny III jsou zodpovědné za případy botulismu u ptáků a některých savců. Kmeny skupiny IV, přejmenované na *Clostridium argentinense*, jsou zřídka spojovány s onemocněním, ovšem taktéž produkují BoNT (Tabulka 2). Všechny typy jsou ještě rozděleny na podtypy, své číslo dostaly podle data objevu. Botulotoxin je kódován genem *bont*, který se nachází buď na chromozomech, na plazmidech nebo fágových elementech. Samotný BoNT blokuje uvolňování neurotransmiterů na nervových terminálech, což vyvolává paralýzu svalstva. Molekulární mechanismy účinku botulotoxinu jsou dostatečně prozkoumány pouze u několika typů (Rawson et al., 2023).

Tabulka 2: Rozdělení *C. botulinum* na skupiny a typy (dle Rawson et al., 2023)

Rozdělení	**Typ produkovaného toxinu**	**Botulismus**
Skupina I. – proteolytické kmeny CB	A, B*, F, H	humánní, z potravin
Skupina II. – neproteolytické kmeny CB	B*, E, F	humánní – tepelně neošetřené potraviny, animální
Skupina III.	C, D	C – aviární, D – bovinní
Skupina IV. – přejmenována na *C. argentinense*	G	-

*neproteolytický toxin

Clostridium difficile, nedávno přejmenované na *Clostridioides difficile* je dalším důležitým humánním patogenem. Vyvolává průjmová onemocnění člověka (nozokomiální průjmy, průjmy po léčbě antibiotiky a pseudomembranózní kolitidu), výskyt u zvířat je potvrzen, ovšem význam jeho patogenity je stále předmětem výzkumu. Příčinou průjmu jsou toxiny uvolňované bakteriálními buňkami *C. difficile*. Jedná se dva silné exotoxiny – enterotoxin A (TcdA) a cytotoxin B (TcdB), vylučované v tlustém střevě pacienta. Oba toxiny jsou proteolytické. Geny, které kódují enterotoxin A (*tcdA*) a cytotoxin B (*tcdB*), jsou součástí lokusu patogenity (PaLoc), který zahrnuje také geny *tcdR* (pozitivní regulátor) a *tcdC* (negativní regulátor). U velké části kmenů je také přítomen další toxin (binární toxin neboli CDT), který průběh onemocnění ještě zhoršuje, ačkoli sám onemocnění nezpůsobí (Usui, 2020). Význam průjmových onemocnění vyvolaných *C. difficile* v posledních letech významně roste, což je

důvod, proč vyvinout rychlou a spolehlivou metodu, jak CD identifikovat (Bhunia et al., 2018; Tijerina-Rodríguez, et al., 2019).

K identifikaci bakteriálních agens v potravinách se v současnosti často používají protokoly založené na kvantitativní PCR v reálném čase (qPCR). Tato metoda umožňuje kromě přesné identifikace také kvantifikaci vegetativních buněk a/nebo jejich spor, přičemž nepopiratelnou výhodou je rychlost zpracování vzorků, která se pohybuje v řádu několika málo hodin (Morandi et al., 2015).

Cílem této studie byl vývoj nové multiplexní TaqMan qPCR metody pro detekci důležitých potravinových patogenů – *Clostridium perfringens*, *Clostridioides difficile* a *Clostridium botulinum* a genů odpovědných za produkci jejich hlavních toxinů (*cpa*, *cpb*, *cpe*, *tcdA*, *tcdB*, *cdt*, *bontA*, *bontB*, *bontE* a *bontF*), které jsou odpovědné za jejich virulenci.

MATERIÁL A METODIKA

Bakteriální kmeny, kultivace a izolace dna

V této studii byly použity referenční kmeny cílových bakteriálních druhů, ostatní druhy *Clostridium* spp. a jejich blízce příbuzné bakteriální kmeny, získané ze sbírek mikroorganismů. Konkrétně se jednalo o tyto sbírkové kmeny: *Blautia coccoides* (CCM 6064), *Clostridium beijerinckii* (CCM 6218), *Clostridium cocleatum* (CCM 6166), *Clostridium colinum* (CCM 3932), *Clostridioides difficile* (CCM 3593, DSM 27147, DSM 27638, DSM 27640), *Clostridium perfringens* (CCM 4435, CCM 7176, CIP 106640, CIP 106156, CNTC 5458, CNTC 5460, CNTC 5459, CNTC 6188, CNTC 5461 CNTC 6198, CNTC 5462, CCUG 42881, CCUG 47895, CCUG 18370, CCUG 18370), *Clostridium spiroforme* (CCM 6168), *Clostridium sporogenes* (CCM 4409), *Clostridium symbiosum* (CCM 6065), *Enterocloster clostridioformis* (CCM 6066), *Paraclostridium bifermentans* (CCM 4610), *Paeniclostridium sordellii* (CCM 4611).

Dále bylo použito 37 jiných vybraných bakteriálních kmenů zástupců rodů *Aeromonas*, *Arcobacter*, *Bacillus*, *Campylobacter*, *Cronobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Helicobacter*, *Kocuria*, *Klebsiella*, *Listeria*, *Proteus*, *Rhodococcus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus* a *Streptococcus*.

Všechny bakteriální kmeny *Clostridium* spp. byly oživeny podle instrukcí, které poskytly konkrétní sbírky mikroorganismů. Rozpuštění lyofilizované kultury se provádělo v bujónu (Tryptic Soy Broth; Thermo Fisher Scientific), odkud se kmen vyočkoval na krevní agar (Columbia Blood Agar; Thermo Fisher Scientific). Kultivace probíhaly v anaerobním prostředí (Anaerobic system Oxoid, Thermo Fisher Scientific) při teplotě 35-37 °C po dobu 24-48 h.

Bakteriální genomová DNA byla následně extrahována standardním protokolem pomocí kitu NucleoSpin Microbial DNA (Machery-Nagel).

Real-time pcr eseje

Specifické primery (KRD) a TaqMan sondy (Generi Biotech) pro real-time PCR (qPCR) pro identifikaci *C. perfringens, C. difficile, C. botulinum* a jejich důležitých toxinů byly navrženy dle dostupných GenBank sekvencí pomocí softwaru Oligo 7 (Rychlik, 2007) a jejich specifita byla ověřena pomocí programu BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). TaqMan sondy byly značeny pomocí 5 floroforů (FAM, HEX, ROX, CY5 a ATTO 680), díky čemuž bylo možné sestavit různé logické multiplexní systémy do quadruplexů a pentaplexů (tabulka 3). Amplifikace a fluorescenční detekce byly provedeny na přístroji Rotor-Gene Q (Qiagen). Reakční směs v konečném objemu 20 µl obsahovala 10 µl QuantiNova Multiplex PCR Kit (Qiagen), 0,05 µM každého primeru, 0,01 µM sondy označené ATTO 680/ BBQ650, 0,05 µM sondy značené FAM/BHQ1, HEX/BHQ, ROX/BHQ2, 0,2 µM sondy značené Cy5/BHQ2, 0,2 U Uracil DNA glykosylázy (Sigma) a 5 µl DNA (celkové množství přibližně 50 ng na reakci). Plazmid IAC odvozený od sekvencí genomu *M. avium* subsp. *paratuberculosis* a genu *StTS1 Solanum tuberosum* (Slana et al., 2008) byl zahrnut v množství 10^3 kopií na qPCR reakci. Každý běh zahrnoval negativní a pozitivní kontrolu a všechny experimenty byly prováděny v biologických a technických duplikátech. Analýzou exkluzivity a inkluzivity navržených esejí byla testována analytická specifita navržených primerů a sond a limit detekce (LOD) všech multiplexních systémů byl stanoven opakovanou analýzou naředěné cílové DNA (0,1 ng/µl do 1 pg/µl, tj. 0,5 ng–5 pg na 5 µl qPCR reakce) s ultračistou vodou.

Tabulka 3: Organizace qPCR multiplexních sytémů

Florofor	**Multiplex 1**	**Multiplex 2**	**Multiplex 3**	**Multiplex 4**
FAM	*C.botulinum*	(*C.botulinum*)	*tcdB*	*cpa*
HEX	*C. difficile*	*bontA*	(*C. difficile*)	*cpb*
ROX	*C. perfringens*	*bontB*	*tcdA*	(*C. perfringens*)
CY5		*bontE*	*cdt*	*cpe*
ATTO 680	IAC	*bontF*		

VÝSLEDKY A DISKUZE

Klostridia jsou obligátně anaerobní, sporotvorné bakterie produkující více toxinů než jakýkoliv jiný rod bakterií, navíc pro patogenní druhy a jejich kmeny je typická produkce vlastních, jedinečných toxinů. Tyto bakterie jsou schopny způsobit závažná onemocnění u lidí a zvířat, která se mohou pohybovat od asymptomatické kolonizace, průjmů a kolitidy až po syndromy závažných onemocnění, a dokonce i perforaci střev, sepsi a smrt (Biasizzo et al., 2018).

V této studii byly navrženy a testovány celkem 4 qPCR multiplexní systémy, které umožňují identifikaci významných bakterií a sekvencí genů, odpovědných za produkci významných toxinů, které jsou patogenní pro člověka, a to konkrétně *C. perfringens* (typy A, C a F, resp. toxiny *cpa, cpb* a *cpe*), *C. difficile* (toxiny *tcdA, tcdB* a *cdt*) a *C. botulinum* (toxiny *bontA, bontB, bontE* a *bontF*). Identifikace klostridií se obvykle provádí konvenčními mikrobiologickými postupy, které spoléhají na izolaci mikroorganismu na selektivních médiích v anaerobních podmínkách a suspektní anaerobní kolonie redukující siřičitany jsou potvrzeny biochemickými testy. Jedná se o časově náročný postup, který nemusí vyhovovat dnešním potřebám diagnostických laboratoří, a to zejména při diagnostice hromadných alimentárních onemocnění. qPCR je spolehlivá, specifická a rychlá metoda identifikace bakteriálních agens nacházející v současné době významné uplatnění v bezpečnosti potravin a v klinické diagnostice onemocnění lidí a zvířat (Hernández et al., 2017). qPCR multiplexy byly navrženy tak, bylo možné sestavit různé logické multiplexní systémy (quadruplexy a pentaplexy), jak pro pouze druhovou identifikaci bakteriálních druhů, tak pro současnou identifikaci sekvencí odpovídající za produkci významných toxinů (tabulka 3). V rámci optimalizace metodiky byla testována nejvhodnější kombinace koncentrací primerů a sond a byla stanovena jako následující: 0,05 µM každého primeru, 0,01 µM sondy značené ATTO680/BBQ650, 0,05 µM sond značené FAM/BHQ1, HEX/BHQ1, ROX/BHQ2, 0,2 uM sondy značené Cy5/BHQ2. Tyto koncentrace primerů a sond byly dále použity ve finálních multiplexních qPCR testech.

Identifikace vybraných bakteriálních druhů je založena na specifických genomových sekvencích, které byly navrženy *de novo.* Tyto nejsou založeny na identifikaci sekvencí genu jako je *16S rRNA*, jelikož sekvence daného genu jsou u blízce příbuzných druhů často velmi podobné a může tak docházet k falešně pozitivním výsledkům identifikace. Specifita navržených identifikačních esejí byla testována ve 3 po sobě následujících krocích. Jako první bylo testování založeno na *in silico* porovnání teoretické podobnosti sekvencí umožňující identifikaci daného druhu se záznamy sekvencí uloženými v GenBank a touto analýzou nebyla prokázána žádná křížová reaktivita. V dalším kroku byla experimentálně ověřena inkluzivita a exkluzivita všech primerů a sond. Jak inkluzivita, tak exkluzivita všech cílů ve všech čtyřech

multiplexních qPCR testech dosáhla 100 % - veškerá DNA byla identifikována správně v odpovídajícím fluorescenčním kanálu a nebyla zaznamenána žádná zkřížená reakce s žádnou z testovaných DNA. LOD byla stanovena na zředěných vzorcích DNA jako nejnižší koncentrace daného analytu, která vždy poskytla pozitivní výsledek PCR ve všech opakováních. Všechny druhy lze detekovat při hladině 10 pg/µl DNA; u některých druhů klesla LOD na pouhých 1 pg/µl izolované DNA.

Metoda byla validována pro svou specificitu a citlivost vůči různým cíleným i necíleným bakteriálním kmenům. V současné době pokračují další analýzy, a to testování vzorků získaných jak z potravin, tak z hospodářských zvířat a optimalizace kvantifikace cílových druhů.

ZÁVĚR

C. botulinum, *C. perfringens* a *C. difficille*, představují alimentární patogeny se zoonotickým potenciálem a jsou v mnoha zemích příčinou různých onemocnění z potravin. Navrženou druhově specifickou multiplexní qPCR vyvinutou v této studii pro jejich identifikaci a detekci genů, které jsou zodpovědné za produkci významných toxinů (*cpa*, *cpb*, *cpe*, *tcdA*, *tcdB*, *cdt*, *bontA*, *bontB*, *bontE* a *bontF*) je možné použít pro rychlou identifikaci klostridií ze vzorků potravin (včetně masa a masných výrobků) anebo prostředí. Metoda umožňuje rychlou, spolehlivou a nákladově efektivní metodu pro účely monitorování kontaminace vzorků a splňuje tak současné vysoké nároky efektivity a přesnosti na prováděné laboratorní analýzy v rámci bezpečnosti potravin anebo v klinické diagnostice nemocí lidí a zvířat.

PODĚKOVÁNÍ

Práce byla finančně podpořena projektem NAZV QK22010086 (Multiplexní detekce a identifikace genů zodpovědných za antimikrobiální rezistenci a produkci toxinů u významných bakteriálních agens v potravinách).

POUŽITÁ LITERATURA

1. BHUNIA, A. K. *Clostridium botulinum, Clostridium perfringens, Clostridium difficile*. In *Foodborne Microbial. Pathogens*. 2018, Food Science Text Series. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7349-1_12.
2. BIASIZZO, M. et al. Development and validation of a new protocol for detecting and recovering *Clostridium difficile* from meat samples. In *Journal of Food Protection*. 2018, Vol. 81, No. 4, p. 561-568.

3. HERNÁNDEZ, M. et al. Quantitative Detection of *Clostridium perfringens* by Real-Time PCR in Raw Milk. In *Food Analytical Methods*. 2017, Vol. 10, No. 5, p. 1139-1147.
4. MORANDI, S. et al. Development of a triplex real-time PCR assay for the simultaneous detection of *Clostridium beijerinckii*, *Clostridium sporogenes* and *Clostridium tyrobutyricum* in milk. In *Anaerobe*. 2015, Vol. 34, p. 44-49.
5. NESVADBOVÁ, M. SVOBODOVÁ, I. Role toxinů *Clostridium perfringens* v etiologii chorob savců I., In *Veterinářství*. 2021, Roč. 71, Č. 5, s. 253-257
6. RAWSON, A. M. et al. Pathogenicity and virulence of *Clostridium botulinum*. In *Virulence*. 2023, Vol. 14, No. 1.
7. ROOD, J. I. et al. Expansion of the *Clostridium perfringens* toxin-based typing scheme. In *Anaerobe*. 2018, Vol. 53, p. 5-10
8. RYCHLIK, W. OLIGO 7 primer analysis software. In *Methods. Mol. Biol*. 2007, Vol. 402, p. 35-60.
9. SLANA, I. et al. On-farm spread of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in raw milk studied by IS900 and F57 competitive real time quantitative PCR and culture examination. In *International Journal of Food Microbiology*. 2008, Vol. 128, No. 2, p. 250-257.
10. TIJERINA-RODRÍGUEZ, L. et al. Virulence factors of *Clostridioides* (*Clostridium*) difficile linked to recurrent infections. In *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*. 2019, 7 p.
11. USUI, M. One Health approach to *Clostridioides difficile* in Japan. In *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2020, Vol. 26, No. 7, p. 643-650

Kontaktní adresa: Nesvadbová Michaela, Department of Animal Origin Food & Gastronomic Sciences, University of Veterinary Sciences Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Czech Republic; E-mail: nesvadbovam@vfu.cz

ANTIMIKROBIÁLNA AKTIVITA STRIEBORNÝCH NANOČASTÍC SYNTETIZOVANÝCH S POUŽITÍM EXTRAKTU Z LEVANDUĽOVÝCH LISTOV

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SILVER NANOPARTICLES SYNTHESIZED USING LAVENDER LEAF EXTRACT

Ondrašovičová Silvia[1], Zigo František [2], Farkašová Zuzana [2], Zahumenská Jana [3], Velgosová Oksana [4], Mačák Lívia [4]

[1] Katedra biológie a fyziológie, [2]Katedra výživy a chovu zviera, [3]Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81, Košice Slovenská republika, [4]Ústav materiálov a inžinierstva kvality, Fakulta materiálov, metalurgie a recyklácie, Technická univerzita v Košiciach, Letná 9/A, 042 00 Košice, Slovenská republika

ABSTRACT

The green synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) using various plant parts has demonstrated significant potential in applications for human and veterinary medicine. This study aimed to determine the antibacterial ability of silver nanoparticles derived from dry lavender leaves (Lav-AgNPs) against bovine mastitis. The study included experiments on presenting a new process for synthesizing silver nanoparticles using lavender leaves (*Lavandula angustifolia*) as a reducing agent and stabilizer. The prepared Lav-AgNPs has a spherical shape with an average size of 20 nm. Antimicrobial efficacy testing demonstrates promising results, with the largest bacterial inhibitory zone observed against *Streptococcus uberis* measuring 11 mm. This study highlights the potential of silver nanoparticles synthesized by lavender leaves extract as an alternative approach to addressing bovine mastitis.

Key words: silver nanoparticles, lavender leaves, milk, mastitis

ÚVOD

Nanotechnológie predstavujú modernú oblasť vedy, ktorá sa zaoberá syntézou a aplikáciou nanočastíc s definovanou veľkosťou 1-100 nm. Rozsiahle štúdie nanočastíc sa zameriavajú na ich jedinečné fyzikálno-chemické vlastnosti ako sú antibakteriálne, katalytické, optické, vodivostné a magnetické (Bharathi et al. 2015; Murugan a Shanmugasundaram, 2014).

Biosyntéza AgNPs pomocou rastlinných materiálov môže zabrániť nadmernému používaniu toxických chemikálií, preto sa ukazuje byť ekonomicky výhodnejšia a prijateľnejšia k životnému prostrediu ako iné napr. fyzikálne a chemické postupy (Kumar et al. 2016; Shankar

et al. 2004). V dôsledku toho sa v poslednom desaťročí zvýšil dopyt po zelenej syntéze v oblasti výroby nanočastíc.

Medzi výhody rastlín, ktoré sa dajú použiť ako redukčné činidlo je, že sú rozšírené, ľahko dostupné, oveľa bezpečnejšie na manipuláciu a pôsobia ako rezervoáre niekoľkých metabolitov (Balaprasad et al., 2005).

Komplexné zloženie rastlín predstavuje výzvu pri identifikácii konkrétnych zložiek zodpovedných za redukciu a stabilizáciu nanočastíc. Podľa existujúcich štúdií realizovaných Priva et al., (2016), Ballottin et al., (2016), a Ullah et al., (2020) výroba nanočastíc pomocou biologických materiálov naznačuje, že proteíny a flavonoidy majú významnú úlohu pri ich redukcii a stabilizácii. Využitie biologickej syntézy na výrobu AgNPs z rastlinných zdrojov prináša nové možnosti v oblasti ekologicky prijateľných a udržateľných technológií (Al Sufyani et al. 2019; Bihal et al., 2023).

Cieľom tejto práce bolo preskúmať potenciálne použitie extraktu levanduľových listov pri syntéze strieborných nanočastíc (AgNPs) na veterinárne účely, najmä pri liečbe mastitídy u dojníc.

MATERIÁL A METODIKA

Príprava extraktu a koloidu AgNPs

Listy levandule boli nazbierané z areálu TUKE v Košiciach, Slovensko, špeciálne počas sezóny kvitnutia v júli. Dusičnan strieborný ($AgNO_3$, 99,8 %) bol zakúpený od spoločnosti Penta Chemical Unlimited. Pre prípravu roztokov, riedenia a umývania sa používala deionizovaná voda. Listy levandule boli dvakrát premyté deionizovanou vodou a potom vysušené pri teplote 45 °C. Vysušené listy boli rozdrvené v mažiari a následne zmiešané so 100 ml deionizovanej vody. Zmes bola vložená do vodného kúpeľa, pričom teplota bola udržiavaná pri 70 a 80 °C po dobu 10 minút. Teplotný rozsah bol zvolený na uľahčenie účinnej extrakcie prírodných chemických zlúčenín prítomných v bunkách rastlín. Následne bola zmes ochladená na teplotu okolia a tuhá zložka bola prefiltrovaná cez filtračný papier. Roztok, ktorý prešiel cez filter, bol podrobený centrifugácii pri rýchlosti 9000 otáčok za minútu po dobu 30 minút. Koloidný roztok (Lav+AgNPs) pripravený týmto spôsobom bol skladovaný v chladničke.

Charakterizácia AgNPs

Koloidné roztoky pripravených AgNPs boli skúmané pomocou UV-vis spektrofotometra (konkrétne, UNICAM UV-vis Spektrofotometer UV4). Vzorky boli testované v rozsahu vlnových dĺžok od 350 do 700 nm. Ako kontrola bol použitý vodný roztok s pomerom H_2O k extraktu 5:1. Rozmery a štruktúra nanočastíc boli analyzované pomocou transmisnej

elektrónovej mikroskopie (TEM) model JEOL JEM-2000FX s akceleračným napätím 200 kV. Skúmanie distribúcie veľkosti Ag nanočastíc bolo analyzované pomocou softvéru na analýzu obrázkov (ImageJ, verzia 1.53t). FTIR analýza slúžila na identifikáciu jednotlivých zložiek biozložky na identifikáciu funkčných skupín, ako sú fenoly, flavonoidy, peptidy, proteíny a ďalšie zlúčeniny.

Dojenie a vyšetrenie dojníc

Experiment bol uskutočnený na farme hovädzieho dobytka na východnom Slovensku. Do štúdie bolo zaradených 300 kusov dojníc holštýnského dobytka. Počas celej štúdie sa celkovo 250 dojníc dojilo dvakrát denne o 5:00 a 16:00 hod. v paralelnej dojárni s kapacitou 2 × 12 (BouMatic). Pred procesom dojenia boli vzorky mlieka získané z každej štvrťky vemena a vyšetrené senzoricky pomocou pohára s dvojitým dnom. Postup dezinfekcie strukov spočíval v aplikácii peniaceho roztoku s názvom G-Mix Power, ktorý obsahuje oxid chloričitý (Agromont, Nitra, Slovensko). Potom sa struky vysušili pomocou jednorazovej papierovej utierky. Po ukončení automatického dojenia s prietokom mlieka pod 0,2 l/min boli struky dezinfikované pomocou roztoku Power Blue Mix (Agromont, Nitra, Slovensko), na báze kyseliny mliečnej.

Pred samotným odberom sme komplexne vyšetrili všetkých 250 dojníc, pričom vyšetrenie zahŕňalo klinické vyšetrenie celkového zdravotného stavu, adspekciu a palpáciu vemien. Štvrťové vzorky mlieka boli odoberané na začiatku dojenia po dezinfekcii ceckov a vizuálnej kontrole prvých strekov mlieka. Získané vzorky mlieka boli analyzované senzorickým hodnotením a hodnotené pomocou Kalifornského testu na detekciu mastitídy (CMT) podľa Tančina (2013). Laboratórna diagnostika bakteriálnych patogénov podľa štandardov stanovených Národnou radou pre mastitídu (2001) zahŕňala vyšetrenie 92 vzoriek mlieka na prítomnosť bakteriálnych infekcií vemena. Toto vyšetrenie bolo založené na pozitívnom skóre CMT v rozmedzí od 1 do 3.

Kultivácia vzorky a detekcia patogénu vemena

Každá vzorka mlieka (0,2 ml), bola rovnomerne rozdelená na platne s Columbia agarom, doplneného o 5 % ovčej krvi od Oxoid Ltd, UK. Platne sme inkubovali pri 37 °C a po dobu 24 hodinách. Na presnejšiu identifikáciu bakteriálnych patogénov boli následne použité selektívne kultivačné média, (Edwards agar, Stafylokokové médium č. 110 a MacConkey Agar (Oxoid, Ltd., Basingstoke, Hants, UK. Následne sa vykonali testy na zistenie katalázovej aktivity, hemolýzy, produkcie pigmentu, koagulázy a farbenie podľa Grama, podľa Malinowski a kol. (2006). Identifikácia druhov bola vykonaná s využitím biochemických testov

STAPHYtest 24, STREPTOtest 24 alebo ENTEROtest 24. Konečné hodnotenie bolo uskutočnené pomocou programu TNW ProAuto 7.0 (Erba-Lachema, Brno, CZ) s funkciou identifikácie druhov.

In vitro hodnotenie antimikrobiálnych účinkov Lav+AgNP proti mastitíde hovädzieho dobytka

Antibakteriálna účinnosť Lav+AgNPs proti určitým patogénom vemena, ako je referenčnému kmeňu *S. aureus* CCM 4750, ktoré sú hlavnými činiteľmi zodpovednými za mastitídu hovädzieho dobytka, bola hodnotená pomocou difúznej metódy. Pomocou biochemických testov sme vybrali šesť izolátov *S. aureus*, *S. chromogenes*, *S. haemolyticus* a *Str. uberis*, ako aj referenčný kmeň *S. aureus* CCM 4750.

Identifikácia antimikrobiálnej citlivosti u určitých patogénov vemena

In vitro citlivosť patogénov bola skúmaná voči 10 antibiotikám. Testy citlivosti boli vykonané na 22 izolátoch *S. chromogenes*, 14 izolátoch *S. aureus*, 9 izolátoch *S. haemolyticus*, 8 izolátoch *Str. uberis* a referenčnom kmeni *S. aureus* CCM 4750 z Českej zbierky mikroorganizmov v Brne, Česká republika. Testy sa uskutočňovali na Mueller Hinton agare pomocou štandardného postupu diskovej difúzie (CLSI, 2018). Antibiotické disky použité v tejto štúdii boli penicilín (PEN; 10 µg), ampicilín (AMP; 10 µg), amoxicilín (AMC; 10 µg), amoxicilín + kyselina klavulanová (AXC; 20/10 µg), ceftiofur (CEF; µg), oxacilín (OXA; 1 ug), cefoxitín (CFX; 30 ug), ciprofloxacín (CPR; 5 ug), linkomycín (LNC; 15 ug), neomycín (NMC; 10 ug), novobiocín (NVB; 5 ug), rifaximín (RFX; 15 ug), streptomycín (STR; 10 ug) a tetracyklín (TET; 30 ug). Priemer inhibičnej zóny bol kvantifikovaný v milimetroch a analyzovaný na základe vopred stanovených parametrov. Šírky inhibičných zón boli hodnotené pomocou CLSI breakpointov (2021) na určenie citlivosti, strednej rezistencie alebo úplnej rezistencie. Kontrolou použitou pri skúmaní bol kmeň *S. aureus* CCM 4750 získaný z Českej zbierky mikroorganizmov v Brne, Česká republika. Výber antimikrobiálnych látok je daný rozsahom intramamárnych liekov, ktoré sú na Slovensku dostupné na liečbu mastitíd.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky naznačujú, že medzi najčastejšie etiologické agensy spôsobujúce mastitídu u kráv patrili non-aureus stafylokoky (NAS), *S. aureus* a *Str. uberis* (tabuľka 1). Význam stafylokokov v oblasti mastitídy a verejného zdravia rastie. Keďže mlieko tiež poháňa globálnu ekonomiku a je dôležitým zdrojom príjmov pre malých, stredných a veľkých výrobcov, mastitída hovädzieho dobytka spôsobená *S. aureus* a NAS má veľký ekonomický dopad. Spôsobuje ekonomické straty znížením výnosu, výdavkami spojenými s veterinárnymi

nákladmi a usmrcovaním zvierat. Je to však aj problém verejného zdravia, ktorý sa týka zdravia zvierat a ich dobrých životných podmienok, zdravia ľudí a ekosystému (Pyörälä a Taponen, 2009).

Tabuľka 1. Hodnotenie CMT a zastúpenie patogénov vemena

	Počet vyšetrených vzoriek (n=1000)	**%**
Negatívne	908	*91*
CMT výsledok 1 - 3	92	*9*
Infikované	62	*6*
Patogény vemena	**Počet izolátov (n=62)**	**%**
S. chromogenes	*22*	*35*
S. aureus	*14*	*23*
S. haemolyticus	*9*	*15*
Str. uberis	*8*	*13*
E. coli	*4*	*7*

Poslednú dobu sa non-aureus Staphylococci (NAS) stali dôvodom obáv pre producentov mlieka, pretože sa pozoruje ich potenciál ako patogénov pre mastitídy. Ich prevládajúcu izoláciu možno vysvetliť skutočnosťou, že NAS sú patogény prispôsobené na prežitie u kráv a môžu sa nachádzať v mliečnej žľaze chorých alebo zdravých zvierat; pričom niektoré druhy sú tiež odolnejšie voči antibiotikám ako *S. aureus* (Supre et al., 2011).

U 45 izolátov stafylokokov a 8 izolátov *Str. uberis*, bola testovaná in vitro rezistencia voči 10 antibiotikám štandardnou diskovou difúznou metódou (tabuľka 2). Vo všeobecnosti sa preukázala nízka rezistencia voči tetracyklínu, amoxicilínu posilnenému kyselinou klavulanovou, rifaximínu a ciprofloxacínu. Získané výsledky uvedené v tabuľke 3 ukazujú, že rezistencia *S. aureus* a NAS, najmä voči aminoglykozidom a β-laktámom, naznačuje trend nárastu multi-antimikrobiálne rezistentných patogénov v monitorovaných chovoch dojníc. Na druhej strane testovaný *Str. uberis* vykazoval rezistenciu na gentamicín a streptomycín.

Tabuľka 2. Antimikrobiálna rezistencia vybraných patogénov vemena izolovaných zo vzoriek mlieka od dojníc s mastitídou

Bakteriálny kmeň (n=53)	***S. aureus*** (n=14)		***S. chromogenes*** (n=22)		***S. haemolyticus*** (n=9)		***Str. uberis*** (n=8)	
Antibiotikum/rezistencia	%	n	%	n	%	n	%	n
Penicilín	*50*	7	*41*	9	*44*	4	*25*	2
Amoxicilín	*50*	7	*36*	8	*33*	3	*25*	2
Ampicilín	*42*	6	*36*	8	*44*	4	*25*	2
Ampicilín + sulb.	*7*	1	*9*	2	*0*	0	*0*	0
Rifaximín	*14*	2	*9*	2	*0*	0	*13*	1
Linkomycín	*29*	4	*14*	3	*11*	1	*25*	2
Ciprofloxacín	*14*	2	*14*	3	*0*	0	*13*	1
Gentamycín	*29*	4	*9*	2	*22*	2	*50*	4
Streptomycín	*29*	4	*23*	5	*22*	2	*50*	4
Tetracyklín	*14*	2	*5*	1	*0*	0	*25*	2

Spektrum koloidného roztoku AgNP, ktorý bol vytvorený pomocou extraktu získaného zo sušených listov levandule, bolo analyzované pomocou UV-vis spektrofotometra. Spektrum vykazuje maximálnu absorpciu pri 424 nm, čo je charakteristická vlastnosť sférických nanočastíc striebra.

Tabuľka 3. Veľkosť bakteriálnej inhibičnej zóny (mm)

Koncentrácia	SA ref.	SA	SH	SCH	Str. U
H_2O	0	0	0	0	0
ATB	19	16	30	14	26
50 ppm *Lav+AgNPs*	0	0	7	6	5
100 ppm *Lav+AgNPs*	7	5	8	9	10
150 ppm *Lav+AgNPs*	8	7	10	10	11
200 ppm *Lav+AgNPs*	9	8	10	10	11

Vysvetlivky: H_20 –voda ako negatívna kontrola, ATB – gentamycín, SA ref. - reference strain of *Staphylococcus aureus*, SA - *Staphylococcus aureus*, SH - S. *haemolyticus*, SCH - *S. chromogenes*, Str. U – *Streptococcus uberis*

Rozmery a tvar AgNPs boli analyzované pomocou TEM. Analýza TEM potvrdila prítomnosť sférických nanočastíc. Analýza distribúcie veľkosti AgNPs potvrdila, že približne 81 % mala priemer veľkosti približne 20 nm.

Lav+AgNPs, ktoré boli produkované biosyntézou, vykazovali antibakteriálne vlastnosti proti gramnegatívnym baktériám, ktoré sú rezistentné voči mnohým liekom (tabuľka 3).

Antibakteriálna účinnosť Lav+AgNPs sa hodnotila pri koncentráciách 50, 100, 150 a 200 ppm. So zvýšením koncentrácie Lav+AgNPs došlo k zodpovedajúcemu zvýšeniu baktericídnej účinnosti, čo viedlo k zväčšeniu priemeru antibakteriálnej zóny (tabuľka 3).

ZÁVER

Biosyntetizované Lav+AgNPs vykazovali antibakteriálnu aktivitu voči multirezistentným gramnegatívnym baktériám. Použitie metód biologickej syntézy využívajúcich rastliny na prípravu Lav+AgNPs ukazuje perspektívne možnosti v ekologických a udržateľných technológiách. Táto technika výroby nanočastíc je efektívna z hľadiska času a nákladov a zároveň je šetrná k životnému prostrediu.

Nanočastice Lav+AgNPs preukázali účinnosť ako antibakteriálne činidlá proti patogénom vemena zodpovedným za mastitídu u dojníc.

LITERATÚRA

1. Al Sufyani, N.M., Hussien, N.A., Hawsawi, Y.M. 2019. Characterization and Anticancer Potential of Silver Nanoparticles Biosynthesized from Olea chrysophylla and Lavandula dentata Leaf Extracts on HCT116 Colon Cancer Cells. In *J. Nanomater*, 7361695.
2. Ballottin, D., Fulaz, S., Souza, M.L., Corio, P., Rodrigues, A.G., Souza, A.O., Tasic, L. 2016. Elucidating Protein Involvement in the Stabilization of the Biogenic Silver Nanoparticles. In *Nanoscale Res. Lett*. vol. 11, pp. 313.
3. Balaprasad, A., Damle, C., Ahmad, A., Murali, S. 2005. Biosynthesis of gold and silver nanoparticles using Emblica officinalis fruit extract, their phase transfer and trans metallation in an organic solution. In *J. Nanosci. Nanotechnol*. vol. 5, pp. 1665–1671.
4. Bharathi, S.V., Ahmad, A., Tajo, S.M. 2015. Silver Nanoparticle Synthesis Using C. Caesia and C. Amada Rhizome Extract. In *International Journal of Pharm Tech Research*, vol. 8, No.7, pp. 142-145.
5. Bihal, R., Al-Khayri, J.M., Banu, A.N., Kudesia, N., Ahmed, F.K., Sarkar, R., Arora, A., Abd-Elsalam, K.A. 2023. Entomopathogenic Fungi: An Eco-Friendly Synthesis of Sustainable Nanoparticles and Their Nanopesticide Properties. In *Microorganisms*, vol. 11, pp. 1617.
6. CLSI document M2–A13. 2018. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, Thirteenth informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA: 92 p.
7. CLSI document M100–S31. 2021. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Thirty–first informa-tional supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA. 350 p.
8. Kumar, B., Smita, K., Cumbal, L., Camacho, J., Hernández-Gallegos, E., Chávez-López, M.G., Grijalva, M., Andrade, K. 2016. One pot phytosynthesis of gold

nanoparticles using Genipa americana fruit extract and its biological applications. In *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 62, pp. 725–731.

9. Malinowski, E., Lass,a H., Klossowska, A., Smulski, S., Markiewiecz, H., Kaczmarowski, M. 2006. Etiological agents of dairy cows' mastitis in western part of Poland. In *Polish Journal Veterinary Sciences*, vol. 9, pp. 191-194.
10. Murugan, M., Shanmugasundaram, K.K. 2014. Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using the aqueous of vitex Negundo, Linn. In *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences,* vol. 3, Issue 8, pp. 1385-1393.
11. NMC. 2001. National mastitis council. *National Mastitis Council Recommended Mastitis Control Program.* Natl. Mastitis Counc. Ann. Mtg. Proc., Reno, NV. Natl. Mastitis Counc., Inc., Verona, WI. 408 p.
12. Priya, R.S., Geetha, D., Ramesh, P.S. 2016. Antioxidant activity of chemically synthesized AgNPs and biosynthesized Pongamia pinnata leaf extract mediated AgNPs-A comparative study. In *Ecotoxicol. Environ. Saf*. vol. 134, pp. 308–318.
13. Pyörälä, S., Taponen, S. 2009. Coagulase-negative staphylococci - Emerging mastitis pathogens. In *Veterinary Microbiology*, vol. *134*, pp. 3-8.
14. Shankar, S.S., Rai, A., Ahmad, A., Sastry, M. 2004. Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using Neem (Azadirachta indica) leaf broth. In *J. Colloid Interface Sci*. vol. 275, pp. 496–502.
15. Supre, K., Haesebrouck, F., Zadoks, R.N., Vaneechoutte, M., Piepers, S., De Vliegher, S. 2011. Some coagulase-negative *Staphylococcus* species affect udder health more than others. In *J. Dairy Sci*. *vol. 94*, 2329-2340.
16. Tančin, V. 2013. Somatic cell counts in milk of dairy cows under practical conditions. *Slovak Journal of Animal Science*, vol. 46, pp. 31-34.
17. Ullah, A., Munir, S., Badshah, S.L., Khan, N., Ghani, L., Poulson, B.G., Jaremko, M. 2020. Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. In Molecules, vol. 25, 5243.

POĎAKOVANIE

Štúdia vznikla vďaka podpore Agentúry na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-22-0457 and SK-PL-23-0066.

Kontaktná osoba: Silvia Ondrašovičová, MVDr. PhD., Katedra biológie a fyziológie, UVLF v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, E- mail: silvia.ondrasovicova@uvlf.sk

VÍRUS HEPATITÍDY E – POTRAVINAMI PRENÁŠANÝ PATOGÉN

HEPATITIS E VIRUS – FOODBORNE PATHOGEN

Pavlová Alica, Kočíková Božena, Urda Dolinská Michaela, Vilček Štefan, Jacková Anna

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

ABSTRACT

Hepatitis E virus (HEV) is the causative agent of viral hepatitis E, an important disease in the human population. In Europe, most cases are caused by the zoonotic genotype HEV-3, which is mainly transmitted through the consumption of undercooked meat and meat products. The aim of this study was to determine the occurrence of HEV RNA in liver tissue and meat products. A total of 172 samples from various retail chains in Slovakia were examined. HEV RNA was not detected by reverse transcription quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) in all of the investigated samples. Selected samples (n = 85) were also examined by reverse transcription droplet digital polymerase chain reaction (RT-ddPCR) and concentration of HEV ranged from 0,08 to 5,8 copies/µl was observed. Different food samples may contain RT-qPCR inhibitors, which can lead to false negative results. The RT-ddPCR method is less sensitive to the presence of inhibitors and can be used to quantify even low concentration of pathogen nucleic acids.

Key words: hepatitis E virus, zoonosis, liver, meat product, quantification

ÚVOD

Vírus hepatitídy E (HEV) je malý, neobalený vírus, taxonomicky zaradený do čeľade *Hepeviridae*, rodu *Paslahepevirus* (Purdy et al., 2022). HEV je pôvodcom vírusovej hepatitídy E (VHE) u ľudí – za posledné desaťročie bolo v Európe zaznamenaných viac ako 20 000 prípadov tohto ochorenia. Doposiaľ bolo identifikovaných 8 genotypov HEV, päť z nich vyvoláva infekciu v humánnej populácii. Genotypy HEV-1 a HEV-2 sú obligátnymi ľudskými patogénmi, HEV-3, HEV-4 a HEV-7 sú zoonotické (Locus et al., 2023).

Väčšina prípadov VHE v Európe je spôsobená zoonotickým genotypom HEV-3. Priebeh ochorenia je variabilný, infekcia býva zväčša asymptomatická, ale vyskytuje sa aj ťažká akútna alebo chronická forma infekcie. Medzi významné faktory prejavu ochorenia patria preexistujúce chronické ochorenia pečene, vek nad 50 rokov a taktiež diagnózy ovplyvňujúce imunitný status pacienta (Peeters et al., 2022).

Ošípané a diviaky sú považované za hlavných rezervoárov zoonotického genotypu HEV-3, no prítomnosť vírusu bola zistená aj v populáciach domácich a voľne žijúcich prežúvavcov a králikov (Spahr et al., 2018; Klink et al., 2023). Za hlavnú cestu prenosu tohto genotypu sa považuje konzumácia nedostatočne tepelne upraveného mäsa a mäsových výrobkov. Vírusová RNA je najčastejšie detegovaná v bravčovej pečeni, krvi a svalovine, avšak prítomnosť bola zaznamenaná aj v pečeňových paštétach, pečeňových klobásach a surových sušených klobásach (Di Bartolo et al., 2012; Boxman et al., 2020; Locus et al., 2023). Prevalencia vírusu v potravinových výrobkoch sa líši v rámci rôznych krajín Európy a mnohé faktory ako je riziko prenosu HEV týmito potravinami, jeho kvantifikácia a kumulácia v organizme, nie sú doposiaľ dostatočne preskúmané.

Jednou z najčastejšie využívaných metód detekcie HEV je real-time PCR s reverznou transkripciou (RT-qPCR), ktorá sa hodnotí na základe prahového cyklu (Ct) a umožňuje relatívnu kvantifikáciu (Mykytczuk et al., 2017). Priebeh PCR však môže byť ovplyvnený prítomnosťou inhibičných látok vo vzorkách a tiež metódami použitými pri izolácii nukleových kyselín. Z týchto dôvodov sa čoraz častejšie využíva tretia generácia PCR, droplet digital PCR (ddPCR), ktorá umožňuje absolútnu kvantifikáciu nukleových kyselín vo vzorkách rôzneho charakteru (Wang et al., 2015). Vzorka je rozdelená na približne 20 000 dropletov a amplifikácia vybranej nukleovej kyseliny prebieha súčasne a nezávisle v jednotlivých dropletoch. Po amplifikácii je stanovený počet pozitívnych a negatívnych dropletov a pôvodná koncentrácia cieľového templátu nukleovej kyseliny je získavaná pomocou Poissonovej štatistiky (Low et al., 2017). V porovnaní s qPCR je ddPCR menej citlivá na prítomnosť PCR inhibítorov, umožňuje absolútnu kvantifikáciu a vykazuje lepšie výsledky pri opakovanej amplifikácii vzoriek s nízkou koncentráciou nukleových kyselín (Cherkaoui et al., 2021).

Táto práca bola zameraná na detekciu RNA HEV vo vzorkách pečene viacerých druhov zvierat a v mäsových výrobkoch z obchodných reťazcov na Slovensku metódou RT-qPCR. Vo vybraných vzorkách bola vykonaná detekcia RNA HEV aj metódou droplet digital PCR s reverznou transkripciou (RT-ddPCR).

MATERIÁL A METODIKA

Celkovo bolo analyzovaných 172 vzoriek bravčových, králičích a diviačich pečení a mäsových výrobkov z rôznych obchodných reťazcov na Slovensku, v spolupráci s RVPS Poprad. Odber vzoriek bol realizovaný od roku 2022 do roku 2024. Odobraté vzorky boli do laboratória doručené v čerstvom stave a po príchode boli okamžite spracované, alebo uskladnené pri -80 °C až do analýzy.

Celková RNA zo vzoriek bola izolovaná pomocou RNeasy Fibrous Tissue Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany) za použitia automatického robotického prístoja QIAcube (Qiagen GmbH, Hilden, Germany) podľa manuálu výrobcu. RNA bola rozpustená v 50 µl RNAse free vode (Qiagen GmbH, Hilden, Germany) a bola hneď použitá na analýzu, alebo uchovaná pri -80 °C.

Vzorky boli vyšetrené na prítomnosť RNA HEV pomocou RT-qPCR podľa Jothikumar et al. (2006). Všetky vzorky boli vyšetrované v dupletoch. RT-qPCR bola uskutočnená s použitím iTaq Universal Probes One-Step Kit (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA). Reakčná zmes (20 µl) bola zložená z izolovanej RNA, iTaq Universal Probes Reaction Mix, reverznej transkriptázy iScript, špecifických primerov a próby podľa Jothikumar et al. (2006). RT-qPCR sa uskutočnila s použitím prístroja Bio-Rad CFX Opus 96 Real-time PCR system (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA). Výsledkom RT-qPCR bola hodnota Ct.

Vybrané vzorky (n = 85) boli následne vyšetrené na prítomnosť HEV pomocou metódy RT-ddPCR s použitím One-Step RT-ddPCR Kit for Probes (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA). Všetky vzorky boli vyšetrované v tripletoch. Reakčná zmes (22 µl) bola zložená z izolovanej RNA, Supermixu, DTT, reverznej transkriptázy, špecifických primerov a próby podľa Jothikumar et al. (2006). Z takto pripraveného mixu a 70 µl Droplet Generation Oil for Probes (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA) boli v prístroji QX200™ Droplet Generator (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA) vyrobené droplety. Tie boli prenesené do 96-jamkovej PCR platničky (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA) a následne uzavreté pomocou PX1™ PCR Plate Sealer (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA). Na amplifikáciu bol použitý T100™ Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA). Cieľový produkt amplifikácie bol čítaný v QX200™ Droplet Reader (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA) a kvantifikovaný pomocou QuantaSoft™ Software (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri detekcii RNA HEV pomocou RT-qPCR boli všetky vyšetrované vzorky negatívne. Vo vybraných negatívnych vzorkách (n = 85) boli metódou RT-ddPCR stanovené koncentrácie RNA HEV (kópie/µl). Vo vyšetrených bravčových pečeniach boli zaznamenané kópie v rozmedzí od 0,1 do 1,0 kópií/µl, v králičích pečeniach od 0,1 do 5,8 kópií/µl; v diviačich pečeniach od 0,08 do 0,57 kópií/µl; v klobásach od 0,1 do 0,7 kópií/µl a v pečeňových paštétach od 0,08 do 0,78 (Tabuľka č. 1).

Tabuľka č. 1, Detekcia RNA HEV vo vzorkách pečení a v mäsových výrobkoch na Slovensku

Druh testovaných vzoriek	Počet testovaných vzoriek RT-qPCR	HEV RNA (Ct<40)	Počet testovaných vzoriek RT-ddPCR	HEV RNA kópie/µl
Bravčová pečeň	55	0	25	0,1 – 1,0
Králičia pečeň	24	0	10	0,1 – 5,8
Diviačia pečeň	10	0	10	0,08 – 0,57
Klobása	40	0	20	0,1 – 0,7
Pečeňová paštéta	43	0	20	0,08 – 0,78

Táto štúdia poskytuje informácie o výskyte RNA HEV vo vzorkách pečení a v mäsových výrobkoch predávaných v obchodných reťazcoch na Slovensku. V doposiaľ vyšetrených vzorkách metódou RT-qPCR nebola detegovaná prítomnosť RNA HEV. Vzorky potravín ale môžu obsahovať veľmi nízke koncentrácie vírusu a tiež rôzne inhibičné látky, ktoré negatívne ovplyvňujú priebeh PCR. Detekcia vírusu pomocou RT-ddPCR poukázala na prítomnosť kópií HEV v niekoľkých vzorkách, najvyššia koncentrácia (5,8 kópií/µl) bola zaznamenaná vo vzorke králičej pečene. Pre správnu interpretáciu nami dosiahnutých výsledkov bude nutné určiť limit detekcie a limit kvantifikácie, ktoré umožnia rozlíšiť hodnoty, pri ktorých budú vzorky považované za pozitívne.

Prítomnosť RNA HEV v bravčových, diviačich a králičích pečeniach, ako aj v mäsových výrobkoch sa značne líši v rôznych krajinách Európy. Prevalencia RNA HEV v bravčových pečeniach z obchodných reťazcov bola relatívne nízka, v Nemecku (4 %), Holandsku (6,5 %), Taliansku (6 %), Španielsku (3 %) aj v Českej republike (5 %) (Bouwknegt et al., 2007; Wenzel et al., 2011; Di Bartolo et al., 2012). Prevalencia RNA HEV v diviačich pečeniach naopak dosiahla pomerne vysoké hodnoty, v Nemecku (38,1 %), Taliansku (10,87 %) a Litve (25,56 %) (Spancerniene et al., 2018; Fanelli et al., 2021; Ferri et al., 2023). V štúdii z Francúzska dosiahla prevalencia RNA HEV v pečeni chovných králikov len 7 %, naopak v populácii voľne žijúcich králikov až 23 %, v Nemecku taktiež u voľne žijúcich králikov až 17,1 % (Izopet et al., 2012; Hammerschmidt et al., 2017).

Prítomnosť RNA HEV bola zaznamenaná aj v rôznych druhoch mäsových výrobkov. Výskyt HEV bol zaznamenaný v klobásach s obsahom bravčovej pečene „Figatelli“ na Korzike, v surových bravčových klobásach v Holandsku, v pečeňových paštétach a sušených šunkách v Belgicku (Renou et al., 2014; Boxman et al., 2020; Locus et al., 2023). V niektorých mäsových výrobkoch (sušených klobásach) RNA HEV detegovaná nebola, čo uvádza belgická štúdia (Locus et al., 2023).

Zo štúdií vyplýva, že HEV môže vykazovať určitú odolnosť voči výrobným procesom ako je fermentácia, sušenie a solenie, ktoré sa využívajú pri spracovávaní rôznych druhov mäsových výrobkov (Wolff et al., 2022). Pri izbovej teplote zostáva vírus infekčný až po dobu 28 dní (Johne et al., 2016). Najúčinnejším spôsobom inaktivácie vírusu zostáva pôsobenie vysokých teplôt, 71 °C počas 20 minút (Barnaud et al., 2012).

Mäsové výrobky prechádzajú rôznymi technologickými úpravami, môžu obsahovať rôzne druhy korenia a môžu byť vyrobené z jatočných produktov, pochádzajúcich od viacerých zvierat. Zo štúdií vyplýva, že HEV je v takýchto vzorkách distribuovaný heterogénne, a preto je nutné vyšetriť väčší počet vzoriek, čo umožní rozšíriť poznatky o výskyte HEV v mäsových výrobkoch na Slovensku.

ZÁVER

Táto štúdia predstavuje prvú detekciu RNA HEV v pečeniach ošípaných, králikov, ako aj v mäsových výrobkoch z rôznych obchodných reťazcov v rámci Slovenska. Vyšetrované vzorky boli negatívne na prítomnosť RNA HEV metódou RT-qPCR, metódou RT-ddPCR ale boli detegované nízke koncentrácie vírusu. Je potrebné určiť limit detekcie a kvantifikácie vírusovej RNA pre nami detegovaný vírus, štúdiu doplniť o väčší počet vyšetrených vzoriek a v pozitívnych vzorkách kvantifikovať koncentráciu vírusu.

POĎAKOVANIE

Táto publikácia vznikla s podporou projektu VEGA 1/0220/24.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BARNAUD, E. et al. Thermal inactivation of infectious hepatitis E virus in experimentally contaminated food. In *Applied and Environmental Microbiology*. ISSN 1098-5336, 2012, vol. 78, p. 5153-5159.
2. BOUWKNEGT, M. et al. Hepatitis E virus RNA in commercial porcine livers in The Netherlands. In *Journal of Food Protection*. ISSN 1944-9097, 2007, vol. 70, no. 12, p. 2889-2895.

3. BOXMAN, I. L. A. et al. Detection and quantification of hepatitis E virus RNA in ready to eat raw pork sausages in the Netherlands. In *International Journal of Food Microbiology*. ISSN 1879-3460, 2020, vol. 333.
4. DI BARTOLO, I. et al. Hepatitis E virus in pork production chain in Czech Republic, Italy, and Spain. In *Emerging Infectious Diseases*. ISSN 1080-6059, 2012, vol. 18, no. 8, p. 1282-1289.
5. FANELLI, A. et al. A systematic review and meta-analysis of hepatitis E virus (HEV) in wild boars. In *Research in Veterinary Science*. ISSN 1532-2661, 2021, vol. 142, p. 54-69.
6. FERRI, G. et al. Hepatitis E Virus RNA Detection from Hunted Wild Boars in Central Italy: an Epidemiological Investigation. In *Food and Environmental Virolology*. ISSN 1867-0342, 2023, vol. 15, no. 2, p. 158-166.
7. HAMMERSCHMIDT, F. et al. Hepatitis E virus in wild rabbits and European brown hares in Germany. In *Zoonoses and Public Health*. ISSN 1863-2378, 2017, vol. 64, no. 8, p. 612-622.
8. CHERKAOUI, D. et al. Harnessing recombinase polymerase amplification for rapid multi-gene detection of SARS-CoV-2 in resource-limited settings. In *Biosensors & Bioelectronic*. ISSN 1873-4235, 2021, vol. 189, p. 1-11.
9. IZOPET, J. et al. Hepatitis E virus strains in rabbits and evidence of a closely related strain in humans, France. In *Emerging Infectious Diseases*. ISSN 1080-6059, 2012, vol. 18, no. 8, p. 1274-1281.
10. JOHNE, R. et al. Thermal stability of hepatitis E virus as estimated by a cell culture method. In *Applied and Environmental Microbiology*. ISSN 1098-5336, 2016, vol. 82, p. 4225-4231.
11. 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.
12. KLINK, P. et al. Molecular characterisation of a rabbit Hepatitis E Virus strain detected in a chronically HEV-infected individual from Germany. In *One Health*. ISSN 2352-7714, 2023, vol. 16, p. 1-8.
13. LOCUS, T. et al. Hepatitis E virus in pork meat products and exposure assessment in Belgium. In *International Journal of Food Microbiology*. ISSN 1879-3460, 2023, vol. 16, p. 1-9.

14. LOW, H. et al. Clarity digital PCR system: a novel platform for absolute quantification of nucleic acids. In *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. ISSN 1618-2650, 2017, vol. 409, no. 7, p. 1869-1875.
15. MYKYTCZUK, O. et al. Prevalence and molecular characterization of the hepatitis E virus in retail pork products marketed in Canada. In *Food and Environmental Virology*. ISSN 1867-0342, 2017, vol. 9, p. 208-218.
16. PEETERS, M. et al. Viral clade is associated with severity of symptomatic genotype 3 hepatitis E virus infections in Belgium, 2010–2018. In *Journal of Hepatology*. ISSN 1600-0641, 2022, vol. 77, no. 1, p. 67-77.
17. PURDY, M. A. et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Hepeviridae* 2022. In *The Journal of General Virology*. ISSN 1465-2099, 2022, vol. 103, no. 9, p. 1-2.
18. RENOU, C. et al. Foodborne transmission of hepatitis E virus from raw pork liver sausage, France. In *Emerging Infectious Diseases*. ISSN 1080-6059, 2014, vol. 20, no. 11, p. 1945-1947.
19. SPAHR, C. et al. Hepatitis E virus and related viruses in wild, domestic and zoo animals: a review. In *Zoonoses and Public Health*. ISSN 1863-2378, 2018, vol. 65, no. 1, p. 11-29.
20. SPANCERNIENE U. et al. Prevalence and phylogenetic analysis of hepatitis E virus in pigs, wild boars, roe deer, red deer and moose in Lithuania. In *Acta Veterinaria Scandinavica*. ISSN 1751-0147, 2018, vol. 60, no. 1.
21. WANG, P. et al. Absolute quantification of lung cancer related microRNA by droplet digital PCR. In *Biosensors & Bioelectronic*. ISSN 1873-4235, 2015, vol. 74, p. 836-842.
22. WENZEL, J. et al. Detection of hepatitis E virus (HEV) from porcine livers in Southeastern Germany and high sequence homology to human HEV isolates. In *Journal of Clinical Virology*. ISSN 1873-5967, 2011, vol. 52, no. 1, p. 50-54.
23. WOLFF, A. et al. Stability of Hepatitis E Virus After Drying on Different Surfaces. In *Food and Environmental Virology*. ISSN 1867-0342, 2022, vol. 14, no. 2, p. 138-148.

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

VPLYV APLIKÁCIE PROBIOTICKÉHO KRMIVA V AKVAKULTÚRE PSTRUHA DÚHOVÉHO NA PRODUKČNÉ PARAMETRE

THE EFFECT OF THE APPLICATION OF PROBIOTIC FEED IN AQUACULTURE OF THE RAINBOW TROUT ON ITS PRODUCTION PARAMETERS

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

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

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

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

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

ABSTRACT

The expanse of aquaculture as an important tool for providing healthy food for the population carries with itself the risk of increased stress in fish. This stress can cause an increased susceptibility to various diseases which is one of the reasons why there is currently active search for novel methods of stimulating the health of fish. One of these alternative methods is the use of probiotics. In previous experiments at the University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Kosice, a strain of probiotic bacteria *Lactiplantibacillus plantarum R2* was isolated and its probiotic potential was experimentally confirmed. This experiment was performed at a fishery to observe the effect of probiotic feed in real-world use. Fish in one pen were fed feed that was enriched by probiotic bacteria and the other group received just commercial aquafeed. During the time that the fish received probiotic feed, no difference between groups was observed. However, after the diet was changed from probiotic to commercial, it was observed that fish were smaller and weighed less than fish that were fed commercial feed throughout the whole time. We observed no difference in the chemical composition of the bodies of fish. These results show the importance of a stable diet for fish and also that short-term feeding with probiotics doesn't offer the benefit of increased growth that a longer period brings. Lastly, it is important to also focus on the immune response of fish that receive probiotics as that is the main benefit of said diet.

Key words: trout, probiotics, feed

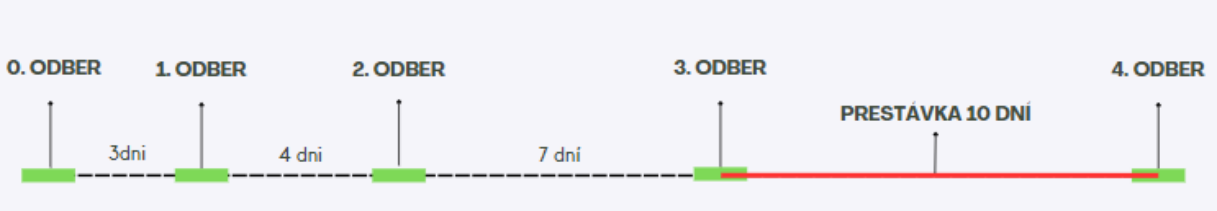
ÚVOD

Akvakultúra je dôležitým hospodárskym odvetvím, ktoré sa podieľa na napĺňaní potravinových potrieb obyvateľstva. Rozmach v oblasti chovu rýb však prináša so sebou tlak na chované zvieratá v podobe stresu. Stres môže nie len oslabiť imunitný systém ale aj narušiť rast rýb, či ich reprodukčné správanie a tiež zhoršiť produkčné parametre (Schreck, Contreras-Sanchez a Fitzpatrick, 2001; Conde-Sieira *et al.*, 2018). Vzhľadom na zákaz používania antibiotík v chovoch hospodárskych zvierat a stálemu tlaku na hľadanie alternatívnych preparátov modulujúcich zdravie rýb sa v posledných rokoch výskumy venujú probiotikám pre akvakultúru (Banerjee a Ray, 2017). Aj na pôde Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach (UVLF) bolo realizovaných niekoľko prác za účelom vývoja probiotického krmiva využiteľného v akvakultúre (Fečkaninová *et al.*, 2019; Cingeľová Maruščáková *et al.*, 2021). Tento proces po úspešnom testovaní v kontrolovaných podmienkach chovných nádrží na Mendelovej univerzite v Brne (Ratvaj *et al.*, 2023) pokračuje do fázy terénneho testovania, nakoľko špecifikom probiotík v akvakultúre ja práve vplyv na vodné prostredie, v ktorom ryby žijú, ako aj interakcia medzi prostredím a probiotickými baktériami. V tejto práci boli hodnotené produkčné parametre a zloženie mäsa rýb, ktoré boli kŕmené v žľabe probiotickým krmivom.

MATERIÁL A METODIKA

Experiment bol realizovaný na farme Rybárstvo Požehy, kde boli pstruhy dúhové (*Oncorhynchus mykiss*) chované v nádržiach s kontinuálnym prietokom vody. Ryby v jednej nádrži dostávali po celú dobu experimentu krmivo obohatené o probiotickú baktériu *Lactiplantibacillus plantarum* R2 (bližšie popísané v práci (Fečkaninová *et al.*, 2022)), pričom pri 4. odbere už 10 dní nedostávali probiotické krmivo. V druhej nádrži boli chované ryby, ktoré dostávali krmivo bez probiotických baktérii a slúžili ako kontrola. Priebeh odberov je znázornený na Obrázku č. 1. Pri každom odbere boli odobraté jedince rýb z jednotlivých nádrží (n = 50) a po prevoze boli na pôde UVLF v Košiciach podrobené analýze produkčných parametrov.

Obrázok č. 1, Schéma odberov



Zdroj: vlastný obrázok

U rýb (n = 12) z jednotlivých skupín bolo stanovované aj chemické zloženie mäsa počas 4. odberu. Základná analýza chemického zloženia rybieho mäsa (voda, uhľovodíky, bielkoviny a tuk) bola vykonaná využitím oficiálnych metód AOAC (2007).

Údaje boli štatisticky spracované softvérom GraphPad Prism 5 pomocou jednocestného ANOVA testu s doplnkovým Tukeyho testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Medzi jednotlivými skupinami rýb sme počas podávania probiotického krmiva nepozorovali signifikantné rozdiely v ich váhe, ani veľkosti. Signifikantný rozdiel sme však zaznamenali pri 4. odbere, kde došlo k poklesu hmotnosti aj veľkosti rýb v probiotickej skupine oproti kontrole (Tabuľka č.1).

Tabuľka č. 1, Vplyv aplikácie probiotického krmiva na váhu (g) a dĺžku (cm) pstruhov dúhových (n=50). ** označuje signifikantný rozdiel oproti kontrole (p<0,01).

a)

Váha (g)	**0.odber**	**1.odber**	**2.odber**	**3.odber**	**4.odber**
Kontrola	4,96 ± 1,16	5,62 ± 1,27	5,95 ± 1,27	5,75 ± 1,21	8,03 ± 1,91
Probiotiká	4,67 ± 1,09	5,44 ± 0,93	5,83 ± 1,22	5,97 ± 1,22	7,03 ± 1,07**

b)

Dĺžka (cm)	**0.odber**	**1.odber**	**2.odber**	**3.odber**	**4.odber**
Kontrola	7,92 ± 0,65	8,17 ± 0,58	8,51 ± 0,64	8,44 ± 0,57	9,02 ± 0,71
Probiotiká	7,69 ± 0,64	8,03 ± 0,40	8,29 ± 0,54	8,48 ± 0,58	8,70 ± 0,46**

Zdroj: vlastná tabuľka

To, že sme nepozorovali rozdiel medzi veľkosťami a hmotnosťami rýb môže byť spôsobené krátkosťou podávania probiotického krmiva, keďže pri dlhodobých experimentoch bolo pozorované zlepšenie rastu rýb a konverzie krmiva a tým pádom aj ekonomiky chovu (Ratvaj *et al.*, 2023). Na druhej strane, signifikantný pokles týchto parametrov nie je pozitívnym ukazateľom a pripisujeme ho stresu z prechodu na iné krmivo (Deane a Woo, 2008), keďže pri tomto odbere ryby dostávali v predchádzajúcich 10 dňoch štandardné krmivo bez probiotík. Z pohľadu účinnosti probiotík budú zaujímavé ďalšie výsledky, ktoré budú sledovať imunitnú odpoveď rýb, nakoľko zmena v tejto oblasti sa prejavuje rýchlejšie ako zmena prírastkov.

Tabuľka č. 2, Zloženie mäsa pstruhov

Vzorka	Voda (%)	Uhľovodíky (%)	Bielkoviny (%)	Tuk (%)
Kontrola	76,90 ± 0,81	1,45 ± 0,41	18,35 ± 0,66	3,00 ± 1,11
Probiotiká	76,84 ± 0,58	1,65 ± 0,28	18,77 ± 0,46	2,74 ± 0,62

Zdroj: vlastná tabuľka

V rámci hodnotenia chemického zloženia mäsa rýb sme nepozorovali signifikantné rozdiely medzi skupinami (Tabuľka č.2), čo bol predpokladaný výsledok, nakoľko probiotiká by nemali ovplyvňovať zloženie mäsa zvierat, ktorým boli podávané. Tiež by takéto probiotické preparáty nemali negatívne meniť jeho organoleptické vlastnosti. Z tohto pohľadu ide teda o pozitívny výsledok, no treba znova brať ohľad na krátkosť doby podávania probiotického krmiva. Pri dlhodobom skrmovaní by mohlo dôjsť k ovplyvneniu aj chemických vlastností mäsa (Liu *et al.*, 2022; Dong *et al.*, 2024), aj keď takéto experimenty ešte u rýb neboli vykonané.

ZÁVER

Probiotické krmivá podávané v krátkej dobe neprinášajú rastové benefity, ktoré sú s podávaním probiotík spojené. Naopak, zmeny krmiva spôsobujú rybám stres, čo môže brzdiť ich rast. Na druhej strane, netreba zabúdať, že probiotické krmivá modulujú imunitnú odpoveď, a tak prinášajú benefity hostiteľom. Prínosy aj nevýhody probiotických krmív treba dôsledne študovať a vyberať najlepšie druhy baktérií a tiež najoptimálnejšie aplikačné formy a aplikačné schémy.

POĎAKOVANIE

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

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AOAC International. Official methods of analysis of AOAC International. 18th ed., Gaithersburg : AOAC International, 2007: sections 937.07, 950.46, 960.39, 928.08
2. Banerjee, G. and Ray, A. K. (2017) ‘The advancement of probiotics research and its application in fish farming industries’, *Research in Veterinary Science*. W.B. Saunders, 115, pp. 66–77. doi: 10.1016/J.RVSC.2017.01.016.
3. Cingeľová Maruščáková, I. *et al.* (2021) ‘Effect of autochthonous lactobacilli on immunologically important molecules of rainbow trout after bacterial infection studied on intestinal primoculture’, *Fish & Shellfish Immunology*. Academic Press, 119, pp. 379–383. doi: 10.1016/J.FSI.2021.10.021.

4. Conde-Sieira, M. *et al.* (2018) 'Stress effects on the mechanisms regulating appetite in teleost fish', *Frontiers in Endocrinology*. Frontiers, p. 631. doi: 10.3389/fendo.2018.00631.
5. Deane, E. E. and Woo, N. Y. S. (2008) 'Modulation of fish growth hormone levels by salinity, temperature, pollutants and aquaculture related stress: a review', *Reviews in Fish Biology and Fisheries 2008 19:1*. Springer, 19(1), pp. 97–120. doi: 10.1007/S11160-008-9091-0.
6. Dong, S. *et al.* (2024) 'Improving quality of poultry and its meat products with probiotics, prebiotics, and phytoextracts', *Poultry Science*. Elsevier, 103(2), p. 103287. doi: 10.1016/J.PSJ.2023.103287.
7. Fečkaninová, A. *et al.* (2019) 'Characterization of two novel lactic acid bacteria isolated from the intestine of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss, Walbaum) in Slovakia', *Aquaculture*. Elsevier B.V., 506, pp. 294–301. doi: 10.1016/j.aquaculture.2019.03.026.
8. Fečkaninová, A. *et al.* (2022) 'Surviving of production probiotic strains in a selected application form.', *Ceska a Slovenska Farmacie : Casopis Ceske Farmaceuticke Spolecnosti a Slovenske Farmaceuticke Spolecnosti*. Czech Medical Association J.E. Purkyne, 71(1), pp. 27–33. doi: 10.5817/CSF2022-1-27.
9. Liu, C. *et al.* (2022) 'Effect of dietary probiotics supplementation on meat quality, volatile flavor compounds, muscle fiber characteristics, and antioxidant capacity in lambs', *Food Science & Nutrition*. Wiley-Blackwell, 10(8), p. 2646. doi: 10.1002/FSN3.2869.
10. Ratvaj, M. *et al.* (2023) 'Feeding-Regime-Dependent Intestinal Response of Rainbow Trout after Administration of a Novel Probiotic Feed', *Animals 2023, Vol. 13, Page 1892*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 13(12), p. 1892. doi: 10.3390/ANI13121892.
11. Schreck, C. B., Contreras-Sanchez, W. and Fitzpatrick, M. S. (2001) 'Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny', *Reproductive Biotechnology in Finfish Aquaculture*. Elsevier, pp. 3–24. doi: 10.1016/B978-0-444-50913-0.50005-9.

Kontaktná adresa: Ratvaj Marek, Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika E-mail: marek.ratvaj@uvlf.sk

PRÍTOMNOSŤ REZISTENTNÝCH BAKTÉRIÍ ČEĽADE ENTEROBACTERIACEAE FORMUJÚCICH BIOFILM V MÄSE

PRESENCE OF RESISTANT BACTERIA OF THE FAMILY ENTEROBACTERIACEAE FORMING BIOFILM IN MEAT

Regecová Ivana, Výrostková Jana, Pipová Monika, Jevinová Pavlina, Mesarčová Lýdia, Marcinčák Slavomír, Piškaninová Sára

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

ABSTRACT

In the presented thesis, the isolates were identified using matrix assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. Three species from the Enterobacteriaceae family were identified, namely *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* and *Citrobacter freundii*. The disc diffusion method according to Kirby-Bauer was used to detect antimicrobial resistance. Resistance to cefotaxime, minocycline, tetracycline and gentamicin was determined. The greatest resistance (73,0%) was recorded with cefotaxime. Conversely, the smallest (8,0%) with gentamicin. In the thesis, the ability to form a biofilm was determined using Congo red agar. From the 26 examined isolates, the ability to form a biofilm was found in 21 isolates, which represents 80,8%.

Key words: antibiotics, Enterobacteriaceae, biofilm, meat

ÚVOD

Čeľaď Enterobacteriaceae patrí medzi rozsiahlu čeľaď ubikvitárnych baktérií. Zahŕňa G⁻negatívne nepatogénne, ale aj patogénne baktérie. Patogénne druhy tejto čeľade sú významnými pôvodcovia alimentárnych ochorení u ľudí aj zvierat. U zvierat sú dôležité najmä druhy *Escherichia* (*E.) coli, Campylobacter jejuni, Salmonella pullorum, Salmonella dublin, Klebsiella pneumoniae* a pod. Medzi významné zoonotické druhy patria *Salmonella* Enteritidis a Typhimurium, *Yesinia pestis*. Bakteriálne druhy tejto čeľade sú v potravinárstve indikátorom nesprávnej hygieny (Nikolaev et al. 2022).

Zástupcovia čeľade sú známi svojou tvorbou biofilmu (Sharan et al. 2022). Potraviny kontaminované bakteriálnym biofilmom ohrozujú bezpečnosť a kvalitu potravín. Najbežnejšie bakteriálne druhy vyskytujúce sa v potravinových biofilmoch sú *E. coli* a *Salmonella enterica* (Nikolaev et al. 2022).

Produkcia biofilmu je často spojené aj s antimikrobiálnou rezistenciou baktérii. Nadmerné používanie antibiotík pri liečbe a profylaxii u potravinových zvierat má, vplyv na zvyšujúcu sa rezistenciu zástupcov čeľade Enterobacteriace voči antibiotikám (Katakweba 2014, Ramos a Nascimento 2021). Zvyšujúca sa rezistencia patrí medzi veľmi závažné problémy súčasnej doby, preto je potrebné pravidelné monitorovanie výskytu rezistentných baktérii tejto čeľade v potravinách, čo je aj základným cieľom predkladanej štúdie.

MATERIÁL A METODIKA

Vyšetrované vzorky použité v štúdii pochádzali z kuracej stehennej svaloviny 2 vzorky), bravčovej stehennej svaloviny (2 vzorky) a z bitúnku kde sa jatočne opracovávajú ošípané, presnejšie sa jednalo o stery z píly a noža (2 vzorky).

Základná suspenzia a príprava desaťnásobných riedení sa vykonala podľa STN EN ISO 6887-2 (2017). Stery z pracovných náradí používaných na bitúnku boli odoberané sterilne podľa STN EN ISO 18593 (2018). Jednotlivé kmene čeľade Enterobacteriaceae boli následne izolované podľa STN EN ISO 21528-2 (2019). Po prvotnom kultivačnom vyšetrení boli jednotlivé typické kolónie prenesené do skúmaviek s obsahom 3 ml bujónu s mozgovo-srdcovou infúziou (BHI bujón; Oxoid, Veľká Británia). Nasledovala 18 – 24 hodinová inkubácia pri 37 °C. Po inkubácií sa jednotlivé kmene preniesli sterilnou bakteriologickou ézou na povrch agaru s 2 %-ným prídavkom baranej krvi. Kmene sa po 24 hodinovej inkubácií pri teplote 37 °C použili na ďalšie analýzy. Jednotlivé izoláty boli identifikované pomocou MALDI-TOF MS (matrix assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry). Bol použitý postup extrakcie vzoriek pomocou 96% etanolu, 70%-nej kyseliny mravčej a acetonitrilu (Bruker Daltonics 2008). Na detekciu tvorby biofilmu bola použitá metóda s pomocou Congo Red agaru (Silva et al. 2020). Stanovenie citlivosti bolo vykonané pomocou diskovej difúznej metódy (EUCAST, 2022). Pomocou komerčne vyrábaných diskov sa citlivosť stanovovala na antibiotiká cefotaxim (CTX) 30 µg, minocyklín (MH) 30 µg, tetracyklín (TE) 30 µg a gentamicín (GEN) 10 µg.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Kultivačným mikrobiologickým vyšetrením vzoriek a následnou druhovou identifikáciou pomocou MALDI-TOF hmotnostnej spektrometrie sa detegovali druhy *E.coli* (16 izolátov), *Klebsiella oxytoca* (6 izolátov) a *Citrobacter freundii* (4 izoláty) (Tabuľka č. 1). Priemerné skóre bolo 2,25. Najvyššie skóre bolo zaznamenané pri izoláte 12e, so skóre 2,43 a najnižšie skóre pri izoláte 19e, so skóre 2.00.

U 26 testovaných kmeňov sa následne detegovala produkcia biofilmu, kde pozitivita sa prejavila rastom čiernych kolónii spolu s čiernym zafarbením agarového diagnostického média v okolí kolónii. Pozitivitu na produkciu biofilmu vykazovalo 21 kmeňov (80,8 %), 5 kmeňov (19,2 %) bolo negatívnych (Tabuľka č. 1). Vysoké percento pozitivity na produkciu biofilmu uvádza aj Ramos a Nascimento (2021) vo svojej štúdií, kde väčšina izolátov (90 %) vykazovalo produkciu biofilmu. Crecencio et al. (2020) zistili, že testované izolátov *E. coli* vykazovali produkciu biofilmu 70,44 %, čo je porovnateľné s našimi výsledkami. Vysokú produkciu biofilmu u *E. coli*, presnejšie 94,2 %, zaznamenali aj v štúdií Dishan et al. (2022).

Takto charakterizované kmene sa následne testovali na citlivosť voči antibiotikám pomocou diskovej difúznej metódy (Tabuľka č.1). Celkovo bola detegovaná antimikrobiálna rezistencia aspoň na jedno antibiotikum u 22 izolátov (84,6 %). Najviac rezistentných izolátov bolo detegovaných voči cefotaxímu, a to 73,0 %.

Pri ďalších troch testovaných antibiotikách bola citlivosť zaznamenaná u 21 izolátov (81,0 %). Citlivosť na všetky vybrané antibiotiká bola detegovaná u 2 izolátov (7,7 %). Intermediárna citlivosť aspoň na jedno antibiotikum bola detegovaná u 6 izolátov (23,1 %) a to najčastejšie na gentamicín (Graf č. 1).

Ako je znázornené v Grafe č. 1, rezistenciu voči cefotaxímu vykazovalo 19 izolátov (73,0 %), 6 izolátov (23,0 %) bolo citlivých a 1 izolát (4,0 %) intermedárne citlivý. Zurfluh et al. (2015) uvádzajú, že pri ich testovaní antimikrobiálnej citlivosti bolo rezistentných voči cefotaxímu 88,3 % zo 60 izolátov.

Ďalším testovaným antibiotikom bol minocyklín, kde až 21 izolátov (80,8 %) bolo citlivých, 3 izoláty (11,5 %) vykazovali rezistenciu a 2 kmeňov (7,7 %) intermediárnu citlivosť. Rezistenciu voči tetracyklínu bola potvrdená u 5 kmeňov (19,2 %), citlivosť u 21 kmeňov (80,8 %). Citlivosť pri gentamicíne vykazovalo 21 izolátov (80,8 %), rezistenciu 2 kmene (7,7 %) a 3 kmene (11,5 %) boli intermediálne citlivé. Podobne, Abebe (2020) pri testovaných izolátoch čeľade Enterobacteriaceae potvrdil rezistenciu voči tetracyklínu u 21,1 % a rezistenciu voči gentamycínu 10,5 %.

Tabuľka č. 1, Prehľad tvorby biofilmu a veľkosti inhibičných zón jednotlivých identifikovaných kmeňov

Kmeň	Druh	MALDI TOF MS (skóre)	Biofilm	Veľkosť inhibičných zón (mm)			
				CTX	MH	TE	GEN
1e	*E. coli*	2,03	+	28	24	2	14
2e	*E. coli*	2,16	-	17	20	22	16

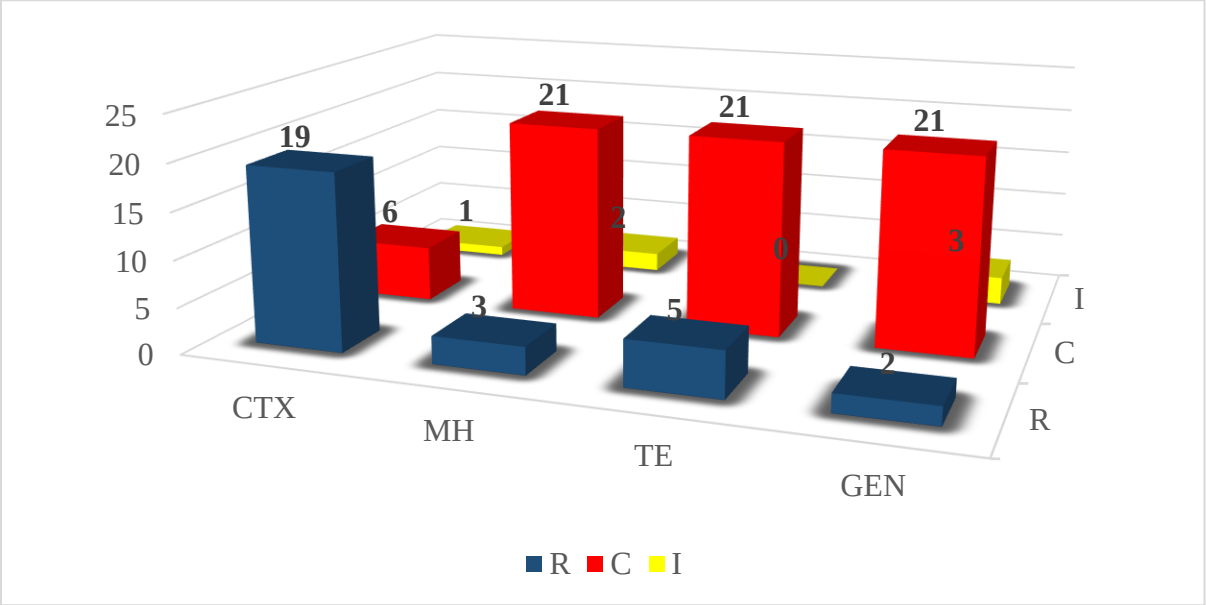
Tabuľka č.1, Pokračovanie tabuĺky

3e	*E. coli*	2,42	+	0	18	19	4
4e	*Citrobacter freundii*	2,42	+	13	17	16	19
5e	*E. coli*	2,36	+	17	16	16	21
6e	*E. coli*	2,38	+	14	17	18	18
7e	*Klebsiella oxytoca*	2,41	+	27	18	18	19
8e	*Klebsiella oxytoca*	2,31	+	0	19	18	19
9e	*E. coli*	2,35	+	12	16	15	14
10e	*Citrobacter freundii*	2,38	-	26	18	19	19
11e	*Citrobacter freundii*	2,09	-	0	18	19	16
12e	*E.coli*	2,43	+	19	18	18	18
13e	*E. coli*	2,27	+	0	12	8	15
14e	*Klebsiella oxytoca*	2,16	+	16	17	9	16
15e	*Klebsiella oxytoca*	2,41	+	24	19	9	17
16e	*E. coli*	2,13	+	26	14	20	17
17e	*E. coli*	2,2	-	26	12	17	17
18e	*E. coli*	2,23	-	28	14	19	18
19e	*E. coli*	2,00	+	0	19	19	21
20e	*Klebsiella oxytoca*	2,07	+	14	21	21	33
21e	*Klebsiella oxytoca*	2,32	+	10	2	2	12
22e	*Citrobacter freundii*	2,29	+	13	22	23	24
23e	*E. coli*	2,41	+	13	20	20	23
24e	*E. coli*	2,29	+	0	17	23	23
25e	*E. coli*	2,21	+	13	21	22	16
26e	*E. coli*	2,07	+	19	21	23	14

- rezistentný kmeň, CTX- cefotaxím, MH- minocyklín, TE – tertacyklín, GEN- gentamicín

Pri vyhodnocovaní výsledkov podľa jednotlivých druhov baktérií bola u izolátov *E.coli* detegovaná najčastejšie rezistencia voči cefotaximu (12 izolátov; 75,0 %). U izolátov druhu *Klebsiella oxytoca* (6 izolátov) bola rezistencia potvrdená najčastejšie voči cefotaxímu (4 izoláty; 66,6 %). U baktérií druhu *Citrobacter freundii* (4 izoláty) sa prejavila rezistencia iba voči cefotaxímu a to v 3 prípadoch (75,0 %). Celkovo sa ako najviac rezistentný druh na vybrané antibiotika javil druh *Klebsiella oxytoca*, kde rezistencia pri jednotlivých antibiotikách sa pohybovala od 16,7 % do 83,3 %.

Graf č. 1, Grafické zobrazenie citlivosti testovaných kmeňov na vybrané antibiotika.



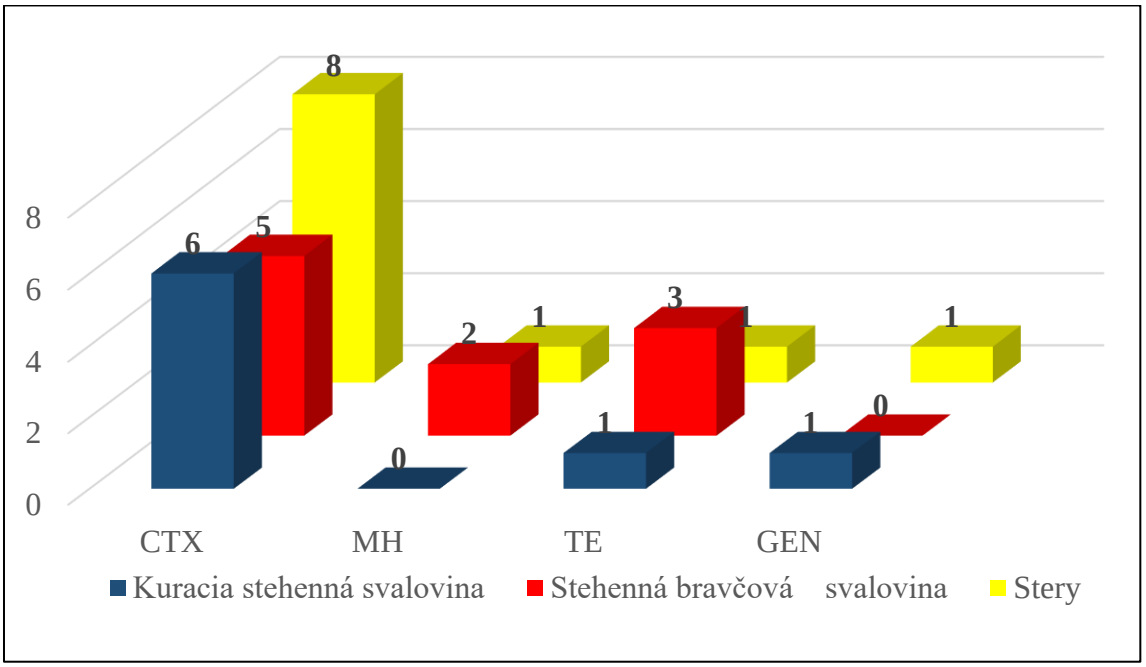
R- rezistentmý, I- intermediárne citlivý, C-citlivý, CTX- cefotaxím, MH- minocyklín, TE – tertacyklín, GEN- gentamicín

Pri vyhodnocovaní výsledkov na základe pôvodu vzoriek Graf č. 4), zo vzoriek kuracej stehennej svaloviny vykazovalo voči cefotaxímu rezistenciu 6 kmeňov, voči tetracyklínu a gentamicínu 1 kmeň. Z desiatich izolátov pochádzajúcich zo stehennej bravčovej, bolo detegovaných 5 izolátov rezistentných voči cefotaxímu 6 kmeňov voči minocyklínu 3 kmene voči tetracyklínu. Rezistencia voči gentamicínu sa nepotvrdila. Zároveň, všetkých osem izolátov získaných zo sterov z náradia používaného na bitúnku bolo rezistentných voči cefotaxímu. Pri ostatných antibiotikách sa detegoval len jeden rezistentný izolát.

Následne sa vyhodnocovala aj prítomnosť multirezistencie, ktorá bola zaznamenaná len v jednom prípade. Jedná sa o kmeň 21e identifikovaný ako *Klebsiella oxytoca*. Tento izolát vykazoval rezistenciu voči všetkým antibiotikám súčasne. Jeho inhibičné zóny sa pohybovali v rozmedzí 2 až 12 mm.

Všeobecne sa rezistencia a multirezistencia detegovala najmä u kmeňov, u ktorých bola fenotypovo potvrdená produkcia biofilmu. Najčastejšie sa u týchto kmeňov potvrdila rezistencia voči cefotaxímu. Zároveň všetky kmene, ktoré boli rezistentné na viac ako jedno antibiotikum súčasne sa fenotypovo potvrdili aj ako kmene produkujúce biofilm.

Graf č. 2, Grafické zobrazenie citlivosti testovaných kmeňov na vybrané antibiotika u jednotlivých druhov vyšetrovaných vzoriek.



CTX- cefotaxím, MH- minocyklín, TE – tertacyklín, GEN- gentamicín

ZÁVER

V práci sa potvrdilo znepokojivo vysoké percento rezistentných kmeňov čeľade Enterobacteriaceae tvoriacich biofilm. Preto je potrebné zlepšiť metódy prevencie a kontroly bakteriálnych biofilmov, rovnako ako zlepšiť postupy ich odstraňovania z povrchov a zariadení určených na spracovanie potravín. Je nevyhnutné aj vyvinutie nových postupov čistenia a dezinfekcie v potravinárstve, vzhľadom na vysokú mieru tvorby biofilmu rezistentnými zástupcami tejto čeľade.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ABEBE, Gedif Meseret. Detection of biofilm formation and antibiotic resistance in Klebsiella oxytoca and Klebsiella Pneumoniae from animal origin foods. *Int. J. Microbiol. Biotechnol*, 2020, 5.3: 120.
2. BRUKER DALTONICS, MALDI Biotyper 2.0. Software for microorganism identification and classification user manual, 2008.
3. CRECENCIO, Regiane B., et al. Antimicrobial susceptibility, biofilm formation and genetic profiles of Escherichia coli isolated from retail chicken meat. *Infection, Genetics and Evolution*, 2020, 84: 104355.

4. DISHAN, A. et al. Biofilm formation, antibiotic resistance and genotyping of Shigatoxin-producing Escherichia coli isolated from retail chicken meats. In British Poultry Science. ISSN 0007-1668, 2022, vol. 64.
5. EUUCAST- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Švédsko: EUCAST, 2022.
6. KATAKWEBA, Abdul Ahmed Selemani. *Prevalence of antimicrobial resistance and characterization of fecal indicator bacteria and staphylococcus aureus from farm animals, wildlife, pets and humans in Tanzania*. 2014. PhD Thesis. Sokoine University of Agriculture.
7. NIKOLAEV, Yury, et al. Microbial biofilms at meat-processing plant as possible places of bacteria survival. *Microorganisms*, 2022, 10.8: 1583.
8. RAMOS, Gustavo Luis de Paiva Anciens; DOS SANTOS NASCIMENTO, Janaína. Antibiotic resistance profile and detection of degradative enzymes by Enterobacteriaceae isolated from raw goat milk. *Germs*, 2021, 11.2: 211.
9. SHARAN, Manjeet, et al. Biofilms as a microbial hazard in the food industry: A scoping review. *Journal of Applied Microbiology*, 2022, 133.4: 2210-2234.
10. STN EN ISO 18593. Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálne metódy na odber vzoriek z povrchov použitím odtlačkov a sterov. 2018.
11. STN EN ISO 21528-2. Mikrobiológia potravinárskeho reťazca. Horizontálna metóda na dôkaz a stanovenie počtu baktérií čeľade Enterobacteriaceae. Časť 2 Metóda počítania kolónií. 2019.
12. STN EN ISO 6887-2. Mikrobiológia potravín a krmív. Úprava analytických vzoriek, príprava základnej suspenzie a desaťnásobných riedení na mikrobiologické skúšanie. Časť 2: Špecifické pokyny na úpravu mäsa a mäsových výrobkov. 2017.
13. ZURFLUH, Katrin, et al. Extended-spectrum-β-lactamase-producing Enterobacteriaceae isolated from vegetables imported from the Dominican Republic, India, Thailand, and Vietnam. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81.9: 3115-3120.

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

VYUŽITIE RASTLINNEJ VLÁKNINY V MÄSOVÝCH VÝROBKOV

THE USE OF DIETARY FIBRE IN MEAT PRODUCTS

Reitznerová Anna, Lýdia Mesarčová, Marcinčák Slavomír

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

ABSTRACT

Dietary fibre is part of a healthy diet and chemically it is mainly complex carbohydrates and lignin. Dietary fibre should make up approximately 30 g in an adult's daily food intake. The most common sources are cereal products, legumes, fruit and vegetables. The addition of dietary fibre to meat products influences their functional properties (water retention, viscosity, gel-forming and fat-binding properties), which allows production with a lower fat content and unchanged sensory properties. The use of by-products from the processing of fruit and vegetables that contain antioxidants can increase the antioxidant stability of fats and thus extend the shelf-life of meat products.

Key words: dietary fiber, meat product, inulin, water holding capacity, emulsion stability

Vláknina

V roku 1953 prvý krát pomenoval britský lekár Eban Hipsley nestráviteľnú zložku stien rastlín ako potravinovú vlákninu. V roku 1985 Trowell et al. definovali „vlákninu“ ako zložku rastlinných buniek, ktorá nie je rozložiteľná tráviacimi šťavami človeka a ide predovšetkým o komplexné uhľohydráty a lignín (Dhingra et al., 2012). Zatiaľ neexistuje jednotná definícia zahrňujúca všetky zložky vlákniny a jej funkcie (Escudero, González, 2006). Botanici definujú vlákninu, ako súčasť rastlinných orgánov, chemickí analytici ako skupinu chemických zlúčenín, konzument ako látku s priaznivými účinkami na ľudské zdravie a pre dietetický a chemický priemysel je potravinová vláknina predmetom marketingu. (Dhingra et al., 2012). Slovenská legislatíva (Výnos MPSR č. 1519/2002) definuje „potravinovú vlákninu“, ako časť potravín rastlinného pôvodu, ktorá sa nestrávi endogénnymi enzýmami ľudského organizmu a tvoria ju predovšetkým neškrobové polysacharidy (napr. celulóza, hemicelulóza, pektínové látky, betaglukány, rastlinné gumy) a lignín.

Potravinová vláknina

Potravinová vláknina sa prirodzene vyskytuje v obilninách, strukovinách, ovocí a zelenine v rôznych množstvách. Zohráva významnú úlohu pri znižovaní rizika kardiovaskulárnych ochorení (znižovaním koncentrácie cholesterolu a krvného tlaku), cukrovky II. typu (zlepšuje hladinu glukózy v krvi), pomáha pri chudnutí a regulácií telesnej hmotnosti a pri prevencii rizika rakoviny hrubého čreva (Park, 2016). Vláknina sa pridáva ako funkčná potravina do potravinárskych výrobkov na zabezpečenie schopnosti viatźania vody, viskozity, schopnosti vytvárať gél a schopnosti viazať tuky. Tieto prospešné vlastnosti zložiek potravinárskej vlákniny by tiež mohli zlepšiť obraz mäsových výrobkov, ako zdravých a funkčných potravinových výrobkov (Kim, Paik, 2012).

Mäsové výrobky

Mäso a mäsové výrobky majú pozitívny aj negatívny vplyv na zdravie človeka. Sú dôležitým zdrojom bielkovín a esenciálnych aminokyselín s vysokou biologickou hodnotou, esenciálnych tukov, vitamínov hlavne A a B a minerálnych látok. Avšak pre vysoký obsah nasýtených tukov, cholesterolu, sodíka a dusitanov sú hodnotené negatívne (Biesalski, 2005; Jimenez-Colmenero et al., 2001). Posledné inovácie v mäsovom priemysle sa zaoberajú zmenou zloženia mäsových výrobkov prostredníctvom zníženia a/alebo pridania zdraviu prospešných zložiek. Ide predovšetkým o zníženie soli a/alebo tuku, ktoré sa dá dosiahnuť priamym znížením množstva soli a tuku v receptúre pomocou náhrady soli (napr. chlorid draselný alebo bylinky) alebo pomocou náhrad živočíšneho tuku (napr. škrob, alebo olej z iných ako živočíšnych zdrojov). Ďalšou možnosťou je začlenenie zdravých zložiek (napr. vitamínov a minerálov, omega 3 mastných kyselín, probiotík, koenzýmu Q10 a vlákniny) do mäsových výrobkov. Tieto zložky sa môžu pridávať nepriamo kŕmením zvierat, alebo priamo počas spracovania. Tretia alternatíva zahŕňa zníženie alebo nahradenie chemických konzervačných látok, ako sú dusitany/dusičnany (Shaun et al., 2017). Pridaním vlákniny, ako funkčnej zložky do mäsových výrobkoch sa ovplyvňujú ich funkčné, fyzikálno-chemické a senzorické vlastnosti a predlžuje sa doba skladovania (Mehta et al., 2015).

Nízky podiel vlákniny v mäsových výrobkov a jej náhrada

Podľa vyhlášky Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky, o mäsových výrobkoch, nemožno použiť vlákninu do trvanlivo tepelne neopracované mäsového výrobku ani do šunky špeciál a šunky výberovej. V odbornej literatúre sa uvádza, že najčastejšie sa pridáva vláknina do klobás, párkov, salám, mäsových guliek a karbonátok. Ide predovšetkým vlákninu získanú z obilia (pšenica, ovos, raž a ryža), strukovín (sója, hrach),

ovocia a zeleniny, ako aj získanú z ďalších zdrojov, ako napr. pektín, karagenan (Haque et al., 2023; Kim, Paik, 2012).

Množstvo vlákniny v obilninách závisí od zdroja a spôsobu spracovania. Obsah vlákniny v rafinovanej pšeničnej múke je 2,5 g/ 100 g, zatiaľ čo v nerafinovanej je približne päťkrát vyššie množstvo, 12 g/ 100 g (Rodriquez et al., 2006). Ovos patrí medzi najčastejšie používanú obilninu. S jeho konzumáciou sa spájajú viaceré zdravotné výhody, a to vďaka rozpustnej vláknine označovanej ako β-glukán, ktorý zmierňuje postprandiálnu glykémiu, znižuje hladinu cholesterolu v krvi a znižuje riziko rakoviny hrubého čreva (Butt et al., 2008). Funkčné vlastnosti ovsenej vlákniny (schopnosť zadržiavať vodu) potvrdili vo svojich prácach Serdarglu (2006), Yasarlar et al. (2007) a Yilmaz a Daglioglu (2003), kde prídavok vlákniny znížil straty vody pri varení a znížil sa obsah tuku bez straty senzorickej prijateľnosti v hovädzích karbonátkach, bravčovej klobáse a mäsových guľkách.

Strukoviny sú dôležitou zložkou potravy, pretože poskytujú bielkoviny a vlákninu. Hrachová a sójová vláknina majú nižšiu absorpciu vody, ako pšeničná a ovsená (Kim, Paik, 2016). Pietrasik, Janz (2010) využili hrachový škrob a hrachovú vlákninu na zníženie obsahu tuku v bolonskej klobáse a Serdaroglu et al. (2005) využili múku z čiernej fazule, cíceru a šošovice na zvýšenie obsahu bielkovín v mäsových guľkách.

Zdrojmi vlákniny sú aj poľnohospodárske vedľajšie produkty, ktoré sú pomerne lacné a ich začlenenie do mäsových výrobkov znižuje ich celkové náklady na ich výrobu (Mehta et al., 2015). Nepožívateľné zvyšky ovocia a zeleniny obsahujú zložky, ako sú prírodné antioxidanty (polyfenoly, karotenoidy atď.), vlákninu a iné stopové prvky, ktoré môžu poskytnúť funkčnosť potravín. Začlenenie ovocných a zeleninových odpadov do mäsových výrobkov, má dve výhody a to zvýšenie obsahu vlákniny a spomalenie oxidácie lipidov, čím sa predlží ich trvanlivosť (Haque et al., 2023).

Funkčnosť a využitie rozpustnej vlákniny v mäsových výrobkov zahŕňa širokú škálu vlákninových zložiek ako je metylcelulóza, karboxymetylcelulóza, hydrokoloid ako xantánová a arabská guma (Bodner, Sieg, 2009). Využitie rozpustných foriem vlákniny je hlavne ako náhrada tukov. Schopnosť viazať vodu je u rozpustných foriem najnižšia zo všetkých druhov vlákniny. Prídavok inulínu (oligosararid, získavaný z koreňa čakanky) je schopný svojimi vlastnosťami vo výrobku navodiť podobné texturálne vlastnosti, ako majú tuky. Potenciálne využitie inulínu je aj pre urýchlenie procesu sušenia u trvanlivých mäsových výrobkov. Limitujúcim faktorom pre inulín je jeho potenciálne negatívne pôsobenie vo vysokých koncentráciách na trávenie (viac ako 4 g denného príjmu) (Turek et al., 2016).

ZÁVER

Pre vysoký záujem spotrebiteľa o svoje zdravie pri neustálej konzumácií mäsa a mäsových výrobkov, ktoré obsahujú vysoký podiel tuku a nulové zastúpenie vlákniny, je potrebné hľadať možné prospešné látky zlepšujúce ich nutričné skóre. Pridanie vlákniny do mäsových výrobkov zlepšuje ich funkčné vlastnosti bez súčasnej zmeny senzorických vlastností. Využitie rozpustnej vlákniny umožňuje znížiť obsah tuku a využitie ovocia a zeleniny sa podieľa na zvyšovaní antioxidačnej stability mäsových výrobkov a predlžovaní trvanlivosť. Takto pripravené mäsové výrobky majú svoj potenciál na trhu, určite rozšíria sortiment už ponúkaných výrobkov, ale mali by byť jasne označené.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Biesalski, H. K. Meat as a component of a healthy diet – Are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet? Meat Sci. 2005, 70, 509-524.
2. Bodner, J. M. and Sieg, J. Fiber. In: Ingredients in meat products: properties, functionality and application. 2009, Tarte, R. (ed) Springer Publishing, New York, NY, pp. 83-109.
3. Dhingra D, Michael M, Rajput H, Patil RT. Dietary fibre in foods: a review. J Food Sci Technol. 2012, Jun;49(3):255-66.
4. Escudero, A. E, González, S. P. Dietary fibre. Nutr Hosp. 2006, May;21 Suppl 2:60-71, 61-72.
5. Haque, A., Ahmad, S., Azad, Z.R.A.A., Adnan, M., Ashraf, S.A.. Incorporating dietary fiber from fruit and vegetable waste in meat products: a systematic approach for sustainable meat processing and improving the functional, nutritional and health attributes. PeerJ. 2023, Mar 1;11:e14977
6. Jimenez-Colmenero, F.,Carballo, J., and Cofrades, S. Healthier meat and meat products: their role as functional foods. Meat Sci. 2001, 59, 5-13.
7. Kim, H.J. and Paik, H.-D. Functionality and Application of Dietary Fiber in Meat Products. Korean journal for food science of animal resources. 2012, 32(6), 695-705.
8. Mehta, N., Ahlawat, S.S., Sharma, D.P., Dabur, R.S. Novel trends in development of dietary fiber rich meat products – a critical review. Journal of food and science technology. 2015, 52(2), 633-647.
9. Montoya, L., Quintero, N., Ortiz, S., Lopera, J., Millán, P., Rodríguez-Stouvenel, A. Inulin as a Fat-Reduction Ingredient in Pork and Chicken Meatballs: Its Effects on Physicochemical Characteristics and Consumer Perceptions. Foods. 2022, 11, 1066.

10. Park, Y. Chapter 20 - Dietary fiber and health: Cardiovascular disease and beyond, Editor(s): Ronald Ross Watson, Victor R. Preedy, Fruits, Vegetables, and Herbs, Academic Press, 2016, p. 423-449, ISBN 9780128029725.
11. Pietrasik, Z. and Janz, J. A. M. Utilization of pea flour, starch-rich and fiber-rich fractions in low fat bologna. Food Res. Int. 2010, 43, 602-608.
12. Rodriguez R, Jimenez A, Fernández-Bolaños J, Guillen R, Heredia A. Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. Trends Food Sci Technol 2006, 17(1):3–15.
13. Serdaroglu, M. The characteristics of beef patties containing different levels of fat and oat flour. Int. J. Food Sci. Technol. 2006, 41, 147-153.
14. Shan LC, De Brún A, Henchion M, Li C, Murrin C, Wall PG, Monahan FJ. Consumer evaluations of processed meat products reformulated to be healthier—a conjoint analysis study. Meat Science. 2017, 131(1):82–89.
15. Trowell, H.; Burkitt, D.; Heaton, K. Definition of dietary fiber. In: Trowell H, Burkitt D, Heaton K (eds) Fiber depleted food and diseases. Academic, New York,1985, p 27.
16. Turek et al. Hygiena a technológia mäsa a mäsových výrobkov. Edičné stredicko a predajňa literatúry . UVLF v Košiciach. 2016, S.335, ISBN: 978-80-8077-513-1.
17. Vestník MPSR, ročník XXXIV, 15. júl 2002. Čiastka 14. Výnos MPSR z 24. júna 2002 č. 1519/2002-100, ktorým sa ustanovuje rozsah výživového tvrdenia, spôsob uvádzania výživovej hodnoty potravín a spôsob jej výpočtu.
18. Vyhláška č. 83/2016, Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky, zo 14. januára 2016 o mäsových výrobkoch.
19. Yasarlar, E. E.; Daglioglu, O.; Yilmaz, I. Effects of cereal bran addition on chemical composition, cooking characteristics and sensory properties of Turkish meatballs. Asian J. Chem. 2007, 19, 2353-2361.
20. Yilmaz, I.; Daglioglu, O. The effect of replacing fat with oat bran on fatty acid composition and physicochemical properties of meatballs. Meat Sci. 2003, 65, 819-823.

Kontaktná adresa: MVDr. Anna Reitznerová, 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

POTENCIÁLNE ZDROJE ZNEČISTENIA PITNEJ VODY

POTENTIAL SOURCES OF DRINKING WATER POLLUTION

Sasáková Naďa, Štrkolcová Gabriela, Kachnič Ján, Veszelits Laktičová Katarína, Vargová Mária, Hromada Rudolf, Takáčová Daniela

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

ABSTRACT

The work was focused on evaluation of drinking water quality from ground and surface water sources in tha area focused on agricultural production in eastern Slovakia. At the same time, the estimated risks of surface water contamination in the vicinity of farms and family houses were assessed. Surface water samples were taken from two different streams at different distances from the monitored farms (20 – 50 m) as well as from potential sources of pollution, namely manure storage (15, 150 – 500 m) at season periods. Drinking water samples were taken from wells in family houses, which were situated 15 – 150 m from manure storage. Our investigations have shown the relatively good quality of surface and groundwater in places where there are no risk factors such as manure storage and livestock breeding. Of the chemical parameters, only the limit for nitrates of 9.03 mg/l was exceeded compared to the limit of 5 mg/l for surface water. Also in drinking water from the well, which was situated 15 m from manure storage, values were exceeded in comparison with the limit of 50 mg/l in each season (68.8 – 85.2 – 87.8 – 98.2). Microbiological analyzes revealed exceedances in numbers for coliforms (425 CFU/ ml) and *E. coli* (415 CFU/ml), above limits in all sampling periods, especially in autumn and winter. Increased numbers of microorganisms were found mainly at distances of 15 m from farms and manure storage. Problems with the increase in the number of indicator microorganisms may occur mainly in winter, especially in the rainy season and when snow and ice are melting. At the same time, regular monitoring of drinking water sources and their hygienic security in the form of disinfection is an essential requirement.

Key words: ground, surface water, analyses, animal farm, manure storage

ÚVOD

Prírodnými zdrojmi pitnej vody sú podzemné a povrchové vody, ktorých kvalita je výrazne ovplyvňovaná každodennou antropogénnou činnosťou. Medzi najdôležitejšie antropogénne aktivity spojené so znečistením vody patrí predovšetkým intenzívna

poľnohospodárska a živočíšna produkcia, ktorá súvisí hlavne s používaním hnojív, pesticídov, herbicídov a iných prípravkov na ničenie nežiaducich škodcov (Burkholder et al. 2007). V niektorých oblastiach sú vodné zdroje kontaminované natoľko, že nie sú vhodné na používanie na pitie, výrobu potravín ani iné činnosti spojené s každodenným životom. Voda znečistená touto činnosťou môže negatívne ovplyvniť nielen zdravie zvierat a ľudí zmenou jej kvality, ale môže byť aj prameňom šírenia vodou prenosných infekčných ochorení prítomnosťou patogénnych mikroorganizmov, vírusov, baktérií a parazitov (Gilchrist et al. 2007).

Význam vody je priamo spojený so zdravím a úžitkovosťou hospodárskych zvierat, pretože voda umožňuje zachovanie všetkých nevyhnutných funkcií pre organizmus. Voda umožňuje látkovú výmenu, usmerňuje teplotné a tlakové pomery v organizme, je podmienkou metabolizmu živín a ich vylučovania z organizmu (Gómez-Gutiérrez et al., 2016). Dobytok má denný príjem vody cca 75 litrov a príjem kontaminovanej vody u dobytka môže spôsobiť stratu apetítu, hnačky, a iné hepatotoxické poškodenie s fatálnymi následkami (Jones, 2023). Pitná voda, ale aj povrchová voda, ktorá bola kontaminovaná ľudskými aj zvieracími odpadmi môže obsahovať rôzne mikroorganizmy ako baktérie, vírusy a protozoá. Ich spoločným indikátorom sú koliformné baktérie z *čeľade Enterobacteriaceae*, predovšetkým kmene *Escherichia, Citrobacter,* a *Enterobacter, Salmonella, Campylobacter,* a iné. Uvedené mikroorganizmy sú prítomné vo fekáliách a ich detekcia v pitnej vode indikuje možnosť znečistenia odpadmi organického pôvodu (Kaynar et al., 2022; Sasáková a kol., 2023).

Z hľadiska zachovania dobrého stavu vodných zdrojov je nevyhnuté dodržiavanie ochranných pásiem vodárenských zdrojov podľa vyhlášky Slovenskej republiky č. 29/2005 Z. z., ktorou sa ustanovujú podrobnosti o určovaní ochranných pásiem vodárenských zdrojov, o opatreniach na ochranu vôd a o technických úpravách v ochranných pásmach vodárenských zdrojov. Ochranné pásmo I., II. a III. stupňa (2005) sa určuje na ochranu využiteľného množstva, kvality a zdravotnej bezchybnosti vodárenského zdroja vo vzťahu k prírodným pomerom a vo vzťahu k vplyvom akejkoľvek ľudskej činnosti, najmä na ochranu vody pred mikrobiologickým znečistením a pred znečistením znečisťujúcimi látkami. Jedným z možných zdrojov znečistenia vody je podľa tejto vyhlášky aj poľnohospodárska činnosť, farmy živočíšnej výroby, chov koní, tuhý a tekutý hnoj ošípaných, tekutý hnoj hovädzieho dobytka, poľné hnojiská, skladovanie rozpustných priemyselných hnojív, letecká aplikácia pesticídov a umelých hnojív, mechanizačné strediská, závlahy a pod. Ide hlavne o znečistenie dusičnanmi, ktoré predstavujú problém z dôvodu ich problematického odstraňovania najmä z povrchových vôd, ako je uvedené v Smernici rady o ochrane vôd pred znečistením dusičnanmi z poľnohospodárskych zdrojov (1991).

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky pitnej vody boli odoberané z vodných zdrojov hromadného a individuálneho zásobovania v procese od získavania pitnej podzemnej vody až po jej zásobovanie pitnou vodou do okolitých poľnohospodárskych podnikov. Kvalitatívne ukazovatele pitnej vody boli porovnávané s limitnými hodnotami podľa nariadenia vlády Slovenskej republiky č. 91/2023 Z. z, ktorým sa ustanovujú požiadavky na vodu, ktorá je určená na ľudskú spotrebu a na kontrolu kvality vody určenej na ľudskú spotrebu.

V oblasti sledovaných fariem boli odoberané vzorky povrchovej vody, ktorých hodnoty jednotlivých sledovaných ukazovateľov boli vyhodnotené podľa ukazovateľov kvality povrchovej vody na základe nariadenia vlády Slovenskej republiky č. 269/2010 Z. z., ktorým sa ustanovujú požiadavky na docielenie dobrého stavu vôd.

Vzorky povrchovej vody z dvoch rôznych potokov boli odoberané v rôznych vzdialenostiach od fariem, a to vo vzdialenosti 20 m a 50 m. Zamerali sme sa na získanie vzoriek vody z miest, ktoré sa javili ako potenciálne zdroje znečistenia, skladovanie hnoja vo vzdialenosti 15, 150 až 500 m. Vzorky vody boli odoberané v štyroch ročných obdobiach (jar – leto – jeseň – zima). Vzorky pitnej vody zo studní pri rodinných domoch boli odoberané vo vzdialenosti 15 – 150 m od skladovania hnoja. Hĺbka studne bola 15 m a pitná voda bola získaná z rezervoára s kapacitou 300 m^3. Farma č. 1 bola zameraná na chov oviec a kôz a farma č. 2 sa zaoberala chovom výkrmového dobytka (80 ks) a 20 ks koní.

Z fyzikálno-chemických ukazovateľov boli vo vzorkách vody hodnotené podľa platných noriem (Nariadenie SR, 2023) nasledovné ukazovatele: pH, vodivosť, rozpustené látky sušené pri 105 ℃, rozpustené látky sušené pri 550 ℃, rozpustený kyslík, chemická spotreba kyslíka, chloridy, dusičnany (iónselektívna elektróda), železo, voľný chlór a fosforečnany podľa WHO (2011).

Mikrobiologické vyšetrenie bolo zamerané na stanovenie počtov baktérií kultivovaných pri 22°C (KM22) a 37°C (KM37) (heterotrófne počty) podľa STN EN ISO 6222 zalievacou metódou. Po kultivácii na mäsopeptónovom agare pri 22 ºC s dobou trvania 72 hodín a pri 37 ºC s dobou trvania 48 hodín boli odčítané počty kolónií. Koliformné baktérie (KB) and *E. coli* boli kultivované podľa STN EN ISO 9308-1 na Endo agare (HiMedia, India) metódou membránovej filtrácie a platne s agarom boli inkubované počas 24 hodín pri 37°C a 43°C, kedy boli spočítané narastené charakteristické kolónie. Na potvrdenie koliformných baktérií bola použitá aj laktózová skúška, ktorá je založená na schopnosti týchto baktérií skvasovať laktózu, čo v prípade prítomnosti uvedených baktérií vo vzorke spôsobuje zmenu pôvodne modrej farby použitého laktózového bujónu na žltú. Stanovenie počtov črevných enterokokov (EK) bolo stanovené podľa STN EN ISO 7899-2 na agare Slanetz-Bartley pri 37°C počas 24 hodín. Na

stanovenia boli odoberané 2 litre vody do sterilných fliaš a na hodnotenie bolo použitých 100 ml vzorky, ktorá bola filtrovaná cez membránový filter (póry s veľkosťou 0,45 µm).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky fyzikálno-chemického a mikrobiologického vyšetrenia povrchovej vody v porovnaní s limitmi podľa platnej legislatívy sú uvedené v tabuľke č. 1.

Rozbory fyzikálno-chemického vyšetrenia povrchovej vody z potokov poukázali na dobrú kvalitu povrchovej vody, okrem hodnoty dusičnanov (3,16-9,03 mg/l oproti limitu 5 mg/l), ktoré boli prekročené najmä v letnom a jesennom období.

Z mikrobiologických výsledkov boli zistené prekročenia počtov u koliformných baktérií a enterokokov, ako aj *E. coli* oproti limitom vo všetkých obdobiach odberov, najmä však na jeseň a v zime. Zvýšené počty mikroorganizmov boli zistené hlavne pri vzdialenostiach od fariem a skladovania hnoja vo vzdialenosti 15 m.

U vzoriek vody z potoka odoberaných vo vzdialenosti 15 m od uskladnenia hnoja boli prekročené počty *E. coli* oproti limitu 20 KTJ/1 ml v rozsahu 45 – 60 – 140 – 415 KTJ/1 ml a koliformné baktérie s limitom 100 KTJ/1 ml boli prekročené na jeseň 136 KTJ/1 ml a v zime 425 KTJ/1 ml.

Získané údaje svedčia o nedodržaní ochranného pásma skladovania hnoja od vodných tokov, čo poukazuje na riziko výskytu nielen indikátorových koliformných baktérií, ale práve zvýšenými počtami patogénnych baktérií *E. coli*, ako aj na možnosť výskytu iných patogénnych baktérií, ktoré sa nachádzajú v črevnom trakte zvierat a ľudí a ktoré môžu spôsobiť infekčné vodou prenosné ochorenia (Sasáková a kol., 2023).

Vzorky vody odoberané z potoka vo vzdialenosti 500 m od skladovania hnoja mali prekročené počty oproti limitom len na jeseň, pre *E. coli* 180 KTJ/1 ml a pre koliformné baktérie 200 KTJ/1 ml. Tieto zvýšené počty poukazujú na riziko znečistenia povrchovej vody aj v prípade silných dažďov, prípadne povodní, ktoré sa tam v minulosti vyskytovali.

Tabuľka č. 1, Výsledky fyzikálno-chemického a mikrobiologického vyšetrenia povrchovej vody

Chemické ukazovatele	Limity	Min-max
Reakcia vody (pH)	6 – 8,5	6,2 – 8,0
Rozpustené látky sušené pri 105 ℃	1 000 mg/l	98,6 – 544,3
Rozpustené látky po žíhaní pri 550 ℃	640 mg/l	2,2 – 166,9
Vodivosť	110 mS/m	21,5 – 106,9 mS/m

Tabuľka č. 1, Pokračovanie tabuĺky

Rozpustený kyslík (O_2)	>5 mg/l	6,4 – 8,8
$CHSK_{Mn}$	15 mg/l	2,2 – 15
Chloridy (Cl^-)	200 mg/l	<28,0
Dusičnanový dusík (N-NO_3)	5,0 mg/l	3,16 – 9,03
Železo celkové (Fe)	2,0 mg/l	<1,6
Fosfor celkový (P_{celk})	0,4 mg/l	<0,3
Koliformné baktérie (KB)	100 KTJ/ml	115 – 136
Termotolerantné koliformné baktérie (TKB)	20 KTJ/ml	45 – 425

$CHSK_{Mn}$ – chemická spotreba kyslíka manganistanom draselným

Fyzikálno-chemické vyšetrenie vody v studni rodinného domu s chovom domácich zvierat bolo v súlade s požadovanými limitmi okrem hodnoty dusičnanov, ktoré boli prekročené v studni, ktorá bola situovaná 15 m od skladovania hnoja, a to v každom ročnom období (68,8 – 85,2 – 87,8 – 98,2) oproti limitu 50 mg/l. Podobne boli prekročené počty koliformných baktérií (2 –15 – 21 – 70 KTJ/10 ml) a *E. coli* (3 – 4 – 15 – 40 KTJ/10 ml), kde limit je 0 KTJ/ml ako najvyššia medzná hodnota. Prekročené boli v uvedenej studni aj KM22 (20 – 138 – 220 – 300 KTJ/ml) a KM37 (2 – 121 – 178 – 260 KTJ/ml) oproti limitom pre uvedené ukazovatele.

Vyššie uvedené hodnoty poukazujú na znečistenie studne látkami organického pôvodu, najmä skladovaním exkrementov zvierat, ako aj voľným pohybom zvierat na pozemku v blízkosti studne ako podzemného zdroja pitnej vody, čo bolo potvrdené aj inými prácami s podobnou tematikou (Sasáková a kol., 2023).

ZÁVER

Získané údaje poukázali na relatívne dobrú kvalitu povrchovej aj podzemnej vody z hľadiska sledovaných chemických a mikrobiologických ukazovateľov len v miestach, kde sa nenachádzali rizikové faktory ako sú uskladnenie hnoja a chov domácich zvierat. Naopak, vzorky vody z odberných miest vo vzdialenosti 15 m od uskladnenia hnoja mali prekročené limity počtov indikátorových baktérií, ktoré poukazujú na kontamináciu vody priamo exkrementami zvierat alebo ľudí.

Práve nedodržaním ochranných pásiem vodárenských zdrojov môže dôjsť k zmene kvalitatívnych ukazovateľov vody, ktoré môžu byť ovplyvnené výluhmi z organických

odpadov (z exkrementov zvierat a ľudí a pod.). Tieto sa môžu prejaviť vo zvýšenej intenzite v období dažďov a pri rozmŕzaní snehu a ľadu, teda najmä v zimnom a jarnom období.

Ďalšou nevyhnutnou požiadavkou je pravidelná kontrola vodárenských zdrojov pitnej vody, či povrchovej alebo podzemnej a ich hygienické zabezpečenie formou dezinfekcie.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená projektom VEGA 1/0709/23.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. BURKHOLDER, J. – LIBRA, B. – WEYER, P. – HEATHCOTE, S. – KOLPIN, D. – THORNE, P. S. – WICHMAN, M. Impacts of waste from concentrated animal feeding operations on water quality. In *Environ Health Perspect*. 2007 Feb; 115(2):308-12. doi: 10.1289/ehp.8839. Epub 2006 Nov 14. PMID: 17384784; PMCID: PMC1817674.
2. GILCHRIST, M. J. – GREKO, C. – WALLINGA, D. B. – BERAN, G. W, – RILEY, D. G. – THORNE, P. S. The potential role of concentrated animal feeding operations in infectious disease epidemics and antibiotic resistance. In *Environ Health Perspect*. 2007 Feb; 115(2):313-6. doi: 10.1289/ehp.8837.
3. GÓMEZ-GUTIÉRREZ, A. – MIRALLES, M. J. – CORBELLA, I. – GARCÍA, S. – NAVARRO, S. – LLEBARIA, X. Drinking water quality and safety. In *Gac Sanit*. 2016 Nov;30 Suppl 1:63-68. Spanish. doi: 10.1016/j.gaceta.2016.04.012. PMID: 27837797.
4. JONES, E. Water pollution affect on animals its vulnerability to diseases. *In Journal Vet Med* Allied Sci. 2023;7(1):133.
5. KAYNAR, P. M. – DEMLI, F. – ORHAN, G. – İLTER, H. Chemical and microbiological assessment of drinking water quality. *Afr Health Sci*. 2022 Dec;22(4):648-652. doi: 10.4314/ahs.v22i4.70. PMID: 37092043; PMCID: PMC10117516.
6. NARIADENIE VLÁDY SLOVENSKEJ REPUBLIKY Č. 91/2023 Z. Z, ktorým sa ustanovujú požiadavky na vodu určenej na ľudskú spotrebu a na kontrolu kvality vody.
7. SASÁKOVÁ, N. – KACHNIČ, J. – ŠTRKOLCOVÁ, G. – TAKÁČOVÁ, D. – HROMADA, R. – BAKALÁR, T.– PAVOLOVÁ, H. Changes in drinking water quality due to animal husbandry. In The impact of global change on the environment. The impact of global change on the environment : Proceedings of scientific abstracts and contributions: International Scientific Conference. 1. vyd. - Košice : UVLF, 2023. ISBN 978-80-8077-789-0, s. 201-206.

1. 8. SMERNICA RADY O OCHRANE VÔD PRED ZNEČISTENÍM DUSIČNANMI z poľnohospodárskych zdrojov (91/676/EHS) 2014.
8. VYHLÁŠKA SLOVENSKEJ REPUBLIKY Č. 29/2005 Z. Z., ktorou sa ustanovujú podrobnosti o určovaní ochranných pásiem vodárenských zdrojov, o opatreniach na ochranu vôd.
2. 10.WHO Guidelines for Drinking-water Quality, 4th edition 2011, https://www.paho.org/en/documents/guidelines-drinking-water-quality-4o-ed-2011

Kontaktná adresa: Sasáková Naďa, 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: nada.sasakova@uvlf.sk

POROVNANIE OBSAHU HISTAMÍNU VO VZŤAHU K POČTU KVASINIEK A MIKROSKOPICKÝCH VLÁKNITÝCH HÚB V JEDNOTLIVÝCH ETAPÁCH VÝROBY BIELEHO VÍNA

COMPARISON OF HISTAMINE CONTENT IN RELATION TO THE NUMBER OF YEASTS AND MICROSCOPIC FILAMENTOUS FUNGI AT DIFFERENT STAGES OF WHITE WINE PRODUCTION

Semjon Boris, Regecová Ivana, Peter Očenáš, Bartkovský Martin, Šuľáková Lucia, Výrostková Jana, Kosturová Emma, Kováčová Mariana, Marcinčák Slavomír

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

ABSTRACT

Biogenic amines in wine represent endogenous foreign substances which may be a natural part of the processed raw material or may be formed during the technological process of wine production as a consequence of the metabolic activity of certain micro-organisms by decarboxylation of the relevant amino acids. The occurrence of biogenic amines in wines varies considerably depending on the raw material and the way it is processed. The aim of this work was to observe the correlation between histamine content and the number of yeasts and microscopic filamentous fungi in wine during the different stages of its technological production process. From the results obtained, a mutual positive correlation between the two variables studied was found, as well as a gradual decrease of both parameters depending on the stage of wine production.

Key words: wine, histamine, quality, biogenic amines, correlation

ÚVOD

Biogénne amíny sú dusíkaté a nízkomolekulové látky, ktoré môžu byť klasifikované ako alifatické, heterocyklické alebo aromatické bázy derivátov aminokyselín (Velíšek a Hajšlová 2009). Plnia rôznorodé funkcie vo fyziologických procesoch, ako sú proliferácia buniek, rast, majú efekt ako neuromediátory v centrálnom nervovom systéme. Súčasne sú dôležitou zložkou pri syntéze zlúčenín ako sú koenzým A, fosfolipidy, pantothenát. Biogénne amíny sú syntetizované hlavne v potravinách a nápojoch. Všeobecne najvyššie koncentrácie zlúčenín boli nájdene vo fermentovaných produktoch (Kopřiva 2014). Vysoké koncentrácie biogénnych amínov boli zistené vo fermentovaných potravinách, kde môžu mať endogénny pôvod v

nízkych koncentráciách v nefermentovaných potravinách ich koncentrácie sa vplyvom starnutia a skladovanie zvyšujú (Kohajdová a Karovičová 2001).

Kvasinky sú vyznačované ako jednobunkové huby, ktoré sú charakteristické rôznym tvarom ako napríklad valcovitý, oválny, guľovitý. Pivo je vyrábané najmä miešaním sladového jačmeňa a chmeľu, a selektovaných kvasiniek najmä *Saccharomyces cerevisiae*, bola pozorovaná vysoká koncentrácia tyramínu počas výroby (Almeida *et al*. 2012). Alkoholovú fermentáciu realizujú najmä kvasinky, ktoré menia cukry na etanol, oxid uhličitý a iné metabolity. Ukázalo sa, že *Saccharomyces cerevisiae* a *Saccharomyces bayanus* produkujú BA ako histamín, tyramín, etanolamín, spermidín, kadaverín a fenyletylamín. Kvasinky iné ako sú *Saccharomyces* spp. rýchlo ubúdajú v dôsledku silného selektívneho tlaku vyvíjaného *Saccharomyces cerevisiae*. Alkoholová fermentácia sa môže vyskytnúť spontánne alebo inokuláciou špecifických kmeňov (Andorrà *et al*. 2019).

Vo všeobecnosti môžu baktérie mliečneho kvasenia produkovať metabolickú energiu a zvýšiť ich odolnosť voči kyselinám katabolických ciest ktoré pozamieňajú aminokyseliny na zlúčeniny, ktoré obsahujú amín vrátane biogénnych amínov. Štartovacie kultúry, ako sú baktérie mliečneho kvasenia, koaguláza negatívne koky a mikroskopicky vláknité huby používané pri fermentácii klobás môžu tvoriť biogénne amíny a to tyramín a putrescín (Simon-Sarkadi *et al*. 2012).

MATERIÁL A METODIKA

Odber vzoriek

Skúmané vzorky boli odobraté z jednotlivých etáp výroby vína z odrody hrozna Rízling vlašský, ktoré pochádzalo z východoslovenskej vinohradníckej oblasti. Z rôznych technologických fáz výroby boli v dňoch 0. a po 1, 2, 4, 6 a 9 mesiacoch fermentácie odobraté vzorky na analýzu prítomnosti biogénnych amínov a mikrobioty muštu a vína.

Kultivačné mikrobiologické vyšetrenie

Zásobná suspenzia a ďalšie 10-násobné riedenia sa pripravili zo sterilných 1 ml vzoriek podľa pokynov normy ISO 6887-1 [20]. Z pripravených riedení sa následne vykonalo mikrobiologické kultivačné vyšetrenie vzoriek.

Stanovenie počtu kvasiniek a plesní

Kvantitatívne stanovenie bolo uskutočnené podľa normy ISO 21527-1. Prvé tri desatinné riedenia naočkované v objeme 0,1 ml na povrch agaru Dichloran Rose-Bengal Chloramfenikol (DRBC) (Hi-Media, India) obsahujúceho petón, dextrózu (glukózu), dihydrogenfosforečnan draselný, síran horečnatý, bengálska ruža, chloramfenikol, dichloran, agar, konečné pH 5,6±0,2. Inokulované platne sa inkubovali pri 25 °C počas 5 dní. Po inkubácii

sa na kvantifikáciu vybrali len inokulované Petriho misky obsahujúce počet kolónií nižší ako 150.

Stanovenie biogénnych amínov vo víne pomocou ultravysokoúčinnej kvapalinovej chromatografie s fluorescenčným detektorom

Na analýzu obsahu histamínu v experimentálnych vzorkách vín sa použil systém Thermo Scientific UHPLC (Dionex UltiMate 3000 RS) spojený s fluorescenčným detektorom (FLD). Na separáciu biogénnych amínov vo vzorkách vína sa použila kolóna YMC-Triart PFP (150 × 3,0 mm, 1,9 µm) pri prietoku 0,4 ml/min. Mobilná fáza pozostávala z (A) acetonitrilu a (B) 0,1 mol/l octanu amónneho a použila sa izokratická elúcia 55 % (A):45 % (B). Teplota kolóny sa udržiavala na 25 ± 0,5 °C. Do UHPLC sa vstreklo 5 µl vzorky. Vlnová dĺžka excitácie a emisie bola v detektore FLD nastavená na 320 nm a 523 nm. Identifikácia histamínu sa vykonala porovnaním jeho retenčného času s príslušným štandardom. Kvantifikácia vo vzorkách vína sa vykonala pomocou štandardnej krivky vytvorenej pomerom plochy píku ku koncentrácii každého biogénneho amínu.

Štatistická analýza

Získane výsledky analýz v tomto experimente boli vyjadrené ako priemer ± smerodajná odchýlka (SD). Prostredníctvom softvéru GraphPad Prism 8.3 (GraphPad Software, San Diego, California, USA) bola vykonaná jednocestná analýzy rozptylu hodnôt (ANOVA) spolu s Tukeyho testom pre viacnásobné porovnanie priemerov na hladine štatistickej významnosti $p < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vo víne sa celková koncentrácia biogénnych amínov môže pohybovať od niekoľkých mg/l do približne 50 mg/l (Lehtonen, 1996) a okrem iných chemických zlúčenín, ako sú polyfenoly, sa môže považovať za ukazovateľ autenticity vína (Herbert *et al.* 2005; Galgano *et al.* 2011). V skutočnosti stále chýbajú právne predpisy zaoberajúce sa limitmi obsahu biogénnych amínov vo víne, neboli doposiaľ legislatívne stanovené. V niektorých európskych krajinách sa však odporúčajú horné limity pre obsah histamínu vo víne, ktoré sa pohybujú v rozmedzí 2-10 mg/l (Manetta *et al.* 2016). Tabuľka č. 1 uvádza výsledky stanovenia obsahu histamínu vo vzorkách vína a výsledky stanovenie počtov kvasiniek a mikroskopických vláknitých húb.

Tabuľka č. 1, výsledky stanovenia obsahu histamínu vo vzorkách vína a výsledky stanovenie počtov kvasiniek a mikroskopických vláknitých húb

Čas odberu	*Premenná*	*Hodnota*
0 deň	Histamín	$9,89 \pm 0,02^{a}$ µg/ml
	Počet kvasinky a plesne	$4,30 \pm 0,03^{b}$ log KTJ/ml
1 mesiac	Histamín	$7,25 \pm 0,05^{b}$ µg/ml
	Počet kvasinky a plesne	$4,60 \pm 0,02^{a}$ log KTJ/ml
4 mesiac	Histamín	$5,24 \pm 0,02^{c}$ µg/ml
	Počet kvasinky a plesne	$3,30 \pm 0,02^{c}$ log KTJ/ml
6 mesiac	Histamín	$2,91 \pm 0,00^{d}$ µg/ml
	Počet kvasinky a plesne	$2,50 \pm 0,12^{d}$ log KTJ/ml
9 mesiac	Histamín	$2,62 \pm 0,01^{e}$ µg/ml
	Počet kvasinky a plesne	$2,10 \pm 0,04^{e}$ log KTJ/ml

Zdroj: Vlastná tabuľka

Legenda: Priemery zdieľajúce zhodný hodný index (a-e) v stĺpci príslušného parametra (histamín resp. počet kvasiniek a plesní) nie sú vzájomne štatisticky významné (Tukeyho text, $p < 0,05$).

Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že doba zrenia mala signifikantný vplyv na obsah histamínu a taktiež aj na mikrobiologickou analýzou stanovený počet kvasiniek a plesní v odobratých vzorkách vína počas jeho technologického procesu výroby ($p < 0.001$). Počas doby experimentu bol zaznamenaný postupný pokles obsahu histamínu, ako aj počtu kvasiniek a mikroskopických vláknitých húb v závislosti od fázy odberu vzoriek.

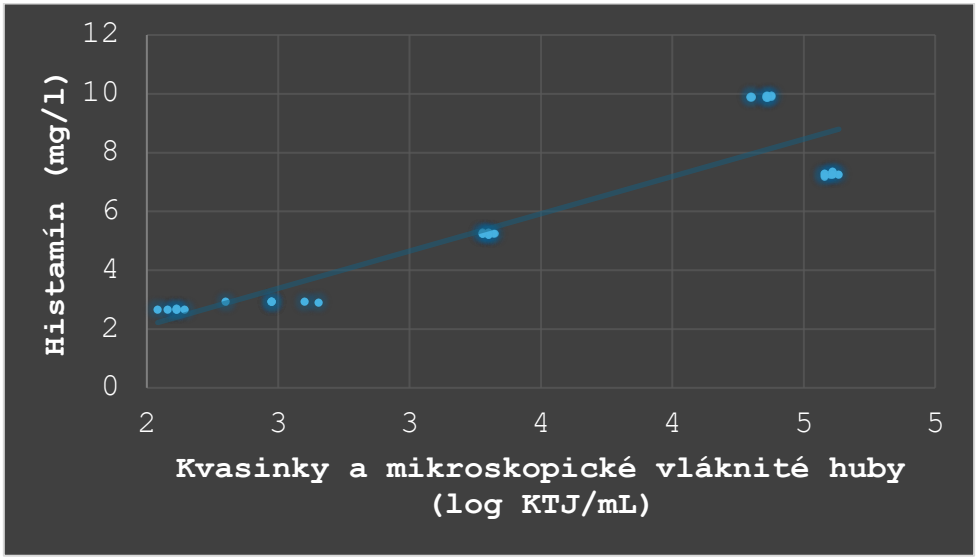
Graf č. 1 zobrazuje lineárnu závislosť medzi obsahom histamínu a počtom kvasiniek a mikroskopických vláknitých húb. Pomocou štatistickej analýzy bol vypočítaný pozitívny korelačný koeficient týchto dvoch analyzovaných parametrov $r= 0,92$ na hladine štatistickej významnosti $p < 0,001$).

Vysoké koncentrácie biogénnych amínov boli zistené vo fermentovaných potravinách, kde môžu mať endogénny pôvod v nízkych koncentráciách, v nefermentovaných potravinách ich koncentrácie sa vplyvom starnutia a skladovanie zvyšujú (Kohajdová a Karovičová 2001).

Skonštatovalo sa, že biele víno ma vo všeobecnosti nižšie limity BA ako červené, a to pretože jablčno-mliečna fermentácia neprebieha v procese výroby bieleho vína (Latorre-Moratalla *et al*. 2012). Akýkoľvek druh potraviny vyrobený alebo vystavený mikrobiálnej kontaminácii počas spracovania alebo skladovania môže obsahovať BA. Pokiaľ ide o zdravotné riziká, existuje len málo právnych predpisov o nízkych koncentráciách BA, ktoré sú nevyhnutné pre určité množstvo fyziologických funkcií u ľudí, pôsobiacich ako hormóny alebo neurotransmitery. Kľúčové úlohy BA sú dôležité pre obnovu a metabolizmus v orgánoch, rast,

pre metabolickú aktivitu normálneho fungovania, pre reguláciu teploty, imunitného systému čreva. Pri vysokých koncentráciách môžu vyjsť najavo účinky ako sú nevoľnosť, bolesť hlavy, migréna, kožná alergia, hypotenzia (nízky krvný tlak), hypertenzia (vysoký krvný tlak) a tráviace problémy (Sun *et al.* 2014).

Graf č. 1, Závislosť medzi obsahom histamínu a počtom kvasiniek a mikroskopických vláknitých húb



Zdroj: Vlastný graf

Skonštatovalo sa, že biele víno ma vo všeobecnosti nižšie limity BA ako červené, a to pretože jablčno-mliečna fermentácia neprebieha v procese výroby bieleho vína (Latorre-Moratalla *et al.* 2012). Akýkoľvek druh potraviny vyrobený alebo vystavený mikrobiálnej kontaminácii počas spracovania alebo skladovania môže obsahovať BA. Pokiaľ ide o zdravotné riziká, existuje len málo právnych predpisov o nízkych koncentráciách BA, ktoré sú nevyhnutné pre určité množstvo fyziologických funkcií u ľudí, pôsobiacich ako hormóny alebo neurotransmitery. Kľúčové úlohy BA sú dôležité pre obnovu a metabolizmus v orgánoch, rast, pre metabolickú aktivitu normálneho fungovania, pre reguláciu teploty, imunitného systému čreva. Pri vysokých koncentráciách môžu vyjsť najavo účinky ako sú nevoľnosť, bolesť hlavy, migréna, kožná alergia, hypotenzia (nízky krvný tlak), hypertenzia (vysoký krvný tlak) a tráviace problémy (Sun *et al.* 2014).

BA predstavujú potenciálne riziko pre verejné zdravie vzhľadom na ich fyziologické a toxikologické účinky. Aromatické amíny ako sú tyramín a tryptamín vykazujú vazokonstrikčný účinok, zatiaľ čo histamín a serotonín majú vazodilatačný účinok. Tyramín a histamín účinkujú aj ako hormonálne mediátory u ľudí a zvierat. Dopamín a serotonín sú neurotransmitery v

centrálnom nervovom systéme. Kadaverín, spermín, spermidín a putrescín nemajú nepriaznivý vplyv na zdravie, ale môžu zareagovať s dusitanmi za vzniku karcinogénnych nitrózamínov a môžu byť indikátormi kazenia potravín. Intoxikácia jedlom sa môže vyskytnúť v spojení s potenciálnymi faktormi, ako je monoaminooxidáza inhibujúca lieky, alkohol a vyvolať rôzne gastrointestinálne ochorenia (Eerola *et al.* 1997).

ZÁVER

Experiment sa zaoberal sledovaním vzájomnej súvislosti medzi dvoma analyzovanými parametrami vína. Z jednotlivých etáp technologického procesu výroby bieleho vína boli odobrané vzorky v ktorých boli sledované dva ukazovatele, obsah histamínu a počet kvasiniek a mikroskopických vláknitých húb. Z dosiahnutých výsledkov bola zistená vzájomná pozitívna korelácia dvoch sledovaných premenných a taktiež postupný pokles oboch parametrov v závislosti od fázy výroby vína. Avšak, pre štúdium viacerých vplyvov na obsah biogénnych amínov vo víne, je nevyhnutné hlbšie skúmanie a využitie komplexnejších štatistických metód ako napríklad použitie analýzy hlavných komponentov alebo viacnásobnej faktorovej analýzy.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Vedeckou grantovou agentúrou Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky a Slovenskej akadémie vied projektom VEGA 1/0156/21.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J. *Chemie potravin II*. 3. vyd. Tábor : OSSIS, 2009. 623 s. ISBN 978-80-86659-176.
2. KOPŘIVA, V. *Vybrané kapitoly z biochémie potravín*. Brno: Veterinárni a farmaceutická univerzita Brno, 2014. 200 s. ISBN 978-80-7305-677-3.
3. KOHAJDOVÁ, Z., KAROVIČOVÁ, J. Biogénne amíny − vznik, metódy stanovenia a výskyt v potravinách. In *Bulletin potravinárskeho výskumu (Bulletin of Food Research)*. ISSN 0231-9950, 2001, vol. 40, s.75-89.
4. ALMEIDA, C. – FERNANDES, J.O. – CUNHA, S.C. A novel dispersive liquid-liquid microextraction gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) method for the determination of eighteen biogenic amines in beer. In *Food Control*. ISSN 1873-7129, 2012, vol. 25, p. 380-388.
5. ANDORRÀ, I. et al. Wild yeast and lactic acid bacteria of wine. In *Yeasts in Biotechnology*. London : IntechOpen, 2019. ISBN 978-1-83881-228-7, 134 p.

6. SIMON-SARKADI, L. et al. Effect of high hydrostatic pressure processing on biogenic amine content of sausage during storage. In *Food Research International*. ISSN 1873-7145, 2012, vol. 47, no. 2, p. 380-384.
7. MANETTA, et al. 2016. Evaluation of biogenic amines in wine: Determination by an improved HPLC-PDA method. Food Control. 62, 351–356.
8. LEHTONEN, P. 1996. Determination of amines and amino acids in wine. A review. Am. J. Enol. Viticult. 47, 127–133.
9. HERBERT, P. et al. 2005. Free amino acids and biogenic amines in wines and musts from the Alentejo region. Evolution of amines during alcoholic fermentation and relationship with variety, sub-region and vintage. J. Food Eng. 66, 315–322.
10. GALGANO, F. et al. 2011. Authentication of Italian red wines on the basis of the polyphenols and biogenic amines. Eur. Food Res. Technol. 232, 889–897.

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; E-mail: boris.semjon@uvlf.sk

BIOGÉNNE AMÍNY VO VÍNE A FAKTORY OVPLYVŇUJÚCE ICH MNOŽSTVO

BIOGENIC AMINES IN WINE AND FACTORS INFLUENCING THEIR QUANTITY

Semjon Boris, Spišáková Klára, Bartkovský Martin, Šuľáková Lucia, Mesarčová Lýdia, Várady Matúš, Koréneková Beáta, Megyesy Eftimová Zuzana, Marcinčák Slavomír

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

ABSTRACT

Biogenic amines presented in wine are important in human health, especially from the consumer's point of view. They belong to the important factors in the safety of wine production. They are compounds , which are metabolised in vivo, however, they may cause injurious effects in susceptible individuals. Adjusting the conditions of the technological process of wine production and environmental factors seems to be a suitable way to reduce their concentration. Systematic research into the formation of histamine and other biogenic amines in produced wines using modern statistical methods is essential. Application of multiple factor analysis to the data obtained in wine studies may help to understand the relationship to the formation and reduction of biogenic amines in wine.

Key words: wine, quality, statistics, histamine

ÚVOD

Biogénne amíny (BA) sú látky z nízkou molekulárnou hmotnosťou na organickej báze, môžu sa tvoriť vo fermentovaných potravinách a nápojoch v bakteriálnych metabolických procesoch prostredníctvom špecifických dekarboxyláz aminokyselín, alebo ako produkty spontánnych chemických reakcií (Beneduce *et al.*, 2010)**Chyba! Nenašiel sa žiaden zdroj o dkazov.**. Ich prítomnosť bola zaznamenaná vo vzťahu ku klimatickým a geologickým faktorom regiónov vinohradov a taktiež aj ku podmienkam pri kvasení vína (Cecchini - Morassut, 2010). Tvorba biogénnych amínov vo víne môže prebiehať v rôznych fázach výroby. Niektoré biogénne amíny sú formované už vo viniciach a sú prirodzenými zložkami hrozna, pričom ich obsah závisí od variety, pôdneho typu a zloženia, hnojenia a klimatických podmienok počas rastu a stupňa dozrievania hrozna (Restuccia *et al.*, 2018). Biogénne amíny sa formujú vo víne prevažne vo fermentačnom procese prostredníctvom kvasiniek a baktérií mliečnej fermentácie (Manetta *et al.* 2016). BA sa môžu formovať vo víne prostredníctvom kvasiniek počas alkoholovej fermentácie a tiež aj baktériami v procese jablčno-mliečnej fermentácie. Tvorba

amínov je komplexný a viacfaktorový fenomén. Neexistuje všeobecný konsenzus v ktorom kroku výroby vína je podporované hromadenie BA (Restuccia *et al.*, 2018). Pri výrobe vína je potrebné vziať do úvahy všetky faktory, ktoré vychádzajú z vinohradníckych postupov, alkoholovej a jabĺčno-mliečnej fermentácie a fyzikálno-chemického zloženia vína, ako aj zrenie a skladovanie vína**Chyba! Nenašiel sa žiaden zdroj odkazov.** (Košmerl – Šućur – Prosen, 2013).

Väčšina BA vo víne vzniká reakciou mikrobiálneho katabolizmu aminokyselín a to je hlavne dekarboxylácia. Veľký rozsah bakteriálnych rodov má tu schopnosť dekarboxylovať aminokyseliny. Štúdie naznačujú, že táto reakcia napomáha k ich rastu a prežitiu v kyslom prostredí, pretože sa zvyšuje pH. Vo víne môže byť dekarboxylovaných väčšina aminokyselín, ktoré sa vo víne nachádzajú ale vo výsledku sa najčastejšie tvoria histamín, tyramín, putrescín, kadaverín a fenylalanín (Anli, 2008). Na dekarboxylácii aminokyselín sa väčšinou zúčastňuje pyridoxalfosfát ako kofaktor. Z aminokyselín sa z pyridoxalfosfátu vytvára "Schiffova báza". Kladne nabité atómy dusíka pyridínového kruhu priťahujú elektróny. Týmto sa vytvára priaznivý mezomérny stav, ktorý môže vzniknúť len vtedy, ak sa na α - C atóme aminokyseliny eliminuje substituent ako katión. Môže to byť zvyšok R touto cestou to prebieha len v špeciálnych prípadoch napr. u serínu alebo karboxylová skupina (dekarboxyláza). Mezomérny medzistav sa potom stabilizuje adíciou jedného protónu na α - C a hydrolýzou Schiffovej bázy na primárny amín (Kohajdová a kol., 2008).

Faktory ovplyvňujúce tvorbu biogénnych amínov

„Tvorba biogénnych amínov je podmienená niekoľkými faktormi a to najmä kyslosť prostredia (pH), aktivita vody, použitými štartovacími kultúrami, obsah soli a dĺžka a teplota skladovania“ (Čuboň a kol., 2019).

pH

Veľmi dôležitým faktorom, ktorý ovplyvňuje dexarboxylázu aminokyselín je pH. Najdôležitejšími mikroorganizmami, ktoré tvoria biogénne amíny sú tie, ktoré neznášajú kyslé prostredie. Existujú dva mechanizmy, ktoré pôsobia súčasne. Jeden mechanizmus ovplyvňuje zvyšovanie kyslosti a zároveň inhibuje rast mikroorganizmov. Druhý mechanizmus má vplyv na aktivitu a tvorbu enzýmu. V prostredí s nižším pH sú baktérie viac stimulované na produkciu dekarboxylázy ako súčasť obranných mechanizmov proti kyslosti. Tieto mechanizmy, ktoré pôsobia súčasne, sú navzájom ovplyvňované a ich celkový výsledok závisí od ich rovnováhy. Optimálne pH pre dekarboxyláciu aminokyselín je v rozmedzí 2,5- 6,5. (EFSA, 2011; Čuboň a kol., 2019). Mliečne kvasenie je spojené s prostredím s nízky pH, ktoré je potrebné pri

fermentácii. Kmene so špecifickými dekarboxylázami aminokyselín, produkujú biogénne amíny na potlačenie stresu v kyslom prostredí. Niektorí autori naznačujú, že rýchle okyslenie môže znížiť produkciu biogénnych amínov, ktorá súvisí s poklesom rastu dekarboxylačných mikroorganizmov. Nízke pH predstavuje potenciálne riziko akumulácie biogénnych amínov v konečnom výrobku, avšak tento parameter je neoddeliteľnou súčasťou fermentácie, a preto je ťažké s ním pracovať (Linares et al., 2012).

Teplota

Teplota je parameter, ktorý zohráva pri výrobe vína dôležitú úlohu. Ovplyvňuje spektrum populácií mikroorganizmov a taktiež ich rýchlosť rastu. Pri optimálnej teplote je rýchlosť zväčšovania generácie najrýchlejší. Táto optimálna teplota je odlišná pri rôznych druhoch a kmeňoch baktérií a tiež aj od samotného prostredia, v ktorom sa nachádzajú. Pre baktérie *Oenococcus oeni* je ideálna teplota od 27 do 30°C, ale táto teplota sa mení, ak tieto baktérie nachádzajú v alkoholovom prostredí. Vtedy je ich optimálna teplota rastu od 20 až 23°C. Rast sa spomaľuje so znižovaním teploty a pri teplotách 14-15 °C je malolaktická fermentácia takmer nemožná. (Ribéreau - Gayon, 2005). Keď obsah alkoholu stúpne na 13–14% objemu alkoholu, optimálna teplota klesne. Rast sa spomaľuje so znižovaním teploty a okolo 14–15°C, kedy môže byť fermentácia spomalená v dôsledku nízkej teploty. Taktiež pri vysokých teplotách 25°C a viac sa zvyšuje riziko bakteriálneho znehodnotenia a zvýšenie obsahu prchavých kyselín (Ribéreau - Gayon, 2005). Biogénne amíny sú stabilné látky, ktoré aj po tepelnej úprave , mrazení alebo údení sa nachádzajú v potravinách (Erdag - Merhan - Yildiz, 2018).

Kyslík

Pri biosyntéze amínov zohráva významnú úlohu dostupnosť kyslíka. *Enterobacter cloacae* produkuje za aeróbnych podmienok asi o polovicu menej pustrescínu než za anaeróbnych podmienok. *Klebsiella pneumoniae* tvorí menej kadaverínu za aeróbnych podmienok než za anaeróbnych. Na tvorbu biogénnych amínov má vplyv aj redoxný potenciál. Zníženie redoxného potenciálu stimuluje tvorbu histamínu. Za prítomnosti kyslíku môže byť znížená histidín dekarboxyláza. Dostupnosť kyslíku má však nízky vplyv na produkciu fenyletylamínu, tyramínu a putrescínu produkované *Lactobacillus curvatus* (EFSA, 2011; Linares, 2012).

Cukry a kyseliny

Ďalšie faktory ako koncentrácia cukru či kyselina vinná môžu zohrávať dôležitú úlohu v potravinách, a však informácie o ich prínose nie sú dostatočne potvrdené. Štúdie však dokazujú, že prítomnosť kysleliny vinnej môže zvyšovať množstvo putrescínu produkovaného

Lactobacillus hilgardii. Bol zistený a zaznamenaný inhibičný účinok cukrov na katalytickú aktivitu hystidindekarboxylázy (EFSA, 2011).

Macerácia

Macerácia a samotná dĺžka macerácie hroznovej šupky môže do veľkej miery ovplyvňovať extrakciu fenolických, aromatických a ďalších zložiek hrozna ako sú polysacharidy, bielkoviny a aminokyseliny, ktoré sú prekurzormi biogénnych amínov. Kvôli tomuto poznatku je obzvlášť dôležité vedieť aké dôsledky môže spôsobovať doba macerácie na akumuláciu biogénnych amínov v samotnom produkte. Dlhšie doba macerácie výrazne zvyšuje koncentráciu biogénnych amínov (Anli, 2008). Je zaujímavé, že niektoré vína obsahujú väčšinu biogénnych amínov, zatiaľ čo iné vína len niektoré. V hrozne sa často vyskytuje putrescín a spermidín, zatiaľ čo ostatné len v malom množstve. Histamín, tyramín a putrescín sú hlavnými reprezentantmi biogénnych amínov vína avšak vo víne sa nachádzajú aj iné amíny, ktoré sú zvyčajne v nižších koncentráciách (Anli, 2008).

Obsah alkoholu

Etanol alebo alkohol je z pohľadu obsahu vína po vode druhou najpočetnejšou zložkou vína (Ribéreau - Gayon, 2005, 2006). Rovnako ako väčšina mikroorganizmov aj baktérie mliečneho kvasenia sú inhibované obsahom alkoholu. Do akej miery sú citlivé závisí od rodu, druhu a kmeňa baktérií. *Oenococcus oeni,* ktorý je využívaný na vykonanie malolaktickej fermentácie začína byť inhibovaný v prostredí nad 13-14% alkoholu. Baktérie sa množia vo víne a prispôsobujú sa prítomnosti alkoholu a tiež aj vínu ako celku. Okrem tolerancie kmeňa baktérií na alkohol sa líši ich adaptačná schopnosť a preto je zložité určiť hranicu, nad ktorou sa množia baktérie mliečneho kvasenia. (Ribéreau - Gayon, 2005, 2005)

Ostatné faktory

Obsah soli môže mať na produkciu biogénnych amínov väčšinou inhibičný účinok. Záleží však na tom, aká soľ alebo soliaca zmes bola použitá. Prídavkom dusitanovej soliacej zmesi môže byť výraznejšie spomalený rast ako pridaním rovnakého množstva soli. Ďalším dôležitým faktorom, ktorý môže pôsobiť na tvorbu biogénnych amínov môže byť použitie štartovacích kultúr (mikroorganizmy použité pri výrobe), vplyv prídavných látok ale aj hygiena pri výrobe. (Čuboň a kol., 2019).

Hygienické podmienky pestovania a zberu hrozna vplývajú na hodnoty niektorých biogénnych amínov. Taktiež aj procesy ako nakvášanie rmutu u modrých odrôd hrozna ako aj macerácia šupiek pri produkcii vín typu „orange“ môžu zvýšiť obsah BA v produkovanom víne. Pri produkcii tokajských vín tzv. botritizácia hrozna (tvorba cibéb), sa taktiež zvyšuje obsah BA

nielen v hrozne, ale ovplyvňuje aj ich koncentráciu v Tokajských výberových vínach, ktoré sa vyrábajú pridaním rôznych množstiev cibéb, hrozna s ušľachtilou plesňou, k muštu a následnou maceráciou. Hygienické podmienky hrozna ovplyvňujú hladiny niektorých amínov (Manetta, et al. 2016). V záujme objasnenia vzťahov vrátane pozitívnych a negatívnych korelačných faktorov, ktoré sa podieľajú na formovaní biogénnych amínov vo výrobe a pri zrení vína je použitie viacnásobnej faktorovej analýzy ako jednej z moderných štatistických metód veľmi vhodné.

ZÁVER

Laboratórna analýza vína má mimoriadny význam napríklad aj z ekonomických dôvodov ako aj z dôvodov zdravotnej bezpečnosti. Kvalita vína a celkovo potravín sa v súčasnej dobe musí považovať za súlad medzi želaniami a potrebami spotrebiteľov a vnútornými a vonkajšími kvalitatívnymi vlastnosťami potravín. Definovať kvalitatívne vlastnosti vína napríklad z pohľadu jeho chemických parametrov je veľmi dôležité aj z pohľadu dôležitých informácii pre spotrebiteľov uvádzaných na ich komerčnom balení. Vyhodnotenie jednotlivých faktorov, ktoré môžu ovplyvniť kvalitu produkovaného vína je veľmi doležité, vyžaduje si predchádzajúce štúdium minimálne o technológiách jeho výroby a o faktoroch, ktoré jednotlivé parametre vína ovplyvňujú. Z pohľadu vyhodnotenia viacerých faktorov sa ponúka možnosť využitia štatistiky pre predikciu kvalitatívnych parametrov, napríklad použitie viacnásobnej faktorovej analýzy.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Vedeckou grantovou agentúrou Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky a Slovenskej akadémie vied projektom VEGA 1/0156/21.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Beneduce, L. et al. 2010. Biogenic amine in wines. Ann Microbiol. 60, 573–578.
2. Cecchini, F., Morassut, M. 2010. Effect of grap storage time on biogenic amines contentin must. Food Chem. 123, 263–268.
3. Restuccia, D. et al. 2018. Accumulation of Biogenic Amines in Wine: Role of Alcoholic and Malolactic Fermentation. Fermentation. 4, 1–18
4. Manetta, et al. 2016. Evaluation of biogenic amines in wine: Determination by an improved HPLC-PDA method. Food Control. 62, 351–356.

5. Košmerl, T, Šućur, S., Prosen, H. 2013. Biogenic amines in red wine: The impact of technological processing of grape and wine. Acta Agric. Slov. 101, 249–261.
6. Anli, R. E. et al. 2006. Biogenic Amine Content of Beers Consumed in Turkey and Influence of Storage Conditions on Biogenic Amine Formation. Journal of the Institute of Brewing. 112, 3, 267–274.
7. Kohajdová, Z. – Karovičová, J. – Grief, G. 2008. Biogénne amíny v potravinách. Potravinárstvo. 2, 1, 30–49.
8. Čuboň, J. a kol., 2019. Biogénne amíny. SciCell Magazín – Odborný online magazín [online]. 2019 [cit. 2019–04–27]. ISSN 2585–9137. Dostupné na internete: <https://www.scicell.org/2019/01/30/biogenne–aminy>
9. EFSA, 2011. Scientific Opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. EFSA Journal [online]. Dostupné na internete: <http://doi.wiley.com/10.2903/j.efsa.2011.2393>
10. Linares, D. M. et al. 2012. Factors Influencing Biogenic Amines Accumulation in Dairy Products. Frontiers in Microbiology. 3, 1–10.
11. Ribéreau-Gayon, P. et al. Handbook of Enology: The Microbiology of Wine and Vinifications [online]. 2005, vol.1, ISBN 9780470010365 Dostupné na internete: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/0470010363>
12. Erdag, D. – Merhan, O. – Yildiz, B. 2018. Biochemical and Pharmacological Properties of Biogenic Amines. Biogenic Amines [online]. Dostupné na internete: <https://www.intechopen.com/online-first/biochemical-and-pharmacologicalpropertiesof-biogenic-amines>

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; E-mail: boris.semjon@uvlf.sk

CHEMICKÉ ZLOŽENIE VYBRANÝCH DRUHOV DIVINY

CHEMICAL COMPOSITION OF SELECTED GAME SPECIES

Staruch Ladislav, Bodík Igor, Riečanová Rebeka

Ústav potravinárstva a výživy, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika

ABSTRACT

In the past, game meat was a common part of daily diet. Nowadays, despite its high nutritional value and quality parameters, game meat is less widespread and consumed. These parameters stem from the intravital influences of the animal, which affect the chemical composition of its meat. In this study, we focused on the chemical composition of meat from three species of free-ranging game animals. We determined the values using reference methods in three anatomical regions of the body. Our aim was to compare the water, protein and fat content with results from the scientific literature, between the different anatomical regions of the species and among the species of game animals that we examined.

Key words: game meat, meat, water, proteins, fat

ÚVOD

Divo žijúca zver je neodmysliteľnou súčasťou prírody už odpradávna. Je to zver, ktorá žije vo voľnej prírode a často je považovaná za symboliku voľnosti. Každé divo žijúce zviera má svoje charakteristické vlastnosti a prispôsobuje sa prostrediu, v ktorom žije. Divina sa svojou vysokou nutričnou hodnotou radí medzi jedno z najvýznamnejších mias. Dopyt po nej sa za posledné desaťročia zvýšil, a to aj z dôvodu, že tento druh mäsa neobsahuje zvieraťu podávané liečivá, hormóny, antibiotiká a iné produkty nepriaznivo vplývajúce na človeka. Vďaka týmto pozitívam sa divina stala atraktívnou potravinou a jej konzumácia sa rozšírila po celom svete, no najmä v krajinách strednej a stredomorskej Európy. V predkladanej práci sme sa zamerali na stanovenie obsahu vody, bielkovín a tuku u troch rôznych druhoch zveri. Na stanovenie boli použité vzorky z jeleňa, muflóna a diviaka, pričom skúmanými anatomickými časťami tela boli stehno, pliecko a krkovička. Pri stanovení týchto parametrov sme použili Kjeldahlovu metódu, Soxhletovu metódu a metódu na stanovenie sušiny. Následne sme tieto hodnoty porovnali s hodnotami uvedenými v odbornej literatúre.

MATERIÁL A METODIKA

V predkladanej práci bolo skúmaných 9 vzoriek. Vzorky boli získané v Poľovnom združení Plieška v Hontianskych Tesároch z troch druhov zvierat a to jeleň, muflón a diviak. Z každého druhu bol stanovovaný obsah vody, bielkovín a tuku v rôznych anatomických častiach. Do skúmania sme zaradili tri anatomické časti tela a to pliecko, krkovička a stehno. Všetky skúmané vzorky pochádzali zo zvierat samčieho pohlavia. Pri stanovení vzoriek sme mali približne 2 kg vzorky z každej skúmanej anatomickej časti, ktorú sme zhomogenizovali, a následne použili na stanovenie referenčnými metódami. Homogenizácia vzoriek prebiehala na homogenizátori s priemerom reznej dosky 2 mm priamo do mikroténového vrecúška. Následne, prebehlo kvartérne premiešanie vzorky, vďaka čomu bola vzorka pripravená na stanovenie. Pri nutričnej analýze sme sa zamerali na stanovenie:

- obsahu vody, (Príbela a kol., 1984),
- obsahu tuku, (Dubravický a kol., 1989)
- obsahu bielkovín, (STN ISO 1871, 1997)

Základ pri Kjeldahlovej metóde je stanovenie celkového dusíka a následný prepočet na obsah bielkovín. Stanovenie bielkovín pozostáva z troch laboratórnych metód v poradí za sebou: mineralizácia, destilácia a titrácia. (STN ISO 1871, 1997)

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Soriano et al. (2020) stanovoval vo svojej štúdii chemické parametre jeleňa, ktorých obsah vody je 76,69 ± 0,12 %, bielkovín 21,94 ± 0,13%, tuku 0,49 ± 0,07 a minerálnych látok 1,31 ± 0,02. Soriano uvádza, že divoké jelene, ulovené v iných oblastiach Európy dosahovali podobné výsledky s miernymi odchýlkami. U jeleňa, ktorý bol ulovený v Maďarsku boli stanovené hodnoty obsahu vody 76,9 %, bielkovín 21,7 % tuku 0,6 % a minerálnych látok 1,1 %. V našej vzorke, u jeleňa uloveného na Slovensku bol obsah bielkovín 21,30 %, tuku 0,91 % a minerálnych látok 1,17 %. Vzhľadom na toto porovnanie môžeme hodnotiť, že jelene ulovené v Európe majú pri stanovení základných parametrov medzi sebou podobné hodnoty s malými odchýlkami.

Sales a Kotrba (2013) sa venovali chemickým vlastnostiam diviny, kde stanovovaný obsah vody v daných vzorkách diviaka vyšiel 70,50 %, bielkovín 25,83 % a tuku 1,55 %. Modzelewska-Kapitula a Zmijewski (2021) uvádzajú, že pri dospelom jedincovi diviaka bol stanovený obsah bielkovín 24,40 ± 0,40 % a tuku 3,03 ± 0,03 %. V porovnaní s našimi vzorkami je obsah bielkovín 21,78 % a tuku 2,53 % v stehne nižší, no krkovička 14,82 % a pliecko 7,30 % mali zásadne vyššie hodnoty tuku.

Čuboň a Haščík (2019) uvádza, že obsah bielkovín u muflóna je 24,4 %. Vojtaššáková et al. (2002) uvádza obsah bielkovín 24,36 %, čo je hodnota podobná predchádzajúcej. Nami stanovená hodnota 21,01 % je nižšia ako uvádzajú autori v literatúre. Obsah tuku u daných dvoch autorov bol rovnaký 3,5 % pričom v našej vzorke mal tuk 3,46 %, čo predstavuje takmer rovnakú hodnotu.

Pri porovnaní našich hodnôt s dostupnou literatúrou evidujeme minimálne zmeny v chemickom zložení u daných druhov zveri z rôznych častí sveta od iných autorov. Jediné zásadné vychýlenie bolo u diviaka v anatomických častiach krkovička a pliecko, kde nami namerané hodnoty boli zásadne vyššie ako v dostupnej, odbornej literatúre. Rovnako chemické zloženie môže ovplyvniť aj lokalita a poľnohospodárske plodiny, ktoré boli zdrojom obživy daného jedinca.

Zverina sa zvyčajne označuje ako mäso z akejkoľvek poľovnej zveri vrátane kopytníkov, vtákov, plazov a obojživelníkov, mäsožravcov, hlodavcov a rôznych cicavcov, ktoré sú vhodné na ľudskú spotrebu (Kudrnáčová et al., 2018). Pod pojmom divina označujeme mäso zo zveriny po rozrábke (Ciberej, Krajniak, 2020).

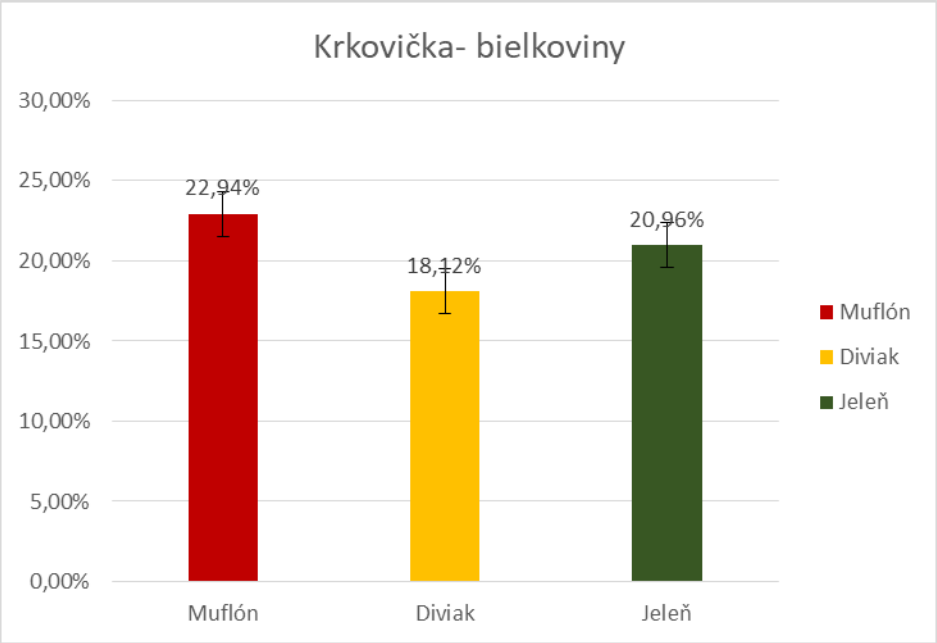
Tabuľka č.1, Spotreba mäsa [kg] na 1 obyvateľa SR ročne (Rajský, 2022)

Druh mäsa	2021	2020	2010	2000
Bravčové	39,0	37,5	30,8	33,1
Hydinové	23,7	25,6	19,0	17,1
Hovädzie	5,7	5,3	4,3	9,1
Zverina	**1,2**	**1,1**	**0,7**	**0,3**
Baranie, kozie, konské	0,2	0,2	0,2	0,3
Celková spotreba mäsa	70,0	69,9	55,8	60,9

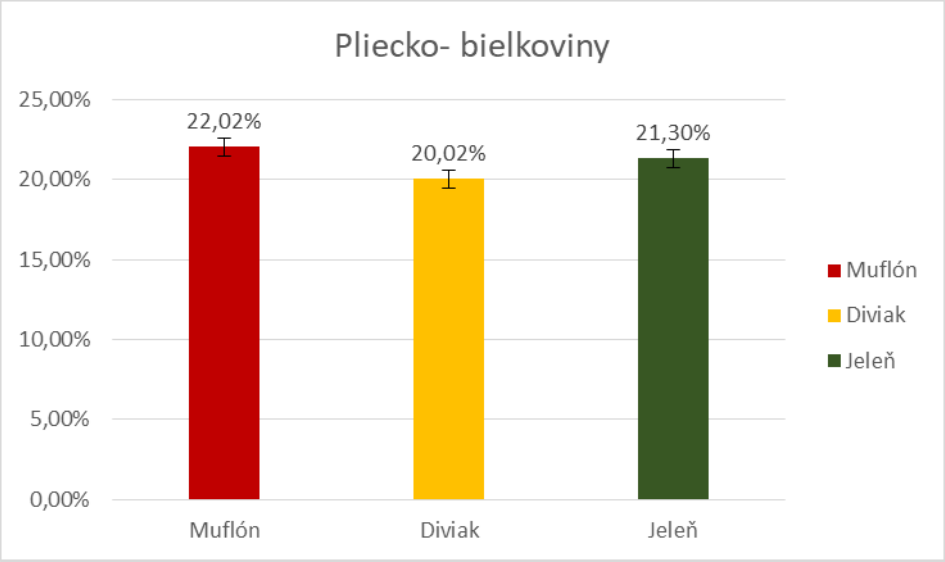
Spotreba diviny je v Európe pomerne nízka, keďže len 2 – 4 % populácie konzumuje tento druh mäsa. Vplývajú na to faktory ako nízka obchodná dostupnosť, vysoká cena a nedostatok receptov s mäsom z diviny. Nedávna štúdia v Taliansku poukázala na to, že nedostatok konzumácie diviny môže byť ovplyvnený nedostatočnou osvetou v sektore poľovníctva. Poľovníci a ich príbuzní vykazujú vyššiu spotrebu diviny. Pri snahe zvýšenia spotreby diviny u bežných spotrebiteľov by sa preto mali poskytovať predajcom informácie o nutričnej kvalite mäsa z diviny a jej možnom začlenení do vyváženej a zdravej stravy. V súčasnej dobe drží prvenstvo Španielsko v produkcii diviny v Európe, čo predstavuje 20 000 ton ročne (Soriano et al., 2020).

Na nasledujúcich obrázkoch uvádzame obsah bielkovín vo vybraných anatomických celkoch .

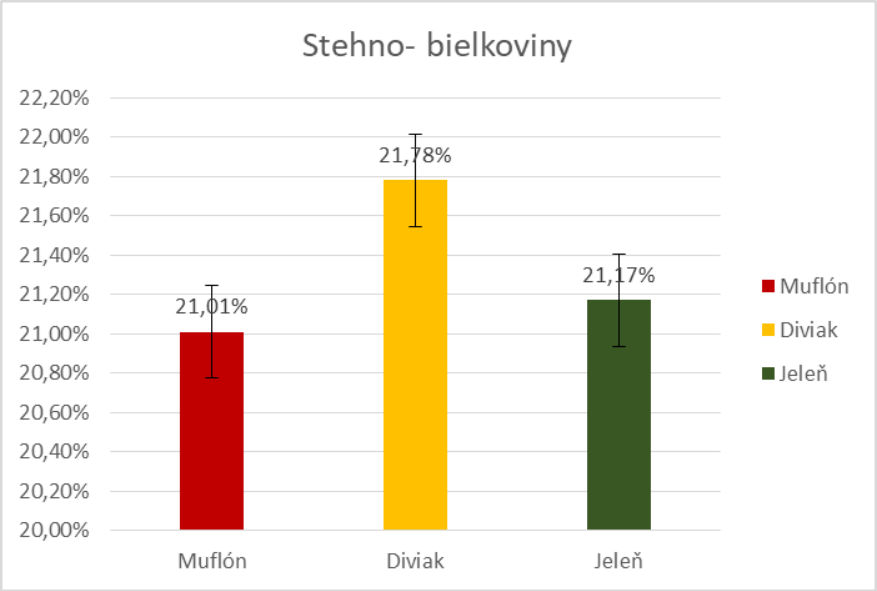
Obrázok č. 1, Porovnanie obsahu bielkovín v mäse u muflóna, diviaka a jeleňa v krkovičke



Obrázok č. 2, Porovnanie obsahu bielkovín v mäse u muflóna, diviaka a jeleňa v pliecku



Obrázok č. 3, Porovnanie obsahu bielkovín v mäse u muflóna, diviaka a jeleňa v stehne



Z dôvodu rozsahu príspevku detailnešie uvedieme charakteristiku a nutričné parametre anatomickych celkov mäsa muflóna.

Muflón lesný (*Ovis musimon*) je druh voľne žijúcej zveri, ktorého pravlasťou je Ázia. Do kontinentálnej Európy bol introdukovaný z izolovaných populácii na Korzike a Sardínii. Na Slovensko bol dovezený v rokoch 1868 a 1871 grófom Forgáchom. Historické poznatky poukazujú na to, že tento druh zveri sa nevyskytoval v Európe ani v medziľadovom období. Muflonia zver sa výborne zabývala v našom podnebnom pásme a prispôsobila našim podmienkam. V stredoeurópskych lesoch začala byť táto zver pozorovaná pred viac ako 130 rokmi a to práve na Slovensku. V dnešnej dobe muflónia zver dosahuje veľké počty v prírode a sa považuje už za pôvodný druh (Ferenec, 2022).

Obrázok č. 4, Muflón lesný (www.muflon-lesny.webnode.sk)

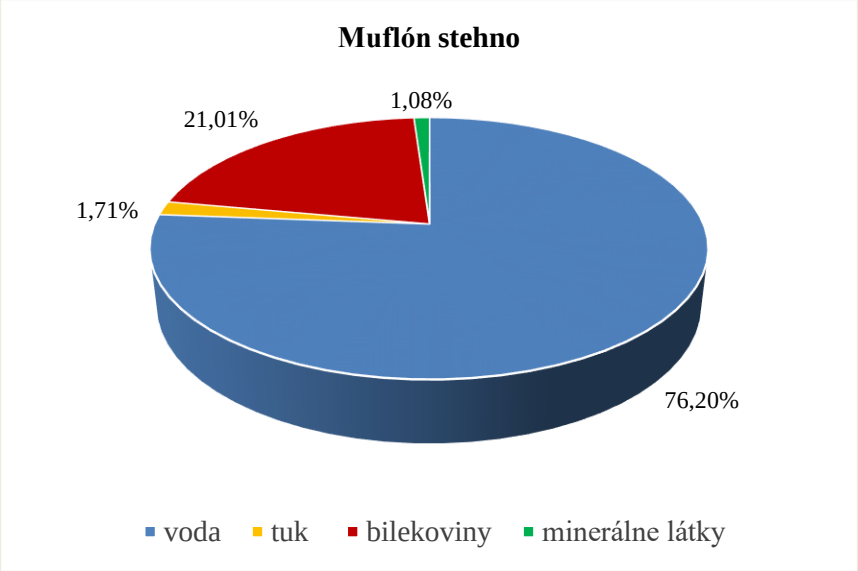


Muflonia zver je schopná sa prispôsobiť širokej škále prostredí od trópov, cez vysoké oblasti v miernych zemepisných šírkach s vysokými zrážkami. Táto rozmanitosť znamená, že druh je vysoko adaptabilný na klimatické extrémy.

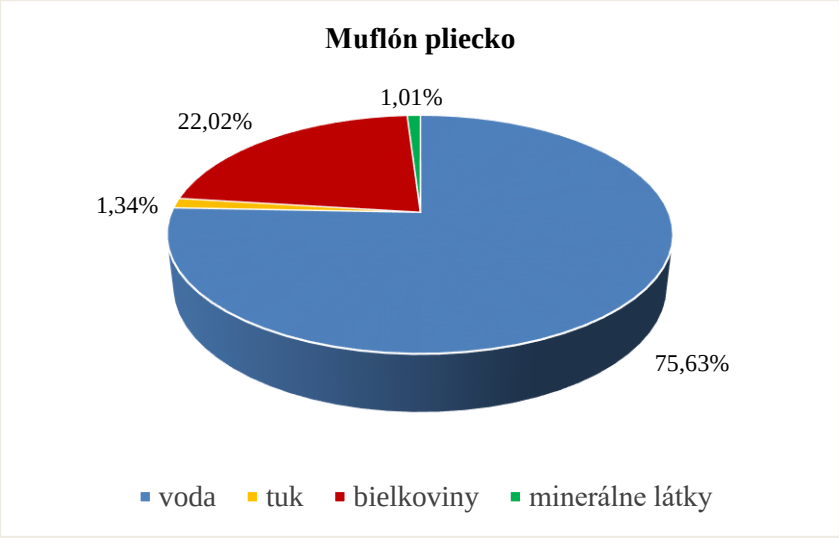
Sfarbenie muflóna lesného je hnedo - čierne no odlišuje sa na základe ročného obdobia. Samec je tmavohnedý s bielou škvrnou na bokoch tela a na spodnej strane krku má čiernu predĺženú srsť nazývanú rúno. Muflónica je svetlo hnedá a nemá rúno ani sedlo na bokoch tela. Hmotnosť tela muflonej zveri je od 26 kg do 45 kg podľa pohlavia. Výška v kohútiku dosahuje u muflóna 74 cm a u muflónice 69 cm (Ciberej, 2020).

Muflonia zver sa vyskytuje prevažne v listnatých a zmiešaných lesoch. Preferuje skalnaté, slnečné oblasti s redším porastom. Faktory, ktoré ovplyvňujú ich správanie pri hľadaní potravy zahŕňajú geografické oblasti ako typ vegetácie, pôdy, poveternostné podmienky, ktoré ovplyvňujú výber ich biotopov (Hinch, 2017). Hlavný príjem ich potravy tvorí tráva a byliny, ktoré spása niekoľko hodín denne. Obľubuje aj letorasty drevín, kry, lesné plody a v zimných mesiacoch lišajníky a machy (Ciberej, 2020).

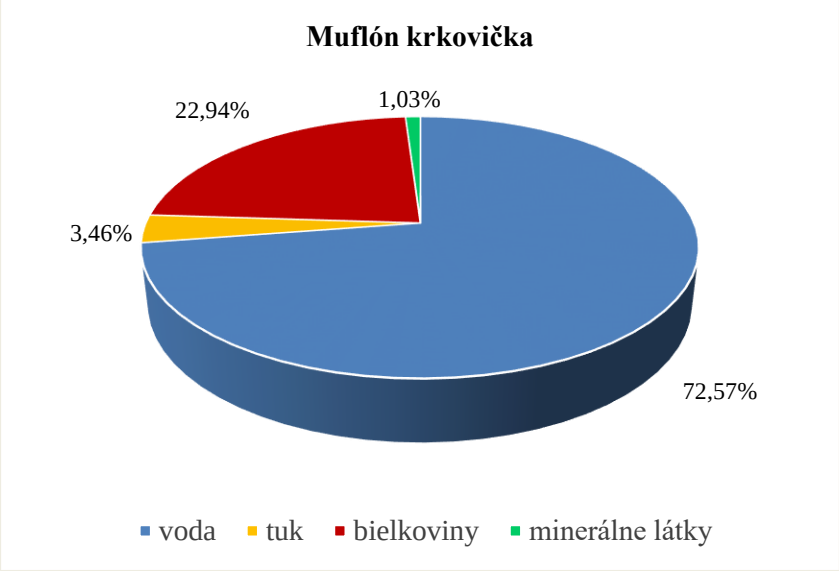
Obrázok č. 5, Chemické zloženie mäsa zo stehna muflóna



Obrázok č. 6, Chemické zloženie mäsa z pliecka muflóna



Obrázok č. 7, Chemické zloženie mäsa z krkovičky muflóna



ZÁVER

Prostredníctvom nami pripraveného dotazníku, ktorý nie je súčasťou tejto publikácie sme zistili, že respondenti získavajú divinu najčastejšie od známych, pričom iba pätina respondentov je poľovníkom. Divina je najčastejšie konzumovaná respondentmi 6 až 12-krát ročne. Najobľúbenejším druhom diviny je medzi respondentmi jeleň. Naopak najnižšie percento označilo muflóna, čo môžeme pripísať jeho špecifickej a aromatickej chuti. Za dôvod konzumácie diviny respondenti uviedli vysoký obsah bielkovín, hémových farbív a absenciu liečiv. Preferovaný zdroj získania diviny je z poľovníckych združení. Farmové chovy nie sú vo všeobecnosti až tak rozšírené a konzumenti si volia ľahší prístup k mäsu.

Pri jelenej zveri sme meraním zistili, že v priemere najvyšší obsah bielkovín sa nachádza v pliecku 21,30 %. Pri tukoch sme sa orientovali na najnižšie percento tuku, ktoré sa rovnako nachádza v pliecku z jeleňa 0,91 %.

U diviačej zveri najvyššia koncentrácia bielkovín sa nachádza v mäse zo stehna diviaka 21,78 % a zároveň stehno obsahuje najnižšie percento tuku 2,53 %. Naopak najnižšia hodnotia bielkovín 18,12 % a výrazne vyššie percento tuku 14,82 % sa nachádza v krkovičke.

Muflón v porovnaní s jeleňom a diviakom preukazuje najvyššie percento bielkovín v krkovičke 22,94 %. Najnižšie percento tuku 1,34 % sa nachádza, rovnako ako u jeleňa, v pliecku. Najnižšie percento bielkovín 21,01 % nájdeme u muflonej zveri v stehne a najvyššie percento tuku 3,46 % v krkovičke.

Zhrnutím výsledkov meraní vieme vyhodnotiť, že najvyššie percento bielkovín nájdeme u muflóna 22,94 %, a tuku 14,82 % u diviaka. Rovnako chemické zloženie môže ovplyvniť aj lokalita , poľnohospodárske plodiny, ktoré boli zdrojom obživy daného jedinca.

POĎAKOVANIE

„Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-22-0292.“

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. CIBEREJ, J. - KRAJNIAK, D. 2020. Posudzovanie, vyšetrenie a vyvrhnutie zveri a zveriny. In Lov zveri a poľovnícke plánovanie, Vydavateľ: Technická univerzita vo Zvolene, Vydavateľstvo TU vo Zvolene, Zvolen, 2020. ISBN 978-80-228-3223-6.
2. CIBEREJ, J., 2020. Biológia vybraných druhov srstnatej a pernatej zveri a ich zoologické zatriedenie. In Poľovnícka zoológia a biológia , Vydavateľ: Vydavateľ: Technická univerzita vo Zvolene, Vydavateľstvo TU vo Zvolene, Zvolen, 2020. ISBN 978-80-228-3221-2.
3. ČUBOŇ, J. - HAŠČÍK, P. 2019. Hodnotenie surovín a potravín živočíšneho pôvodu, Vydavateľ: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Vydavateľstvo SPU, Nitra, 2019. ISBN 978-80-552-2091-8
4. DÚBRAVICKÝ, J. – SMIRNOV, V. -ŠIMKO, P. 1989. Laboratórium odboru II. Technológia živočíšnych neúdržných potravín. Bratislava: Edičné stredisko SVŠT. 1989. 323 s. ISBN 80-227-0079-7.
5. FERENEC, J., 2022. Hrdý našinec s ostrovnými koreňmi. In Poľovníctvo a rybárstvo. 2022, roč. 74, č. 7. ISSN 0231-8768.

6. HINCH, N. G., 2017. Understanding the natural behaviour of sheep. In Woodhead Publishing Series in Food Science, Meat Science, [online]. 2017, p. 1-15. [cit. 2023-04-01]. Dostupné na internete: < https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100718-1.00001-7>. ISBN 9780081007181.
7. KUDRNÁČOVÁ, E. - BARTOŇ, L. - BUREŠ, D. - HOFFMAN, C., L. 2018. Carcass and meat characteristics from farm-raised and wild fallow deer (Dama dama) and red deer (Cervus elaphus). Meat Science, [online]. 2018, vol. 141: pp. 9-27, [cit. 2023-04-12]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.02.020>. ISSN 0309-1740.
8. MODZELEWSKA-KAPITULA, M. - ŻMIJEWSKI, T., 2021. The influence of age and gender on the quality of raw and roasted wild boars (Sus scrofa) meat, Meat Science, [online]. 2021, vol. 181. [cit. 2023-04-12]. Dostupné na internete: < https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108600>. ISSN 0309-1740.
9. PRÍBELA, A. – ŠOMAN, L. – SMIRNOV, V. 1984. Návody na laboratórne cvičenie z analýzy potravín. Bratislava: Slovenská vysoká škola technická. 1984. 388 s. ISBN 80-277-0079-7.
10. RAJSKÝ, M. 2002. Divina je trendová, a čo my?. In Poľovníctvo a rybárstvo. 2022, roč. 75, č. 2. ISSN 0231-8768.
11. SALES, J. - KOTRBA, R., 2013. Meat from wild boar (Sus scrofa L.), Meat Science, [online]. 2013, vol. 94: p. 187-201, [cit. 2023-04-14]. Dostupné na internete: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.01.012>. ISSN 0309-1740.
12. SORIANO, A. - MURILLO, P. - PERALES, M. - SÁNCHES-GARÍA, C. - MURILLO, J., A. - GARCÍA RUIZ, A. 2020. Nutritional quality of wild Iberian red deer (Cervus elaphus hispanicus) meat: Effects of sex and hunting period. Meat Science, [online]. 2020, vol. 168, [cit. 2023-05-01]. Dostupné na internete: < https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108189>. ISSN 0309-1740.
13. STN ISO 1871: 1997, Poľnohospodárske potravinárske výrobky. Všeobecné pokyny na stanovenia dusíka metódou podľa Kjeldahla
14. VOJTAŠŠÁKOVÁ, A. - KOVAČÍKOVÁ, E. - PASTOROVÁ, J. - MOSNÁČKOVÁ, J. - SIMONOVÁ, E. - HOLČÍKOVÁ, K. 2002. Mäso jatočných zvierat – Potravinové tabuľky, Vydavateľstvo ÚVTIP Nitra, Nitra, 2002. ISBN 80-89088-10-4.

Kontaktná adresa: Staruch Ladislav, Institute of Food Science and Nutrition, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology in Bratislava, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovak Republic; E-mail: ladislav.staruch@stuba.sk

VLIV EXTRAKČNÍCH PODMÍNEK NA ANTIOXIDAČNÍ PŮSOBENÍ ROSTLIN Z ČELEDI HLUCHAVKOVITÉ

THE EFFECT OF EXTRACTION CONDITIONS ON THE ANTIOXIDANT EFFECT OF LAMIACEAE PLANTS

Škrovánková Soňa, Mlček Jiří, Vlková Nikola

Department of Food Analysis and Chemistry, Faculty of Technology, Tomas Bata University in Zlín, Vavrečkova 5669, 760 01 Zlín, Czech Republic

ABSTRACT

Less known *Lamiaceae* plants such as white nettle (*Lamium album*), motherwort (*Leonurus cardiaca*), and Chinese skullcap (*Scutellaria baicalensis*) are utilized mainly because of their health promoting properties. These plants contain nutritionally and biologically important compounds such as antioxidants (vitamins, minerals, and polyphenols). The effect of the herb extraction temperature (100 °C, 80 °C, 70 ºC) on the amount of polyphenols (Folin-Ciocalteu method) and antioxidant activity (DPPH, IC50, and ABTS methods) was determined. The content of plant extracts polyphenols was in the descending order: Chinese skullcap, white nettle, and motherwort. Same order of plant extracts efficiency was stated for antioxidant activity assessment. The highest extraction temperature (100 °C) was the most effective for obtaining of the highest amount of antioxidants, then the extraction at 80 °C, and the least effective was 70 ºC extraction. Similar results were discovered for antioxidant activity assessment. Chinese skullcap and white nettle belong to plants with higher content of biologically active compounds and good antioxidant activity.

Key words: *Lamiaceae* plants, polyphenols, antioxidant activity, DPPH, ABTS

INTRODUCTION

Many biologically active compounds are known for their antioxidant activity. Antioxidants from exogenous sources, plant foods, such as vegetables (Meitha et al., 2020), fruits (Skrovankova et al., 2015), beverages (Snopek et al., 2018), spices and herbs (Parham et al., 2020), are important sources of these compounds for humans. Important biologically active substances include compounds such as vitamins, polyphenols and minerals. The consumption of polyphenols is believed to play a significant role in improving human health (Di Lorenzo et al., 2021) as an inverse relationship has been found between dietary intake of foods high in antioxidants and the incidence of many human diseases (Sinaga et al., 2018).

Plants of *Lamiaceae* family belong to a group of herbs that are also important for their antioxidant effect. They can be used to enhance the overall flavor of foods and dishes as spices and for their beneficial biological effects, as herbal infusions, on human health as well (Opara and Chohan, 2014). Among the important best-known plants of *Lamiaceae* family are sage, peppermint, buckwheat, eucalyptus, motherwort, and honeysuckle. To lesser-known herbs of this family, that are studied in this research, are white nettle (*Lamium album*), motherwort (*Leonurus cardiaca*) and Chinese skullcap (*Scutellaria baicalensis*).

White nettle contain compounds with antioxidant and antimicrobial effects, can regulate metabolic activity, have antiviral and cytoprotective effects. The phenolic substances in white nettle have considerable biological importance, especially as antioxidants. Thanks to these substances, they improve the effects of tumor inhibitors and have a positive effect on the cardiovascular system (Kelayeh et al., 2019). The herb contains essential oil, catechin, tannins, mucilage substances and flavonoids, and caffeic acid, which has a bactericidal effect, derivatives of cinnamic acid, alkaloids, phenylpropanoids and their glycosides, and quercetin. To other substances belong choline, saponins, and betaine. Pereira et al. (2012) identified verbascoside and isoverbascoside as the main constituents, which accounted for about 55% of the total polyphenols, substances with an antioxidant effect in the sample (Botirov, 2019).

Preparations from motherwort can be used for their cardiotonic, hypotonic, sedative and diuretic effect. The substance rutin predominates in the tincture from the heart plant, which has the greatest effect on the overall antioxidant activity. The antioxidant effect of motherwort is based on the ability to inhibit radicals and reactive forms of oxygen and nitrogen. It contains bitter leonurine, flavonoids, saponins, rutin, quercetin, and tannins, as well as essential oil (Fierascu et al., 2019).

The main components of Chinese skullcap include flavonoids that are found mainly in the form of glycosides. The content of flavonoids varies with the season and the place of cultivation. The most abundant flavonoid is baicalin (5,6,7-trihydroxyflavone-7-O-β-glucuronide). To other flavonoids and isoflavonoids belong oroxylin A, skullkapflavone I and II, neobaicalein, dihydrobaicalein. Glycosides such as wogonoside and scutellarin, and baicalin and baicalein are particularly important for promoting antioxidant activity. It was found that the protective effect in cells is caused not only by their antioxidant activity, but probably also by the interaction of baicalin with mitochondrial NADH dehydrogenase. Antioxidant, antibacterial, antiviral, anti-inflammatory, anti-allergic and sedative properties are among the main biological effects of extracts from Chinese skullcap (Wang et al., 2018).

The aim of the study was to investigate the antioxidant activity and polyphenol content of lesser-known *Lamiaceae* plants under different extraction conditions.

MATERIAL AND METHODOLOGY

Plant samples extraction. There were analyzed three types of *Lamiaceae* plants in dry form, white nettle (*Lamium album*, LA), motherwort *(Leonurus cardiaca*, LC), and Chinese skullcap *(Scutellaria baicalensis*, SB), purchased from the same manufacturer (Czech Republic). 1 g of sample was extracted with distilled water (50 ml; three temperatures, 100 °C, 80 °C, 70 ºC) under stirring in a shaker for 10 min. The extract was then filtered through a paper filter, transferred to a 100 ml volumetric flask and topped up. Then it was used for the analyses of TP, AA (DPPH and ABTS tests), and diluted for IC50.

Determination of Polyphenolic Content. Total phenolic (TP) content was determined by modified spectrometric method with Folin-Ciocalteau reagent (Pirbalouti, 2013). To 0.2 mL of each plant extract the Folin-Ciocalteau agent (2 mL; 10% (v/v); Penta Chemicals, Czech Republic) was added. After agitation it was left in the dark at lab temperature for 5 min, then 2 mL of 10% Na_2CO_3 solution was added and mixed again. After 15 min. of standing in the dark at lab temperature samples absorbances were measured at λ=765 nm on the spectrometer (Libra S6 Biochrom, GB) against blank. Gallic acid was used as a standard and results of TP were expressed as gallic acid equivalents (GAE) in mg/g dw (dry weight) sample. Determinations were made in triplicate.

Determination of Antioxidant Activity: Antioxidant activity (AA) was measured by modified DPPH spectrometric method (Tang *et al.*, 2015). To extract (0.2 mL) DPPH solution (3.8 mL; 0.2 mM) (Sigma Aldrich, Czech Republic) was added. The mixture was shaken and left for 60 min. at lab temperature in the dark. Absorbance of samples (A) and controls (CA) was measured at λ=517 nm on the spectrometer (Libra S6 Biochrom, GB). Inactivation (I; %) was calculated according to relation (1).

$$I = \frac{CA-A}{CA} . 100 \qquad (1)$$

Ascorbic acid was used as a standard and results of AA were expressed as ascorbic acid equivalents (AsAE) in mg/g dw sample. All determinations were made in triplicate.

Results of AA were expressed also as IC50 values. IC50 value represents 50% inactivation, the plant extract concentration that is required to scavenge 50% of DPPH free radicals. There were prepared 5 diluted herbal extract solutions (extracted at 100 °C) in the range 4 – 10 mg/mL. The reactive mixtures with DPPH solution were made in the same way as for AA. The IC50 values were quantified graphically and calculated by linear regression.

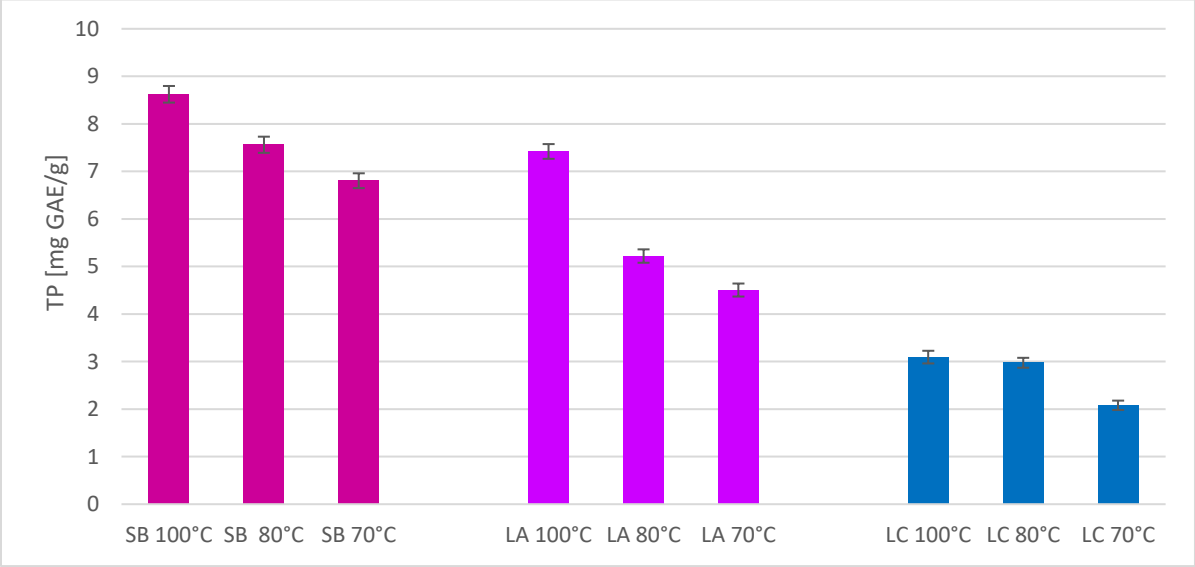
Antioxidant activity (AA) was measured also by another spectrometric method, modified determination with ABTS (Skrovankova *et al.*, 2018) for samples extracted at 100 °C. To extract (50 µL) 4 mL of reactive ABTS mixture ($K_2S_2O_8$; 0.06 M, and ABTS; 3.5 mM, and

acetate buffer, pH=4.3) was added, shaken and left for 30 min. at lab temperature in the dark. Absorbance of samples (A) and controls (CA) was measured at λ=734 nm on the spectrometer (Libra S6 Biochrom, GB). Inactivation (I; %) was calculated according to relation (1). Trolox was used as a standard and results of AA were expressed as trolox equivalents (TE) in mg/g dw sample. All determinations were made in triplicate.

Statistical analysis: The data were done as mean values ± standard deviation (SD). Statistic evaluation was made by Statistica StatSoft ver. 9.0 (USA). The results were compared with least significant different test (LSD) at a 95% confidence level ($p \leq 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Polyphenols are the most abundant antioxidants of plant and herbal products. By Folin-Ciocalteau method they are evaluated together with another important electron-donating antioxidants such as vitamin C (ascorbic acid) and others. The results of total polyphenols (TP) present in herbal samples (white nettle (LA), motherwort (LC), Chinese skullcap (SB)) after extraction with different temperatures (100 °C, 80 °C, 70 ºC) are shown in Picture 1.



Picture 1, Total polyphenols content (TP) of herbal samples at different extraction temperatures.

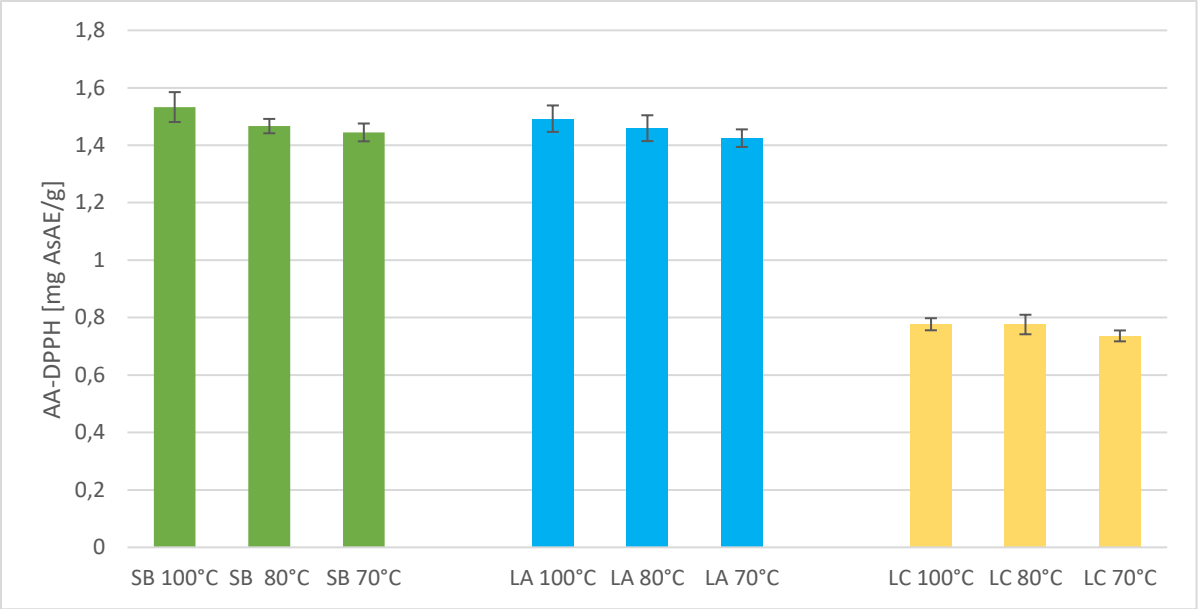
The range of TP values for herbal extracts at 100 °C was from 3.1 to 8.6 mg gallic acid equivalents/g, with the highest value for Chinese skullcap (SB), followed by white nettle (LA), and the lowest content was shown for motherwort (LC). Samples extracted at 80 °C achieved lower values (3.0 – 7.6 mg GAE/g), and the lowest polyphenol amount were measured in samples extracted at 70 °C (2.1 – 6.8 mg GAE/g). As expected, the highest extraction

temperature (100 °C) was the most effective for obtaining of the highest amount of antioxidants. In all cases the descending order for sample values was SB, LA, and LC with the average 6.4, 5.3 and 4.5 mg GAE/g, respectively. The differences were confessed between herbal extracts after different temperatures samples in the same form and between the forms as well (p <0.05, LSD test), the only exception was for the LC samples after 100 °C and 80 °C extraction.

The content of total polyphenols in the methanol extract of Chinese skullcap prepared from different parts of the plant studied Vaidya et al. (2014). The determination was carried out using the Folin-Ciocalteu reagent method. They determined the total content of polyphenols in fresh and dried plant extracts to be 91.8 and 185 mg GAE/g, respectively. The content of total polyphenols in the ethanol extract prepared from different parts of white nettle was determined according to the modified method with the Folin-Ciocalteu reagent by the authors of Pereira et al (2012). They determined the TP content at 24.24 mg GAE/g, which is a higher value than was determined in this work. Valyova et al. (2011) investigated the TP in *in vivo* and *in vitro* extracts of white nettle grown in Bulgaria. They found that the content of polyphenols is dependent on the polarity of the solvent used, when the values reached 21.45 to 103.12 mg GAE/g. The highest amount was determined in *in vivo* methanol extracts, lower in ethanol extracts, while *in vitro* extracts had up to two times less content. Weiguang and Hazel (2011) investigated the effect of herb drying (in the sun, at 40 and 70 °C) also on the TP content of methanolic and ethanolic extracts from motherwort. They determined the highest amount of polyphenols had herbal extract dried at 40 °C, using both solvents (max. for methanol 38.1 mg GAE/g). The differences of the determination against our results can be attributed to the different extraction conditions and the determination process.

The results of polyphenolic content in the given studies were different compared to our determination, which may be due to factors such as botanical origin, cultivar of the species, environmental and seasonal conditions can influence the presence of some representatives and the amount of compounds that act as antioxidants. Also, techniques used for determination (extraction solvent, its polarity, extraction conditions) can cause some variances too (Masetti et al. 2021).

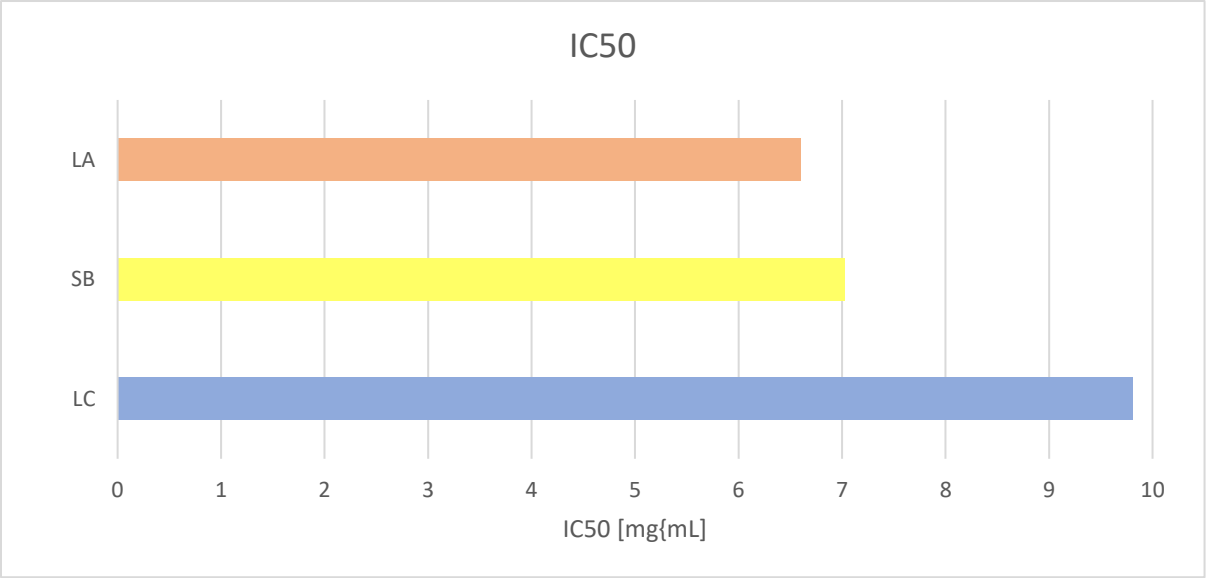
Antioxidant activity (AA) of herbal extracts was measured by DPPH method to show the radical scavenging activity. The antioxidant potential means overall hydrogen/electron-donating activity of present antioxidants. The AA results of samples (white nettle (LA), motherwort (LC), Chinese skullcap (SB)) after 100 °C, 80 °C, and 70 ºC extraction, are presented in Picture 2.



Picture 2, Antioxidant activity (AA-DPPH) of herbal samples at different extraction temperatures.

The values of AA (DPPH test) for all plant samples extracted at 100 °C were from 0.78 to 1.53 mg ascorbic acid equivalents/g, with similar values for SB and LA, and also similar results for all three temperatures for these plants (1.44 – 1.53 for Chinese skullcap (SB), and 1.42 – 1.49 mg AsAE/g for white nettle (LA), respectively). Therefore, it seems that temperature has no high impact on AA of these herbal extracts. Differences between these plant samples (p <0.05, LSD test) were not confirmed. The differences were determined between results of these two plants (SB, LA) and motherwort (LC) with the lowest activity, about half of the AA value of other plants. Differences of AA values for LC at all three temperatures were minimal.

AA determination, by IC50 concentration values, for herbal samples extracted at 100 °C (the highest TP contents and AA values) is demonstrated in Picture 3. IC50 means the concentration of the extract that is needed for 50% inhibition. The highest antioxidant activity is indicated by lowest IC50 value.

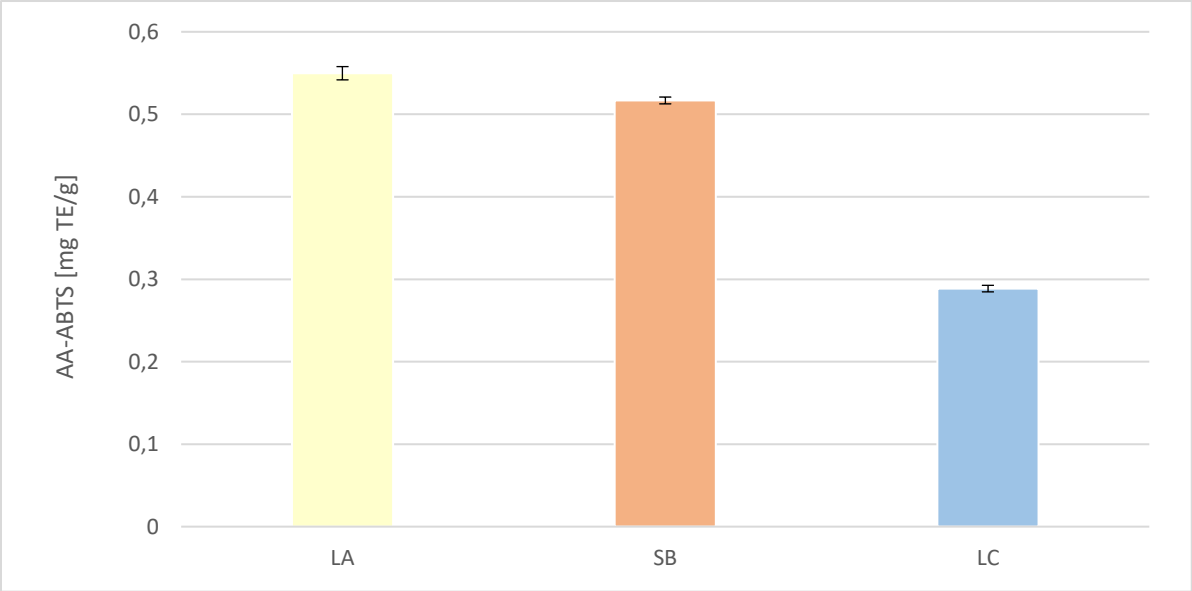


Picture n. 3, IC50 values (DPPH test) of herbal samples extracted at 100 °C.

Values of IC50 concentrations of herbal extracts were in the range 6.60 – 9.81 mg/mL, with the best antioxidant potential (lowest IC50) for white nettle (LA) followed by Chinese skullcap (SB) with similar result, and motherwort (LC). These results are consistent with the AA values of these extracts.

Gao et al. (1999) investigated the antioxidant activity of flavonoids contained in Chinese skullcap extracts. Using the DPPH method, they determined the values of IC50 concentrations in the ethanolic extracts to be from 24 to 32 μmol/mL. Baicalein and baicalin were determined as the most effective substances. Valyova et al. (2011) investigated the antioxidant activity of methanolic and ethanolic *in vivo* and *in vitro* extracts of bulgarian white nettle using the DPPH method. IC50 values were determined, when the lowest IC50 values, and therefore the highest AA, were achieved by methanolic and ethanolic *in vivo* extracts *in vivo* (20.6 – 49.9 μg/mL), significantly higher IC50 were determined for extracts *in vitro* (193, 8 – 274.4 μg/mL) and therefore lower AA. Armatu et al. (2010) investigated the antioxidant activity of motherwort in methanolic and ethanolic extracts. The inhibitory effect of free radicals determined by the DPPH method was around 47.8%.

Antioxidant activity (AA) of herbal extracts was measured also by ABTS method. The AA results of herbal samples (white nettle (LA), motherwort (LC), Chinese skullcap (SB)) after 100 °C extraction, that was considered as the most effective, are presented in Picture 4.



Picture n. 4, Antioxidant activity (AA-ABTS) of herbal samples extracted at 100 °C.

The values of antioxidant activity measured by ABTS method were from 0.29 to 0.55 mg Trolox equivalents/g, with similar values for white nettle (LA) and Chinese skullcap (SB). The lowest activity, almost half the value of the other samples, was determined for motherwort (LC). These results are consistent with the AA values of these extracts measured by DPPH test.

CONCLUSION

Polyphenols belong to the group of antioxidants that are often responsible for the antioxidant activity of plant products, together with vitamins, minerals and some others. The highest content of polyphenols and antioxidant activity of less-known studied *Lamiaceae* plants extracts (white nettle, motherwort, and Chinese skullcap) showed values in the descending order: Chinese skullcap, white nettle, and motherwort. The highest extraction temperature (100 °C) was the most effective for TP content and AA values, then the extraction at 80 °C, and the last one was 70 ºC extraction. Similar results were determined for antioxidant activity assessment. Generally, herbs of *Lamiaceae* family Chinese skullcap and white nettle belong to plants with higher content of biologically active compounds such as polyphenols and good antioxidant activity.

LITERATURE

1. ARMATU, A. et al. Evaluation of antioxidant and free scavenging potential of some Lamiaceae species growing in Romania. *Romanian Biotechnological Letters*. 2010, 15, 5274-5280.

2. BOTIROV, E.K. Flavonoids and Phenolcarboxylic Acids from *Lamium album*. *Chem. Nat. Compd.* 2019, 55, 1159–1160.
3. DI LORENZO, C. et al. Polyphenols and Human Health: The Role of Bioavailability. *Nutrients.* 2021, 13, 273. https://doi.org/10.3390/nu13010273.
4. FIERASCU, R.C. et al. *Leonurus cardiaca* L. as a Source of Bioactive Compounds: An Update of the European Medicines Agency Assessment Report. *Biomed. Res. Int*. 2019, 4303215. doi: 10.1155/2019/4303215.
5. KELAYEH, T.P.S. et al. A review on biological effects of *Lamium album* (white dead nettle) and its components. *J. Herbmed. Pharmacol*. 2019, 8, 185-193.
6. MASETTI, O. et al. NMR Tracing of Food Geographical Origin: The Impact of Seasonality, Cultivar and Production Year on Data Analysis. *Separations.* 2021, 8, 230. https://doi.org/10.3390/separations8120230.
7. MEITHA, K. et al. Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Postharvest Vegetables and Fruits, *International Journal of Food Science*. 2020, ID 8817778. https://doi.org/10.1155/2020/8817778.
8. OPARA, E.I., CHOHAN, M. Culinary Herbs and Spices: Their Bioactive Properties, the Contribution of Polyphenols and the Challenges in Deducing Their True Health Benefits. *Int. J. Mol. Sci*. 2014, 15, 10, 19183-19202.
9. PARHAM, S. et al. Antioxidant, Antimicrobial and Antiviral Properties of Herbal Materials. *Antioxidants.* 2020, *9*, 1309. https://doi.org/10.3390/antiox9121309.
10. PEREIRA, O.R. et al. Phenolic constituents of *Lamium album*: Focus on isoscutellarein derivatives. *Food Research International*. 2012, 48, 330-335.
11. PIRBALOUTI, A.G. et al. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoids contents of three herbs used as condiments and additives in pickles products. *Herba Polonica*. 2013, 59, 3, 51-62. doi.org/10.2478/hepo-2013-0016.
12. SINAGA, S.M. et al. Potency of chives (*Allium schoenoprasum* L.) leaves infuse as inhibitor calcium lithogenesis on urinary tract. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018, 11, 3, 77-80. doi:10.22159/ajpcr.2018.v11i3.22851.
13. SKROVANKOVA, S. et al. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Different Types of Berries. *Int. J. Mol. Sci*. 2015, 16, 10, 24673-24706. doi.org/10.3390/ijms161024673.
14. SKROVANKOVA, S. et al. Polyphenols and Antioxidant Capacity in Different Types of Garlic. *Potr. S. J. F. Sci.*. 2018, 12, 267-272.
15. SNOPEK, L. et al. Contribution of Red Wine Consumption to Human Health Protection. In *Molecules*. 2018, 23, 7, E1684. doi:10.3390/molecules23071684.

16. TANG, E.L. et al. *Petroselinum crispum* has antioxidant properties, protects against DNA damage and inhibits proliferation and migration of cancer cells. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2015, 95, 13, 2763-2771. doi:10.1002/jsfa.7078.
17. VAIDYA, B.N. et al. Antioxidant Capacity of Fresh and Dry Leaf Extracts of Sixteen Scutellaria Species, *Journal of Medicinally Active Plants*. 2014, 2, 42-49. https://doi.org/10.7275/R5J9649K.
18. VALYOVA, M.S. Evaluation of antioxidant and free radical scavenging potential of *Lamium album* L. growing in Bulgaria. *Journal of Pharmacy Research*. 2011, 4, 945-947. ISSN 0974-6943.
19. WANG Z.L. A comprehensive review on phytochemistry, pharmacology, and flavonoid biosynthesis of Scutellaria baicalensis. Pharm. Biol. 2018, 56, 465-484. doi: 10.1080/13880209.
20. WEIGUANG, Y., HAZEL, Y. Effects of Drying and Extraction Conditions on the Biochemical Activity of Selected Herbs. *Hortscience*. 2011, 46, 70-73. doi: 10.21273/HORTSCI.46.1.70.

Contact address: Škrovánková Soňa, Department of Food Analysis and Chemistry, Faculty of Technology, Tomas Bata University in Zlín, Vavrečkova 5669, 760 01 Zlín, Czech Republic; E-mail: skrovankova@utb.cz

NAJČASTEJŠIE TRAUMATICKÉ PORANENIA U ZVIERAT PREVÁŽANÝCH NA BITÚNOK

THE MOST COMMON TRAUMATIC INJURIES IN ANIMALS TRANSPORTED TO THE SLAUGHTERHOUSE

Takáčová Daniela, Nagyová Alena, Sasáková Naďa, Beregszásziová Nicol

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

ABSTRACT

Details on animal protection during transportation are contained in legal rules, with the goal of ensuring that animals are not transported in a way that could cause them injury or severe suffering. If an animal becomes ill or injured while being transported, it must be removed from other animals, given first aid as soon as possible, and, if required, euthanized or terminated in a way that does not cause undue suffering. One mode of transportation is the transport of animals bound for the slaughterhouse. The transport process is part of a series of events known as the animal's handling prior to slaughter, or *ante mortem*. Pre-slaughter handling can be extremely stressful for animals and result in severe losses, particularly in terms of end product quality, if not done out with care. The study highlights the most common types of traumatic injuries produced by specific circumstances in animals during transportation.

Key words: farm animal, transport, trauma, welfare

ÚVOD

Vo väčšine prípadov sú zvieratá odosielané na bitúnok zdravé a fyzicky zdatné. V závislosti od dĺžky a kvality prepravy môže transport zvierat za určitých okolností predstavovať problémy aj pre zvieratá zdravé a v dobrej kondícii. Zvieratá, ktoré sú slabé, choré alebo poranené, s najväčšou pravdepodobnosťou, už pred samotnou prepravou, môžu pociťovať bolesť. Preto na dosiahnutie dobrých životných podmienok zvierat počas prepravy je nevyhnutné dodržať ustanovené podmienky v zmysle právnych úprav, ktoré o. i. zahŕňajú všetky potrebné opatrenia na minimalizovanie dĺžky cesty a zabezpečenie potrieb zvierat počas nej. Zvieratá majú byť zdravotne spôsobilé absolvovať cestu, dopravné prostriedky majú byť navrhnuté, skonštruované, udržiavané a prevádzkované tak, aby sa pri ich používaní zabránilo zraneniam a utrpeniu zvierat a bola zaistená ich bezpečnosť. Nakladacie a vykladacie zariadenia majú byť vhodne navrhnuté, skonštruované, udržiavané a prevádzkované tak, aby sa pri ich používaní zabránilo zraneniam a utrpeniu zvierat a bola zaistená ich bezpečnosť

[Nariadenie (ES) č. 1/2005 o ochrane zvierat počas prepravy a s ňou súvisiacich činností]. Prepravu na miesto určenia je potrebné zabezpečiť a uskutočniť bezodkladne, pričom sa podmienky pohody zvierat majú pravidelne kontrolovať a udržiavať [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].

Manipulácia so zvieratami v procese, ktorý predchádza ich zabitiu, môže byť veľmi stresujúca a môže viesť k značným stratám, čo sa týka kvality očakávaného konečného produktu v prípade, že sa vykonáva bez potrebnej starostlivosti. V procese samotnej prepravy môže dôjsť k prehriatiu zvierat v dôsledku nekvalitného vetrania, najmä u hydiny a ošípaných; stres môže spôsobiť zlyhanie srdcovej činnosti; nesprávnou manipuláciou so zvieratami, najmä ak sa jedná o dobytok, môže dôjsť k uduseniu alebo až k ušliapaniu. Zvieratá môžu trpieť dehydratáciou v dôsledku nedostatočného zásobovania vodou. V prípade dlhých ciest môžu byť unavené, vyčerpané, alebo môžu mať problémy s udržaním rovnováhy. Pošmyknutia, pády a nárazy do hrán v prepravných vozidlách môžu viesť k podliatinám a iným traumám, vnútornému krvácaniu, či zlomeným kostiam. Traumatické poranenia môžu byť spôsobené aj súbojmi medzi neznámymi alebo nekompatibilnými zvieratami. Problémy tohto druhu sú časté najmä u ošípaných a dospelého dobytka. Pokiaľ sa prevážajú rohaté zvieratá, rohy môžu spôsobiť u spolu umiestnených zvierat zranenia podstatne horšie. Traumatické poranenia vedú k narušeniu welfare a môžu mať za následok zníženú jatočnú hodnotu (Anonym 2024; Valkova et. al . 2021)

TRAUMATICKÉ PORANENIA

Traumatické poranenia sú vo všeobecnosti zaradené medzi stavy, pri ktorých môže jedno zviera zraniť druhé, keď zviera spadne alebo je zasiahnutá časť zvieraťa okolitou infraštruktúrou (zle navrhnuté alebo nesprávne udržiavané zariadenia, ako sú prepravné zariadenia, rampy, uličky, brány a podlahy, môžu zvýšiť riziko poranenia zvierat počas ich ustajnenia alebo pri manipulácii s nimi). Manipulačné zariadenia by mali byť navrhnuté a skonštruované tak, aby sa minimalizovalo riziko poranenia zvierat ale aj ľudí, mali by byť pravidelne kontrolované. Personál by mal byť vyškolený v zaobchádzaní so zvieratami, aby sa zabezpečilo, že so zvieratami sa bude zaobchádzať vhodným spôsobom, aby sa minimalizoval stres a riziko poranenia. K riziku poranenia môže prispieť aj nesprávne a hrubé zaobchádzanie a nadmerný tlak na niektoré časti tela zvierat. V dôsledku poranení dochádza potom k porušeniam celistvosti kože, ale aj tkanív, ktoré sú uložené hlbšie. Podľa príčin vzniku

popisujeme rany rezné, sečné, bodné, tržné alebo zmliaždené. Najčastejšie k poraneniam dochádza pri nárazoch na ostrý predmet, kedy v dôsledku týchto poranení vznikajú zmliaždené rany, tržné rany, krvné výrony, ale aj zlomeniny kostí či kontúzie orgánov **(**Takáčová a kol. 2010; Strappini et al. 2012).

Ako uvádza Valková a kol. (2021), zvieratá sa môžu poraniť aj počas prepravy alebo nesprávnou manipuláciou pri nakládke a vykládke. Frekvencia poranení je ovplyvnená aj správaním zvierat. Ďalšími významnými faktormi, ktoré ovplyvňujú výskyt úrazov, sú počty prevážaných zvierat, štýl jazdy a dĺžka trvania cesty. Traumatické lézie vyplývajúce z transportu boli dokumentované mnohými štúdiami (Gallo et al. 2003; Knowles et al. 1994). Minka a Ayo (2007) , ktorí sledovali pohodu dobytka pri nakladaní, preprave a vykladaní, zistili pomliaždeniny a tržné rany na hrudnej a brušnej stene ako najčastejšie poranenia vyskytujúce sa počas prepravy.

Poranenia u hospodárskych zvierat môžu byť rôzneho rozsahu a závažnosti. Môžu sa vyskytnúť na tele alebo končatinách. Okrem povrchových kožných lézií môžu zranenia, zistené u hospodárskych zvierat, zahŕňať aj dislokácie a zlomeniny. Infekcia, ktorá môže viesť k sekundárnej tvorbe abscesov, je úzko spojená s prítomnosťou poranení (Lay et al. 20011). Modriny sú charakteristickým nálezom, ktorý sa často zaznamenáva počas prehliadok veterinárnym lekárom. Počas prehliadky na bitúnku sa modriny javia ako zmena farby tkaniva v dôsledku traumy spôsobenej tupým predmetom. Kontúzie prechádzajú štádiami vývoja od počiatočnej traumy spôsobenej tupým predmetom, cez migráciu červených krviniek cestou najmenšieho odporu a gravitácie, až po objavenie sa v blízkosti alebo v rámci vrstvy kože, kde pomliaždenie môže alebo nemusí byť viditeľné. Zmena úrovne okysličenia červených krviniek má za následok farebné zmeny modrín, čo sa dá využiť pri posudzovaní veku a príčin takýchto lézií (Langlois 2007; Krivankova et al. 2020). Modriny sa môžu vyskytnúť kedykoľvek počas chovu, manipulácie alebo prepravy alebo bezprostredne pred zabitím (Jacobs et al. 2017; Wang et al. 2019). Prítomnosť pomliaždeného tkaniva po zabití je indikátorom nevyhovujúceho prostredia zvieraťa (Schorwerth et al. 2019), nevhodnej manipulácie a bolesti, ktorú zviera zažíva (Weeks et al. 2012). Ďalšie faktory, ktoré môžu ovplyvniť výskyt lézií, súvisia s vekom zvierat, nedostatkom bielkovín, zlou telesnou kondíciou, ochorením. Do akej miery by tieto faktory ovplyvnili jednotlivca, by sa malo zvážiť pri hodnotení tohto zvieraťa a pomocou odhadu veku lézií (Gerdin 2014).

Fraktúry môžu byť priamo alebo nepriamo spôsobené tupým nárazom. Existuje niekoľko základných vplyvov, ktoré pôsobia na kosť: ťah, tlak, posun, alebo ich kombinácia.

Lokálne ale aj trieštivé (úlomkové) zlomeniny sa môžu vyskytnúť ako dôsledok traumy tupou silou v závislosti od množstva sily a veľkosti oblasti, na ktorú je nasmerovaná. Lokálna

zlomenina je výsledkom pôsobenia malej sily aplikovanej na malú oblasť, ktorá zvyčajne spôsobí priečnu zlomeninu, ak je smerovaná kolmo. Aj pri fraktúrach môžeme pozorovať poranenia ako sú pomliaždeniny, odreniny alebo tržné rany. (Di Maio a Di Maio 2001).

Pri pádoch zvierat je dôležité brať do úvahy spôsob, akým zviera spadlo, vzdialenosť a hmotnosť zvieraťa, druh a vek zvieraťa. Rovnako dôležité je vedieť, či zviera mohlo spadnúť na nejaké predmety alebo sa poraniť sa na povrchu rôznych výčnelkov. Poranenia spôsobené tupou silou v dôsledku pádov na zem alebo im podobných okolností, by mali byť lokalizované najmä v oblasti kostných výbežkov a mali by byť pozdĺž jednej roviny nárazu tela. Zranenia nájdené na hlbšie uložených alebo na chránených častiach tela sú podozrivými indikátormi iných náhodných udalostí (Merck 2013).

U hydiny sa najčastejšie popisujú zlomeniny kostí končatín a krídel, a vyskytujú sa najmä počas nakladania a vykladania, ale aj počas samotnej prepravy. Od tímov zodpovedných za odchyt a nakladanie vtákov na nákladné auto sa zvyčajne vyžaduje, aby naložili približne 1 000 až 1 500 zvierat za hodinu. Zvieratá sú zvyčajne chytené za končatiny a rýchlo umiestnené, niekedy aj vhodené do prepravných debničiek, čo im môže spôsobiť nielen zlomeniny kostí ale aj vnútorné krvácanie (Gregory a Wilkins 1992). Nosnice chované v klietkach najčastejšie trpia zlomeninami kostí počas prepravy, najmä v dôsledku nemožnosti aktívneho pohybu, čím sa lámavosť kostí zvyšuje. Rovnako ako hydina, aj ovce a ošípané (najmä ošípané majú mimoriadne ťažkosti pri stúpaní po rampách), môžu byť zranené najčastejšie počas nakládky a vykládky. Pri preprave dospelého hovädzieho dobytka môže dôjsť k strate rovnováhy, keďže zvieratá preferujú státie počas transportu. Pády sa týkajú najmä zvierat, ktoré sa nachádzajú v hornej časti vozidla (Knowles et. al 1999). Preprava kráv a teliat z odlišných skupín môže viesť ku vzájomným súbojom a následným poraneniam (Mench, Swanson a Stricklin 1990).

ZÁVER

Mnohé traumatické poranenia zistené veterinárnymi inšpektormi na bitúnkoch sú výsledkom manipulácie so zvieratami pred zabitím. Hodnotiť je možné výskyt hematómov, rán a zlomenín, ktoré môžu vznikať jednak pri samotnom chove hospodárskych zvierat, častejšie sú však výsledkom manipulácie so zvieratami a ich prepravy. Medzi kľúčové rizikové faktory spájané so vznikom poranení je stav a vek zvierat pred prepravou, spôsob manipulácie s nimi, trvanie prepravy, ale aj hustota prepravovaných zvierat. Zranenia môžu byť spôsobené aj pádmi zvierat, či už pri ich nakladaní alebo vykladaní alebo vzájomnými súbojmi.

Pre welfare zvierat je preto nevyhnutné dodržiavanie právnych úprav, ktoré regulujú jednak prepravu ale aj dobré životné podmienky chovaných zvierat.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Anonym 2024 – Veterinary Handbook for cattle, sheep and goats, [online] http://www.veterinaryhandbook.com.au/ accepted April 15. 2024
2. Di Maio, V.I a Di Maio, D.: Forensic Pathology, 2nd edition, 2001. Boca Raton, FL:CRC Press
3. Gallo C., Lizondo G., Knowles T.G. Effects of journey and lairage time on steers transported to slaughter in Chile. *Vet. Rec*. 2003;152:361–364. doi: 10.1136/vr.152.12.361.,
4. Gerdin, J.A.: Veterinary forensic pathology. Summer 2014, Lecture Course 6576, University of Florida. ASPCA
5. Gregory, N. G. and Wilkins, L. J."Skeletal damage and bone defects during catching and processing", 1992; IN: Whitehead, C. C. (ed.) Bone biology and skeletal disorders in poultry, Abingdon: Carfax, pp. 313-328.
6. Jacobs, L.; Delezie, E.; Duchateau, L.; Goethals, K.; Tuyttens, F.A.M. Impact of the separate pre-slaughter stages on broiler chicken welfare. *Poult. Sci.* 2017, *96*, 266–273;
7. Knowles T.G., Warriss P.D., Brown S.N., Kestin S.C. Long distance transport of export lambs. *Vet. Rec*. 1994;134:107–110. doi: 10.1136/vr.134.5.107
8. Knowles, G.; Warriss, P. D.; Brown, S. N., Edwards, J. E. Effects on cattle of transportation by road for up to 31 hours, *Vet Rec*, 1999; 145, pp. 575-582.
9. Krivankova, T.; Voslarova, E.; Vecerek, V.; Bedanova, I.; Blahova, J.; Chloupek, J. Comparison of selected indices of internal environment and condition of laying hens kept in furnished cages and in aviaries. *Anim. Sci. J.* 2020, *91*, e13400
10. Langlois, N.E.I.: The science behind the quest to determine the age of bruises- a review of the English language literature. Forensic Science. Medicine and Pathology. 2007. 3(4):241-251;
11. Lay, D.C.; Fulton, R.M.; Hester, P.; Karcher, D.; Kjaer, J.; Mench, J.; Mullens, B.A.; Newberry, R.; Nicol, C.; O'Sullivan, N.; et al. Hen welfare in different housing systems. *Poult. Sci.* 2011, *90*, 278–294.
12. Mench, J. A., Swanson, J. C., Stricklin, W. R. Social stress and dominance among group members after mixing beef cows. *Canad J Anim Sci*, 1990; 70, pp. 345-354.
13. Merck, M.D.: Veterinary Forensics: Animal Cruelty Investigation. 2013. John Wiley & sons, Inc. p. 107
14. Minka N.S., Ayo J.O. Effects of loading behaviour and road transport stress on traumatic injuries in cattle transported by road during the hot-dry season. *Livest. Sci*. 2007;107:91–95. doi: 10.1016/j.livsci.2006.10.013

15. Nariadenie (ES) č. 1/2005 o ochrane zvierat počas prepravy a s ňou súvisiacich činností
16. 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
17. Schorwerth, A.; Rottler, S.; Lee, H.W.; Schmidt, P.; Erhard, M.H.; Bergmann, S. Comparative studies on the animal health of fattening rabbits kept in pen husbandry and a dual purpose cage system under practical conditions. *Berl. Münchener Tierärztliche Wochenschr*. 2019, *132*, 532–549
18. Strappini A., Frankena K., Metz J.H.M., Gallo C., Kemp B. Characteristics of bruises in carcasses of cows sourced from farms or from livestock markets. *Animal*. 2012;6:502–509. doi: 10.1017/S1751731111001698
19. Takáčová, D., Bugarský, A. a kol. Súdne veterinárske lekárstvo a prípady znaleckého posudzovania. UVLF v Košiciach, 2010, s.425
20. Valkova, L. et. al . The Welfare of Cattle, Sheep, Goats and Pigs from the Perspective of Traumatic Injuries Detected at Slaughterhouse Postmortem Inspection, 2021; *Animals* doi: 10.3390/ani11051406
21. Wang, C.; Liu, Z.L.; Xue, J.J.; Wang, Y.M.; Huang, X.F.; Wang, Q.G. Effect of stocking density on growth performance, feather quality, carcass traits and muscle chemical component of geese from 49 to 70 days of age. *J. Appl. Poult. Res.* 2019, *28*, 1297–1304
22. Weeks, C.A.; Brown, S.N.; Richards, G.J.; Wilkins, L.J.; Knowles, T.G. Levels of mortality in hens by end of lay on farm and in transit to slaughter in Great Britain. *Vet. Rec.* 2012, *170*, 647

Kontaktná adresa: Takáčová Daniela, Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; E-mail: daniela.takacova@uvlf.sk

HYGIENICKÉ ODVODNENIE MÄSOSPRACUJÚCICH PREVÁDZOK

HYGIENIC DRAINAGE OF MEAT PROCESSING PLANTS

Valo Michal, Svitana Juraj

ACO Stavebné prvky, s.r.o. Fraňa Kráľa 35, 81105 Slovenská republika

ABSTRACT

In plants that process meat and meat products, very high demands are placed on hygienic drainage. The nature of plant wastewater will vary from region to region. ACO solutions are designed to prevent meat residues from clogging the drainage system and can even separate production by-products including fat and blood.

Key words: drainage, meat, hygienic drainage, wastewater

ÚVOD

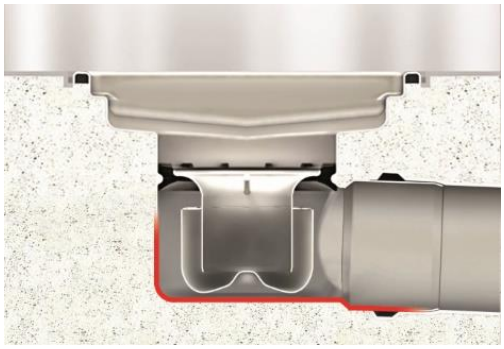
Podstata odvodňovacích systémov je zadržiavať a odvádzať procesné tekutiny, čo z odvodnenia robí prirodzený zdroj mikrobiologického rastu. Nesprávne navrhnuté odvodnenie nielenže zvyšuje náklady na čistenie a údržbu, ale v najhoršom prípade môže zapríčiniť aj kontamináciu potravín.

Hygienický odvodňovací systém ACO je navrhnutý tak, aby spĺňal najprísnejšie hygienické normy a tým minimalizoval riziko bakteriálnej kontaminácie. Aby sme to dosiahli, dôsledne dodržiavame príslušné zásady hygienického dizajnu, ktoré sú obvykle vyhradené pre povrchy, ktoré prichádzajú do styku s potravinami. Zároveň sú odporúčané aj Európskou skupinou pre hygienické inžinierstvo a design (EHEDG). Dizajn našich produktov je optimalizovaný tak, aby zabránil hromadeniu častíc potravín a zvyškov, ktoré môžu slúžiť ako živná pôda pre škodlivé baktérie. Náš odvodňovací systém je navyše navrhnutý tak, aby zaistil bezpečné a hygienické spojenie s okolitou podlahou. Spádované dno v kombinácii s hygienickým dizajnom zaisťuje, že celý systém je plne odvodniteľný, čím eliminuje stojatú vodu a zápach, ktorý je obvykle spojený s odpadovou vodou.

Vlastnosti hygienických žľabov ACO:

- Plne vypustiteľný sifón
- Vnútorné polomery 3 mm alebo väčšie
- Hygienické spoje Výplň hrany
- Trieda nerezovej ocele min. AISI 304
- Plne morené a pasivované

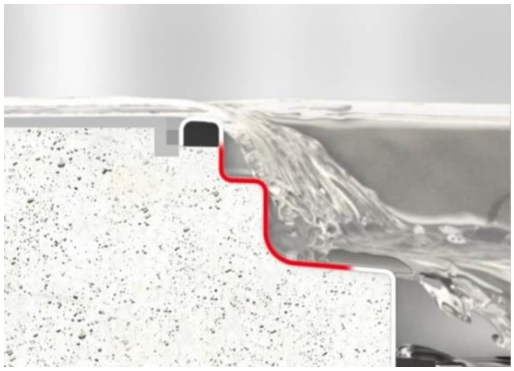
Obrázok č. 1, Vpust s horizontálnym odtokom v ktorej nezostáva v spodnej časti žiadna voda.



Obrázok č. 2, Výplň okraja vpustu



Obrázok č. 3, žiadne ostré hrany, kde by dochádzalo k usadzovaniu nečistôt



ACO a sila hygienického dizajnu

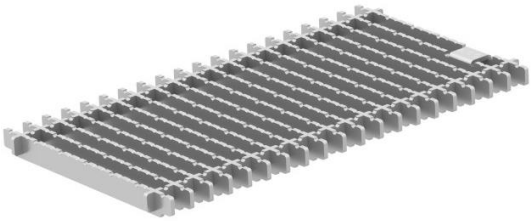
Výsledky výskumu čistiteľnosti, ktoré v roku 2016 vykonal renomovaný Fraunhoferov inštitút IVV v Drážďanoch, preukázali, že hygienicky navrhnutý žľab ACO výrazne zlepšuje jeho čistiteľnosť. Testy preukázali, že hygienický žľab ACO je možné efektívne vyčistiť bez ďalších mechanických čistiacich krokov, za cca 8 minút čistenia s 0% zvyškovým znečistením. Čistenie žľabu bez hygienického dizajnu vyžadovalo podstatne viac úsilia a nebolo možné ho úplne vyčistiť počas testovaného času čistenia. To v konečnom dôsledku pomáha mäsospracujúcim závodom zlepšiť bezpečnosť ich prevádzok, udržať vysokú kvalitu ich produktov a znížiť náklady a čas na čistenie. Súvisiace výhody: hygienický dizajn, ekonomická úspora času a nákladov, bezpečnosť zariadenia.

Typy roštov

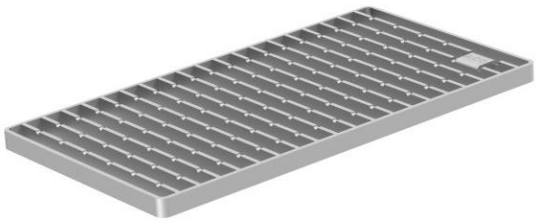
ACO ponúka aj rôzne typy roštov. Podľa potrebnej záťaže odporúčame niekoľko typov roštov. Mriežkový rošt je vhodný pre prevádzky, ktoré nie sú zaťažované ťažkou mechanizáciou a nie je tu kladený dôraz na vysokú hygienickosť prevádzky. Navyše sú vhodné

iba pre pochôdzne zaťaženie. Pre prevádzky, ktoré sú viac zaťažované a pohybuje sa po nich už aj mechanizácia, je potrebné zvoliť rošt priečkový alebo rošt z nerezovej liatiny. Všetky typy roštov spĺňajú vysokú triedu odolnosti proti pošmyknutiu. V súčasnej dobe sú preferované skôr bezrámové alebo priečkové rošty, ktoré sa ľahšie udržujú čisté a prispievajú k celkovej hygiene systému. Použiť je možné aj plný hygienický štrbinový kryt.

Obrázok č. 4, Hygienický bezrámový rošt



Obrázok č. 5, Hygienický priečkový rošt



MATERIÁL A METODIKA

Dostupné na: www.aco.sk, www.hygienefirst.com/cz

ZÁVER

Na záver možno teda zhrnúť nasledujúce skutočnosti: V poslednej dobe a so stále väčšou intenzitou sú na odvodňovacie systémy aplikované rovnaké alebo aspoň veľmi podobné požiadavky, ako na technologické zariadenia. Zvlášť na hygienický dizajn a ich ľahkú čistiteľnosť. Všetko je s ohľadom na stále prísnejšie požiadavky noriem, štandardov na zvýšenie hygienickej úrovne prevádzok a zabránenie rekontaminácie prevádzok odpadovou vodou alebo prítomnými mikróbmi. Hygienické riešenie ACO tak prináša nielen úspory vody a sanitačných prostriedkov, ale hlavne ľudských zdrojov potrebných na udržanie optimálnej úrovne hygieny.

Kontaktná adresa:

Ing. Michal Valo, sales manager, mvalo@aco.sk, +421 903 435 738, západ a juh Slovenska

Ing. Juraj Svitana, sales manager, jsvitana@aco.sk, +421 903 425 924, sever a stred Slovenska

Jozef Lukáč, sales manager, jlukac@aco.sk, +421 903 435 739, východ Slovenska

ACO Stavebné prvky, s.r.o., Fraňa Kráľa 35, 81105 Bratislava, www.aco.sk

VPLYV RÔZNYCH METÓD SPRACOVANIA NA PROFIL MASTNÝCH KYSELÍN A PARAMETRE KVALITY VÝBEROVÝCH KÁV

EFFECT OF DIFFERENT PROCESSING METHODS ON FATTY ACID PROFILES AND QUALITY PARAMETERS IN SPECIALTY COFFEES

Várady Matúš [a], Grajzer Magdalena [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 dietetiky a bromatológie, Wroclaw Medical University, Wybrzeże L. Pasteura 1, 50-367 Wrocław, Poľsko

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effect of natural, washed, honey, anaerobic fermentation and carbonic maceration coffee processing methods on the fatty acid profiles and sensory properties of specialty coffees from different countries of origin i.e., Ethiopia, Kenya, Rwanda, Burundi, Guatemala, Nicaragua, and Peru. The oil was extracted from ground coffee beans by the Soxhlet method and the fatty acids were determined as their corresponding methyl esters. Six fatty acids were considered: palmitic (C16:0), stearic (C18:0), oleic (C18:1n9), linoleic (C18:2n6), linolenic (C18:3n3) and arachidic (C20:0). Fatty acids and sensory properties score grading following the Specialty Coffee American Association (SCAA) method were considered as descriptors to differentiate nineteen samples of coffee according to processing. Sensory property evaluated 11 important attributes of the coffee: fragrance/aroma, flavour, aftertaste, acidity, body, balance, overall, uniformity, clean cup, sweetness, and total score. Principal component analysis (PCA) enabled an almost complete separation of coffees processed by natural, washed, honey methods and coffees processed by anaerobic fermentation and carbonic maceration methods. The most discriminating descriptors were acidity, body, total scores, and stearic, oleic, linoleic, and arachidic acid. The results of our study lead to the conclusion that the sensory characteristics of coffee and the degree of dominance of some attribute, in our case fatty acids, may also differ according to the method of post-harvest processing of coffee originating from different geographical regions.

Keywords: specialty coffee, coffee processing, fatty acids, sensory properties, principal component analysis

ÚVOD

Kávový nápoj patrí hlavne pre svoje senzorické vlastnosti a stimulačný účinok kofeínu medzi najobľúbenejšie nápoje. S príchodom výberovej kávy na obchodné trhy začali farmári experimentovať s novými metódami jej spracovania. Výberová káva má presne daný rodný list, je známe kedy a kde bola pestovaná, ako a kým bola spracovaná a to ju odlišuje od kávy komoditnej, ktorá je zmesou káv rôznych pôvodov, rôznych zberov či ročníkov a často aj rôznych typov praženia. Prirodzené metódy počiatočného spracovania výberových káv ako sú prírodná, premývaná a medová karbonická macerácia. Nové metódy pozberového spracovania výberovej kávy zvyšujú jej kvalitu a cenu a zároveň ovplyvňujú zdraviu prospešné či potenciálne zdraviu škodlivé látky (Várady a kol., 2022, 2024). Anaeróbna fermentácia a karbonická macerácia rýchlo menia kávové ovocie, výsledkom čoho je chuť výrazne odlišná od tradičných prirodzených metód fermentácie. Proces anaeróbnej fermentácie začína odstránením dužiny z kávových čerešní, ktoré sa prenesú do uzavretých anaeróbnych nádob, kde prebieha fermentácia. Karbonická macerácia je novší spôsob spracovania kávy, ktorý vedie k fermentácii zahŕňajúcej celé kávové čerešne v anaeróbnom prostredí sýtenom oxidom uhličitým v uzavretej nádobe. Lipidy prítomné v zelenej káve zahŕňajú hlavne triacylglyceroly, esterifikované diterpény, voľné mastné kyseliny, voľné diterpény, steroly, tokoferoly a fosfolipidy (Silva a kol., 2020). Mastné kyseliny v zelenej káve sú jednou z hlavných zložiek, ktoré určujú kvalitu kávy. Hodnotenie podielu mastných kyselín na chuti a vôni kávy je kľúčové hlavne pre výberové kávy (Bórem a kol., 2013). Environmentálne, genetické, geografické, poľnohospodárske a pozberové faktory zvyčajne ovplyvňujú hodnotenie senzorickej kvality kávy, ktorá sa celosvetovo hodnotí ako „Cupping Test“ podľa SCAA (Specialty Coffee of America Association). Predpokladá sa, že senzorická kvalita výberovej kávy a miera dominancie mastných kyselín sa líšia hlavne podľa spôsobu spracovania (Figueiredo a kol., 2015).

Naším cieľom bolo zistiť vplyv rôznych metód spracovania ako prírodná, premývaná, medová, anaeróbna fermentácia a karbonická macerácia na senzorickú kvalitu a obsah mastných kyselín vo výberovej káve z rôznych geografických regiónov.

MATERIÁL A METODIKA

Boli použité vzorky kávových zŕn guatemalských (GUA), nikaragujských (NIC), peruánskych (PER), etiópskych (ETH), kenských (KEN), Burundi (BUR) a rwandských (RWA) káv 100% *Coffea arabica*. Kávové zrná boli spracované prirodzenými (prírodná, premývaná a medová) a indukovanými (anaeróbna fermentácia a karbonická macerácia) pozberovými metódami (Várady a kol., 2022).

Olej z kávy bol extrahovaný Soxhletovou metódou (Randallova extrakcia) v rozpúšťadlovom extraktore Ser 148 (Velp Scientifica, Usmate, Taliansko). Približne 9 g homogenizovanej (jemne mletej) kávy sa prenieslo do celulózových extrakčných patrónov a umiestnilo sa do extraktora s petroléterom ako extrakčným rozpúšťadlom. Fáza ponorenia a oplachovania pokračovala 60 minút a regenerácia rozpúšťadla (odparenie) trvala 20 minút. Metylestery mastných kyselín získané z extraktov zelených kávových zŕn boli analyzované pomocou GC-MS. Spôsob prípravy a separácie metylesterov mastných kyselín (FAME) bol podľa Grajzer a kol. (2021). Identifikácia mastných kyselín sa uskutočnila pomocou externých štandardov FAME.

Zelená káva sa pražila pri konečnej teplote 204 °C počas 5 minút v dávkach po 50 g na pražičke Ikawa PRO 100 (Ikawa Ltd., Londýn, Spojené kráľovstvo). Senzorická kvalita kávy bola hodnotená v pražiarni Be Berry Roastery (Praha, Česká republika) podľa protokolu SCAA. 19 vzoriek kávy bolo pomletých na stredne hrubo na mlynčeku Comandante C40 MK3 Nitro Blade (Comandante, Mníchov, Nemecko). Po odvážení 12,1 g čerstvo pomletej kávy a umiestnení do plastových misiek (Barista Hustle, Melbourne, Austrália) bola káva zaliata 220 ml vody podľa noriem SCAA s teplotou 94 °C. Hodnotilo sa 11 dôležitých atribútov kávy: vôňa, aróma, dochuť, kyslosť, telo, vyváženosť, celkový dojem, jednotnosť, čistota šálky, sladkosť a celkové skóre. Každá vzorka bola hodnotená na stupnici od 6 do 9 nasledovne: kávy považované za dobré (6,00 - 6,75 bodov), veľmi dobré (7,00 - 7,75 bodov), výborné (8,00 - 8,75 bodov) a výnimočné (9,00 - 9,75 bodov). Každá vzorka bola hodnotená v dvoch paralelných miskách.

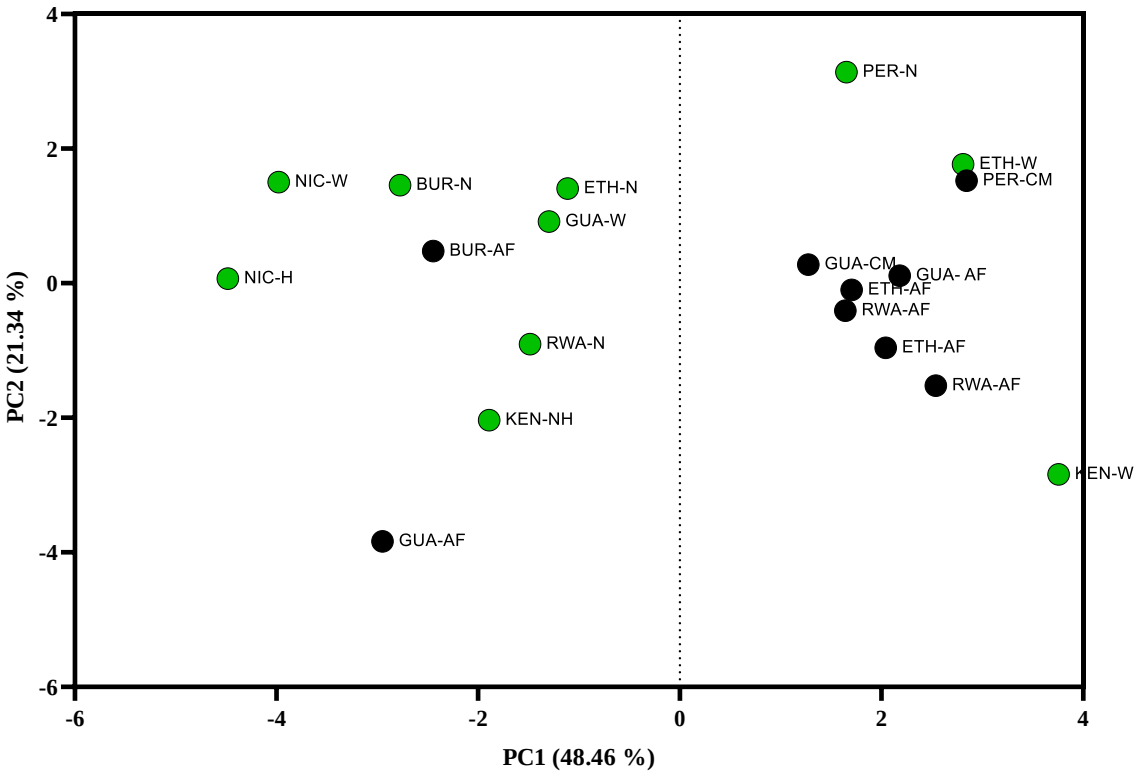
Dáta boli analyzované vytvorením matrice s profilmi mastných kyselín a senzorickými vlastnosťami. Matica bola podrobená analýze hlavných komponentov - Principal Component Analysis (PCA) pomocou softvéru GraphPad Prism 9.2.0 (332) 2021 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Obsah mastných kyselín a senzorické vlastnosti boli použité ako chemicko-senzorické deskriptory na štúdium možnej diferenciácie výberových káv podľa spôsobu spracovania. Na analýzu hlavných komponentov bola vytvorená dátová matica, v ktorej riadky predstavovali analyzovaných 19 vzoriek výberovej kávy a stĺpce predstavovali 18 chemicko-senzorických deskriptorov. Boli analyzované prvé dva hlavné komponenty (PC), čo vysvetlilo až 69,8 % celkových informácií. V prípade PC1 sa vysvetlilo 48,46 % a v prípade PC2 sa vysvetlilo 21,34 % celkového rozptylu získaného pomocou PCA analýzy. Zodpovedajúci graf skóre bol získaný z vlastnej analýzy kovariančnej matice automaticky získaných údajov. Na obrázku č. 1. vidíme

separáciu vzoriek kávy podľa rôznych metód spracovania. Prirodzené metódy spracovania sú vyznačené zelenou farbou t.j. prírodná (N), premývaná (W) a medová (H) metóda a indukované metódy spracovania sú vyznačené čiernou farbou t.j. anaeróbna fermentácia (AF) a karbonická macerácia (CM). Zároveň je vyznačený pri metóde spracovania aj geografický región pôvodu kávy t.j. Guatemala (GUA), Nikaragua (NIC), Peru (PER), Etiópia (ETH), Keňa (KEN) a Burundi (BUR). Okrem kávy BUR spracovanej anaeróbnou fermentáciou sa všetky kávy spracované indukovane t.j. anaeróbnou fermentáciou a/alebo karbonickou macerácioou javia na pozitívnych hodnotách PC1, zatiaľ čo kávy spracované prírodnou, premývanou a medovou metódou sa nachádzajú pri negatívnych hodnotách PC1. Výnimku tvoria tri vzorky prirodzene fermentovaných káv PER, ETH a KEN, ktoré sa objavujú v kladných hodnotách PC1, avšak majú veľmi vysoké bodové ohodnotenie senzorickej kvality. A naopak dve vzorky anaeróbne fermentovanej kávy BUR a GUA slabšej senzorickej kvality sa nachádzali v záporných hodnotách PC1.

Obrázok č. 1, Graf skóre analýzy hlavných komponentov (PCA) separácie kávy podľa metódy pozberového spracovania



Deskriptory, ktoré najviac pomohli rozlíšiť prirodzené metódy spracovania od indukovaných metód spracovania boli kyslosť, telo, celkové skóre a kyseliny stearová, olejová, linolová a arachidová. Z literatúry je zrejmé, že kyselina olejová, linolová, palmitová,

stearová a arachidová boli identifikované ako zlúčeniny, ktoré najviac rozlišujú kávy aj medzi geografickými regiónmi (Mehari a kol., 2019). Nižšia senzorická kvalita kávy môže súvisieť aj s mastnými kyselinami, ako je napr. kyselina elaidová, ktorá môže byť prítomná vo vyšších množstvách vo vzorkách kávy horšej kvality (Figueiredo a kol., 2015). Avšak táto kyselina nebola detekovaná v našich vzorkách výberových káv. Mastné kyseliny môžu tiež potenciálne odlíšiť geografický región prostredia pestovania kávy (Figueiredo et al., 2015). Záverom, kávy spracované anaeróbnou fermentáciou a karbonickou maceráciou a kávy prirodzene fermentované s vysokým bodovým senzorickým ohodnotením vykazujú veľmi podobné PCA skóre a patria k najkvalitnejším na trhu. Navyše proces fermentácie pri indukovanej anaerobióze pozitívne ovplyvňuje mikrobiálne správanie, výsledkom čoho sú intenzívnejšie kávy s ovocnými príchuťami (Pereira a kol., 2022).

ZÁVER

Výsledky našej štúdie vedú k záveru, že senzorická charakterizácia kávy a miera dominancie niektorého atribútu, v našom prípade mastných kyselín, sa môže líšiť aj podľa pozberového spôsobu spracovania kávy pochádzajúcej z rôzneho geografického regiónu.

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

1. Borém, F. M. et al. Evaluation of the sensory and color quality of coffee beans stored in hermetic packaging. In *Journal of Stored Products Research*. ISSN 0022474X, 2013, vol. 52, p. 1–6.
2. Figueiredo, L. P et al. Fatty acid profiles and parameters of quality of specialty coffees produced in different Brazilian regions. In *African Journal of Agricultural Research*. ISSN 1991-637X, 2015, vol. 10, p. 3484-3493.
3. Grajzer, M. et al. Chemistry, oxidative stability and bioactivity of oil extracted from Rosa rugosa (Thunb.) seeds by supercritical carbon dioxide. In *Food Chemistry*. ISSN 0308-8146, 2021, vol. 335, p. 127649.
4. Mehari, B. et al. GC-MS Profiling of fatty acids in green coffee (*Coffea arabica* L.) beans and chemometric modeling for tracing geographical origins from Ethiopia. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*. ISSN 0022-5142, 2019, vol. 99, p. 3811–3823.

5. Pereira, T. S. et al. Self-induced anaerobiosis coffee fermentation: Impact on microbial communities, chemical composition and sensory quality of coffee. In *Food Microbiology*. ISSN 0740-0020, 2022, vol. 103, p. 103962.
6. Silva, A. C. R. et al. Comprehensive Lipid Analysis of Green Arabica Coffee Beans by LC-HRMS/MS. In *Food Research International*. ISSN 0963-9969, 2020, vol. 137, p. 109727.
7. Várady, M. et al. Effect of method of processing specialty coffee beans (natural, washed, honey, fermentation, maceration) on bioactive and volatile compounds. In *LWT - Food Science and Technology*. ISSN 1096-1127, 2022, vol. 172, p. 114245.
8. Várady, M. - Boržíková, J. - Popelka, P. Effect of processing method (natural, washed, honey, fermentation, maceration) on the availability of heavy metals in specialty coffee. In *Heliyon*. ISSN 2405-8440, 2024, vol. 10(3), p. e25563.

Kontaktná adresa: Várady Matúš, Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika. E-mail: matus.varady@uvlf.sk

ZHODNOTENIE HYGIENICKEJ ÚROVNE V MÄSOSPRACUJÚCOM ZÁVODE A V MLIEKARNI

EVALUATION OF THE HYGIENE LEVEL IN A MEAT PROCESSING PLANT AND A DAIRY

Vargová Mária[1], Sasáková Naďa[1], Veszelits Laktičová Katarína[1], Zigo František[2], Farkašová Zuzana[2], Lacková Zuzana [2], Výrostková Jana[3]

[1]Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice; [2]Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice; [3]Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice

ABSTRACT

Hygiene and sanitation in food establishments requires perfect adaptation and close follow-up to production procedures and technologies, in order to ensure the safety of animal food production and thereby significantly reduce the hygienic risk of production. The aim of our research was to evaluate the surface microorganisms on the monitored surfaces of the meat processing plant and a dairy before process, during process, and after disinfection by disinfectant Chloramin T applied by spray in 2 % concentration. Occurrence of total count of bacteria, coliform bacteria and microscopic fungi was monitor by microbiological swabs (n=24) which were taken from individual surfaces. Based on the results, it is possible to talk about the effectiveness of disinfectant Chloramin T. The obtained results point to a satisfactory hygienic level of the individual surfaces except for the microbiological swabs taken from the trolley in a dairy enterprise, where we observed the presence of coliform bacteria and fungi after disinfection. On the basis of the resulting values it is necessary to improve the hygiene procedures in the dairy either by increasing the effectiveness of mechanical cleaning or disinfection in the dairy.

Key words: hygiene level, food processing plants, disinfection

ÚVOD

Európska únia má zavedenú jednu z najprísnejších noriem bezpečnosti potravín vďaka platným právnym predpisom EÚ na udržanie bezpečnosti krmív a potravín. Významnou súčasťou bezpečnosti potravín je systém rýchleho varovania pre potraviny a krmivá (RASFF) s cieľom zabezpečiť výmenu informácií medzi členskými krajinami na podporu rýchlej reakcie

orgánov zodpovedných za bezpečnosť potravín v prípade rizík pre verejné zdravie vyplývajúcich z potravinového reťazca. Jeho právnym základom je Nariadenie (ES) č. 178/2002. Bezpečnosť potravín je prioritnou otázkou pre akademickú obec ako aj pre spotrebiteľov a nedostatky v tejto oblasti súvisia najmä s chemickou, biologickou alebo fyzikálnou kontamináciou potravín (Hudecová a kol., 2011). Výroba zdravotne bezpečných potravín, ktoré sa vyznačujú vysokou kvalitou, nutričnou, energetickou a senzorickou hodnotou je úzko spojená s dodržiavaním adekvátnych hygienických a sanitačných podmienok. Bezchybné hygienické podmienky v prostredí výroby sú zabezpečované prostredníctvom sanitácie. Súčasťou komplexnej sanitačnej činnosti je čistenie a dezinfekcia (Leps a kol., 2013).V posledných rokoch síce sledujeme klesajúci trend alimentárnych ochorení, avšak napriek tejto skutočnosti ich počty sú stále vysoké, čo súvisí s nedodržiavaním hygienických štandardov (Potoková, 2005).

Podľa Nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004, ktorým sa stanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu, musí surové mlieko pochádzať od zvierat, ktoré nevykazujú žiadne príznaky infekčnej choroby prenosnej mliekom na človeka; sú v dobrom zdravotnom stave; neboli im podané nepovolené látky a ktoré neboli ošetrené proti nariadeniam ustanovených v smernici 96/23/ES. Podľa tohto Nariadenia musí mäso spĺňať hygienické požiadavky na dopravu živých zvierat na bitúnok; hygienu zabíjania a hygienu počas rozrábania a vykosťovania; naliehavé zabitie (mimo bitúnku) a zabíjanie na farme; požiadavky na teplotu počas spracovania a skladovania.

Cieľom práce bolo vyhodnotiť účinnosť dezinfekčného prípravku Chloramín T pomocou mikrobiologických sterov so záchytom koliformných baktérií, celkového počtu mikroorganizmov a mikroskopických húb nachádzajúcich sa na sledovaných povrchoch, a na základe získaných výsledkov posúdiť úroveň hygieny v sledovaných prevádzkach.

MATERIÁL A METÓDY

Dezinfekčný prípravok na báze chlóru Chloramín T bol použitý v 2 % koncentrácii s časovou expozíciou 30 minút, aplikovaný striekaním na sledované povrchy v obidvoch prevádzkach. Dezinfekčný prípravok obsahuje účinnú látku tosylchloramid sódny (81 g v 100 g prípravku). Dezinfekčný prostriedok vykazuje cídny účinok voči vegetatívnym baktériám, vírusom a mikroskopickým hubám. Používa na dezinfekciu podláh, veľkých a malých plôch, predmetov a hygienického náradia, na dezinfekciu pitnej vody.

Odber mikrobiologických sterov bol vykonaný v sledovaných prevádzkach pred výrobou, počas výroby a po dezinfekcii pomocou sterilných tampónov z plochy 10 cm^2 z povrchov: stena, podlaha, regál, umývadlo v mäsospracujúcom závode a v mliekarenskom závode boli

stery odoberané z povrchov: vaňa, stôl, vozík, umývadlo. Ster bol následne prenesený do 10 ml sterilného fyziologického roztoku a suspenzia bola 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) boli použité postupy podľa platných ISO noriem. Pre stanovenie CPM bol použitý mäsopeptonový agar (MPA), počas 24 hodinovej kultivácie pri 37 ºC. Na stanovenie KB bol použitý Endo agar (EA) počas 24 hodinovej kultivácie pri 37 ºC. Stanovenie MH bolo založené na počítaní kolónii tvoriacich jednotiek (KTJ) po kultivácii na Sabouraudovom agare (SA) počas 3 – 5 dní pri izbovej teplote.

Výsledky boli štatisticky spracované pomocou deskriptívnej štatistickej analýzy údajov a štatistických metód Studentovho t-testu a Mann-Whitneyho U testu. V závislosti od zvolených hypotéz bol na porovnanie dvoch súborov použitý parametrický Studentov t-test a Mann-Whitneyov U test (Potocký, 1998; Štiglic, 2009).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V prostredí potravinárskych prevádzok je mechanická očista a dezinfekcia nevyhnutná, nakoľko hygienicky nedostatočne zabezpečené povrchy poskytujú priaznivé podmienky pre rast mikroorganizmov (Maukonen a kol., 2000).

Výskyt povrchových mikroorganizmov v sledovaných prevádzkach pred výrobou, počas výroby a po aplikácii dezinfekčného prostriedku je uvedený v tabuľke 1, 2. Z analýzy výskytu CPM, KB a MH pred výrobou, počas výroby a po dezinfekcii (Tab. 1) v mäsospracujúcom závode vyplýva, že po dezinfekcii došlo k štatisticky významnému poklesu sledovaných mikroorganizmov na monitorovaných povrchoch, čo potvrdzuje účinnosť dezinfekčného prípravku. V tabuľke č. 2 je uvedená analýza výskytu povrchových mikroorganizmov pred výrobou, počas výroby a po dezinfekcii v mliekarenskom podniku. Štatistickou analýzou bola potvrdená účinnosť dezinfekcie Chloramínom T s výnimkou vozíka, kde sme zaznamenali zvýšené počty KB a MH po dezinfekcii, čo poukazuje na nedostatočnú účinnosť dezinfekčného prípravku, resp. nevhodne zvolenú expozičnú dobu alebo koncentráciu prípravku. Nedostatočné hygienické zabezpečenie, mechanická očista a dezinfekcia jednotlivých priestorov a zariadení, vytvárajú potenciálne zdroje kontaminujúcich látok spolu s nežiadúcimi mikroorganizmami, ktoré môžu prispievať ku vzniku a šíreniu alimentárnych ochorení (Steinhauser, 1995).

Tabuľka č. 1: Výskyt sledovaných mikroorganizmov na jednotlivých povrchoch v mäsospracujúcom závode

	pred výrobou (n = 24)			**počas výroby** (n = 24)			**po dezinfekcii** (n =24)		
Parameter	CPM (KTJ)	KB (KTJ)	MH (KTJ)	CPM (KTJ)	KB (KTJ)	MH (KTJ)	CPM (KTJ)	KB (KTJ)	MH (KTJ)
x	3,75	0,29	0,43	55,75	1,57	3,04	3,57	0,54	0,18
± std	15,02	1,51	0,84	73,49	3,48	3,50	14,15	2,83	0,39
min	0	0	0	2	0	0	0	0	0
max	80	8	3	240	18	12	75	15	1
medián	0	0	0	23,50	0,50	2	0	0	0

n – počet meraní, x – priemerná hodnota, ± std – smerodajná odchýlka, min – minimálna hodnota, max – maximálna hodnota, medián – stredná hodnota

Tabuľka č. 2: Výskyt povrchových mikroorganizmov na sledovaných povrchoch v mliekarenskom podniku

Miesto odberu			**pred výrobou** (n = 24)			**počas výroby** (n = 24)			**po dezinfekcii** (n = 24)		
		CPM (KTJ)	KB (KTJ)	MH (KTJ)	CPM (KTJ)	KB (KTJ)	MH (KTJ)	CPM (KTJ)	KB (KTJ)	MH (KTJ)
vaňa	x	4,33	0,0	0,0	128,3	0,16	1,83	2,16	0,0	0,0
	±std	3,01	0,0	0,0	18,07	0,41	0,75	0,75	0,0	0,0
stôl	x	11,83	0,0	0,0	40,17	0,16	132,5	3,50	0,0	0,0
	±std	1,17	0,0	0,0	14,19	0,41	38,67	1,87	0,0	0,0
vozík	x	288,0	2,50	2,67	321,3	3,33	3,00	162,5	2,16	2,00
	±std	9,63	1,05	1,36	52,91	1,63	1,09	34,39	0,75	0,63
umývadlo	x	3,83	0,0	0,0	6,50	0,0	0,0	3,50	0,0	0,0
	±std	1,94	0,0	0,0	3,02	0,0	0,0	1,37	0,0	0,0

CPM – celkový počet mikroorganizmov, KB – koliformné baktérie, MH – mikroskopické huby, KTJ – kolónie tvoriace jednotky,

ZÁVER

Pri použití dezinfekčných prostriedkov v potravinárskych prevádzkach musia byť zohľadnené početné faktory ako druh použitého materiálu; prítomnosť nečistôt na povrchu; schopnosť adhézie mikroorganizmov; druh, koncentrácia, teplota a spôsob aplikácie dezinfekčného prípravku a mnohé ďalšie faktory, nakoľko zohrávajú kľúčovú úlohu pri dosiahnutí požadovaného cieľa (Vargová a kol., 2022). Na základe nami získaných výsledkov, môžeme konštatovať, že uplatnenie sanitačného režimu má rozhodujúci vplyv na hygienickú bezpečnosť výroby v spracovateľských prevádzkach a z tohto môže ovplyvniť kontamináciu surovín a verejné zdravie.

POĎAKOVANIE

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

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Hudecová, D., Šimkovič, M. Mikrobiológia. Bratislava: Nakladateľstvo STU, 2011. 200 s. ISBN 978-80-227-3600-8.
2. ISO Standard 18593-2004: Microbiology of food and animal feeding stuffs: Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates.
3. ISO Standard 21527-2008: Microbiology of food and animal feeding stuffs: Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds.
4. ISO Standard 4832-2006: Microbiology of food and animal feeding stuffs: Horizontal method or the enumeration of coliforms.
5. Leps, J., Einschütz, K., Langkabel, N., Fries, R.: Efficacy of knife disinfection techniques in meat processing. Meat Science. 2013; vol 95, no. 2, pp. 185–189.
6. Maukonen, J., Mattila-Sandholn, T., Wirtanen, G.: Metabolic indicators for assessing bacterial viability sampling using cells in suspension and swabbed biofilm. Libensmittel-Wissenschaft Technologie. vol. 2000; 33, p. 225-233.
7. Nariadenie (ES) č. 178/2002 európskeho parlamentu a rady, ktorým sa ustanovujú všeobecné zásady a požiadavky potravinového práva, zriaďuje Európsky úrad pre bezpečnosť potravín a stanovujú postupy v záležitostiach bezpečnosti potravín.
8. Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004, ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu.
9. Potocký R.: Pravdepodobnosť a matematická štatistika: štatistické analýzy. Univerzita Komenského. 1998; pp. 342.
10. Potoková, K.: Ktoré problémy z hľadiska bezpečnosti potravín rezonujú dnes najviac? Poľnohospodár. 2005; roč. 49, č. 19.
11. Smernica rady 96/23/ES o opatreniach na monitorovanie určitých látok a ich rezíduí v živých zvieratách a živočíšnych produktoch a o zrušení smerníc 85/358/EHS a 86/469/EHS a rozhodnutí 89/187/EHS a 91/664/EHS.
12. Steinhauser L.: Hygiena a technologie masa 1. vyd. Brno: Last, 1995; pp. 643.
13. Štiglic M.: Neparametrické štatistické metódy a ich ekonomické aplikácie, Študentská vedecká konferencia, Slovenská technická univerzita v Bratislave. 2009; pp. 41.
14. Vargová, M., Veszelits Laktičová, K., Sasáková, N., Gregová, G., Hromada, R., Szabóová, T. Hygiena zdravotníckych a farmaceutických zariadení. Košice, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach. 2022; 193 s. ISBN 978–80–8077–754–8.

Kontaktná adresa: MVDr. Mária Vargová, PhD., Department of Public Veterinary Medicine and Animal Welfare, University of veterinary medicine and pharmacy in Košice, Komenského 73, 04181 Košice, Slovak republic; E-mail: Maria.Vargova@uvlf.sk

MIKROBIOLOGICKÁ KVALITA MASNÝCH VÝROBKŮ JERKY

MICROBIOLOGICAL QUALITY OF JERKY MEAT PRODUCTS

Veselá Helena, Dušková Marta, Kameník Josef, Ježek František

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

ABSTRACT

Jerky, a ready-to-eat meat product, is a snack food with a specific taste, high nutritional value, and storage stability without refrigeration. The aim of this study was the microbiological evaluation of the jerky. A total of 25 samples of different meat types (beef, turkey, pork and venison) were analysed. Cultivation methods were used to determine the total number of plates, lactic acid bacteria, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* and moulds. Results of determination total plate count and lactic acid bacteria has shown good microbial quality of commonly sold jerky in the shops in the Czech Republic. *Enterobacteriaceae* were determined in 2 samples. The pathogenic microorganism *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp., and mold have not been demonstrated in a meat product such as jerky.

Key words: total plate count, lactic acid bacteria, *Enterobacteriaceae*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*

ÚVOD

V posledních letech roste obliba potravin typů snacků. Jejich výhodou je snadný způsob konzumace i absence nároků na teplotu skladování. Na trhu existuje poměrně široká nabídka snacků kategorie masných výrobků. Jde nejčastěji o produkty typu trvanlivých fermentovaných salámků, nebo trvanlivých tepelně opracovaných masných výrobků (kabanossi). Rozšiřuje se také nabídka snacků charakteru sušených mas, mezi které patří výrobky pocházející ze Severní Ameriky, tzv. jerky (Dincer, 2023). Konzumenti vyhledávají tento snack kvůli snadno dostupnému zdroji bílkovin, specifické chuti a dlouhé trvanlivosti. Jerky se navíc vyznačuje nízkým obsahem sacharidů a tuků. Mezi spotřebiteli je nejoblíbenějším druhem hovězí jerky, ale na vzestupu jsou i výrobky jiných druhů masa jako je krůtí, vepřové nebo drůbeží (Yang et al., 2009).

Kvalita sušeného masa je ovlivněna řadou faktorů, jako je množství intramuskulárního tuku, věk a plemeno zvířat, technika sušení a použité přísady. Fyzikálně-chemické parametry (pH, aktivita vody, obsah bílkovin, kolagenu, soli ad.), mikrobiologické parametry a senzorické vlastnosti jsou základními ukazateli pro určení kvality sušeného masa. Mikrobiologický profil

sušeného masa je ovlivněn především snížením obsahu vody v mase, které způsobí omezení nebo zastavení růstu mikroorganismů. Nízká aktivita vody ale může přispívat k rozvoji plísní. Změna pH nebo kontaminace vzdušnou atmosférou může poskytnou podmínky pro růst bakterií mléčného kvašení (BMK), které způsobují kažení (Mediani et al., 2022). Některé druhy patogenních bakterií, jako je *Salmonella* spp., *S. aureus*, klostridia atd., pocházející ze syrového masa, mohou proces sušení přežít (Mishra et al., 2017). Podobně jako salmonela i *L. monocytogenes* může přežívat a dokonce se i množit při nízkých teplotách, což zvyšuje riziko kontaminace sušeného masa (Coradini et al., 2019).

Cílem této studie bylo ve vybraných vzorcích jerky stanovit následující mikroorganismy: CPM (celkový počet mikroorganismů), BMK, *Enterobacteriaceae, Salmonella* spp., *L. monocytogenes* a plísně a zhodnotit jejich mikrobiologickou kvalitu.

MATERIÁL A METODIKA

K mikrobiologickým stanovením byly zakoupeny různé druhy masných výrobků typu jerky. Jednalo se o výrobky běžně dostupné v tržní síti České republiky. Vzorky byly uchovávány dle doporučení výrobce. Celkem bylo analyzováno 25 vzorků sušeného masa. Konkrétně šlo o maso hovězí (n = 12), krůtí (n = 8), zvěřinu (n = 3) a vepřové (n = 2). V každém vzorku byly stanoveny následující skupiny mikroorganismů: CPM, BMK, bakterie čeledi *Enterobacteriaceae, Salmonella* spp., *L. monocytogenes,* a plísně. Kultivace a vyhodnocení byly prováděny dle platných ISO norem (ČSN ISO 15214, 2000; ČSN EN ISO 4833-1, 2014; ČSN EN ISO 21528-1, 2018; ČSN EN ISO 11290-1, 2018; ČSN EN ISO 6579-1, 2020; ČSN ISO 21527-2, 2009).

Data byla statisticky zpracována pomocí statistického testu ANOVA s Tukey post testem. Statistické hodnocení bylo prováděno při 5% hladině významnosti. Rozdíly byly považovány za statisticky významné, pokud bylo $p < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Výsledky bakteriologických analýz vzorků jerky jsou uvedeny v tab. 1. Z tabulky je zřejmé, že se průměrná kontaminace jerky pohybovala okolo 10^3 KTJ v 1 g, což svědčí z mikrobiologického hlediska o kvalitním výrobku. U různých druhů sušeného masa nebyl prokázán statisticky významný rozdíl v počtech sledovaných mikroorganismů.

Tabulka č. 1, Výskyt celkového počtu mikroorganismů (CPM), bakterií mléčného kvašení (BMK) a bakterií čeledě *Enterobacteriaceae* u různých druhů jerky. Výsledky jsou uvedeny v log KTJ/g (průměr, minimální a maximální hodnota).

	CPM	BMK	*Enterobacteriaceae*
Hovězí	3, 07 <1; 5,08	2,51 <1,7; 3,95	<1 <1; 1,18
Krůtí	2,85 <1; 5,36	2,33 <1,7; 4,08	<1 <1; 1,16
Zvěřina	1,56 <1; 2,49	1,71 <1,7; 5,36	<1 <1; <1
Vepřové	2,53 1,78; 3,28	1,67 <1,7; 2,48	<1 <1; <1

Celkový počet mikroorganismů je důležitým aspektem při výrobě sušeného masa, protože ovlivňuje jeho bezpečnost a údržnost. Hodnoty CPM jsou ovlivněny různými faktory, jako je druh masa, způsob zpracování, podmínky skladování atd. Počáteční hodnoty CPM v sušeném mase se pohybují v rozmezí 10^1 až 10^3 log KTJ/g. Další rozvoj mikroorganismů záleží na způsobu balení, druhu masa a způsobu skladování (Yang et al., 2009; Guo et al., 2020). Yang et. al. (2009) porovnávali hodnoty CPM u hovězího a vepřového jerky během skladování. Počáteční hodnoty se pohybovaly kolem hodnot 10^2 až 10^3 KTJ/g. Po 15 dnech skladování došlo k významnému zvýšení CPM u obou druhů, přičemž u hovězího masa bylo toto zvýšení významně nižší. Naše výsledky CPM ukázaly shodu s počátečními hodnotami u všech druhů masa, což svědčí o nízké úrovni kontaminace tohoto výrobku. Bakterie mléčného kvašení dosáhly nejvyšších hodnot ve vzorku zvěřiny (10^5 KTJ/g). Průměrně se hodnoty BMK pohybovaly kolem 10^2 KTJ/g. Počty naznačují, že se jedná kvalitní výrobky s vysokou údržností. Bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae,* považované za hygienický indikátor prostředí (Paz-Gonzáles et al., 2023) byly nalezeny u 2 vzorků různých druhů masa (hovězí a krůtí) v hodnotách 10^1 KTJ/g.

Proces výroby jerky obvykle zahrnuje sušení masa při relativně nízkých teplotách, což umožňuje přežití patogenních bakterií jako je *Salmonella* spp. Některé sérovary *S. Enterica* mohou přežívat v potravinách s nižší aktivitou vody a jsou odolnější vůči tepelnému

opracování. Jsou také známy případy onemocnění lidí salmonelózou po požití jerky. V případě salmonely může představovat riziko vstupní surovina, častější je ale sekundární kontaminace, kdy se salmonela dostává do produktů z výrobního zařízení, pomůcek a od pracovníků. Křížová kontaminace představuje problém zejména u menších provozů s omezenými prostorami a personálem, proto je nutná důsledná sanitace prostředí a hygiena pracovníků (Wu et al., 2018). V naší studii nebyla *Salmonella spp*. ve vzorcích prokázána.

Zpracovatelské prostředí představuje hlavní zdroj kontaminace potravin bakterií *Listeria monocytogenes* (Meloni, 2014). Při výrobě jerky byla potvrzena přítomnost *L. monocytogenes* v surovině i na površích, které pocházejí do styku s potravinami (Coradini et al., 2019). Na druhou stranu v konečném produktu nebyla listerie prokázána. Překážkový efekt, který představuje tepelné ošetření, marinování a snížení aktivity vody se jeví jako dostatečný proti růstu a množení mikroorganismů (Coradini et al., 2019). Autor Coradini et al, 2019 ale také uvádí pozitivitu jednoho vzorku odebraného až po tepelném opracování jerky, což ukazuje na riziko křížové kontaminace konečného produktu, proto je důležité striktně dodržovat hygienické zásady během výroby jerky. V námi analyzovaných vzorcích jerky nebyla *L. monocytogenes* prokázána, což ukazuje na správné dodržování hygienické a výrobní praxe ve výrobnách sušeného masa.

V souvislosti s jerky jsou často zmiňovány plísně, které přispívají k jeho kažení (Yong et al., 2017). V žádném druhu testovaného masného výrobku nebyly plísně prokázány.

ZÁVĚR

Jerky představuje jeden z nejstarších masných výrobků, který se konzervuje sušením při relativně nízkých teplotách. V dnešní době představuje oblíbený produkt v rámci zdravého životního stylu. Z důvodů používání teplot, které nevedou vždy k devitalizaci přítomné mikrobioty a vyššímu riziku křížové kontaminace, může představovat pro spotřebitele jisté riziko. Během výrobního procesu je důležité minimalizovat kontaminaci použitím kvalitní suroviny a zabránit křížové kontaminaci masa. Výsledky předložené studie ukázaly dobrou mikrobiální kvalitu analyzovaných výrobků. K potvrzení prezentovaných výsledků budou nutné analýzy větších souborů.

PODĚKOVÁNÍ

Tato studie byla podpořena grantem č. 214/2024/FVHE Interní grantové agentury Veterinární univerzity Brno.

POUŽITÁ LITERATURA

1. CORADINI, M. G. L. et al. Occurrence and characterization of *Listeria monocytogenes* from beef jerky processing line. In *Journal of Food Science and Technology*. ISSN 0975-8402, 2019, vol. 56, no. 1, p. 436-442.
2. ČSN EN ISO 4833-1 Mikrobiologie potravinového řetězce – Horizontální metoda pro stanovení počtu mikroorganismů – Část 1: Technika přelivem a počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C. 2014.
3. ČSN ISO 15214 Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda stanovení počtu mezofilních bakterií mléčného kvašení – Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C. 2000.
4. ČSN EN ISO 21528-1 Mikrobiologie potravinového řetězce – Horizontální metoda průkazu a stanovení počtu bakterií čeledi Enterobacteriaceae – Část 1: Průkaz bakterií čeledi Enterobacteriaceae. 2018.
5. ČSN EN ISO 11290-1 Mikrobiologie potravinového řetězce – Horizontální metoda průkazu a stanovení počtu Listeria monocytogenes a Listeria spp. - Část 1: Metoda průkazu. 2018.
6. ČSN EN ISO 6579-1 Mikrobiologie potravinového řetězce - Horizontální metoda průkazu, stanovení počtu a sérotypizace bakterií rodu Salmonella - Část 1: Průkaz bakterií rodu Salmonella. 2020.
7. ČSN ISO 21527-2 Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda stanovení počtu kvasinek a plísní - Část 2: Technika počítání kolonií u výrobků s aktivitou vody nižší než nebo rovnou 0,95. 2009.
8. DINCER, E. A. Dried meat products obtained by different methods from past to present. In *Food Reviews International.* ISSN: 8755-9129, 2023, vol. 39, no. 5, p. 2457-2476.
9. GUO, Z. L. et al. Effect of a sea buckthorn pomace extract-esterified potato starch film on the quality and spoilage bacteria of beef jerky sold in supermarket. In *Food Chemistry*. ISSN, 2020, vol. 326, 127001.
10. MISHRA, B. et al. Dehydrated meat products: A review. In *International Journal of Livestock Research*. ISSN 2277-1964, 2017, vol. 7, no. 11, p. 10-22.
11. MEDIANI, A. et al. A comprehensive review of drying meat products and the associated effects and changes. In *Frontiers in nutrition*. ISSN 2296 - 861X, 2022, vol. 9, 1057366.
12. MELONI, D. Presence and molecular characterization of the major serovars of Listeria monocytogenes in ten Sardinian fermented sausage processing plants.In *Meat Science*. ISSN 1873-4138, 2014, vol. 97, no. 4, p. 443-450.

13. PAZ-GONZÁLEZ, A. D. et al. *Enterobacteriaceae* in pork meat: causal agents of public health problems. In *Biotecnia*. ISSN 1665-1456, 2023, vol. 25, no. 2, p. 73-78.
14. YANG, H. S. et al. The physicochemical and microbiological characteristics of pork jerky in comparison to beef jerky. In *Meat Science*. ISSN 1873-4138, 2009, vol. 82, no. 3, p. 289-294.
15. YONG, E. I. et al. Flexible thin-layer plasma inactivation of bacteria and mold survival in beef jerky packaging and its effects on the meat's physicochemical properties. In *Meat Science* ISSN 1873-4138, 2017, vol. 123, p. 151-156.
16. WU, J. et al. Evaluation of transfer rates of *Salmonella* from single-use gloves and sleeves to dehydrated pork jerky. In *Food Control*. ISSN 0956-7135, 2018, vol. 84, p. 17-22.

Kontaktní adresa: Veselá Helena, Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Veterinární univerzita Brno, Palackého třída, 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika; E-mail: veselah@vfu.cz

UPLATNENIE BIOLUMINISCENČNEJ METÓDY V MÄSOSPRACUJÚCOM PODNIKU

APPLICATION OF THE BIOLUMINISCENCE METHOD IN A MEAT PROCESSING PLANT

Veszelits Laktičová Katarína, Vargová Mária, Sasáková Naďa

Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat

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

ABSTRACT

Sanitation is one of the most imporant functions in meat processing plant. In the production of meat products, non-compliance with basic hygiene conditions, processing of unsuitable raw materials, errors in packaging and storage may occur, and therefore the application of permanent monitoring of hygiene is justified. The speed of hygiene monitoring of classic microbiological methods depends on the growth speed of theidentified groups of microorganisms, this method is time-consuming. From the point of view of hygiene control, fasr modern methods, bioluminiscence methods are used more and more. In the work, we focused on the evaluation of hygiene and sanitation in the meat processing plant using the bioluminescence method. Topax 66 disinfectant was used to disinfect the surfaces of technological equipment. Based on the obtained ATP (Adenosine triphosphate) swabs from the evaluated surfaces in evaluated surfaces in selected parts of the operation, we can conclude that the hygiene level in the monitored meat processing plant was at a good level, except for the high number of measured RLU (Relative light units) values that were detected in the slaughter section on the saw, after disinfection in the number of 1002 RLU and before starting production in quantities of 1080 RLU. These unsatisfactory numbers of measured RLU values point to insufficient cleaning and disinfection of the monitored technological equipment. By applying the ATP method, timely hygiene control, we can prevent such errors in practical conditions.

Key words: bioluminscence method, hygiene, ATP swabs, P3 Topax 66, food industry

ÚVOD

Mäso, mäsové výrobky a ich spotreba sa považujú za jedno z kritérií posudzovania životnej úrovne. Na Slovensku poklesla ročná spotreba mäsa na obyvateľa celkom, zmenila sa produktová štruktúra mias, zvýšili sa požiadavky spotrebiteľov na kvalitu a bezpečnosť potravín (NAGYOVÁ, 2006). Základným princípom európskej potravinovej politiky je vysoký štandard kvality a zdravotnej nezávadnosti potravín, ktorý zaručuje ochranu zdravia

spotrebiteľov pri širokej ponuke potravín zo všetkých členských štátov. Bezpečnosť potravín je základným predpokladom funkčnosti jednotného trhu EU (European Union) a WHO (World Health Organisation) v oblasti obchodu s produktmi agro-potravinárskeho komplexu a je daná zo zákona. Je preto nutné, aby v rámci Spoločenstva všetky členské štáty dodržiavali príslušné právne predpisy nielen pre zdravotnú nezávadnosť, ale aj pre kvalitu potravín (BABIČKA, 2006).

Dezinfekcia technologických zariadení a pracovného priestoru môže byť rozhodujúcim kontrolným bodom v HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points) systéme a preto je stanovenie možných biologických rizík nevyhnutné (KOTTFEROVÁ a kol., 2004).

Pre výrobu je optimálne spojenie permanentného monitoringu hygienickej úrovne s poskytnutím výsledkov laboratórneho vyšetrenia ešte v čase, kedy sa dá v prípade nepriaznivých zistení vykonať náprava tak, aby sa predišlo znehodnoteniu výrobku a kontaminácií výrobných priestorov, čo by mohlo zabrániť rozsiahlejším ekonomickým škodám a predovšetkým ohrozeniu zdravia konzumentov, prípadne vzniku alimentárnych ochorení (PETRÍKOVÁ, 2001).

Bioluminiscenčné metódy sú moderné metódy, ktorých prednosťami sú predovšetkým rýchlosť, jednoduchosť, časová i personálna nenáročnosť, ľahká manipulácia, zistenie prítomnosti nečistôt a predovšetkým možnosť okamžitej nápravy. Zvýšený počet mikroorganizmov, prípadne výskyt nežiaducej mikroflóry, sú zvyčajne až konečným dôsledkom nesprávne vykonaného čistenia a dezinfekcie, primárny problém spočíva v nedokonalom odstránení organických zvyškov pri výrobe potravín z technologických zariadení, prípadne z pracovného prostredia. Neodstránené organické látky sú vhodnou živnou pôdou pre pomnoženie mikroorganizmov, čo vedie ku vzniku nežiaducej kontaminácie. Výsledky kontroly účinnosti vykonanej sanitácie, ktoré sú k dispozícii o relatívne krátky čas, majú ten význam, že na ich základe možno v prípade nepriaznivých zistení okamžite opakovať celý sanitačný proces, prípadne podľa potreby upraviť niektorú jeho etapu. V súčasnosti sa čoraz v širšom meradle začínajú používať metódy na báze bioluminiscencie (SUKOVÁ, 2002).

V práci sme sa zamerali ma hodnotenie hygieny vybraných povrchov technologických zariadení pomocou bioluminiscenčnej metódy v monitorovanej mäso spracujúcej prevádzke.

MATERIÁL A METÓDY

Hodnotená prevádzka má vypracovaný a zavedený systém, založený na zásadách HACCP. Súčasťou dokumentácie je aj sanitačný program, v ktorom sú detailne popísané používané čistiace a dezinfekčné prostriedky a postupy. Podľa neho sa vedú písomné záznamy o uskutočnených operáciách s podpismi zodpovedných osôb. Priestory a zariadenia bitúnku sa

čistia ručne aj strojovo. V hodnotenej prevádzke sa na dezinfekciu technologických zariadení používa dezinfekčný prostriedok P3 Topax 66 v 2 % koncentrácii a 30 minútovej expozícii. Z monitorovaných prevádzkových miestností boli odoberané a vyhodnocované ATP stery pred začatím výroby, počas výroby a po dezinfekcii.

Uplatnenie bioluminiscencie pri kontrole hygieny je založené na meraní množstva ATP nachádzajúceho sa vo všetkých živých bunkách alebo v ich partikulách a taktiež v mikroorganizmoch, v ktorých slúži ako zdroj energie. Množstvo svetla uvoľnené pri bioluminiscenčnej reakcii ATP (adenozíntrifosfatázy) so špecifickými chemickými činidlami je priamo úmerné množstvu ATP, a teda aj množstvu mikroorganizmov. Priebeh reakcie je veľmi rýchly, množstvo vzniknutého svetla sa dá objektívne kvantifikovať pomocou citlivého prístroja – luminometra, ktorý je schopný zachytiť a zmerať i veľmi malé množstvo vzniknutého svetla. Na základe dosiahnutých výsledkov je možné ihneď urobiť závery, či je alebo nie je analyzovaná vzorka kontaminovaná. Veľkou výhodou tejto metódy je vysoká citlivosť, nezávislosť na skúsenostiach personálu a reprodukovateľné výsledky do 1 minúty. Táto metóda sa môže používať len ako doplnková k mikrobiologickej kontrole účinnosti dezinfekcie. ATP sa stanovuje použitím luminometrov. Hy – Lite systém pozostáva zo zariadenia (luminometra), ktoré sa používa na stanovenie emitovaného svetla a z reagenčnej komory vzorkovacieho pera. Perá sú dodávané výrobcom na vyšetrovanie sterov z vyšetrovacej plochy 100 cm^2. ATP zo vzorky reaguje s enzýmom luciferín v reagenčnej komore pera a intenzita emitovaného svetla sa stanovuje v komore luminometra. Intenzita emitovaného svetla vzorky sa vyjadruje v relatívnych luminiscenčných jednotkách (RLU). RLU sú závisle od množstva ATP v testovanej vzorke, a tým od množstva biologickej kontaminácie na vyšetrovanom povrchu.

Doporučené limity: Vyhovujúce: < 500 Hraničné (medzné): 501-909 Nevyhovujúce: > 1 000

VÝSLEDKY

Tabuľka č. 1: Priemerné hodnoty mikroorganizmov na technologických zariadeniach v časti porážka, z plochy 10 cm^2 (KTJ.10 cm^{-2})

Miesto odberu	Pred výrobou	Počas výroby	Po dezinfekcii
Pílka	1080	1082	1002
Dočisťovač	16	135	6
Odštetinovač	5	50	5

Tabuľka č. 2: Priemerné hodnoty mikroorganizmov na technologických zariadeniach v časti rozrábka, z plochy 10 cm^2 (KTJ. 10 cm^{-2})

Miesto odberu	Pred výrobou	Počas výroby	Po dezinfekcii
Píla	44	125	4
Sekáč	30	35	25
Sterilizátor	1	5	0

Tabuľka č. 3: Priemerné počty mikroorganizmov na technologických zariadeniach v časti výroba, z plochy 10 cm 2 (KTJ. 10 cm^{-2})

Miesto odberu	Pred výrobou	Počas výroby	Po dezinfekcii
Kúter	12	125	8
Rezačka	5	70	5
Miešačka	19	1101	18

DISKUSIA

Pre zabezpečenie kvality výrobkov v potravinárskych prevádzkach podľa požiadaviek HACCP je rozhodujúcim faktorom kontrola hygieny a kvality čistenia priestorov i kvalita finálnych výrobkov. Vyšetrenia klasickými mikrobiologickými metódami z hľadiska rýchlosti poskytnutia výsledkov nespĺňajú požiadavky praxe, ktorá požaduje čo najrýchlejšie vyhodnotenie účinnosti sanitácie, stavu hygieny výroby alebo kvality hotového výrobku (VOJTAŠŠÁK, 2003).

Pri použití prístroja Hy – Lite s príslušenstvom sme výsledok dosiahli už do 1 minút. Zistenie ATP poukazuje na prítomnosť akejkoľvek organickej nečistoty, ktorá je substrátom pre pomnoženie mikroorganizmov a jej vyššie hodnoty znamenajú buď prítomnosť mikroorganizmov alebo ich potenciálnej živnej pôdy.

Po odčítaní a interpretovaní dosiahnutých výsledkov sme konštatovali, že všetky výsledky boli v numerickej tolerancii, ktorú uvádza výrobca s doporučenými limitmi pre rôzne druhy výroby potravín až na výsledky získané v časti porážka, kde na pílke boli detekované zvýšené RLU hodnoty po dezinfekcii (1002 RLU) ako aj pred začatím výroby (1080 RLU).

Všetky nedostatky počas výroby odstraňujú nové moderné metódy, ktorých prednosťami sú predovšetkým rýchlosť, jednoduchosť, časová i personálna nenáročnosť, ľahká manipulácia, zistenie prítomnosti nečistôt a predovšetkým možnosť okamžitej nápravy. Zvýšený počet

mikroorganizmov, prípadne výskyt nežiaducej mikroflóry, sú zvyčajne až konečným dôsledkom nesprávne vykonaného čistenia a dezinfekcie (SUKOVÁ, 2002).

ZÁVER

Klasický spôsob mikrobiologickej kontroly v potravinárskom priemysle nie je vhodný, je časovo náročný a výsledky sa získavajú až po ukončení výrobného procesu. Takýmto spôsobom sa nemôže ovplyvniť hygiena výroby potravinárskych výrobkov a následne môže dôjsť ku kontaminácii výrobku. Práve z tohto dôvodu sa častejšie využívajú rýchle moderné metódy. Najčastejšie využívanou metódou je metóda založená na bioluminiscenčnej reakcii. Výsledky sa získajú za krátky čas do 1 minúty. Bioluminiscencná metóda sa dá použiť vo všetkých fázach výroby potravinárskych výrobkov a tak sa môže zabrániť znečisteniu povrchov.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Nagyová, Ľ., Dodák, D. Konkurencieschopnosť hovädzieho mäsa a jeho produktov pred vstupom SR do EÚ. In: Zborník vedeckých prác „Medzinárodné vedecké dni .“ SPU Nitra, 2002. ISBN 80-889-20-5. s. 187-192. Babička, L., Kouřimská, L., Poustková, I., Faměra, O., Koudelka, M., Götzová, J.: Dusičnany ako rizikový faktor v potravinách. In: Zborník prác z medzinárod. ved. konfer. „bezpečnosť a kontrola potravín”, Nitra, 2006, A, s. 107 – 110.
2. Kottferová, J. Použitie ATP metód pri inšpekcii potravinovej hygieny. Folia veterinaria, vol. 48, no. 1, suppl. (2004), p. 58.
3. Petríková , D. 2001. Rýchle mikrobiologické metódy pri monitorovaní hygieny. www.skatec.cz 4.
4. Vojtaššák, J.: Kontrola hygieny pomocou detektoru Lightning MVP. In: Mäso, 2003, č. 14. s. 33 – 35.
5. Suková, I. 2002. Rychlá metoda hodnocení hygieny provozu. Kvalita potravin, 2002, č. 1, s. 18.

Kontaktná adresa: MVDr. Katarína Veszelits Laktičová, PhD., Department of Public Veterinary Medicine and Animal Welfare, Komeského 73, 04181 Košice, Slovak republic; E-mail: Katarina.VeszelitsLakticova@uvlf.sk

STANOVENIE ANTIMIKROBIÁLNEJ REZISTENCIE U BAKTÉRIÍ *KLEBSIELLA OXYTOCA* IZOLOVANÝCH Z POTRAVÍN ŽIVOČÍŠNEHO PÔVODU

DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN *KLEBSIELLA OXYTOCA* BACTERIA ISOLATED FROM FOOD OF ANIMAL ORIGIN

Výrostková Jana[1], Regecová Ivana[1], Kováčová Mariana[1], Záhumenská Jana[1], Farkašová Zuzana[2], Leško Matej[1]

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

ABSTRACT

The aim of the work was to determine antibiotic resistance to selected antibiotic bacteria *Klebsiella oxytoca* from food samples. We found 22 positive products for the presence of *K. oxytoca* from the tested samples of sheep's and goat's cheese, made from unpasteurized milk on a sheep farm in the border area of Slovakia, as well as from samples of packaged minced meat, packaged beef steak, purchased in the retail network. Resistance, susceptibility and intermediate susceptibility were tested to 4 antibiotics: nitrofurantoin, chloramphenicol, ciprofloxacin and doxycycline. For nitrofurantoin, susceptibility was confirmed in (41%), moderately susceptible (1%) and 41% due to resistance. A total of 18% of the samples were resistant to chloramphenicol and the remaining 82% were sensitive. No sample was resistant to doxycycline and up to 16 samples were resistant to ciprofloxacin, representing 73%.

Key words: antimicrobial resistance, *Klebsiella oxytoca*

ÚVOD

Klebsiella sp., podobne ako aj iný zástupcovia Enterobacteriaceae, nie sú náročne na kultiváciu a nepotrebujú špeciálne média na rast. Ichj rast he podmienený teplotou od 10 – 40°C, avšak ich teplotné optimum predstavuje 37°C a optimálne pH je 7,2. Kultivačná doba je 24 hodín a rastú M formou rastu, teda tvoria mukoidné, mazľavé kolónie na médiu (Bennett et al., 2019).

K. oxytoca najčastejšie spôsobuje hemoragické hnačky, hemoragické kolitídy, pneumónie a bronchopneumónie, septikémie a infekcie močového traktu. Napadnutie gastrointestinálneho traktu je najčastejšie pozorované u pacientov s antibiotickou liečbou, ďalej pri narušení črevnej steny dochádza k prechodu klebsiel do krvného systému s následnou bakteriémiou a ďalšími systémovými komplikáciami. *K. oxytoca* patrí k baktériam

s multirezistenciou na antibiotiká, a to hlavne vďaka *K. oxytoca* špecifickým β-laktamázam (Yang et al., 2022). Pri infekciách spôsobených práve baktériou *K. oxytoca* sa najčastejšie používajú cefalosporíny tretej a štvrtej generácie, ako sú napríklad cefotaxím, ceftriaxón, ďalej to sú aminoglikozody, fluorochinolóny alebo karbapenémy, napríklad imipenem a cilastatin. Práve kvôli výskytu multirezistentných *Klebsiella* sp. sa často odporúča používať kombinácie antibiotík (Singh et al., 2016).

Je preto dôležité sa zaoberať výskytom rezistentných a multirezistentných kmeňov *K. oxytoca* v potravinách a môžeme teda zistiť či rezistentné kmene predstavujú len riziko pri prenose ochorenia, alebo aj pri konzumácií potravín.

MATERIÁL A METODIKA

Pre detekciu rezistentných kmeňov *Klebsiella oxytoca*, izoláty pochádzali zo vzoriek ovčieho a kozieho syra, vyrobených z nepasterizovaného mlieka na ovčej farme v pohraničnej oblasti Slovenska a taktiež zo vzoriek baleného mletého mäsa, hovädzieho steaku zakúpeného v maloobchodnej sieti. Po sterilnom odbere jednotlivých vzoriek (10g) sa pripravila základná suspenzia podľa STN EN ISO 6887-2 (2017) a STN EN ISO 6887-5 (2020).

Následne sa pristúpilo ku genotypovej analýze izolátov *Klebsiella oxytoca*. Izolovaná DNA sa použila ako templát na identifikáciu kmeňov *Klebsiella oxytoca* v PCR reakciách. Primery, ktoré boli použité sú PEHC (GATACGGAGTATGCCTTTACGGTG) navrhnutý v tejto práci pomocou programu Primer3 Input (versia 0.4.0; http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/) a PEHD (TAGCCTTTATCAAGCGGATACTGG) navrhnutý v štúdií Stojowska-Swędrzyńska et al., 2003.

Citlivosť izolovaných kmeňov na jednotlivé antibiotiká sa vykonala pomocou diskovej difúznej metódy (DDM; CLSI, 2021). Vybrané antibiotiká predstavoval: ciprofloxacin (CIP) 30 µg; doxycyklín (DOX) 5 µg; chloramfenikol (C) 30 µg a nitrofurantion (F) 300 µg. Ako referenčný kmeň pre DDM bol použitý CCM 3953 *Staphylococcus aureus* (Česká sbierka mikroorganizmov, Brno, Česká republika). Pri PCR reakciách sa ako pozitívna kontrola použil kmeň CCM 3565 *Klebsiella oxytoca* (Česká sbierka mikroorganizmov, Brno, Česká republika).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

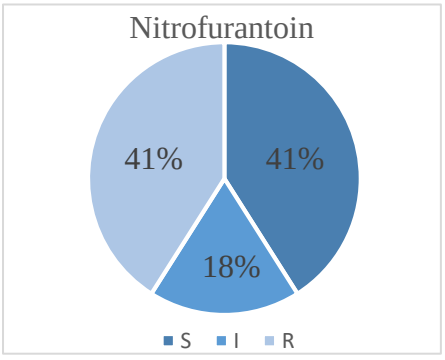
Rezistencia na antibiotiká je hrozba, ktorá v súčasnej dobe len narastá. Z tejto práce je zrejmé, že nejde len o problém týkajúci sa ochorení ale aj potravín. Vybrané vzorky potravín predstavujú mliečne ako aj mäsové výrobky. Zistili sme, že až 18% z izolovaných baktérií z čeľade *Enterobacteriaceae* predstavovala práve *Klebsiella oxytoca.*

Z pôvodných 50 testovaných vzoriek bolo kultivačným vyšetrením vyizolovaných spolu 110 baktérií z čeľade *Enterobacteriaceae*. Na potvrdenie druhu PCR metódu, bolo potvrdených 22 izolátov baktérie *Klebsiella oxytoca*, čo predstavuje 18% z pôvodných 110 izolátov.

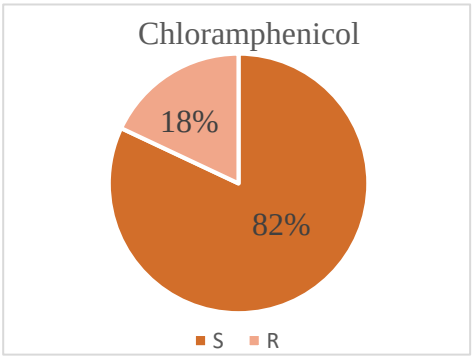
Z 22 izolátov predstavovalo 9 kmeňov z ovčieho syra, 5 kmeňov z kozieho syra, 5 kmeňov z mletého mäsa a 3 vzorky boli z hovädzieho surového steaku. V štúdií Abebe 2020, kde pri testovaní 100 druhov potravín, z toho 50 vzoriek syrov a 50 vzoriek mletého mäsa, boli *Klebsiella* spp. prítomné v 20 vzorkách syrov (40%) a v 4 vzorkách mletého mäsa (8%). Z týchto 24 vzoriek 19 predstavovala *K. oxytoca* (79%) a zvyšných 5 predstavovala *K. pneumonie* (21%).

Na nitrofurantoin bolo celkovo 9 vzoriek citlivých (41%), 4 vzorky boli intermediatne citlivé (18%) a 9 vzoriek bolo rezistentných (41%) (Graf č. 1). Na chloramfenikol boli rezistentné celkovo 4 vzorky (18%) a zvyšných 18 bolo na citlivých (82%) (Graf č. 2). Na doxycyklín nebola rezistentná žiadna vzorka, 12 vzoriek bolo intermediatne citlivých (55%) a 10 vzoriek bolo citlivých (45%) (Graf č. 3). Na ciprofloxacín bolo rezistentných až 16 vzoriek (73%), intermediátne citlivých boli 4 vzorky (18%) a citlivé boli iba 2 vzorky (9%) (Graf č. 4).

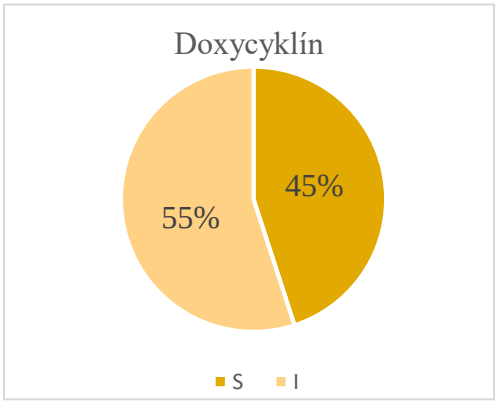
Graf č. 1



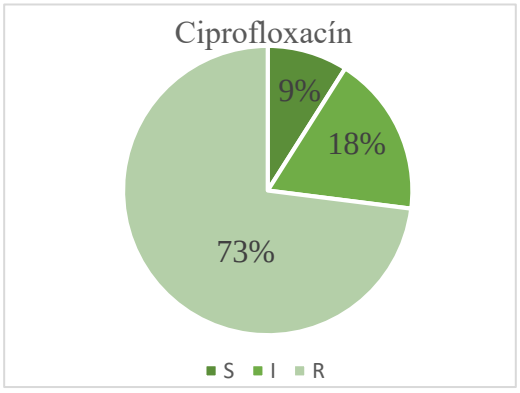
Graf č. 2



Graf č. 3



Graf č. 4



V štúdií Edris et al., 2023 pri testovaní antimikrobiálnej citlivosti izolovaných druhov Enterobacteriaceae vrátane *K. oxytoca* na 11 rôznych antibiotík vykazovali vysokú mieru rezistencie ako na nitrofurantoin tak aj ciprofloxacín. Podľa súčasných výsledkov fenotypovej rezistencie väčšiny izolátov na rôzne testované triedy antibiotík, druhy Enterobacteriaceae rezistentné na beta-laktám zdieľali fenotypovú rezistenciu na iné kriticky dôležité antibiotiká. Zatiaľ čo 83,33% v súčasnosti izolovaných Enterobacteriaceae z rôznych potravinárskych produktov vykazovalo silné vlastnosti produkcie biofilmu. Potravinové Enterobacteriaceae s MDR (multidrug-resistant) a silnými indexmi biofilmu ohrozujú niekoľko krokov spracovania potravín, ako je skladovanie, spracovanie a konzervácia, čo by mohlo mať negatívne ekonomické účinky a účinky na verejné zdravie (Harris et al., 2015).

ZÁVER

Zo znázornených grafov a výsledkov vieme zistiť, že testované izoláty javili najväčšiu rezistenciu na ciprofloxacín, zatiaľ čo chloramfenikol a doxycyklín predstavujú účinnejšie antibiotiká, očom svedčí aj menšie množstvo rezistentných kmeňov. Zlepšením a racionálnejším používaním antibiotík vieme znížiť aj ich výskyt v potravinách.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená projektom KEGA 011UVLF-4/2024.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ABEBE, G. M.. Detection of biofilm formation and antibiotic resistance in *Klebsiella oxytoca* and *Klebsiella pneumoniae* from animal origin foods. In *Int. J. Microbiol. Biotechnol*, 2020, vol. 5, no. 3, p. 120.
2. BENNETT, J, E. et al. Mandell, Douglas and Bennett's Infectious disease essentials. Elsevier Health Sciences, 2016.
3. CLSI Document MM21-A; Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, USA, 2021.
4. EDRIS S. N et al.. Prevalence, antibiotic resistance patterns, and biofilm formation ability of Enterobacterales recovered from food of animal origin in Egypt. In *Vet World*. 2023, vo. 16, no. 2, p. 403-413.
5. HARRIS, P. - PATERSON, D. - ROGERS, B. Facing the challenge of multidrug-resistant gram-negative bacilli in Australia. In *The Medical Journal of Australia*, 2015, 202.5, p. 243-246.

6. SINGH, L. - CARIAPPA, M.P. - KAUR, M. *Klebsiella oxytoca*: An emerging pathogen?. In *Medical Journal Armed Forces India*, 2016, 72: p. 59-61.
7. STN EN ISO 6887-2. Mikrobiológia potravinárskeho reťazca. Úprava analytických vzoriek, príprava základnej suspenzie a desaťnásobných riedení na mikrobiologické skúšanie. Časť 2: Špecifické pokyny na úpravu mäsa a mäsových výrobkov. 2004
8. STN EN ISO 6887-5. Mikrobiológia potravinárskeho reťazca. Úprava analytických vzoriek, príprava základnej suspenzie a desaťnásobných riedení na mikrobiologické skúšanie. Časť 5: Špecifické pokyny na úpravu mlieka a mliečnych výrobkov. 2020
9. STOJOWSKA-SWĘDRZYŃSKA, K. - KRAWCZYK, B. A new assay for the simultaneous identification and differentiation of *Klebsiella oxytoca* strains. In *Applied microbiology and biotechnology*, 2016, 100, p. 10115-10123.
10. YANG, J. et al. *Klebsiella oxytoca* complex: update on taxonomy, antimicrobial resistance, and virulence. In *Clinical microbiology reviews*, 2022, 35.1: e00006-21.

Kontaktná adresa: Výrostková Jana, Department of Food Hygiene and Technology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: jana.vyrostkova@uvlf.sk

HODNOTENIE KVALITY HRÁŠKU PO TEPELNOM SPÔSOBE SPRACOVANIA

EVALUATION OF THE QUALITY OF PEAS AFTER THERMAL PROCESSING

Zahumenská Jana[1], Dudriková Eva[1], Naď Pavel[2], Kováčová Mariana[1], Výrostková Jana[1]

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

ABSTRACT

The work analyzed samples of peas (n = 4/4; A1 – A4 – frozen pea; B1– B4 – sterilized pea), as well as pickled pea (C1 – C4). Chemical analysis and sensory analysis were performed. A statistically significant influence of the content of dry matter, nitrogenous substances, fat and fiber between peas processed by freezing and sterilization was confirmed ($p < 0.5$). The tested parameter ash content was not statistically significant ($p > 0.5$). The average values of fat content in the group of frozen samples were 6.67 g/kg, while the lowest fat content was analyzed in sample A4 (5.90 g/kg). The average values of fiber content were 27.7 g/kg, but sample A4 showed 28.48% lower fiber content than sample A3. Frozen sample B3 from the Czech Republic was rated the best (33 points) for its firm consistency, preserved taste and aroma of fresh peas. The B4 (SR) sample, intended primarily for children, fared the worst in the evaluation of frozen samples due to its too soft consistency and empty taste (18 points). It has been found that at higher temperatures, frozen peas can lose color.

Key words: quality, peas, quality, freezing, sterilization, sensory analysis

ÚVOD

Pisum sativum L., známy ako zelený hrášok, suchý hrach alebo hrach siaty je dôležitá strukovina, ktorá poskytuje dobrý zdroj bielkovín, vitamínov, minerálov a bioaktívnych zlúčenín, ktoré sú prospešné pre ľudské zdravie (Fahmi et al., 2019; Kumari et al., 2021; Han et al., 2023). Hrach sa pestuje takmer vo všetkých krajinách sveta a považuje sa za nevyhnutnú súčasť ľudskej stravy (Liu et al., 2019). Podľa ŠÚ SR (2019) spotreba jedlých strukovín (hrachu, fazule, šošovice) je na Slovensku dlhodobo nízka. Pri hrachu sa pohybuje okolo 0,5-0,7 kg na jedného obyvateľa za rok. V roku 2018 produkcia hrachu siateho klesla medziročne o 19,2 % (o 3 948 t) na 16 617 ton, z toho hrach jedlý tvoril 40,3 %. Hrach sa vyviezol najmä do Poľska, Talianska, Českej republiky a do Nemecka. Doviezol sa najmä z Českej republiky a z Poľska. Zo strukovín pestovaných v EÚ a vo svete je najrozšírenejšie pestovanie hrachu (50,5%), menej sa pestuje bôb, lupina, fazuľa a šošovica.

Biologická aktivita a zdravotné prínosy hrachu sú zvyčajne spojené s jeho živinami a bioaktívnymi zložkami (Babbitt et al., 2021). Glykemický index (GI) hrachu je zvyčajne nižší ako 60, preto sa považuje za potravinu so stredným alebo nízkym GI (Dahl et al.,, 2012). Okrem toho hrášok neobsahuje lepok (Jenkins et al., 2021), čo znamená, že ho môžu konzumovať aj ľudia s celiakiou. Hrach je tiež bohatý na vlákninu, ktorá môže poskytnúť rôzne zdravotné výhody prostredníctvom regulácie črevného mikrobiálneho zloženia (Wu et al., 2023). Je dobrým zdrojom minerálov (napr. vápnik, železo a zinok) a vitamínov (napr. karotenoidy a kyselina listová), aj polyfenolov (flavonoidov) (Yu et al., 2020).

Konzerovaný hrášok je výrobok (a) pripravený z čerstvých alebo mrazených, čistých, výrazne zdravých, celých, vylúpaných nezrelých (zelených) semien; (b) balený s vodou alebo iným vhodným kvapalným médiom, cukrom, koreninami a inými zložkami vhodnými pre tento výrobok; (c) tepelne spracovaný vhodným postupom, aby sa zabránilo kazeniu, a to pred alebo po uzavretí do nádoby (Codex STAN 58-1981).

Mrazený hrášok sa zvyčajne získava zo zrelých hráškov, ktoré sú rýchlo mrazené po zbere. Tým si udržuje väčšinu svojej výživnej hodnoty a chuti (Luh, 2023). Zmrazovanie je účinný spôsob konzervácie, ktorý zachováva kvalitu potravín takmer na čerstvý produkt (Vyhláška MPRV SR, 2012).

Sterilizovaný hrášok je konzervovaná forma hrášku, ktorá je tepelne ošetrená s cieľom zničiť škodlivé mikroorganizmy a predĺžiť jeho trvanlivosť. Po sterilizácii sa niektoré vlastnosti hrášku môžu zmeniť, napr. chuť, farba a textúra.

Je dôležité poznamenať, že každý spôsob tepelného spracovania môže mať iný vplyv na vlastnosti hrášku. Je dôležité zvážiť preferencie v chuti, výžive a praktické aspekty (trvanlivosť, dostupnosť) pri výbere spracovania hrášku. V práci sme hodnotili kvalitu vzoriek mrazeného a sterilizovaného hrášku zakúpeného v obchodnej sieti v Košiciach.

MATERIÁL A METODIKA

V práci boli analyzované vzorky mrazeného a sterilizovaného hrášku zakúpeného v obchodnej sieti. Analýzy vzoriek (n = 4/4 ; A1 – A4 – mrazený hrášok; B1– B4 – sterilizovaný hrášok) boli vykonané na Katedre hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín v spolupráci s Katedrou výživy a chovu zvierat na UVLF v Košiciach. Okrem samotného hrášku bol analyzovaný u sterilizovaného hrášku aj nálev (C1 – C4). Všetky vzorky sú uvádzané anonymne bez názvu výrobcu.

Chemická analýza (popol, obsah hrubej vlákniny, obsah sušiny, obsah hrubého tuku a obsah dusíkatých látok) bola vykonaná analytickými metódami podľa príslušných ustanovení Nariadenia ES č. 152 z 27. januára 2009. Mrazené vzorky určené na senzorickú analýzu sa

pripravovali podľa EN ISO 6658:2017 Následne sa vykonalo preverenie senzorickej kvality prostredníctvom metódy profilového testu a metódou bodového testu podľa 5 bodovej stupnice (Lawless and Heymann, 2010; Maľa 2012). Panel posudzovateľov bol vybraný a vyškolený podľa noriem ISO (ISO, 1993). Posudzovali sme vzhľad, konzistenciu, chuť a vôňu, farbu aj celkový dojem.

Farba analyzovaných vzoriek (skupina A, B, C) bola kvantitatívne meraná prístrojom Minolta Chroma meter CR-410 (Minolta, Osaka, Japonsko) (McLaren, 1976) pomocou hodnôt Medzinárodnej komisie pre osvetlenie (CIE, 1986). Hmotnosť pevného podielu, teda hmotnosť hrášku po odkvapkaní sme zisťovali vážením podľa ČSN 56 0246.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z výsledkov chemických analýz (Tabuľka č. 1) vyplýva, že bol potvrdený štatisticky významný vplyv obsahu sušiny, dusíkatých látok, tuku a vlákniny medzi hráškom spracovaným mrazením a sterilizáciou ($p < 0,5$). Sledovaný parameter obsah popolu nebol štatistický významný ($p > 0,5$).

Tabuľka č. 1, Výsledky priemerných hodnôt chemických analýz vzoriek hrášku

g/ kg	A1	A2	A3	A4	B1	B2	B3	B4	*p* Hodnota
Sušina	230,50	254,0	277,70	191,40	246,30	253,40	233,60	232,80	<0,5
NL	50,20	58,90	69,20	41,80	54,12	58,60	53,80	51,80	<0,5
Tuk	7,20	6,40	7,20	5,90	6,21	6,60	6,20	6,40	<0,5
Vláknina	27,40	27,40	32,30	23,10	27,50	27,50	28,70	27,70	<0,5
Popol	6,80	6,70	8,30	6,10	11,10	10,90	11,10	11,20	>0,5

A1 – extra fine green peas frozen (DE); A2 – zelený hrášok hlbokozmrazený (SR); A3 – český hrášok (ČR); A4 – hlbokozmrazený jemný zelený hrášok (SR); B1 – hrášok zelený v mierne slanom náleve (vyrobené v EÚ); B2 – hrášok sterilizovaný (SR); B3 – peas green and juicy (PL); B4 – hrášok v mierne slanom náleve (HU); NL – dusíkaté látky

Vzorka mrazeného hrášku A3 vykázala najvyššie hodnoty vo všetkých sledovaných parametroch, najnižšie hodnoty boli stanovené vo vzorke A4. Obsah tuku vo vzorkách mrazeného hrášku sa pohyboval od 5,90 g/ kg do 7,20 g/ kg. V skupine vzoriek sterilizovaného hrášku bol obsah tuku porovnateľný. Najenergetickejšou živinou organickej hmoty krmív je tuk. Z výsledkov viacerých autorov (Aluko et al., 2009; Stein et al., 2016) vyplýva, že obsah tuku v semenách hrachu sa pohybuje od 5 do 20 g/kg sušiny. Podľa Chen et al. (2023) sú rôzne kultivary hrachu bohaté na živiny s rôznym obsahom lipidov (0,57 až 3,52 %), vlákniny (11,34 až 16,13 %) a bielkovín (19,75 až 26,48 %). Analyticky stanovený obsah tuku v semenách hrachu pohybujúci sa od 5,90 do 7,20 g/kg plne korešponduje s výsledkami uvedených autorov, i keď hodnoty sú od hornej hranice o niečo nižšie (Landero et al., 2014).

Limitujúcim faktorom stráviteľnosti a príjmu krmiva je množstvo vlákniny (Mudřík et al., 2006). V semenách hrachu je obsah vlákniny relatívne nízky (Koivunen et al., 2018). Stanovenie vlákniny potravín je veľmi dôležité z hľadiska nutričnej hodnoty potravín. Priemerné hodnoty testovaných vzoriek hrášku boli 27,7 g/ kg, avšak vzorka A4 vykázala o 28,48 % nižší obsah vlákniny ako vzorka A3. V obsahu popola sme nezistili štatisticky významný rozdiel v obsahu popola medzi vzorkami mrazeného a sterilizovaného hrášku. Diétna vláknina môže poskytnúť rôzne zdravotné výhody prostredníctvom regulácie črevného mikrobiálneho zloženia (Avezum et al., 2022). Semená hrachu sú bohaté na vlákninu (od 23,23 % do 30,72 %).

V rámci senzorického hodnotenia sme zisťovali mieru poškodenia hráškových zŕn, obsah voľných šupiek a dodržanie hmotnosti pevného podielu v sterilizovanom hrášku. Celkovú chutnosť sme sledovali v bodovom teste. Najlepšie bola ohodnotená vzorka mazeného hrášku B3 pre jeho pevnú konzistenciu, zachovanú chuť a arómu čerstvého hrášku (33 bodov) z maximálneho počtu 35 bodov. Najhoršie hodnotenie získala vzorka B4 mrazeného hrášku určená predovšetkým deťom pre príliš mäkkú konzistenciu a prázdnu chuť (18 bodov).

U vzoriek sterilizovaného hrášku za najlepšiu vzorku bola určená vzorka B1 pre jej výbornú chuť, typickú po čerstvom hrášku (34 bodov), a to aj napriek farebným odchýlkam niekoľkých zŕn. U vzorky B2 bola pozorovaná mäkšia konzistencia, pevná šupka a prázdna chuť hrášku (28 bodov). Výrazne sladkú chuť mala vzorka B4 (20 bodov), hrášok bol príliš mäkkej, rozpadajúcej sa konzistencie s atypickým pachom. Vzorka B3 získala u posudzovateľov najnižší počet bodov (14 bodov) pre príliš pevnú šupku, veľké množstvo uvoľnených šupiek, farebnú odlišnosť zŕn, prázdnu chuť a nálev mal nepríjemnú arómu a pachuť. Hmotnosť pevného podielu vo vzorke B3 bola najvyššia (280 g). Najnižší obsah nálevu bol vo vzorke B4 (125 ml; 270 g pevný podiel). Nálev C4 (vzorka B4) mal najtmavšiu farbu a prítomný sediment. Nálev C3 (vzorka B3) bol najsvetlejšej farby a bol výrazne sladký. Za najhorší bol ohodnotený nálev C3 pre jeho nepríjemnú chuť a arómu. Predpokladáme, že to môže súvisieť s použitím „naturálna minerálna voda“ pri výrobe nálevu.

Konzervovaný hrášok môže obsahovať malé množstvo sedimentu (CODEX STAN 58-1981). Mrazený hrášok zvyčajne zachováva pevnú a šťavnatú textúru, zatiaľ čo sterilizovaný hrášok môže mať mäkšiu textúru v dôsledku tepelného spracovania. Zrnká hrášku boli najmenšie u vzorky B2. Preto mali väčší podiel šupky v pomere k dužine. Hrášok bol tuhší, sypkejší, menej sladký.

Pri hodnotení farby testovaného hrášku boli stanovené tri farebné parametre, L* (svetlosť), a* (zeleno-červená) hodnota a b* (modro-žltá) hodnota (Gonzalez et al., 2020; Chen et al., 2023). U hrášku sa popisujú nasledovné odtiene: krémovo žltá, svetlozelená, zelená,

vojenská zelená, tmavozelená, hnedá alebo oranžovo-hnedá. Rozdiel pozorovaný vo farbe hrášku súvisí s biosyntézou flavonoidov, ktoré môžu byť ovplyvnené rôznymi kultivarmi a pestovateľským prostredím. Obsah flavonoidov vo vzorkách tmavého obalu semena je vo všeobecnosti vyšší ako vo vzorkách svetlej farby (Ashokkumar et al., 2015; Stanisavljevic et al., 2015; Stanisavljevic et al., 2016). Hodnotenie výsledkov merania farby uvádza Tabuľka č. 2.

Tabuľka č. 2, Výsledky merania farby mrazeného, sterilizovaného hrášku a nálevu kolorimetricky

Vzorka	L*(D65)		a*(D65)		b*(D65)			
	priemer	SD	priemer	SD	priemer	SD	A1 – A4	B1 – B4
A1	53,35	± 1,058	-19,57	± 0,811	25,10	± 0,216		
A2	58,62	± 0,570	-19,15	± 0,350	26,50	± 0,100		
A3	58,45	± 0,412	-17,30	± 0,336	24,90	± 0,088		
A4	55,78	± 1,944	-19,40	± 1,818	25,78	± 0,792		
B1	58,59	± 1,416	-3,18	± 0,438	26,33	± 0,014		
B2	57,60	± 0,049	-2,92	± 0,035	24,92	± 0,020		
B3	61,55	± 0,412	-3,50	± 0,386	26,90	± 0,035		
B4	57,23	± 1,215	-3,14	± 0,742	25,37	± 0,021		
C1	47,71	± 1,058	-0,74	± 0,811	14,95	± 0,216		
C2	46,54	± 0,570	-0,56	± 0,350	14,93	± 0,100		
C3	43,06	± 0,412	-0,49	± 0,336	8,98	± 0,088		
C4	40,82	± 1,944	-0,39	± 1,818	13,94	± 0,792		

Vyššie hodnoty L (>50) naznačujú, že farba je pomerne svetlá, so znižujúcou hodnotou rastie intenzita farby. Hodnota a (skupina A: -17,30 až -19,57) znamená, že farba má mierny odtieň zelenej farby. Hodnota b (25)naznačuje, že farba má mierny odtieň žltej farby. Ak sú hodnoty L*, a* , b* rastúce, je meraná vzorka jasnejšie zelená. Ak sa namerajú nižšie hodnoty L*, je vzorka tmavšia. Pri negatívnych hodnotách a*, b* je vzorka viac do zelena. Zistilo sa, že pri vyšších teplotách môže mrazený hrášok strácať na farbe, pričom hodnoty L (jasnosť) klesajú a hodnoty a (odtieň zelenej) a b (odtieň žltej) sa menia. Väčšina zeleniny si zachováva svoju prirodzenú farbu, chuť a štruktúru lepšie, keď je zmrazená.

Z hľadiska hodnotenia obalu boli obaly čisté, porušenie bolo viditeľné u jednej vzorky sterilizovaného hrášku (preliačenie konzervy), v dvoch prípadoch (A2, A4) nebol na obale uvedený obsah vlákniny. Obaly mrazených vzoriek boli ohodnotené ako príťažlivejšie oproti sterilizovaným vzorkám.

ZÁVER

Kvalita vybraných druhov hrášku pri senzorickej analýze bola nástrojom na podrobnejšie hodnotenie charakteristík a organoleptických vlastností. Dá sa predpokladať, že požiadavky na produkty získané zo strukovín sa budú v budúcnosti neustále zvyšovať, čo

poskytuje obrovskú šancu pre hrach. Preto môže byť komplexné vyšetrenie hrášku dôležité pre jeho ďalšie uplatnenie v potravinárstve.

Pri súčte všetkých hodnotených charakteristík môžeme konštatovať, že u siedmych vzoriek bola potvrdená kvalita výrobku s deklarovanými parametrami, ktoré vynikali svojou typickou chuťou a vôňou. Výsledky poukázali na zhoršenú kvalitu niektorých sterilizovaných výrobkov z hľadiska konzistencie, jedna vzorka sterilizovaného hrášku bola považovaná za najmenej prijateľnú pre jej chuťové vlastnosti. V obchodnej sieti majú dnes konzumenti široký výber v sortimente hrášku a je len na nich, po ktorom z nich z pohľadu sympatií siahnu.

POĎAKOVANIE

Práca bola podporená projektom KEGA 007UVLF-4/2024.

ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

1. ALUKO, R. E., MOFOLASAYO, O. A., WATTS, B. M. Emulsifying and foaming properties of commercial yellow pea (Pisum sativum L.) seed flour. J. Agric Food Chem, 57 (2009), pp. 9793– 9800.
2. ASHOKKUMAR, K.; DIAPARI, M.; JHA, A.B.; TAR'AN, B.; ARGANOSA, G.; WARKENTIN, T.D. Genetic Diversity of Nutritionally Important Carotenoids in 94 Pea and 121 Chickpea Accessions. *J. Food Compos. Anal.* 2015, *43*, 49–60.
3. AVEZUM, L.; RONDET, E.; MESTRES, C.; ACHIR, N.; MADODE, Y.; GIBERT, O.; LEFEVRE, C.; HEMERY, Y.; VERDEIL, J.-L.; RAJJOU, L. Improving the Nutritional Quality of Pulses via Germination. *Food Rev. Int.* 2022, 1–34.
4. BABBITT, C.W.; BABBITT, G.A.; OEHMAN, J.M. Behavioral Impacts on Residential Food Provisioning, Use, and Waste during the COVID-19 Pandemic. *Sustain. Prod. Consum.* 2021, *28*, 315–325.
5. COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ECLAIRAGE (CIE). Colorimetry, 2nd ed.; Publication CIE No. 15.2.; Commission Internationale de l'Eclairage: Vienna, Austria, 1986.
6. DAHL, W.J.; FOSTER, L.M.; TYLER, R.T. Review of the health benefits of peas (Pisum sativum L.). *Br. J. Nutr.* 2012, *108*, p. 3–10.
7. EN ISO 6658:2017 Sensory analysis - Methodology - General guidance for establishing a sensory profile - Táto norma poskytuje všeobecné usmernenia pre vytvorenie senzorickej charakteristiky potravín, čo môže byť užitočné pri hodnotení vzhľadu, chuti, vône a textúry mrazených potravín po rozmrazení.

8. FAHMI, R.; RYLAND, D.; SOPIWNYK, E.; ALIANI, M. Sensory and Physical Characteristics of Pan Bread Fortified with Thermally Treated Split Yellow Pea (*Pisum sativum* L.) Flour. *J. Food Sci.* 2019, *84*, 3735–3745.
9. GONZALEZ, M., ALVAREZ-RAMIREZ, J., VERNON-CARTER, E. J., REYES, I., & ALVAREZ-POBLANO, L. Effect of the drying temperature on color, antioxidant activity and in vitro digestibility of green pea (Pisum sativum L.) flour. *Starch-Stärke*, 2020, *72*(9-10), 1900228.
10. HAN, X.; AKHOV, L.; ASHE, P.; LEWIS, C.; DEIBERT, L.; IRINA ZAHARIA, L.; FORSEILLE, L.; XIANG, D.; DATLA, R.; NOSWORTHY, M. Comprehensive Compositional Assessment of Bioactive Compounds in Diverse Pea Accessions. *Food Res. Int.* 2023, *165*, 112455.
11. CHEN, S. K., LIN, H. F., WANG, X., YUAN, Y., YIN, J. Y., SONG, X. X. Comprehensive analysis in the nutritional composition, phenolic species and in vitro antioxidant activities of different pea cultivars. *Food Chemistry: X*, 2023 (*17)*, 100599.
12. ISO (1993). ISO 8586-1: Sensory Analysis: Methodology - General guidance for the selection, training and monitoring of assessors. International Organisation for Standardisation, Geneve.
13. JENKINS, D.J.; DEHGHAN, M.; MENTE, A.; BANGDIWALA, S.I.; RANGARAJAN, S.; SRICHAIKUL, K.; MOHAN, V.; AVEZUM, A.; DÍAZ, R.; ROSENGREN, A.; ET AL. Glycemic Index, Glycemic Load, and Cardiovascular Disease and Mortality. *N. Engl. J. Med.* 2021, *384*, 1312–1322.
14. Kódexová norma na konzervovaný hrášok, Codex STAN 58-1981 [online]. 2024, [cit. 2024-04-06]. online. Dostupné na internete: <https://www.vup.sk/index.php?mainID=29&navID=98>
15. KOIVUNEN, E., PARTANEN, K., PERTTILÄ, S., PALANDRE, S., TUUNAINEN, P., VALAJA, J. Digestibility and energy value of pea (Pisum sative L.), faba bean (Vicia faba L.) and blue lupin (narrow–leaf) (Lupinus angustifolius) seeds in broilers. Animal Feed Science Technology, 2018, pp.120–127.
16. KUMARI, T., DEKA, S.C. Potential Health Benefits of Garden Pea Seeds and Pods: A Review. *Legume Sci.* 2021, *3*, e82. Liu, M.; Wu, N.-N.; Yu, G.-P.; Zhai, X.-T.; Chen, X.; Zhang, M.; Tian, X.-H.; Liu, Y.-X.; Wang, L.-P.; Tan, B. Physicochemical Properties, Structural Properties, and in vitro Digestibility of Pea Starch Treated with High Hydrostatic Pressure. *Starch-Starke* 2018, *70*, 9.

17. LANDERO, J.L., WANG, L.F., BELTRANENA, E., ZIJLSTRA, R.T. Diet nutrient digestibility and growth performance of weaned pigs fed field pea. Animal feed Science and Technology, 2014, 198, pp. 295–303.
18. Lawless, H. T., Heymann, H. Sensory evaluation of food: principles and practices. Springer: New York, 2nd edition, 2010, 573 p. ISBN 978-1-4419-6487-8.
19. LIU, D.D.; GUAN, X.; HUANG, K.; LI, S.; LIU, J.; YU, W.W.; DUAN, R.Q. Protective Effects of Mung Bean (*Vigna radiata L.*) and Pea (*Pisum sativum* L.) against High-Fat-Induced Oxidative Stress. *Food Sci. Nutr.* 2019, *7*, 4063–4075.
20. MAĽA, P. Sensory analysis of food. Košice, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, 2012, 158 p. ISBN 978-80-8077-297-0.
21. McLAREN, K. 1976. The development of the CIE 1976 (L*a*b*) uniform colour-space and colour-difference formula. In *Journal of the Society of Dyers and Colourists*, vol. 92, pp 338–341.
22. MUDŘÍK, Z., DOLEZAL, P., KOUKAL, P. et al. Základy moderní výživy skotu. Praha: ČZU, 2006, 1. vyd. 270 s., ISBN 80–213–1559–8.
23. NARIADENIE KOMISIE (ES) č. 152/2009 z 27. januára 2009, ktorým sa stanovujú metódy odberu vzoriek a analýzy na účely úradných kontrol krmív
24. STANISAVLJEVIC, N.S.; ILIC, M.; JOVANOVIC, Z.S.; CUPIC, T.; DABIC, D.C.; NATIC, M.M.; TESIC, Z.L.; RADOVIC, S.S. Identification of Seed Coat Phenolic Compounds from Differently Colored Pea Varieties and Characterization of their Antioxidant Activity. *Arch. Biol. Sci.* 2015, *67*, 829–840.
25. STANISAVLJEVIC, N.S.; ILIC, M.D.; MATIC, I.Z.; JOVANOVIC, Z.S.; CUPIC, T.; DABIC, D.C.; NATIC, M.M.; TESIC, Z.L. Identification of Phenolic Compounds from Seed Coats of Differently Colored European Varieties of Pea (*Pisum sativum* L.) and Characterization of their Antioxidant and In Vitro Anticancer Activities. *Nutr. Cancer* 2016, *68*, 988–1000.
26. STEIN, H. H., LAGOS, L. V., CASAS, G. A. Nutritional value of feid ingredients of plant origin fed to pigs. Animal Feed Science and Technology, 2016, 218, pp. 33–69.
27. VYHLÁŠKA Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky z 9. marca 2012 o hlbokozmrazených potravinách 99/2012
28. WU, D. T., LI, W. X., WAN, J. J., HU, Y. C., GAN, R. Y., & ZOU, L. A comprehensive review of pea (Pisum sativum L.): chemical composition, processing, health benefits, and food applications. *Foods*, 2023, *12*(13), 2527

29. YU, Z.; FAN, Y.S.; WANG, X.W.; XIA, M.; CAI, Y. In Vitro and In Vivo Digestibility of Pea and Chickpea Powder Prepared by Cooking and Drying Treatment. *Int. J. Food Prop.* 2020, *23*, 1187–1199.

Kontaktná adresa: Zahumenská Jana, MVDr. PhD., Department of Food Hygiene and Technology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic; E-mail: jana.zahumenska@uvlf.sk

HYGIENICKÁ KVALITA MARINOVANÉHO LOSOSIEHO MÄSA VO VZŤAHU K PODMIENKAM UCHOVÁVANIA

HYGIENIC QUALITY OF MARINATED SALMON MEAT IN RELATION TO STORAGE CONDITIONS

Zeleňáková Lucia, Fikselová Martina

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

ABSTRACT

The aim of the work was to analyze and evaluate selected indicators of the hygienic quality of fresh and marinated salmon meat stored in different model situations (24 and 48 h./ 4 and 9 °C). The basic ingredients of each marinade were lemon juice, salt and black pepper, the samples differed in the yogurt used and the addition of garlic. Microbiological indicators: total viable cells of microorganisms (TVC), coliform bacteria, microscopic filamentous fungi (MFF) and yeast. The pH was also measured in all samples. The results showed that coliform bacteria, MFF and yeast were not present in any sample, or their number was $<1.10^1$ CFU in 1 g. The variability of TVC between samples was diverse, which was influenced by the presence of individual components of marinades. The most microorganisms were detected in sample B9a (9.94±0.13 log CFU.g^{-1}), which was salmon in a marinade enriched with low-fat yogurt and stored at 9 °C. In the fresh sample, the number of microorganisms was $<4.10^1$ CFU.g^{-1}. The highest pH was measured in fresh salmon meat. Between the fat (A) and nonfat (B) yogurt, which was part of the marinade, there was only a minimal difference in terms of pH variability. The presence of garlic in marinades caused a slight increase in the pH value from 6.3 (A) to 6.54 (C), or 6.4 (B) to 6.59).

Keywords: salmon, microbiological quality, food safety, marinating, pH

ÚVOD

Losos atlantický (*Salmo salar L.*) - "kráľ rýb", je anadromná migračná ryba, ktorá začína svoj život v sladkovodných riekach, kde sa narodí a vyrastá. Následne migruje do oceánu, kde sa živí a dorastá, a potom sa vracia späť do sladkých vôd na neres. Tento druh je známy svojou schopnosťou skákať, čo im umožňuje prekonávať prekážky na ich migračnej trase. Losos atlantický je výnimočný aj tým, že môže prežiť neres viackrát počas svojho života, na rozdiel od tichooceánskych lososov, ktorí po neresení obvykle umierajú (Domingo, 2016).

Losos atlantický sa považuje za indikátorový druh, čiže jeho stav môže slúžiť ako ukazovateľ celkového zdravia jeho ekosystému. V prípade, že riečny ekosystém je čistý alebo

dobre prepojený populácia lososov je obvykle silná a prosperuje. Bohužiaľ naopak ak je znečistený či nedostatočne prepojený populácia lososa zvyčajne upadá. Tento druh sa tak stáva významným ukazovateľom environmentálnej kvality a zdravia vodných ekosystémov, pričom jeho prežitie a prosperita sú spojené s celkovým stavom týchto prostredí (Crozier et al., 2021).

Podiel lososa, ktorý sa skutočne skonzumuje, závisí od výťažnosti pri porážke a takisto aj od ďalšieho spracovania a použitia odrezkov. Výťažnosť filé (% celého tela) sa často považuje za ekvivalent jedlej časti lososa. Na ľudskú spotrebu sa používa aj niekoľko ďalších častí lososa. Hlavy, chrbty a odrezky z brucha lososov sa používajú ako bielkovinové koncentráty. Z odrezkov sa vyrábajú najmä olejové kapsule, ktoré sa predávajú ako výživové doplnky. Vypitvaný losos predstavuje približne 87 % živej hmotnosti (Aas et al., 2019).

Losos je považovaný za vynikajúci zdroj živín, avšak je dôležité podotknúť, že nutričné zloženie je ovplyvňované do veľkej miery pôvodom lososa, a teda pri jeho výbere je nutné poznať odkiaľ losos pochádza. Chovaný atlantický losos je uznávaný pre svoju vysokú nutričnú hodnotu, ponúkajúc bohatý zdroj kvalitných bielkovín, esenciálnych tukov a omega-3 mastných kyselín (Colombo a Mazal, 2020).

Podľa výročnej správy Štatistického úradu SR (2023) za rok 2022 bola celková spotreba rýb na Slovensku 30 858 ton. Odporúčaná ročná spotreba na obyvateľa je približne 17 kg rýb, pričom reálna spotreba ukázala, že priemerný obyvateľ SR skonzumoval za minulý rok len 5,7 kg rýb. V porovnaní s rokom 2021 je táto spotreba o 0,2 kg nižšia.

Luoma a Löfstedt (2007) poukazujú na rozporuplné výskumy týkajúce sa bezpečnosti konzumácie lososa, zdôrazňujúc vplyv kontaminantov na zdravie spotrebiteľov a rovnako ako tieto informácie ovplyvňujú verejnú dôveru. Tvrdia, že losos chovaný na farmách je viac kontaminovaný ako voľne žijúci losos.

Mikrobiologické riziká predstavujú jednu z hlavných výziev pre bezpečnosť a kvalitu potravín v akvakultúre, najmä v chove lososov. V posledných rokoch, s rastúcim dopytom po lososovi ako vysoko hodnotenej potravine, sa pozornosť výrazne sústredí na identifikáciu a riadenie potenciálnych patogénov mikrobiologického pôvodu. Tieto patogény, vrátane baktérií, vírusov a parazitov, môžu byť prítomné vo vode alebo krmive a môžu sa preniesť do lososov, čím ohrozujú zdravie spotrebiteľov. Identifikácia, monitorovanie a kontrola týchto mikrobiologických hrozieb sú preto nevyhnutné na zabezpečenie bezpečnosti lososov určených na ľudskú spotrebu, čo vyžaduje koordinované úsilie výskumníkov, výrobcov krmív, farmárov a regulačných orgánov (Pettersen et al., 2015).

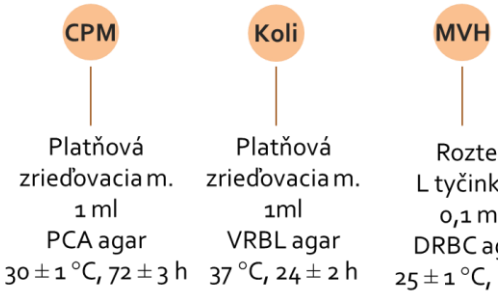
MATERIÁL A METODIKA

V práci boli analyzované vybrané parametre hygienickej kvality čerstvého a marinovaného lososieho mäsa uchovávaného v rôznych modelových podmienkach. Mäso lososa bolo rozdelené na 5 rovnakých častí, ktoré tvorila kontrolná vzorka K (bez ingrediencií) a 4 vzorky, ktoré boli naložené v marináde pripravenej zo zadefinovaných ingrediencií (tab. 1). Základnou zložkou každej marinády bola citrónová šťava, soľ a čierne korenie, vzorky sa líšili použitým jogurtom a prídavkom cesnaku. Vzorka A bola obohatená o tučný jogurt, vzorka B o odtučnený jogurt, vzorka C obsahovala tučný jogurt s cesnakom a vzorka D odtučnený jogurt s cesnakom. Vzorky boli za rôznych podmienok uchovávané (24, resp. 48 hodín pri teplote 4 a 9 °C) a priebežne analyzované.

Tabuľka č. 1 Označenie vzoriek lososieho mäsa

Označenie	Názov vzorky – marinovaný losos
K	Losos (50 g) - analýza v čerstvom stave
A	Losos (50 g), biely jogurt tučný (10 g), citrónová šťava (1 ml), soľ (0,5 g), čierne korenie (0,5 g) - analýza ihneď po namarinovaní
A4a	analýza po 24 hodinách uchovávania pri teplote 4 °C
A4b	analýza po 48 hodinách uchovávania pri teplote 4 °C
A9a	analýza po 24 hodinách uchovávania pri teplote 9 °C
A9b	analýza po 48 hodinách uchovávania pri teplote 9 °C
B	Losos (50 g), biely jogurt odtučnený (10 g), citrónová šťava (1 ml), soľ (0,5 g), čierne korenie (0,5 g) - analýza ihneď po namarinovaní
B4a	analýza po 24 hodinách uchovávania pri teplote 4 °C
B4b	analýza po 48 hodinách uchovávania pri teplote 4 °C
B9a	analýza po 24 hodinách uchovávania pri teplote 9 °C
B9b	analýza po 48 hodinách uchovávania pri teplote 9 °C
C	Losos (50 g), biely jogurt tučný (10 g), citrónová šťava (1 ml), soľ (0,5 g), čierne korenie (0,5 g), pretlačený cesnak (1 g) - analýza ihneď po namarinovaní
C4a	analýza po 24 hodinách uchovávania pri teplote 4 °C
C4b	analýza po 48 hodinách uchovávania pri teplote 4 °C
C9a	analýza po 24 hodinách uchovávania pri teplote 9 °C
C9b	analýza po 48 hodinách uchovávania pri teplote 9 °C
D	Losos (50 g), biely jogurt odtučnený (10 g), citrónová šťava (1 ml), soľ (0,5 g), čierne korenie (0,5 g), pretlačený cesnak (1 g) - analýza ihneď po namarinovaní
D4a	analýza po 24 hodinách uchovávania pri teplote 4 °C
D4b	analýza po 48 hodinách uchovávania pri teplote 4 °C
D9a	analýza po 24 hodinách uchovávania pri teplote 9 °C
D9b	analýza po 48 hodinách uchovávania pri teplote 9 °C

V rámci mikrobiologických stanovení bol sledovaný celkový počet mikroorganizmov, koliformné baktérie, vláknité mikroskopické huby a kvasinky. Pokus bol opakovaný trikrát. Charakteristika mikrobiologických stanovení je uvedená na obr. 1. Z fyzikálno-chemických parametrov bolo vo vzťahu k cieľom práce merané pH každej vzorky. Analýzy boli vykonané v mikrobiologickom a fyzikálnom laboratóriu na Ústave potravinárstva FBP SPU v Nitre.



Obrázok č. 1 Charakteristika mikrobiologickej analýzy lososieho mäsa

Analýza zahŕňa výpočet hodnoty aritmetického priemeru (x), mediánu, smerodajnej odchýlky (s_x), maximálnej (x_{max}) a minimálnej (x_{min}) zaznamenanej hodnoty a variačného koeficientu (v).

Hypotézy o rovnosti priemerov boli overované pomocou analýzy rozptylu (ANOVA) s úrovňami významnosti stanovenými na $\alpha = 0,05$, $\alpha = 0,01$ a $\alpha = 0,001$, kde sa skúmal vzťah medzi nominálnymi a kvantitatívnymi premennými. Zavrhnutie nulovej hypotézy znamenalo, že neexistuje významný vzťah medzi skúmanými premennými.

Pri rozlišovaní medzi skupinami bola použitá Scheffeho metóda na stanovenej úrovni významnosti $\alpha = 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Lehel et al. (2021) uvádza, že mäso, svaly a orgány rýb bývajú obvykle sterilné, ale koža a tráviaci trakt obsahujú množstvo baktérií. Počet baktérií na koži sa pohybuje od 10^2 do 10^7 KTJ.cm^{-2}, v žiabrach a v GIT od 10^3 do 10^9 KTJ.g^{-1}. Typické sú gram-negatívne baktérie ako *Pseudomonas, Shewanella, Vibrio, Flavobacterium* a *Cytophaga*, a niektoré gram-pozitívne druhy. Bakteriálna kontaminácia mäsa rýb súvisí s mikroflórou tráviaceho traktu. Proces kazenia mäsa je spojený s proteolytickými enzýmami v čreve, ktoré majú prirodzený pôvod a môžu pochádzať z tráviaceho traktu rýb alebo z vonkajšieho prostredia. V mäse čerstvých rýb bývajú najčastejšie aeróbne mikroorganizmy, pričom rody *Pseudomonas* a *Shewanella* spp. tvoria až 84 % z nich.

Tab. 2 predstavuje matematicko-štatistickú analýzu celkového počtu mikroorganizmov, vyjadrenú ako logaritmus kolóniotvorných jednotiek na gram. Výsledky naznačujú, že najvyššia mikrobiálna početnosť bola zaznamenaná vo vzorke (B9a), ktorá bola uchovávaná pri teplote 9 °C a analyzovaná po 24 hodinách (8,94±0,13 log KTJ.g^{-1}). Naopak, najnižšie hodnoty CPM boli zaznamenané vo vzorkách (A9b a C9b), ktoré boli uchovávané pri teplote 9 °C a analyzované boli po 48 hodinách. Pri vzorke K na agarových platniach vyrástlo menej ako 10 špecifických kolónií, ale min. 4, čiže výsledok bol vyjadrený ako odhadovaný počet (<4.10^1 KTJ.g^{-1}). Variabilita medzi vzorkami je pomerne rôznorodá, čo mohlo byť výsledkom

jednotlivých zložiek marinád. Priemerná hodnota CPM u čerstvo namarinovaného lososa s prídavkom tučného jogurtu (A) bola 3,47±0,21 log KTJ.g^{-1} .U vzorky čerstvo marinovaného lososa s prídavkom cesnaku (C) bola priemerná hodnota v rozpätí 5,62±0,29 log KTJ.g^{-1}.

Tabuľka č. 2 Matematicko-štatistické ukazovatele pre hodnotenie CPM v lososom mäse

CPM [log KTJ.g^{-1}]	vzorka	x̄	x min	medián	x max	sx	v [%]
Losos a marináda obohatená o tučný jogurt	**A**	3,47	3,20	3,50	3,70	0,21	5,93
	A4a	4,02	3,94	4,00	4,10	0,07	1,64
	A4b	4,37	4,29	4,30	4,52	0,11	2,43
	A9a	3,29	2,97	3,30	3,60	0,26	7,82
	A9b	1,22	1,09	1,20	1,35	0,11	8,78
Losos a marináda obohatená o odtučnený jogurt	**B**	3,64	3,10	3,80	4,00	0,39	10,62
	B4a	4,12	4,21	3,63	4,50	0,36	8,80
	B4b	3,37	3,60	3,74	2,75	0,44	13,01
	B9a	8,94	8,79	8,93	9,10	0,13	1,42
	B9b	5,33	5,16	5,33	5,50	0,14	2,60
Losos a marináda obohatená o tučný jogurt a cesnak	**C**	5,62	5,31	5,55	6,00	0,29	5,09
	C4a	5,40	5,28	5,33	5,60	0,14	2,60
	C4b	3,40	3,15	3,43	3,60	0,19	5,47
	C9a	3,74	3,65	3,76	3,80	0,06	1,70
	C9b	1,08	1,00	1,09	1,15	0,06	5,71
Losos a marináda obohatená o odtučnený jogurt a cesnak	**D**	5,13	4,75	5,13	5,50	0,31	5,97
	D4a	6,07	5,99	6,02	6,20	0,09	1,53
	D4b	1,22	1,10	1,26	1,29	0,08	6,85
	D9a	4,66	4,32	4,75	4,90	0,25	5,28
	D9b	6,06	5,97	6,01	6,20	0,10	1,66
Losos bez ingrediencií	**K**	< 4/d	< 4/d	< 4/d	< 4/d	< 4/d	< 4/d

Vysvetlivky: < 4/d = < 4.10^{1} KTJ v 1 g

Analýza prítomnosti MVH a kvasiniek bola vykonaná na jednom type agaru, konkrétne DRBC, čo umožnilo zároveň testovať oba typy mikroorganizmov na jednej Petriho miske. Výsledky pre kvasinky a MVH boli hodnotené zvlášť. Z výsledkov vyplynulo, že vo všetkých analyzovaných vzorkách neboli tieto mikroorganizmy prítomné, resp. ich počet bol nižší ako 10 KTJ (<1.10^{1} KTJ v 1 g).

Kvasinky sú heterotrofné eukaryotické mikroorganizmy zaradené medzi mikromycéty, teda mikroskopické huby, ktoré sú rozšírené v prírode, ale nachádzajú sa aj u ľudí a zvierat. Určité typy týchto mikroorganizmov sú schopné produkovať mykotoxíny, čo môže viesť k patologickým stavom u živých organizmov a negatívne ovplyvňuje aj okolité prostredie (Stuchlíková, 2019).

Kvasinky potrebujú pre svoj rast prostredie s kyslým pH (ideálne medzi 4,2 a 5,5), zatiaľ čo mierne alkalické prostredie (približne pH 7,5) im bráni v raste. V nekyslom prostredí sa však

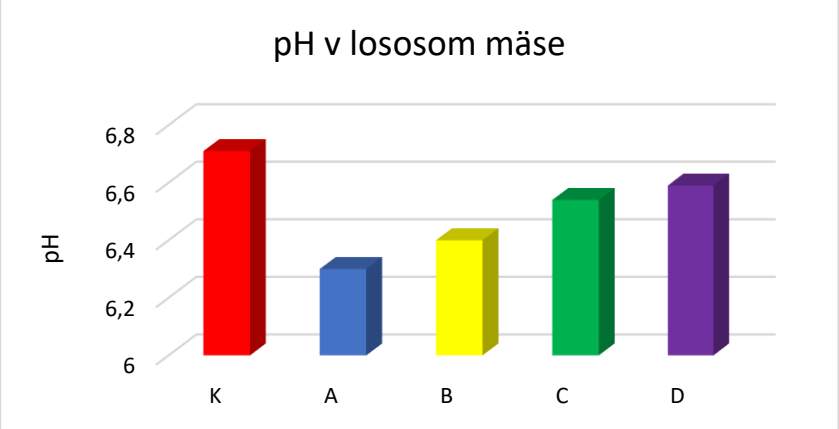
kvasinky rýchlo prispôsobia svojmu optimálnemu pH. Väčšina mikroskopických húb preferuje neutrálne pH, ale môžu sa rozmnožovať v širokom rozsahu hodnôt pH (od 1,2 do 11,0). V extrémne kyslom prostredí (pH 0,5 až 2,0) sa prevažne rozmnožujú druhy tvoriace veľké množstvo organických kyselín, ako napríklad niektoré penicíliá a aspergily (Javoreková a Maková, 2019).

Možná neprítomnosť kvasiniek v tepelne spracovanom rybom mäse môže súvisieť s použitím cesnaku v marináde, nakoľko posledné výskumy potvrdzujú antimikrobiálne vlastnosti tejto suroviny.

Monitorovanie *Escherichia coli* a koliformných baktérií sa uskutočňuje ako základný ukazovateľ hygieny vody alebo ako primárny ukazovateľ hygienického stavu v prostrediach, kde sa potraviny spracúvajú. Metóda identifikácie týchto mikroorganizmov je bežným štandardom v potravinárskom priemysle (Zeleňáková et al., 2010).

V sledovaných vzorkách lososa nebola detegovaná prítomnosť koliformných baktérií, čo môže poukazovať na dobré hygienické podmienky počas ich prípravy a spracovania. Hodnota "< 1/d", kde d je faktor prvého naočkovaného a vybratého riedenia, t. j.: < 1.10^1 KTJ.g^{-1}, čo znamená, že počet koliformných baktérií bol nižší ako limit detekcie metódy, čo je priaznivý výsledok z hľadiska bezpečnosti a kvality potravín.

Mikroorganizmy typicky prosperujú v rozpätí pH od 4,5 do 8,0, avšak extrémne kyslé prostredie s pH nižším ako 4,5 efektívne inhibuje proliferáciu mnohých patogénov, vďaka čomu je tento parameter kritický pre konzerváciu potravín.



Graf č. 1 Priemerná hodnota pH v čerstvom a marinovanom lososom mäse

Z grafu 1 vyplýva, že najvyššie pH bolo namerané v čerstvom mäse lososa. Medzi tučným (A) a odtučneným (B) jogurtom, ktorý bol súčasťou marinády bol v rámci variability pH len minimálny rozdiel. Prítomnosť cesnaku do marinád spôsobila mierny nárast hodnoty pH a to z hodnoty 6,3 (A) na 6,54 (C), resp. 6,4 (B) na 6,59).

Výsledky Scheffeho testu sú podložené F hodnotou a P hodnotou. P hodnota bola nižšia ako 0,05, čo potvrdzuje, že existuje významný rozdiel v pH medzi vzorkou čerstvého lososa bez ingrediencií (K) a vzorkou čerstvého lososa obohateného tučným jogurtom (A). V tomto prípade je pravdepodobné, že marináda významne ovplyvnila pH hodnotu lososa, pretože bol preukázaný štatistický rozdiel (P <0,05). Preukázaný rozdiel mohol byť spôsobenými rôznymi faktormi (prímes tučného jogurtu, vplyv mikrobiálnej fermentácie jogurtu alebo možné chemické reakcie medzi samotnými zložkami).

Tabuľka č. 3 Štatistické vyhodnotenie rozdielov v pH medzi čerstvými a marinovanými vzorkami

F test	4,80⁺			
Ukazovateľ	**A**	**B**	**C**	**D**
K	+	-	-	-
A		-	-	-
B			-	-
C				-
D				

- : štatistický nepreukazný rozdiel podľa Sheffeho testu (P>0,05)
+ : štatistický preukazný rozdiel podľa Sheffeho testu (P<0,05)

ZÁVER

Na základe poznatkov odporúčame pri používaní marinád zvážiť ich zloženie a podmienky uchovávania, aby sa optimalizovala nielen chuť, ale aj bezpečnosť potravín a kvalita. Na základe nášho výskumu odporúčame používať jogurty s vyšším obsahom tuku, ktoré majú lepšie antimikrobiálne účinky a prispievajú k znižovaniu rizika mikrobiálnej kontaminácie. Zvýšenie množstva citrónovej šťavy v marináde môže efektívne znižovať pH a poskytovať silnejšie konzervačné účinky proti patogénom. Dôležité je monitorovať a dbať na množstvo pridávanej soli, aby sa predišlo nadmernému soleniu a tak zabezpečiť, že produkt spĺňa legislatívne limity. Pridanie antimikrobiálnych bylín a korenín, ako sú cesnak, rozmarín, tymián alebo oregano, nielenže obohatí chuťový profil, ale aj zvýši ochranné účinky marinády. Nakoniec, optimalizácia teplotných podmienok a času marinovania znižuje riziko mikrobiálneho rastu, čo je nevyhnutné pre udržanie bezpečnosti a kvality potravín. Toto komplexné prístupné zváženie všetkých týchto aspektov je nevyhnutné pre vytvorenie kvalitnej a bezpečnej marinády pre lososa. Medzi kľúčové prvky patrí taktiež správny výber kulinárskej úpravy, pričom budú zabezpečené optimálne podmienky pre danú úpravu.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-22-0402.

LITERATÚRA

1. AAS, T. S.; YTRESTØYL, T.; ÅSGÅRD, T. 2019. Utilization of feed resources in the production of Atlantic salmon (Salmo salar) in Norway: An update for 2016. In *Aquaculture Reports*. (Online). vol. 15. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2019.100216>
2. COLOMBO, S. M.; MAZAL, X. 2020. Investigation of tge nutritional composition of different types of salmon available to Canadian consumers. In Journal of Agriculture and Food Research. (Online), vol. 2. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2020.100056>.
3. CROZIER, L. G.; BURKE, B. J.; CHASCO, B. E.; WIDENER, D. L.; ZABEL, R. W. 2021. Climate change threatens Chinook salmon throughout their life cycle. In *Communications Biology*. (Online). pp. 14 . Dostupné na: <https://doi: 10.1038/s42003-021-01734-w>.
4. DOMINGO, J. L., 2016. Nutrients and Chemical Pollutants in Fish and Shellfish. Balancing Health Benefits and Risks of Regular Fish Consumption. In *Critical reviews in food science and nutrition*. (Online). vol. 56, no. 6. Dostupné na: <https://doi.org/ 10.1080/10408398.2012.742985>
5. JAVOREKOVÁ, S.; MAKOVÁ, J. 2019. Vplyv fyzikálnych a chemických faktorov prostredia na rast a rozmnožovanie mikroorganizmov: pH prostredia. In *Mikrobiológia*. Vydavateľstvo SPU v Nitre, pp. 86 – 90. ISBN 978-80-552-2113-7.
6. LEHEL, J.; YAUCAT-GUENDI, R.; DARNAY, L.; PALOTÁS, P.; LACZAY, P. 2021. Possible food safety hazards of ready-to-eat raw fish containing product (sushi, sashimi). In *Critical Review in Food Science and Nutrition*. (Online). vol. 61, no. 5, pp. 867-888. Dostupné na: https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1749024
7. LUOMA, S. N.; LÖFSTEDT, R. E. 2007. CONTAMINATED SALMON and the Public's Trust - Differences in data choices have led to conflicting interpretations about an important consumer issue. In *Environmental science & technology*. (Online). Dostupné na: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/es072497j>.
8. PETTERSEN, J. M.; OSMUNDSEN, T.; AUNSMO, A.; MARDONES, F. O.; RICH, K. M. 2015. Controlling emerging infectious diseases in salmon aquaculture. In *Review*

Science Technology. (Online). vol. 34, no. 3. Dostupné na: <https://10.20506/rst.34.3.2406>.

9. STUCHLÍKOVÁ, T. 2019. Kvasinky a jejich medicínský význam. (Online). pp. 17. Dostupné na: <https://dk.upce.cz/bitstream/handle/10195/74141/_2019.pdf>.
10. ZELEŇÁKOVÁ, L.; KULICHOVÁ, K.; KOPČEKOVÁ, J. 2010. Influence of soft meat products storage on their microbiological safety. In *Potravinárstvo* (Slovak Republic). (Online). Dostupné na: <doi: 10.5219/20>.

Kontaktná adresa: Zeleňáková Lucia, Institute of Food Sciences, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76, Slovak Republic. lucia.zelenakova@uniag.sk

VÝSKYT REZISTENTNÝCH STAFYLOKOKOV IZOLOVANÝCH Z MASTITÍDNYCH DOJNÍC

OCCURRENCE OF RESISTANT STAPHYLOCOCCI ISOLATED FROM MASTITIC DAIRY COWS

Zigo František[1], Výrostková Jana[2], Farkašová Zuzana[1], Ondrašovičová Silvia[3], Vargová Mária[4], Halás Šimon [1], Pecka-Kielb Ewa[5]

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

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

[3]*Katedra biológie a fyziológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 04181 Košice, Slovenská Republika*

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

[5]*Department of Animal Physiology and Biostructure, Wroclaw University of Environmental and Life Sciences, Norwida 31, 50-375 Wroclaw, Poland*

ABSTRACT

Although the level of technological support during milking has increased and appropriate veterinary measures are available, inflammation of the mammary gland - mastitis remains one of the major health problems of dairy cows as well as a major threat to dairy farm profitability. The aim of the study was to evaluate the health of the mammary gland, to identify the pathogens causing mastitis and determinate their virulence factors in 960 dairy cows in four dairy farms located in eastern Slovakia and Czechia. The results of the study indicate that, in addition to the major udder pathogens (*S. aureus*, *S. uberis* and *S. agalactiae*) causing mastitis, coagulase negative staphylococci (CoNS) are a major risk to dairy cows during early lactation. CoNS, such as *S. chromogenes*, *S. warneri* and *S. xylosus*, which were isolated from cows with clinical mastitis characterized by mild, moderate or severe symptoms and persistent infections, had the highest representation of virulence factors in comparison to less virulent strains. In addition, isolates *S. aureus* and CoNS showed in 77.2% resistance to one or more antimicrobials, and in 16 (11.7%) isolates, multi-drug resistance to three or more antimicrobial classes was confirmed.

Key words: cows, lactation, mastitis, non aureus staphylococci, antibiotics, resistance

ÚVOD

Do dnešného dňa je evidovaných viac ako 137 rôznych pôvodcov intramamárnej infekcie (IMI) prežúvavcov zahŕňajúc baktérie, vírusy, mykoplazmy, kvasinky a riasy. Až 95% IMI je najčastejšie zapríčinená baktériami. Ich najčastejší prienik do mliečnej žľazy je cez ceckový otvor a kanálik, prípadne z lézií poškodenej kože, kedy sú baktérie rozšírené počas procesu dojenia (Čobirka a kol., 2020).

V poslednej dobe sú významnými v etiológií environmentálnych mastitíd baktérie *Staphylococcus* spp. a to hlavne koaguláza-negatívne stafylokoky (KNS). Práve tieto baktérie majú veľa vlastností, ktoré im dovoľujú vyhnúť sa účinku dezinfekčným a antimikrobiálnym látkam. Podľa slovenských štúdií, medzi najčastejšie patogény spôsobujúce mastitídu dojníc patria KNS ako *Staphylococcus chromogenes, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus warneri* a *Staphylococcus xylosus*, nasledujú *Streptococcus agalactiae, Staphylococcus aureus, Streptococcus dysgalactiae, E. coli* a enterokoky (Vasiľ a kol., 2017; Holko a kol., 2019).

Medzi hlavné komplikácie spojené s liečbou stafylokokových mastitíd patrí skutočnosť, že mnohé kmene môžu spôsobiť toto ochorenie a čoraz väčší počet z nich sa stáva odolným voči čoraz väčšiemu spektru antibiotík (ATB) dostupných na veterinárne účely. Je preto dôležité pochopiť, ako tieto mikroorganizmy si uľahčujú adhéziu a kolonizáciu epitelu mliečnej žľazy, čo im umožňuje prežiť, úspešne sa usadiť a pretrvávať v hostiteľskom tkanive (Wenz a kol., 2001). Štúdia sa zaoberá detekciou a etiológiou kontagióznych a environmentálnych patogénov mliečnej žľazy v štyroch produkčných chovoch dojníc lokalizovaných na Slovensku a Česku. Najmä u izolovaných stafylokokov bol zisťovaný ich vplyv na jednotlivé formy mastitíd s detekciou faktorov virulencie.

MATERIÁL A METODIKA

Monitorované farmy dojníc

Praktická časť štúdie bola realizovaná v štyroch produkčných farmách dojníc lokalizovaných na Slovensku (Prešovský kraj) a v Čechách (Ostravský kraj). Výber fariem bol realizovaný s konvenčným chovom s použitím domácich plemien hovädzieho dobytka (slovenský a český strakatý dobytok) s dojivosťou 6,5–7,5 kg x 10^3 za laktáciu. Z každej krajiny boli vyšetrené dve farmy o veľkosti 250 - 350 ks dojníc medzi 1. a 4. laktáciou, 14 – 100 dní po otelení s priemernou dennou dojivosťou od 18,7 +/- 2,4 l až 23,2 l. +/- 3,1 l. Sledované dojnice na všetkých štyroch farmách boli chované systémom voľného ustajnenia na slamenej podstielke s voľným prístupom k vode a kŕmené TMR v súlade s nutričnými požiadavkami pre dojnice o hmotnosti 650 kg (NRC, 2001). Všetky kravy sa dojili dvakrát

denne v paralernej dojárni (BouMatic, USA) alebo v rybinovej dojárni (DeLaval, Švédsko) s aplikáciou pre a post-dipingového roztoku.

Vyšetrenie dojníc

Celkovo bolo vyšetrených 270 kráv z prvej a 215 kráv z druhej slovenskej farmy a 250 kráv z prvej a 225 kráv z druhej českej farmy. Vybrané dojnice z rovnakej úžitkovej skupiny - skorá laktácia (14-100 dní po otelení) boli ustajnené v jednotlivých chovných skupinách, ktoré zahŕňali 45–90 zvierat na každej farme. Každá dojnica bola komplexne vyšetrená na základe klinického vyšetrenia so senzorickým vyšetrením a palpáciou vemena. Odstreky mlieka z každej štvrte vemena boli podrobené senzorickému vyšetreniu a hodnotené NK-testom podľa Tančin a kol. (2020).

Pre laboratórnu diagnostiku bakteriálnych patogénov boli podľa Holko a kol. (2019) odobraté zmesné vzorky surového mlieka od kráv s pozitívnym NK-test skóre 1 až 3. Podľa klasifikácie mastitíd boli jednotlivé formy na základe klinického vyšetrenia vemena, zvýšeného PSB podľa posúdenia NK-testu a laboratórneho vyšetrenia odobratých vzoriek mlieka vyhodnotené ako subklinické, klinické a chronické IMI (NMC, 2001).

Kultivácia vzoriek a detekcia patogénov mliečnej žľazy

Inokulum každej vzorky mlieka (0,2 ml) sa naočkovalo na platne s 5 % krvným agarom, ktoré sa inkubovali pri 37 °C a po 24 hodinách sa vyhodnotili. Na základe morfologických vlastností boli primokultivované kolónie z krvného agaru znovu subkultivované na rôznych selektívnych živných pôdach ďalších 24 hodín pri 37 °C. Identifikácia *Staphylococcus* spp. sa uskutočnili podľa hodnotenia rastu podozrivých baktérií na selektívnych agaroch (5% krvný agar, agar 110, Baird-Parker agar, Brilliance UTI Clarity Agar, OXOID Ltd, UK). Následne boli kolónie identifikované na základe morfologického tvaru, farbenia podľa Grama, typu hemolýzy, aktivity katalázy (3% H_2O_2, Merck, Darmstadt, Nemecko), hydrolýzy eskulínu a cytochróm oxidázy C (Bactident Oxidase, Merck). Eskulín pozitívne streptokoky boli kultivované na modifikovanom Rambachovom agare pre bližšiu identifikáciu *Str. uberis* alebo *Enterococcus* spp. podľa štúdií Vasiľ a kol. (2017) a Holko a kol. (2019). Identifikácia každého druhu bola vykonaná biochemickými testami a to STAPHYtestom 24, STREPTOtestom 24, resp. ENTEROtestom 24 a vyhodnotené programom TNW ProAuto 7.0 (Erba-Lachema, Brno, CZ) s pravdepodobnosťou správneho označenia druhu nad 90%. Navyše, u všetkých suspektných stafylokokov a streptokokov bol použitý pre detekciu MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Bremen, Nemecko) pomocou metódy hmotnostnej spektrofotometrie s laserovou desorpciou a ionizáciou (Ozbey a kol., 2022). Pre overenie správnosti identifikácie bol použitý

referenčný kmeň *S. aureus* CCM 7113 (CCM, Masarykova univerzita, Brno, CZ) ako kontrolná vzorka.

Vzorky kultivátov boli považované za pozitívne ak bola detegovaná prítomnosť jednej alebo viacerých jednotiek tvoriacich kolónie (CFU) hlavných patogénov vemena, ako je *S. aureus, Str. dysgalactiae* alebo *Str. agalactiae*. Taktiež sa vzorka považovala za pozitívnu, ak bol potvrdený rast kontagiózneho patogénu vemena v spojení s inými druhmi environmentálnych patogénov alebo ak tieto patogény tvorili aspoň tri CFU. Ak sa nepreukázali hlavné kontagiózne patogény alebo sa z jednej vzorky mlieka izolovali tri a viac patogénov, takéto kultiváty sa považovali za kontaminované.

Detekcia faktorov virulencie u stafylokokov

Potvrdené stafylokoky na základe analýzy MALDI-TOF boli podľa predchádzajúcej štúdie Hiko (2019) testované na produkciu extracelulárnych proteolytických enzýmov (test hydrolýzy želatíny) a deoxyribonukleázovému testu (test DNázy). Tvorba biofilmu bola stanovená fenotypovou metódou na Kongo Red agare (CRA) podľa Vasiľa a kol. (2017). Schopnosť stafylokokov produkovať hemolyzíny bola stanovená podľa Moraveji a kol. (2014). Typy hemolýzy boli fenotypovo charakterizované na základe zóny lýzy každého stafylokokového izolátu na platniach s krvným agarom s prídavkom 5% ovčej krvi po 24 a 48 hodinách inkubácie pri 37 °C.

Citlivosť stafylokokov (n=136) izolovaných z kravského mastitídneho mlieka bola testovaná *in vitro* voči 14 antimikrobiálnym látkam. Testy citlivosti izolátov sa vykonávali na Mueller Hintonovom agare pomocou diskovej difúznej metódy (CLSI, 2018). Výber testovaných antimikrobiálnych látok bol zvolený na základe používaných intramamárnych antibiotík pre liečbu dojníc počas laktácie a v zasušení. Inhibičné zóny boli klasifikované ako citlivé, intermediálne alebo rezistentné podľa noriem CLSI (2021). Ako kontrola v testoch slúžili referenčné kmene *S. aureus* CCM 4750 a *S. chromogenes* CCM 3386 (CCM, Masarykova univerzita, Brno, CZ).

Štatistické metódy

Na spracovanie získaných výsledkov bol použitý Microsoft Excel 2007® (Microsoft Corp., Redmond, USA) a na analýzu použitá SPSS verzia 20 a Excel (IBM Corp., Armonk, USA). Podľa špecifických mikrobiálnych druhov a foriem mastitíd boli nálezy kultivovaných patogénov spracované a prepočítané na percentá. Na vyjadrenie výsledkov antimikrobiálnej rezistencie sa pozitívne testované stafylokoky pre každý typ antimikrobiálnej látky

prepočítavali na percentá. Podľa produkcie faktorov virulencie sa porovnávali izoláty stafylokokov z klinickej, subklinickej alebo chronickej mastitídy pomocou chi-kvadrát testu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Napriek zvyšujúcej sa úrovni zoohygienického zabezpečenia chovu dojníc, mastitída je stále jedným z hlavných zdravotných problémov. Vyšetrenie štyroch produkčných stád dojníc ukázalo, že z 960 vyšetrených dojníc počas skorej fázy laktácie (14 – 100 dní po otelení) malo 689 kráv (71,7%) negatívne skóre NK-testu a 271 kráv (28,2%) malo pozitívne skóre NK-testu na jednu alebo viac štvrtí. Na základe anamnézy, klinického vyšetrenia a pozitívneho NK-testu bolo z 271 zmesných vzoriek kultivovaných 230 (84,8 %) izolátov spôsobujúcich subklinickú, klinickú alebo chronickú mastitídu. Ako negatívne alebo kontaminované bolo vyhodnotených 41 vzoriek (15,1%).

Podľa Singha a kol. (2021), klinické mastitídy predstavujú vážny zdravotný problém, ktorý môže mať za následok zníženú pohodu zvierat, zníženie až zastavenie dojivosti, zvýšené náklady na liečbu, predčasné vyradenie alebo úhyn, zhoršenie kvality mlieka s zvýšeným rizikom antimikrobiálnej rezistencie. Wentz a kol. (2001) vo svojej štúdií zistili, že mnohé prípady klinických mastitídy spôsobujú grampozitívne mikroorganizmy (*Staphylococcus* spp. alebo *Streptococcus* spp.), čo sa potvrdilo aj v našej štúdii.

Z 230 pozitívnych vzoriek na bakteriálne patogény mliečnej žľazy až v 136 prípadoch (59,1% infikovaných vzoriek) boli potvrdené stafylokoky z čoho, KNS predstavovali najčastejšie detekované baktérie v 42,6% pozitívnych nálezoch (Tabuľka 1). Druhým najrozšírenejším patogénom bol *S. aureus* (16,5%), za ním nasledovali infekcie zapríčinené *E. coli* (11,3%), streptokokmi (*Str. uberis*: 9,1%; *Str. agalactiae*: 3,4%) a enterokokmi (6,1%). Najčastejšou formou intramamárnej infekcie bola subklinická mastitída, ktorá predstavovala 46,9% zo všetkých pozitívnych prípadov. Okrem toho, bakteriálne patogény izolované z klinických prípadov sa vyznačovali v 37,8% viditeľnými zmenami v mliečnom sekréte a s vysokým skóre NK-testu. Z izolovaných patogénov sa najviac podieľal na výskyte klinických mastitíd KNS (16,5%), *S. aureus* (7,8%) a *Str. uberis* (3,8%). Na základe predchádzajúcej anamnézy a aktuálneho vyšetrenia zdravotného stavu vemena boli chronické mastitídy (15,2% zo všetkých pozitívnych prípadov) zapríčinené primárne *S. aureus* (4,7%), KNS (3,5%), *Str. uberis* (3,0%), *Str. agalactiae* (1,3%) a zmiešanými infekciami (1,7 %).

Tabuľka č. 1, Patogény mliečnej žľazy izolované zo vzoriek mlieka a ich podieľ na jednotlivých formách mastitíd

Patogén	**Počet izolátov**	**% (n=230)**	**Klinická** n/%			**Chronická**	**Subklinická**
			KM1	KM2	KM3	n/%	n/%
KNS	98	*42.6*	28/*12.2*	7/*3.0*	2/*1.3*	8/*3.5*	53/*23.0*
Staphylococcus aureus	38	*16.5*	10/*4.3*	5/2.2	3/*1.3*	11/*4.7*	9/3.9
Escherichia coli	26	*11.2*	5/*2.2*	2/*0.9*	0/*0*	2/*0.9*	17/7.4
Str. uberis	21	*9.1*	4/*1.7*	4/*1.7*	1/*0.4*	7/*3.0*	5/2.2
Str. agalactiae	8	*3.4*	0/*0*	3/*1.3*	0/*0*	3/1.3	2/0.9
Streptococcus spp.	10	*4.3*	4/*1.7*	0/*0*	0/*0*	0/*0*	6/*2.6*
Enterococcus spp.	14	*6.1*	2/*0.9*	1/*0.4*	0/*0*	0/*0*	11/*4.8*
Zmiešaná IMI[1]	15	*6.5*	4/*1.7*	2/*0.9*	0/*0*	4/*1.7*	5/2.2
Spolu	**230**	***100***	**57/*24.7***	**24/*10.5***	**6/*2.6***	**35/*15.2***	**108/*46.9***

Poznámka: Klinická mastitída vrátane miernej (KM1), strednej (KM2) a ťažkej formy (KM3), Zmiešaná IMI[1] – zmiešaná intramamárna infekcia dvomi a viac bakteriálnymi patogénmi.

U 136 stafylokokových izolátov bola diskovou difúznou metódou testovaná *in vitro* rezistencia na 14 antimikrobiálnych látok (tab. 2). Vo všeobecnosti sa preukázala nízka rezistencia na tetracyklín, amoxicilín posilnený kyselinou klavulanovou, rifaximín a cefalexín. Z testovaných stafylokokov, 105 izolátov (77,2%) vykazovalo rezistenciu voči jednému alebo viacerým antimikrobiálnym látkam. Na jedno antibiotikum bolo rezistentných 51 izolátov (37,5%). Na dve alebo viac antimikrobiálnych látok bolo rezistentných 54 (39,7%) izolátov zo všetkých testovaných stafylokokov. Viacnásobná rezistencia na tri a viac antimikrobiálnych skupín bola zaznamenaná u 16 izolátov (11,7%). Testované stafylokoky preukázali multi-rezistenciu na kombináciu antimikrobiálnych skupín, ako sú aminoglykozidy, *β*-laktámy, makrolidy a cefalosporíny.

Zvýšený výskyt mastitíd u dojníc zapríčinených stafylokokmi tiež podporuje ich vysoký stupeň patogenity v produkcii viacerých faktorov virulencie, ktoré majú kľúčový význam v klinických a perzistentných prípadoch IMI (Vasiľ a kol., 2017). Najmä *S. aureus, S. chromogenes, S. warneri* a *S. xylosus* izolované z klinických a chronických mastitíd vykazovali najpočetnejšie zastúpenie faktorov virulencie ako je produkcia biofilmu, hemolyzínov, schopnosť hydrolyzovať DNA a odolnosť voči antimikrobiálnym látkam.

Podľa Perez a kol. (2020), interakcia medzi produkciou hemolyzínov a biofilmom môže zvýšiť adherenciu stafylokokov k bunkám epitelu mliečnej žľazy a ich prežívanie počas

imunitnej odpovede organizmu a antibiotickej liečby. Naše výsledky potvrdili skutočnosť, že baktérie nesúce túto schopnosť sú vo zvýšenej miere rezistentné voči antimikrobiálnym látkam.

Tabuľka č. 2, Fenotypový profyl rezistencie stafylokokov izolovaných z mastitídnych kráv

počet skupín antibiotík	fenotypový profyl rezistencie	kravy (n=136)	
		počet izolátov	% izolátov
0		41	30.1
1	PEN	7	5.1
1	STR	7	5.1
1	NMC	8	5.9
1	AMX	7	5.1
1	NVB	6	4.4
1	AMP	6	4.4
1	LNC	4	2.9
1	OXA	5	3.7
2	NMC, STR	8	5.9
2	OXA, NVB	0	0
2	OXA, TET	4	2.9
2	CPR, NVB	2	1.5
2	LNC, NVB	2	1.5
3	PEN, AMX, OXA	4	2.9
3	PEN, LNC, NVB	2	1.5
3	AMP, OXA, NMC	3	2.2
3	CPR, NMC, STR	4	2.9
3*	NVB, LNC, STR	4	2.9
4*	RFX, CPR, STR, TET	2	1.5
4*	CPR, LNC, NMC, NVB	3	2.2
4*	NVB, CPR, NMC, STR	2	1.5
4*	AMP, CEP, FOX, PEN	3	2.2
5*	OXA, AMP, LNC, NMC, STR	2	1.5
***Počet multirezistentných izolátov**		16	11.8
Celkový počet rezistentných izolátov		**95**	**70.0**

Poznámka: AMX - amoxicilín, AMC - amoxicilín+kys. klavulánová, AMP - ampicilín, CEP - cefalexín, CPR - ciprofloxacín, FOX - cefoxitín, LNC - lincomycín, NMC - neomycín, NVB -novobiocín, OXA - oxacilín, PEN - penicilín, RFX - rifaximín, STR - streptomycín, TET - tetracyklín.

ZÁVER

Zo získaných výsledkov môžeme konštatovať, že v monitorovaných produkčných farmách dojníc viac ako polovica IMI (59,1%) bola spôsobená stafylokokmi, najmä KNS a *S. aureus*. Okrem *S. aureus*, niektoré KNS (*S. chromogenes, S. warneri* a *S. xylosus)* izolované z klinických a chronických mastitíd indikovali vysoký stupeň patogenity v produkcii viacerých

faktorov virulencie v porovnaní s inými kmeňmi. Najčastejšie u testovaných stafylokokov bola zistená rezistencia na aminoglykozidové a *β*-laktámové antibiotiká pravdepodobne preto, že sú to antimikrobiálne látky často používané pri liečbe mastitíd ako aj pri zasušení dojníc. Na základe fenotypového profylu rezistencie na *β*-laktámové antibiotiká bola u dvoch izolátov *S. aureus* (2,9 %) a dvoch izolátov KNS (*S. chromogenes* a *S. warneri*) potvrdená prítomnosť rezistentného *mecA* génu na meticilín. Naše zistenia potvrdili, že *S. aureus* stále patrí medzi dominantné stafylokoky zapríčiňujúce najmä klinické a perzistentné mastitídy s vysokou mierou patogenity ale niektoré druhy KNS môžu mať rovnaký agresívny potenciál na základe ich faktorov virulencie.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-22-0457 a APVV SK-PL-23-0066 ako aj projektom VEGA 1-0162-23.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. CLSI document M100–S31. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Thirty-first informational supplement*. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA. 2021, 350 p.
2. CLSI, document M2-A13. *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, Thirteenth informational supplement*. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA. 2018, 92 p.
3. COBIRKA, M. et al. Epidemiology and Classification of Mastitis. In *Animals*, 2020, vol. no. 10, p. 2212.
4. HIKO, A. DNase-cross-Coagulase test and antimicrobial resistance test on Staphylococcus along beef abattoir line in Addis Ababa Ethiopia. In *Ethiop Vet J*. 2019, vol. 23, pp. 90-110.
5. HOLKO, I. et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility of udder pathogens isolated from dairy cows in Slovakia. In *Journal of Dairy Research*. 2019, vol. 86, pp. 436-439.
6. MORAVEJI, Z. et al. Characterization of hemolysins of Staphylococcus strains isolated from human and bovine, southern Iran. In *Iran J Vet Res.* 2014, vol. 15, pp. 326-330.
7. NMC. National mastitis council. *National Mastitis Council Recommended Mastitis Control Program*. Natl. Mastitis Counc. Ann. Mtg. Proc., Reno, NV. Natl. Mastitis Counc., Inc., Verona, WI. 2001, 408 p.

8. NRC. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th ed. WASHINGTON, USA: The National Academies Press, National Research Council. 2001, 381 p.
9. OZBEY, G. et al. Identification of bacterial species in milk by MALDI-TOF and assessment of some oxidant-antioxidant parameters in blood and milk from cows with different health status of the udder. In *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2022, vol. 25, pp. 269-277.
10. PÉREZ, V.K.C. et al. Relationship between virulence factors and antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis. In *Journal of Global Antimicrobial Res*. 2020, vol. 22, pp. 792-802.
11. SINGHA, S. et al. Incidence, etiology, and risk factors of clinical mastitis in dairy cows under semi-tropical circumstances in Chattogram, Bangladesh. In *Animals*. 2021, vol. 11, 2255.
12. TANČIN, V. et al. Factors affecting raw milk quality of dairy cows under practical conditions. In *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*. 2020, vol. 14, pp. 744-749.
13. VASIĽ, M. et al. Comparison of biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from sheep milk using three diagnostic methods. In *Pol J Vet Sci*. 2017, vol. 20, pp. 795-801.
14. Wenz, J.R. et al. Bacteremia associated with naturally occuring acute coliform mastitis in dairy cows. In *Jour Am Vet Med Assoc*, 2001, vol. 219, pp. 976-981.

Kontaktná adresa: doc. MVDr. František Zigo, PhD., Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská Republika; E-mail: frantisek.zigo@uvlf.sk

PERSPEKTÍVA CHOVU A ANALÝZA ÚŽITKOVÝCH PARAMETROV PLEMENA SUFFOLK

BREEDING PERSPECTIVE AND ANALYSIS OF UTILITY PARAMETERS OF THE SUFFOLK BREED

Zigo František[1], Gondová Martina[1], Farkašová Zuzana[1], Vargová Mária[2], Lacková Zuzana[1], Regecová Ivana[3], Récky Andrej[1], Pecka-Kielb Ewa[4]

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

[2]Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat, 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]Department of Animal Physiology and Biostructure, Wroclaw University of Environmental and Life Sciences, Norwida 31, 50-375 Wroclaw, Poland

ABSTRACT

The aim of the work was to analyse of the utility and reproductive parameters of breeding the meat breed Suffolk, located in central Slovakia, in the Rimavská Sobota district. The analysis is supplemented by a detailed description of the breed standard and devotes attention to all the tasks carried out on the farm during the sheep farming year. It focuses mainly on a simple year-round grazing system without housing, utilizing only shelters for protection against adverse weather conditions. Analyzed utility and reproductive parameters such as fertility, average daily gains, loin muscle thickness, and backfat thickness were compared and evaluated over the last seven years. The results indicate that the assessed parameters are mainly influenced by the size of the flock, the number of ewes put to ram, individual approach to each breeding ewe, environmental factors, and the size of the offspring is mainly influenced by the nutrition of the dam in the last third of pregnancy. Despite the simplicity of the breeding system, the monitored breeding, through proper management and innovative approaches, can achieve above-average results.

Key words: suffolk sheep, farming system, fertility, loin muscle

ÚVOD

V súčasnej dobe čelí slovenské poľnohospodárstvo mnohým výzvam a zmenám, ktoré vyžadujú inovatívne postupy v chove hospodárskych zvierat. Stavy hospodárskych zvierat

každoročne klesajú, práca na farme je náročná, agrosektor pre mladých ľudí nie je príťažlivý. Jednou z možností ako do tohto sektoru pritiahnuť nových ľudí je práve chov nedojných oviec. Táto perspektíva chovu ponúka zaujímavý a udržateľný prístup k rozvoju slovenského poľnohospodárstva (Margetín a kol., 2018). Nedojné mäsové ovce, ktoré sa tradične považovali za okrajovú časť stáda, naberajú na dôležitosti a popularite hlavne vďaka svojej všestrannosti. Poskytujú nám nielen mäso a vlnu, ale prispievajú aj ku krajinotvorbe. Ponúkajú úplne novú perspektívu chovu, s novými technologickými postupmi a možnosťami (Janoš a kol., 2018).

Cieľom štúdie bola analýza úžitkových a reprodukčných parametrov šľachtiteľského chovu mäsového plemena suffolk s vyhodnotením vplyvu chovu nedojných oviec z ekonomického hľadiska a zváženie environmentálnych výhod tohto prístupu s možnosťami inovácii a technologických riešení, ktoré by mohli prispieť k efektívnemu manažmentu stáda.

MATERIÁL A METODIKA

Plemenný štandard plemena suffolk

Plemeno suffolk patrí k polojemnovlnovým plemenám, ktoré vzniklo vo Veľkej Británii, odkiaľ sa následne rozšírilo do takmer celého sveta. Telesný rámec je väčší, s hlbokým hrudníkom, na stredne dlhých, dobre osvalených končatinách. Hlavu a končatiny má čierne, vlna je biela. Využívajú sa hlavne na produkciu mäsa, ktoré nemá špecifický ovčí zápach. Barany sa využívajú aj na medziplemenné kríženie, s cieľom vylepšiť úžitkové vlastnosti potomstva (Horák a kol., 2012).

Farma a spôsob chovu

Monitorovaná farma pána sa nachádza v osade medzi Rimavskou Sobotu a Ožďanmi, s názvom Mlynárka. Na farme registrovaných 180 ks oviec z toho je 48 plemenných baranov z čoho 5 plemenníkov je určených na pripúšťanie oviec, ostatných 43 ks je zaradených do chovu s ich ďalším predajom. V roku 2023 bolo pripustených 119 ks oviec (v novembri) práve piatimi plemenníkmi. Dlhodobý cieľ na farme 120 matiek bol takmer splnený v roku 2023. V roku 2024 počet 120 matiek bol splnený a ďalšie počty sa navyšovať nebudú, kvalitný plemenný materiál sa ľahšie dosahuje pri kontrolovateľných stavoch zvierat.

Plemeno suffolk sa vyznačuje veľmi nízkymi nárokmi na ustajňovacie priestory a systém chovu, čo sa na monitorovanej farme naplno využíva. Ovce sú chované v čo najprirodzenejších podmienkach s využívaním všetkého potenciálu prirodzenej pastvy, bez zbytočných zásahov. Suffolk nie je typickou stádovou ovcou, čo dokazuje spôsobom pasenia. Najlepšie sa pasú v skorých ranných a v neskorých večerných hodinách, čo sa nedá úplne zabezpečiť stádovým pasením s pastierom. Preto sa suffolky na tejto farme chovajú oplôtkovým sytémom. Systém

kŕmenia je polointenzívny, čo znamená že počas letných mesiacov sa ako hlavný zdroj využíva pastva a v zimnom období je hlavným zdrojom energie seno a senáž. Takmer celoročne sa ovciam podáva aj jadrové krmivo, ktoré je zložené z jačmeňa, ovsu a tritikále v rôznych pomeroch podľa aktuálnej situácie. Dávkovanie jadrového krmiva je závislé na kvalite objemových krmív a slúži len ako doplnok stravy. Baranom sa do jadrového krmiva pridáva zmes s chloridom amónnym na zabránenie vzniku močových kameňov, na ktorých tvorbu sú náchylné. Ovce majú celoročne prístup k minerálnym lízom a soliam.

Sledované úžitkové a reprodukčné parametre

Sledované úžitkové ukazovatele u barančekov a jahničiek boli merané v 100 dňoch veku a to: hrúbka chrbtového svalu (MLLT - *musculus longissimus lumborum et thoracis*), hrúbka podkožného tuku, priemerná hmotnosť pri vážení a priemerný denný prírastok podľa Drozda (2009). Ultrasonografická diagnostika hrúbky podkožného tuku (PT) a hrúbky MLLT bola vykonávaná pri plemenných jahničkách a baránčekoch zaradených do kontroly úžitkovosti. Meranie hrúbky PT a MLLT pomocou ultrasonografu (ALOKA SSD 500) sa vykonávalo pri jahňatách vo veku 100 dní, t.j. v tom istom období, keď sa jahňatá individuálne vážia v rámci kontroly úžitkovosti.



Obrázok č. 1, Meranie hrúbky MLLT a PT

Priemerný denný prírastok sa vypočítal z absolútneho prírastku a počtu kŕmnych dní v 100 dňoch veku. Plodnosť, ktorá patrí medzi hlavné reprodukčné ukazovatele bola vypočítaná ako celkový súčet jahniat / počet obahnených oviec x 100%.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Chov oviec plemena suffolk sa zameriava hlavne na mäsovú produkciu. Na Slovenku sa tento typ chovu oviec bez trhovej produkcie mlieka začal intenzívnejšie rozvíjať na vyššej chovateľskej úrovni až posledných 20 - 30 rokoch. Počty jedincov zameraných na mäsovú

produkciu stúpajú najmä v južnejších častiach Slovenska. Na týchto územiach sa v minulosti chovali hlavne ovce plemena merino (Margetín a kol., 2018).

Klimatická situácia na tomto území dovoľuje ovčiarom na chov využívať tzv. modifikovaný anglosaský systém chovu. Na to aby mohol byť tento systém ekonomicky výhodný, musia byť splnené určité podmienky: výber vhodného plemena odolného voči nepriazni počasia, nenáročné na kvalitu krmiva, určitý stupeň odolnosti paznechtu voči hnilobe, dobré materinské vlastnosti ovce a iné (Margetín a kol., 2018). Medzi plemená vhodné pre tento typ chovu patrí aj plemeno suffolk, ktoré sa chová na monitorovanej farme lokalizovanej na juhu Slovenska, pri Rimavskej Sobote. Práve v týchto oblastiach má posledných 20 rokov chov hovädzieho dobytka, oviec a kôz bez trhovej produkcie mlieka stúpajúcu tendenciu. Je to možné, hlavne vďaka veľmi dobrým klimatickým podmienkam.

V monitorovanom chove, ktorý je realizovaný jednoduchým oplôtkovým systémom sú ovce celoročne na paši, s možnosťou ukryť sa pred nepriazňou počasia pod statické prístrešky, nachádzajúce sa v ohradníkoch. Ani to nie je prekážkou na dosahovanie medzinárodne konkurencieschopných výsledkov. Práve naopak, chov je dokonca vysoko efektívny v porovnaní jednotlivých úžitkových parametrov a vedie k zníženiu nákladov. Jednoduchosť takýchto chovov je pre budúcich chovateľov atraktívna a praktická.

V 100 dňoch veku sa u jahniat pomocou USG meria hrúbka chrbtového svalu (MLLT) a tak isto aj hrúbka podkožného tuku. Tieto dve hodnoty by mali zhodnotiť rastový potenciál jahňaťa. V tabuľkách 1 a 2 sú zaznamenané hodnoty úžitkovosti podľa pohlavia, ktoré udávajú priemerné hodnoty vážených a meraných jahniat v monitorovanom šľachtiteľskom chove na juhu Slovenska. Rok 2020 bol veľmi priaznivý kedy všetky ukazovatele prekročili predošlé roky. Hmotnosť pri vážení bola v danom roku najvyššou priemernou dosiahnutou hmotnosťou na Slovensku.

Vysoká hodnota hrúbky MLLT je žiadaná pretože určuje rastový potenciál jahniat. Nižšie hodnoty viditeľné pri podkožnom tuku odzrkadľujú oplôtkový chovný systém s možnosťou voľného pohybu jahniat. Pri extenzívnom chove v maštaliach sú namerané hodnoty podkožného tuku vyššie.

Tabuľka č. 1 , Priemerné výsledky váženia jahničiek v priebehu rokov 2017 - 2023

Rok	Počet ks	Priemerný vek	Hrúbka MLLT [mm]	Hrúbka MLLT [mm] /[100 dní]	Hrúbka podkož. tuku [mm]	Hrúbka podkož. tuku [mm] /[100 dní]	Priemerná hmot. pri vážení	Hmot. pri vážení /[100 dní]
2017	17	92,7	31,82	34,49	4,1	4,44	35,03	37,76
2018	20	98,65	36,75	37,37	4,93	5,03	37,65	38,26
2019	44	104,25	35,94	34,57	4,79	4,59	38,22	36,64
2020	**30**	**100**	**37,97**	**38,06**	**5,52**	**5,51**	**43,07**	**43,04**
2021	41	98,07	35,55	36,4	5,23	5,35	39,07	39,89
2022	47	100,89	30,26	30,07	5,13	5,11	41,73	41,41
2023	21	120,43	26,08	21,65	2,93	2,43	43	35,75

Poznámka: MLLT- *musculus longissimus lumborum et thoracis*.

Tabuľka č. 2 , Priemerné výsledky váženia barančekov v priebehu rokov 2017 - 2023

Rok	Počet ks	Priemerný vek	Hrúbka MLLT [mm]	Hrúbka MLLT [mm] /[100 dní]	Hrúbka podkož. tuku [mm]	Hrúbka podkož. tuku [mm] /[100 dní]	Priemerná hmot. pri vážení	Hmot. pri vážení /[100 dní]
2017	22	93,81	31,51	33,62	3,73	3,98	40,06	42,79
2018	19	98,42	37,55	38,22	4,43	4,51	42,32	42,93
2019	38	105,37	36,74	34,96	4,48	4,26	44,37	42,15
2020	**34**	**99,09**	**37,76**	**38,02**	**5,42**	**5,46**	**48,71**	**49,13**
2021	36	99,45	37,32	37,66	4,89	4,92	41,86	42,13
2022	45	101,78	31,56	31,07	5,04	4,95	47,59	46,72
2023	39	119,05	25,18	21,18	2,71	2,28	39,81	33,41

Poznámka: MLLT- *musculus longissimus lumborum et thoracis*.

Tak isto je veľmi podstatným ukazovateľom priemerný denný prírastok, ktorý sa vypočíta z naväžených hmotností v 100 dňoch veku. Jahňatá sa rodia veľmi čulé a životaschopné. Ich výnimočná žravosť sa odzrkadľuje na denných prírastkoch, ktoré v 100 dňoch veku dosahujú v priemere 404 g, čo je o takmer 35 g viac ako určuje plemenný štandard. V roku 2022 sa na

monitorovanej farme podarilo dosiahnúť denné prírastky jahniat na 441 g, čo prekročilo plemenný štandard o 70 g.

Štúdia Janoša a kol. (2018) vykonávaná v školskom podniku v Žabčiciach, popisuje rastovú schopnosť plemena suffolk a charollais. Jedince boli chované v rovnakých podmienkach, intenzívnym spôsobom. Vážené boli na 30, 100, 200 a 300 deň. Z výsledkov váženia na 100 deň života vyplýva, že plemeno suffolk má lepšiu rastovú schopnosť ako plemeno charollais. Priemerný denný prírastok bol približne 344 g. V šľachtiteľskom chove suffolkov aj v roku s najnižšími dennými prírastkami prekročili túto hodnotu o 27 g. Najlepším chovateľským rokom, v ktorom sa dosiahli najvyššie denné prírastky bol rok 2022, kedy sa chovateľovi podarilo prekročiť hodnotu nameranú v Žabčiciach o 97 g aj napriek odlišnému jednoduchšiemu systému chovu.

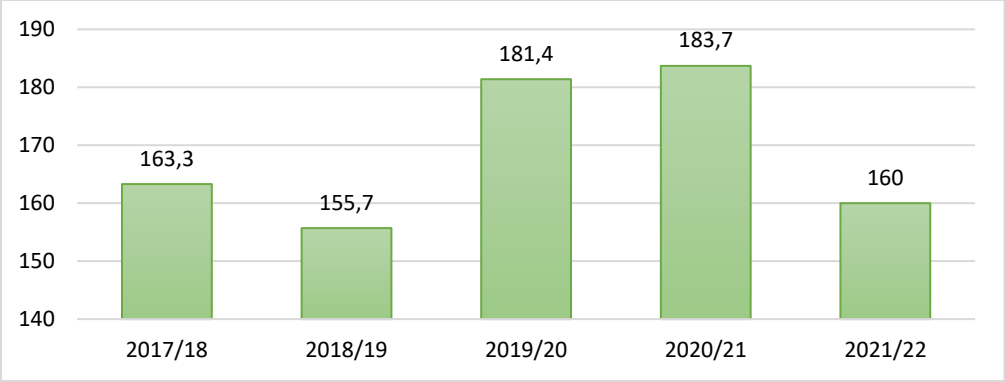
V Írsku je plemeno suffolk, tak isto ako vo Veľkej Británii, jedno z najobľúbenejších mäsových plemien. V štúdii Fitzmaurice a kol. (2020) bola porovnávaná výška MLLT a tuku medzi mäsovými plemenami oviec: texel, suffolk a charollais. Hodnota oboch ukazovateľov, aj hrúbka MLLT aj podkožného tuku, bola určovaná pomocou USG vyšetrenia. Tieto dva ukazovatele sú veľmi dôležité na posúdenie rastového potenciálu jahniat. Veľký dôraz na ne kladú hlavne v chovoch zameraných na produkciu ťažkých veľkonočných jahniat. Hodnoty boli merané približne v 150 dňoch života jahniat. Najlepšie parametre boli namerané práve u plemena suffolk. Hrúbka MLLT bola v priemere 34,11 mm a tuk meral 8,5 mm. V roku 2020, ktorý bol rokom s najlepšími hodnotami, bola u jahničiek v monitorovanom chove nameraná hrúbka MLLT 38,06 mm, čo je o 3,95 mm viac ako hodnota nameraná v skupinke suffolkov v Írsku. U barančekov hrúbka MLLT dosahovala hodnotu 38,02 mm, čo je len o 0,04 mm menej ako hodnota pri jahničkách, a stále prevyšuje hodnotu nameranú pri jahňatách v Írsku. Hrúbka tuku bola nižšia, pri jahničkách dosahovala 5,51 mm a pri barančekoch 5,46 mm. Tu boli hodnoty jahniat zo štúdie vyššie približne o 3 mm. Môže to byť ovplyvnené práve systémom chovu jahniat. Nižšie množstvo tuku je sledované u jahniat s možnosťou voľného pohybu.

Anglický zväz chovateľov suffolkov (2023) každoročne uverejňuje priemerné hodnoty sledovaných ukazovateľov: hrúbka MLLT, hrúbka tuku a priemerný denný prírastok. Uvádza že priemerná pôrodná hmotnosť jahňaťa pochádzajúceho z dvojičiek je 4,2 kg. Priemerná hmotnosť jahniat v 100 dňoch je približne 40 kg. Z toho vyplýva, že priemerný denný prírastok je približne 358 g. Tak isto, aj v tomto prípade sa na monitorovanej farme podarilo aj napriek jednoduchosti chovného systému dosiahnuť lepšie denné prírastky. MLLT a tuk sa hodnotia až na 150 deň, čo nám nedovoľuje tieto ukazovatele porovnať s hodnotami suffolkov chovaných na Slovensku.

Mesačník Slovenský chov každoročne vyhodnocuje chovateľské úspechy v súťaži NAJ slovenský chov. Jedince z hodnoteného chovu sa každoročne umiestňujú na popredných miestach, čo sa týka chovu mäsových oviec. Priemerné denné prírastky jahniat takmer každý rok obsadzujú prvú priečku. Rok 2018 bol prvým rokom kedy sa zvieratá z farmy od Rimavskej Soboty dostali do súťaže. Toho toku boli denné prírastky na tejto farme 371 g, čo nestačilo na prvenstvo o 8 g. Až do roku 2022 suffolky z juhu Slovenska výrazne dominovali súťažným štatistikám. Roku 2019 dosiahli suffolky priemerný denný prírastok 372,9 g, čo bolo o 14, 4 g viac ako dosiahol ďalší umiestnený chovateľ. Roku 2020 predčil ostatných chovateľov o 36 g. Roku 2021 to bolo 17 g a posledný sledovaný rok 2022 to bolo o 93 g. Chov suffolkov na monitorovanej farme sa od ostatných chovoch na Slovensku líši hlavne jednoduchosťou systému chovu. Denné prírastky sú závislé na dobrej mliekovosti matky, žravosti jahňaťa, dostatku krmiva a aj od poveternostných podmienok (Dukes, 2022).

Ďalším hlavným sledovaným ukazovateľom u oviec je plodnosť, ktorá závisí od početnosti vrhu barana, ktorým bola ovca pripúšťaná a aj od početnosti vrhu, z ktorého pochádzajú samotní rodičia. Nižšie uvedený graf porovnáva plodnosť oviec plemena suffolk na monitorovanej farme v priebehu rokov 2017 - 2022. Uspokojivé parametre boli dosiahnuté roku 2021, kedy plodnosť dosiahla 183,7 %. V roku 2022 je pozorované zhoršenie ukazovateľov (Graf 1). Je to pripisované vyššiemu výskytu jednopočetných vrhov, oproti minulým rokom.

Graf č.1, Plodnosť v priebehu rokov 2017 – 2022 (v %)



Anglický zväz chovateľov suffolkov (2023) udáva priemerný počet jahniat na obahnenú bahnicu 1,71. V monitorovanom šľachtiteľskom chove na juhu Slovenska sa podarilo dosiahnuť 1,83 ks na bahnicu. Na počet plodov vplýva niekoľko ukazovateľov. Dôležitá je hlavne početnosť vrhu, z ktorého pochádzajú obaja rodičia, najmä baran. Je žiadané si pri výbere nového plemenníka overiť z koľkých súrodencov pochádza. Ideálne je keď aj baran aj bahnica pochádzajú z dvojpočetného vrhu. Potom pravdepodobnosť narodenia sa dvojičiek stúpa.

ZÁVER

Z výsledkov štúdie vyplýva, že na hodnotené parametre v jednotlivých rokoch má výrazný vplyv hlavne početnosť stáda, množstvo pripustených oviec, individuálny prístup k jednotlivým bahniciam, enviromentálne faktory a na veľkosť plodu vplýva hlavne výživa matky v poslednej tretine gravidity. Na reprodukčné ukazovatele vplýva hlavne početnosť vrhu, z ktorého pochádzajú rodičia. Ak pochádzajú obaja z dvojpočetného vrhu, je vyššia pravdepodobnosť dvojičiek.

Nemôžeme však zabúdať na to, že aby bol takýto chov realizovateľný, musí byť postavený na dobrom genetickom základe. Základné stádo musí pozostávať zo silných jedincov, odolných voči klimatickým vplyvom. Preferujú sa plemená s čiernym paznechtom ktorý je menej náchylný na hnilobu a prerastanie. Matky musia mať dobrý materinský pud a dostatok mlieka na odchov jahniat. Všetky poznatky viedli k zisteniu, že chov mäsových plemien oviec bez trhovej produkcie mlieka má na Slovensku potenciál.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV SK-PL-23-0066 a grantom KEGA č. 011UVLF-4/2024.

POUŽITÁ LITERATÚRA

1. HORÁK, F. a kol. *Chováme ovce.* Nakladatelství brázda, 2012, 80 s. ISBN 978-80-209-0390-7
2. DROZD, R. Mäsové plemená oviec. 2009. [cit. 2024-04-26]. Dostupné na internete: https://pssr.sk/wpcontent/uploads/publ/2010/ov/rocenka/09/rocenka/subory/masove_plem.pdf
3. MARGETÍN, M. a kol. *Technologicko-chovateľské postupy pre jednotlivé systémy chovu nedojných oviec*. Pôdohospodársky poradenský systém [online]. SPU Nitra. 2018 [cit. 2024-03-26]. Dostupné na internete: https://www.agroporadenstvo.sk/zivocisna-vyroba-ovce?article=1359
4. JANOŠ, T., FILIPČÍK, R., HOŠEK, M. Evaulation of Growth Intensity in Suffolk and Charollais Sheep. In *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelinae Brunensis*. ISSN 2464-8310, 2018, vol. 66, o. 1, s. 61-67.
5. FITZMAURICE, S. et al. Genetic analyses of live weigth and carcass composition traits in purebred Texel, Suffolk and Charollais lambs. In *Animal: an international journal of animal bioscience*. 2020, ISSN 899-909, vol. 14, no. 5.

6. Suffolk sheep society. 2024. *Breed Performance, Ballymena* [cit. 2024-03-27]. Dostupné na internete: https://www.suffolksheep.org/signet-recording-scheme/
7. DUKES, M. NAJ naše pole 2018, 2019, 2020, 2021, 2022. In *Slovenský chov*. Nitra. ISBN 978-80-7598-000-7, [cit. 2024-04-25]. Dostupné na internete: https://www.agrobiznis.sk/projekty-agromagazinu/sutaz-naj?start=26

Kontaktná adresa: doc. MVDr. František Zigo, PhD., Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská Republika; E-mail: frantisek.zigo@uvlf.sk

GENERÁLNY PARTNER - TAURIS ® GROUP



GENERÁLNY PARTNER - TAURIS ® GROUP



HLAVNÍ PARTNERI - BILLA, s.r.o. Bratislava

BILLA

V KVALITE SA VYZNÁME

HLAVNÍ PARTNERI - BILLA, s.r.o. Bratislava



HLAVNÍ PARTNERI - Labaš, s.r.o. a Potraviny FRESH, s.r.o.

HLAVNÍ PARTNERI - Labaš, s.r.o. a Potraviny FRESH, s.r.o.



HLAVNÍ PARTNERI - Labaš, s.r.o. a Potraviny FRESH, s.r.o.



HLAVNÍ PARTNERI - 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 - Dalton spol. s r.o. - Staromestská Mäsiareň





SPONZORI - URPINER - BANSKOBYSTRICKÝ PIVOVAR, A.S.



VYSTAVOVATELIA - BioIng,s.r.o.



VYSTAVOVATELIA - Biomedica Slovakia, s.r.o.



VYSTAVOVATELIA - BIOTECH s.r.o.

BIOTECH s.r.o.

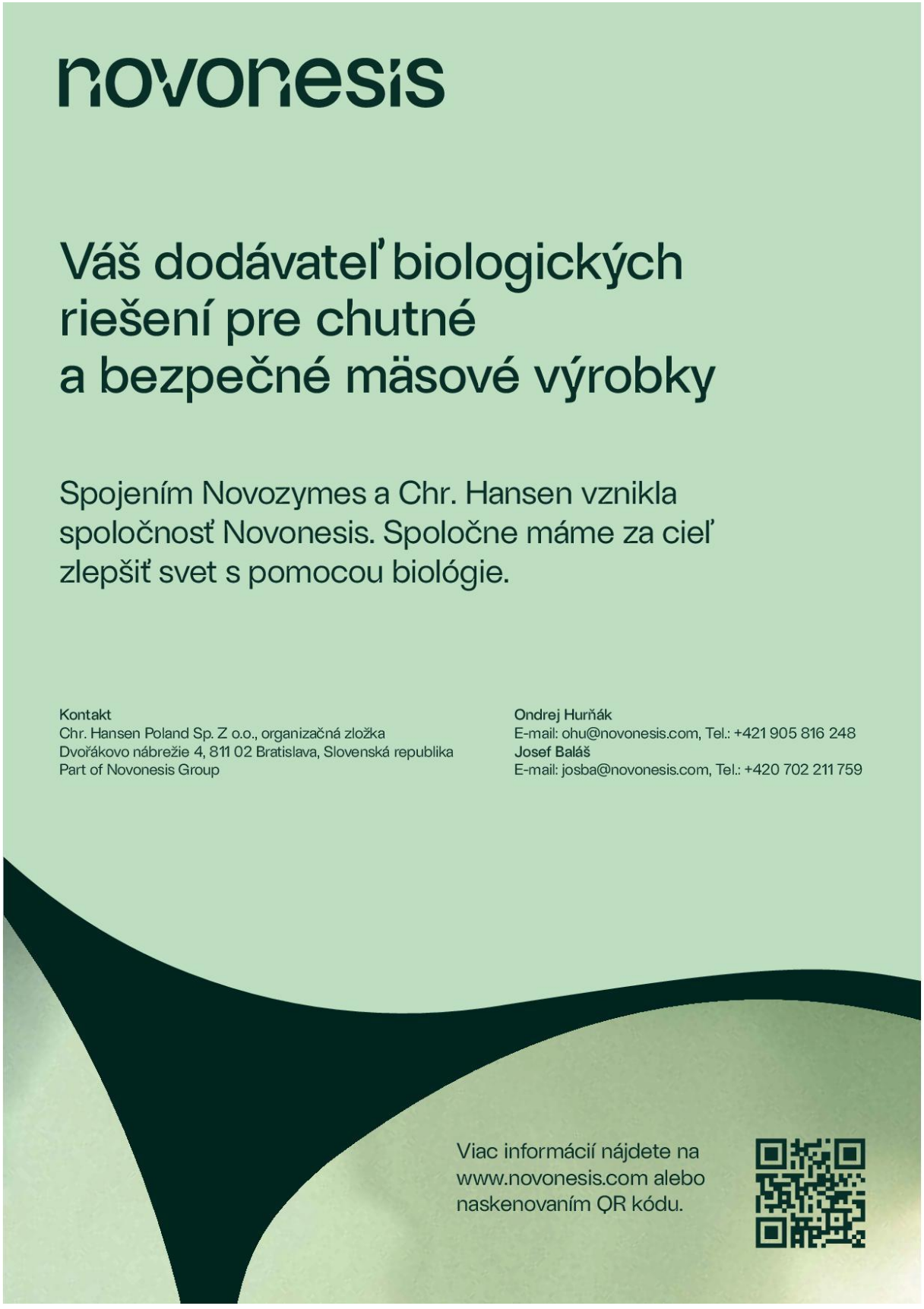
Kresánkova 12

841 05 Bratislava

+421 2 54 77 44 88

www.ibiotech.sk

VYSTAVOVATELIA - Novonesis



VYSTAVOVATELIA - JEMO TRADING spol. s r.o.

profood
JEMO TRADING

TESTOVACIE SÚPRAVY
PRE ANALÝZU POTRAVÍN A KRMÍV



www.profood.sk
www.jemotrading.cz

VYSTAVOVATELIA -- Kersia

kersia®
INVENTING A **FOOD SAFE WORLD**

Globální lídr v oblasti biologické bezpečnosti a bezpečnosti potravin



Kersia nabízí produkty a hygienická řešení na míru k prevenci nemocí nebo kontaminace u zvířat i lidí v každé fázi potravinového dodavatelského řetězce.

VYSTAVOVATELIA -– Latte ingredients, s.r.o.

Romer Labs®
Making the World's Food Safer

Latte ingredients

SACCO system
Supporting food culture & life

Discover Romer Labs

Analytika

- Mikrobiológia
- Allergény
- GMO
- Testovacie súpravy na rýchly a citlivý skríning mäsovej a kostnej múčky





- Laboratórna diagnostika
- Kultúry, Špeciálne kultúry
- Syridlá,enzýmy
- Tapioka

www.latteingredients.sk
www.romerlabs.com

VYSTAVOVATELIA - NOACK

NOACK Part of Barentz.

Dodávame diagnostické súpravy a prístroje pre mikrobiologické a chemické analýzy a kontrolu hygieny a sanitácie

V portfóliu našich produktov nájdete:

- prístroj na rýchlu kontrolu hygieny – luminometer 3M Clean-Trace LM1
- rýchle metódy na detekciu mikrobiológie a patogénov
- rýchle testy na kontrolu alergénov, mykotoxínov, inhibičných látok
- rýchla mikrobiologická metóda CertaBlue (24 hod. CPM, 48 hod. Kv. a pl...)
- mikrobiologické živné pôdy Solabia Biokar a 3M Petrifilm
- pomôcky na odber vzoriek z prostredia – sterové tampóny, abrazívne hubky
- kontrola ovzdušia – AirWel 200 L/min
- enzymatické testy – chemické zloženie potravín (kyseliny, cukry, vláknina a.i.)
- analyzátory mlieka, mäsa a obilnín a produktov z nich

V prípade záujmu nás neváhajte kontaktovať, rady vám poskytneme informácie o všetkých dodávaných testoch.



www.noackgroup.com

NOACK Part of Barentz.

NOACK – SLOVAKIA, spol. s r.o.
Seberíniho 1
821 03 Bratislava
tel.: +421 2 4341 1631
mob.: +421 905 293 756
e-mail: office.sk@noackgroup.com

AUSTRIA BULGARIA CROATIA CZECH REPUBLIC HUNGARY POLAND ROMANIA SERBIA SLOVAKIA SLOVENIA

VYSTAVOVATELIA - O.K. SERVIS BioPro, s.r.o.



VYSTAVOVATELIA - O.K. SERVIS BioPro, s.r.o.

KONTROLA KVALITY

O.K. SERVIS BioPro www.biopro.cz

MODIFIKOVANÁ ATMOSFÉRA



- Laboratorní **off-line analyzátory** modifikované atmosféry
- **On-line analyzátory** modifikované atmosféry pro balicí stroje
- Přístroje pro **kontrolu integrity obalů**

MĚŘENÍ TEXTURY



Přesné analyzátory textury pro **širokou škálu aplikací:**

- Konzistence
- Tuhost
- Kvalita prsní svaloviny u drůbežího masa
- Pevnost - např. krájení šunkových plátků

NIR ANALÝZA



- Univerzální laboratorní analyzátor
- **Rychlá analýza**, výsledky do 6 sekund
- Měřené parametry: bílkoviny, tuky, sušina, popel, kolagen, sůl, podíl svalové bílkoviny, obsah masa

Pro mikrobiologickou analýzu masných výrobků nabízíme přístroje do laboratoře i provozu.

www.biopro.cz

Názov publikácie:	HYGIENA ALIMENTORUM XLIV Mäso a mäsové výrobky - aktuálne problémy a trendy produkcie a predaja Meat and meat products - current problems and trends in production and marketing
Druh publikácie:	Recenzovaný zborník prednášok a posterových prezentácií z medzinárodnej vedeckej konferencie
Autori:	Kolektív autorov
Zostavila:	BODNÁROVÁ Libuša, MVDr. Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Recenzovali:	VAŠKOVÁ Janka, doc. RNDr., PhD. Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Slovenská republika HUDÁK Marek, MVDr., PhD. Regionálna veterinárna a potravinová správa Bardejov, Slovenská republika
Vydal:	Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika
Vytlačil:	Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika
Náklad:	250 ks
Počet strán:	643 strán
Dátum vydania:	Máj 2024
Vydanie:	Prvé

ISBN 978 – 80 – 8077 – 822 – 4

ISBN 978 – 80 – 8077 – 822 – 4