SLOVENSKÁ SPOLOČNOSŤ PRE POĽNOHOSPODÁRSKE, LESNÍCKE, POTRAVINÁRSKE A VETERINÁRSKE VEDY PRI SAV

SLOVENSKÁ AKADÉMIA PÔDOHOSPODÁRSKYCH VIED

BEZPEČNOSŤ A KVALITA POTRAVÍN

Zborník vedeckých prác

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

SLOVENSKÁ SPOLOČNOSŤ PRE POĽNOHOSPODÁRSKE, LESNÍCKE, POTRAVINÁRSKE A VETERINÁRSKE VEDY PRI SAV

BEZPEČNOSŤ A KVALITA POTRAVÍN

(Zborník vedeckých prác)

Nitra, 2023

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Názov:
Bezpečnosť a kvalita potravín – zborník vedeckých prác

Zostavovatelia:
prof. Ing. Jozef Golian, Dr.
Ing. Jozef Čapla, PhD.

Recenzenti:
prof. Ing. Jozef Golian, Dr.
prof. Ing. Marcela Capcarová, DrSc.
prof. Ing. Dana Tančinová, PhD.
doc. Ing. Martina Fikselová, PhD.
doc. Ing. Andrea Mendelová, PhD.,
doc. Ing. Peter Zajác, PhD.

Vydavateľ: Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárske vedy pri SAV, online zborník vedeckých prác

ISBN 978-80-8266-028-2

DOI: https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Toto dielo je publikované pod/This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International Licence

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

OBSAH

Mikrobiologická a mykologická bezpečnosť a kvalita potravín	7
Potenciál tvorby biofilmu u baktérií *Staphylococcus* spp. izolovaných z mastitídneho mlieka u dojníc *Farkašová Zuzana, Lacková Zuzana, Zigo František, Vargová Mária, Arvaiová Juliana*	8
Výskyt T-**2 toxínu v kŕmnych zmesiach pre hydinu** *Michaela Harčárová, Pavel Naď, Andrej Marcin, Alena Hreško Šamudovská, Lukáš Bujňák, Tomáš Mihok*	13
Prebiotiká ako substrát pro rast *Listeria monocytogenes* *Tereza Kodešová, Hana Šubrtová Salmonová, Eva Vlková*	18
Identifikácia *Metschnikowia pulcherrima* v procese fermentácie vína v spojitosti s biogénnymi amínami *Mariana Kováčová, Ivana Regecová, Jana Výrostková, Boris Semjon, Slavomír Marcinčák, Peter Očenáš*	22
Kmene druhu *Staphylococcus hominis* detegované v surovom kozom mlieku a **ich ciltivosť ku nizínu** *Andrea Lauková, Maria Joao Fraqueza, Cristina Alfaia, Valentína Focková, Monika Pogány Simonová*	27
Citlivosť kmeňov *Staphylococcus aureus* **z ovčieho hrudkového syra ku** lantibiotickým bakteriocínom galidermín a nizín *Andrea Lauková, Maria Joao Fraqueza, Cristina Alfaia, Valentína Focková, Anna Kandričáková, Natália Koťešovská, Monika Pogány Simonová*	31
Lactiplantibacillus plantarum **Lp17I/1 z ovčieho sudovaného syra, perspektívny kmeň pre využitie** nielen v mliekarenskych produktoch *Andrea Lauková, Martin Tomáška, Maroš Drončovský, Marián Maďar, Eva Bino, Emília Dvorožňáková, Ľubica Chrastinová, Monika Pogány Simonová, Miroslav Kološta*	34
Analýza výskytu baktérií na vybraných listových šalátoch *Juraj Medo, Michaela Játiová, Renáta Artimová, Lucia Zeleňáková, Jana Žiarovskár*	37
Histamín a jeho vplyv na mykobiotu vína počas fermentačného procesu *Ivana Regecová, Jana Výrostková, Boris Semjon, Martin Bartkovský, Slavomír Marcinčák, Peter Očenáš, Lýdia Mesarčová*	44
Detekcia faktorov virulencie u baktérií skupiny *Bacillus cereus* *Michaela Šebestová, Marie Pruchová, Tereza Kodešová, Roman Švejstil, Petra Škvorová, Lenka Kouřimská, Eva Vlková, Hana Šubrtová Salmonová*	51
Predikcie devitalizácie mikroorganizmov v procese parenia syrov *Ľubomír Valík, Alžbeta Vavreková, Pavel Ačai, Veronika Lehotová*	57
Histamín a jeho vplyv na mykobiotu vína počas fermentačného procesu *Jana Výrostková, Ivana Regecová, Boris Semjon, Martin Bartkovský, Slavomír Marcinčák, Peter Očenáš, Lýdia Mesarčová*	59
Hygienické aspekty prevádzkovania nápojových automatov a ich mikrobiologické riziká *Lucia Zeleňáková*	65
Výživa a bezpečnosť potravín	70
Aplikácia prírodných extraktov pre potenciálne predĺženie trvanlivosti inovovaných zdravotne bezpečných potravín *Martina Fikselová, Lucia Benešová, Lucia Zeleňáková, Tomáš Vlčko, Jana Ďurišová, Stanislava Lukáčová, Jozef Golian*	71
Farebná stabilita **biologicky rozložiteľných obalov s prídavkem peľu z čiernej bezy** *Zdeňka Javůrková, Matej Pospiech, Martina Pečová, Marie Bartlová, Lenka Havlová,*	78

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Dani Dordević, Simona Dordević, Bohuslava Tremlová	
Monitoring obsahu cholesterolu v cereálnych výrobkoch *Lukáš Kolarič, Michaela Lauková, Peter Šimko*	85
Taurín v hmyze ako potravina a krmivo *Lenka Kouřimská, František Kvasnička, Michal Kurečka, Aleš Rajchl, Petra Škvorová, Martin Kulma*	92
Spotrebiteľské správanie na trhu s medom *Roman Récky, Peter Šedík, Michaela Kulichová*	98
Bezpečnosť potravín ako limitujúci faktor zdravia obyvateľstva SR *Peter Šimko*	103
Vliv kulinárního zpracování na mikrobiologickou kvalitu potemníka moučeného *(Tenebrio molitor)* *Petra Škvorová, Roman Švejstil, Lenka Kouřimská*	105
Aktuálne trendy vo využití chitosanových jedlých náterov/filmov na konzerváciu potravín *Tomáš Vlčko, Jozef Golian, Martina Fikselová, Jozef Čapla*	111
Porovnanie vybraných parametrov hygienickej kvality zemiakových šalátov ochutených majonézou a tatárskou ***omáčkou*** *Lucia Zeleňáková, Martina Fikselová, Anna Kolesárová, Andrea Mendelová*	122
Bezpečnosť a kvalita mlieka a mliečnych výrobkov	131
Senzorická analýza syrov vyrobených z ovčieho a kozieho mlieka *Lucia Benešová, Silvia Jakabová, Jozef Golian, Peter Zajác, Jozef Čapla, Jozef Čurlej*	132
Najčastejší pôvodcovia mastitíd vemena kôz – review *Barbora Gancárová, Kristína Tvarožková, Vladimír Tančin*	136
Vplyv veku otelenia na produkciu a zloženie mlieka pri dojniciach na prvej laktácii *Lucia Mačuhová, Vladimír Tančin, Juliana Mačuhová, Michal Uhrinčať*	142
Kvalitatíné vlastnosti syrov z ovčieho mlieka s medvedím cesnakom *Dorota Najgebauer-Lejko, Agnieszka Pluta-Kubica, Jacek Domagała, Katarzyna Turek, Iwona Duda, Maria Walczycka, Jozef Golian, Jana Štefániková*	147
Ukazovatele mliekovej úžitkovosti v závislosti od počtu somatických buniek a sezóny *Marta Oravcová, Maroš Čobirka, Vladimír Tančin, Lucia Mačuhová, Michal Uhrinčať*	150
Počet somatických buniek ako indikátor zdravia vemena kôz *Vladimír Tančin, Barbora Gancárová, Lucia Mačuhová, Michal Uhrinčať, Martina Vršková, Kristína Tvarožková*	156
*Patogé**ny a počet somatických buniek v ovčom mlieku*** *Kristína Tvarožková, Vladimír Tančin, Michal Uhrinčať, Lucia Mačuhová, Ivan Imrich, Barbora Gancárová*	161
Epigenetické vplyvy sezóny narodenia holštajnských dojníc na produkciu mlieka, tuku a bielkovín za prvú laktáciu *Michal Uhrinčať, Vladimír Tančin, Lucia Mačuhová, Marta Oravcová*	165
Zhodnotenie účinnosti dezinfekcie prostredníctvom mikrobiologickej kontroly v priestoroch *Mária Vargová, František Zigo, Zuzana Farkašová, Katarína Veszelits Laktičová*	170
Vplyv man**ažmentu zasúšania na zdravie mliečnej žľazy dojníc** *Martina Vršková, Kristína Tvarožková, Vladimír Tančin, Michal Uhrinčať, Lucia Mačuhová, Ivan Holko*	174
Detekcia falšovania bryndze metódou izoelektrickej fokusácie gama kazeínov *Peter Zajác, Jozef Čapla, Lucia Benešová, Jozef Čurlej, Silvia Jakabová, Adam Partika,*	179

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Stanislava Zubrická	
Bezpečnosť a kvalita mäsa a mäsových výrobkov	184
Vplyv humínových látok na kvalitu stehennej svaloviny vo výkrme moriek *Alena Hreško Šamudovská, Lukáš Bujňák, Andrej Marcin, Tomáš Mihok, Michaela Harčárová, Pavel Naď*	185
Zvýšenie mikrobiálnej stability a údržnosti mäsa pomocou antioxidantov z rastlín **alebo rastlinných vedľajších materiálov** *Kateřina Janoušková, Dana Jirotková, Pavel Smetana*	190
Vplyv fermentovaných krmív na kvalita**tívne parametre mäsa brojlerových kurčiat** *Andrej Makiš, Boris Semjon, Martin Bartkovský, Anna Reitznerová, Lýdia Mesarčová, Slavomír Marcinčák*	196
Nutričné a minerálne parametre stehennej svaloviny moriek po perorálnom príjme probiotika *Andrej Marcin, Tomáš Mihok, Michaela Harčárová, Alena Hreško Šamudovská, Lukáš Bujňák, Jana Koščová, Pavel Naď*	201
Vplyv probiotík a humínovych látok na základné chemické zloženie a minerálny profil prsnej svaloviny u moriek *Slavomír Marcinčák, Boris Semjon, Martin Bartkovský, Dana Marcinčáková, Tatiana Klempová, Milan Čertík, Jozef Nagy*	208
Vplyv probiotík a humínovych látok na chemické zloženie a minerálny profil prsnej svaloviny u moriek *Lýdia Mesarčová, Anna Reitznerová, Andrej Makiš, Pavel Naď, Boris Semjon, Lukáš Bujňák, Slavomír Marcinčák*	213
Application of wild (bear) garlic (*Allium ursinum* L.) for production of mutton (lamb) sausage *Władysław Migdał, Maria Walczycka, Jozef Golian, Slavomír Marcinčák, Jakub Szlagor*	217
Vplyv prídavku probiotík a humínových látok vo výžive broj**lerových kurčiat na** kvalitu stehennej svaloviny *Anna Reitznerová, Lýdia Mesarčová, Dagmar Mudroňová, Jana Koščová, Andrej Makiš, Jozef Nagy, Slavomír Marcinčák*	220
Bezpečnosť a kvalita potravín rastlinného pôvodu	225
Hodnotenie obsahu polyfenolov a antokyánov v slovenských ružových vínach od**rody Cabernet sauvignon vo vzťahu k antiradikálovej aktivite** *Daniel Bajčan, Marek Šnirc, Július Árvay, Ivana Tirdiľová, Pavol Trebichalský, Mária Timoracká*	226
Vplyv prídavku *Opuntia ficus-indica* na termomechanické vlastnosti **pšeničného** cesta *Tatiana Holkovičová, Zlatica Kohajdová, Michaela Lauková, Lucia Minarovičová, Daniela Oslacká*	230
Možnosti využitia alternatívnych surovín na zvýšenie nutričnej hodnoty cereálnych produktov *Tatiana Holkovičová, Zlatica Kohajdová, Michaela Lauková, Lucia Minarovičová*	236
Štúdium obsahu antioxidantov v čučoriedkach *Eva Hybenová, Anna Mikulajová*	242
Polyfenoly v brusniciach *Eva Hybenová, Anna Mikulajová*	248
Study of physical properties of commercial cocoa powders by acoustic and mechanical evaluation *Lubomír Lapčík, Barbora Lapčíková, Shweta Gautam*	254
Vplyv fermentácie pšeničných otrúb na kvalitatívne vlastnosti muffinov	259

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Michaela Lauková, Lucia Minarovičová, Zlatica Kohajdová	
Vplyv prídavku sušených zemiakových vločiek na kvalitu chleba z rôznych druhov múk *Ján Mareček, Bernadeta Bahorecová, Andrea Mendelová, Miriam Solgajová*	264
Hodnotenie obsahu a stability celkových polyfenolov a antokyánov v ovocných džemoch z menej známych druhov ovocia *Andrea Mendelová, Ľubomír Mendel, Miriam Solgajová, Ján Mareček*	272
Využitie tekutých sladidiel ako náhrady sacharózy v sušienkach *Lucia Minarovičová, Michaela Lauková, Zlatica Kohajdová, Katarína Haukszová, Tatiana Holkovičová*	279
Porovnanie kvality vybraných vín z Malokarpatskej a Východoslovenskej vinohradníckej oblasti *Boris Semjon, Martin Bartkovský, Slavomír Marcinčák*	287
Analytické a antioxidační parametry vodnice *Soňa Škrovánková, Jiří Mlček, Gabriela Velková*	293

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Mikrobiologická a mykologická bezpečnosť a kvalita potravín

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

POTENCIÁL TVORBY BIOFILMU U BAKTÉRIÍ *STAPHYLOCOCCUS SPP.* IZOLOVANÝCH Z MASTITÍDNEHO MLIEKA U DOJNÍC POTENCIAL ABILITY TO PRODUCTION OF BIOFILM IN *STAPHYLOCOCCUS SPP.* ISOLATED FROM MASTITIS MILK IN DAIRY COWS

Farkašová Zuzana, Lacková Zuzana, Zigo František, Vargová Mária, Arvaiová Juliana

Abstract: We tested 68 strains of *Staphylococci*, (*S. aureus* – 29, *S. epidermidis* – 34, *S. haemolyticus* – 23, *S. warneri* – 16, and *S. chromogenes* – 6). They have been isolated from various types of mastitis. *Staphylococci* in milk samples were isolated from acute form (27,9 %), subacute form (10,3 %), subclinical form (25 %) and latent form (36,8 %). The most common form of mastitis in dairy cows was latent mastitis. Formation of biofilm was evaluated by results of two methods: quantitative growth on CongoRed agar (CRA) and semiquantitative growth on microtiter plates (MTP). At the significance level of α = 0.05, the dependence of biofilm formation in bacteria positive using both phenotypic methods in *S. aureus, S. epidermidis* and *S. haemolyticus* was confirmed. The positivity in *S. warneri* and *S. chromogenes* determined by both methods was random. Based on our results and found dependence in comparison both methods of biofilm detection, we can recommend the simultaneous use of these methods in ideal conditions. It should be supplemented by determining the presence of genes encoding biofilm production.
Keywords production of biofil***:***, staphylococci m, cow´s mastitis, milk

ÚVOD

Tvorba biofilmu ako významný faktor virulencie pomáha baktériám vyhnúť sa imunitnej obrane hostiteľa a antimikrobiálnej terapii. V chovoch prežúvavcov má biofilm vplyv na intenzitu a pretrvávanie mastitíd spôsobených v prevažnej miere baktériami z rodu *Staphylococcus* spp., ktoré sú najčastejšou príčinou mastitíd u prežúvavcov (Vasiľ et al., 2017).

Vzhľadom na úlohu biofilmu pri perzistencii a kolonizácii stafylokokov v epiteli mliečnej žľazy, zníženie imunologickej odpovede organizmu, rezistencie na antibiotickú liečbu a ťažkosti pri eradikácii patogénov má podrobné preskúmanie a pochopenie mechanizmu tvorby biofilmu zásadný význam pri terapii príp. prevencii zápalov mliečnej žľazy. Je všeobecne známe, že baktérie produkujúce biofilm je ťažké z mliečnej žľazy odstrániť, sú často rezistentné na antibiotickú liečbu, ktorá sa na liečbu mastitíd bežne používa (Farkašová et al., 2020).

Cieľom našej práce bolo stanovenie biofilmu u stafylokokov izolovaných z mlieka mastitídnych dojníc počas jedného roka.

MATERIÁL A METODIKA

Vyšetrované vzorky mlieka sme odobrali v priebehu jedného roka od dojníc na PD Kluknava na východe Slovenska. Odbery sme uskutočnili u dojníc v štvrťročných intervaloch (marec, jún, september december). Celkom bolo vyšetrených 120 kusov dobytka. Mlieko bolo hneď po odbere vyšetrené maštaľným NK testom na detekciu typu mastitídy (akútna, subakútna, subklinická, latentná), a následne bakteriologickou kultiváciou na 5 % krvnom agare a na špeciálnych selektívnych pôdach. Následne boli stafylokokové kmene identifikované pomocou dvoch rôznych identifikačných metód: na základe biochemických enzymatických vlastností baktérií STAPHYtest 24 s identifikačným programom TNW 7.0 (Erba-Lachema, Brno, Česká republika) s presnosťou detekcie viac ako 90,0 % a na základe stanovenia

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

proteínového spektra Maldi-Biotyperom (Bruker, USA), skóre v rozsahu (2,300-3,000) s vysokou pravdepodobnosťou identifikácie jednotlivých druhov. Ako kontrolné kmene na detekciu tvorby biofilmu sa použili *S. epidermidis* ATCC 35984 ako producent biofilmu a *S. epidermidis* ATCC 12228 ako biofilm negatívny kmeň (Vasiľ et al., 2017).

Produkciu biofilmu sme stanovovali dvoma metódami kvantitatívne rastom na CongoRed agare (CRA) a semikvantitatívne rastom na mikrotitračných platničkách modifikovanou MTP metódou (Christensen et al., 1985; Simojoki et al., 2012).

Pri prvej metóde stanovenia boli izolované kmene kultivované 24 hodín pri 37 °C na špecifickej živnej pôde podľa Arciola et al., 2001 a následne vyhodnotené podľa rastu. Čierne, suché kolónie boli považované za pozitívne na produkciu biofilmu. Červené prípadne bordové, lesklé kolónie boli označené ako negatívne. Za dubiózne sme považovali bordové kolónie s čiernym stredom (Vasiľ et al., 2017).

Na základe výsledných hodnôt optickej denzity (OD) jednotlivých vzoriek pri MTP metóde rastu na miktotitračných platničkách, stanovených pri boli kmene vyhodnocované podľa priemeru Moora (2009). Absorbancia (OD) každej jamky bola odčítaná pomocou ELISA readera pri 570 nm. Z negatívnych kontrol boli vypočítané smerodajné odchýlky (SD), trojnásobok smerodajné odchýlky z negatívnych kontrol (ODc) sme porovnávali s priemernou hodnotou výsledkov (OD) jednotlivých vzoriek.

Za negatívne (N) sme považovali kmene, ak mali optickou denzitu pod hodnotou OD. Za stredne pozitívne (M) kmene, ktoré mali optickú denzitu väčšiu ako ODc, ale menšiu než 2 x ODc. Silne pozitívne (S) kmene mali absorbanciu vyššiu než 2xODc.

Štatistická analýza bola uskutočnená použitím Microsoft Excel 2016. Na porovnanie závislosti jednotlivých parametrov bol použitý Chi kvadrátový test (χ^2test) Kábrt (2013).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z celkového počtu 68 mikrobiologicky pozitívnych vzoriek mlieka sme izolovali a identifikovali celkovo 5 kmeňov rodu *Staphylococcus spp. (S. aureus* – 12, *S. epidermidis* – 11, *S. haemolyticus* – 23, *S. warneri* – 11 a *S. chromogenes* – 6). Stafylokoky môžeme rozdeliť na základe schopnosti produkovať enzým koagulázu na koaguláza pozitívne (CoPS) a koaguláza negatívne stafylokoky (CoNS). Do koaguláza pozitívnej skupiny stafylokokov patrí iba *S. aureus* v našom prípade bola frekvencia výskytu 17,6 %. Ostatné izolované kmene sa radia do skupiny koaguláza negatívnych stafylokokov (Tabuľka 1).

Tabuľka 1 Zastúpenie kmeňov rodu Staphylococcus* spp. *v mlieku mastitídnych dojníc

Bakteriálny kmeň	Počet n	Dojnice n	%
S. aureus	29	12	17,6
S. warneri	16	16	23,5
S. epidermidis	34	11	16,2
S. haemolyticus	23	23	33,8
S. chromogenes	6	6	8,9
Spolu	108	68	100

V mnohých krajinách sú CoNS považované za najfrekventovanejších pôvodcov intramamárnych infekcií (IMI) u dojníc (Pyörälä, Taponen, 2009). Aj z nášho experimentu vyplýva, že najčastejšími príčinami jednotlivých foriem mastitíd boli koaguláza negatívne

stafylokoky 82,4 %. Účasť koaguláza pozitívnych patogénov pri rozdielnych formách mastitíd bola omnoho nižšia 17,6 %.

V prípade CoNS došlo nielen k rastúcej prevalencii takýchto infekcií, ale aj k rozširujúcemu sa zoznamu kmeňov, o ktorých sa uvádza, že sa na tomto procese podieľajú. Výsledky štúdií z rôznych krajín a kontinentov odhalili, že viac ako 20 druhov CoNS bolo izolovaných zo vzoriek mlieka mastitídnych kráv, z ktorých najbežnejšie boli *S. chromogenes, S. haemolyticus, S. epidermidis, S. simulans* a *S. xylosus* (Zadoks et al.,, 2011; Lange et al., 2015; Khazandia et al., 2018). Podľa Zigo et al., (2019) najčastejšie izolované CoNS kmene vo vzorkách štvrťových vzoriek mlieka u dojníc boli *S. haemolyticus, S. chromogenes, S. warneri* a *S. xylosus*.

Vasiľ et al., (2016) uvádzajú, že stafylokoky a streptokoky sú hlavnými etiologickými agensmi pri intramamárnych infekciách u prežúvavcov. *Staphylococcus aureus* spolu s CoNS sú najčastejšie izolovanými baktériami pri subklinických a klinických prípadoch IMI. V našej práci boli CoNS stafylokoky izolované ako pôvodcovia všetkých foriem mastitíd. Zaznamenali sme akútnu formu (27,9 %), subakútnu (10,3 %), subklinickú (25 %) a latentnú formu mastitídy (36,8 %). Najvyššia prevalencia bola zaznamenaná pri latentnej forme mastitíd – až 36,8 % (Tabuľka 2).

Tabuľka 2 Podiel foriem mastitíd u dojníc

Bakteriálny kmeň	Počet		Akútna		Subakútna		Subklinická		Latentná	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
S. aureus	12	17,6	3	4,4	2	2,9	3	4,4	4	5,9
S. warneri	16	23,5	5	7,4	2	2,9	7	10,3	2	2,9
S. epidermidis	11	16,2	2	2,9	1	1,5	2	2,9	6	8,8
S. haemolyticus	23	33,8	6	8,8	2	2,9	5	7,4	10	14,7
S. chromogenes	6	8,9	3	4,4	0	0	0	0	3	4,4
Spolu	68	100	19	27,9	7	10,3	17	25	25	36,8

V práci sme porovnávali a sledovali produkciu biofilmu prostredníctvom kultivácie baktérií na CRA a pomocou modifikovanej metódy na MTP podľa Moora et al., 2009. Obe tieto metódy sme vyhodnotili a skonštatovali sme, že z celkových 68 (100 %) mikrobiologicky pozitívnych vzoriek mliečneho sekrétu dojníc bola pozitívna reakcia produkcie biofilmu na CRA v prípade 46 (67,6 %) vzoriek. Metóda MTP podľa Moora et al., 2009 vykazovala pozitivitu len v 19 (27,9 %) prípadoch. Zhoda týchto dvoch metód v počte pozitívnych prípadov prebehla v 12 (17,6 %) vzorkách (Tabuľka 3).

Tabuľka 3 Porovnanie produkcie biofilmu u prežúvavcov

Bakteriálny kmeň	Počet	CRA			MTP			χ^2
	n	PB	%	NB	PB	%	NB	
S. aureus	12	12	100	0	1	8,33	11	20,308*
S. warneri	16	5	31,25	11	5	31,25	11	0
S. epidermidis	11	11	100	0	3	27,3	8	12,571*
S. haemolyticus	23	17	73,9	5	10	43,48	13	5,351*
S. chromogenes	6	1	16,67	5	0	0	6	1,091
Spolu	68	46	67,6	22	19	27,9	49	21,483*

Legenda : CRA - CongoRed agar, MTP - Mikrotitračná platnička, PB - Pozitívny biofilm, NB - Negatívny biofilm, n - počet kmeňov; *Chi kvadrátový test (na hladine významnosti $\alpha = 0,05$ (5%) kritická hodnota $\chi^2 = 3,841$), * – závislosť individuálnych znakov na hladine významnosti $\alpha = 0,05$ bola potvrdená ($G < \chi 2$),

Podľa Farkašovej et al., (2020) z vyšetrených 67 vzoriek mlieka bola pozitivita pomocou metódy rastu na CRA zistená v 45 prípadoch (67,2 %). Všetky izolované kmene *S. aureus* a *S. epidermidis* boli pozitívne na produkciu biofilmu. Pomocou metódy MTP bola pozitivita zistená 26,9 % prípadov, jeden kmeň *S. epidermidis* izolovaný zo subklinickej mastitídy bol vyhodnotený ako silne pozitívny. Pozitivitu pomocou oboch metód zistili v 17,91 % izolovaných vzoriek. V uvedenej štúdii však nebola potvrdená závislosť medzi oboma použitými metódami.

V našom experimente sme potvrdili závislosť medzi dvoma použitými metódami pri porovnaní všetkých vyšetrovaných vzoriek a zároveň vo väčšine izolovaných kmeňov individuálne.

Nasr et al., (2012) porovnávajúc výsledky oboch metód a to CRA a MTP, uvádzajú, že aj napriek 46 % pozitivite celkových stafylokokálnych izolátov stanovenej oboma metódami, výsledky korelovali len u 10 (20 %) izolátov. Nízku zhodu medzi oboma metódami preukázal aj Marthur et al., (2006). Notcovich et al., (2018) uvádzajú, že MTP bola častejšie pozitívna pri identifikácii izolátov tvoriacich biofilm ako metóda CRA. V našom experimente metódou CRA detekcie biofilmu boli zistené čierne pozitívne kolónie v 46 prípadoch (67,6 %).

Proces bakteriálnej väzby je charakterizovaný radom premenných vrátane druhov baktérií, povrchového stavu podporovateľa, environmentálnych faktorov, rastového média a základných génových produktov (Seo et al., 2008). Na monitorovanie tvorby biofilmu baktérií sa vyžaduje, aby sa tieto rôzne faktory zvážili spoločne. Analýza génov MSCRAMM spolu s použitím fenotypových metód stanovenia produkcie biofilmu môže byť nevyhnutným krokom pre bakteriálnu kontrolu v životnom prostredí (Vasiľ et al., 2017).

ZÁVER

Pri porovnaní dvoch metód stanovenia tvorby biofilmu u baktérií *Staphylococcus spp.* bola na hladine významnosti $\alpha = 0{,}05$ potvrdená závislosť tvorby biofilmu u baktérií pozitívnych pri použití oboch fenotypových metód**.** Pri porovnaní jednotlivých kmeňov stafylokokov a ich pozitivity potvrdenej oboma metódami bola potvrdená závislosť tvorby biofilmu u *S. aureus, S. epidermidis* a *S. haemolyticus*. Pozitivita u *S. warneri* a *S. chromogenes* pri stanovení oboma metódami bola náhodná**.** Čo sa týka porovnania oboch metód stanovenia tvorby biofilmu u jednotlivých izolovaných kmeňov, pozitívny výsledok oboma metódami súčasne bol v našom prípade potvrdený len v 1 prípade u *S. aureus* (8,33 %), v 3 prípadoch u *S. epidermidis* (27,3 %), v 6 prípadoch u *S. haemolyticus* (26,1 %) a u 2 izolátov *S. warneri* (12,5 %).

Na základe našich výsledkov a zistenej závislosti pri porovnaní dvoch metód detekcie produkcie biofilmu môžeme odporučiť súčasné použitie oboch metód (CRA a MTP) v ideálnych podmienkach doplnené o stanovenie prítomnosti génov kódujúcich produkciu biofilmu.

LITERATÚRA

Farkašová, Z., Zigo, F., Lacková, Z., Vasiľ, M. 2020. Detection of biofilm production in staphylococci isolated from mastitis milk in dairy cows. In: Situation in ecologically loaded regions of Slovakia and central Europe. In The 29th Scientific Symposium with International Participation: [elektronický zdroj]. - 1. vyd. - Košice : Slovenská banícka spoločnosť ZSVTS, 2020. - ISBN 978-80-89883-11-0. - CD-ROM, S. 15-19.

Christensen, G. D., Simpson, W. A., Younger, J. J., Baddour, L. M., Barrett, F. F., Melton, D. M., Beachey E. H. 1985. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of *staphylococci* to medical devices. In: *J Clin Microbiol* [online] , vol. 22, Issue 6: 996. Dostupné na: doi: 10.1128/jcm.22.6.996-1006.1985

Kábrt. M. 2013. Aplikovaná statistika: Test chí-kvadrát nezávislosti v kontingenční tabulce. [online]. [cit. 2023-02-01]. Dostupné z: http://www.milankabrt.cz/testNezavislosti/

Khazandia, M., Al-Bar Al-Farhaa A., Coombs W. G. et al. 2018. Genomic characterization of coagulase-negative *staphylococci* including methicillin-resistant *Staphylococcus* sciurid causing bovine mastitis. In *Vet. Microbiology*, [online], vol. 219, p. 17-22 Dostupné na: doi: 10.1016/j.vetmic.2018.04.004.

Lange, C. C., Brito, M. A., Reis, D. R., Machado, M. A. et al. 2015. Species-level identification of *staphylococci* isolated from bovine mastitis in Brazil using partial 16S rRNA sequencing. In. *Vet. Microb*., [online], vol. 176, no. 3-4, p. 382-388. Dostupné na: doi: 10.1016/j.vetmic.2015.01.024.

Mathur, T., Singhal, S., Khan, S., Upadhyay, D. J., Fatma, T., Ratten, A. 2006. Detection of biofilm formation among the clinical isolates of staphylococci: an evaluation of three different screening methods. In *Indian J Med Microbiol* [online], vol 24: 25-29. Dostupné na: doi: 10.4103/0255-0857.19890.

Moore, G. E. 2009 Biofilm Production by *Streptococcus uberis* associated with intramammary Infections. University of Tennessee Honors Thesis Projects. [online]. Dostupné na: http://trace.tennessee.edu/utk_chanhonoproj/1299

Nasr, R. A., Abushady, H. M., Hussein, H. S. 2012. Biofilm formation and presence of *icaAD* gene in clinical isolates of *staphylococci*. In: *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, [online], vol. 13: 269–274. Dostupné na: DOI: 10.1016/j.ejmhg.2012.04.007

Notcovich, S., Denicolo, G. Flint, S. H., Williamson, N. B., Gedye, K., Grinberg, A., Lopez - Villalobos, N. 2018. Biofilm-Forming Potential of Staphylococcus aureus Isolated from Bovine Mastitis in New Zealand, In *Vet Sci.* [online], vol. 5, Issue 1: 8. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/vetsci5010008

Pyörälä, S., Taponen, S. 2009. Coagulase-negative staphylococci - Emerging mastitis pathogens. In *Veterinary Microbiology*, [online], vol. 134, no. 2, p. 3-8 [cit. 2022-12-12]. Dostupné na: DOI: 10.1016/j.vetmic.2008.09.015

Seo, Y.S. et al. 2008. Biofilm-forming associated genotypic and phenotypic characteristics of *Staphylococcus spp.* isolated from animals and air. In *Research in Veterinary Science*, [online], 85, 433–438 [cit. 2023-02-1]. Dostupné na: DOI: 10.1016/j.rvsc.2008.01.005

Simojoki, H., Hyvönen, P., Plumed Ferrer, C., Taponen, S., Pyörälä, S. 2012. Is the biofilm formation and slime producing ability of coagulase negative *staphylococci* associated with the persistence and severity of intramammary infection*?* In: *Vet Microbiol*, [online], vol. 158, issue 3-4: 344-352. Dostupné na: doi: 10.1016/j.vetmic.2012.02.031.

Vasiľ, M., Farkašová, Z., Elečko, J., Illek, J., Zigo, F. 2017. Comparison of biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from sheep milk, using three diagnostic methods. In *Polish Journal of Veterinary Sciences*, [online], vol. 20, 4, 799–805. Dostupné na: DOI 10.1515/pjvs-2017-0100

Zadoks, R. N., Middleton, J. R., McDougall, S., Katholm, J., Schukken, Y. H. 2011. Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. In *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, [online], vol. 16, p. 57-72. Dostupné na: doi: 10.1007/s10911-011-9236-y.

Zigo, F., Elečko, J., Vasiľ, M., Farkašová, Z., Takáč, L., Takáčová, J., Zigová, M., Bujok, J., Pecka-Kiełb, E. 2019. Assessment of lipid peroxidation in dairy cows with subclinical and clinical mastitis, In *Slovak Journal of Food Sciences*, [online]., vol. 3, 1: 244 – 250. Dostupné na: DOI: https://doi.org/10.5219/1052

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

Kontaktná adresa: Zuzana Farkašová, MVDr., PhD. Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, email: zuzana.farkasova@uvlf.sk

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

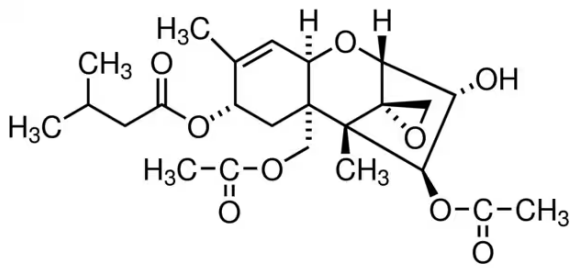
VÝSKYT T-2 TOXÍNU V KŔMNYCH ZMESIACH PRE HYDINU
OCCURRENCE OF T-2 TOXIN IN FEED MIXTURES FOR POULTRY

Michaela Harčárová, Pavel Naď, Andrej Marcin, Alena Hreško Šamudovská, Lukáš Bujňák, Tomáš Mihok

Abstract: Contamination of feed and food with mycotoxins is a worldwide problem. T-2 toxin is one of the most frequently occurring mycotoxins in food and feed. In humans and animals, it is the cause of health disorders and mycotoxicosis. One important part of preventive measures is monitoring the content of T-2 toxin in food and feed. This work was focused at determining the concentrations of T-2 toxin in complete feed mixtures for broilers and turkeys by ELISA assay. The occurrence of T-2 toxin was confirmed in 93.8% of feed mixtures for broilers at an average concentration of 36.625 ppb and all tested turkey feed samples were contaminated with T-2 toxin (100%) with an average value of 25.899 ppb. The concentrations of T-2 toxin in the poultry feed samples we examined did not exceed the maximum values determined by the European Union.
Keywords: feed mixtures, ELISA, mycotoxins, poultry, trichothecenes

ÚVOD

T-2 toxín (Obr. 1) patrí do veľkej skupiny sekundárnych metabolitov mikroskopických vláknitých húb s rovnakou základnou chemickou štruktúrou, ktoré sa nazývajú trichotecénové mykotoxíny. V skupine trichotecénov existuje takmer 190 príbuzných chemických zlúčenín, pomenovaných podľa prvého toxínu trichotecínu (Sokolović et al., 2008). Trichotecín bol izolovaný v roku 1949 z huby *Trichothecium roseum* (Zhang et al., 2010). Základná štruktúra trichotecénov je tricyklický seskviterpénový kruh s dvojitou väzbou medzi uhlíkom C-9, 10 a epoxidový kruh v polohe uhlíka C-12, 13 (Cardoza et al., 2011). Trichotecény sa delia na štyri typy (A-D), v závislosti od prítomnosti (makrocyklické trichotecény) alebo neprítomnosti (nemakrocyklické trichotecény) makrocyklického kruhu medzi C-4 a C-15 a ďalej podľa počtu pripojených hydroxylových a acetoxyskupín na atóm uhlíka (Proctor et al., 2018).



Obrázok 1 Štrukturálny vzorec T-2 toxínu
Zdroj: www.sigmaaldrich.com

T-2 toxín bol prvýkrát izolovaný z mikromycéty *Fusarium tricinctum* (*Fusarium chlamydosporum*) (Polak-Sliwinska et al., 2021). Patrí k nemakrocyklickým trichotecénom typu A. Produkujú ho predovšetkým druhy *F. acuminatum, F. nivale, F. oxysporum, Neocosmospora solani, F. sporotrichioides* a *F. solani*, ale aj huby patriace do iných rodov (*Trichoderma* sp., *Myrothecium* sp.) (Chen et al., 2020). Toxín T-2 sa vyskytuje celosvetovo, ale jeho prítomnosť prevláda najmä v tropických a subtropických oblastiach. Vyššie teploty

a relatívna vlhkosť podporujú infekciu rastlín mikroskopickými hubami *Fusarium* spp. Nesprávne podmienky uskladnenia a manipulácie s obilím s vysokým obsahom vlhkosti môžu byť príčinou výskytu T-2 toxínu (Sokolović et al., 2008). Najdôležitejšími faktormi, ktoré ovplyvňujú produkciu T-2 toxínu sú klimatické podmienky, porušenie celistvosti zrna a obsah vlhkosti (13 % až 22 %). T-2 toxín je produkovaný v širokom rozsahu teplôt (0 °C až 32 °C), s maximálnou produkciou pri teplotách pod 15 °C (Homdork et al., 2000). *F. sporotrichioides* má nízku optimálnu teplotu (6 °C až 12 °C) na produkciu T-2 toxínu a tento mykotoxín môže produkovať počas prezimovania pod snehovou pokrývkou na poli a/alebo počas skladovania (Nazari et al., 2014). Spomedzi všetkých krmovín sú týmto mykotoxínom najčastejšie kontaminované obilniny a to najmä kukurica, pšenica, jačmeň, ovos a raž (Gholampour Azizi et al., 2014).

T-2 toxín je silným inhibítorom syntézy proteínov na úrovni ribozomálnej RNA, narúša syntézu DNA a RNA a vyvoláva imunosupresiu (Adhikari et al., 2017). Po expozícii alebo požití sa T-2 toxín okamžite absorbuje z tráviaceho traktu alebo cez membrány dýchacích sliznic a transportuje sa do pečene ako primárneho orgánu zodpovedného za metabolizmus toxínov (Janik et al., 2021). Je veľmi toxický pre hydinu, u moriek a kurčiat spôsobuje nekrózy zobáka, ústnej dutiny, jazyka a tvrdého podnebia. Intoxikácia hydiny T-2 toxínom môže viesť k zníženiu prírastku hmotnosti, slabému opereniu, zhoršeniu motorických funkcií a zvýšenej citlivosti organizmu na *E. coli* a *Salmonella* spp. (Pande et al., 2006; Devreese et al., 2013, Indresh a Umakantha, 2013).

Obilniny, ktoré bývajú najčastejšie kontaminované T-2 toxínom predstavujú hlavnú zložku kompletných kŕmnych zmesí pre hydinu, preto bola táto práca zameraná na stanovenie koncentrácií T-2 toxínu v kompletných kŕmnych zmesiach pre brojlery a morky.

MATERIÁL A METODIKA

Celkovo bolo vyšetrených 20 vzoriek kŕmnych zmesí pre hydinu (16 vzoriek tvorili kŕmne zmesi pre brojlery a 4 vzorky predstavovali kŕmne zmesi pre morky). Vzorky boli získané od komerčných predajcov vo forme peletovaných kŕmnych zmesí a boli určené pre jednotlivé vekové kategórie hydiny (Tab. 1).

Tabuľka 1 Počet a typ vzoriek kŕmnych zmesí pre hydinu

Kŕmne zmesi	Počet vzoriek
BR1 (kŕmna zmes na výkrm brojlerov)	4
BR2 (kŕmna zmes pre rast brojlerov)	4
BR3 (finálna kŕmna zmes)	8
Morka Midi (diéta od 9. – 12. týždňa veku)	2
Morka Maxi (diéta od 13. týždňa veku do porážky)	2

Postup prípravy vzoriek na stanovenie T-2 toxínu bol nasledovný: k 5 g rozomletej vzorky bolo pridaných 25 ml 70 % metanolu. Vzorky boli pretrepané počas 3 minút na trepačke (Orbital Shaker - Biosan) a následne prefiltrované cez filtračný papier Whatman 1 (Cytiva, Kent, UK). Filtráty (s minimálnym objemom 5 ml) po zriedení s destilovanou vodou v pomere 1:1 boli pripravené na kvantitatívne stanovenie ELISA analýzou, ktorá predstavuje priamu kompetitívnu enzýmovú imunoanalýzu. Princípom tejto metódy je kompetícia neznačeného T-2 toxínu zo vzoriek a štandardov (štandardy s koncentráciami T-2 toxínu 0, 25, 50, 100 a 250 ppb) s enzýmom značeným T-2 toxínom (konjugát) o väzobné miesta protilátok. Po 5- násobnom premývaní vzoriek bol pridaný substrát, ktorý reaguje s konjugátom za vzniku modrého zafarbenia. Čím intenzívnejšia je farebná reakcia, tým nižšiu koncentráciu T-2 toxínu

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

vzorka obsahuje. Postup bol vykonaný podľa protokolu výrobcu Veratox pre T-2/HT-2 kvantitatívny test (Neogen Corporation, Lansing, USA). Koncentrácie T-2 (ppb; $\mu g.kg^{-1}$) boli stanovené pri vlnovej dĺžke 650 nm pomocou fotometra Dynaread (Dynex Technologies, Inc., Chantilly, USA).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tabuľke číslo 2 sú uvedené výsledky kvantitatívneho stanovenia T-2 toxínu vo vzorkách kŕmnych zmesí pre brojlerov a morky. Výskyt T-2 toxínu bol potvrdený v 93,8 % kŕmnych zmesí pre brojlery v priemernej koncentrácii 36,625 ppb a vo všetkých vzorkách kŕmnych zmesí pre morky (100 %) s priemernou hodnotou 25,899 ppb.

Tabuľka 2 Koncentrácie T-2 toxínu (ppb) vo vzorkách kŕmnych zmesí pre hydinu

Parametre	Kŕmne zmesi	
	pre brojlerov	pre morky
n	16	4
n* (%)	15/93,8	4/100
minimum	nd	9,115
maximum	42,285	45,088
x	36,625	25,899
median	17,419	24,696

n – celkový počet vzoriek, n* – počet a percento pozitívnych vzoriek, minimum – minimálna koncentrácia T-2 toxínu (ppb), maximum – maximálna koncentrácia T-2 toxínu (ppb), x – priemerná hodnota koncentrácií T-2 toxínu (ppb), nd – nebol detegovaný

Kontaminácia krmovín a krmív mykotoxínmi je globálnym problémom poľnohospodárstva (Magnoli et al., 2002). Doteraz bolo ako mykotoxíny identifikovaných viac ako 500 zlúčenín (Kolawole et al., 2020). Medzi najčastejšie študované mykotoxíny v rámci zdravia ľudí a zvierat patria aflatoxíny, zearalenón, trichotecény, patulín, ochratoxíny a fumonizíny (Haque et al., 2020). Z hľadiska kontaminácie krmiva majú najväčší význam trichotecény skupiny A a B. Trichotecén typu A T-2 toxín sa dominantne nachádza v obilninách (pšenica, kukurica), ktoré sú základnou súčasťou kŕmnych zmesí pre hydinu. V našej práci bol potvrdený 93,8 % výskyt T-2 toxínu v kŕmnych zmesiach pre brojlery. T-2 toxín bol prítomný vo všetkých nami testovaných vzorky kŕmnych zmesí pre morky boli kontaminované T-2 toxínom. V štúdii Labudu et al., (2005), bol najčastejšie zisteným mykotoxínom vo vzorkách krmív zo Slovenska T-2 toxín, ktorý bol prítomný v 90 % vzoriek v relatívne nízkych koncentráciách od 1 do 130 $\mu g.kg^{-1}$ (priemerná hodnota 13 $\mu g.kg^{-1}$). Podobné koncentrácie T-2 toxínu v rozpätí od 11,6 do 21,30 $\mu g.kg^{-1}$ boli zistené vo vzorkách krmív pre hydinu pochádzajúcich z Turecka (Oruç et al., 2007). Greco et al., (2014) potvrdili výskyt T-2 toxínu v 38 vzorkách z celkového počtu 49 (78 %) vyšetrených vzoriek z Buenos Aires. Naopak, v Poľsku nebola zistená prítomnosť toxínu T-2 v žiadnej zo 45 vyšetrených vzoriek kŕmnych zmesí pre hydinu (Cegielska-Radziejewska et al., 2013). V Európskej únii (smernica ES 2002/32/ES a odporúčania ES 2006/576/ES a 2013/165/EÚ) je maximálny povolený obsah T- 2 toxínu v krmivách a v kŕmnych zmesiach 250 $\mu g.kg^{-1}$ (Stoev, 2015). Koncentrácie T-2 toxínu v nami vyšetrených vzorkách krmiva pre hydinu neprekročili maximálne hodnoty stanovené vo vyššie uvedených predpisoch a vykazovali príliš nízke koncentrácie na to, aby spôsobili kŕmeným zvieratám vážne zdravotné problémy.

ZÁVER

Zaznamenané výsledky naznačujú, že úroveň mykotoxickej kontaminácie v krmivách pre brojlerové kurčatá a morky vyrábaných v SR sú v rámci požiadaviek záväzných noriem. Prítomnosti mykotoxínov v krmivách nie je možné úplne zabrániť. V rámci preventívnych opatrení je veľmi dôležitý pravidelný monitoring výskytu sekundárnych metabolitov mikroskopických vláknitých húb. To znamená kontrolu a testovanie od počiatočného zberu zŕn až po hotový výrobok. Monitoring mykotoxínov je základným prvkom efektívneho manažmentu mykotoxínov a ich negatívnych dopadov.

LITERATÚRA

Adhikari, M., Negi, B., Kaushik, N., Adhikari, A., Al-Khedhairy, A. A., Kaushik, N. K., Choi, E. H. 2017. T-2 mycotoxin: toxicological effects and decontamination strategies. In *Oncotarget* [online], vol. 16, no. 8, pp. 33933-33952 [cit. 2023-02-01]. ISSN 1949-2553. Dostupné na: doi: 10.18632/oncotarget.15422.

Cardoza, R. E., Malmierca, M. G., Hermosa, M. R., Alexander, N. J., McCormick, S. P., Proctor, R. H., Tijerino, A. M., Rumbero, A., Monte, E., Gutiérrez, S. 2011. Identification of Loci and Functional Characterization of Trichothecene Biosynthesis Genes in Filamentous Fungi of the Genus Trichoderma. In *Applied and Environmental Microbiology* [online], vol. 77, pp. 4867-4877 [cit. 2023-01-30]. ISSN 1098-5336. Dostupné na: doi: 10.1128/AEM.00595-11.

Cegielska-Radziejewska, R., Stuper, K., Szablewski, T. 2013. Microflora and mycotoxin contamination in poultry feed mixtures from western Poland. In *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* [online], vol. 20, no. 1, pp. 30-35 [cit. 2023-02-02]. ISSN 1898-2263. Dostupné na: https://www.aaem.pl/Microflora-and-mycotoxin-contamination-in-poultry-feed-mixtures-from-western-Poland,71885,0,2.html.

Devreese, M., De Backer, P., Croubels, S. 2013. Different methods to counteract mycotoxin production and its impact on animal health. In *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* [online], vol. 82, pp. 181-190 [cit. 2023-02-02]. ISSN 0303-9021. Dostupné na: https://www.vdt.ugent.be/sites/default/files/art82402.pdf.

EC Directives 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council on undesirable substances in animal feed.

European Commission (EC). Commission Recommendation 576/2006/EC of 17 August 2006 on the presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T-2 and HT-2 and fumonisins in products intended for animal feeding.

EC Recommendations 2013/165/EU on the presence of T-2 and HT-2 toxin in cereals and cereal products.

Gholampour Azizi, I., Azarmi, M., Danesh Pouya, N., Rouhi, S. 2014. T-2 toxin Analysis in Poultry and Cattle Feedstuff. In *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products* [online], vol. 9, pp 1-5 [cit. 2023-02-01]. ISSN 2228-7876. Dostupné: doi: 10.17795/jjnpp-13734.

Greco, M. V., Franchi, M. L., Golba, S. L. R., Pardo, A. G., Pose, G. N. 2014. Mycotoxins and Mycotoxigenic Fungi in Poultry Feed for Food-Producing Animals. In *The Scientific World Journal* [online], pp. 1-9. [2023-02-02] ISSN 1537-744X. Dostupné na: doi: 10.1155/2014/968215.

Haque, M. A., Wang, Y., Shen, Z., Li, X., Saleemi, M. K., He, C. 2020. Mycotoxin contamination and control strategy in human, domestic animal and poultry: A review. In *Microbial Pathogenesis* [online], vol. 142, 104095 [cit. 2023-01-31]. ISSN 1096-1208. Dostupné na: doi: 10.1016/j.micpath.2020.104095.

Homdork, S., Fehrmann, H., Beck, R. 2000. Influence of different storage conditions on the mycotoxin production and quality of *Fusarium*-infected wheat grain. In *Journal of Phytopathology* [online], vol. 148, pp 7-15 [cit. 2023-01-30]. ISSN 0931-1785. Dostupné na: https://doi.org/10.1046/j.1439-0434.2000.00461.x.

Chen, P., Xiang, B., Shi, H., Yu, P., Song, Y., Li, S. 2020. Recent advances on type A trichothecenes in food and feed: Analysis, prevalence, toxicity, and decontamination techniques. In *Food Control* [online], vol. 118, 107371 [cit. 2023-02-02]. ISSN 0956-7135. Dostupné na: doi:10.1016/j.foodcont.2020.107371.

Indresh, H. C., Umakantha, B. 2013. Effects of ochratoxin and T-2 toxin combination on performance, biochemical and immune status of commercial broilers. In *Veterinary World* [online], vol. 6, no. 11, pp. 945–949 [cit. 2023-02-02]. ISSN 2231-0916. Dostupné na: doi: 10.14202/vetworld.2013.945-949.

Janik, E., Niemcewicz, M., Podogrocki, M., Ceremuga, M., Stela, M., Bijak, M. 2021. T-2 Toxin—The Most Toxic Trichothecene Mycotoxin: Metabolism, Toxicity, and Decontamination Strategies. In *Molecules* [online], vol. 26 no. 22, 6868 [cit. 2023-02-07]. ISSN 1420-3049. Dostupné na: doi: 10.3390/molecules26226868.

Kolawole, O., Graham, A., Donaldson, C., Owens, B., Abia, W. A., Meneely, J., Alcorn, M. J., Connolly, L., Elliott, C. T. 2020. Low Doses of Mycotoxin Mixtures below EU Regulatory Limits: 10.3390 Can Negatively Affect the Performance of Broiler Chickens: A Longitudinal Study. In *Toxins (Basel)* [online], vol. 12, no. 7, p. 433 [cit. 2023-01-31]. ISSN 2072-6651. Dostupné na: doi/toxins12070433.

Labuda, R., Parich, A., Berthiller, F., Tančinová, D. 2005. Incidence of trichothecenes and zearalenone in poultry feed mixtures from Slovakia. In *International Journal of Food Microbiology* [online], vol. 105, no. 1, pp. 19-25 [cit. 2023-01-30]. ISSN 1879-3460. Dostupné na: doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.005.
Magnoli, C. E., Chiacchiera, S. M., Miazzo, R. 2002. The mycoflora and toxicity of feedstuffs from a production plantin Cordoba, Argentina. In *Mycotoxin Research* [online], vol. 18, no. 1, pp. 7-22 [cit. 2023-01-31]. ISSN 1867-1632. Dostupné na: doi: 10.1007/BF02946135.
Nazari, L., Pattori, E., Terzi, V., Morcia, C., Rossi, V. 2013. Influence of temperature on infection, growth, and mycotoxin production by *Fusarium langsethiae* and *F. sporotrichioides* in durum wheat. In *Food Microbiology* [online], vol. 39, pp. 19-26 [cit. 2023-02-02]. ISSN 1095-9998. Dostupné na: doi: 10.1016/j.fm.2013.10.009.
Oruç, H. H., Cengiz, M., Uzunoğlu, İ. 2007. Occurrence of aflatoxin b1 and t-2 toxin in feed and raw ingredients used for animal feeding stuffs. In *Uludag University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine* [online], vol. 26, no. 1-2, pp. 1-5 [cit. 2023-02-07]. Dostupné na: https://docplayer.net/21432320-Occurrence-of-aflatoxin-b-1-and-t-2-toxin-in-feed-and-raw-ingredients-used-for-animal-feeding-stuffs.html.
Pande, V. V., Kurkure, N. V., Bhandarkar, A. G. 2006. Effect of T-2 toxin on growth, performance and haematobiochemical alterations in broilers. In *Indian Journal of Experimental Biology* [online], vol. 44, no. 1, pp. 86-88 [cit. 2023-02-01]. ISSN 0975-1009. Dostupné na: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16430098/.
Polak-Sliwinska, M.; Paszczyk, B. 2021. Trichothecenes in Food and Feed, Relevance to Human and Animal Health and Methods of Detection: A Systematic Review. In *Molecules* [online], vol. 26, 454 [cit. 2023-02-02]. ISSN 1420-3049. Dostupné na: doi: 10.3390/molecules26020454.
Proctor, R. H., McCormick, S. P., Kim, H. S., Cardoza, R. E., Stanley, A. M., Lindo, L., Kelly, A., Brown, D. W., Lee, T., Vaughan, M. M. 2018. Evolution of structural diversity of trichothecenes, a family of toxins produced by plant pathogenic and entomopathogenic fungi. In *PLoS Pathogens* [online], vol. 14, e1006946 [cit. 2023-01-30]. ISSN 1553-7366. Dostupné na: doi: 10.1371/journal.ppat.1006946.
Sokolović, M., Garaj-Vrhovac, V., Simpraga, B. 2008. T-2 toxin: incidence and toxicity in poultry. In *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju* [online], vol. 59, no. 1, pp. 43-52 [cit. 2023-01-31]. ISSN 1848-6312. Dostupné na: doi: 10.2478/10004-1254-59-2008-1843.
Stoev, S. D. 2015. Foodborne mycotoxicoses, risk assessment and underestimated hazard of masked mycotoxins and joint mycotoxin effects or interaction. In *Environmental Toxicology and Pharmacology* [online], vol. 39, no. 2, pp. 794-809 [cit. 2023-01-30]. ISSN 1872-7077. Dostupné na: doi: 10.1016/j.etap.2015.01.022.
Zhang, X., Li, G., Ma, J. 2010. Endophytic fungus *Trichothecium roseum* LZ93 antagonizing pathogenic fungi *in vitro* and its secondary metabolites. In *Journal of Microbiology* [online], vol. 48, pp. 784-790 [cit. 2023-02-01]. ISSN 1976-3794. Dostupné na: doi: 10.1007/s12275-010-0173-z.

Poďakovanie: *Táto práca bola podporená Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky prostredníctvom grantu VEGA č. 1/0402/20.*

Kontaktná adresa: MVDr. Michaela Harčárová, PhD., Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

PREBIOTIKA JAKO SUBSTRÁT PRO RŮST *LISTERIA MONOCYTOGENES*
PREBIOTICS AS A SUBSTRATE FOR THE GROWTH OF *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Tereza Kodešová, Hana Šubrtová Salmonová, Eva Vlková

Abstract: *Listeria monocytogenes* is a pathogenic bacteria that causes serious food-borne illness. Nowadays, the consumption of prebiotics, which are often added to foods and dietary supplements to support human health and prevent the invasion of food-borne pathogens is recommended. Prebiotics are substrates selectively used by host beneficial microorganisms. However, little is known about the effect of prebiotics on the growth of *Listeria monocytogenes*. The aim of this study was to evaluate the growth ability of *Listeria monocytogenes* on prebiotic oligosaccharides as beta(1,3)-D-glucan, inulin, FOS, GOS, lactulose, raffinose, stachyose, human milk oligosaccharides (HMO) and fucosyllactose. Four strains of *Listeria monocytogenes* were used in the testing, which included the 4 most common serotypes found in food. The results showed that Listeria monocytogenes is able to use prebiotic polysaccharides (beta(1,3)-D-glucan and inulin) and some prebiotic oligosaccharides (FOS and GOS) for its growth, which are the most used prebiotics for dietary supplements.
Keywords: *Listeria monocytogenes*, prebiotics, oligosaccharides, carbon source, pathogen growth

ÚVOD

Listeria monocytogenes (LM) je intracelulární patogenní bakterie, která způsobuje závažné alimentární onemocnění zvanou listerióza (Bhunia, 2018). Výskyt tohoto onemocnění není v České republice příliš častý, přibližně se ročně podle Státního zdravotního ústavu nakazí cca 0,5 osoby na 100 000 obyvatel. Průběh onemocnění však může být závažný. U ohrožených skupin obyvatel jako jsou děti, staří lidé, těhotné ženy a lidé se sníženou imunitou hrozí riziko úmrtí či potratu. Infekční dávka pro tuto skupinu obyvatel je pouze 100 až 1 000 buněk LM (Bhunia, 2018). Listeriózu lze léčit různými antibiotiky jako je benzylpenicilin, ampicilin, erythromycin, meropenem a trimethoprim-sulfamethoxazol (EUCAST). Dnes je již známo, že hlavní bariérou vůči invazi LM do těla hostitele jsou komenzální bakterie, které se v trávicím traktu běžně nacházejí. Vzhledem ke snaze omezit užívání antibiotik, je předmětem zájmu snaha o podpoření životaschopnosti a metabolické aktivity komensálních bakterií v trávicím traktu hostitele. Tuto snahu lze podpořit prebiotiky, což jsou nestravitelné části potravy (zejména oligosacharidy), které podporují růst symbiotických bakterií ve střevě. Podávaná prebiotika by měla být využívána pouze zdravý prospěšnými bakteriemi (probiotiky), což by mělo vést ke zvýšení jejich procentuálního zastoupení ve střevech a posílit tím tak imunitní systém hostitele (Gibson et al., 2004; Roberfroid et al., 2010; Tuohy et al., 2005). Bylo ovšem zjištěno, že specifičnost využití prebiotik pro bakterie nemusí být úplná a že na těchto substrátech mohou růst i nežádoucí bakterie (Bunešová et al., 2012). Vzhledem k tomu, že LM dokáže využívat různé substráty pro svůj růst a využití prebiotik u těchto patogenů není zcela prozkoumána, bylo cílem práce zhodnotit růstovou schopnost *Listeria monocytogenes* na vybraných prebioticích.

MATERIÁL A METODIKA

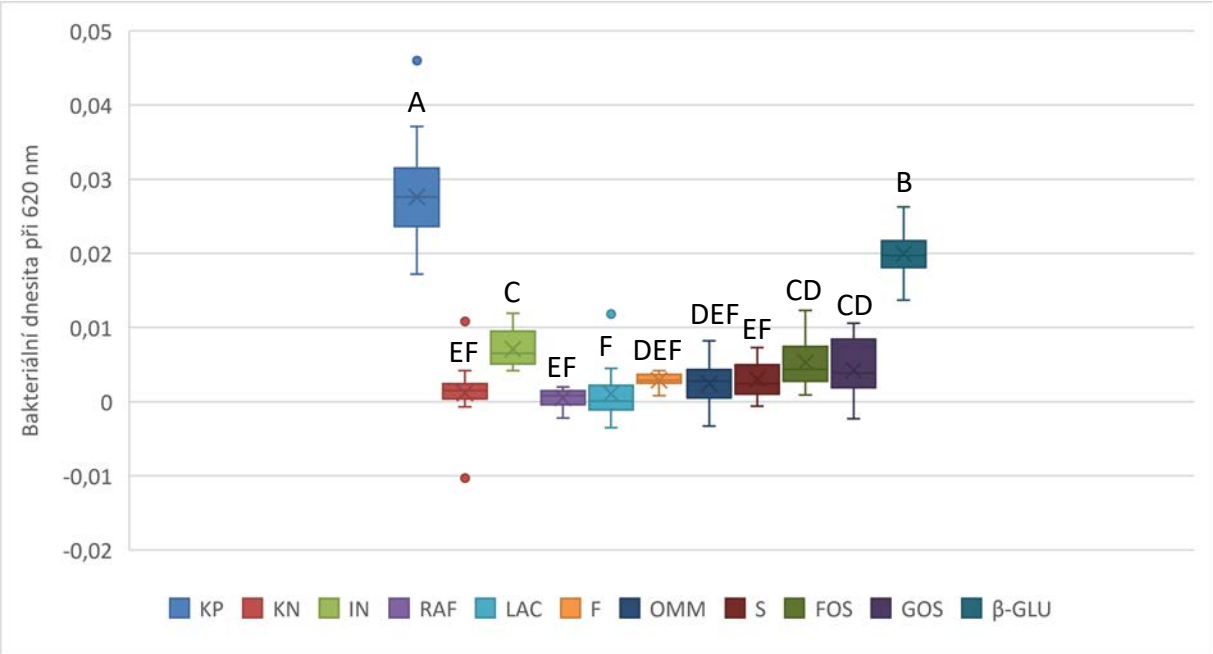
Pro testování růstové schopnosti LM na vybraných sacharidech bylo sestaveno médium obsahujícím 5 $g.l^{-1}$ tryptonu (Oxoid, UK), 9 g/l NaCl a 2 $g.l^{-1}$ sacharidu. Testována byla běžně

používaná prebiotika: beta(1,3)-D-glukan (Brainway Inc. USA), inulin (Frutafit, Hages, SK), fruktooligosacharidy (Nutri-Extract, CZ), galaktooligosacharidy (Nutri-Extract, CZ) , laktulóza (Sigma-Aldich, CZ), rafinóza (Sigma-Aldich, CZ), stachyóza (Sigma-Aldich, CZ) a 2´-fukosyllaktóza (RAW´s, CZ). Dále byly použity oligosacharidy lidského mléka, které byly izolovány z lidského mléka podle Rockova et al. (2011). Jako pozitivní kontrola pro růst LM byla použita glukóza (Sauer et al., 2019). Médium bez zdroje sacharidů bylo použito jako negativní kontrola.

Do kultivačních médií, byly zaočkovány čerstvě narostlé kultury LM, které byly zbaveny původního kultivačního média pomocí centrifugace a propláchnutí buněk ve fyziologickém roztoku. Pro testování byly vybrány 4 izoláty LM, které prezentovali 4 nejvíce rozšířené sérotypy (LM1, sérotyp 4, izolovaný ze salámu; LM11, sérotyp 1/2b, izolovaný ze stěru pracovní plochy potravinářského průmyslu; LM56, sérotyp 1/2a, izolovaný ze syrového hovězího masa a LM79, sérotyp 1/2c, izolovaný z mletého vegetariánského masa). Vzorky byly následně kultivovány při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin za anaerobních podmínek vytvořených podle Hungate (1969). Nárůst LM na jednotlivých sacharidech byly vyhodnoceny spektrofotometricky sledováním změn absorbance při 620 nm za použití Tecan Infinite M200 (Tecan Aurtria GmbH, Rakousko) a měřením pH pomocí lakmusových papírků (Rada et al., 2008). Míra využití jednotlivých prebiotik k růstu LM byla hodnocena v programu Staphgraphics Plus verze 5.1.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Bylo zjištěno, že LM je schopná využívat některé prebiotické sacharidy jako zdroj energie pro svůj růst. Míra využitelnosti byla ovšem na rozdíl od glukózy omezená. Kmeny byly schopné růst v médiích obsahující beta(1,3)-D-glukan, inulin, fruktooligosacharidy a galaktooligosacharidy. U všech zmíněných sacharidů byl zjištěn statisticky významný rozdíl ($P<0,05$) oproti pozitivní i negativní kontrole (obr. 1). Ostatní prebiotika nebyla fermentována a hodnoty růstu kmenů byly statisticky shodné s růstem na negativní kontrole. Výsledky byly potvrzeny i naměřenými hodnoty pH. U skupin s glukózou a beta(1,3)-D-glukanem byl měřen pokles pH z původního pH 6,9 na pH 5,7. Hodnoty pH se snížily ve skupinách s inulinem (pH 6,3) a také fruktooligosacharidy a galaktooligosacharidy (pH 6,6). U ostatních testovaných skupin se hodnoty pH nezměnily.



[ABCDEF]data se statisticky významnými rozdíly (P<0,05)
KP: kontrola pozitivní, KN: kontrola negativní, IN: inulin, RAF: rafinóza, LAC: laktulóza, F: 2´-fukosyllaktóza, OMM: oligosacharidy mateřského mléka, S: stachyóza, FOS: fruktooligosacharidy, GOS: galaktooligosacharidy, β-GLU: beta(1,3)-D-glukan

Obrázek 1: Schopnost růstu *L. monocytogenes* na vybraných prebioticích

Navzdory tomu, že jsou kmeny LM schopny využívat tato prebiotika jako zdroj energie pro svůj růst, je při konzumaci těchto prebiotik prokázána podpora imunitního systému hostitele a účinné potlačení adheze patogenů na stěnu trávicího traktu, včetně LM (Buddington et al., 2002; Kupfahl et al., 2006; Sangwan et al., 2015; Torello et al., 2010). Proto je namístě se tímto výzkumem zabývat i nadále.

ZÁVER

LM je ke svému růstu schopná využívat některá prebioticka. Jednalo se o beta(1,3)-D-glukan, inulin, fruktooligosacharidy a galaktooligosacharidy, které se nejčastěji používají v doplňcích stravy. Míra využití těchto prebiotik LM je omezená. Otázkou je, zda by prebiotika používaná v prevenci proti listerióze neměla být nahrazena prebiotiky, které LM není schopná využívat.

LITERATÚRA

Bhunia, A. K. 2018. *Foodborne Microbial Pathogens*. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7349-1

Buddington, K. K., Donahoo, J. B., Buddington, R. K. 2002. Dietary Oligofructose and Inulin Protect Mice from Enteric and Systemic Pathogens and Tumor Inducers. *The Journal of Nutrition*, *132*(3), 472–477. https://doi.org/10.1093/JN/132.3.472

Bunešová, V., Vlková, E., Rada, V., Kňazovická, V., Ročková, Š., Geigerová, M., & Božik, M. 2012. Growth of infant faecal bacteria on commercial prebiotics. *Folia Microbiologica*, *57*(4), 273–275. https://doi.org/10.1007/S12223-012-0123-8

Gibson, G. R., Probert, H. M., Loo, J. van, Rastall, R. A., Roberfroid, M. B. 2004. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, *17*(2), 259–275. https://doi.org/10.1079/NRR200479

Hungate, R. E. 1969. Chapter IV A Roll Tube Method for Cultivation of Strict Anaerobes. *Methods in Microbiology*, *3*(PART B), 117–132. https://doi.org/10.1016/S0580-9517(08)70503-8

Kupfahl, C., Geginat, G., Hof, H. 2006. Lentinan has a stimulatory effect on innate and adaptive immunity against murine *Listeria monocytogenes* infection. *International Immunopharmacology*, *6*(4), 686–696. https://doi.org/10.1016/J.INTIMP.2005.10.008

Rada, V., Nevoral, J., Trojanová, I., Tománková, E., Šmehilová, M., Killer, J. 2008. Growth of infant faecal bifidobacteria and clostridia on prebiotic oligosaccharides in in vitro conditions. *Anaerobe*, *14*(4), 205–208. https://doi.org/10.1016/J.ANAEROBE.2008.05.003

Roberfroid, M., Gibson, G. R., Hoyles, L., McCartney, A. L., Rastall, R., Rowland, I., Wolvers, D., Watzl, B., Szajewska, H., Stahl, B., Guarner, F., Respondek, F., Whelan, K., Coxam, V., Davicco, M. J., Léotoing, L., Wittrant, Y., Delzenne, N. M., Cani, P. D., Meheust, A. 2010. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. *The British Journal of Nutrition*, *104 Suppl 2*(SUPPL.2). https://doi.org/10.1017/S00071145 10003363

Rockova, S., Nevoral, J., Rada, V., Marsik, P., Sklenar, J., Hinkova, A., Vlkova, E., Marounek, M. 2011. Factors affecting the growth of bifidobacteria in human milk. *International Dairy Journal*, *21*(7), 504–508. https://doi.org/10.1016/J.IDAIRYJ.2011.02.005

Sangwan, V., Tomar, S. K., Ali, B., Singh, R. R. B., Singh, A. K. 2015. Galactooligosaccharides reduce infection caused by *Listeria monocytogenes* and modulate IgG and IgA levels in mice. *International Dairy Journal*, *41*, 58–63. https://doi.org/10.1016/J.IDAIRYJ.2014.09.010

Sauer, J.-D., Herskovits, A. A., O' Riordan, M. X. D. 2019. Metabolism of the Gram-Positive Bacterial Pathogen *Listeria monocytogenes*. *Microbiology Spectrum*, *7*(4). https://doi.org/10.1128/MICROBIOL SPEC.GPP3-0066-2019

Torello, C. O., de Souza Queiroz, J., Oliveira, S. C., Queiroz, M. L. S. 2010. Immunohematopoietic modulation by oral β-1,3-glucan in mice infected with *Listeria monocytogenes*. *International Immunopharmacology*, *10*(12), 1573–1579. https://doi.org/10.1016/J.INTIMP.2010.09.009

Tuohy, K., Rouzaud, G., Brück, W., Gibson, G. 2005. Modulation of the human gut microflora towards improved health using prebiotics--assessment of efficacy. *Current Pharmaceutical Design*, *11*(1), 75–90. https://doi.org/10.2174/1381612053382331

Poďakovanie: Tato práce byla podpořena projektem výzkumné infrastruktury METROFOOD-CZ (č. grantu MŠMT: LM2018100) a projektem AgroServ (HORIZON-INFRA-2021-SERV-01-02, grantová smlouva č.: 101058020).

Kontaktná adresa: Tereza Kodešová, Ing., Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 16500, Praha-Suchdol

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

IDENTIFIKÁCIA *METSCHNIKOWIA PULCHERRIMA* V PROCESE FERMENTÁCIE VÍNA V SPOJITOSTI S BIOGÉNNYMI AMÍNAMI IDENTIFICATION OF *METSCHNIKOWIA PULCHERRIMA* IN THE PROCESS OF WINE FERMENTATION IN CONNECTION WITH BIOGENEIC AMINES

Mariana Kováčová, Ivana Regecová, Jana Výrostková, Boris Semjon, Slavomír Marcinčák, Peter Očenáš

Abstract: *Metschnikowia pulcherrima* is a ubiquitous yeast that frequently appears in spontaneous fermentations of wines. The presence of *Metschnikowia pulcherrima* in wine affects the content of biogenic amines. Biogenic amines are low molecular weight compounds formed from precursor amino acids, mainly by microbial decarboxylation. The presence of these compounds is very important in the food industry. This study is focused on the detection of *Metschnikowia pulcherrima* in soil samples, leaves and berries of grapes and fermenting must and young wine samples. The percentage representation of *Metschnikowia pulcherrima* varied during the must fermentation process. The highest percentage was found on day 0. and day 2. of fermentation. Presents of histamine and tyramine also changed during the fermentation process, in the fermenting must reached its peak on the 6. day of fermentation.
Keywords: biogenic amines, wine, *Metschnikowia pulcherrim*, fermentation, yeast

ÚVOD

Úloha kvasiniek v procese výroby vína prevyšuje samotnú premenu cukrov na etanol, z dôvodu veľkej rozmanitosti metabolických ciest vyplývajúcej z mikrobiálnej diverzity spojenej s fermentáciou vína, ktorá sa podieľa na výrobe prchavých a neprchavých zlúčenín tvoriacich konečný senzorický profil vína (Belda et al. 2017). Povrch bobúľ viniča predstavuje optimálny a na živiny bohatý biotop vhodný pre rast *Metschnikowia pulcherrima*, ktorá sa prirodzene nachádza na povrchu hrozna a v hrozne určenom na výrobu ľadového vína. Okrem toho je *Metschnikowia pulcherrima* vo všeobecnosti prítomná počas prvých štádií fermentácie hroznovej šťavy (Oro et al., 2014). Všestrannosť *Metschnikowia pulcherrima* spočíva v jej schopnosti tvorby fermentácie v kombinácii s inými druhmi kvasiniek, ako aj modulácie syntézy sekundárnych metabolitov fermentácie za účelom zlepšenia senzorickej kvality vína. Vyznačuje sa strednou fermentačnou silou a vysokou enzymatickou schopnosťou uvoľňovania aromatických prekurzorov. *Metschnikowia pulcherrima* má vysoký potenciál ako bio kontrolné činidlo, prostredníctvom obmedzenia konkurencie s inými kvasinkami vo fermentačnom médiu (Morata et al., 2019).

Variabilita a koncentrácia biogénnych amínov (BA) nachádzajúcich sa vo víne závisí od viacerých faktorov. Na jednej strane je to technológia výroby vína, technika vinifikácie, doba zrenia, poľnohospodárske postupy a klimatické podmienky (Ortega-Heras et al., 2014). Na druhej strane je množstvo BA ovplyvnené druhom mikroorganizmov zodpovedných za ich produkciu vo víne, množstvo prekurzorov aminokyselín v médiu a taktiež samotnými parametrami vína. Hlavné parametre vína vplývajúce na obsah BA sú pH, alkohol a oxid siričitý, ktoré taktiež ovplyvňujú rast baktérií (Smith et al., 2008; Moreno-Arribas et al., 2010). Obsah BA sa považuje za dôležitý ukazovateľ kvality a bezpečnosti vína (Martuscelli et al., 2013). Vo víne bolo doposiaľ identifikovaných niekoľko BA, ktorých celková koncentrácia sa pohybuje od niekoľkých miligramov na liter až do približne 50 mg l^{-1}, v závislosti od kvality vína. Medzi hlavné BA nachádzajúce sa vo víne patrí histamín tyramín, kadaverín, putrescín

a fenylketylamín. Pričom prítomnosť putrescínu a kadaverínu je často spájaná so zlými hygienickými podmienkami (Buneduce et al., 2010).

Táto práca sa zaoberá stanovením koncentrácie histamínu a tyramínu, dvoch najviac zastúpených biogénnych amínov nachádzajúcich sa vo víne, vo vzťahu k prítomnosti *Metschnikowia pulcherrima* v procese fermentácie.

MATERIÁL A METODIKA

V rámci tejto práce boli vyšetrené vzorky odobraté z pôdy, listov viniča, bobúľ, muštu a mladého vína odrody Tramín červený. Všetky vyšetrované vzorky boli odobraté v Septembri 2021. Vzorky pochádzali z vinohradníckej obci Orechová, ktorá sa nachádza sa vo Východoslovenskej vinohradníckej oblasti. Získané vzorky muštu s obsahom cukru 21,5 °Brix boli prenesené do 100 litrovej nádoby vyrobenej z nerezového materiálu, následkom čoho došlo k začatiu fermentačného procesu. Vzorky muštu sme detegovali na nultý, druhý, štvrtý, šiesty a ôsmy deň, a taktiež po štyroch týždňov prebiehajúcej fermentácie. Analýza vzoriek bola zameraná na prítomnosť kvasiniek *Metschnikowia pulcherrima* a biogénnych amínov (histamínu a tyramínu).

Kvantitatívne stanovenie počtu kvasiniek bolo vykonané podľa normy ISO 21527-1. Vybrané riedenia sme naočkovali v objeme 0,1 ml na povrch vopred predsušeného agaru Dichloran Rose-Bengal Chloramfenikol (DRBC) (Hi-Media, India) s obsahom peptónu, dextrózy (glukózy), dihydrogenfosforečnanu draselného, síranu horečnatého, bengálskej ružovej, chloramfenikolu a dichloranu s konečným pH 5,6±0,2. Petriho misky boli následne inkubované pri teplote 25 °C po dobu 5 dní. Po inkubácii boli na kvantifikáciu vybrané naočkované Petriho misky obsahujúce počet kolónií nižší ako 150. Na ďalšiu analýzu bolo vybraných päť kolónií z každej skupiny s rovnakými fenotypovými charakteristikami.

Druhová identifikácia kvasiniek bola vykonaná metódou hmotnostnej spektrometrie (MS) MALDI-TOF porovnaním PMF neznámeho organizmu s PMF nachádzajúceho sa v databáze. Príprava vzorky bola uskutočnená podľa štandardného protokolu prípravy vzorky s použitím kyseliny mravčej a acetonitrilu. Získané výsledky sa následne analyzovali prístrojom Ultra-flex III (Bruker, Billerica, Massachusetts, USA) s použitím softvéru Flex Analysis (verzia 3.0). Finálne vyhodnotenie výsledkov bolo vykonané pomocou softvéru BioTyper (verzia 1.1) (Bruker, Billerica, MA, USA).

Stanovenie biogénnych amínov (BA) nachádzajúcich sa vo vyšetrovaných vzorkách pochádzajúcich z muštu a mladého vína bolo vykonané prostredníctvom ultra-vysokoúčinnej kvapalinovej chromatografie (UHPLC) s fluorescenčným detektorom. Na analýzu biogénnych amínov (histamín a tyramín) bol použitý UHPLC systém Thermo Scientific (Dionex UltiMate 3000 RS) spojený s fluorescenčným detektorom (FLD). Na oddelenie jednotlivých biogénnych amínov v analyzovaných vzorkách bola použitá kolóna YMC-Triart PFP (150 x 3,0 mm, 1,9 μm) s prietokom 0,4 $ml.min^{-1}$. Teplota kolóny bola udržiavaná na 25 ± 0,5 °C. Mobilná fáza pozostávala z (A) acetonitrilu a (B) 0,1 $mol.l^{-1}$ octanu amónneho. Pri delení biogénnych amínov bola použitá izokratická elúcia 55 % (A): 45 % (B). Štandardný zásobný roztok skúmaných biogénnych amínov (BA, histamín a tyramín) bol pripravený rozpustením každého zo štandardu v deionizovanej vode na koncentráciu 1 000 $mg.l^{-1}$. Vzorky vína boli najskôr zriedené kyselinou chlorovodíkovou (0,1 $mol.l^{-1}$) v pomere 1:1 a následne boli odparené do vysušenia. Potom sa alikvot týchto štandardných zásobných roztokov biogénnych amínov (do koncentrácie 100 $mg.l^{-1}$)/zvyšku vzorky pridal do 2 ml deionizovanej vody. K takto pripraveným roztokom bolo pridaných 0,3 g $NaHCO_3$ a roztok dansylchloridu (2 $mg.ml^{-1}$). Po uzavretí a zmiešaní bola reakcia uskutočnená v tme pri teplote miestnosti počas 90 minút. Následne bol pridaný toluén v množstve 4 ml, do ktorého sa extrahovali derivatizované BA. V ďalšom kroku bol odobratý jeden mililiter toluénového extraktu, ktorý bol odparený do sucha. Zvyšok bol rozpustený v

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

1 ml acetonitrilu a prefiltrovaný cez 0,2 um nylonový injekčný filter. Takto prefiltrované roztoky v množstve 5 µl boli následne použité na UHPLC analýzu. Vlnové dĺžky excitácie a emisie boli nastavené na 320 nm a 523 nm v detektore FLD. Identifikácia biogénnych amínov bola uskutočnená porovnaním ich retenčného času s ich zodpovedajúcim štandardom. Kvantifikácia biogénnych amínov vo vzorkách vína bola uskutočnená pomocou štandardnej krivky vytvorenej pomerom plochy piku ku koncentrácii každého biogénneho amínu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Počet kvasiniek v každej skúmanej vzorke sa pohyboval od 3,8 ± 0,1 do 5,3 ± 0,1 log KTJ/g^{-1}. Vyššie počty kvasiniek boli zistené vo vzorke pôdy 5,3 ± 0,1 log KTJ.g^{-1}, po ktorej nasledovali vzorky listov viniča so zastúpením 5,0 ± 0,1 log KTJ.g^{-1}. Najnižší podiel kvasiniek bol zistený na plodoch hroznových bobúľ 3,7 ± 0,1 log KTJ.g^{-1}. Prítomné kvasinky sú zodpovedné za naštartovanie fermentačného procesu v mušte, ale po premnožení typických vínnych kvasiniek ich počet postupne klesá.

Po kvantitatívnom mikrobiologickom kultivačnom vyšetrení vzoriek bola vykonaná podrobnejšia detekcia mikrobioty. Jednotlivé izoláty boli odobraté z povrchu DRBC agarového média podľa makroskopických znakov, ako je farbenie kolónií, rastový vzor a tvar kolónií. Izolovalo sa 5 kolónií kvasiniek zo skupiny s rovnakými fenotypovými znakmi. Spolu bolo získaných 55 izolátov kvasiniek. Identifikácia sa uskutočnená pomocou MALDI-TOF hmotnostnej spektrometrie. Táto identifikácia predstavovala rýchly počiatočný skríning skúmanej mykobioty. Skóre identifikovaných izolátov *Metschnikowia pulcherrima* bolo stanovené od 2,010 do 2,105. Prítomnosť *Metschnikowia pulcherrima* sa v jednotlivých vyšetrovaných vzorkách líšila (Tabuľka 1).

Najnižšie zastúpenie izolátov *Metschnikowia pulcherrima* bolo detegované v analyzovaných vzorkách pochádzajúcich z pôdy 7 % a listov viniča 4 %. Fermentačný proces vzoriek vína a muštu odrody Tramín červený bol podporený prítomnosťou kvasiniek *Metschnikowia pulcherrima*, ktoré boli dominantne zastúpené v počiatočnom štádiu fermentácie. Počet týchto kvasiniek dosahoval 27 % vo vzorkách čerstvo vylisovaného muštu. S predlžujúcou sa dobou fermentačného procesu sa ich prítomnosť znižovala čo je spojené s nárastom počtu iných druhov vínnych kvasiniek. Na 8. deň fermentácie a po 4 týždňov prítomnosť *Metschnikowia pulcherrima* nebola potvrdená.

Tabuľka 1 Percentuálne zastúpenie *Metschnikowia pulcherrima*

druh	pôda [%]	listy viniča [%]	bobule hrozna [%]	mušt a mladé víno [%]					
				0. deň	2. deň	4. deň	6. deň	8. deň	4.týždeň
Metschnikowia pulcherrima	7	4	17	27	26	15	9	-	-

Výsledky zaznamenaných hodnôt koncentrácie biogénnych amínov (histamínu a tyramínu) udávajú zvýšenie ich koncentrácie od štvrtého dňa fermentácie mladého vína (Tabuľka 2). Prudký nárast oboch sledovaných biogénnych amínov bol zistený počas šiesteho dňa fermentácie. S predlžujúcejšou dobou fermentácie sme stanovili pokles hodnôt BA, a to v období od ôsmeho dňa fermentácie do štvrtého týždňa fermentácie.

Tabuľka 2 Obsahové zastúpenie biogénnych amínov (histamínu a tyramínu)

biogénne amíny	pôda [µg.ml^{-1}]	listy viniča [µg.ml^{-1}]	bobule hrozna [µg.ml^{-1}]	mušt a mladé víno [µg.ml^{-1}]					
				0. deň	2. deň	4. deň	6. deň	8. deň	4. týždeň
Histamín				0	0	0,53	0,69	0,51	0,54
Tyramín				0	0	0,18	0,53	0,25	0,18

Nové trendy vo výrobe vína sa čoraz viac zameriavajú na zostavenie kombinácií kvasiniek, ktoré sú schopné znížiť obsah etanolu vo víne a zároveň zvýšiť jeho celkovú kvalitu (Hranilovic et al., 2020). V procese výroby vína sa na produkcii biogénnych amínov môžu podieľať kvasinky a baktérie (Torrea et al., 2002). *Metschnikowia pulcherrima* má pozoruhodný potenciál pri výrobe vín s nižším obsahom etanolu (Morata et al., 2019).

Tristezza et al. (2013) vo svojej práci preukázali schopnosť kvasiniek produkovať histamín počas fermentácie hroznového muštu. Medzi dominantné kvasinky, ktoré izolovali zo vzoriek a boli schopné syntetizovať histamín patria *Issatchenkia terricola*, *M. pulcherrima*, *Pichia manshurica*.

Podľa Carusa et al. (2002), *Saccharomyces cerevisiae* môže produkovať významné množstvá etanolamínu a agmatínu. Títo autori testovali aj kvasinky iné ako *Saccharomyces*: *Kloeckera apiculata*, *Candida stellata*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Brettanomyces bruxellensis*. Zistili, že najvyššiu koncentráciu celkových BA tvorila *B. bruxellensis* s priemernou hodnotou 15 mg.l^{-1}, nasledovala *S. cerevisiae* s priemernou hodnotou 12,14 mg/l^{-1}. Ostatné druhy tvorili menej ako 10 mg.l^{-1} celkových BA.

Biogénne amíny sa bežne vyskytujú v mnohých potravinách. Mnoho štúdií potvrdilo prítomnosť BA vo víne, z ktorých najdôležitejšie sú histamín a tyramín . Biogénne amíny môžu byť prítomné vo všetkých druhoch vín. V bielych vínach je obsah BA menší ako v červených vínach, t.j. 0 - 10 mg.l^{-1} pre biele vína a 0 - 30 mg.l^{-1} pre červené vína (Maintz et al., 2007). Histamín bol zistený vo vínach pochádzajúcich z rôznych krajín, napríklad v Portugalsku, 23,1 mg.l^{-1} (Ramos et al., 2014); v Taliansku 10,8 mg.l^{-1} (Martuscelli et al., 1 013); a vo Francúzsku 14,05 mg.l^{-1} (Bach et al., 2012). Comuzzo et al. (2013) tiež zistili prítomnosť 11,1 mg.l^{-1}, 14,8 mg.l^{-1} a 12,1 mg.l^{-1} histamínu v španielskych, nemeckých a rakúskych vínach. V našej práci sme stanovili najvyššiu prítomnosť histamínu 0,69 ug.ml^{-1}. Benedce et al. (2010) testovali 27 vzoriek vína na prítomnosť BA. Výsledky ich práce udávajú, že množstvo histamínu vo všetkých testovaných vzorkách bolo pod 2 mg.l^{-1} a prítomnosť tyramínu nebola potvrdená v žiadnej z testovaných vzoriek vína. Štúdie týchto autorov potvrdzujú aj výsledky našej práce, keďže sme zaznamenali pomerne nízke hodnoty prítomných BA (histamínu a tyramínu).

ZÁVER

Táto práca potvrdila zníženie prítomnosti kvasiniek *Metschnikowia pulcherrima*, ktoré predstavujú významnú časť mikrobioty vína, ovplyvnené procesom fermentácie. Zmena mikrobioty vzoriek vína a muštu mala za následok pokles obsahu biogénnych amínov histamínu a tyramínu v neskorších fázach fermentačného procesu.

LITERATÚRA

Hranilovic, A.; Gambetta, J. M.; Jeffery, D. W.; Grbin, P. R.; Jiranek, V. 2020. Lower-alcohol wines produced by *Metschnikowia pulcherrima* and *Saccharomyces cerevisiae* co-fermentations: The effect of sequential inoculation timing. In *International Journal of Food Microbiology*, 329, 108651. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108651.

Bach, B.; Le Quere, S.; Vuchot, P.; Grinbaum, M.; Barnavon, L. 2012. Validation of a method for the analysis of biogenic amines: Histamine instability during wine sample storage. In *Analytica Chimica Acta*, 732, 114–119. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.12.036.

Belda, I.; Ruiz, J.; Esteban-Fernandez, A.; Navascues, E.; Marquina, D.; Santos, A.; Moreno-Arribas, M. V. 2017. Microbial contribution to wine aroma and its intended use for wine quality improvement. In *Molecules*, 22, 189. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/molecules22020189.

Caruso, M.; Fiore, C.; Contursi, M.; Salzano, G.; Paparella, A.; Romano, P. 2002. Formation of biogenic amines as criteria for the selection of wine yeasts. In *World Journal of Microbiology and Biotechnol*ogy, 18, 159–163. Dostupné na: https://doi.org/10.1023/A:1014451728868.

Comuzzo, P.; Rauhut, D.; Werner, M.; Lagazio, C.; Zironi, R. 2013. A survey on wines from organic viticulture from different European countries. In *Food Control*, 34, 274–282. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.04.039.

ISO 21527-1: 2010. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds. Part 1:Colony count technique in products with water activity greater than 0,95; Slovak Standards Institute: Bratislava, Slovakia.

Beneduce, L.; Romano, A.; Capozzi, V.; Lucas, P.; Barnavon, L.; Bach, B.; Vuchot, P.; Grieco, F.; Spano, G. 2010. Biogenic amine in wines. In *Annals Microbiology*, 60, 573–578. Dostupné na: https://doi.org/10.1007/s13213-010-0094-4.

Maintz, L.; Novak, N. 2007. Histamine and histamine intolerance. In *The American Journals of Clinical Nutrition*, 85, 1185–1196. Dostupné na: https://doi.org/10.1093/ajcn/85.5.1185.

Martuscelli, M.; Arfelli, G.; Manetta, A. C.; Suzzi, G. 2013. Biogenic amines content as a measure of the quality of wines of Abruzzo (Italy). In *Food Chemistry*, 140, 590–597. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.008.

Morata, A.; Loira, I.; Escott, C.; del Fresno, J. M.; Bañuelos, M. A.; Suárez-Lepe. J. A. 2019. Applications of *Metschnikowia pulcherrima* in Wine Biotechnology. In *Fermentation*, 5, 63. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/fermentation50300633.

Moreno-Arribas, M. V.; Smit, A. Y.; du Toit, M. Biogenic amines and the winemaking process. In Understanding and Managing Wine Quality and Safety; Reynolds, A.G., Ed.; Woodhead Publishing Limited: Cambridge, UK, 2010.

Oro, L.; Ciani, M.; Comitini, F. 2014. Antimicrobial activity of *Metschnikowia pulcherrima* on wine yeasts. In *Journal of Applied Microbiology*, 116, 1209–1217. Dostupné na: https://doi.org/10.1111/jam.12446.

Ortega-Heras, M.; Pérez-Magariño, S.; Del-Villar-Garrachón, V.; González-Huerta, C.; Moro Gonzalez, L. C.; Guadarrama Rodríguez, A.; Villanueva Sanchez, S.; Gallo González, R.; Martín de la Helguera, S. 2014. Study of the effect of vintage, maturity degree, and irrigation on the amino acid and biogenic amine content of a white wine from the Verdejo variety. In J*ournal of Science Food and Agric*ulture, 94. Dostupné na: https://doi.org/10.1002/jsfa.6526.

Ramos, R. M.; Valente, I. M.; Rodrigues, J. A. 2014. Analysis of biogenic amines in wines by salting-out assisted liquid-liquid extraction and high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection. In *Talanta*, 124, 146–151. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.02.026.

Smit, A. Y. Y.; Du Toit, W. J. J.; Du Toit, M. 2008. Biogenic amines in wine: Understanding the headache. In *South African Journal of Enology and Viticulture*, 29. Dostupné na: https://doi.org/10.21548/29-2-1444.

Tristezza, M.; Vetrano, C.; Bleve, G.; Spano, G.; Capozzi, V.; Logrieco, A.; Mita, G.; Grieco, F. 2013. Biodiversity and safety aspects of yeast strains characterized from vineyards and spontaneous fermentations in the Apulia Region, Italy. In *Food Microbiology*, 36, 335–342. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.07.001.

Poďakovanie: Práca bola podporená projektom VEGA 1/0156/21.

Kontaktná adresa: Mariana Kováčova Mgr., PhD., Katedra hygieny technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach. Komenského 73, 041 81 Košice, mariana.kovacova@uvlf.sk

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

KMENE DRUHU *STAPHYLOCOCCUS HOMINIS* DETEGOVANÉ V SUROVOM KOZOM MLIEKU A ICH CILTIVOSŤ KU NIZÍNU
THE SPECIES STRAINS *STAPHYLOCOCCUS HOMINIS* DETECTED IN RAW GOAT MILK AND THEIR SUSCEPTIBILITY TO NISIN

Andrea Lauková, Maria Joao Fraqueza, Cristina Alfaia, Valentína Focková, Monika Pogány Simonová

Abstract: Goat milk, in general, possess effective nutritive impact. Therefore, it has been very popular among consumers. It means, its safety has to be controlled and prevented/protected. In spite of the strict hygienic conditions, variable microbiota can be detected in raw goat milk, staphylococci involving. However, use not residual bacteriocin-nisin can protect raw milk against contaminant bacteria. In this study, 10 *Staphylococcus hominis* strains were isolated from raw goat milk. This species was detected out of 37 identified staphylococcal species. The strains were hemolysis-negative (except two strains SHo 6/3, SHo13/2 with alfa-hemolysis), deoxyribonuclease- negative, mostly susceptible to antibiotics. However, they can form biofilm and possess *ica* and *Bap* genes, important in biofilm formation processing and they produce some of biogenic amines in low amount (spermine, spermidine, tyramine and histidine). However, they are susceptible to nisin, one of commercially using bacteriocin in food production (E234). It means, nisin can be used to protect milk against bacteria without adverse effect. Of course, application experiments are requested. But regarding the basic research in food microbiology it is contributing information how to eliminate contaminants.
Keywords: staphylococci, nisin, biofilm, biogenic amine, susceptibility

INTRODUCTION

In Slovakia, breeding of goats has been a long tradition. Goat milk is being supposed as functional food because of its effective nutrition (Uhrín et al., 2002, Lauková et al., 2022). Although strict zoohygienic and hygienic conditions are kept during farming production, different microbiota can be found in raw goat milk (Gavilán et al., 2015). Lauková et al. (2022) describes variable staphylococcal species detected in raw goat milk. Because also undesirable microbiota can be determined in raw goat milk, they can influence production of dairy products made from raw goat milk. If raw goat milk is consumed directly by consumers, also their health can be threaten. Therefore, it is necessary to know how this contamination can be prevented and/or eliminated/reduced. One of possibility is use of bacteriocins, meaning antimicrobial substances of proteinaceous character with inhibition activity against more or less related bacteria. Nisin is a peptide composed of 34 amino acid residues with a molecular mass of 3.5 kDa; at first detected in *Lactococcus lactis* strain (Hurst, 1981). It is known to inhibit Gram-positive bacteria, to which also staphylococci belongs. The main aim of this study was to find if determined strains *S. hominis* from raw goat milk, which also are able to form biofilm and some of them also poduces biogenic amines can be treated and inhibited using lantibiotic bacteriocin nisin. In European countries nisin can be used as additive in food industry as a food additive E234.

MATERIAL AND METHODS

Staphylococcus hominis strains were isolated from 53 raw goat milk samples as previously described by Lauková et al. (2022). For the next testing, they were kept on Mannitol salt agar (Difco). Antibiotic susceptibility was tested according to CLSI (2020) using recommended antibiotic discs. Biofilm formation was analysed according to Chaieb et al.

(2007). Hemolysis, deoxyribonuclease activity were tested as previously described Lauková et al., (2022). Biogennic amines (decarboxylase activity) in strains were analysed according to Alfaia et al., (2018). Genes for biofilm formation were detected according to the method described by Cucarella et al., (2001) and Moretro et al., (2003). Nisin activity was tested according to De Vuyst et al., (1996) by agar spot test and inhibition activity was expressed in Arbitrary unit per ml (AU.ml^{-1}).

RESULTS AND DISCUSSION

Ten (10) out of 37 strains isolated and taxonomically identified from raw goat milk were allotted to the species *Staphylococcus hominis* based on the score evaluated using MALDI-TOF spectrometry. The score of those strains was ranged from 1.881 up to 2.093 which means probable genus identification up to highly probable species identification. Two strains (SHo 6/3 and SHo13/2) showed alfa-hemolysis; the rest of the strains were hemolysis-negative (gama-hemolysis). *S. hominis* strains were deoxyribonuclease-negative. They were mostly susceptible to antibiotics involving oxacillin and cefoxitin which predicts methicillin resistance. Five (5) out of 10 strains were tested to form biofilm; four (4) strains were evaluated as low-grade biofilm-forming strains (0.1≤A570≤ 1), while *S. hominis* SHo 12/1 was found with high biofilm-formation ability (2.788 ± 1.66). In four strains *Bap* gene was present (SHo12/1, SHo41/2, SHo33/2, and SHo31/1) and in two strains (SHo13/2, SHo20/2) *ica* gene was detected; however, if B*ap* gene was detected, *ica* gene was not found and oppositelly when *ica* gene was detected, *Bap* gene was not present. Moreover, in the strains *S. hominis* biogennic amines (tyramine, histidine, spermine and spermidine) were found. However, all those strains were susceptible to nisin with inhibition activity ranged from 100 AU.ml^{-1} up to 102 400 AU.ml^{-1}, Table 1).

Table 1 Susceptibility to nisin of the strains *Staphylococcus hominis* from raw goat milk (in Arbitrary unit per ml, AU.ml^{-1})

Staphylococcus hominis	**Nisin**
SHo12/1	12 800
SHo 6/3	1 600
SHo13/2	100
SHo 41/2	3 200
SHo 33/2	102 400
SHo 20/2	100
SHo 5/2	100
SHo31/1	100
SHoZ4	100
SHo18/1	100

Staphylococcus hominis belongs among coagulase-negative species in the framework of the genus *Staphylococcus*. The most frequently could be isolated from the skin of human which can suppose its occurrence in raw goat milk (milking on farm probably). Frequently is also found tetracycline resistance in the species *S. hominis.* However, in our case, they were susceptible to tetracycline as well as to oxacillin and cefoxitin which indicates methicillin susceptibility (Wu et al., 2016). In some strains with confirmed biofilm formation using the quantitative method, also *ica* or *Bap* genes were detected. In biofilm formation process more steps are involved, however first is adhesion meaning the initial bacterial attachment to a surface which is related to a cell surface protein (autolysin) and then second step includes cell

aggregation and biofilm accumulation which is modulate by the products of the chromosomal intercellular adhesion (ica) operon. Among proteins which are important in this process is also Bap surface protein (Cucarella et al., 2001).

Moreover, *S. hominis* strains were found with decarboxylase activity (tyramine, histidine, spermidine and spermine) production, although not in high levels. It shows that even susceptible to common antibiotics, they are able to form biofilm and produce some of biogenic amines meaning that it can cause discomfort in dairy production and of course, also for consumers. However, to know that nisin can inhibit these strains- they are susceptible to nisin, beneficially decrease their threatening consequence. Nisin can be used in canned food to reduce amount of sodium benzoate or potassium sorbate use and also to reduce possible contamination with staphylococci. Also in meat manufacturing reduction in nitrite sodium use and inhibition of possible *Clostridium botulinum* contaminant can be prevented by nisin. In ice cream nisin can be able to inhibit possible listerial contamination. Finally, in dairy products nisin use leads to inhibit Gram-positive contaminants for prolonging shelf-life of the products.

CONCLUSION

Among 37 isolated and identified staphylococcal strains from raw goat milk, 10 strains were allotted to the species *Staphylococcus hominis* using MALDI-TOF spectrometry. The strains were hemolysis-negative, except the strains SHo 6/3 and SHo13/2 with alfa-hemolysis. They were deoxyribonuclease-negative. They were mostly susceptible to antibiotics. Four strains were evaluated as low-grade biofilm-forming strains, while *S. hominis* SHo 12/1 was found with high biofilm-formation ability. *Bap* gene was present in the strains SHo12/1, SHo41/2, SHo33/2, and SHo31/1 and *ica* gene was present in two strains (SHo13/2, SHo20/2). The strains *S. hominis* were decarboxylase active to produce biogennic amines such as tyramine, histidine, spermine and spermidine. However, all tested strains were susceptible to nisin (activity from 100 $AU.ml^{-1}$ up to 102 400 $AU.ml^{-1}$). In dairy products nisin use leads to inhibit Gram-positive contaminant bacteria for prolonging shelf-life of the product meaning that in case of *S. hominis* strains occurrence they will be inhibited or their growth will be prevented.

REFERENCES

Cucarella Carme, Solano, C., Valle, J., Amorena, B., Lasa, I., Penádes, J.R. 2001. Bap, a *Staphylococcus aureus* surface protein involved in biofilm formation. In *Journal of Bacteriology*, vol. 183, pp. 2888-2896.

CLSI, 2020. Clinical laboratory standard institute guidline. Performance standards for antimicrobial susceptibility tesdting M100S. 30th ed. Wayne, PA, USA..

De Vuyst, L., Callewaert, R., Pot, B. 1996. Characterization of antagonistic activity of *Lactobacillus amylovorus* DCE471 and large-scale isolation of its bacteriocin amylovorin L471. In *Systematic and Applied Microbiology*, vol. 19, pp. 9-20

Gávilán C. G., de los Rezes Fernándéz M., Hudson, J. A., Korpela, R. 2015. Role of microorganisms present in daory fermented products in helath and disease. In *BioMed Research International*, ID:204173, https://doi.org/10.1155/2015/204173.

Hurst, A. 1981. Nisin. In *Advance in Applied Microbiology*,vol. 27, pp. 85-123. https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70342-3.

Chaieb, K., Chehab, O., Zmantar, T., Rouabhia, M., Mahdouni, K., Bakrhouf, A. 2007. In vitro effect of pH and ethanol on biofilm formation by clinical ica-positive *Staphylococcus epidermidis* strains.In *Annals in Microbiology*, vol. 57, pp. 431-7.

Lauková, A., Pogány Simonová, M., Focková, V., Tomáška, M., Drončovský, M., Vargová, M., Dvorožňáková, E. 2022. Slovak raw goat milk as a source of variable biofilm-forming staphylococci, and their susceptibility to lantibiotic bacteriocins. In *JSFA Reports*, vol. 2, pp. 40-47, doi: 10.1102/jsf2.27.

Moretro, T., Hermansen, L., Holck, A. L., Sidhu, M. S., Knut R., Langsrud, S. 2003. Biofilm formation and the presence of the intercellular adhesion locus *ica* among staphylococci from food and food processing environments. In *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 69, pp. 5648-5655.

Uhrín, V., Lauková, A., Jančová, A., Plintovič, V. Mlieko a mliečna žľaza (in Slovak) Milk and mammary gland. Eds. Publ. No. 92 Nitra: Faculty of Natural Sciences of the University Constantinus Philosophus; 2002, p. 5-167, ISBN 80-8050-511-X.
Wu, M.T., Burnham, C.-A.D. Westblade, L. F., Dien Bard, J., Lawhon, S.D., Wallace, M.A., Stanley, T., Burd, E., Hindler, J., Humphires, R. M. 2016. Evaluation of oxacillin and cefoxitin disk and MIC breakpoints for prediction methicillin resistance in human and veterinary isolates of Staphylococcus intermedius group. In *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 54, pp. 535-542.

Acknowledgments: This work has been supported by the Slovak Research and Development Agency under the contract no. APVV-20-0204 and also by the bilateral project SK-PT (APVV)-18-0005.

Contact address: Andrea Lauková, MVDr., CSc. Centre of Biosciences of the Slovak Academy of Sciences, Institute of Animal Physiology, Šoltésovej 4-6, 04001 Košice, Slovakia (CBv SAV, v.v.i. ÚFHZ, Košice) laukova@saske.sk; Maria Joao Fraqueza, The Centre for interdisciplinary research in animal health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Avenida da Univ. Técnica, Pólo Univ. de Alto da Ajuda, 1300-477 Lisbon, Portugal, mjoaofraqueza@fmv.ulisboa.pt; Cristina Alfaia, The Centre for interdisciplinary research in animal health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Avenida da Univ. Técnica, Pólo Univ. de Alto da Ajuda, 1300-477, Lisbon, Portugal, calfaia@fmv.ulisboa.pt; Valentína Focková, Centre of Biosciences of the Slovak Academy of Sciences, Institute of Animal Physiology, Šoltésovej 4-6, 04001 Košice, Slovakia, fockova@saske.sk; Monika Pogány Simonová, Centre of Biosciences of the Slovak Academy of Sciences, Institute of Animal Physiology, Šoltésovej 4-6, 04001 Košice, Slovakia, simonova@saske.sk.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

CITLIVOSŤ KMEŇOV *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* Z OVČIEHO HRUDKOVÉHO SYRA KU LANTIBIOTICKÝM BAKTERIOCÍNOM, GALIDERMÍN A NIZÍN
SUSCEPTIBILITY OF THE STRAINS *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* FROM EWES MILK LUMP CHEESE TO LANTIBIOTIC BACTERIOCINS-GALLIDERMIN AND NISIN

Andrea Lauková, Maria Joao Fraqueza, Cristina Alfaia, Valentína Focková, Anna Kandričáková, Natália Koťešovská, Monika Pogány Simonová

Abstract: The coagulase-positive species *Staphylococcus aureus* belongs to the most frequent contaminant of milk and dairy products. Contaminant microbiota can threaten technological processing of e.g. cheeses and health of consumers as well. To prevent/protect or eliminate contaminant species, *S. aureus* involving is requested to produce healthy and high quality products for consumers. In the present study, five *S. aureus* strains were detected in ewe's milk lump cheeses with mostly biofilm-formation ability and detection of *ica* and *Bap* genes. They also produce biogenic amines. *S. aureus* strains were mostly hemolysis-negative, susceptible to antibiotics. Moreover, they were susceptible to lantibiotic bacteriocins, nisin and gallidermin: 6 400 up to 102 400 AU.ml^{-1}, MIC 0.005-0.0156 µg for nisin and from 1 600-102 400 AU. ml^{-1}, MIC 0.005-0.0625 µg for gallidermin. This knowledge is important to support practical use of nisin, and gallidermin, although additional application experiments are requested.
Keywords: ewes milk lump cheese, contamination, bacteriocin, treatment

INTRODUCTION

Staphylococci are frequent contaminants of dairy products. Among them the most important contaminant is *Staphylococcus aureus (*Lauková et al., 2022). This species belongs in coagulase-positive staphylococcal species. Despite modernization in dairy production, many cheeses are manufactured traditionally such as also Slovak ewe's milk lump cheese (Uhrín et al., 2002). Traditional cheeses are produced without any added culture. But microbiota in ewes milk comes from various sources. The predominant are lactic acid bacteria which are indicated as useful microbiota. Contaminant microbiota can threaten technological processing of cheeses and health of consumers as well. Therefore, to prevent/protect or eliminate contaminant species, *S. aureus* involving is requested to produce healthy and high quality products for consumers. In this study, the properties of *S. aureus* isolated from ewes milk lump cheeses were studied and their susceptibility to lantibiotic bacteriocins, gallidermin (Lauková et al., 2022) and nisin (E234). They contain in their amino acid chains, methyl-lanthionine (Hurst, 1981). Use of bacteriocins represents a strategy leading to dairy products prevention/protection.

MATERIAL AND METHODS

Ewe's milk lump cheeses (45) were disposable from various local producers in central Slovakia. They were sampled and treated using the standard microbiological method (ISO) using Baird-Parker agar with supplements (Difco, USA). Pure strains were submitted for identification using MALDI-TOF mass spectrometry (Brucker Daltonics, USA). They were also phenotyped using commercial API STAPH kit (BioMeriux, France). Hemolysis, deoxyribonuclease activity, antibiotic profile, biofilm-forming ability, and susceptibility to lantibiotic bacteriocins was analysed as described by Lauková et al. (2022) and De Vuyst et al. (1996). Susceptibility to bacteriocins was expressed in AU.ml^{-1} or in MIC (µg). Biogenic amines (decarboxylase activity) of *S. aureus* strains was analysed according to Alfaia et al.

(2018). *Ica* and *Bap* genes for biofilm-forming ability of *S. aureus* strains were detected according to Cucarella et al. (2001) and Moretro et al. (2003).

RESULTS AND DISCUSSION

Forty-five cheeses were disposable and 17 staphylococcal species were taxonomically allotted. Among those 17 species strains, five (5) strains of the species *S. aureus* were identified using MALDI-TOF mass spectrometry (SAOS1/1, SAOS2/1, SAOS6, SAOS/ 5/2, and SAOS51/3). All strains were identified with high evaluation score (2.050, 2.054, 2.162, 2.185, and 2.055) indicating secure genus and probable species identification. These strains have grown very well on Baird-Parker agar. Their taxonomy allocation was confirmed using phenotypization. Surprisingly, those strains were hemolysis-negative; only in the strain SAOS1/1 beta-hemolysis was evaluated. Deoxyribonuclease activity was detected in that one strain with beta-hemolysis as well as in the strains SAOS5/2 and SAOS51/3. The strains were mostly antibiotic susceptible; however, the strain SAOS2/1 was oxacillin resistant which can predicts methicillin resistance (Wu et al., 2016) and it was also resistant to neomycin. The strains were able to form biofilm (0.167-0.155) except the strain SAOS6 which was biofilm-negative (0.097). It is interesting, that *ica* gene and *Bap* gene both, were found in the strain SAOS6 in which biofilm ability was not find using plate assay. In the rest of strains, *ica* gene was detected. The genes mentioned has importance in the biofilm formation process. The strains did not produce biogenic amines (BA) such as putrescin, spermidine and spermine; however, two strains, SAOS1/1 and SAOS2/1 poduce tryptamine, and phenyethylamine. The strain SAOS6 produces even cadaverin and all strains produce histidine and tyramine. However, all strains were susceptible to treatment with lantibiotic bacteriocins. Susceptibility to nisin was high with inhibitory activity from 6 400 up to 102 400 $AU.ml^{-1}$, in MIC 0.005-0.0156 µg. In case of gallidermin, even higher susceptibilty was evaluated, from 1 600-102 400 $AU.ml^{-1}$, in MIC 0.005-0.0625 µg (Table 1). The most sensitive to gallidermin and to nisin was the strain SAOS1/1, which exerts beta-hemolysis. It is DNase-positive, biofilm-forming strain but *ica* and *Bap* genes absent. It is strain with BA production. Results achieved represent important information because it can support practical use of nisin, and also gallidermin, although additional application experiments are requested.

Table 1. Susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from ewes milk lump cheeses to lantibiotic bacteriocins, nisin and gallidermin (activity is expressed in arbitrary unit per ml, $AU.ml^{-1}$) or in µg

Strain	Nisin	NisMIC	Gallidermin	GallMIC
SAOS1/1	102 400	0.005	102 400	0.005
SAOS2/1	25 600	0.0039	1 600	0.0625
SAOS6	6 400	0.0156	51 200	0.019
SAOS5/2	12 800	0.0078	51 200	0.019
SAOS51/3	6 400	0.0156	102 400	0.005

SA-*S. aureus*, MIC-minimal inhibition concentration, Nis-nisin, Gall-gallidermin

CONCLUSION

Five *S. aureus* strains were detected and confirmed in ewe's milk lump cheeses. They were mostly biofilm-forming; *ica* and *Bap* genes were also detected in some of these strains. They produce biogenic amines. *S. aureus* strains were mostly hemolysis-negative, susceptible to antibiotics. Important is that they were susceptible to lantibiotic bacteriocins, nisin and gallidermin. This information brings a new practical concept to use nisin, and gallidermin. Although additional application experiments are requested.

REFERENCES

Alfaia, C. M., Gouveia, I. M., Fernandes, M. H., Fernandes, M. J., Semedo-Lemsaddek, T., Barreto, A. S., Fraqueza, M. J. 2018. Assessment of coagulase-negative staphylococci and lactic acid bacteria isolated from Portuguese dry fermented sausages as potential starters based on their biogenic amine profile. In *Journal of Food Science*, vol. 83, pp. 2544-2549. Doi:10.1111/1750-3841.14298.

Cucarella Carme, Solano, C., Valle, J., Amorena, B., Lasa, I., Penádes, J.R. 2001. Bap, a *Staphylococcus aureus* surface protein involved in biofilm formation. In *Journal of Bacteriology*, vol. 183, pp. 2888-2896.

De Vuyst, L., Callewaert, R., Pot, B. 1996. Characterization of antagonistic activity of *Lactobacillus amylovorus* DCE471 and large-scale isolation of its bacteriocin amylovorin L471. In *Systematic and Applied Microbiology*, vol. 19, pp. 9-20

Hurst, A. 1981. Nisin. In *Advance in Applied Microbiology*, vol. 27, pp. 85-123. https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70342-3.

Lauková, A., Pogány Simonová, M., Focková, V., Tomáška, M., Drončovský, M., Vargová, M., Dvorožňáková, E. 2022. Slovak raw goat milk as a source of variable biofilm-forming staphylococci, and their susceptibility to lantibiotic bacteriocins. In *JSFA Reports*, vol. 2, pp. 40-47, doi: 10.1102/jsf2.27.

Moretro, T., Hermansen, L., Holck, A. L., Sidhu, M. S., Knut R., Langsrud, S. 2003. Biofilm formation and the presence of the intercellular adhesion locus *ica* among staphylococci from food and food processing environments. In *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 69, pp. 5648-5655.

Uhrín, V., Lauková, A., Jančová, A., Plintovič, V. Mlieko a mliečna žľaza (in Slovak) Milk and mammary gland. Eds. Publ. No. 92 Nitra: Faculty of Natural Sciences of the University Constantinus Philosophus; 2002, p. 5-167, ISBN 80-8050-511-X.

Wu, M. T., Burnham, C. A. D. Westblade, L. F., Dien Bard, J., Lawhon, S. D., Wallace, M. A., Stanley, T., Burd, E., Hindler, J., Humphires, R. M. 2016. Evaluation of oxacillin and cefoxitin disk and MIC breakpoints for prediction methicillin resistance in human and veterinary isolates of *Staphylococcus intermedius* group. In *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 54, pp. 535-542.

Acknowledgments: This work has been supported by the Slovak Research and Development Agency under the contract no. APVV-20-0204, APVV-17-0028 and also by the bilateral project SK-PT (APVV)-18-0005.

Contact address: Andrea Lauková, MVDr., CSc. (PhD) Centre of Biosciences of the Slovak Academy of Sciences, Institute of Animal Physiology, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice, Slovakia (CBv SAV, v.v.i. ÚFHZ, Košice) laukova@saske.sk; Maria Joao Fraqueza, Dr. The Centre for interdisciplinary research in animal health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Avenida da Univ. Técnica, Pólo Univ. de Alto da Ajuda, 1300-477 Lisbon, Portugal, mjoaofraqueza@fmv.ulisboa.pt; Cristina Alfaia, Dr., The Centre for interdisciplinary research in animal health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Avenida da Univ. Técnica, Pólo Univ. de Alto da Ajuda, 1300-477, Lisbon, Portugal, calfaia@fmv.ulisboa.pt; Valentína Focková, PharmDr. Centre of Biosciences of the Slovak Academy of Sciences, Institute of Animal Physiology, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice, Slovakia, fockova@saske.sk; Anna Kandričáková, RNDr., PhD., Centre of Biosciences of the Slovak Academy of Sciences, Institute of Animal Physiology, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice, Slovakia, kandricakova@saske.sk; Natália Koťěšovská, MVDr., Centre of Biosciences of the Slovak Academy of Sciences, Institute of Animal Physiology, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice, Slovakia, kotesovska@saske.sk; Monika Pogány Simonová, MVDr. PhD., Centre of Biosciences of the Slovak Academy of Sciences, Institute of Animal Physiology, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice, Slovakia, simonova@saske.sk

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM LP17L/1 Z OVČIEHO SUDOVANÉHO SYRA, PERSPEKTÍVNY KMEŇ PRE VYUŽITIE NIELEN V MLIEKARENSKYCH PRODUKTOCH *LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM* LP17L/1 FROM EWES STORED CHEESE, PROMISING STRAIN FOR USE NOT ONLY IN DAIRY PRODUCTS

Andrea Lauková, Martin Tomáška, Maroš Drončovský, Marián Maďar, Eva Bino, Emília Dvorožňáková, Ľubica Chrastinová, Monika Pogány Simonová, Miroslav Kološta

Abstract: Sheep breeding has a tradition in Slovakia. Ewes milk is popular among consumers. Stored ewes milk lump cheese is a source of autochthonous lactic acid bacteria which can possess beneficial properties. This study has been focused on properties of *Lactiplantibacillus plantarum* LP17L/1 (*in vitro* and *in vivo)* showing its application potential. It is non-hemolytic strain, non-biofilm-producing, susceptible to antibiotics, possessing 10 plantaricin genes. It exerts bacteriocin with inhibitory effect mostly against listeriae and staphylococci. It tolerates 1 % bile as well as low pH. LP17L/1 produces useful enzyme beta-galactosidase. It is safe; after its application in mice Balb/c, a reduction of coliforms in jejunum was noted at day 7 (difference 2.71 log cycle) compared to day 0/1. In broiler rabbits, LP17L/1 contributes to reparation ability of enterocytes. LP17L/1 sufficiently colonizes yoghurt and goat milk. Prophylactic application of LP17L/1 in mice Balb/c infected with *Trichinella spiralis* prevented imuno-supression of intestinal lymphocytes stimulated with *T. spiralis* infection and prevented pathological changes during intestinal phase of trichinelosis. It was sequenced (GenBank -AN: ON114094);it is in CCM 9208 and is part of patent application (PP50021-2022).
Keywords: stored cheese**,** beneficial strain**,** potential, application, character

INTRODUCTION

In Slovakia, sheep breeding has a tradition and ewes milk is popular among consumers. It is also nutritively rich (Uhrín et al., 2002). Also many traditional products are produced from ewes milk. Some of them have been designed as protected geographical products (PGI). Ewes milk lump cheese has been designed with the label TSG, meaning a traditional specialty guaranteed product (Slovak Spectator, 2011). Also stored milk lump cheese belongs to those products. Stored ewes milk lump cheese is a source of autochthonous lactic acid microbiota, among which some lactic acid bacteria can possess beneficial/probiotic properties (Klapáčová et al., 2015). Taxonomy of *Lactobacillus plantarum* has been upgrated *(*now it is *Lactiplantibacillus plantarum,* Zheng et al., 2020). Representants of this species have been several time reported to have beneficial/probiotic properties or they has been found to produce bacteriocin (Verma et al., 2022; Lauková et al., 2022). This study focused on properties of *Lbc. plantarum* strain LP17L/1 isolated from stored ewes milk lump cheese under *in vitro* and in *vivo* conditions as well as its application potential.

MATERIAL AND METHODS

Stored ewes milk cheeses from 34 dairy plants (central Slovakia) were sampled. After standard microbiological treatment, isolated strain picked up from MRS agar (Merck, Darmstadt, Germany) was identified using MALDI-TOF mass spectrometry. It was also genotyped using PCR and the appropriate primers (Bertier et al., 1998). Moreover, the strain LP17L/1 was also sequenced (16S rRNA sequences and BLASTn analysis) as previously reported Focková et al. (2022). Hemolysis, antibiotic profile, biofilm-forming ability,

enzymatic profile, tolerance to oxgall/bile, growth at low pH, plantaricin genes detection and bacteriocin activity were analysed as described by Lauková et al. (2022). *In vivo* safety of LP17L/1 strain was checked on model of mice Balb/c (Dvorožňáková et al., 2022). It's *in vivo* effect was checked using broiler rabbits (Lauková et al., 2022; Pogány Simonová et al., 2020). *In situ* effect of the strain LP17L/1 was experimented in goat milk or ewes-goat milk yoghurts (not published data).

RESULTS AND DISCUSSION

The strain *Lactiplantibacillus plantarum* was confirmed in its taxonomy using MALDI-TOF mass spectrometry with score 2.387. This score is associated with highly probable species identification (2.300-3.000, Becton Dickinson, USA). It is non-hemolytic strain, non-biofilm-producing, susceptible to antibiotics, with presence of genes for 10 plantaricins. It exerts bacteriocin substance with inhibitory effect mostly against listeriae and staphylococci. LP17L/1 was found with production of useful enzyme beta-galactosidase. Oppositelly, the strain LP17L/1 did not produce damaging enzymes. It tolerates 1 % oxgall/bile as well as low pH. In its safety confirming experiment using Balb/c mice, it does not cause mortality. Moreover, after its application in mice Balb/c, a reduction of coliforms in jejunum of mice was noted at day 7 (a difference 2.71 log cycle) compared to sampling at day 0/1. In broiler rabbits, the strain LP17L/1 colonized the GIT of rabbits in amount up to 1. 0 CFU/g) in feces, jejunum and appendix; microbiota was not negatively influenced/reduced. The rabbits were *Eimeria* oocysts absent. Slightly was increased crypth depth to villus height ratio (3.92:3.83), meaning that the LP17L/1 strain contributes in reparation ability of intestinal enterocytes. Biochemical parameters were not negatively influenced. In *in situ* experiment using ewe-goat milk yoghurts, they were enriched with LP17L/1 strain (10^9 CFU.ml^{-1}) and maintained at 4 ˚C. To differ from other microbiota, by rifampicin marked variant of LP17L/1 strain was used. The strain LP17L/1 sufficiently colonizes yoghurt and it also sufficiently colonizes goat milk during 10 days without changes of the product quality. The 16S rRNA gene of the strain LP17L/1 was submitted to the GenBank database and published under the access number AN: ON114094. It was involved in patent application (PP50021-2022) with other two strains: "The strains of lactic acid bacteria: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* MK1/3, *Lactiplantibacillus plantarum* LP17L/1, use of these strains, way of fermented goat milk production, product made by this way". Moreover, prophylactic application of the strain LP17L/1 in mice Balb/c infected with *Trichinella spiralis* prevented imuno-supression of intestinal lymphocytes stimulated with *T. spiralis* infection and also protected/prevented pathological changes during intestinal phase of trichinelosis. Activation of T-cells in jejunum of mice infected with *T. spiralis* contributed to elimination of parasites from intestine and stimulated antiparasitic immune response also in muscular phase of infection. From immunological aspect, the strain LP17L/1 represents a new pharmacological strategy how to fight with *T. spiralis* infection or of its prevention via specific activation of host intestinal immune-regulative cells (CD4+, CD8+ T-lymphocytes, (Dvorožňáková et al., 2022). Results obtained indicate that the strain LP17L/1 can be useful for use not only in dairy processing but also in veterinary/human medicine. It was deponed in Czech Culture Collection -CCM 9208.

CONCLUSION

The strain *Lactiplantibacillus plantarum* LP17L/1 was isolated from stored ewe's cheese. It is non-hemolytic strain, non-biofilm-producing, susceptible to antibiotics, possessing 10 plantaricin genes. It exerts bacteriocin with inhibitory effect mostly against listeriae and staphylococci. It tolerates 1% bile as well as low pH. The strain LP17L/1 produces enzyme beta-galactosidase. After its application in mice Balb/c, a reduction of coliforms in jejunum was noted at day 7 compared to day 0/1 and no mortality was noted. In broiler rabbits, LP17L/1

contributes to reparation ability of enterocytes. LP17L/1 sufficiently colonizes yoghurt and goat milk. Prophylactic application of LP17L/1 in mice Balb/c infected with *Trichinella spiralis* prevented imuno-supression of intestinal lymphocytes stimulated with *T. spiralis* infection and prevented pathological changes during intestinal phase of trichinelosis. *Lbc. plantarum* LP17L/1 was sequenced, it is deponed in GenBank under acces number AN: ON114094. It is also a part of patent application (PP50021-2022) and it was deponed in Czech Culture Collection with number CCM 9208.

REFERENCES

Bertier, F., Ehrlich, S. 1998. Rapid species identification with two groups of closely related lactobacilli using PCR that target the 16S/23SrRNA space region. In *FEMS in Microbiology Letters*, 23229783.

Dvorožňáková, E., Vargová, M., Hurníková, Z., Lauková, A., Revajová, V. 2022. Modulation of lymphocyte subpopulations in the small intestine of mice treated with probiotic bacterial strains and infected with *Trichinella spiralis*. In *Journal of Applied Microbiology*, vol. 132, pp. 4430-4439. Doi:10.1111/jsm.15534.

Focková, V., Styková, E., Pogány Simonová, M., Maďar, M., Kačírová, J., Lauková, A. 2022. Horses as a source of bioactive fecal strains *Enterococcus mundtii*. In *Veterinary Research Communications*, vol. 46, pp. 739-747. https://doi.org/10.1007/s11259-022-09893-9.

Klapáčová, L., Greif, G., Greifová, M., Tomáška, M., Hanuš, O., Dudríková, E. 2015. Antimicrobially active *lactobacilli* from goat's milk that do not produce biogenic amines. In *Journal of Food Nutrition Research*, vol. 54, pp. 270-274.

Lauková, A., Tomáška, M., Fraqueza, M. J., Szabóová, R., Bino, E., Ščerbová, J., Pogány Simonová, M., Dvorožňáková, E. 2022. Bacteriocin-producing strain *Lactiplantibacillus plantarum* LP17L/1 isolated from traditional stored ewes milk cheese and its beneficial potential. In *Foods*, vol. 11, pp. 959. https://doi.org/10.3390/foods11070959.

Pogány Simonová, M., Chrastinová, Ľ., Lauková, A. 2020. Autochtonous strain *Enterococcus faecium* EF2019 (CCM), its bacteriocin and their beneficial effects in broiler rabbits-A review. In *Animals*, vol. 10, pp. 1188, doi:10.3390/ani10071188.

The Slovak Spectator. Available online: https://spectator.sme.sk (accessed on 6th August 2011).

Uhrín, V., Lauková, A., Jančová, A., Plintovič, V. Mlieko a mliečna žľaza (in Slovak) Milk and mammary gland. Eds. Publ. No. 92 Nitra: Faculty of Natural Sciences of the University Constantinus Philosophus; 2002, p. 5-167, ISBN 80-8050-511-X.

Verma, K. D., Thakur, M., Singh, A., Tripathy, S., Gupta, K.A., Baranwal, D., Patel, A. R., Shah, N., Utama, G. L., Niamah, A. K. et al. 2022. Bacteriocins as antimicrobial and preservative agents in food: Biosynthesis, separation and application. In *Food Bioscience*, vol. 46, pp. 101594.

Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, CH. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattaralli, O., O. Toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J. et al. 2020. Taxonomic note on the genus lactobacillus: description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus Beijerinck 1901*, and union of *Lactobacillacae* and *Leuconostocacae*. In *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 70, pp. 2782-2858.

Acknowledgments: This work has been supported by the Slovak Research and Development Agency under the contract no. APVV-20-0204 and also by the project APVV-17-0028. We are also grateful to associated professor Maria Joao Fraqueza from Veterinary Faculty of Technic University in Lisbon (Portugal) for their help during plantaricin genes testing.

Contact address: Andrea Lauková, MVDr., CSc. (PhD) Centre of Biosciences of the Slovak Academy of Sciences, Institute of Animal Physiology, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice, Slovakia (CBv SAV, v.v.i. ÚFHZ, Košice) laukova@saske.sk; Martin Tomáška, Ing., PhD, Dairy Research Institute, a.s. Dlhá 95, 010 01 Žilina, Slovakia, tomaska@vumza.sk;Maroš Drončovský, Ing., Dairy Research Institute, a.s. Dlhá 95, 010 01 Žilina, Slovakia, chemia@vumza.sk; Marián Maďar, MVDr., PhD, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81, marian.madar@uvlf.sk; Eva Bino, MVDr. PhD, Centre of Biosciences of the Slovak Academy of Sciences, Institute of Animal Physiology, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice, Slovakia, bino@saske.sk; Emília Dvorožňáková, MVDr., PhD, Parasitological Institute of the Slovak Academy of Sciences, Hlinkova 3, 040 01 Košice, Slovakia, dvoroz@saske.sk; Ľubica Chrastinová, Ing., CSc., National Agriculture and Food Centre, Hlohovecká 2, 951 41 Nitra-Lužianky, lubica.chrastinova@nppc.sk; Monika Pogány Simonová, Centre of Biosciences of the Slovak Academy of Sciences, Institute of Animal Physiology, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice, Slovakia, simonova@saske.sk, Miroslav Kološta, Ing., PhD, Dairy Research Institute, a. s. Dlhá 95, 010 01 Žilina, Slovakia, kolosta@vumza.sk;

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

ANALÝZA VÝSKYTU BAKTÉRIÍ NA VYBRANÝCH LISTOVÝCH ŠALÁTOCH
ANALYSIS OF BACTERIA OCCURENCE ON THE SELECTED LEAFY LETTUCES

Juraj Medo, Michaela Játiová, Renáta Artimová, Lucia Zeleňáková, Jana Žiarovská

Abstract: Leafy vegetables are mostly consumed raw therefore bacteria found on leafy vegetables can pose a risk to consumers. A total of nineteen samples of lettuces were examined. We found a difference between the total viable count on the outer and inner leaves of lettuce, which form the head (iceberg lettuce, roman lettuce, lettuce). No significant difference was found when comparing lettuces. Using MALDI-TOF MS, we analysed bacterial species grown on VRBL agar and the most common bacterial species were: *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Raoultella*, *Pantoea*, *Serratia* and *Aeromonas*.
Keywords: lettuce, bacteria, variability

ÚVOD

Listová zelenina je v dnešnej dobe ľahko dostupnou potravinou - celoročne v supermarketoch, ako aj sezónne na trhoch. Propagácia diét a zdravého životného štýlu zvýšila dopyt po zelenine, nevynímajúc listovú. Stala sa významnou súčasťou jedálnička mnohých ľudí a za posledné roky je populárnou nie len pre ľahkú a osviežujúcu chuť, ale aj pre jej pozitívne zdravotné účinky. Prispieva obsahom vlákniny a iných živín, ako sú vitamíny A a C, minerálne látky - vápnik, draslík a horčík. Šalát je najkonzumovanejším spomedzi listových zelenín, hoci najobľúbenejšie odrody majú v porovnaní s inými nižšiu nutričnú hodnotu. Okrem pozitívneho prínosu zvýšená produkcia a konzumácia listovej zeleniny prináša aj riziká v podobe možného nakazenia sa patogénnymi baktériami nachádzajúcimi sa v potrave. Ľudia teda môžu byť ohrození kedykoľvek a mali by sa prijať všetky opatrenia na zníženie rizika pre verejné zdravie. Hoci zaužívaná predstava je, že choroby prenášané potravinami zvyčajne pochádzajú z mäsových a najmä hydinových výrobkov, zelenina a ovocie sa podieľajú na rôznych ohniskách nákazy (Alegbeleye et al., 2018). Čerstvé ovocie, zelenina, koreniny a orechy sú čoraz viac zodpovedné za prenos patogénov podieľajúcich sa na ochoreniach prenášaných potravinami (Somda et al., 2021). Zelenina, a to najmä listová, podlieha rýchlo skaze a často sa konzumuje bez tepelnej úpravy, čo môže spôsobiť zdravotné problémy konzumentom vzhľadom na prítomné mikroorganizmy.

Lactuca sativa L. je najkonzumovanejšia a najpestovanejšia spomedzi listovej zeleniny na celom svete, pričom produkcia sa neustále zvyšuje (Lozano et al., 2021). Do rodu Lactuca L. patria jednoročné, dvojročné a trváce byliny a ojedinele aj kry. (Lebeda et al., 2014). Tento rod spadá pod čeľaď Asteraceae, ktorá zahŕňa viac ako 1 600 rodov a 2 500 druhov s čakankou, šalátom, sedmokráskami, púpavou a artičokom ako najznámejšími predstaviteľmi. Rastliny z tejto čeľade sú distribuované na všetkých kontinentoch okrem Antarktídy a rastú na všetkých typoch biotopu vzhľadom na ich ľahkú ekologickú prispôsobivosť (Rolnik et al., 2021). Šaláty rodu *Lactuca* L. najčastejšie využívané v studenej kuchyni sú: Hlávkový šalát (*var. capitata L. nidus tenerrima* Helm), Ľadový šalát (*var. capitata L. nidus jäggeri* Helm), Rímsky šalát (*var. longifolia Lam., var. romana* Hort.), Lollo Bionda a Lollo Rosso (*var. acephala* Alef., syn. *var. secalina* Alef., syn. *var. crispa* L.) (Noumedem et al., 2017). Spôsoby rastu, štruktúra listov, tvar a farba sa medzi skupinami výrazne líšia (Still, 2007). Mikrobiálne spoločenstvá osídľujú rastliny vo všetkých štádiách vývoja. Semená často obsahujú významné množstvo kultivovateľných mikroorganizmov. Povrch nadzemnej časti rastlín, najmä listy, sú vhodným

prostredím pre rôzne mikrobiálne populácie (Lopez-Velasco et al., 2013). Šaláty na priamu spotrebu vykazujú prítomnosť rôznych mikrobiálnych ľudských patogénov vrátane *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, aeróbnych a kaziacich baktérií, kvasiniek a plesní. Šaláty pestované tradičným spôsobom sú vo všeobecnosti viac kontaminované ako tie pestované hydroponicky a vykazujú kontamináciu ako baktériami, tak aj parazitmi (Neto et al., 2012).

Cieľom štúdie bolo posúdenie množstva baktérií na rôznych vzorkách ako aj na vonkajších a vnútorných listoch šalátov získaných z obchodnej siete a od malopestovateľov a vyhodnotenie miery rizika, ktoré tieto baktérie predstavujú pre človeka.

MATERIÁL A METODIKA

V rámci štúdie bolo analyzovaných celkovo 18 vzoriek šalátov z obchodných sietí a 1 vzorky od malopestovateľa (tabuľka 1). Vzorky sa skladovali v chladiarenských teplotách a spracovali sa do 24 hodín. Jednotlivé vzorky sme priniesli v chladničke s mraziacimi lôžkami. Teplota pri prevoze sa pohybovala okolo 4 °C. Preprava bola uskutočnená v obchodných baleniach ak nebol produkt balený, uložený bol do polyetylénových vreciek.

Tabuľka 1 Zoznam vzoriek analyzovaných šalátov

Poradové číslo	Genotyp/Druh	Pôvod
1	Šalát s koreňom (vonkajšie aj vnútorné listy)	Slovensko
2	Rímsky šalát (vonkajšie aj vnútorné listy)	Česká republika
3	Rímsky šalát (vonkajšie aj vnútorné listy)	Česká Republika
4	Rímsky šalát (vonkajšie aj vnútorné listy)	Nemecko
5	Ľadový šalát (vonkajšie aj vnútorné listy)	Česká republika
6	Ľadový šalát (vonkajšie aj vnútorné listy)	Česká republika
7	Ľadový šalát (vonkajšie aj vnútorné listy)	Poľsko
8	Ľadový šalát (vonkajšie aj vnútorné listy)	Česká Republika
9	Ľadový šalát (vonkajšie aj vnútorné listy)	Španielsko
10	Hlávkový šalát (vonkajšie aj vnútorné listy)	Slovensko (trh)
11	Ľadový šalát (vonkajšie listy)	Česká Republika
12	Lollo Biondo	Slovensko
13	Šalát s koreňom	Slovensko
14	Šalát s koreňom	Slovensko
15	Little Gem šalát	Česká republika
16	Little Gem šalát	Česká republika
17	Little Gem šalát	Česká republika
18	Little Gem šalát	Španielsko
19	Balený umývaný šalát Frisée	Slovensko

Použité kultivačné médiá a roztoky

PCA agar (Plate Count agar)- agarové médium na počítanie kolónií (Himedia, India), zloženie a príprava podľa STN EN ISO 4833. VRBL agar (Violet Red Bile agar) (VČŽL agar) – Agar s kryštálovou violeťou, žlčovými soľami a laktózou- používa sa na koliformné baktérie. (Himedia, India), zloženie podľa STN EN ISO 4832. Brila bujón (Bujón s laktózou, žlčou a briliantovou zelenou) - na detegovanie koliformných baktérií, zloženie a príprava podľa STN EN ISO 4832.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Príprava vzoriek a platňová zrieďovacia metóda

Platňovou zrieďovaciu metódou sme zisťovali počet kolónií tvoriacich jednotku (KTJ) v 1 g vzorky. Použili sme desiatkový zrieďovací systém. Homogenizáciu sme uskutočňovali v polyetylénových vreckách s 400 µm filtrom v easyMIX Lab Blender AES peristaltickom homogenizátore. Riedenia sme použili na stanovenie CPM (celkový počet mikroorganizmov) a množstva koliformných baktérií.

Stanovenie počtu mikroorganizmov

Stanovenie počtu mikroorganizmov bolo uskutočnené metódou počítania kolónií kultivovaných pri 30°C. STN EN ISO 4833 (Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu mikroorganizmov. Metóda počítania kolónií kultivovaných pri 30 °C.)

MALDI-TOF MS analýza

Extrakcia vzoriek bola uskutočnená pomocou etanolu a kyseliny mravčej. Do mikroskúmavky (1,5 ml) sa napipetovalo 300 µl destilovanej vody. Z kutlivačnej misky sme odobrali biologický materiál, preniesli do mikroskúmavky s vodou a dôkladne premiešali. Množstvo biologického materiálu závisí od jednotlivých kolónií, odporúča sa 5-10 mg. Následne sa pridalo 900 µl etanolu a opäť premiešalo. Centrifugovanie sa vykonávalo pri maximálnych otáčkach po dobu dvoch minút. Po zliatí supernatantu sa centrifugovalo znovu a nakoniec bolo potrebné odstrániť zvyškový etanol pipetovaním. Po uschnutí peletu sa pridávalo 50 µl 70 % kyseliny mravčej – množstvo závisí od veľkosti biologického materiálu a je nutné upravovať množstvo pridanej kyseliny mravčej podľa potreby, nie však menej ako 1 µl. Do zvortexovanej zmesi sme prídali až 50 µl acetonitrilu (pridáva sa rovnaké množstvo ako kys. mravčej) a opäť nasledovalo dôkladné premiešanie pomocou odstredivky po dobu 2 minút. 1 µl supernatantu bolo nakvapkaných na doštičku a nechalo sa zaschnúť. Ihneď po zaschnutí supernatantu sme zakryli 1 µl roztoku MALDI matrice. Meranie MALDI-TOF hmotnostnej spektrometrie sa uskutočnilo na prístroji MicroFlex LT (Bruker Daltonics, Nemecko) pomocou MALDI BioTyper softvér na klasifikáciu a identifikáciu mikroorganizmov a MicroFlex LT softvér na kontrolu MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Nemecko). Spektrá boli porovnané s databázou Maldi BioTyper.

Pre štatistické analýzy sme použili program STATGRAPHICS Centurion 19 (Statgraphics Inc.). Na vyhodnotenie rozdielov v množstve mikroorganizmov (CPM a koliformné baktérie) sme použili jednofaktorovú (one-way) analýzu rozptylu, doplnenú porovnaním priemerov pomocou Fisherovho LSD testu na hladine významnosti α=0,05. Ak sme v skúmanej vzorke nenašli žiadne kolónie počet sme vyjadrili 0. Všetky počty kolónií sme pred analýzou logaritmicky transformovali pre získanie dát s normálnym rozdelením. Aby bolo možné využiť logaritmickú transformáciu vo vzorkách s nulovým počtom KTJ, k množstvu KTJ v každej vzorke sme pripočítali 1. Pre porovnanie množstva KTJ na vnútorných a vonkajších listoch u šalátov ktoré tvoria hlávku sme použili párový t-test.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Ako prvé bolo analyzované celkové množstvo mikroorganizmov (CPM) na skúmaných vzorkách, aby sme získali prehľad o všeobecných množstvách baktérií vyskytujúcich sa na vzorkách. Po uplynutí kultivačnej doby sme za každým spočítali vyrastené kolónie na miskách s PCA agarom. Pomocou vzorca sme ďalej vypočítali celkové množstvo mikroorganizmov a preniesli výsledky do tabuľky. V tabuľke č. 2 môžeme vidieť CPM našich vzoriek. Pri vzorkách

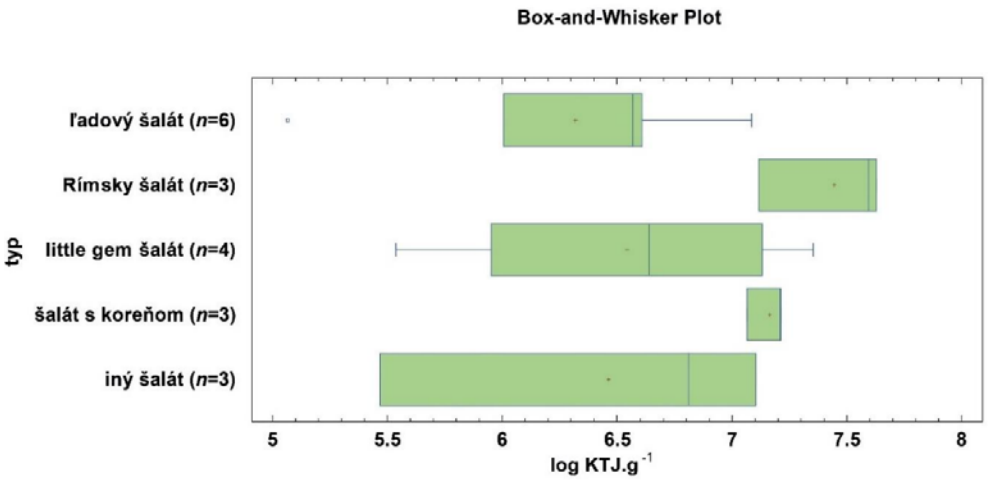
https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

(prvých 10), kde sa vykonávala analýza na porovnanie vonkajších a vnútorných listov, boli vypočítané priemery.

Ďalej sme porovnávali jednotlivé druhy šalátov a skúmali, či existuje rozdiel medzi množstvom baktérií vyskytujúcich sa na vzorkách ľadového šalátu, rímskeho šalátu, little gem šalátu, šalátu s koreňom a ostatnými, pod ktoré sme zaradili lollo biondo a friseé. Rovnakým spôsobom pomocou analýzy rozptylu sme vyhodnotili aj prípadné rozdiely medzi druhmi šalátu. V tomto prípade bola však P hodnota vyššia ako 0,05 (P=0,1466), čo poukazuje na to, že štatisticky významný rozdiel neexistuje (ANOVA df=4, F-Ratio= 2,02, P-Value= 0,1466). Obrázok 1 zobrazuje variabilitu hodnôt aj s priemernou hodnotou označenou krížikom v prostriedku boxov. Až na rímsky šalát sa žiadna zo vzoriek rapídne nevymyká priemeru. I keď rozdiel nie je štatisticky významný, podľa grafického zobrazenia sa zdá že rímsky šalát je viac osídlený mikroorganizmami v porovnaní s ostatnými druhmi šalátov.

Tabuľka 2 CMP vo vzorkách analyzovaných šalátov

vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}
1	$1,2.10^7$	2	$3,9.10^7$	3	$1,3.10^7$	4	$4,2.10^7$	5	$1,2.10^7$
vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}
6	$3,9.10^7$	7	$1,2.10^7$	8	$4,1.10^7$	9	$1,0.10^7$	10	$3,0.10^7$
vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}
11	$3,5.10^7$	12	$6,5.10^7$	13	$1,6.10^7$	14	$1,6.10^7$	15	$8,2.10^7$
vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}	-	-
16	$2,3.10^7$	17	$2,3.10^7$	18	$3,5.10^7$	19	$1,3.10^7$	-	-



Obrázok 1. BoxPlot graf rozdielu medzi druhmi šalátu (PCA)

Skúmali sme potenciálny rozdiel medzi kvantitou baktérií na vonkajších a vnútorných listoch šalátov. Použili sme vzorky tvoriace hlavu ako hlávkový šalát, ľadový šalát, rímsky šalát a šalát s koreňom. Rozdiely medzi vnútornými a vonkajšími listami sme vyhodnotili párovým t-testom. Testovali sme hypotézu rozdielu medzi jednotlivými listami vo vzorkách a určené bolo, že rozdiel je štatisticky významný. Keďže P-hodnota pre tento test nám vyšla menšia ako 0,05, môžeme zamietnuť nulovú hypotézu o zhodnosti priemerov na úrovni spoľahlivosti 95,0 %. Teda hodnota P (P-Value = 0.00964231) nám poskytla vysoko štatisticky

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

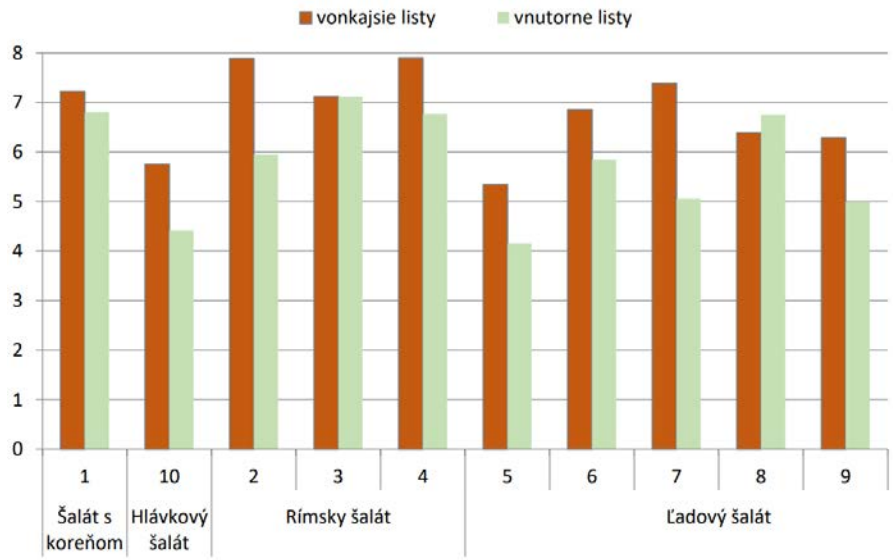
preukázateľný rozdiel medzi množstvom mikroorganizmov na vonkajších a vnútorných listoch. Priemerný rozdiel medzi počtom KTJ na vonkajších a vnútorných listoch bol 0.937056 log10 KTJ, čo predstavuje približne 8,6 násobne vyšší počet na vonkajších listoch (tabuľka 3). Porovnávanie listov v strede hlávky a na vonkajšej časti sme vykonali aj pri vzorke šalátu Lollo biondo. Tento šalát ale nemá kompaktnú rozetu, a preto sú mladé a aj staršie listy približne rovnako vystavené potenciálnej kontaminácii z prostredia. To bol dôvod nezaradenia tejto vzorky do analýzy.

Tabuľka 3 Rozdiely CMP v analyzovaných vzorkách vnútorných a vonkajších listov šalátov.

vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}
1-VN 1-VO	6,5.10^{7} 1,7.10^{7}	2-VN 2-VO	7,7.10^{7} 8,7.10^{7}	3-VN 3_VO	1,3.10^{7} 1,3.10^{7}	4-VN 4-VO	7,9.10^{7} 5,8.10^{7}	5-VN 5-VO	2,2.10^{7} 1,5.10^{7}
vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}	vzorka	CPM KTL.g^{-1}
6-VN 6-VO	7,2.10^{7} 7,0.10^{7}	7-VN 7-VO	2,4.10^{7} 1,1.10^{7}	8-VN 8-VO	2,5.10^{7} 5,6.10^{7}	9-VN 9-VO	1,9.10^{7} 9,8.10^{7}	10-VN 10-VO	5,6.10^{7} 2,6.10^{7}

Pozn. VN – vnútorné listy; VO – vonkajšie listy

Na obrázku 2 ú vzorky rozdelené podľa kompaktnosti hlávky. V grafickom vyobrazení vidíme jasný rozdiel medzi listami vonkajšími a listami vo vnútri roziet. V 9 vzorkách bola väčšia koncentrácia mikroorganizmov na vonkajších lístok a v jednej vzorke sme analýzou zistili CPM na vonkajších listoch 6,4 log10 KTJ.g^{-1} v porovnaní s vnútornými kde bolo o malé množstvo viac 6,8 log10 KTJ.g^{-1}.



Obrázok 2. Kvantitatívne porovnanie CPM vonkajších a vnútorných listov vybraných šalátov

Analýzou v MALDI-TOF sme potvrdzovali baktérie vykultivované na platniach s VRBL agarom. Do úvahy sme brali baktérie tvoriace bublinu, ale aj tie, ktoré tvorili zákal. To znamená, že nie všetky izoláty, ktoré sme mali k dispozícii patrili ku koliformným baktériám. Analýzou sme potvrdili prítomnosť koliformných baktérií: *Enterobacter*, *Raoultella*,

Klebsiella, *Citrobacter*, *Leclercia* (*Enterobacteriaceae*), *Pantoea* (*Erwiniaceae*, nedávno oddelená od rodu *Enterobacter*), *Serratia* (*Yersiniaceae*) a *Aeromonas* (*Aeromonadaceae*). Okrem tých sme dokázali prítomnosť nasledujúcich baktérií: *Acinetobacter*, *Pseudomonas* a *Staphylococcus warneri*. Takmer vo všetkých vzorkách boli pomocou MALDI-TOF identifikované koliformné druhy baktérií. Výnimkou sú vnútorné listy šalátu s koreňom, kde sa nachádzal *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas oleovorans* a vnútorné listy rímskeho šalátu, ktoré boli pozitívne na prítomnosť *Acinetobacter calcoaceticus*. Aj tieto skutočnosti naznačujú nižšiu kontamináciu listov v „srdiečku" roziet. Z 24 vzoriek skúšaných pomocou MALDI-TOF boli baktérie patriace do čelade *Enterobacteriaceae* prítomné v 75 % a z celkového množstva vzoriek použitých v tejto práci je to 51% (18/35 vzoriek). Najpočetnejšie zastúpenie spomedzi koliformných baktérií v 24 analyzovaných vzorkách mala baktéria *Enterobacter* a to 39,39 %. Izoláty baktérie *Enterobacter* spĺňajúce hodnotu pravdepodobnosti 2,30-3,00, čo znamená spoľahlivú identifikáciu druhu, boli: *Enterobacter kobei* a *Enterobacter cloacae*. Ostatné koliformy spĺňajúce túto podmienku sú *Klebsiella variicola*, *Klebsiella oxytoc* a *Serratia ureilytica*. Spoľahlivú identifikáciu rodu a pravdepodobnú identifikáciu druhu predstavuje rozmedzie čísiel 2,00-2,29. Túto podmienku spĺňa 34 koliformov z 66 kolifomných baktérií potvrdených v MALDI-TOF.

V štúdií zameranej na rímsky šalát a rukolu uvádzajú Arienzo et al. (2020) priemerné koncentrácie CPM v deň balenia a deň expirácie. Priemerná koncentrácia v deň balenia bola 6,63 (±0,64) a 7,63 (±0,42) log10 KTJ.g^{-1} , s priemerným nárastom o 1 log jednotku (+15 %) v deň exspirácie. Naše vzorky rímskeho šalátu ukazujú nasledovné koncentrácie CPM 1,3-4,2.107 KTJ.g^{-1} (7,1-7,6 log10 KTJ.g^{-1}) a pre rukolu 4,0.106 -3,8.107 (6,6-7,6 log10 KTJ.g^{-1}). Baktérie na rímskom šaláte a šaláte lollo biondo boli analyzované aj Fiedlerom (2021), ktorý uvádza priemernú hodnotu 6,25 log10 KTJ.g^{-1} v produkte určenom na predaj.

Ľadový šalát bol mikrobiologicky analyzovaný Osaili et al. (2018) a CPM pre dané vzorky sa pohyboval v nasledovných hodnotách 6,73 ± 0,26 log KTJ.g^{-1} do 7,03 ± 0,30 log KTJ.g^{-1}. Spriemerované hodnoty pre naša vzorky sú 6,6 log KTJ.g^{-1}, čo je v rozmedzí rovnakom, ako zistili aj v danej štúdií. Vo všeobecnosti ale môžeme tvrdiť, že počty získané z našich analýz CPM sú porovnateľné s ostatnými publikovanými štúdiami a nie sú tam rapídne výkyvy výsledkov.

Celkový počet mikroorganizmov je dobrým ukazovateľom zmeny komunít pred spracovateľským obdobím a po ňom. Ale dôležitým faktorom poznania rizika pre ľudské zdravie je určenie množstva a druhového zloženia baktérií. Fiedler (2021) sledoval množstvá koliformných baktérií a pri porovnaní s CPM dospel k záveru, že hodnoty sa priemerne znižujú o jednu až dve logaritmické jednotky, čo je podobné s našimi výsledkami. V priemere uvádza pre enterobaktérie 5,22-5,28 log10 KTJ.g^{-1}. Výsledky jeho kultivácie nepreukázali žiadne podstatné zníženie enterobaktérií pred a po spracovaní produktov.

Nami analyzované vzorky obsahovali niekoľko druhov koliformov, čo potvrdila aj identifikácia pomocou MALDI-TOF MS. Srisamran et al. (2022) Sledovali koliformné baktérie vo viacerých rastlinných vzorkách, medzi ktorými boli aj šaláty. Z 24 vzoriek šalátov použitých v danej štúdií boli všetky pozitívne na prítomnosť koliformných baktérií a 4 obsahovali baktériu *Salmonell*a. Napríklad aj Fiedler (2021) uvádza prítomnosť ľudských patogénov v jeho vzorkách listovej zeleniny, ktoré boli podobné našim. Detegoval prítomnosť baktérií *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* a *Escherichia coli* produkujúce toxín shiga (vrátane O26:H11). Tie boli zistené v jeho 13 vzorkách z 561 skúmaných šalátov a vzoriek zeleniny. Okrem toho boli v 19 z 239 skúmaných vzoriek zistené enterobaktérie produkujúce beta-laktamázy (ESBL). Medzi pozitívne identifikované patrili *Klebsiella pneumoniae* a *Escherichia coli*. Tieto kmene vykazovali mnohonásobnú rezistenciu voči fluorochinolónom, aminoglykozidom, tetracyklínom. Osaili et al. (2018) hodnotili 30 vzoriek ľadového šalátu a dospeli k identifikácií

nasledovných druhov baktérií: *Klebsiella pneumonia* spp. (13 izolátov), *Enterobacter cloacae* (11 izolátov) a *Klebsiella oxytoca* (3 izoláty), zatiaľ čo *Pantoea* spp, *Leclercia adecarboxylata* a *Kluyvera ascorbata* boli v ich prípade identifikované z troch vzoriek. I keď sú v iných štúdiách rozdiely, v každej sa nájdu zhodné identifikácie s našimi analýzami. Osaili et al. (2018) sa taktiež venovali pozorovaniu zmien po umývaní šalátu a zhodnotili zanedbateľné rozdiely medzi kontamináciou baktériami rodu *Enterobacteriaceae* pred a po umytí.

ZÁVER

Vzhľadom na možné riziko, ktoré spôsobuje tepelne neupravená listová zelenina sme sa v práci rozhodli mikrobiologicky analyzovať vzorky šalátov. V analýzach sme zistili početnú prítomnosť mikroorganizmov a aj koliformných baktérií. Porovnávali sme párovým testom rozdiel medzi vonkajšími a vnútornými listami šalátov s kompaktnou hlávkou pri CPM, rozdiel bol štatisticky významný. Prišli sme k záveru, že na vnútorných listoch, ktoré formujú hlávku šalátov, je menší výskyt baktérií. Venovali sme sa aj analýzam pomocou MALDI-TOF. Pomocou MALDI-TOF MS sme identifikovali koliformné baktérie: *Enterobacter, Raoultella, Klebsiella, Citrobacter, Leclercia (Enterobacteriaceae), Pantoea (Erwiniaceae, nedávno oddelená od rodu Enterobacter), Serratia (Yersiniaceae) a Aeromonas (Aeromonadaceae).*

LITERATÚRA

Alegbeleye, O. O. et al. 2018. Sources and contamination routes of microbial pathogens to fresh produce during field cultivation: A review. In *Journal of Food Microbiology*, vol. 73, pp 77-208.

Fiedler, G. 2021. Mikrobiologische Sicherheit von Gemüse und Salat: pathogene und antibiotikaresistente Bakterien und Veränderungen der Mikrobiota während der Verarbeitung zu Fresh-Cut Salaten: doktorandská dizertačná práca. Kiel university. 5, 68 s.

Lebeda, A. et al. 2014. Wild Lactuca species, their genetic diversity, resistance to diseases and pests, and exploitation in lettuce breeding. In *European Journal of Plant Pathology*, vol. 138, pp. 597–640.

Lopez-Velasco, G. et al., 2013. Diversity of the spinach (*Spinacia oleracea*) spermosphere and phyllosphere bacterial communities. In *Journal of FEMS Microbiology Letters*, vol. 346, no 2, pp. 146–154.

Lozano, I. M. et al. 2021. Nutritional value of commercial and traditional lettuce (*Lactuca sativa* L.) and wild relatives: Vitamin C and anthocyanin content. In *Journal of Food Chemistry*, vol. 359, pp. 2-4.

Neto, N. J. G. et al. 2012. Bacterial counts and the occurrence of parasites in lettuce (*Lactuca sativa*) from different cropping systems in Brazil. In *Journal of Food Control*, vol. 50.

Noumedem, J. A. K. et al. 2017. Medicinal Spices and Vegetables from Africa, Chapter 20 - *Lactuca sativa*, vyd. Academic Press 437-449. ISBN 9780128092866.

Osaili, T. M. et al. 2018. Decontamination and survival of *Enterobacteriaceae* on shredded iceberg lettuce during storage. In *Journal of Food Microbiology*, vol. 73, pp. 129-136.

Rolnik, A.et al. 2021. Antioxidant and hemostatic properties of preparations from *Asteraceae* family and their chemical composition – Comparative studies. In *Journal of Biomedicine & Pharmacotherapy* [online], vol. 142

Somda, N. S. et al. 2021. Diversity and antimicrobial drug resistance of non-typhoid *Salmonella* serotypes isolated in lettuce, irrigation water and clinical samples in Burkina Faso. In *Journal of Agriculture and Food Research*, vol. 5, pp. 1.

Srisamran, J., Atwill, E. R., Chuanchuen, R., Jeamsripong, S. 2022. Detection and analysis of indicator and pathogenic bacteria in conventional and organic fruits and vegetables sold in retail markets. In *Food Quality and Safety*, vol. 6, fyac013

Still, D. 2007. Vegetables, chapter 2 Lettuce, vyd. Springer Berlin. ISBN: 978-3- 540-34535-0.

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

Kontaktná adresa: Juraj Medo Ing. PhD., Ústav Biotechnológie, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

HISTAMÍN A JEHO VPLYV NA MYKOBIOTU VÍNA POČAS FERMENTAČNÉHO PROCESU
HISTAMINE AND ITS EFFECT ON WINE MYCOBIOTA DURING THE FERMENTATION PROCESS

Ivana Regecová, Jana Výrostková, Boris Semjon, Slavomír Marcinčák, Martin Bartkovský, Peter Očenáš, Lýdia Mesarčová

Abstract: Study focuses on the detection of mycobiota in soil samples, grape leaves and berries and samples taken from fermenting must and young wine (the variety Tramín červený) in relation to the detected concentrations of histamine during the fermentation process. In the examined samples, the number of yeasts and molds (from 3.8 to 6.8 log cfu/g or ml) were determined via culture examination. Highest concentration of histamine a the highest number of yeasts was detected on day 6 in the investigated must samples. At the same time, mycobiota species were identified by ITS-PCR-RFLP and PCR sequencing of the amplified products. The study confirmed the presence of the yeasts *Saccharomyces cerevisiae, Metschnikowia pulcherrima, Hanseniospora uvarum, Pichia kudriavzevii, Pichia kluyveri, Pichia fermentas, Torulaspora delbrueckii, Candida tenuis* and some species of molds. The study confirmed the reduction of the species diversity of the mycobiota during the must fermentation process, which resulted in a decrease in the concentration of monitored biogenic amine in the early stages of the must fermentation process and young wine of the Tramín červený.
Keywords: histamine, ITS-PCR-RFLP, mycobiota, sequencing, yeast

INTRODUCTION

The physical and chemical parameters of The Eastern Slovak wine-growing area determine the growth of plants in this geographical area (eg. temperature, humidity, precipitation, nut-rient content in the soil and sunlight). These natural factors have a significant impact on the occurrence of microorganisms in the ecosystem. Of all the microorganisms present on the surface of grapes, yeast is the most important (Nedomová et al., 2016). Yeast populations on immature berries are low. At this stage, species such as *Rhodotorula, Cryptococcus* and *Candida* occur in particular. Representatives of the genera *Saccharomyces, Hanseniaspora, Metschnikowia* and *Zygosaccharomyces* predominate during the maturity stage (Albergaria and Arneborg, 2016). The presence of yeast depends on local and climatic influences, altitude, grape variety, disease and the degree of damage to the grapes. In general, the ripening of the grapes also increases the number of yeasts one to two times closer to the stem of the vine (Felšöciová, 206).

During fermentation also occur to other genera and species of microorganisms, which ultimately positively affect the taste, smell the wine, but can also have a negative impact (Fugelsang and Edwards 2007; Piknová et al., 2017). All these microorganisms can be found ecologically linked to the wine environment (Spano and Torriani, 2016). Molecular biological methods in yeast identification can reliably determine which species are found in a given wine-growing area as well as which species apply at a certain stage of fermentation and how they affect this process. From grapes and wine, many yeast genera have been identified by molecular biological methods such: *Brettanomyces, Candida, Kloeckera/Hanseniaspora, Kluzveromyces, Metschnikowia, Pichia, Saccharomyces* and *Zygosaccharomyces* (Bartowsky, 2017).

MATERIAL AND METODOLOGY

The examined samples were taken from the soil, berries, vine leaves and from Tramin red must. Samples were taken from the Eastern Slovak wine-growing region, the Sobranecký region and in the wine-growing village of Orechová. Samples were taken in September 2021. The must sample with a sugar content of 21.5 °Brix was filled into a 100 liter stain-less steel container. Subsequently, it was spontaneously fermented and samples were taken from the fermenting must on days 0., 2., 4., 6., 8. and after 4 weeks of fermentation for analysis of the presence of biogenic amine and mycobiots of the fermenting must and young wine.

A stock suspension and further 10-fold dilutions were prepared from sterile 1 ml samples according to the instructions of the ISO standard 6887-1 (2017). From the prepared dilutions a microbiological culture examination of the samples was subsequently per-formed.

The quantitative determination was performed according to the ISO standard 21527-1 (2010) by Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol (DRBC) agar (Hi-Media, India). After incubation, only inocu-lated petri dishes containing a colony count of less than 150 were selected for quantifica-tion. Subsequently, 5 colonies from the group with the same phenotypic characteristics were isolated from the surface of the agar medium and used for further analysis.

Yeasts and molds species identification was first performed by PCR. The total genomic DNA of the tested isolates was isolated by a modified method ac-cording to Regecova et al. (2019) using zirconium and glass beads, Proteinase K (Macherey-Nagel GmbH & Co., Germany), ultrasonic waves and the commercially available E.Z.N.A.® Fungal DNA Mini Kit (OMEGA bio-tek, USA). DNA purity and concentration were measured using a BioSpec spectrophotometer (SHIMADZU, Austria).

The rRNA region of the gene was amplified in a Thermal Cycler (Techne, Cambridge, UK). The primers used in the PCR reaction to amplify the ITS region (ITS1 and ITS4) were synthesized and used according to White et al. (1990). The PCR reaction proceeded as follows: initial denaturation at 95 °C/5 minutes followed by 30 cycles of denaturation at 95 °C for 1 minute; annealing at 53 °C/2 minutes and extension at 72 °C/2 minutes; final exten-sion performed at 72 °C for 10 minutes. The obtained PCR products were digested by re-striction endonucleases *Mse*I, *Hha*I, *Hae*III and *Hinf*I (New England BioLabs®inc., USA). PCR products and restriction fragments were visualized via UV translumination used by Mini Bis Pro® (DNR Bio-Imaging Systems Ltd., Israel). Products with concentrations less than 40 ng did not appear on the electropherogram. The sizes of the individual fragments were detected using the GelAnalyzer 19.1 program. (version 14.0.0.0; Oracle Corporation, California). The restriction profiles of the yeast reference strains (*Candida tenuis* ATCC 10573 ™, *Pichia kluyveri* ATCC 9768 ™, *Pichia fermentas* ATCC 204298 ™, *Metschnikowia pulcherrima* ATCC 52710 ™, *Hanseniospora uvarum* ATCC 32856 ™, *Torulaspora delbrueckii* ATCC 204289™, *Saccharomyces cerevisiae* 9763™) were used to verify the correct yeast spe-cies whereby identification took place via the ITS-PCR-RFLP method.

Identification by ITS-PCR-RFLP using endonucleases *Mse*I, *Hha*I, *Hae*III and *Hinf*I was not sufficiently differentiated. Therefore, the identification of molds were performed using the conventional PCR method according to White et al. (1990) and subsequent sequencing of the obtained PCR fragments was performed by a commercial company (SEQme s.r.o., Dobříš, Czech Republic). The obtained isolates were sent to the GenBank — EMBL database for comparison with the sequences available in the nucleotide database of the National Center for Biotechnology Information (NCBI) available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST (accessed on 10 April 2022).

Determination of biogenic amine in must and young wine was performed using ultra-high performance liquid chromatography with a fluorescence detector. To analyze biogenic amines (histamine) the Thermo Scientific UHPLC system (Dionex UltiMate 3000 RS) coupled

with a fluorescence detector (FLD) was used. A YMC-Triart PFP column (150 × 3.0 mm, 1.9 µm) was used to separate the biogenic amine in the wine samples at a flow rate of 0.4 ml/min. The mobile phase consisted of (A) acetonitrile and (B) 0.1 mol.l^{-1} of ammonium acetate and an isocratic elution of 55% (A): 45% (B) was ap-plied. The column temperature was maintained at 25 ± 0.5 °C. Standard stock solution of investigated biogenic amine (histamine) was prepared by dissolving each standard into deionized water to a concentration of 1000 mg.l^{-1}. In the case of wine processing, the sample is initially diluted with hydrochloric acid (0.1 mol.l^{-1}) in a ratio of 1:1 and then evaporated to dryness. Afterward, the aliquot of these biogenic amine stand-ard stock solutions (to a concentration of 100 mg.l^{-1})/sample residue was added in 2 ml deionized water. To prepared solutions. 0.3 g NaHCO3 and dansyl chloride solution (2 mg.l^{-1}) was added. After sealing and mixing, the derivatization reaction was performed at room temperature for 90 min in dark. Subsequently, toluene (4 ml) were added, to which the derivatized BAs were extracted. One milliliter of toluene extract was taken and evaporated to dryness. The residue was dissolved in 1 ml of acetonitrile and filtered through a 0.2 µm nylon syringe filter. The thus filtered solutions were used for UHPLC analysisin the amount of 5 µl. The excitation and emission wavelengths were set at 320 nm and 523 nm in the FLD detector, respectively. Identification of biogenic amine was carried out by comparing their retention time with their corresponding standard. The quantitation of biogenic amine in wine samples was performed by a standard curve gen-erated by a ratio of peak area to the concentration of each biogenic amine.

RESULTS AND DISCUSSION

Quantification of yeasts were monitored during the microbiological examination of the samples soil, leaf, berries and must. The number of yeasts in each sample (soil, leaf, berries) ranged from 3.8 ± 0.1 to 5.3 ± 0.1 log cfu.g^{-1}. Higher numbers of yeasts were found in the soil sample at 5.3 ± 0.1 log cfu.g^{-1} followed by samples of vine leaves with a representation of 5.0 ± 0.1 log cfu.g^{-1}. Samples were taken from the must before fermentation (day 0) and on days 2, 4, 6, 8 and after 4 weeks of fermentation. The number of yeasts and molds in sample of must ranged from 4.5 ± 0.1 to 6.9 ± 0.1 log cfu.ml^{-1}. During the fermentation of the must, the numbers increased (Figure 1).

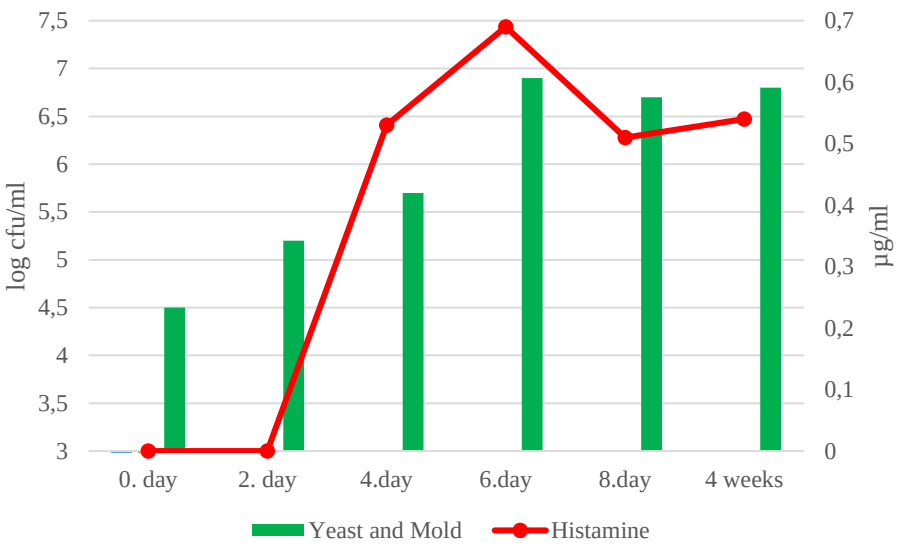


Figure 1 Quantitative yeast and mold examination in relation to the concentration of histamine of must and young wine (sd: ± 0.1).

After quantitative microbiological culture examination of the samples, a more detailed detection of mycobiota was performed. For exactly species identification, ITS-PCR-RFLP was performed using endonucleas-es *Hae*III, *Hinf*I, *Mse*I, *Hha*I. The individual sizes of the PCR products and restriction frag-ments are listed in Table 1. Eight species of yeast were identified: *Candida tenuis, Pichia kluyveri, Pichia fermentas, Pichia kudriavzevii, Metschnikowia pulcherrima, Hanseniospora uvarum, Torulaspora delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae*.

Table 1 PCR products and restriction patterns of yeast (bp)

Yeast species	**PCR product**	**RFLP-ITS-PCR**			
	bp	***Hae*III**	***Hinf*I**	***Mse*I**	***Hha*I**
Candida tenuis	680	500;150	300;180;	370;120;50	320;130
Pichia kluyveri	470	375; 85	250;220	271;95;	141;98;69
Pichia fermentas	470	340;85	260;210	150; 120	170; 110; 80
Pichia kudriavzevii	470	361;71;31	198;137;135	466	185;158;69
Metschnikowia pulcherrima	450	285;100	200	265;52	210;100
Hanseniospora uvarum	750	750	350;200;180	300;140;100	320; 105
Torulaspora delbrueckii	850	845	410;380;100	-	210;130;100
Saccharomyces cerevisiae	900	310	360	-	360;340

The *Hha*I endonuclease had the greatest resolution in yeast, which cleaved the PCR products obtained into fragments that were well differentiated in the individual yeast species. The endonucleases *Hae*III and *Hinf*I had a lower resolution. Therefore, the endonuclease *Mse*I was used for more accurate identification. However, this endonuclease was not used in the case of *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspora delbrueckii* due to its low resolution in these yeast species.

Table 2 Identification of isolated molds from the examined samples

Number isolate	**Species**	**Number ITS sequence in Gen Bank**
PLM1	*Cladosporium herbarum*	MT524447.1
PLM2	*Botritis cinerea*	MT573470.1
PLM 3	*Cladosporium cladosporioides*	ON005144.1
PLM 4	*Cladosporium cladosporioides*	LR778221.1
PLM 5	*Botritis cinerea*	MK562062.1
PLM 6	*Botritis cinerea*	MT573470.1
PLM7	*Penicillium granulatum*	MT598824.1
PLM 8	*Cladosporium cladosporioides*	MT573472.1
PLM9	*Cladosporium cladosporioides*	MT466517.1
PLM10	*Penicillium mononematosum*	MN794476.1
PLM11	*Penicillium glabrum*	MT441616.1

Mold isolates formed non-specific fragments upon cleavage of their PCR fragments by the above-mentioned endonucleases. Therefore, sequencing of the amplified PCR products was performed to identify molds. As seen from the results in Table 2, the largest number of isolates was isolated from soil samples (4 isolates) and leaf samples (4 isolates). At the same time, molds were still present in leaf samples, vine berries and freshly pressed grape must. Molds were not detected in the samples of fermenting must and young wine.

Percentages of individual yeast species after prior identification were recalculated retrospectively based on phenotypic expression and colony growth on inoculated plates (Table 3). In the soil, the most represented species included *Metschnikowia pulcherrima* 7 %, *Candida tenuis* 7 % and *Pichia kluyveri* 5 %. *Metschnikowia pulcherrima* 4 % and *Hanseniospora uvarum* 4 % were most frequently detected in leaf samples. *Metschnikowia pulcherrima* 17 % and *Hanseniospora uvarum* 7% were the most represented on grape berries. Felšöciová (2016), too states the presence yeasts species are on the surface of berries including the genera *Hanseniospora uvarum, Metschnikowia pulcherrima, Candida stellata* and small numbers of *Saccharomyces* sp.

Table 3 Percentages of individual yeast species

Species yeast	**soil**	**leaf**	**berries**	**must and young wine**					
				0. day	**2. day**	**4.day**	**6. day**	**8. day**	**4 weeks**
Candida tenuis	7	1	4	11	11	10	8	1	-
Pichia kluyveri	5	1	5	15	14	14	12	-	-
Pichia fermentas	2	1	4	8	7	5	-	-	-
Pichia kudriavzevii	4	3	4	7	3	-	-	-	-
Metschnikowia pulcherrima	7	4	17	27	26	15	9	-	-
Hanseniospora uvarum	3	4	7	15	11	3	2	-	-
Torulaspora delbrueckii	2	2	3	7	11	16	22	5	1
Saccharomyces cerevisiae	5	1	4	10	17	37	47	94	99

The beginning of spontaneous fermentation was ensured by the species *Metschnikowia pulcherrima, Hanseniospora uvarum* and *Pichia kluyveri* which were detected mainly in the initial stages of fermentation.

The numbers of this type of yeast in our study continuously decreased during the fermentation process of must. In the last sampling of young wine, after 4 weeks of fermentation, only 2 species of yeast were identified- *Saccharomyces cerevisiae* at 99 % and *Torulaspora delbrueckii* at 1 %.

Viel et al. (2017) examined the genetic diversity of the *Saccharomyces cerevisiae* population in the vineyards of three neighboring wine-growing areas with a protected designation of origin in north-eastern Italy. They found that in white grape varieties, the presence of *Saccharomyces cerevisiae* in vineyards is very limited. On the contrary, it seems to be much more abundant in vineyards with blue must varieties. A greater occurrence of these yeasts was confirmed in the western part of the vineyard area. Furthermore, they found that industrial yeast isolates added prior to must fermentation suppress the original indigenous yeast isolates present in the vineyard must. The dominant yeast microflora in healthy grapes at harvest consists of species that survive in the must only during the first hours of fermentation. Other ascomycete genera, such as *Hanseniaspora, Candida, Pichia, Torulaspora, Kluyveromyces* and

Metschnikowia may survive longer and together dominate during the fermentation process until *Saccharomyces cerevisiae* takes over the alcoholic fermentation. It is the genera *Hanseniaspora, Candida, Kluyveromyces, Cryptococcus, Kloeckera, Pichia, Metschnikowia, Rhodotorula, Torulaspora* and *Zygosaccharomyces Saccharomyces cerevisiae* that contribute significantly to the formation of wine aroma (Lambrechts and Pretorius, 2020).

In addition to yeasts, our work also identified individual species of molds which were detected only in soil samples, leaves, berries and grape juice namely, *Cladosporium herbarum, Cladosporium cladosporioides, Penicillium granulatum, Penicillium mononematosum, Botritis cinerea* and *Botritis cinerea*. According to Barata et al. (2012) and Liu et al. (2021), in freshly crushed grape must, mold communities are very diverse and characterized by genera such as *Aureobasidium, Cladosporium, Penicillium* and *Botritis* which come from a wine-growing ecosystem. However, geographical signatures decrease during spontaneous fermentation of wine, as the growth of yeast yeast decreases the diversity and composition of the community, especially *S. cerevisiae*.

To monitor the presence and changes in the concentrations of biogenic amine (histamine) in the must during fermentation, we used samples of Tramin red of the year 2021. As shown in Figure 1, the increase in concentration of monitored (biogenic amine) BA occurred during the same phase of the fermentation process. A sharp increase in the concentration of histamine in the must was recorded between the 2nd and 6th day of must fermentation. The highest concentrations of monitored BA were recorded on day 6 (Figure 1).

Precisely yeast is involved in BA production during the same time as LAB. There is a general agreement that yeast produces a less significant proportion than LAB do in terms of the final BA content of wine. Several studies on yeast production have been performed and most have only quantified histamine (Granchi et al., 2005; Torrea et al., 2002). In general, amines play an important metabolic role in living cells. Polyamines are essential for growth; amines other than histamine is involved in the function of the nervous system and blood pressure control. Biogenic amines are undesirable because if absorbed in too high concentrations, they can cause headaches, difficulty breathing, palpitations, hypertension or hypotension and several allergic disorders (Santos, 1996). The most toxic BA is histamine and its effect may be potentiated by other amines (Chu and Bjeldanes, 1982).

CONCLUSION

The study confirmed the biodiversity of the mycobiota in the variety Tramin červený originating from the Eastern Slovakia winegrowing region. It pointed out the close relationship between and non-*Saccharomyces* yeasts and the production of histamine. At the same time, it confirmed the weak correlation between the yeast Saccharomyces cerevisiae and the formation of the monitored BA.

REFERENCES

Albergaria, H., Arneborg, N. 2016. Dominance of *Saccharomyces cerevisiae* in alcoholic fermentation processes; role of physiological fitness and microbial interactions. In *Applied Microbiology and Biotechnology* [online], vol. 100, pp. 2035-2046 [cit. 2022-07-18]. ISSN 01757598. Available at: doi: 10.1007/s00253-015-7255-0

Barata, A., Malfeito-Ferreira, M., Loureiro, V. 2012. The microbial ecology of wine grape berries. *International journal of food microbiology* [online], vol. 153, no. 3, pp. 243-259 [cit. 2022-05-11]. ISSN 1879-3460. Available at: doi: org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.11.025

Bartowsky, E. 2017. Microbiology of winemaking. In *Microbiology Australia* [online], vol. 38, no. 2, pp. 76-79 [cit. 2022-07-11]. ISSN 1324-4272. Available at: doi: org/10.1071/MA17033

Fugelsang, C. K., Edwards, G. C. 2007. *Wine microbiology*. New York, USA: Springer publishing media, 393 p. ISBN 978-0-387-33341-0.

Chu, C. H., Bjeldanes, L. F. 1982. Effect of diamines, polyamines and tuna fish extracts on the binding of histamine to mucin in vitro. In *Journal of Food Science* [online], vol. 47, no. 1, pp. 79-80 [cit. 2022-06-25]. ISSN 1750-3841. Available at: doi: org/10.1111/j.1365-2621.1982.tb11031.x

Felšöciová, S. 2016. *Mikrobiológia vína*. Nitra: Slovak University of Agriculture, pp. 11-57. ISBN 9788055214801

Granchi, L., Romano, P., Mangani, S., Guerrini, S., Vincenzini, M. 2005. Production of biogenic amines by wine microorganisms. In *Bulletin de l'O.I.V* [online], vol. 78, no. 895-896, pp. 595–609 [cit. 2022-07-08]. ISSN 0029-7127. Available at: https://www.researchgate.net/profile/Lisa-aranchi/publication/285097576Production_of_biogenic_amines_by_wine_microorganisms/links/565ff7e008aeafc2aaca9b16/Production-of-biogenic-amines-by-wine-microorganisms.pdf

ISO 6887-1: 2017. Microbiology of the food chain - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.

ISO 21527: 2010 Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds.

Lambrechts, M. G., Pretorius, I. S. 2020. Yeast and its importance to wine aroma-a review. In *South African Journal of Enology and Viticulture* [online], vol. 21, no. 1, pp. 97-129 [cit. 2022-05-18]. ISSN 0253-939X. Available at: doi: org/10.21548/21-1-3560

Liu, D., Legras, J. L., Zhang, P., Chen, D., Howell, K. 2021. Diversity and dynamics of fungi during spontaneous fermentations and association with unique aroma profiles in wine. In *International Journal of Food Microbiology* [online], vol. 338, 108983 [cit. 2022-06-12]. ISSN 1879-3460. Available at: doi: org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108983

Nedomová, Š., Kumbár, V., Pavloušek, P., Pytel, R., Začal, J., Buchar, J. 2016. Influence of harvest day on changes in mechanical prorties of grape. In *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences* [online], vol. 10, no. 1, pp. 181-187 [cit. 2022-07-11]. ISSN 1337-0960. Available at: doi: 10.5219/600

Piknová, Ľ., Pangallo, D., Ženišová, K., Bučková, M., Puškárová, A. 2017. Microbiological diversity in the process of producing ice wine of the Veltliner variety. In *Vinič a Víno,* vol. 17, no. 4, pp. 120-121[cit. 2022-06-12]. ISSN 1335-7514.

Regecová, I., Marcinčák, S., Nagy, J., Popelka, P., Semjon, B., Jevinová, P., Pipová, M., Král, M., Kovalčík, M. 2019. Detection of microbiota in the vineyards of the Tokaj wine region. In *Slovak Journal of Food Sciences* [online], vol. 13, no. 1, pp. 984-992 [cit. 2022-07-8]. ISSN 1338-0230. ISSN 1337-0960. Available at: doi: org/10.5219/1246

Santos, M. S. Biogenic amines: their importance in foods.1996. In *International journal of Food microbiology* [online], vol. 29, no. 2-3, pp. 213-231 [cit. 2022-07-08]. ISSN 1879-3460. Available at: doi: org/10.1016/0168-1605(95)00032-1

Spano, G., Torriani, S. 2016. Editorial: Microbiota of grapes: Positive and negative role on wine quality. In *Frontiers in Microbiology* [online], vol. 7, pp. 20-36 [cit. 2022-07-11]. ISSN 1664-302X. Available at: doi: org/10.3389/fmicb.2016.02036

Torrea, D., Ancín, C. 2002. Content of biogenic amines in a Chardonnay wine obtained through spontaneous and inoculated fermentations. In *Journal of agricultural and food chemistry* [online], vol. 50, pp. 4895–4899 [cit. 2023-01-20]. ISSN 1520-5118. Available at: doi: org/10.1021/jf011653h

Viel, A., Legras, J. L., Nadai, C., Carlot, M., Lombardi, A., Crespan, M., Corich, V. 2017. The geographic distribution of *Saccharomyces cerevisiae* isolates within three Italian neighboring winemaking regions reveals strong differences in yeast abundance, genetic diversity and industrial strain dissemination. In *Frontiers in microbiology* [online], vol. 8, pp. 1595 [cit. 2023-01-11]. ISSN 1664-302X. Available at: doi: org/10.3389/fmicb.2017.01595

White, T. J., Bruns, T., Lee, S. B., Taylor, J. W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, diagnostics, and forensics. In *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, Academic Press, San Diego, CA. ISBN: 978-01-237-2180-8.

Acknowledgments: This work was supported by the Science Grant Agency of the Ministry of Education, Science, Re-search and Sport of the Slovak Republic and Slovak Academy of Sciences under the project VEGA 1/0156/21.

Contact address: Ivana Regecová, DVM., PhD., Department of Hygiene, Technology and Food Safety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 04181 Košice

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

DETEKCE FAKTORŮ VIRULENCE U BAKTERIÍ SKUPINY *BACILLUS CEREUS*
DETECTION OF *BACILLUS CEREUS* GROUP VIRULENCE FACTORS

Michaela Šebestová, Marie Pruchová, Tereza Kodešová, Roman Švejstil, Petra Škvorová, Lenka Kouřimská, Eva Vlková, Hana Šubrtová Salmonová

Abstract: Bacteria of *Bacillus cereus* group are known for their ability to cause foodborne diseases. They may produce various toxins which play an important role in the pathogenesis of the disease. The aim of this study was to determine the toxigenic profile of 105 strains isolated from food, feed and the environment and to evaluate the potential threat for human health. It was further assessed whether the pathogenic profile differed between strains of different origin. The pathogenic potential was assessed based on the detection of genes for cereulide, 3 enterotoxins, 3 hemolysins, 3 phospholipases and immune inhibitor A using the PCR method. Each of the bacteria tested carried at least 2 toxin genes. As vast majority of strains carried at least one enterotoxin gene along with other virulence genes, they might cause diarrhoeal disease. Greater potential to cause the disease was observed for edible insect and insect product isolates as they had a higher prevalence of the cytK enterotoxin gene. None of the isolates were tested positive for the cereulide genes, therefore they should not pose a risk of emetic syndrome.
Keywords: Bacillus cereus, emetic toxin, enterotoxins, hemolysins, foodborne diseases, PCR

ÚVOD

Bakterie skupiny *Bacillus cereus* jsou blízce příbuzné bakterie (Baldwin 2020), které jsou široce rozšířeny v prostředí (Logan a De Vos 2009) a také často kontaminují potraviny (Griffiths a Schraft 2017). Tvoří velmi odolné spory s adhezivními vlastnostmi, tudíž bývá problematické je odstranit z výrobních zařízení v potravinářských provozech (Parihar 2014). Snadno také přežívají šetrnější konzervační postupy a následně hrozí jejich pomnožení v potravině. To může mít za následek její kažení, ale i rozvoj alimentárního onemocnění po její konzumaci (Abee et al., 2011). Z tohoto důvodu je výskyt bakterií skupiny *B. cereus* v potravinách předmětem zájmu mnoha studií. Kromě alimentárních nákaz mohou způsobovat také jiná onemocnění, a to nejen u člověka, ale i u dalších živočišných druhů (Logan a De Vos 2009). Na rozvoji onemocnění se podílí celá řada faktorů virulence (Ramarao a Lereclus 2006) a velmi významnou roli zde hrají bakteriální toxiny (Ceuppens et al. 2013). Geny, které tyto toxiny kódují, jsou umístěny na plazmidech či na chromozomech (Ehling-Schulz et al. 2006) a jejich přítomnost v genomu bakterie je možné stanovit pomocí metody PCR. Díky tomu lze posoudit, jaký patogenní potenciál daná bakterie může mít (Ceuppens et al. 2013). Míra patogenity se totiž mezi jednotlivými kmeny liší (EFSA 2016). Je však třeba podotknout, že přítomnost genu pro určitý toxin v genomu bakterie nemusí nutně znamenat, že dochází i k jeho expresi (Bhunia 2008). Exprese toxinových genů je totiž ovlivněna celou řadou faktorů, mezi něž patří například dostupnost živin (Frenzel et al. 2012) či růstová fáze buňky (Lücking et al. 2009). Přesto lze tímto způsobem zhodnotit, zda daný kmen může pro člověka představovat zdravotní riziko či nikoli (Jessberger et al. 2019).

Bakterie skupiny *B. cereus* vyvolávají dva typy alimentárních syndromů a to emetický a průjmový. Emetický syndrom se vyznačuje kratší inkubační dobou. Symptomy se objevují za 0,5−5 hodin po požití kontaminovaného pokrmu a odeznívají zhruba za 6−24 hodin. Typickým projevem je nevolnost a zvracení. Syndrom je vyvolán emetickým toxinem, zvaným cereulid, který je termostabilní a odolává proteolytickým enzymům trávicího traktu. Dokáže tedy přečkat tepelnou úpravu potravin i průchod zažívacím traktem. Pokud je v pokrmu obsažen, může dojít

k alimentární otravě bez ohledu na to, zda jsou v pokrmu stále přítomny živé bakterie (Griffiths a Schraft 2017).

V případě průjmového syndromu činí inkubační doba 8−16 hodin a příznaky přetrvávají obvykle 12−24 hodin, ale i déle. Běžně se objevují bolesti břicha a průjem, občas se může vyskytnout i nevolnost. K vyvolání projevů dochází po pozření buněk či spor bakterií v počtu asi 10^5−10^7 (Griffiths a Schraft 2017). S průjmovým syndromem jsou spojovány zejména následující enterotoxiny – hemolyzin BL, nehemolytický enterotoxin a cytotoxin K (Ceuppens et al. 2011; Griffiths a Schraft 2017). Mohou být produkovány při teplotách v rozmezí 10−43 °C, jsou termolabilní a nejsou odolné nízkému pH ani proteolytickým enzymům (Griffiths a Schraft 2017). Na rozdíl od emetického syndromu jsou za projevy průjmového syndromu zodpovědné bakteriální buňky, které toxiny produkují přímo ve střevě, a nikoli toxiny již obsažené ve zkonzumované potravině či pokrmu (Ceuppens et al. 2012; Griffiths a Schraft 2017).

Kromě výše zmíněných mohou bakterie produkovat také další toxiny umocňující jejich patogenní potenciál. Patří mezi ně immune inhibitor A, hemolytické proteiny cereolysin O, hemolyzin II a hemolyzin III či fosfolipázy fostatidylinostitol-specifická fosfolipáza C, fostatidylcholin-preferující fosfolipáza C a sfingomyelináza. (Coolbaugh a Williams 1978, Ramarao a Lereclus 2005, Bhunia 2008, Ramarao a Sanchis 2013).

Cílem této práce bylo stanovení toxigenního profilu 105 kmenů izolovaných z potravin, krmiv a životního prostředí a zhodnocení jejich potenciálního rizika pro lidské zdraví. Dále bylo posuzováno, zda se patogenní profil mezi kmeny liší v závislosti na jejich původu.

MATERIÁL A METODIKA

Předmětem práce byla detekce genů pro cereulid (*ces*), hemolyzin BL (*hbl*), nehemolytický enterotoxin (*nhe*), cytotoxin K (*cytK*), cereolyzin O (*clo*), hemolyzin II (*hlyII*), hemolyzin III (*hlyIII*), immune inhibitor A (*inhA2*), fosfatidylinositol-specifickou fosfolipázu C (*piplc*), fosfatidylcholin-preferující fosfolipázu C (*cerA*) a sfingomyelinázu (*cerB*) metodou PCR.

Celkem bylo testováno 105 kmenů bakterií skupiny *B. cereus* izolovaných z potravin, převážně z jedlého hmyzu chovaného na Katedře zoologie a rybářství České zemědělské univerzity a komerčně dostupných potravin s obsahem jedlého hmyzu, dále z krmiv a životního prostředí. Izoláty byly identifikovány pomocí hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí a ionizací za účasti matrice s průletovým analyzátorem (MALDI-TOF MS). Převážnou většinu vzorků tvořil druh *B. cereus sensu stricto* a dále se vyskytl také *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. thuringiensis* a *B. weihenstephanensis*.

Testované kultury byly kultivovány v trypton-sójovém bujónu (TSB) za aerobních podmínek při 30 °C přes noc. Jejich čistota byla ověřena mikroskopicky (Nikon ECLIPSE E200). Následně byl připraven buněčný lyzát s pomocí PrepMan Ultra Sample Preparation Reagent (Applied Biosystems) a vzniklý lyzát byl použit pro PCR analýzu. Použité primery a podmínky PCR reakcí vycházely z prací autorů Ehling-Schulz et al. (2006), Hendriksen et al. (2006), Ngamwongsatit et al. (2008) a Raddadi et al. (2009). Vzniklé PCR produkty byly separovány pomocí gelové elektroforézy a vizualizovány s použitím UV transiluminátoru (BioRad) a programu Quantity One. Pro kontrolu byl analyzován také sbírkový kmen *B. cereus* CCM 2010 z České sbírky mikroorganismů, u něhož jsou dostupné sekvence celého genomu.

Pro ověření, zda se skutečně podařilo amplifikovat cílové geny, byly od každého z pozitivně testovaných genů vybrány a osekvenovány 2 pozitivní PCR produkty. Sekvenování bylo provedeno společností Eurofins Genomics a jednalo se o Sangerovu metodu. Sekvence byly následně zpracovány v programech Chromas Lite a BioEdit, a porovnány se sekvencemi

dostupnými v databázi NCBI (National Center for Biotechnology Information) pomocí programu BLAST.

Závěrem bylo posuzováno, zda existují statisticky významné rozdíly ve výskytu sledovaných genů mezi různými prostředími a mezi různými druhy. Pro statistickou analýzu byl použit program Statistica 12 (TIBCO Software Inc.). Nejprve byla otestována normalita dat pomocí Shapiro-Wilkova a Kolmogorov-Smirnovova testu, a jelikož data nepocházela z normálního rozložení, byly k analýze využity neparametrické metody, konkrétně Kruskal-Wallisův test pro hodnocení rozdílů mezi více než dvěma skupinami a Mann-Whitneyův U test pro testování rozdílů mezi dvěma skupinami. Testování probíhalo na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSE

U každého z testovaných kmenů byly nalezeny alespoň 2 toxinové geny. U žádného však nebyl detekován gen pro cereulid (*ces*) ani pro hemolyzin BL (*hbl*). Nejvyšší prevalence byla pozorována u genů pro hemolyzin III (*hlyIII*, 99 %), cereolysin O (*clo*, 96 %), fosfatidylcholin-preferující fosfolipázu (*cerA*, 94 %), nehemolytický enterotoxin (*nhe*, 91 %), fosfatidylinositol-specifickou fosfolipázu (*piplc*, 90 %) a sfingomyelinázu (*cerB*, 90 %). Poměrně častý byl také gen pro cytotoxin K (*cytK*, 53 %). Málo se naopak vyskytoval gen pro hemolyzin II (*hlyII*, 16 %) a immune inhibitor A (*inhA2*, 3 %). Prevalence jednotlivých genů u izolátů různého původu je znázorněna v tabulce 1. Pomocí sekvenování bylo ověřeno, že se metodou PCR skutečně podařilo amplifikovat požadované geny a nikoli jiné produkty o shodné délce. Výjimkou byl gen pro immune inhibitor A, jehož sekvence nebyly čitelné, a ověření se tudíž nezdařilo. To mohlo být zapříčiněno degradací primeru použitého při přípravě vzorků k sekvenování.

Tabulka 1 Prevalence genů pro faktory virulence u vzorků izolovaných z různého prostředí. Vyjádřeno jako počet pozitivních vzorků (procentuální zastoupení pozitivních vzorků v dané kategorii).

Prostředí	Počet	*ces*	*hbl*	*nhe*	*cytK*	*clo*	*hlyII*	*hlyIII*	*inhA2*	*piplc*	*cerA*	*cerB*
Jedlý hmyz	40	0 (0 %)	0 (0 %)	37 (93 %)	40 (100%)	38 (95 %)	5 (13 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	37 (93 %)	40 (100 %)	38 (95 %)
Krmivo pro psy	19	0 (0 %)	0 (0 %)	19 (100%)	0 (0 %)	19 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	19 (100 %)	0 (0 %)	19 (100 %)
Ostatní	10	0 (0 %)	0 (0 %)	10 (100%)	5 (50 %)	8 (80 %)	4 (40 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	10 (100 %)	5 (50 %)	8 (80 %)
Ostatní potraviny	5	0 (0 %)	0 (0 %)	5 (100 %)	1 (20 %)	5 (100 %)	2 (40 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	5 (100 %)	1 (20 %)	5 (100 %)
Škeble	20	0 (0 %)	0 (0 %)	14 (70 %)	1 (5 %)	20 (100 %)	1 (5 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	14 (70 %)	1 (5 %)	20 (100 %)
Výrobky z jedlého hmyzu	11	0 (0 %)	0 (0 %)	11 (100%)	9 (82 %)	11 (100%)	5 (45 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	11 (100%)	9 (82 %)	11 (100 %)
CELKEM	105	0 (0 %)	0 (0 %)	96 (91 %)	56 (53 %)	101 (96 %)	17 (16 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	96 (91 %)	56 (53 %)	101 (96 %)

Výsledky detekce genu pro emetický toxin, cereulid, se shodovaly s výsledky autorů Aragon-Alegro et al., (2008), Ankolekar et al., (2009), Kim et al. (2011) či Fasolato et al., (2018). V porovnání s emetickými kmeny se ve skupině *B. cereus* častěji vyskytují kmeny nesoucí genetické determinanty pro produkci enterotoxinů (Jessberger et al., 2020), což bylo pozorováno i v rámci tohoto experimentu. O něco vyšší potenciál k vyvolání průjmového syndromu měly kmeny izolované z jedlého hmyzu a výrobků z hmyzu, protože se u nich v porovnání s ostatními častěji vyskytoval *cytK*. Jak již bylo zmíněno, mezi izoláty byly hojně rozšířeny také geny pro fosfolipázy a hemolyziny, což umocňuje jejich patogenní potenciál.

V prevalenci 3 toxinových genů (*cytK*, *hlyII* a *piplc*) byly prokázány statisticky významné rozdíly mezi kmeny různého původu. Nikdy se však vzájemně nelišily izoláty ze všech posuzovaných prostředí. Prevalence *cytK* byla nejvyšší u kmenů z jedlého hmyzu (100 %), *hlyII* u izolátů z výrobků z hmyzu (45 %) a *piplc* dominoval u izolátů z krmiva pro psy (100 %), jedlého hmyzu (98 %), výrobků z hmyzu (100 %) a ostatních potravin (100 %).

Na základě přítomnosti jednotlivých genů pro faktory virulence v genomu byly bakterie rozděleny do 19 patotypových skupin. Nejčastější byla skupina č. 6 (37 kmenů), která byla zastoupena zejména kmeny z jedlého hmyzu z univerzitního chovu a nesla geny *nhe*, *cytK*, *clo*, *hlyIII*, *piplc*, *cerA* a *cerB*. Druhá nejpočetnější pak byla skupina č. 8 (35 kmenů), která se odlišovala absencí genu pro cytotoxin K a nejvíce se vyskytovala v krmivu pro psy. U těchto 2 patotypových skupin, byly prokázány statisticky významné rozdíly ve výskytu mezi sledovanými prostředími.

Výrazný podíl kmenů ze shodné patotypové skupiny u jedlého hmyzu z univerzitního chovu (80 %) lze přisuzovat tomu, že hmyz byl chován ve stejném prostředí a pravděpodobně byl osídlen obdobnou mikrobiotou. Bakterie skupiny *B. cereus* si v prostředí trávicího traktu snadno mohou vzájemně předávat plazmidy i některé chromozomální geny. Napomáhá tomu vyšší hustota bakteriálního osídlení v porovnání s některými jinými prostředími, jako je například půda. Předávání genů pak může vést i k tomu, že kmeny různých druhů rostoucí ve stejném prostředí mohou mít shodný patogenní profil (Thomas et al., 2000; Böhm et al. 2015).

Navzdory tomu, že je v souvislosti s alimentárními onemocněními obvykle zmiňován *B. cereus sensu stricto*, geny pro faktory virulence, s výjimkou *ces*, jsou mezi druhy skupiny široce rozšířeny. Bakterie skupiny *B. cereus* jsou totiž běžně stanovovány na MYP agaru a tímto způsobem není obvykle možné je od *B. cereus s. s.* rozeznat (EFSA 2016). V rámci tohoto experimentu se od sebe druh *B. cereus sensu stricto* a ostatní druhy statisticky významně lišily pouze v prevalenci genů *cytK* a *piplc*, které byly častější u *B. cereus s. s.* Jiné rozdíly mezi nimi nalezeny nebyly. Lze tedy dojít k závěru, že potenciálním zdravotním rizikem je nejen *B. cereus s. s.*, ale i ostatní druhy skupiny *B. cereus*, a záleží tedy na patogenním profilu konkrétního kmene.

ZÁVĚR

Vzhledem k tomu, že naprostá většina testovaných kmenů měla ve své genetické výbavě předpoklady pro produkci alespoň jednoho enterotoxinu a k tomu i dalších faktorů virulence, potenciálně by u člověka mohla vyvolat průjmové onemocnění. Větší potenciál oproti ostatním kmenům byl pozorován u izolátů z jedlého hmyzu a výrobků z hmyzu, jelikož měly vyšší prevalenci genu pro enterotoxický cytotoxin K. Protože jsou však k vyvolání onemocnění zapotřebí vyšší počty bakterií, rozvoji onemocnění je možné předcházet vhodným nakládáním s potravinami, které zabrání jejich pomnožení. U žádného z kmenů nebyly detekovány geny pro cereulid, tudíž by neměly představovat riziko emetického syndromu. Statisticky významné rozdíly mezi kmeny různého původu byly prokázány pouze v prevalenci 3 toxinových genů (*cytK*, *hlyII* a *piplc*). Nikdy se však vzájemně nelišily izoláty ze všech posuzovaných prostředí.

LITERATURA

Abee, T., M. N. Groot, M. Tempelaars, M. Zwietering, R. Moezelaar a M. V. D. Voort, 2011. Germination and outgrowth of spores of *Bacillus cereus* group members: Diversity and role of germinant receptors. *Food Microbiology* [online]. 28(2), 199-208 [cit. 2021-11-17]. ISSN 0740-0020. Dostupné z: doi: 10.1016/j.fm.2010.03.015

Ankolekar, C., T. Rahmati a R. G. Labbé, 2009. Detection of toxigenic *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* spores in U.S. rice. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 128(3), 460-466 [cit. 2022-02-24]. ISSN 0168-1605. Dostupné z: doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.10.006

Aragon-Alegro, L. C., G. Palcich, G. V. Lopes, V. B. Ribeiro, M. Landgraf a M. T. Destro, 2008. Enterotoxigenic and Genetic Profiles of *Bacillus cereus* Strains of Food Origin in Brazil. *Journal of Food Protection* [online]. 71(10), 2115-2118 [cit. 2022-04-03]. ISSN 0362-028X. Dostupné z: doi: 10.4315/0362-028X-71.10.2115

Baldwin, V. M., 2020. You Can't *B. cereus* – A Review of *Bacillus cereus* Strains That Cause Anthrax-Like Disease. *Frontiers in Microbiology* [online]. 11, 1731 [cit. 2021-10-14]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi: 10.3389/fmicb.2020.01731

Bhunia, A. K., 2008. *Bacillus cereus* and *Bacillus anthracis*. *Foodborne Microbial Pathogens* [online]. New York: Springer, s. 135-148 [cit. 2022-02-09]. ISBN 978-0-387-74537-4. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-0-387-74537-4_7

Böhm, M. E., C. Huptas, V. M. Krey a S. Scherer, 2015. Massive horizontal gene transfer, strictly vertical inheritance and ancient duplications differentially shape the evolution of *Bacillus cereus* enterotoxin operons *hbl*, *cytK* and *nhe*. *BMC Evolutionary Biology* [online]. 15(1) [cit. 2022-04-13]. ISSN 1471-2148. Dostupné z: doi: 10.1186/s12862-015-0529-4

Ceuppens, S., A. Rajkovic, M. Heyndrickx, V. Tsilia, T. Van de Wiele, N. Boon a M. Uyttendaele, 2011. Regulation of toxin production by *Bacillus cereus* and its food safety implications. *Critical Reviews in Microbiology* [online]. 37(3), 188-213 [cit. 2022-01-29]. ISSN 1040-841X. Dostupné z: doi: 10.3109/1040841X.2011.558832

Ceuppens, S., A. Rajkovic, S. Hamelink, T. Van de Wiele, N. Boon a M. Uyttendaele, 2012. Enterotoxin Production by *Bacillus cereus* Under Gastrointestinal Conditions and Their Immunological Detection by Commercially Available Kits. *Foodborne Pathogens and Disease* [online]. 9(12), 1130-1136 [cit. 2022-01-29]. ISSN 1535-3141. Dostupné z: doi: 10.1089/fpd.2012.1230

Ceuppens, S., N. Boon a M. Uyttendaele, 2013. Diversity of *Bacillus cereus* group strains is reflected in their broad range of pathogenicity and diverse ecological lifestyles. *FEMS Microbiology Ecology* [online]. 84(3), 433-450 [cit. 2022-01-28]. ISSN 01686496. Dostupné z: doi: 10.1111/1574-6941.12110

Coolbaugh, J. C. a R. P. Williams, 1978. Production and characterization of two hemolysins of *Bacillus cereus*. *Canadian Journal of Microbiology* [online]. 24(11), 1289-1295 [cit. 2022-02-06]. ISSN 0008-4166. Dostupné z: doi: 10.1139/m78-209

EFSA, 2016. Risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. *EFSA Journal* [online]. 14(7) [cit. 2022-03-07]. ISSN 18314732. Dostupné z: doi: 10.2903/j.efsa.2016.4524

Ehling-Schulz, M., M. Fricker, H. Grallert, P. Rieck, M. Wagner a S. Scherer, 2006. Cereulide synthetase gene cluster from emetic *Bacillus cereus*: Structure and location on a mega virulence plasmid related to *Bacillus anthracis* toxin plasmid pXO1. *BMC Microbiology* [online]. 6(1) [cit. 2022-01-30]. ISSN 1471-2180. Dostupné z: doi: 10.1186/1471-2180-6-20

Fasolato, L., B. Cardazzo, L. Carraro, F. Fontana, E. Novelli a S. Balzan, 2018. Edible processed insects from e-commerce: Food safety with a focus on the *Bacillus cereus* group. *Food Microbiology* [online]. 76, 296-303 [cit. 2022-03-17]. ISSN 0740-0020. Dostupné z: doi: 10.1016/j.fm.2018.06.008

Frenzel, E., V. Doll, M. Pauthner, G. Lücking, S. Scherer a M. Ehling-Schulz, 2012. CodY orchestrates the expression of virulence determinants in emetic *Bacillus cereus* by impacting key regulatory circuits. *Molecular Microbiology* [online]. 85(1), 67-88 [cit. 2022-03-24]. ISSN 0950-382X. Dostupné z: doi: 10.1111/j.1365-2958.2012.08090.x

Griffiths, M. W. a H. Schraft, 2017. Chapter 20 − *Bacillus cereus* Food Poisoning. Dodd, Christine E. R., Tim Aldsworth, Richard A. Stein, Dean O. Cliver a Hans P. Riemann. *Foodborne Diseases* [online]. Third Edition. Academic Press, s. 395-405 [cit. 2022-01-29]. ISBN 9780123850072. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385007-2.00020-6

Hendriksen, N. B., B. M. Hansen a J. E. Johansen, 2006. Occurrence and pathogenic potential of *Bacillus cereus* group bacteria in a sandy loam. *Antonie van Leeuwenhoek* [online]. 89(2), 239-249 [cit. 2022-03-29]. ISSN 0003-6072. Dostupné z: doi: 10.1007/s10482-005-9025-y

Jessberger, N., M. Kranzler, C. da Riol, V. Schwenk, T. Buchacher, R. Dietrich, M. Ehling-Schulz a E. Märtlbauer, 2019. Assessing the toxic potential of enteropathogenic *Bacillus cereus*. *Food Microbiology* [online]. 84 [cit. 2022-02-05]. ISSN 0740-0020. Dostupné z: doi: 10.1016/j.fm.2019.103276

Jessberger, N., R. Dietrich, P. E. Granum a E. Märtlbauer, 2020. The *Bacillus cereus* Food Infection as Multifactorial Process. *Toxins* [online]. 12(11) [cit. 2022-02-22]. ISSN 2072-6651. Dostupné z: doi: 10.3390/toxins12110701

Kim, J.-B., J.-M. Kim, S.-H. Cho, H.-S. Oh, N. J. Choi a D.-H. Oh, 2011. Toxin Genes Profiles and Toxin Production Ability of *Bacillus cereus* Isolated from Clinical and Food Samples. *Journal of Food Science* [online]. 76(1), T25-T29 [cit. 2022-02-24]. ISSN 0022-1147. Dostupné z: doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.01958.x

Logan, N. A. a P. de Vos, 2009. Genus I. *Bacillus*. de Vos, P., G. M. Garrity, D. Jones, N. R. Krieg, W. Ludwig, F. A. Rainey, K.-H. Schleifer a W. Whitman. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Volume Three The Firmicutes. New York: Springer, s. 21-128. ISBN 978-0-387-68489-5.
Lücking, G., M. K. Dommel, S. Scherer, A. Fouet a M. Ehling-Schulz, 2009. Cereulide synthesis in emetic *Bacillus cereus* is controlled by the transition state regulator AbrB, but not by the virulence regulator PlcR. *Microbiology* [online]. 155(3), 922-931 [cit. 2022-02-17]. ISSN 1350-0872. Dostupné z: doi: 10.1099/mic.0.024125-0
Ngamwongsatit, P., W. Buasri, P. Pianariyanon, C. Pulsrikarn, M. Ohba, A. Assavanig a W. Panbangred, 2008. Broad distribution of enterotoxin genes (*hblCDA*, *nheABC*, *cytK*, and *entFM*) among *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* as shown by novel primers. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 121(3), 352-356 [cit. 2022-02-13]. ISSN 0168-1605. Dostupné z: doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.013
Parihar, H. S., 2014. *Bacillus cereus*. Wexler, P., ed. *Encyclopedia of Toxicology*. Third Edition. USA: Academic Press, s. 353-354. ISBN 978-0-12-386455-0.
Raddadi, N., A. Belaouis, I. Tamagnini, B. M. Hansen, N. B. Hendriksen, A. Boudabous, A. Cherif a D. Daffonchio, 2009. Characterization of polyvalent and safe *Bacillus thuringiensis* strains with potential use for biocontrol. *Journal of Basic Microbiology* [online]. 49(3), 293-303 [cit. 2022-03-29]. ISSN 0233-111X. Dostupné z: doi: 10.1002/jobm.200800182
Ramarao, N. a D. Lereclus, 2005. The InhA1 metalloprotease allows spores of the *B. cereus* group to escape macrophages. *Cellular Microbiology* [online]. 7(9), 1357-1364 [cit. 2022-02-13]. ISSN 1462-5814. Dostupné z: doi: 10.1111/j.1462-5822.2005.00562.x
Ramarao, N. a D. Lereclus, 2006. Adhesion and cytotoxicity of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* to epithelial cells are FlhA and PlcR dependent, respectively. *Microbes and Infection* [online]. 8(6), 1483-1491 [cit. 2022-03-23]. ISSN 1286-4579. Dostupné z: doi: 10.1016/j.micinf.2006.01.005
Ramarao, N. a V. Sanchis, 2013. The Pore-Forming Haemolysins of *Bacillus Cereus*: A Review. *Toxins* [online]. 5(6), 1119-1139 [cit. 2022-02-06]. ISSN 2072-6651. Dostupné z: doi: 10.3390/toxins5061119
Thomas, D. J. I., J. A. W. Morgan, J. M. Whipps a J. R. Saunders, 2000. Plasmid Transfer between the *Bacillus thuringiensis* Subspecies *kurstaki* and *tenebrionis* in Laboratory Culture and Soil and in Lepidopteran and Coleopteran Larvae. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. 66(1), 118-124 [cit. 2022-04-13]. ISSN 0099-2240. Dostupné z: doi: 10.1128/AEM.66.1.118-124.2000

Poděkování: Tato práce byla podpořena projektem GA 21-47159L Grantové agentury České republiky a Evropským fondem pro regionální rozvoj - Projekt NutRisk Centre (Projekt CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000845).

Kontaktní adresa: Michaela Šebestová, Ing., Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 16500, Praha-Suchdol

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

PREDIKCIE DEVITALIZÁCIE MIKROORGANIZMOV V PROCESE PARENIA SYROV
PREDICTION OF MICROBIAL INACTIVATION DURING STEAMING AND STRETCHING PROCESSES

Ľubomír Valík, Alžbeta Vavreková, Pavel Ačai, Veronika Lehotová

Abstract: Based on the results of laboratory preparations of lump and steamed cheeses, in which they used the procedures applied in their artisanal production, we focused on the evaluation of the devitalization effect of the steaming process. For this purpose, inactivation parameters of own isolates of *Escherichia coli* (PS1 and BR), *Staphylococcus aureus* (14733 and 2064) and literature data of *Listeria monocytogenes* Scott A were used. The results of expected numbers of studied bacteria after steaming (62.7°C ± 1.4°C/4.1 ± 0.9 min) as well as in temperature mode increased by 5°C will be presented. Weibull devitalization models were used in Monte Carlo simulations. The outcomes were significantly determined by the different thermo-resistance of the microorganisms used, not by the variability of their devitalization parameters.
Keywords: *E. coli*, *S. aureus*, inactivation, cheese stretching efficacy

ÚVOD

Parené syry majú na Slovensku dlhoročnú tradíciu. Viacere slovenské parené syry majú aj v rámci EÚ legálny štatút Chránené zemepisné označenie (CHZO), a to Slovenský oštiepok, Slovenská parenica, Oravský korbáčik a Zázrivský korbáčik.

Hrudkové syry vyrábané zo surového mlieka sú oproti syrom vyrábaným z pasterizovaného mlieka charakterizované podstatne širšou mikrobiálnou rozmanitosťou, ktorá výrazne určuje chutnosť hotových výrobkov. Na druhej strane za určitých podmienok môžu obsahovať potenciálne patogénne mikroorganizmy (Valík et al., 2011; Ačai a Valík, 2014). Ak sa použijú na parenie, prirodzene vzniká otázka, či spôsob parenia používaný pri manuálnej výrobe pareníc, nití, vrkôčkov a ostatných tvarových modifikácií devitalizuje prípadne prítomné nežiaduce baktérie.

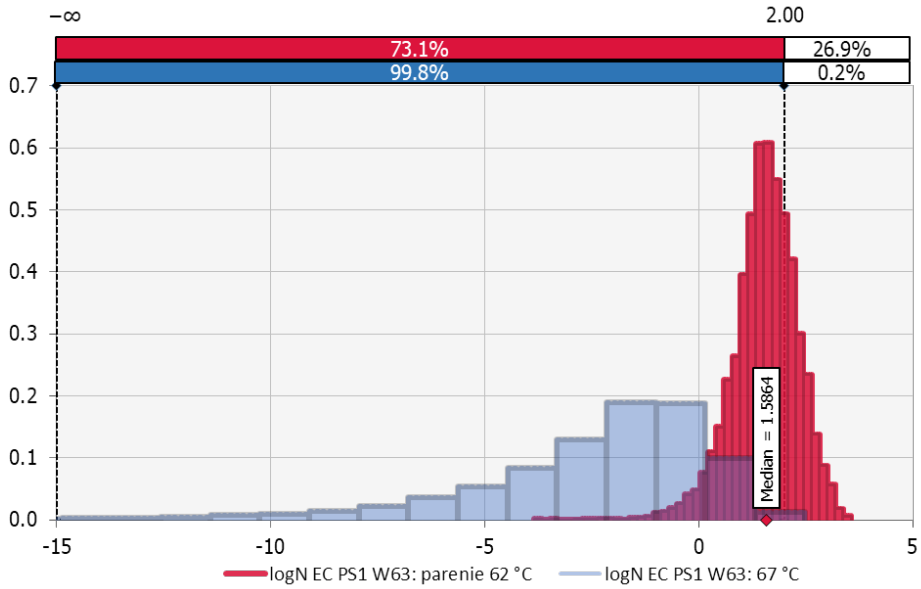
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na základe výsledkov z laboratórnych príprav hrudkových a parených syrov, pri ktorých použili postupy uplatňované pri ich remeselnej výrobe sme sa zamerali na hodnotenie devitalizačného účinku procesu parenia (Medveďová et al., 2020; Lehotová et al. 2021). Pre tento účel sa využili parametre devitalizácie vlastných izolátov *E. coli* (PS1 a BR), *S. aureus* (14733 a 2064) a údaje z literatúry pre kmeň *L. monocytogenes* Scott A. Prezentované budú výsledky predpokladaných počtov študovaných baktérií po parení (62,7 °C ± 1,4 °C/4,1 ±0,9 min.) ako aj v režime teploty zvýšenej o 5 °C. V Monte Carlo simuláciách sa použili Weibull-ove devitalizačné modely (Valík a Ačai, 2016). Výstupy boli významne podmienené rozdielnou termorezistenciou použitých mikroorganizmov, nie variabilitou ich devitalizačných parametrov.

ZÁVER

Tepelná rezistencia *E. coli* a *S. aureus* a simulačné výstupy devitalizačnej účinnosti procesu parenia a naťahovania pareniny (62,7 ±1,4 °C/4.1 ±0.9 min) sú závislé na vlastnostiach aktuálne vyskytujúcich sa kmeňov v hrudke. V prípade hrudiek zo surového mlieka je tiež značne rozhodujúca ich mikrobiologická kvalita (počty mikroorganizmov pred parením). Na otázku, či je možné splniť legislatívne kritériá pre parené syry aj v prípade použitia hrudiek zo surového

mlieka, však vzhľadom na množstvo faktorov určujúch počty mikroorganizmov v hrudke pred parením, neexistuje jednoznačná odpoveď.



Obr. 1 Príklad odhadov obsahu *E. coli* PS1 v syre po parení v režime 62,7 ±1,4 °C/4,1 ±0,9 min (vpravo) a s teplotou vyššou o 5°C.

LITERATÚRA

Ačai, P., Valík, Ľ., Medveďová, A., Studeničová, A. 2014. *Staphylococcus aureus* in unripened ewes' lump cheese. Part 1: Exposure assessment after the first 24 h of fermentation. *Journal of Food and Nutrition Research, 53,* 143-151.

Lehotová, V., Antálková, V., Medveďová, A., Valík, Ľ. 2021. Quantitative Microbiological Analysis of Artisanal Stretched Quantitative Microbiological Analysis of Artisanal Stretched. *Applied Sciences, 11,* 2680.

Medveďová, A., Koňuchová, M., Kvočiková, K., Hatalová, I., Valík, Ľ. 2020. Effect of Lactic Acid Bacteria Addition on the Microbiological Safety of Pasta-Filata Types of Cheeses. *Frontiers in Microbiology, 11,* 612528.

Valík, Ľ., Ačai, P. 2016. *Prediktívna mikrobiológia a mikrobiologické hodnotenie rizika.* Bratislava: Vydavateľstvo STU.

Valík, Ľ., Medveďová, A., Liptáková, D. 2011. Application of Quantitative Approach Focused on the Competition of Lactic Acid Bacteria Culture with Coagulase-positive *Staphylococci* under the Conditions Related to Artisanal Cheese Fermentation. *Czech Journal of Food Sciiences, 29,* S23-S29.

Poďakovanie: Tento príspevok bol vypracovaný vďaka podpore projektov VEGA 1/0132/23 a APVV-19-0031.

Kontaktná adresa: Ľubomír Valík, prof. Ing. PhD., Ústav potravinárstva a výživy, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, STU v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

CHANGES IN THE MICROBIOTA DURING THE WINE FERMENTATION PROCESS IN RELATION TO TYRAMINE
CHANGES IN THE MICROBIOTA DURING THE WINE FERMENTATION PROCESS IN RELATION TO TYRAMINE

Jana Výrostková, Ivana Regecová, Boris Semjon, Martin Bartkovský, Slavomír Marcinčák, Peter Očenáš, Lýdia Mesarčová

Abstract: This study focuses on the detection of microbiota in soil samples, grape leaves and berries and samples taken from fermenting must and young wine (the variety Tramín rosévy) in relation to the detected concentration of biogenic amine during the fermentation process. In the examined sample, the number of yeasts and moulds (from 3.8 to 6.8 log CFU.g^{-1} or ml) and TVC (from 3.7 to 6.5 log CFU.g^{-1} or ml) were determined via culture examination. At the same time, the number of LAB (from < 3.0 to 4.4 log CFU.g^{-1} or ml) was determined, which was the highest detected on day 4 of the must fermentation process and which was related to the detected highest concentration of biogenic amine (tyramine) on day 6 in the investigated must samples using the UHPLC system. The study confirmed the reduction of the species diversity of the microbiota during the must fermentation process, which resulted in a decrease in the concentration of monitored biogenic amine in the early stages of the must fermentation process and young wine of the Tramín red variety.
Keywords: **fermentation process, LAB, microbiota, tyramine, wine**

INTRODUCTION

The Eastern Slovak wine-growing area is one of the most important wine-growing regions in Slovakia as well as in Europe with an area of 1800 ha. It covers the territory of three regions namely, Zemplín, Abov, Turňa. The vineyards contain heavy clayey-clay to light sandy soils. The soil type is also influenced by the volcanic substrate of the Vihorlat Hills. Due to the volcanic origin, a higher minerality of the soil is ensured, which becomes part of the grapes and passes into the wine (Vlachovičová et al., 2022).

In addition to yeast, grapes, musts and wines contain a number of bacteria that are more demanding in regards to environmental influences compared to yeast. In viticulture, lactic acid bacteria (LAB) are most often detected (Godáková at al., 2016). LAB are the major microorganisms responsible for the production of histamine in wine (Coton et al., 2010). In addition to LAB (Tristezza et al. 2016) have shown that some yeasts other than *Saccharomyces* sp. (of wine origin) are also able to produce biogenic amines (BA).

Both yeast and bacteria can participate in the production of amines in the winemaking process. The general agreement that yeasts contribute less to the final BA content of wine than lactic acid bacteria (LAB) has been demonstrated by the large amount of data on the biochemistry, genetics and regulation of amine production by LAB compared to that available for yeasts (Torrea at al., 2002).

The study was aimed at determining the concentration of tyramine in must and young wine of the Tramín red variety, in relation to the dynamics of microbiota in the process of primary must fermentation.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

MATERIAL AND METODOLOGY

The samples were taken from the soil, berries, vine leaves and from Tramin red must. Samples were taken from the Eastern Slovak wine-growing region, the Sobranecký region and in the wine-growing village of Orechová. Samples were taken in September 2021. The must sample with a sugar content of 21.5 °Brix was filled into a 100 litter stain-less steel container. Subsequently, it was spontaneously fermented and samples were taken from the fermenting must on days 0., 2., 4., 6., 8. and after 4 weeks of fermentation for analysis of the presence of biogenic amine and mycobiots of the fermenting must and young wine.

Culture microbiological examination

A stock suspension and further 10-fold dilutions were prepared from sterile 1 ml samples according to the instructions of the ISO standard 6887-1 (2017).

Total viable count (TVC)

A 1.0 ml sample was taken from each respective dilution and inoculated in parallel into labeled, sterile petri dishes. The diluted samples were then mixed with 18 ± 2 ml of PCA agar broth cooled to 44-47 °C. After solidification, the inoculated broths were incubated in a thermostat at 30 ± 1 °C for 72 hours. The results were then converted to represent the amount in 1 mL of the sample according to the ISO standard 4833-1 (2014).

Determination of lactic acid bacteria (LAB)

Bacteria were isolated from the collected and examined samples according to the ISO standard 6887-1 (2017). From three successive dilutions, 0.1 ml of the examined sample of De Man, Rogosa and Sharpe agar selective diagnostic medium (Hi-Media, India) was inoculated as a smear. These samples were prepared and evaluated in parallel. Subsequently, the samples were incubated under anaerobic conditions to multiply the mesophilic lactic acid bacteria. The inoculated plates were incubated at 37 °C for 48 hours using an AnaeroGen bag (Oxoid, UK).

Determination of the number of yeasts and molds

The quantitative determination was performed according to the ISO standard 21527-1 (2010). The first three decimal dilutions inoculated in a volume of 0.1 ml on the surface of Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol (DRBC) agar (Hi-Media, India) containing Peptone, Dextrose (Glucose), Potassium dihydrogen phosphate, Magnesium sulphate, Rose Bengal, Chloramphenicol, Dichloran, Agar, Final pH 5.6±0.2. The plates were then incubated at 25 °C for 5 (for yeast) or 8–10 days (for molds).

Determination of biogenic amines

Determination of biogenic amines in must and young wine was performed using ul-tra-high performance liquid chromatography with a fluorescence detector. To analyze bi-ogenic amines (tyramin) the Thermo Scientific UHPLC system (Dionex UltiMate 3000 RS) coupled with a fluorescence detector (FLD) was used. A YMC-Triart PFP column (150 × 3.0 mm, 1.9 µm) was used to separate the biogenic amines in the wine samples at a flow rate of 0.4 $ml.min^{-1}$. The mobile phase consisted of (A) acetonitrile and (B) 0.1 $mol.l^{-1}$ of ammonium acetate and an isocratic elution of 55 % (A): 45 % (B) was ap-plied. The column temperature was maintained at 25 ± 0.5 °C. Standard stock solution of investigated biogenic amine (BAs, tyramine) was prepared by dissolving each standard into deionized water to a concentration of 1000 mg.l. In the case of wine processing, the sample is initially diluted with hydrochloric acid (0.1 mol/l^{-1}) in a ratio of 1:1 and then evaporated to dryness. Afterward, the aliquot of these biogenic amine standard stock solutions (to a concentration of 100 $mg.l^{-1}$)/sample residue was added in 2 ml deionized water. To prepared solutions. 0.3 g $NaHCO_3$ and dansyl chloride solution (2 $mg.ml^{-1}$) was added. After sealing and mixing, the derivatization reaction was performed at room temperature for 90 min in dark. Subsequently, toluene (4 ml) were added, to which the derivatized BAs were extracted. One millilitre of toluene extract was taken and

evaporated to dryness. The residue was dissolved in 1 ml of acetonitrile and filtered through a 0.2 µm nylon syringe filter. The thus filtered solutions were used for UHPLC analysis in the amount of 5 µl. The excitation and emission wavelengths were set at 320 nm and 523 nm in the FLD detector, respectively. Identification of biogenic amine was carried out by comparing their retention time with their corresponding standard. The quantitation of biogenic amine in wine samples was performed by a standard curve generated by a ratio of peak area to the concentration of each biogenic amine.

RESULTS AND DISCUSSION

Parameters such as quantification of yeasts, lactic acid bacteria and total number of microorganisms (TVC) were monitored during the microbiological examination of the samples. Samples were taken from the must before fermentation (day 0) and on days 2, 4, 6, 8 and after 4 weeks of fermentation. The microbiological composition of the must is greatly influenced by the terroir. Regionally different characteristics of wine (terroir) are an important aspect of wine production. Grape and wine mycobiota represent regionally defined patterns associated with vineyards and climatic conditions (Bokulich et al., 2016). Individual microbiological parameters change during fermentation. These parameters affect the final quality of the wine. In this study (Figure 1), the total number of microorganisms was determined on PCA agar which ranged from 3.7 ± 0.1 to 6.5 ± 0.1 log CFU.g^{-1}. The highest proportion of microorganisms was observed in the soil. Lactic acid bacteria in the must were detected in the samples in low numbers. The numbers of lactic acid bacteria found in all samples were < 3.0 ± 0.0 log CFU.g^{-1}. The number of yeasts in each sample ranged from 3.8 ± 0.1 to 5.3 ± 0.1 log CFU.g^{-1}. Higher numbers of yeasts were found in the soil sample at 5.3 ± 0.1 log CFU.g^{-1} followed by samples of vine leaves with a representation of 5.0 ± 0.1 log CFU.g^{-1}. The lowest proportion of yeasts was found on grape berries at 3.7 ± 0.1 log CFU.g^{-1}. The yeasts present are responsible for starting the fermentation process in the must but after the multiplication of typical wine yeasts, their number gradually decreases.

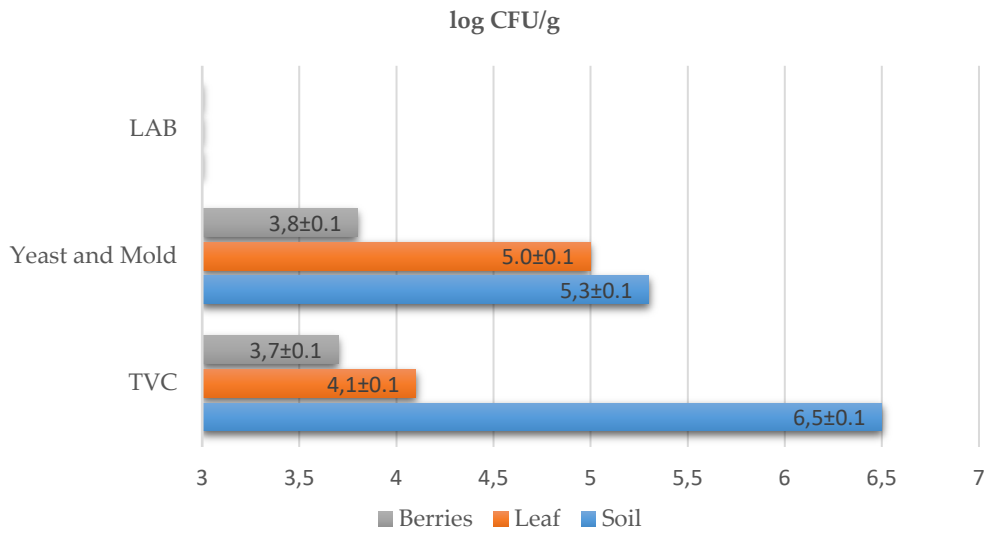


Figure 1 Quantitative microbiological culture examination of must and wine soil samples. TVC - total viable count; LAB – count of lactic acid bacteria; Yeast and Mold – count of yeasts and moulds. The detection limit was < 3.0 ± 0.0 log CFU.g^{-1}.

Subsequently, in the quantitative microbiological culture examination of must and young wine samples, the total number of microorganisms ranged from 4.2 ± 0.1 to 6.4 ± 0.1 log CFU.ml^{-1} (figure *2*). The lowest number was recorded on the 0th day after pressing the grape juice.

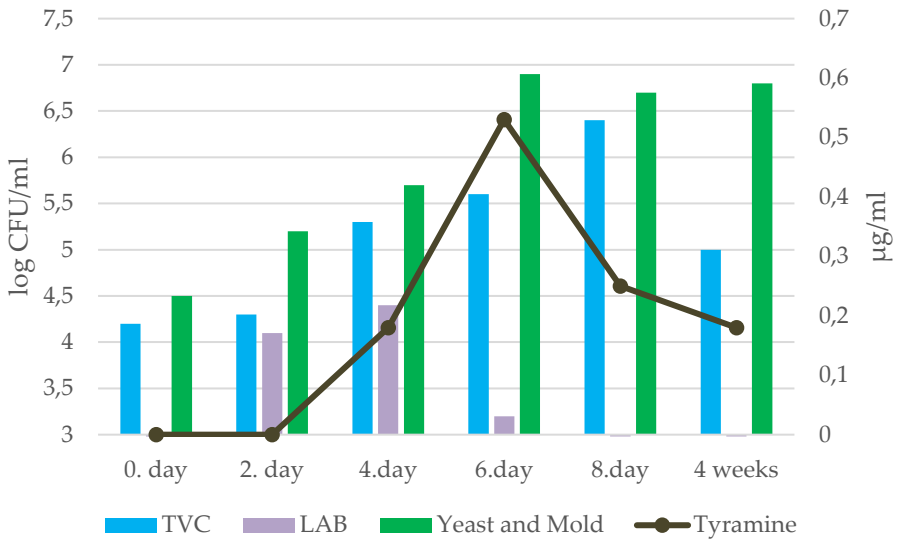


Figure 2 Quantitative microbiological culture examination in relation to the concentration of biogenic amines of must and young wine. TVC - total viable count (sd: ± 0.1); LAB – count of latic acid bacteria (sd: ± 0.0); Yeast and Mold – count of yeasts and molds (sd: ± 0.1)

The number of lactic acid bacteria in each must and young wine sample ranged from < 3.0 ± 0.0 to 4.4 ± 0.1 log CFU.ml^{-1} (Figure 2). We recorded the highest numbers of LAB when taken on the second and fourth day after pressing the grape must. Similar values were also found by (Kačániová et al. 2020), where LAB values in grape berries and fermented must samples ranged from 2.48 ± 0.1 to 4.52 ± 0.1 log CFU.g^{-1} or ml.

The main lactic acid bacteria (LAB) isolated from wine *are Lactiplantibacillus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus* and *Pediococcus* genera (Capozzi et al., 2021; Virdis et al., 2021), that positively influence wine by carrying out malolactic fermentation (Chen et al., 2022). This process can increase wine aroma and mouthfeel, improve microbial stability and reduce the acidity of wine. A growing number of studies support the appreciation that LAB can also significantly, positively and negatively, contribute to the sensorial profile of wine through many different enzymatic pathways. This is achieved either through the synthesis of compounds such as diacetyl and esters or by liberating bound aroma compounds such as glycoside-bound primary aromas and volatile thiols which are odourless in their bound form. LAB can also liberate hydroxycinnamic acids from their tartaric esters and have the potential to break down anthocyanin glucosides, thus impacting wine colour. LAB can also produce enzymes with the potential to help in the winemaking process and contribute to stabilizing the final product (Virdis et al., 2021).

The number of yeasts and moulds in each sample ranged from 4.5 ± 0.1 to 6.9 ± 0.1 log CFU.ml^{-1}. The lowest numbers were recorded in samples of freshly squeezed grape must (day 0) with 4.5 ± 0.1 log CFU.ml^{-1}. During the fermentation of the must, the numbers increased. The highest numbers were recorded during the harvest on the 6th and 8th days of fermentation which were caused by so-called “stormy fermentation”. *Saccharomyces* yeasts are chief

microorganisms responsible for alcoholic fermentation in wine industry. However, there is a growing interest in using non-*Saccharomyces yeasts* (*Torulaspora delbrueckii*, *Lachancea thermotolerans*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Schizosaccharomyces pombe*, and *Pichia kluyveri*) (Jolly et al., 2014).

Torrea et al. 2002 found moderate isolate production of *S. cerevisiae* BA but concentrations were very low. In our study, the highest concentration of tyramine was found on the 6th day of must fermentation which correlated with a higher number of LAB in the samples as well as with an increasing number of yeasts, especially *S. cerevisiae.* It is tyramine that is considered a biogenic amine found in Soucheos wines (Henríquez-Aedo et al., 2016). In general, amines play an important metabolic role in living cells. Polyamines are essential for growth; amines other than tyramine are involved in the function of the nervous system and blood pressure control. Biogenic amines are undesirable because if absorbed in too high concentrations, they can cause headaches, difficulty breathing, palpitations, hypertension or hypotension and several allergic disorders (Santos et al., 1996).

Determination of biogenic amine in must and young wine

To monitor the presence and changes in the concentration of biogenic amine (tyramine) in the must during fermentation, we used samples of Tramin red of the year 2021. As shown in Figure 2, the increase in tyramine concentration occurred at the same stage of fermentation. The tyramine concentration rose sharply between the 4th and 6th days. We recorded the highest concentration of tyramine on the 6th day.

Precisely yeast is involved in BA production during the same time as LAB. There is a general agreement that yeast produces a less significant proportion than LAB do in terms of the final BA content of wine. Several studies on yeast production have been performed and most have only quantified histamine (Torrea et al. 2002; Granchi et al., 2005)

CONCLUSION

The study confirmed the biodiversity of the mycobiota in the variety Tramin red originating from the Eastern Slovakia winegrowing region. At the same time, a strong correlation between LAB and tyramine production was confirmed.

REFERENCES

Bokulich, N. A.; Collins, T. S.; Masarweh, C.; Allen, G.; Heymann, H.; Ebeler, S. E.; Mills, D. A. 2016. Associations among wine grape microbiome, metabolome, and fermentation behaviour suggest microbial contribution to regional wine characteristics. In *MBio*, *7*, e00631-00616. Dostupné na: https://doi.org/10.1128/mBio.00631-16

Capozzi, V., Tufariello, M., De Simone, N., Fragasso, M., Grieco, F. 2021. Biodiversity of Oenological Lactic Acid Bacteria: Species- and Strain-Dependent Plus/Minus Effects on Wine Quality and Safety. In *Fermentation*, 7, 24. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/fermentation7010024

Coton, M., Romano, A., Spano, G., Ziegler, K., Vetrana, C., Desmarais, C., Lonvaud-Funel, A., Lucas, P., Coton, E. 2010. Occurrence of biogenic amine-forming lactic acid bacteria in wine and cider. In *Food Microbiol*, *27*, 1078-1085. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.07.012

de Kok, M. J. C.; Schaapherder, A. F.; Wüst, R. C. I.; Zuiderwijk, M.; Bakker, J. A.; Lindeman, J. H. N.; Le Dévédec, S. E. 2021. Circumventing the Crabtree effect in cell culture: A systematic review. In *Mitochondrion*, 59, 83–9. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.mito.2021.03.014

Granchi, L.; Romano, P.; Mangani, S.; Guerrini, S.; Vincenzini, M. Production of biogenic amines by wine microorganisms. *Bulletin de l'O.I.V.* 2005, 78, 595–609.

Godálová, Z., Kraková, L., Puškárová, A., Bučková, M., Kuchta, T., Piknová, Ľ., Pangallo, D. 2016. Bacterial consortia at different wine fermentation phases of two typical Central European grape varieties: Blaufränkisch (Frankovka modrá) and Grüner Veltliner (Veltlínske zelené). In *International Journal of Food Microbiology*, 217, 110-116. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.10.015

Henríquez-Aedo, K.; Durán, D.; Garcia, A.; Hengst, M.B.; Aranda, M. 2016. Identification of biogenic amines-producing lactic acid bacteria isolated from spontaneous malolactic fermentation of Chilean red wines. In *LWT Food Sci. Technol.*, 68, 183–189. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.12.003

Chen, Q., Hao, N., Zhao, L., Yang, X., Yuan, Y., Zhao, Y., Wang, F.; Qiu, Z.; He, L.; Shi, K.; Liu, S. 2022. Comparative functional analysis of malate metabolism genes in *Oenococcus oeni* and *Lactiplantibacillus plantarum* at low pH and their roles in acid stress response. In *Food Research International*, 157, 111235. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111235.
ISO 6887-1: 2017. Microbiology of the food chain - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions; Slovak Standards Institute: Bratislava, Slovakia.
ISO 4833-1: 2014. Microbiology of food chain. Horizontal method for the enumeration of microorganisms. Part 1: Colony count at 30 degrees C by the pour plate technique; Slovak Standards Institute: Bratislava, Slovakia.
ISO 21527-1: 2010. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds. Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0,95; Slovak Standards Institute: Bratislava, Slovakia.
Jolly, N. P.; Varela, C.; Pretorius, I. S. 2014. Not your ordinary yeast: non-*Saccharomyces* yeasts in wine production uncovered. *FEMS yeast research*, *14*, 215-237. Dostupné na: https://doi.org/10.1111/1567-1364.12111
Kačániová, M., Megyesy Eftimová, Z., Brindza, J., Felšöciová, S., Ivanišová, E., Žiarovská, J., Terentjeva, M. 2020. Microbiota of Tokaj grape berries of Slovak regions. In *Erwerbs-Obstbau*, *62*, 25-33. Dostupné na: https://doi.org/10.1007/s10341-020-00488-9
Santos, M. S. Biogenic amines: their importance in foods. International journal of food microbiology, 1996. 29, 213-231. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/0168-1605(95)00032-1
Torrea, D., Ancín, C. 2002. Content of biogenic amines in a Chardonnay wine obtained through spontaneous and inoculated fermentations. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4895-4899. Dostupné na: doi: 10.1021/jf011653h.
Tristezza, M., Di Feo, L., Tufariello, M., Grieco, F., Capozzi, V., Spano, G., Mita, G. 2016. Simultaneous inoculation of yeasts and lactic acid bacteria: Effects on fermentation dynamics and chemical composition of Negroamaro wine. In *Food Sci. Technol*., *66*, 406-412. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.064
Virdis, C.; Sumby, K., Bartowsky, E., Jiranek, V. 2021. Lactic acid bacteria in wine: Technological advances and evaluation of their functional role. In *Frontiers in microbiology*, 11, 612118. Dostupné na: https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.612118
Vlachovičová, M., Špulerová, J. 2022. Responses of birds to vineyard abandonment in Slovakia. In *Global Ecology and Conservation*, 37, e02178. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.gecco.2022.e02178

Acknowledgments: This work was supported by the project VEGA 1/0156/21.

Contact address:
Jana Výrostková, MVDr., PhD., Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, Košice 041 81 e-mail: jana.vyrostkova@uvlf.sk

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

PREVÁDZKOVÁ HYGIENA A SANITÁCIA NÁPOJOVÝCH AUTOMATOV AKO PROSTRIEDOK NA ELIMINÁCIU MIKROBIOLOGICKÝCH RIZÍK
OPERATIONAL HYGIENE AND SANITATION OF BEVERAGE MACHINES AS A MEANS OF ELIMINATING MICROBIOLOGICAL RISKS

Lucia Zeleňáková

Abstract: The goal was based on current information from special literature process the issue of microbial contamination of beverage vending machines. At the same time, point out the presence of an undesirable microbial population occurring not only in the main raw materials for the preparation of drinks, but also on critical surfaces of beverage machines, which can affect the quality of the resulting drink and pose a potential risk to the health of the consumer, taking into account that many foodborne diseases are spread by cross-contamination.
Keywords: microbial contamination, beverages machines, HACCP, sanitation, foodborne illness

PREHĽAD LITERATÚRY

Vďaka ľuďom, ktorí kladú vo svojej práci dôraz na pitný režim sa predajné automaty stali bežnou súčasťou výrobných podnikov a rôznych verejných inštitúcií, a tak okolo 80 % z nich stojí práve tam (URL 1). Konkrétne podľa najnovšieho prieskumu Henke a Sardone (2020) sa automaty nachádzajú hlavne v súkromných spoločnostiach – továrňach (34 %) a kanceláriách (17 %), zatiaľ čo vo verejnej správe sa nachádza ďalších 20 %, pokryté sú aj školy a univerzity (13 %), nasledujú verejné a súkromné nemocnice (9 %) a tranzitné stanice (3 %). Iné verejné priestory (ako sú parky, múzeá, športové centrá) sú stále na okraji záujmu.

Na Slovensku sa začal trh s predajnými automatmi významnejšie rozvíjať v 90. rokoch 20. storočia. V súčasnosti je ich počet okolo 16 500 a z toho 12 300 predstavujú 22 automaty na teplé nápoje. Ich počet však predstavuje len necelé 1 % z počtu automatov v celej Európe (4,1 mil. automatov). Ročný obrat v spotrebe nápojov z automatov na Slovensku predstavuje 76,1 milióna EUR , trend zaznamenal nárast v priemere o 8 % (European Vending Association, 2020).

Na prípravu teplých a studených nápojov sa používajú priemyselne vyrábané instantné nápojové prášky, zrná či koncentrované kvapaliny (sirupy). Prášky môžu obsahovať čaj, kávu, cukor, srvátkový prášok, kakaový prášok, kazeináty, rastlinný tuk, emulgátory, protihrudkujúce látky, či stabilizátory glukózového sirupu, v závislosti od produktu (Hall, 2008).

Doplnkový sortiment k prevádzke nápojových automatov sú poháre (150 ml, 180 ml, 250 ml, 300 ml), viečka a plastové alebo drevené eko miešadlá (URL 2). Výrobcovia pohárov poskytujú plastové, papierové alebo dokonca poháre kompostovateľné za tepla, ako aj priehľadné plastové poháre používané v automatoch na vodu. V rámci európskych predajných automatov sú papierové poháre v súčasnosti bežnejšie ako plastové nápojové poháre, ale na trhu platia značné rozdiely. V súlade s trendom v kávových službách sú dnes často vyrobené z vysoko kvalitného lepenkového papiera podobného tým, ktoré sa používajú v kaviarňach (European Vending Association, 2018).

Jednou z najdôležitejších povinností prevádzkovateľa pri ambulantnom predaji je, aby sa potraviny na všetkých stupňoch výroby, spracovania a distribúcie chránili pred akoukoľvek kontamináciou, ktorá by mohla spôsobiť, že potraviny budú nevhodné na ľudskú spotrebu, škodlivé pre zdravie. Preto priestory a predajné automaty musia byť v prakticky uskutočniteľnej

miere umiestnené, navrhnuté, skonštruované a udržiavané v čistote a v dobrom stave údržby tak, aby sa zabránilo riziku kontaminácie. S tým súvisí aj zabezpečenie vyhovujúceho spôsobu hygienického skladovania a likvidácie odpadu – tekutého alebo pevného (Melegová, 2020).

Za sprostredkovateľa škodlivých patogénov môžeme považovať rôzne druhy hmyzu (najmä muchy, švábyj), hlodavce a iné pouličné zvieratá, ale aj prachom znečistený vzduch (Mohd Nawawee et al., 2019). V zásade by mali byť stroje navrhnuté a vyrobené tak, aby sa dali ľahko čistiť a bez tmavých oblastí, v ktorých by sa mohli škodcovia schovávať. Stroje by mali byť umiestnené na čistom a dobre osvetlenom mieste, mimo priameho slnečného žiarenia a okrem zamorenia škodcami je potrebné vyhnúť sa tiež miestam, kde hrozí chemická kontaminácia (Saltmarsh, 2014). V dnešnej dobe je zabezpečenie kvality a bezpečnosť potravín nevyhnutným cieľom spoločností, ktoré vyrábajú a predávajú potraviny. V súčasnosti sa preto kladie dôraz aj na hygienu a bezpečnosť surovín na prípravu pokrmov, čím sa sprísnila aj kontrola kvality používaných ingrediencií (De Leo et al., 2021).

Kontrolnými kritickými bodmi pri príprave nápojov sú najmä príjem a skladovanie používaných surovín za predpokladu, že je spoľahlivo vykonávaná sanitácia nápojových automatov. Suroviny musia byť skladované za podmienok, ktoré určuje výrobca.

Automaty podliehajú pravidelnej kontrole, údržbe, plneniu nádob a zásobníkov na prísady alebo výrobky, ako aj čisteniu a zásahom v prípade nefunkčnosti mechanických, elektrických a elektronických častí stroja. Zásahy pri kontrole, údržbe, čistení alebo opravách si vyžadujú prístup k rôznym častiam automatu. Prístup do interiéru automatu sa zvyčajne dosahuje otvorením predného panela alebo steny automatu. Prístup k ostatným zariadeniam umiestneným vo vnútri automatu je aj pre samotný personál zodpovedajúci za údržbu, čistenie a opravy strojov ťažší (Righetti, 2016).

Pri konštrukcii a výrobe potravinárskych strojov a zariadení sa používajú rôzne materiály. Navzájom sa líšia svojimi vlastnosťami, pokiaľ ide o spracovateľnosť, kompatibilitu a sanitárne vlastnosti. Niektoré materiály sa neodporúčajú a je potrebné sa im vyhnúť (Gabrić et al., 2016). Diely prichádzajúce do styku s potravinami alebo vodou nemusia byť vyrobené iba z nehrdzavejúcej ocele, ale mali by byť vyrobené z materiálov, ktoré zodpovedajú národným, alebo medzinárodným predpisom (napr. polykarbonát), sú schválené na kontakt s pitnou vodou a vytvorenými nápojmi a keďže nealkoholické nápoje aj sýtená voda sú kyslé, je veľmi dôležité, aby potrubia v systémoch na výdaj nápojov boli vyrobené z materiálu, ktorý nebude pri kontakte s nimi korodovať. Hadičky v nápojových automatoch sú väčšinou zo silikónovej gumy (Saltmarsh, 2014).

Rovnako dôležitá je aj pravidelná údržba špeciálnych čistiacich a odvápňovacích filtrov s aktívnym uhlím, ktoré sa pri vstupe do zariadenia používajú na ochranu pred tvorbou vodného kameňa, čistia vodu od chlóru a prípadných pachutí a zápachov a napomáhajú tak udržiavať hygienickú kvalitu vydávaných nápojov. Filtre poskytujú miesta pre množenie baktérií, niekedy je aktívne uhlie v nich ošetrené striebrom na potlačenie ich rastu, ale to nie je vždy účinné, preto 40 by sa mali udržiavať a meniť v súlade s odporúčaniami výrobcu. Pravidelne sú vymieňané aj na základe lokality, ktorá vplýva na tvrdosť a kvalitu vody (Vallone a Bonomi, 2011). Porucha čistenia a dezinfekcie zariadení, filtrov, tesnení, ventilov, komponentov plniacich hláv a plniacich ventilov by mohli viesť k tvorbe biofilmu a poskytnúť substráty pre rast acidofilných mikroorganizmov, napríklad mliečnych baktérií, kvasiniek a plesní (Azeredo et al., 2016).

Dakroub a Na'was (2018) vo svojej štúdii uvádzajú, že aj vonkajšie povrchy nápojových automatov môžu byť vystavené riziku mikrobiálnej kontaminácie. Vďaka nízkej hygienickej úrovni používateľov a nevhodnými postupmi čistenia sú príčinou možnej krížovej kontaminácie rôznymi mikroorganizmami a spórami. Na povrchoch často prežívajú baktérie, ktoré sú schopné vydržať dlhšie suché podmienky. Perzistencia a odolnosť týchto patogénov priamo súvisí s ich schopnosťou vytvárať biofilmy. K ich tvorbe na rôznych povrchoch

(nehrdzavejúca oceľ, PVC, polystyrén, polypropylén, sklo atď.) dochádza už po dvoch hodinách a môžu prežívať aj niekoľko rokov. Biofilmy pôsobia ako obranný mechanizmus pred pôsobením rôznych antimikrobiálnych látok, ako antibiotiká, konzervačné látky, chemické dezinfekčné prostriedky, ktoré sa tradične používajú a tiež sa ukázalo, že sú odolnejšie voči vysokým teplotám, nízkemu pH, vysušeniu, UV žiareniu a slanosti. Početné štúdie preukázali, že *E. coli, Listeria monocytogenes, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella* sp., *Bacillus* sp., *Proteus* a i. majú schopnosť viazať sa a vytvárať biofilm. Priemyselné povrchy sú potom dôležitými mikrobiálnymi rezervoármi, ktoré je potrebné kontrolovať, aby sa zabránilo krížovej kontaminácii (Mazaheri et al., 2021; Bhardwaj et al., 2021; Muhammad et al., 2020).

Posúdenie mikrobiálneho rizika je súčasťou odhadu rizika pre ľudské zdravie z hľadiska pravdepodobnosti výskytu patogénnych mikroorganizmov v potravine a pravdepodobnosti vzniku akýchkoľvek nepriaznivých účinkov na zdravie po expozícii (Ranadheera et al., 2020).

Mikrobiota nápojov z automatov by mala byť rovnaká ako v nápojoch podávaných tradičnými metódami, no vďaka bohatému nutričnému zloženiu a vysokému obsahu vody sú ideálnym zdrojom mikrobiálneho prežitia, rastu a môžu tiež produkovať toxické zlúčeniny (Raposo et al., 2015).

Prvé preventívne opatrenie týkajúce sa mikrobiálnej bezpečnosti nealkoholických nápojov by malo byť spojené s kvalitou pitnej vody, ktorá sa môže meniť najmä v dôsledku nedodržania hygienických postupov a pravidelnej údržby (Ranadheera et al., 2020). Dôležitosť vody používanej na výrobu nealkoholických nápojov sa preto netýka iba fyzikálno-chemických parametrov, ale aj tých mikrobiologických. Predbežná úprava vody by sa mala vykonať tak, aby mikroorganizmy, akékoľvek príchute, mikroskopické a koloidné častice, organické látky, uhličitany a hydrogenuhličitany, zlúčeniny železa a síry a nadbytočné chloridy boli eliminované (Azeredo et al., 2016). Baktérie nachádzajúce sa vo vode patria zvyčajne medzi rody *Pseudomononas, Chromobacterium, Proteus, Achromobacter, Microccoccus, Bacillus, Streptococcus a Aerobacter* (Raposo et al., 2017).

Al Moosa et al. (2015) a Longo et al. (2013) potvrdili tiež prítomnosť *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* a plesní. Mikrobiologická kvalita nápojov môže byť tiež ovplyvnená mikrobiálnou záťažou práškov, v ktorých aj po procese tepelného sušenia spóry mikroskopických vláknitých húb, baktérie a mikrobiálne spóry môžu prežiť (Cardaci et al., 2016). Keďže nie je možné zabezpečiť, aby vo výrobkoch neboli žiadne prítomné mikroorganizmy, väčšia časť týchto surovín zabezpečuje inhibíciu mikroorganizmov znížením aktivity vody, a preto musia byť skladované v suchom prostredí, aby nedošlo k adsorpcii vodných pár zo vzduchu, k zvýšeniu aw, a tým k pomnoženiu mikroorganizmov, najmä MVH a k tvorbe mikrobiálnych toxínov (Ondrejka, 2004). Výskumami sa zistilo, že v sušenom mlieku, kakaovom prášku a prášku horkej čokolády boli prítomné kmene: *Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Salmonella* sp., *E. coli,* kvasinky a mikroskopické vláknité huby (Hall et al., 2011; Longo et al., 2013). Pokiaľ ide o huby, boli z práškových zmesí izolované rôzne druhy: *Aspergillus flavus, Aspergillus ochraceus, Aspergillus niger, Cladosporium herbarum, Trichoderma viridae, Alternaria alternata, Penicillium frequentans, Penicillium aurantiogriseum* (Vallone a Bonomi, 2011). Konkrétne pri výrobe kakaového prášku Ranadheera et al. (2020) rovnako zistili prítomnosť šiestich druhov húb; a to *Aspergillus carbonarius, Aspergillus parasiticus, Aspergillus flavus, Aspergillus ochraceus, Aspergillus niger a Pencillium citrinum*. Rovnako aj iné suroviny, ako cukor alebo sirupy môžu predstavovať riziko, pretože v nich môžu prežiť niektoré termostabilné spóry a/alebo plesne a prítomnosť cukrov je pre všetky mikroorganizmy dôležitým zdrojom energie.

Stupeň kontaminácie vydávaných nápojov by mohol byť ovplyvnený okrem hygieny a čistiacich postupov aj časovým intervalom medzi dvoma po sebe nasledujúcimi čisteniami, typom použitého dezinfekčného prostriedku, rozmanitosťou distribuovaných nápojov,

kyslosťou a dávkovaním surovín, avšak aj doba nečinnosti automatu (víkendy, sviatky) a zložitosť samotného zariadenia nadobúdajú veľký význam (Cardaci et al., 2016; Longo et al., 2013). Vo vnútri stroja sa nachádza niekoľko oblastí, kde je možné hromadenie navlhčeného prášku, ktorý je potrebné vyčistiť, aby sa zabránilo možnosti mikrobiálneho rastu a výskytu zhlukov prášku v nápojoch (Raposo et al., 2015). Problém spočíva v tom, že v dôsledku vlhkosti a vodnej pary stúpajúcej zo zmiešavacej komory sa zvnútra aj zvonka výstupu násypky na prášok môžu držať jemné čiastočky zvlhnutého prášku, čo môže spôsobiť jeho prípadné upchatie, a tak do zmiešavacej komory nemusí byť dávkované žiadne alebo len znížené množstvo práškovej prísady. Ďalším problémom dávkovačov je to, že zostavu zmiešavacej komory nie je možné ľahko demontovať, v dôsledku čoho sa časti zmiešavacej komory nečistia tak často, ako by mali, čo má nepriaznivý vplyv na chuť a kvalitu alebo dokonca možno na zdravotnú bezpečnosť miešaných nápojov (Lassota, 2005).

Prevádzkové spoločnosti síce plnia, čistia a udržiavajú nápojové automaty podľa priložených manuálov, faktom však zostáva, že okrem technických pracovníkov, ktorí s automatmi nepretržite manipulujú, majú viacerých používateľov, čo je dôvodom domnienky, že bakteriálna kontaminácia ich častí je veľmi pravdepodobná (Dakroub a Na'was, 2017; Raposo et al., 2015). Kontakt medzi potravinami a nápojmi a vonkajšími povrchmi stroja môže viesť k prenosu bakteriálnych druhov alebo spór, čo môže predstavovať riziko pre zdravie spotrebiteľa (Cardaci et al., 2016). Zdroj kontaminácie v nápojových automatoch, automatoch na vodu je často z rúk používateľov, kde môžu byť fekálne baktérie (Reynolds, 2010). Z dôvodu naliehavej potreby spoločností prilákať viac spotrebiteľov, boli automaty kvôli pohodlnému predaju umiestnené pri verejných toaletách, a tak v dôsledku zlyhania jednotlivca v správnom umývaní rúk sú aj tlačidlá automatu náchylné na kontamináciu. Z tlačidiel a dotykových obrazoviek boli izolované nasledujúce rody: *Staphylococcus, Escherichia, Klebsiella, Enterobacter, Serratia a Citrobacter*. Tento problém sa ešte zväčšuje, a to absenciou pravidelných a správnych sanitačných postupov na čistenie strojov umiestnených na rôznych verejných miestach (Dakroub a Na'was, 2017).

Cardaci et al. (2016) a Vallone a Bonomi (2011) zistili aj výraznejšiu kontamináciu dýzy, výdajnej oblasti a tiež držiaka na poháre. Dávkovač je ovplyvnený kontamináciou okolitého životného prostredia a zvyškami nápoja, ktoré zostávajú pripevnené a tvoria substrát pre množenie baktérií a tiež priamym kontaktom používateľa s týmito povrchom pri zbere nápojov. Aj výskum Hertin (2011) ukázal, že zákazníci používajúci samoobslužné stroje na výrobu sódy sa niekedy dotknú dýzy, z ktorej sa vydáva nápoj. Tento kontakt umožňuje bakteriálny prenos zo zákazníka na dávkovač, ktorý prichádza do priameho kontaktu s vydaným nápojom. Medzi vedľajšie produkty, ktoré sú náchylné na kontamináciu baktériami, patria napríklad malé množstvá odpadu, ktorý kvapká z výlevky a tiež odpadkové koše, ktoré sú často nekryté. Rozliate nápoje priťahujú hmyz, najmä mušky, ktoré môžu byť vektormi prenosu, preto nehygienické podmienky prostredia predajného miesta by tiež mohli prispieť ku kontaminácii. Vedľajšie produkty z výlevky by sa mali skladovať napríklad v zapečatenej nádobe alebo v otvorenej nádobe, ktorá sa udržiava na nízkych teplotách. Obsah nádoby by sa mal pravidelne odstraňovať servisnou službou (Con, 2003; Mohd Nawawee et al., 2019).

Z uvedených faktov vyplýva, ako môžu byť stroje zdrojom neohlásených chorôb, a tak dôležitosť občasného testovania a priamej vizuálnej kontroly ako ďalšieho opatrenia na prevenciu potenciálneho rizika chorôb prenášaných potravinami najmä v prostrediach, kde sa zúčastňujú osoby náchylné na choroby, ako je staršia a imunosuprimovaná populácia je nutnosťou (Cardaci et al., 2016). Rovnako je potrebné poznamenať, že všetky vyššie uvedené obavy je možné vyriešiť prostredníctvom uplatňovania zásad správnej výrobnej praxe v kombinácii s postupmi uvedenými v systéme HACCP (Longo et al., 2013).

ZÁVER

Bezpečnosť predajných automatov nie je absolútna a v skutočnosti môžu predstavovať potenciálnu hrozbu pre ľudské zdravie. Ukázalo sa, že často používané povrchy, ako sú napríklad tlačidlá predajných automatov, sú podceňovaným zdrojom kontaminácie spolu s potenciálne patogénnymi ľudskými rukami, a sú teda možnou príčinou samoinfekcie alebo krížovej kontaminácie. Z týchto dôvodov majú postupy údržby, ich plány čistenia a dezinfekcie (uplatňovanie vhodných postupov čistenia, ktoré majú vykonávať vyškolení a senzibilizovaní pracovníci) zásadnú úlohu a je potrebné ich vykonávať náležite. Odporúča sa, aby si výrobcovia a prevádzkovatelia zaoberajúci sa údržbou nápojových automatov uvedomovali riziká; okrem toho by mali výrobcovia pri ich výrobe vziať do úvahy modernejšie čistiace a inžiniersko-hardvérové technológie, aby sa čo najviac zabránilo priamemu kontaktu medzi komponentmi stroja, konečným výrobkom a rukami spotrebiteľov.

LITERATÚRA

Al Moosa, M. E., Khan, M. A., Alalami, U., Hussain, A. 2015. Microbiological quality of drinking water from water dispenser machines. In *International Journal of Environmental Science and Development,* vol. 6, no. 9, pp. 710. Dostupné na: doi: 10.7763/IJESD.2015.V6.685.

Azeredo, D. R. P., Alvarenga, V., Santana, A. S., Sabaa Srur, A. U. O. 2016. An overview of microorganisms and factors contributing for the microbial stability of carbonated soft drinks. In *Food Research International,* vol. 82, pp. 136-144. ISSN 0963-9969. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.024.

Bhardwaj, D. K., Taneja, N. K., Shivaprasad D.P., Chakotiya, A., Patel, P. et al. 2021. Phenotypic and genotypic characterization of biofilm forming, antimicrobial resistant, pathogenic *Escherichia coli* isolated from Indian dairy and meat products. In *International Journal of Food Microbiology,* vol. 336, 108899. ISSN 0168-1605. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108899.

Cardaci, R., Burgassi, S., Golinelli, D., Nante, N., Battaglia, M., Bezzini, D., Messina, G. 2016. Automatic Vending-Machines Contamination: A Pilot Study. In *Global Journal of Health Science,* vol. 9, no. 2, pp. 63-67. doi: 10.5539/gjhs.v9n2p63.

Con, A. 2003. *Self-contained vending machine for beverages.* U.S. Patent Application No 10/281,326. Dostupné na: https://patents.google.com/patent/US20030079612A1/en.

Dakroub, R., Na'was, T. 2017. Vending machine buttons and touch screens: a surface colonized by pathogenic bacteria .In *International Journal of Innovative and Applied Research,* vol. 5. pp. 82-88. ISSN 2348 – 0319. Dostupné na: http://www.journalijiar.com/article/544/vending-machine-buttons-and-touch-screens:-a-surface-colonized-by-pathogenic-bacteria./.

De Leo, F., Coluccia, B., Miglietta, P. P., Serio, F. 2021. Food contact materials recalls and international trade relations: an analysis of the nexus between RASFF notifications and product origin. In *Food Control,* vol. 120, 107518. ISSN 0956-7135. Dostupné na: doi:10.1016/j.foodcont.2020.107518.

European Vending Association. 2018. Consumer Behaviour Report - Automatic Coffee, Drinks and Snacks Machines. Dostupné na: https://www.vending-europe.eu/activities/market-information/.

European Vending Association, 2020. Nepublikovateľné - priama emailová komunikácia.

Gabrić, D., Galić, K., Timmerman, H. 2016. Cleaning of Surfaces. *Handbook of Hygiene Control in the Food Industry.* pp. 447–463. Dostupné na: doi:10.1016/b978-0-08-100155-4.00031-5.

Hall, A. 2008. Microbiological risks associated with hot-drinks vending. *Tesi di Dottorato, Università del Galles, UK.* Dostupné na: http://repository.uwic.ac.uk/dspace/bitstream/10369/860/1/.pdf.

Hall, A., Griffiths, H., Saltmarsh, M., Peters, A., Fielding, L. 2012. Profiling *Bacillus cereus* populations in a traditional style, hot-drinks vending machine and vended hot chocolate drink using polymerase chain reaction (PCR) and random amplified polymorphic DNA (RAPD) techniques. In *Food Control,*vol. 27, no. 1, pp. 127-131. ISSN 0956-7135. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.02.028.

Henke, R., Sardone, R. 2020. Innovation in the Italian Sector of Vending Machines. Between Growth and Search for Sustainability. In *Italian Review of Agricultural Economics,* vol. 75, no. 2, pp. 13-23. ISSN 2281-1559. Dostupné na: DOI: 10.13128/rea-12067.

Hertin, K. 2011. A comparative study of indicator bacteria present in ice and soda from Las Vegas food establishments. Dostupné na: https://digitalscholarship.unlv.edu/thesesdissertations/1282/.

Lassota, Z. G. 2005. *Beverage ingredient powder mixing drink dispenser and method.* U.S. Patent No 6,837,397, 2005. Dostupné na: https://patents.google.com/patent/US6837397B2/en.

Longo, A., Giuffrida, A., Giarratana, F., Beninati, C., Muscolino, D., Panebianco, A. 2013. Microbiological evaluation of hot beverages dispensed by vending machines from the Army barracks of Brigata Meccanizzata

Aosta located in Messina. In *Italian Journal of Food Safety*, vol. 2, no.1, e5. Dostupné na: https://doi.org/10.4081/ijfs.2013.966.
Mazaheri, T., Cervantes-Huamán, B. R. H., Bermúdez-Capdevila, M., Ripolles-Avila, C., Rodríguez-Jerez, J. J. 2021. "*Listeria monocytogenes* Biofilms in the Food Industry: Is the Current Hygiene Program Sufficient to Combat the Persistence of the Pathogen?" In *Microorganisms*, vol. 9, no. 1, pp. 181. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/microorganisms9010181.
Melegová, A. 2020. Ambulantný predaj z hľadiska hygienických predpisov. Dostupné na: https://www.podnikajte.sk/zakonne-povinnosti-podnikatela/ambulantny-predaj-hygiena.
Mohd Nawawee, N. S., Abu Bakar, N. F., Zulfakar, S. S. 2019. Microbiological Safety of Street-Vended Beverages in Chow Kit, Kuala Lumpur. In *International Journal of environmental research and public health*, vol. 16, no. 22, pp. 4463. Dostupné na: doi:10.3390/ijerph16224463.
Muhammad, M. S., Abdul–Wahab, M. F., Saidin, M. A. R., Asraf, M. A., Malek, N. A. N. N. 2020. Microbiological analysis of drinking water from water vending machines. In *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*, vol. 16, no. 2, pp. 186-189. Dostupné na: http://eprints.utm.my/id/eprint/87751/1/ MustaphaSalisuMuhammad2020_MicrobiologicalAnalysisofDrinkingWater.pdf.
Ondrejka, J. 2004. *Príručka na vypracovanie plánu správnej výrobnej praxe (HACCP) v potravinárskych zariadeniach. Cukrárenská a lahôdkárska výroba, výroba zmrzliny, predaj v predajných automatoch.* Bratislava: EPOS, 2004. s 406-436. ISBN 80-8057-568-1.
Ranadheera, C. S., Prasanna, P. H. P., Pimentel, T. C., Azeredo, D. R. P., Rocha, R. S., et al. 2020. Microbial Safety of Nonalcoholic Beverages. In: Grumezescu, A. M., Holban A. M. *Safety Issues in Beverage Production*. Academic Press, 2020. p. 187-221. ISBN 978-01-2816-679-6. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816679-6.00006-1.
Raposo, A., Carrascosa, C., Pérez, E., Saavedra, P., Sanjuán, E., Millán, R. 2015. Vending machines: Food safety and quality assessment focused on food handlers and the variables involved in the industry. In *Food Control*,vol. 56, pp. 177-185. ISSN 0956-7135. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.01.052.
Raposo, A., Pérez, E., De Faria, C. T., Ferrús, M. A., Carrascosa, C. 2017. Food Spoilage by *Pseudomonas spp*. - An Overview. In *Foodborne Pathogens and Antibiotic Resistance*, pp. 41–71. Dostupné na: doi:10.1002/9781 119139188.ch3.
Reynolds, K. 2010. Bacteria Fountains - the Potential Problem with Vended Drinks. Dostupné na: http://wcponline.com/2010/02/16/9348/.
Righetti, M. 2016. *Beverage vending machines*. U.S. Patent No 9,396,605. Dostupné na: https://patents.google.com/patent/US9396605B2/en.
Saltmarsh, M. 2014. Safety of Food and Beverages: Safety of Food in Vending Machines. In: Motarjemi, Y. et al. In *Encyclopedia of Food Safety.* Academic Press, 2014, pp. 397-401. ISBN 978-01-2378-613-5. Dostupné na:https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378612-8.00298-5.
Vallone, L., Bonomi, R. 2011. Hygienic and health quality of hot beverages distributed by vending machines. In *Italian Journal of Food Safety*, vol. 1, No. 2, pp. 81-84. Dostupné na: https://doi.org/10.4081/ijfs.2011.776.
URL 1 https://www.slideshare.net/Randrvending/benefits-of-having-available-a-healthy- vending-machine
URL 2 https://www.davital.sk

Poďakovanie: Práca bol podporená projektom KEGA č. 020SPU-4/2021: „Inovácia metodologického zázemia a obsahu profilových potravinársko-gastronomických predmetov so zameraním na zvýšenie konkurencieschopnosti absolventov“

Kontaktná adresa: doc. Ing. Lucia Zeleňáková, PhD., Ústav potravinárstva, FBP SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra Slovakia, E-mail: lucia.zelenakova@uniag.sk. ORCID https://orcid.org/0000-0003-1387-7410

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Výživa a bezpečnosť potravín

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

APLIKÁCIA PRÍRODNÝCH EXTRAKTOV PRE POTENCIÁLNE PREDĹŽENIE TRVANLIVOSTI INOVOVANÝCH ZDRAVOTNE BEZPEČNÝCH POTRAVÍN
THE APPLICATION OF NATURAL EXTRACTS FOR THE POTENTIAL EXTENSION OF THE SHELF LIFE OF INNOVATED AND HEALTHY SAFE FOODS

Martina Fikselová, Lucia Benešová, Lucia Zeleňáková, Tomáš Vlčko, Jana Ďurišová, Stanislava Lukáčová, Jozef Golian

Abstract: The aim of this study was to test the natural extracts addition with potential preservative properties in gluten-free muffins with no use of synthetic additives. We focused on the application of three natural extracts in gluten-free products: moringa, acerola and chitosan. The extracts were added as a powder in amount of 2% to the muffin dough. Fresh muffins and muffins after seven days of storage in a plastic bag and in a modified atmosphere packaging were evaluated. We performed sensory evaluation of the products and measured water activity and pH. The natural extracts showed a positive effect on the sensory properties of fresh muffins. We detected slight decrease in pH and water activity in the modified atmosphere packaging. Gluten-free muffins with natural extracts showed better quality in the modified atmosphere packaging compared to the plastic bags.
Keywords: shelf-life, gluten-free, natural extracts, modified atmosphere, pH, water activity, storage

ÚVOD

V posledných rokoch sa vynaložilo značné úsilie o nájdenie prírodných antimikrobiálnych látok, ktoré môžu inhibovať rast baktérií a mikroskopických vláknitých húb a zlepšia kvalitu a trvanlivosť potravín. Prírodné antimikrobiálne látky sa vyrábajú a izolujú z rôznych zdrojov, najmä z rastlinných a živočíšnych materiálov, baktérií, rias a húb. Využiť sa môžu aj vedľajšie produkty získané z ovocia a zeleniny, ako aj odpad z kôrovcov (Villalobos-Delgado et al., 2019).

Moringa olejodárna (*Moringa oleifera*) pochádza z čeľade Moringaceae. Moringa má vysokú antioxidačnú aktivitu hlavne vďaka obsahu flavonoidov. Prítomné sú rutín, kvercetín, rhamnetín, kaempferol, apigenín a myricetín. Listy moringy obsahujú kyselinu galovú ako hlavnú fenolovú kyselinu. V listoch sa tiež nachádza kyselina ellagová, kyselina ferulová, kyselina kávová, kyselina o-kumarová a kyselina chlorogénová (Abd Rani et al., 2018).

Acerola (*Malpighia emarginata*) je ovocie nazývané aj ako barbadoská čerešňa alebo západoindická čerešňa. Acerola je známa vysokým obsahom bioaktívnych zložiek, najmä vitamínu C a antokyánov, flavonoidov, karotenoidov a fenolov s preukázanými antioxidačnými vlastnosťami.

Chitosan je N-deacetylovaný derivát chitínu. Nachádza sa v pancieri kôrovcov ako aj v hmyze a bunkovej stene húb. Inhibuje rast širokého spektra mikroskopických vláknitých húb, kvasiniek a baktérií. Hlavný antimikrobiálny účinok chitosanu súvisí so schopnosťou jeho pozitívne nabitých amínových skupín viazať sa na negatívne nabitý povrch bakteriálnych stien alebo plazmatickej membrány. To spôsobuje modifikáciu bunkovej permeability, čo vedie k osmotickému poškodeniu pri odtoku iónov a proteínov z cytoplazmy do extracelulárneho priestoru. Okrem toho boli navrhnuté ďalšie mechanizmy, ako napríklad interakcia produktov difúznej hydrolýzy s mikrobiálnou DNA, ktorá vedie k inhibícii mRNA a syntéze proteínov. Chitosan tiež inhibuje mikrobiálny rast chelatáciou živín a základných kovov. Nakoniec sa na

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

povrchu bunky môže vytvoriť polymérna membrána, ktorá bráni vstupu nutrientov do bunky alebo funguje ako kyslíková bariéra, ktorá môže inhibovať rast aeróbnych baktérií (Villalobos-Delgado et al., 2019).Vďaka svojim vlastnostiam ako je netoxicita, biologická odbúrateľnosť, chelácia, antikoagulácia, antioxidačné a antimikrobiálne vlastnosti a biokompatibilita sa chitosan zdá byť veľmi zaujímavý v potravinárskom priemysle (Venkatesan et al., 2018). Cieľom práce bolo pripraviť bezgluténové jemné pečivo (muffiny) s prídavkom prírodných extraktov, ktoré sú na našom trhu dostupné ako alternatíva syntetických konzervačných látok. Inovované bezgluténové muffiny vyhodnotiť v rámci vybraných parametrov bezpečnosti a kvality ako sú: senzorické hodnotenie, detekcia aktivity vody a pH a kvalitu muffinov porovnať aj v rôznych druhoch balenia po ich skladovaní.

MATERIÁL A METODIKA

Materiál

Navrhli sme štyri druhy muffinov: bez prídavku prírodných konzervačných látok (kontrolná vzorka) a s 2 % prídavkom moringy, 2 % prídavkom aceroly, 2 % prídavkom chitosanu, ktoré sa hodnotili v čerstvom stave. Ďalej sa tieto zabalili do plastového vrecka alebo do balenia s modifikovanou atmosférou (MAP), ktoré sa skladovali pri izbovej teplote 20 – 22 °C.

Tabuľka 1 Prehľad vzoriek vyvinutých muffinov

Vzorka 1	Kontrolný bezgluténový muffin bez pridaného extraktu balený v plastovom vrecku
Vzorka 2	Muffin s 2 % práškového extraktu z moringy balený v plastovom vrecku
Vzorka 3	Muffin s 2 % práškového extraktu plodov aceroly balený v plastovom vrecku
Vzorka 4	Muffin s 2 % práškového chitosanu balený v plastovom vrecku
Vzorka 5	Kontrolný bezgluténový muffin bez pridaného extraktu balený v modifikovanej atmosfére
Vzorka 6	Muffin s 2 % práškového extraktu z moringy balený v modifikovanej atmosfére
Vzorka 7	Muffin s 2 % práškového extraktu z plodov aceroly balený v modifikovanej atmosfére
Vzorka 8	Muffin s 2 % práškového chitosanu balený v modifikovanej atmosfére

Metodika

V dieži sa vyšľahali žĺtka, voda a cukor. Postupne sa pridávali olej, bezgluténová zmes, prášok do pečiva a oligofruktóza. Nakoniec sa primiešali vyšľahané bielka. Vzniklo homogénne cesto polotuhej konzistencie. Cesto sme navážili a rozdelili na štyri časti. Do prvých troch sme pridali 2 % prídavok rastlinného extraktu a štvrtá zostala bez prídavku ako kontrolná vzorka. Cesto sa premiešalo a dávkovalo do muffinových foriem po 30 g. Vzorky sa následne vypiekli pri teplote 190 °C 20 minút. Hotové muffiny sme nechali vychladnúť, zabalili do klasického plastového obalu bez úpravy atmosféry (balenie A) a do balenia s modifikovanou atmosférou (balenie B). Počas úpravy atmosféry v balení sa najskôr vzduch vysal za vzniku vákua a nahradil sa zmesou plynov pred utesnením obalu. Hlavnými plynmi používanými v zmesi boli oxid uhličitý (70 %) a dusík (30 %).

Muffiny sa hodnotili senzoricky, sledovala sa aktivita vody a pH, po rôznych spôsoboch zabalenia, po týždni skladovania. Muffiny v plastovom vrecku aj v balení s modifikovanou atmosférou (MAP) sa skladovali pri izbovej teplote 20 – 22 °C a relatívnej vlhkosti vzduchu 65 %.

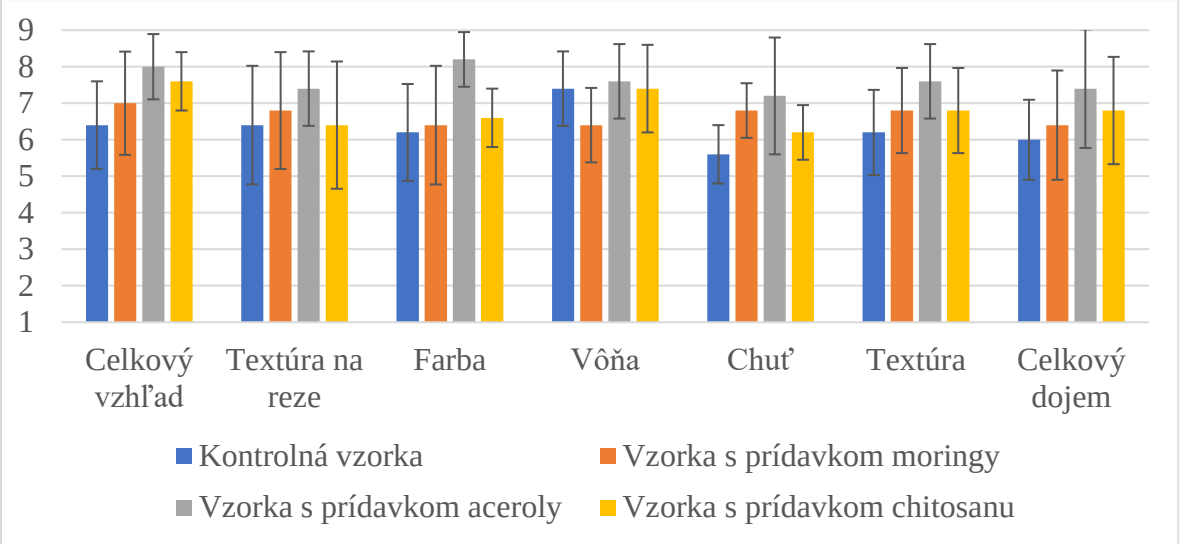
Senzorické hodnotenie
Senzorické vlastnosti muffinov posudzovala komisia, tvorená školenými hodnotiteľmi. Vzorky boli posudzované na základe 9 bodovej hedonickej stupnice. Senzorický dotazník bol vytvorený nasledovnými deskriptormi: celkový vzhľad, textúra na reze (pórovitosť, drobivosť, elasticita), farba, vôňa, chuť, textúra (žuvateľnosť, lepivosť, prehĺtavosť) a celkový dojem. Hodnotenie bodom 1 predstavovalo veľkú nespokojnosť, 5 bodov neutrálnosť a 9 bodov veľkú spokojnosť. Vzorky boli podávané ako samostatné porcie bez označenia prídavku.

Detekcia aktivity vody
Aktivitu vody sme stanovili s pomocou prístroja Fast-lab, ktorý je určený na meranie aktivity vody v potravinách. Ide o priame meranie voľnej vody vo výrobku, ktorá je k dispozícii pre chemické reakcie podporujúce znehodnotenie a množenie baktérií. Vzorku muffinu sme upravili a vysypali do misky, ktorá sa potom vkladala do uzavretej komory prístroja. Následne sme odčítali výsledky.

Detekcia pH
Použili sme pH meter Testo 206-pH2. Meranie sa uskutočnilo vo vzorkách vpichom sondy do striedky muffinu a odčítaním výsledku z prístroja.

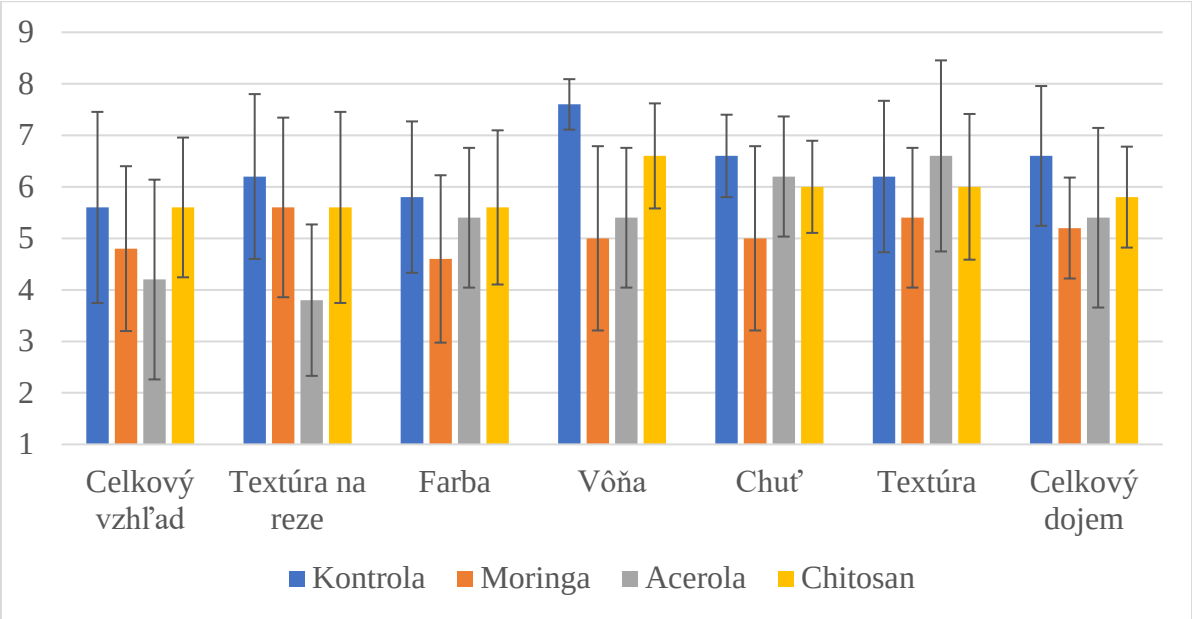
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vytvorili sme receptúru bez pridaných syntetických prídavných látok, do muffinov sme aplikovali tri rozdielne prírodné extrakty v práškovej forme. Keďže ide o výrobky s krátkou až strednou trvanlivosťou, merania sa robili po týždni skladovania. Prírodné extrakty majú množstvo pozitívnych vlastností avšak museli sme brať do úvahy aj fakt, že tieto môžu ovplyvniť senzorické vlastnosti výrobkov ako sú farba, vôňa a chuť.
V rámci senzorického vyhodnotenia výrobkov môžeme konštatovať, že v čerstvom stave bola najlepšie hodnotená vzorka s prídavkom aceroly, ktorá vynikala vo všetkých parametroch. Vzorka s prídavkom moringy mala dobre hodnotený celkový vzhľad, avšak mierne zelená farba, ktorú získala po pridaní extraktu nebola hodnotená priaznivo v porovnaní s ostatnými vzorkami s prídavkom extraktu. Nízko bola hodnotená jej vôňa, ktorá sa pridaním extraktu zmenila na mierne bylinkovú.



Obrázok 1 Porovnanie senzorických vlastností muffinov v čerstvom stave

Vzorka s chitosanom bola lepšie hodnotená v porovnaní s kontrolnou vzorkou, ale prídavok chitosanu výrazné zlepšenie vlastností nepriniesol. Vyššie hodnotenie získala táto vzorka hlavne v znaku celkový vzhľad, ktorý bol v porovnaní s kontrolnou vzorkou pórovitejší aj objemnejší. Kontrolná vzorka získala najnižšie bodové hodnotenie, hodnotitelia negatívne vnímali farbu a textúru vzorky.



Obrázok 2 Porovnanie senzorických vlastností muffinov v 2. hodnotení po skladovaní v MAP

Predpokladá sa, že prídavok moringy do pekárskych výrobkov by mohol zvýšiť ich atraktivitu, avšak v našom prípade sa toto nepreukázalo. V našom pokuse bol moringový muffin vyhodnotený ako najmenej prijateľný. Použitím vyššieho množstva moringy pri obohatení pšeničného pečiva sa zistilo, že nastalo výrazné zlepšenie obsahu živín v obohatených vzorkách, avšak s prídavkom moringy (4 %), senzorická akosť pečiva klesala (Kolawole et al., 2013). Srinivasamurthy et al. (2017) sledovali senzorické vlastnosti moringových muffinov v porovnaní s kontrolnou vzorkou počas siedmich dní. Výsledky hodnotenia pri oboch vzorkách boli horšie, avšak pridanie cukru a vanilkovej arómy by mohlo zabrániť tomu, aby muffin s moringou mal charakteristickú bylinkovú príchuť, a tak by sa zvýšila jeho prijateľnosť. Chitosan je navrhovaný pre svoj potenciál predĺžiť trvanlivosť výrobkov bez nepriaznivého vplyvu na chuť a textúru. V štúdii s pečivom s prídavkom chitosanu (do 0,5 %) neboli zaznamenané rozdiely v senzorickom hodnotení voči kontrolnej vzorke. Vzorky s chitosanom mali vyššie hodnotenia najmä v parametri chuť (Hastarini et al., 2019). V čerstvom stave vzorka muffinu s chitosanom v porovnaní s kontrolnou vzorkou mala podobné hodnotenia textúry, farby, vône a chuti. Vyššie hodnotenie získala v parametroch celkového dojmu a vzhľadu. Po týždni skladovania v modifikovanej atmosfére sa senzorická kvalita chitosanového muffinu znížila. Chemická štruktúra chitosanu je podobná celulóze a nie je štiepená tráviacimi enzýmami človeka, preto môže byť považovaný za potravinovú vlákninu. Chitosan sa skúša do potravín kvôli mikrobiostatickej schopnosti, emulgačnej schopnosti, schopnosti viazať tuky, bielkoviny a polysacharidy, redukcii vstrebávania cholesterolu, funkcie prebiotika. Konzumácia výrobkov s chitosanom môže viesť k prevencii srdcovo-cievnych chorôb, rakoviny hrubého čreva, cukrovky a gastroenterologických chorôb (Ghoshal et al.,

2018).
Bourekoua et al. (2021) uvádzajú, že prídavok max. 5 % aceroly nemalo vplyv na vôňu bezgluténového výrobku. Vzorky do 3 % prídavku aceroly vykazovali lepšie hodnotenia chuti ako so 4 a 5 % prídavkom. Môže to súvisieť s tým, že 5 % prídavok spôsobil zníženie pH a kyslú chuť chleba. Pokiaľ ide o textúru, chleby obohatené o acerolu mali prijateľnejšiu textúru v porovnaní s kontrolnou vzorkou. Ohľadom celkovej prijateľnosti, chleby obohatené s 1, 2 a 3 % prídavkom aceroly získali vyššie senzorické skóre ako ostatné (Bourekoua et al., 2021). V našom senzorickom hodnotení muffin s acerolou dominoval, 2% prídavok aceroly pozitívne ovplyvnil chuť, čo zodpovedá výsledku štúdie. Acerola sa využíva vo forme prášku, ktorý má výbornú trvanlivosť a zachováva si príjemnú chuť. Vykazuje tiež vysokú absorpciu vody, oleja a zlepšenie stability emulzie (Prakash et al., 2018)
Všeobecne sa baleniu s modifikovanou atmosférou pripisujú pozitívne účinky na zachovanie vlastností pekárskeho produktu. Podľa našich výsledkov môžeme konštatovať, že muffiny si v modifikovanej atmosfére znížili senzorickú kvalitu, avšak táto bola stále lepšia v porovnaní bez MAP. Z hygienických dôvodov sme hodnotili po siedmich dňoch skladovania len vzorky zabalené v modifikovanej atmosfére, keďže vzorky v plastovom vrecku už boli nevhodné na ľudskú výživu. Najlepšie bola hodnotená kontrolná vzorka, pozitívne bola hodnotená najmä jej vôňa. Vlastnosti ostatných muffinov by sa v budúcnosti mohli zlepšiť pridaním prírodných aróm alebo korenín.

Detekcia aktivity vody v muffinoch
Všetky vzorky s prídavkami mali mierne vyššiu aktivitu vody v porovnaní s kontrolnou vzorkou, ktorá v čerstvom stave preukázala hodnotu 0,944. Najvyššiu vodnú aktivitu mala vzorka s moringou (0,958). Po siedmich dňoch skladovania sa v plastovom vrecku aktivita vody mierne znížila, výraznejší pokles sme zaznamenali vo vzorkách balených v modifikovanej atmosfére (tab. 2).
Absorpciu vody extraktom z moringy ovplyvňujú hlavne bielkoviny a hrubá vláknina. Obsah bielkovín môže zlepšiť absorpciu vody, vďaka prítomnosti ich funkčných skupín, ktoré môžu viazať molekuly vody pomocou vodíkových väzieb (Kiranawati et al., 2020). V našom hodnotení sme zistili najvyššiu vodnú aktivitu (0,958) práve v čerstvej vzorke s moringou. Najvyššiu vodnú aktivitu (0,954) prejavila aj po uskladnení v plastovom vrecku.

Tabuľka 2 Výsledky vyhodnotenia aktivity vody v striedke muffinov

Vzorka	Čerstvý muffin	Po skladovaní v plastovom vrecku	Po skladovaní v balení s modifikovanou atmosférou
Kontrola	0,944	0,939	0,923
Moringa	0,958	0,954	0,929
Acerola	0,954	0,943	0,920
Chitosan	0,951	0,941	0,924

Prášok z aceroly vykazuje vysokú absorpciu vody, oleja a stabilitu emulzie, čo predstavuje potenciál využitia aceroly do pekárenských výrobkov. Absorpcia oleja však bola vyššia ako absorpcia vody pravdepodobne vďaka prítomnosti vyššieho počtu hydrofóbnych skupín, ktoré sa môžu viazať na olej. Absorbcia vody môže súvisieť s obsahom rozpustnej vlákniny v acerole (Marquez et al., 2013). V našom hodnotení preukázala vzorka s acerolou druhú najvyššiu aktivitu vody, 0,954 v čerstvom stave.
Vzorka s chitosanom preukázala podobne vyššiu aktivitu vody v porovnaní s kontrolnou vzorkou (tab. 2). Chitosan vedie k zvýšenej schopnosti pečiva zadržiavať vodu, pravdepodobne

vďaka prítomnosti hydroxylových skupín, ktoré vytvárajú vodíkové väzby s vodou a tým zabraňujú migrácii vody.
Najdominantnejším externým faktorom ovplyvňujúcim systémy balenia s modifikovanou atmosférou je teplota skladovania (Castellanos et al., 2017). My sme zvolili skladovanie muffinov pri izbovej teplote. Môžeme predpokladať, že skladovanie pri nižších teplotách by mohlo spomaliť odparovanie vody z muffinov a predĺžiť ich čerstvosť.

Vyhodnotenie pH muffinov
V pekárenských produktoch je pH dôležité v rôznych ohľadoch. Nízke pH môže predchádzať mikrobiálnemu znehodnoteniu.

Tabuľka 3 Výsledky detekcie pH muffinov

Vzorka	Čerstvý muffin	Po skladovaní v plastovom vrecku	Po skladovaní v balení s modifikovanou atmosférou
Kontrola	7,39	7,70	6,96
Moringa	7,84	7,98	7,44
Acerola	6,42	6,85	6,14
Chitosan	8,11	8,12	7,81

Najnižšie pH preukázala vzorka s acerolou (6,42) v čerstvom stave. Chitosan významne ovplyvnil hodnotu pH smerom k alkalite a pH v čerstvej vzorke zvýšil na 8,11. Po siedmich dňoch skladovania jeho hodnota stúpla na 8,12 , v balení s modifikovanou atmosférou klesla (tab. 3). Hodnotu pH najmenej ovplyvnil prídavok extraktu z moringy. Pri všetkých vzorkách balenie v modifikovanej atmosfére hodnotu pH znížilo.
V modifikovanej atmosfére časť oxidu uhličitého v prítomnosti vody, ktorá sa nachádza v pečive, prechádza do kvapalnej fázy ako kyselina uhličitá (asi 2 %). Tento vývoj môže spôsobiť zníženie pH, čo môže viesť k zmenám v senzorických vlastnostiach produktu. Rozpustnosť tohto plynu v kultivačnom médiu alebo v potravinovom systéme sa zvyšuje s vyšším pH, vyššou aktivitou vody, vyšším objemom oxidu uhličitého v priestore alebo s nižšou teplotou (Guynot et al., 2003). Vysoká rozpustnosť oxidu uhličitého vo vode a tukoch však môže znížiť pH produktu a viesť k zmenám chuti (Floros et al., 2005). Hodnota pH klesla aj v našich vzorkách, oxid uhličitý okyslil vzorky v balení s modifikovanou atmosférou. Ak vezmeme do úvahy výsledky senzorického hodnotenia, nezaznamenali sme zreteľne nižšie hodnotenie chuti vo vzorkách s modifikovanou atmosférou.

ZÁVER

Trvanlivosť potravinárskych produktov ovplyvňuje množstvo faktorov. Okrem mikrobiologickej stability si musí produkt udržať aj svoju senzorickú kvalitu aby zostal prijateľný pre spotrebiteľa. Vzorka muffinu s acerolou, ktorá muffinu dodávala ovocnejšiu chuť bola najlepšie vyhodnotená po senzorickej stránke. Balením výrobkov v modifikovanej atmosfére sa senzorická kvalita zhoršila, avšak bola stále lepšia v porovnaní s balením v plastovom vrecku. Senzorické vlastnosti vyvinutých muffinov by sa mohli vylepšiť pridaním aróm alebo korenín, ako sú vanilka alebo škorica. Vo výrobkoch uskladnených v modifikovanej atmosfére sme zaznamenali mierny pokles pH i vodnej aktivity, z hľadiska trvanlivosti výrobkov to môžeme vyhodnotiť pozitívne.
V súčasnej dobe ustupuje trend nadmerného používania prídavných látok do potravín. Veľkou výhodou je, že prírodné extrakty predstavujú spôsob obohacovania potravín aj ďalšími cennými látkami ako sú napr. vitamíny, vláknina a iné.

LITERATÚRA

Abd Rani N. Z., Husain K., Kumolosasi E. 2018. Moringa Genus: A Review of Phytochemistry and Pharmacology. In *Frontiers in Pharmacology* [online], vol. 9, no.108. ISSN 1663-9812. Dostupné na: https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00108

Bourekoua H., Gawlik-Dziki U., Różyło R., Zidoune M. N., Dziki D. 2021. Acerola fruit as a natural antioxidant ingredient for gluten-free bread: An approach to improve bread quality. In *Food Science and Technology International* [online], vol. 27, no. 1, pp. 13–21. ISSN: 1082-0132. Dostupné na: https://doi.org/10.1177/1082013220929152

Castellanos A. D., Herrer, A. O. 2017. Modified Atmosphere Packaging: Design and Optimization Strategies for Fresh Produce. In *Postharvest Handling* [online], pp. 85-106. ISBN 978-953-51-4655-1. Dostupné na: http://dx.doi.org/ 10.5772/intechopen.68498

Floros, D. J., Matsos, K.I. 2005. Introduction to modified atmosphere packaging. In *Innovations in Food Packaging* [online], pp. 159-172. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/B978-012311632-1/50042-5

Ghoshal, G. et al. 2018. Effect of chitosan on physicochemical and rheological attributes of bread. In *Food Science and Technology International* [online], vol. 25, no. 3, pp. 198-211. Dostupné na: https://doi.org/10.1177/1082013218814285

Guynot, M. E., Marín, S., Sanchis, V., Ramos, A. J. 2003. Modified Atmosphere Packaging for Prevention of Mold Spoilage of Bakery Products with Different pH and Water Activity Levels. In *Journal of Food Protection* [online], vol. 66, no. 10, pp. 1864–1872. Dostupné na: https://doi.org/10.4315/0362-028X-66.10.1864

Hastarini, E. Ayudiarti, D.L. 2019. Addition of chitosan oligomers to improve bread texture. In *IOP Conference Series Earth and Environmental Science* [online], vol. 278. Dostupné na: https://doi.org/10.1088/1755-1315/278/1/012034

Kiranawati, T.M., Wibowotomo,B., Nurjanahet, N. 2020. Moringa Leaves Flour and Tengger Potato Flour as Composite Flour for GFCF Diets. In *Conference: Proceedings of the 2nd International Conference on Social, Applied Science, and Technology in Home Economics* [online], pp. 108-113. Dostupné na: https://doi.org/10.2991/assehr.k.200218.018

Kolawole F., Balogun, M. A., Opaleke, D. O. 2013. An evaluation of nutritional and sensory qualities of wheat-moringa cake. In *Agrosearch* [online], vol. 13, no. 1, pp. 87-94. Dostupné na: http://dx.doi.org/10.4314/agrosh.v13i1.9

Marquez R. T., Corrêa, A. D., Boreli dos Reis Lino, J. et al. 2013. Chemical constituents and technological functional properties of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) waste flour. In *Food Science and Technology* [online], vol 33, no. 3. Dostupné na: https://doi.org/10.1590/S0101-20612013005000085

Prakash, A., Baskaran, R. 2018. Acerola, an untapped functional superfruit: a review on latest frontiers. In *Journal Food Sci Technol.* [online], vol. 55, no. 9, pp. 3373–3384. Dostupné na: https://doi.org/10.1007/s13197-018-3309-5

Srinivasamurthy, S., Yadav,U., Sahay, S., Singh, A. 2017. Development of muffin by incorporation of dried *Moringa oleifera* (Drumstick) leaf powder with enhanced micronutrient content. In *Journal of Food Science and Nutrition* [online], vol. 2, no. 4, pp. 173-178. ISSN: 2455-4898

Venkatesan, M., Ramachandran K, Saravanan R. et al. 2018. Chitosan Applications in Food Industry. In *Biopolymers for Food Design* [online], pp. 469-491. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811449-0.00015-3

Villalobos-Delgado, L. H., Nevárez-Moorillon, G. V., Caro, I. et al. 2019. Natural antimicrobial agents to improve foods shelf life. In *Food Quality and Shelf Life* [online], pp. 125–157. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817190-5.00004-5

Poďakovanie: *Príspevok bol spracovaný s podporou projektu VEGA 1/0239/21.*

Kontaktná adresa: *Martina Fikselová, doc. Ing. PhD., SPU Nitra, Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, SPU Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia*

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

BAREVNÁ STABILITA BIOLOGICKY ROZLOŽITELNÝCH OBALŮ S PŘÍDAVKEM PYLU Z ČERNÉHO BEZU
COLOR STABILITY OF BIODEGRADABLE PACKAGING WITH ADDED ELDERBERRY POLLEN

Zdeňka Javůrková, Matej Pospiech, Martina Pečová, Marie Bartlová, Lenka Havlová, Dani Dordević, Simona Dordević, Bohuslava Tremlová

Abstract: The aim of the study was to evaluate colour characteristics changes of chitosan packaging prepared with the addition of elderberry pollen (0.075 g, 0.15 g and 0.3 g) during the four mounts storage. The image analysis results show that pollen causes the most marked changes in the yellowness index (Y) in the context of the amount of pollen addition. The Y values were 13.46±2.68 for the control, 76.46±2.32 for the sample with the addition of 0.3 g of pollen at the beginning of measurement and 20.52±2.81 for the control, 144.26±4.16 for the sample with the addition of 0,3 g of pollen at the end of the measurement ($p < 0.05$).
Keywords: edible films, L*a*b*, chroma, whitness index, yellowness index

ÚVOD

Suroviny a potraviny mohou být kontaminovány v různých fázích jejich zpracování včetně distribuce. Účinnými prostředky ochrany potravin před vnějšími nečistotami jsou obaly. Díky nim můžeme předcházet chemickým, fyzikálním a biologickým změnám během skladování nebo dokonce během přípravy produktů (Khaneghah et al., 2018).

Biopolymerové filmy by mohly být využity, jako ekologická alternativa k syntetickým obalovým materiálům, navíc se také používají jako matrice aktivních obalových systémů. Obaly na bázi polysacharidů často obsahují chitosan, škroby, celulózu, karagenan či algináty (Jamróz et al., 2019a). Díky takovému složení je obalům propůjčena celá řada pozitivních vlastností. Obaly mají antioxidační, antimikrobiální, bariérovou nebo inteligentní vlastnost, která poskytuje další informace o dané potravině (například změna barvy při změně pH zabalené potraviny) (Khaneghah et al., 2018; Kadzińska et al., 2019).

Vhodným polysacharidem k výrobě odbouratelných obalů, vyskytujícím se přirozeně v přírodě, s netoxickými a antimikrobiální vlastnostmi je biologicky rozložitelný chitosan. Jedná se o přírodní polymer získaný deacetylací chitinu (Leceta et al., 2013). Mezi významné vlastnosti chitinu patří zejména antimikrobiální vlastnosti. Má také antioxidační schopnost a může být nosičem různých aktivních nebo funkčních látek (různé přírodní extrakty, inhibitory hnědnutí, barviva, aromata), což může prodloužit skladovatelnost potravin a také snížit riziko rozvoje patogenních mikroorganismů na povrchu potravin (Jamróz et al., 2019b).

Pylové zrno rostlin se řadí mezi vysoce energetický materiál, který sbírá hmyz a skladuje ho jako zásobu potravy. V tradiční medicíně byl velice často používán pro náboženské účely a jako doplněk potravy (Tamas et al., 2009). Díky svému složení (přítomným bílkovinám, aminokyselinám, lipidům, minerálům, sacharidům, vitamínům a dalším sloučeninám, jako jsou flavonoidy a fenoly), může pyl pozitivně ovlivnit zabalenou potravinu i vlastnosti samotného obalu (Salles et al., 2014).

Nejen u potravin a nápojů, ale i čisticích prostředků a výrobků pro osobní hygienu hraje obal zásadní roli ve všech fázích interakce spotřebitele s daným produktem. Dle provedených studií je právě barva nejzásadnější v případě upoutání pozornosti zákazníka (Spence and Velasco, 2018).

Cílem práce bylo sledování barevných změn v čase u chitosanových obalů s přídavkem bezového pylu.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

MATERIÁL A METODIKA

Prvním krokem byla výroba biologicky odbouratelných obalů s různými přídavky pylu černého bezu (*Sambucus nigra, Viburnaceae*). Obaly byly připraveny modifikovanou metodou dle Tauferové et al. (2021). K přípravě obalu s přídavkem pylu bylo nejprve použito 1,5 g nízkomolekulárního chitosanu (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) a dané množství pylu (0,075 g; 0,15 g; 0,3 g). Pyl byl získán z květů černého bezu po jejich usušení. Vzorky byly umístěny na Petriho misky o průměru 60 mm a označeny následujícími kódy: 0,075CHL$_{EP}$; 0,15CHL$_{EP}$, 0,3CHL$_{EP}$ ($_{EP}$ – pyl černého bezu) a CTRL (kontrola). Pro každý vzorek byly připraveny 4 misky.

Digitální makrosnímky byly pořízeny systémem počítačového vidění za standardních světelných zajištěných pomocí 2 výbojek OSRAM DELUX L-1 × 18 W (OSRAM GmbH, Mnichov, Německo) umístěných v temné komoře. K pořízení snímků na bílém pozadí byl použit fotoaparát Canon EOS 600D (Canon, Tokio, Japonsko) upevněný na stativu (Fomei CS 920, Hradec Králové, Česká republika). Fotografování probíhalo v manuálním režimu, s expozičním časem 1/40, clonou F 5,6, velikost snímku L, citlivost ISO 100 (Jancikova et al., 2019). Bylo pořízeno deset snímků z každého obalu, což je 40 fotografií pro jeden vzorek. Snímání bylo opakováno 10x v 14denním intervalu, měření tedy probíhalo 4 měsíce. Jedlé obaly byly skladovány při pokojové teplotě.

Snímky byly zpracovány pomocí softwaru NIS-Elements BR 5.20.02 (Laboratory Imaging, Praha, Česká republika). Pro vyhodnocení každého snímku v NIS-Elements byla vybrána stejná oblast zájmu (ROI). Byly změřeny barevné charakteristiky: MeanRed, MeanGreen a MeanBlue, které byly poté převedeny na prostor CIEL*a*b*, kde L* znamená světlost, a* označuje polohu na ose zeleno-červená (-a až +a) a b* na ose modro- žlutá (-b až +b).

ΔE jako barevný rozdíl mezi obaly s přidaným pylem a kontrolním vzorkem byl vypočten pomocí rovnice CIE ΔE2000 (Jamróz et al., 2019a; Luo et al., 2001; Sharma, 2017):

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*) + (a^* - a_0^*) + (b^* - b_0^*)},$$

kde hodnoty L*, a* a b* byly parametry vzorků obalů s přidaným pylem, zatímco hodnoty L^*_0, a^*_0 a b^*_0 byly parametry kontrolního vzorku.

Dále byla vypočtena sytost (Chroma) jednotlivých vzorků dle uvedeného vzorce (Lopez-Carballo et al., 2008):

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}.$$

Dalším parametrem byl index bělosti, který byl získán výpočtem uvedeným v práci Li et al. (2019):

$$Whitness\ index = 100 - \sqrt{(100 - L*)^2 + a*^2 + b*^2}.$$

Saberi et al. (2016) ve své práci použili pro hodnocení parametr index žlutosti, který získáme následujícím výpočtem:

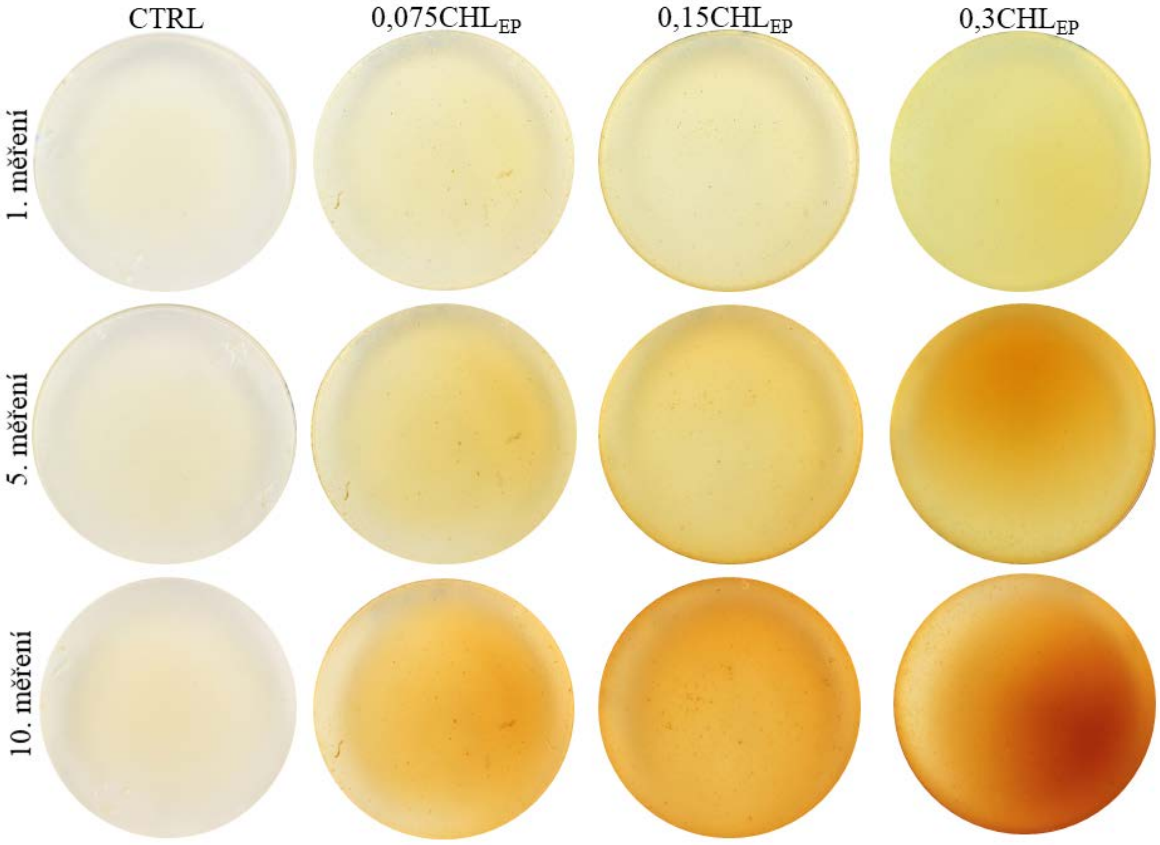
$$\text{Yellowness index} = \frac{142{,}86\ b*}{L*}.$$

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Data byla zpracována pomocí softwaru Unistat 6.0.07 (UNISTAT Ltd., London, UK). Ke srovnání barevných charakteristik byl použit neparametrický Tukey HSD test pro vícenásobné porovnání.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Jedním ze získaných parametrů byl parametr L* (lightness), což je světlost, která se pohybuje v hodnotách od 0 po 100 (bílá barva). Tento parametr se se zvyšujícím přídavkem pylu snížil a stejný trend můžeme pozorovat i po skladování. Čím vyšší byla koncentrace přídavku pylu, tím nižší byla hodnota L* na konci měření (Tabulka 1). Tmavnutí je možné pozorovat i pouhým okem na snímcích na obrázku 1, trend tmavnutí je znatelný i na grafech na obrázku 2. To ovšem není žádoucí, neboť obaly by měly být téměř bezbarvé (Salama et al., 2019). Čím méně dojde k ovlivnění barvy zabaleného výrobku, tím je pro zákazníka snadněji hodnotitelný.



Obrázek 1 Ukázka fotografií obalů v průběhu skladování

Hodnoty parametru a* se ve srovnání s kontrolou bez přídavku pylu snížily z hodnoty -1,64±0,34 (CTRL) na -7,93±0,21 (0,30CHL$_{EP}$). Čím vyšší byl přídavek pylu, tím došlo k většímu snížení hodnoty během skladování. To poukazuje na mírnou tendenci chitosanových obalů k zelenání (Homez-Jara et al., 2018).

U parametru b* došlo s přídavkem pylu ke zvýšení hodnot. Stejný trend popisuje ve své studii Nawab et al. (2017), který sledoval vliv přídavku gum na škrobové obaly z mangových jader. Uvádí, že zvýšení „žlutosti“ je přímo úměrné zvýšení hodnoty b*, zatímco zvýšení „tmavosti“ a „zelenosti“ je přisuzováno poklesu hodnot L* a a*. Tento trend byl potvrzen také

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

našimi výsledky. Trend byl pozorován i během sledování barvy obalů v průběhu skladování a je to znatelné i z fotografií na obrázku 1.

Tabulka 1 Hodnoty barevných charakteristik pro jednotlivé vzorky a jejich změny v čase

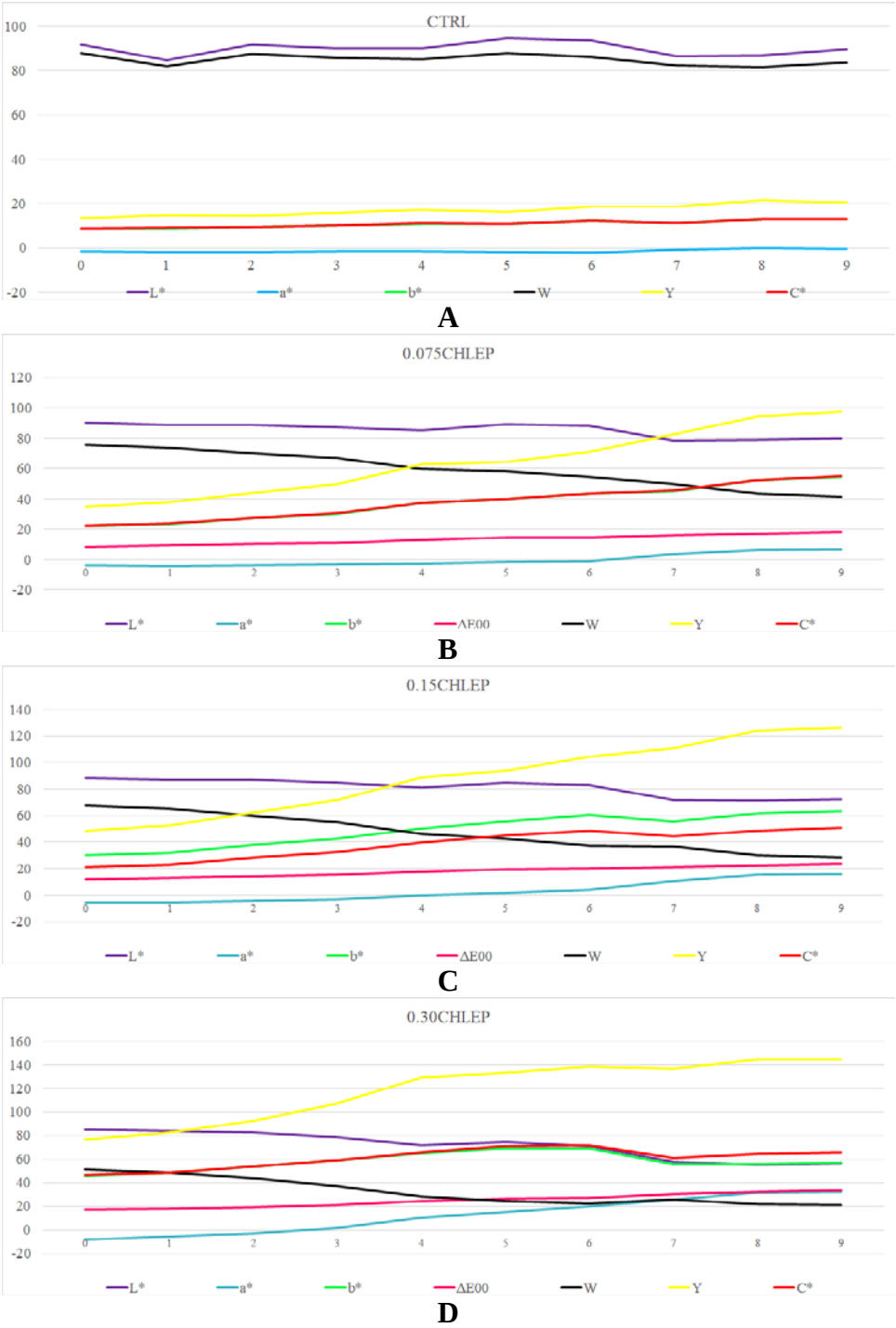
Parametr / Vzorek		L*	a*	b*	ΔE00	C*	W	Y
CTRL	0	91,9±0,26^{c}	-1,64±0,34^{cd}	8,66±1,73^{a}	-	8,81±1,75^{a}	87,97±1,31^{g}	13,46±2,68^{a}
	1	84,59±4,86	-1,90±0,38^{ac}	8,76±1,61^{a}	-	8,96±1,63^{a}	81,94±4,26^{ab}	14,86±3,12^{ac}
	2	91,86±0,26^{c}	-1,85±0,29^{bc}	9,33±1,27^{ab}	-	9,524±1,30^{ab}	87,46±1,11^{fg}	14,52±2,01^{ab}
	3	90,16±0,34^{b}	-1,66±0,32^{cd}	9,99±1,34^{abc}	-	10,13±1,37^{ac}	85,86±1,17^{e}	15,84±2,17^{ac}
	4	90,14±0,23^{b}	-1,45±0,30^{d}	10,97±1,53^{cde}	-	11,06±1,5^{bcef}	85,15±1,27^{cde}	17,39±2,45^{cd}
	5	94,57±0,16^{d}	-1,99±0,30^{ab}	10,73±1,35^{bd}	-	10,92±1,38^{bce}	87,80±1,29^{fg}	16,21±2,06^{bcd}
	6	93,39±0,21^{cd}	-2,16±0,29^{a}	12,17±1,43^{def}	-	12,36±1,46^{dfh}	85,98±1,36^{df}	18,61±2,22^{de}
	7	86,29±0,87^{a}	-0,75±0,25^{e}	11,26±1,41^{cde}	-	11,29±1,42^{cdge}	82,18±0,86^{ab}	18,64±2,23^{de}
	8	86,93±0,26^{a}	-0,11±0,17	12,99±1,82^{f}	-	12,99±1,82^{h}	81,53±1,43^{a}	21,35±3,05^{f}
	9	89,67±0,32^{b}	-0,47±0,18^{e}	12,88±1,72^{f}	-	12,88±1,72^{gh}	83,46±1,54^{bc}	20,52±2,81^{ef}
0,075CHL$_{EP}$	0	90,53±0,40	-3,760,11^{ab}	22,11±1,68^{a}	8,12±0,47	22,43±1,67^{a}	75,65±1,67^{a}	34,89±2,78^{a}
	1	88,53±0,47^{ba}	-3,92±0,14^{a}	23,37±1,91^{a}	9,43±1,11^{a}	23,69±1,90^{a}	73,67±1,91^{a}	37,72±3,28^{a}
	2	88,96±0,32^{a}	-3,87±0,07^{a}	27,42±1,79	10,11±0,26^{a}	27,69±1,78	70,19±1,75	44,04±3,02
	3	86,99±0,46	-3,26±0,05^{b}	30,18±1,97	10,83±0,41	30,36±1,96	66,97±1,97	49,59±3,49
	4	85,01±0,51	-2,55±0,15	37,31±2,06	13,08±0,54	37,39±2,05	59,71±2,08^{b}	62,71±3,83^{b}
	5	89,00±0,60^{a}	-1,62±0,27	40,12±2,85	14,26±0,66^{b}	40,16±2,84	58,36±2,88^{b}	64,44±4,99^{b}
	6	88,02±0,55^{b}	-1,03±0,34	43,75±2,35^{b}	14,58±0,69^{b}	43,77±2,34^{b}	54,62±2,40	71,04±4,25
	7	78,38±0,67^{c}	3,83±0,61	45,26±2,05^{b}	16,22±0,79	45,43±2,09^{b}	49,69±2,14	82,53±4,37
	8	79,02±1,11^{c}	6,47±1,18^{c}	52,23±3,12	17,12±0,80	52,64±3,24	43,33±3,40^{c}	94,52±6,93^{c}
	9	79,90±0,83	6,69±0,91^{c}	54,64±2,32	18,21±0,67	55,06±2,41	41,39±2,53^{c}	97,75±5,11^{c}
0,15CHL$_{EP}$	0	88,44±1,14	-5,69±0,91^{a}	29,93±2,89^{a}	11,75±2,41^{a}	30,48±2,92^{a}	67,40±3,07^{a}	48,41±5,12^{a}
	1	87,06±0,55^{a}	-5,25±0,34^{a}	31,95±2,57^{a}	12,75±1,63^{ab}	32,38±2,53^{a}	65,13±2,54^{a}	52,45±4,53^{a}
	2	86,98±0,5^{a}	-4,45±0,25^{ab}	37,72±2,63	14,14±1,68^{bc}	37,98±2,59	59,85±2,62	61,98±4,67
	3	84,67±0,62^{b}	-3,08±0,40^{b}	42,42±2,70	15,30±1,69^{c}	42,54±2,66	54,78±2,69	71,62±5,02
	4	81,36±0,98	-0,39±0,84	50,48±2,84	17,63±1,73^{d}	50,49±2,83	46,18±2,97	88,71±5,96^{b}
	5	84,76±0,87^{b}	1,56±1,03	55,46±3,15^{b}	19,30±1,60^{de}	55,49±3,17^{b}	42,46±3,27	93,53±6,16^{b}
	6	82,91±1,12	3,76±1,52	60,42±2,99^{c}	20,03±1,51^{ef}	60,56±3,07	37,08±3,24^{b}	104,20±6,44
	7	71,97±1,23^{c}	10,40±1,53	55,94±1,64^{b}	21,19±1,22^{fg}	56,91±1,83^{b}	36,56±2,09^{b}	111,11±4,78
	8	70,83±1,72^{c}	15,38±2,23^{c}	61,42±1,42^{cd}	22,41±1,73^{gh}	63,34±1,73^{c}	30,25±2,15^{c}	123,98±5,07^{c}
	9	71,99±1,83^{c}	16,21±2,66^{c}	63,65±1,50^{d}	23,48±1,73^{h}	65,73±1,86^{c}	28,54±2,27^{c}	126,42±5,27^{c}
0,30CHL$_{EP}$	0	85,26±0,36	-7,93±0,21	45,63±1,22	17,30±1,23^{a}	46,31±1,24	51,40±1,27	76,46±2,32
	1	83,98±0,36	-5,72±0,19	48,46±1,48	17,71±1,11^{a}	48,80±1,45	48,64±1,48	82,44±2,82
	2	82,57±0,28	-2,59±0,32	53,52±0,80	19,35±0,87	53,58±0,79	43,65±0,82	92,60±1,64
	3	78,71±0,65	1,81±0,69	59,08±1,34	20,92±0,91	59,12±1,36	37,17±1,47	107,26±3,21
	4	71,77±0,66^{a}	10,42±1,00	64,93±0,70	24,41±0,62	65,76±0,82^{a}	28,43±0,94	129,26±2,30
	5	74,52±1,26	14,88±1,75	69,45±0,78^{a}	26,21±1,05^{b}	71,04±1,08^{b}	24,52±1,41^{a}	133,19±3,56
	6	71,21±1,02^{a}	19,75±1,69	68,93±0,53^{a}	27,26±0,91^{b}	71,72±0,85^{b}	22,71±1,14^{b}	138,32±2,71^{a}
	7	58,14±1,39	25,86±1,87	55,58±0,75^{b}	30,25±1,09	61,32±1,29	25,75±1,76^{a}	136,68±4,34^{a}
	8	55,48±1,08^{b}	31,68±1,31^{a}	56,14±0,27^{bc}	32,53±0,95^{c}	64,48±0,64^{c}	21,64±1,08^{bc}	144,62±2,57^{b}
	9	56,33±2,16^{b}	32,54±2,53^{a}	56,82±0,81^{c}	33,62±2,06^{c}	65,53±0,93^{ac}	21,24±1,86^{c}	144,26±4,16^{b}

Stejná písmena znamenají, že mezi vzorky jedné koncentrace přídavku pylu ve sloupcích (v čase) nebyl prokázán statisticky významný rozdíl p>0,05, hodnoty jsou uvedeny jako Průměr±SMODCH.P.

Pomocí parametru ΔE00, kterým byly srovnány vzorky s přídavkem pylu s kontrolním vzorkem, došlo k jeho zvýšení v návaznosti na výši přídavku pylu. V průběhu skladování se tento rozdíl zvýšil. Rozdíly mezi vzorky na základě přídavku včelího vosku popisuje ve své studii Velickova et al. (2015). Dle jejích výsledků měly obaly s přídavkem vosku nažloutlou barvu.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Obdobný průběh měly i vypočítané hodnoty sytosti (C*). Její hodnota se s přídavkem pylu a délkou skladování zvyšovala, u 3 vzorků téměř kopíruje hodnoty b*, v grafu na obrázku 1A, B a D došlo k překrytí křivek. Espino-Díaz et al. (2010) ve své práci uvádí, že tento parametr může být ovlivněn jak pH, tak například přítomností vápníku. Vliv různých přídavků do obalů a jejich vliv na zvýšení hodnot v tomto parametru popisují ve své práci Chana-Thaworn et al. (2011), Vera et al. (2020) a další autoři.



Obrázek 2 Výsledky měření vzorků obalů, barevné změny v čase

A – CRTL, B – 0,075CHL$_{EP}$, C – 0,15CHL$_{EP}$, D – 0,3CHL$_{EP}$, L* - světlost, a* - poloha na ose zeleno-červená, b* poloha na ose modro-žlutá, ΔE - barevný rozdíl mezi obaly s přidaným pylem a kontrolním vzorkem, W - Whitness index, Y - Yellowness index, C* - sytost

Dalším důležitým parametrem ovlivňujícím vhodnost obalu je index bělosti a žlutosti. Přídavek pylu způsobil snížení indexu bělosti a naopak zvýšení indexu žlutosti. Což odpovídá našemu předpokladu, protože černý bez má pylová zrna žluté barvy. Zvýšení indexu žlutosti představuje změnu barvy čirého nebo bílého obalu na žlutou. Změny těchto parametrů jsou nejčastěji způsobeny množstvím daného přídavku nebo také například neenzymatickým hnědnutím způsobeným sušením obalů anebo může docházet k prosté absorpci světla obalem (Cortés-Rodríguez et al., 2020). Flores et al. (2007) také uvádí, že významný vliv na index žlutosti může mít vlastní výroba obalu například podmínky sušení připraveného obalu.

ZÁVĚR

Studie prokázala vliv přídavku pylových zrn na barevné charakteristiky připravených obalů. Přídavek pylu snížil světlost, zvýšil podíl zelené a žluté složky. Také ve srovnání s kontrolním vzorkem se snížil index bělosti a zvýšil index žlutosti, což je patrné již na makrosnímcích obalů. Tyto změny se během skladování zvýraznily.

Barevnost u obalů není žádoucí, neboť obaly by měly být téměř bezbarvé, aby neovlivnily barvu výrobku. Přesto obal s přídavkem pylu může sloužit jako obal s přidanou hodnotou, zejména z hlediska antioxidačních vlastností, případně díky jejich obsahu lépe chránit danou komoditu.

LITERATURA

Cortés-Rodríguez, M., Villegas-Yépez, C., González, J. H. G., Rodríguez, P. E., Ortega-Toro, R. 2020. Development and evaluation of edible films based on cassava starch, whey protein, and bees wax. In *Heliyon* [online], vol. 6, no. 9, p. e04884 [cit. 2023-02-07]. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04884

Espino-Díaz, M., De Jesús Ornelas-Paz, J., Martínez-Téllez, M. A., Santillán, C., Barbosa-Cánovas, G. V., Zamudio-Flores, P. B., Olivas, G. I. 2010. Development and characterization of edible films based on mucilage of Opuntia Ficus-Indica (l.). In *Journal of food science* [online], vol.,75, no. 6, pp. E347-E352 [cit. 2023-02-07]. Dostupné na: https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01661.x

Flores, S., Famá, L., Rojas, A. M., Goyanes, S., Gerschenson, L. 2007. Physical properties of tapioca-starch edible films: Influence of filmmaking and potassium sorbate. In *Food Research International* [online], vol. 40, no. 2, pp. 257-265 [cit. 2023-02-07]. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.02.004

Homez-Jara, A., Daza, L. D., Aguirre, D. M., Muñoz, J. A., Solanilla, J. F., Váquiro, H. A. 2018. Characterization of chitosan edible films obtained with various polymer concentrations and drying temperatures. In *International journal of biological macromolecules* [online], vol. 113, pp. 1233-1240 [cit. 2023-02-07]. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.057

Chana-Thaworn, J., Chanthachum, S., Wittaya, T. 2011. Properties and antimicrobial activity of edible films incorporated with kiam wood (*Cotyleobium lanceotatum*) extract. In *LWT-Food Science and Technology* [online], vol. 44, no. 1, pp. 284-292 [cit. 2023-02-07]. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.06.020

Jamróz, E., Kopel, P., Juszczak, L., Kawecka, A., Bytesnikova, Z., Milosavljevic, V., Makarewicz, M. 2019a. Development of furcellaran-gelatin films with Se-AgNPs as an active packaging system for extension of mini kiwi shelf life. In *Food Packag Shelf Life* [online], vol. 21, p. 100339 [cit. 2023-02-05]. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100339

Jamróz, E., Kopel, P., Tkaczewska, J., Dordevic, D., Jancikova, S., Kulawik, P., Adam, V. 2019b. Nanocomposite furcellaran films - the influence of nanofillers on functional properties of furcellaran films and effect on linseed oil preservation. In *Polymers* [online], vol., 11, no. 12, p. 2046. [cit. 2023-02-06]. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/polym11122046

Jancikova, S., Dordevic, D., Javurkova, Z. 2019. Effect of gelling agents on colour characteristics of fruit jams. In *The Iraqi Journal of Agricultural Science* [online], vol. 50, no.2, pp. 675-688 [cit. 2023-02-05]. ISSN: 2410-0862. Dostupné na: https://www.iasj.net/iasj/download/304bcb21b1e4de52.

Kadzińska, J., Janowicz, M., Kalisz, S., Bryś, J. and Lenart, A., 2019. An overview of fruit and vegetable edible packaging materials. In *Packaging Technology and Science* [online], vol., 32, no. 10, pp.483-495 [cit. 2023-02-06]. Dostupné na: https://doi.org/10.1002/pts.2440

Khaneghah, A. M., Hashemi, S. M. B., Limbo, S. 2018. Antimicrobial agents and packaging systems in antimicrobial active food packaging: An overview of approaches and interactions. In *Food and Bioproducts Processing* [online], vol. 111, pp. 1-19 [cit. 2023-02-06]. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.05.001

Leceta, I., Guerrero, P., De La Caba, K. 2013. Functional properties of chitosan-based films. In *Carbohydrate polymers* [online], vol. 93, no. 1, pp. 339-346 [cit. 2023-02-06]. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.04.031

Li, C., Wang, L., Xue, F. 2019. Effects of Conjugation between Proteins and Polysaccharides on the Physical Properties of Emulsion-Based Edible Films. In *Journal of the American Oil Chemists' Society* [online], vol. 96, no. 11, pp. 1249-1263 [cit. 2023-02-05]. Dostupné na: https://doi.org/10.1002/aocs.12278

Lopez-Carballo, G., Hernández-Muñoz, P., Gavara, R., Ocio, M. J. 2008. Photoactivated chlorophyllin-based gelatin films and coatings to prevent microbial contamination of food products. In *International journal of food microbiology* [online], vol. 126, no. 1-2, pp. 65-70 [cit. 2023-02-05]. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.05.002

Luo, M.R., Cui, G., Rigg B. 2001. The development of the CIE 2000 colour-difference formula: CIEDE2000. In *Color Research & Application* [online], vol. 26, no. 5, pp. 340-350 [cit. 2023-02-05]. Dostupné na: https://doi.org/10.1002/col.1049

Nawab, A., Alam, F., Haq, M. A., Lutfi, Z., Hasnain, A. 2017. Mango kernel starch-gum composite films: Physical, mechanical and barrier properties. In *International journal of biological macromolecules* [online], vol. 98, pp. 869-876 [cit. 2023-02-07]. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.054

Saberi, B., Thakur, R., Vuong, Q. V., Chockchaisawasdee, S., Golding, J. B., Scarlett, C. J., Stathopoulos, C. E. 2016. Optimization of physical and optical properties of biodegradable edible films based on pea starch and guar gum. In *Industrial Crops and Products* [online], vol. 86, pp. 342-352 [cit. 2023-02-05]. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.015

Salama, H. E., Aziz, M. S. A., Sabaa, M. W. 2019. Development of antibacterial carboxymethyl cellulose/chitosan biguanidine hydrochloride edible films activated with frankincense essential oil. In *International journal of biological macromolecules* [online], vol. 139, pp. 1162-1167 [cit. 2023-02-07]. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.104

Salles, J., Cardinault, N., Patrac, V., Berry, A., Giraudet, C., Collin, M.L., Chanet, A., Tagliaferri, C., Denis, P., Pouyet, C. Boirie, Y. 2014. Bee pollen improves muscle protein and energy metabolism in malnourished old rats through interfering with the Mtor signaling pathway and mitochondrial activity. In *Nutrients* [online], vol. 6, no. 12, pp.5500-5516 [cit. 2023-02-06]. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/nu6125500

Sharma, G. 2017. Color fundamentals for digital imaging. In *Digital Color Imaging Handbook*. CRC press, pp. 1-114 350 [cit. 2021-02-05]. ISBN 9781315220086.

Spence, C., Velasco, C. 2018. On the multiple effects of packaging colour on consumer behaviour and product experience in the 'food and beverage' and 'home and personal care' categories. In *Food quality and preference* [online], vol. 68, pp. 226-237 [cit. 2023-02-07]. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2018.03.008

Tamas, M., Carmen, P. O. P., Martian, A., Barbu-Tudoran, L. 2009. Morphological research on indigenous Sambucus species pollen. In *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* [online], vol. 37, no. 1, pp. 65-69 [cit. 2023-02-06]. Dostupné na: https://www.notulaebotanicae.ro/index.php/nbha/article/view/3097/2936

Tauferova, A., Pospiech M., Javurkova., Z, Tremlova., B., Dordević, D., Dordević, S., Tesikova, K., Zdarsky, M., Vitez, T., Vitezova, M. 2021. Plant Byproducts as Part of Edible Coatings: A Case Study with Parsley, Grape and Blueberry Pomace. In *Polymers* [online], vol. 13, p. 2578 [cit. 2023-02-05]. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/polym13152578

Velickova, E., Winkelhausen, E., Kuzmanova, S., Moldao-Martins, M., Alves, V. D. 2015. Characterization of multilayered and composite edible films from chitosan and beeswax. In *Food Science and Technology International* [online], vol. 21, no. 2, pp. 83-93 [cit. 2023-02-05]. Dostupné na: https://doi.org/10.1177/108201321351

Vera, A., Tapia, C., Abugoch. L. 2020. Effect of high-intensity ultrasound treatment in combination with transglutaminase and nanoparticles on structural, mechanical, and physicochemical properties of quinoa proteins/chitosan edible films. In *International Journal of Biological Macromolecules* [online], vol. 144, pp. 536-543 [cit. 2023-02-05]. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.120

Poděkování: Tento výzkum byl financován z projektu Veterinární univerzity Brno č. FVHE/Tremlová/ITA2020.

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

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

MONITORING OBSAHU CHOLESTEROLU V CEREÁLNYCH VÝROBKOCH
CHOLESTEROL CONTENT IN CEREAL PRODUCTS

Lukáš Kolarič, Michaela Lauková, Peter Šimko

Abstract: Cholesterol is still one of the main factors affecting the prevalence of cardiovascular diseases. It is well known that the main sources of dietary cholesterol are foods of animal origin, for example meat, egg, or milk products. However, as these materials are also added to several cereal products, these can also serve as a source of cholesterol in our blood. The purpose of this work was to validate HPLC-UV-DAD method for the determination of cholesterol content in several kinds of cereal products. The parameters, such as linearity, recovery, or repeatability of purpose method were satisfying. From the results, it could be noticed that the cholesterol content in these products varied between 27,23 to 328,65 mg.kg^{-1}. Thus, it can be concluded that the consumption of cereal products can also provide more than 300 mg of cholesterol, which is the recommended daily value by health organisations.
Keywords: cholesterol; cardiovascular diseases; cereal products; validation; biscuits; butter; milk

ÚVOD

Cholesterol má vo výžive obyvateľstva dôležitú úlohu. V organizme zabezpečuje udržiavanie integrity a priepustnosti bunkových membrán, slúži ako prekurzor steroidných hormónov, žlčových kyselín či vitamínu D a zúčastňuje sa v mnohých metabolických procesoch (Zampelas, Magriplis, 2019). Zvýšené hladiny cholesterolu sú však tiež často spájané s nárastom kardiovaskulárnych ochorení (KVO). Nakoľko približne 20 – 25 % cholesterolu v našom tele pochádza z potravín živočíšneho pôvodu a KVO sú zodpovedné ročne za viac ako 4 miliónov úmrtí v Európe (Mach et al., 2020), tak zdravotníckymi organizáciami sa odporúča udržovať denný príjem cholesterolu zo stravy na hodnote 300 mg/osoba (Albuquerque et al., 2016). Na Slovensku je dlhodobo prekračovaná táto hranica na približne 370 mg (Kukula et al., 2020).

Mäsové výrobky a vajcia patria k hlavným zdrojom cholesterolu vo výžive. Vajcia obsahujú typicky od 140 do 230 mg/vajce alebo 448 mg.100 g^{-1} (Jeong et al., 2014; Clayton et al., 2017). Obsah cholesterolu v surovom a uvarenom mäse sa môže pohybovať od 400 do 900 mg.100 g^{-1} a spracované mäsové výrobky môžu obsahovať cholesterol aj do množstva 1 500 mg.100 g^{-1} (Dinh et al., 2011). Z hľadiska celkovej konzumácie môžu byť aj mliečne výrobky významným zdrojom výživového cholesterolu. Plnotučné kravské mlieko obsahuje okolo 130 mg.100 g^{-1} cholesterolu, zatiaľ čo maslo aj do 2 800 mg.100 g^{-1} (IDF, 2008).

Cereálne výrobky patria medzi základné potraviny, ktoré poskytujú vo výžive hlavný podiel energie a živín. Dôležitosť obilnín a cereálnych výrobkov tiež podporuje fakt, že celosvetová potravinová bezpečnosť závisí najmä od produkcie obilnín, ktorá každoročne dosahuje okolo 2 600 milión ton (Laskowski et al., 2019). Zloženie týchto výrobkov sa môže výrazne líšiť, pričom hlavnými surovinami sú múka, tuk, cukry a niekedy aj mlieko alebo vaječné produkty. Okrem toho sa do sušienok aj často pridávajú nasýtené tuky. Keďže cereálne výrobky často obsahujú aj suroviny živočíšneho pôvodu, tak môžu byť tiež veľmi dôležitým zdrojom cholesterolu vo výžive (Verardo et al., 2020). Podľa Islama et al., (2023) môže obsah cholesterolu v rôznych pekárskych výrobkoch variovať od 27,6 do 1 142,6 mg.100 g^{-1} v závislosti od receptúry. Norhayati et al., (2015) stanovili, že obsah cholesterolu v komerčných sušienkach bol od 14,2 do 356,5 mg.100 g^{-1}, pričom sa našli významné rozdiely ($p < 0,05$)

v obsahu cholesterolu medzi rôznymi druhmi sušienok. Obsah cholesterolu v sušienkach, pri ktorých sa použili vajcia, sa pohyboval od 588,7 do 590,8 mg cholesterolu na 100 g tuku (Verardo et al., 2020).

Tieto výsledky dokazujú, že aj cereálne výrobky obsahujú významné množstvá cholesterolu a keďže patria k najviac konzumovaným potravinám na svete, tak významnou mierou môžu ovplyvňovať aj celkový cholesterol v krvi. Cieľom tejto práce bolo teda určiť vhodné podmienky pre stanovenie obsahu cholesterolu v rôznych druhoch cereálnych výrobkov.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky rôznych cereálnych výrobkov (N = 15) boli zakúpené v miestnych obchodných reťazcoch. Vzorky boli vyberané na základe toho, aby v zložení obsahovali mliečne alebo vaječné produkty. Bližšia charakterizácia jednotlivých vzoriek je dostupná na požiadanie od autorov. Suroviny potrebné na výrobu experimentálnych maslových sušienok (hladká múka, maslo, cukor, soľ) boli tiež zakúpené v miestom obchode. Pre stanovenie obsahu cholesterolu vo vzorkách sa používal chloroform p.a., *n*-hexán p.a., etanol p.a., bezvodý síran sodný p.a. a hydroxid draselný p.a. (Centralchem s.r.o., Bratislava, Slovensko). Pre HPLC analýzu bol použitý metanol a acetonitril HPLC triedy (Fisher Chemical, Loughborough, UK).

Stanovenie obsahu cholesterolu sa vykonávalo pomocou HPLC systému (Agilent Technologies 1260 Infinity system, USA) pri nasledovných podmienkach: mobilná fáza sa skladala z acetonitrilu a metanolu v pomere 60:40 (v/v), stacionárnu fázu tvorila nepolárna kolóna (Zorbax Eclipse Plus C_{18} s rozmermi 2,1 x 50 mm a veľkosťou častíc 5 µm) a predkolónka (Zorbax SB-C_{18} s rozmermi 4,6 x 12,5 mm a veľkosťou častíc 5 µm), objemový prietok mobilnej fázy bol nastavený na 0,5 ml/min, vstrekovaný objem vzorky bol 10 µl a celkový čas analýzy 6 min (elučný čas cholesterolu v 3,9 min). Pred HPLC analýzou sa cholesterol zo vzorky extrahoval do metanolu postupom, ktorý je uvedený v štúdii od Kolariča a Šimka (2020).

Metóda bola validovaná podľa príručky Eurachem guide for the fitness for purpose of analytical methods (Magnusson a Örnemark, 2014), pričom sa stanovili nasledovné parametre: selektivita, linearita, limit detekcie (LOD), limit stanovenia (LOQ), výťažnosť, opakovateľnosť a reprodukovateľnosť. Selektivita metódy sa určila na základe porovnania UV spektier cholesterolu vo vzorke a štandardu cholesterolu (1 $mg.mL^{-1}$ v metanole). Linearita metódy sa stanovila z kalibračnej priamky, ktorá bola zostrojená analýzou 10-tich kalibračných roztokov cholesterolu v množstve od 0,04 do 2 µg. LOD a LOQ sa vypočítali ako 3 resp. 10 násobok štandardnej odchýlky 10-tich kalibračných hodnôt vydelenej smernicou kalibračnej priamky. Výťažnosť sa stanovila metódou prídavku štandardu v troch rôznych koncentráciách (300, 500 a 700 $\mu g.mL^{-1}$). Opakovateľnosť sa vypočítala ako relatívna štandardná odchýlka hodnôt získaných počas jedného merania a reprodukovateľnosť ako relatívna štandardná odchýlka hodnôt získaných počas troch dní. Metóda bola validovaná na experimentálnej vzorke maslovej sušienky.

Experimentálne vzorky maslových sušienok sa vyrobili podľa upravenej receptúry od autora Nwakalor (2014): hladká múka 100 g, maslo 55 g, práškový cukor 45 g, soľ 1 g, voda 25 mL. Cukor sa vymiešal s maslom a postupne sa pridávala múka so soľou a voda. Vypracované cesto sa vyvaľkalo na hrúbku 3 mm a vykrojili sa sušienky s priemerom 5 cm. Sušienky sa piekli 10 min pri 170 °C.

Výsledky boli spracované štatistickým programom Microsoft Excel 365 (version 2012, Microsoft, USA) a sú vyjadrené v tvare priemer ±smerodajná odchýlka (n = 3).

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Analytická HPLC metóda pre stanovenie obsahu cholesterolu v cereálnych výrobkoch sa najprv validovala na parametre LOD, LOQ, linearitu, výťažnosť a opakovateľnosť. Postup prípravy vzorky bol optimalizovaný v práci Kolariča a Šimka (2020). Vo všeobecnosti je príprava vzorky pre stanovenie obsahu cholesterolu založená na saponifikácii materiálu s KOH a extrakcii nesaponifikovaného podielu do vhodného rozpúšťadla. Pri extrakcii sa používajú rôzne rozpúšťadla, najmä *n*-hexán (Bauer et al., 2014), toluén (Dinh et al., 2011), alebo ich rôzne zmesi s inými menej polárny rozpúšťadlami. Kolarič a Šimko (2020) uvádzajú, že zmes *n*-hexánu a chloroformu je vhodnejšia na extrakciu cholesterolu z mliečnych matríc ako samotný *n*-hexán alebo toluén. V tejto práci sa preto sledovalo, či uvedená extrakčná zmes je vhodná aj na stanovenie obsahu cholesterolu v cereálnych výrobkoch. Na tento účel sa pripravili maslové sušienky. Z hľadiska selektivity metódy sa potvrdilo, že UV-spektrum cholesterolu vo vzorke bolo identické s UV-spektrom štandardu a elúciu neovplyvnili žiadne iné zlúčeniny (Obr. 1). Linearita metódy bola skontrolovaná kalibračnou priamkou, ktorej korelačný koeficient dosahoval vyhovujúcu hodnotu (r = 0,999). LOD a LOQ hodnoty vyšli 3,9 resp. 13,3 mg.100 g^{-1}, čo je podobné ako v iných prácach (Osman a Chin, 2006; Albuquerque et al., 2016; Kolarič a Šimko, 2020). Islam et al., (2023) vyhodnotili hodnoty LOD a LOQ na 3,2 a 7,8 mg.100 g^{-1} pre stanovenie obsahu cholesterolu v pekárskych výrobkoch. Na vyhodnotenie výťažnosti metódy sa použil prístup s použitím prídavku externého štandardu v troch rôznych množstvách. Získané relatívne výťažnosti sa pohybovali od 95,70 do 98,28 %. Podľa Bauera et al., (2014) sú ideálne hodnoty výťažnosti blízko 100 %, avšak nižšie hodnoty sú tiež akceptovateľné, ak je dobrá presnosť metódy. Ich hodnoty výťažnosti sa pohybovali v rozsahu 100,63 – 103,90 %, pričom takmer rovnaké výsledky boli stanovené aj ďalších prácach (Ramalho et al., 2011; Albuquerque et al., 2016; Kolarič a Šimko, 2020). Islam et al., (2023) použili pred GC stanovením obsahu cholesterolu v pekárenských výrobkoch derivatizáciu molekuly cholesterolu a ich výťažnosti sa pohybovali okolo 102 %. Ahn et al., (2012) sledovali obsah cholesterolu vo výrobkoch ako smotanový koláč, smotanové sušienky či tabuľková čokoláda a ich metóda dosahovala výťažnosti od 97,4 do 104,8 %. Opakovateľnosť je miera variability výsledkov, keď meranie vykonáva jeden analytik s použitím rovnakého zariadenia v krátkom časovom horizonte, zatiaľ čo reprodukovateľnosť poskytuje odhad odchýlky vo výsledkoch, keď sa merania vykonávajú za premenlivejších podmienok (Magnusson a Örnemark, 2014). V tejto práci sa stanovila opakovateľnosť a reprodukovateľnosť porovnaním smerodajnej odchýlky (SD) a relatívnej smerodajnej odchýlky (RSD) výsledkov získaných za tri dni. Opakovateľnosť sa vzťahuje na presnosť, ktorá je dôležitá pre konečnú vhodnosť navrhovanej metódy. Z výsledkov vyplynulo, že hodnoty RSD pre opakovateľnosť sa pohybovali od 3,10 do 1,74 % a reprodukovateľnosť 0,95 %. Tieto údaje tieto potvrdzujú výbornú presnosť metódy. Hodnoty RSD až do 15 % sú prijateľné, aj keď sa odporúča maximálna odchýlka 5 % pre mikrozložky (Bauer et al., 2014). Vo všeobecnosti má HPLC alebo GC najvyššiu presnosť pri analýze obsahu cholesterolu v potravinách, pričom HPLC-UV sa zdá byť najvhodnejšia (Daneshfar et al., 2009). Porovnanie rôznych metód na stanovenie obsahu cholesterolu vo vzorkách potravín publikovali Daneshfar et al., (2009), kde ukázali, že hodnoty RSD získané elektroforézou boli do 6,3 %, extrakciou na pevnej fáze s GC-FID do 3,6 % a HPLC-fluorimetrickou detekciou do 5,6 %, zatiaľ čo HPLC-UV vykázala RSD 3,1 %. Vyššiu medzi-dňovú reprodukovateľnosť pomocou GC-MS-MS pri analýze obsahu cholesterolu v sušenom mlieku zaznamenali aj Chen et al., (2015) s RSD 8 %. RSD 3 % opísali Ramalho et al., (2011) pre reprodukovateľnosť, zatiaľ čo Albuquerqueová et al., (2016) popísali hodnoty RSD v rozmedzí od 1,66 do 1,95 % pri stanovení obsahu cholesterolu v rôznych mliečnych výrobkoch pomocou HPLC. Ahn et al., (2012) dosahovali hodnoty RSD od 1,29 do 7,45 % pri stanovení obsahu cholesterolu v potravinách tuhej konzistencie a podobne aj v inej

štúdii (1,93 %) (Fernández-Pérez a de Castro, 2003). Výsledky validácie metódy sú zosumarizované v Tab. 1. HPLC-UV záznamy analýzy obsahu cholesterolu v rôznych vzorkách sú vyobrazené na Obr. 1.

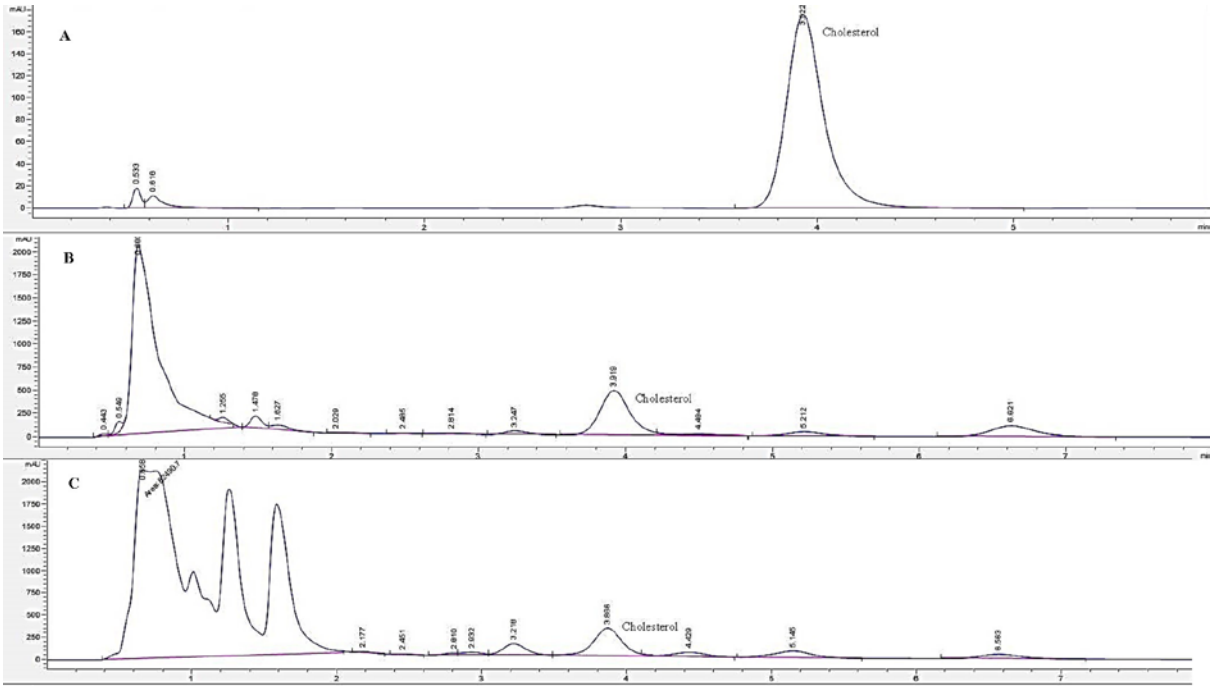
Tabuľka 1 Parametre validácie metódy pre stanovenie obsahu cholesterolu v maslových sušienkach

Linearita metódy			
Smernica	1 150,5		
Úsek	31,073		
Korelačný koeficient (r)	0,999		
LOD [mg.kg^{-1}]	3,9		
LOQ [mg.kg^{-1}]	13,3		
Výťažnosť metódy			
Prídavok štandardu cholesterolu [µg.mL^{-1}]	Obsah cholesterolu [mg.kg^{-1}][a]	Výťažnosť [%][a]	RSD [%]
0	328,65 ±14,13	-	-
300	318,03 ±7,81	96,80 ±0,02	2,45
500	323,00 ±12,78	98,28 ±0,04	3,96
700	314,53 ±7,66	95,70 ±0,02	2,43
Presnosť metódy			
	Opakovateľnosť RSD [%]	Reprodukovateľnosť RSD [%]	
Deň 1	1,74		
Deň 2	2,81	0,95	
Deň 3	3,10		

Pozn.: [a] Hodnoty sú vyjadrené ako priemer ±smerodajná odchýlka (n = 3); RSD – relatívna smerodajná odchýlka

Výsledky stanovenia obsahu cholesterolu v rôznych cereálnych výrobkoch sú uvedené v Tab. 2. Ako sa očakávalo, tak obsah cholesterolu bol veľmi premenlivý, od 27,23 až do 328,65 mg.100 g^{-1}. Hlavnými surovinami, ktoré prispievajú k zvyšovaniu množstva cholesterolu v týchto výrobkoch sú mlieko, maslo a vajcia resp. ich produkty. Keďže maslo obsahuje vysoké množstvá cholesterolu (2 124 až 2 760 mg.100 g^{-1} podľa Kolariča a Šimka (2022)), tak pri čisto maslových sušienkach sa tiež stanovili najvyššie hladiny cholesterolu (262,78 resp. 328,65 mg.100 g^{-1}). Naopak výrobky, ktoré obsahovali zo živočíšnych surovín iba malé množstvá produktov z vajec (napr. vzorka č. 2 a 3 v Tab. 2), mali najnižšie množstvá cholesterolu (39,47 mg.100 g^{-1} pre vzorku č. 2 a 27,23 mg.100 g^{-1} pre vzorku č. 3). Obsah cholesterolu v mlieku sa pohybuje v rozmedzí 128 mg.kg^{-1} (Manzi et al., 2013), tak aj táto surovina ovplyvňuje hladiny cholesterolu v cereálnych výrobkoch. Napr. vzorka č. 1 v Tab. 2 obsahovala vo svojom zložení až 10 % sušeného odtučneného mlieka spolu so sušeným vaječným žĺtkom a obsah cholesterolu sa stanovil na 273,79 mg.kg^{-1}.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp



Obrázok 1 HPLC-UV-DAD záznamy merania obsahu cholesterolu v: A – štandard cholesterolu v metanole, B – experimentálna vzorka sušienky, C – komerčne zakúpený cereálny výrobok

Ešte vyššie množstvá cholesterolu v rôznych pekárenských výrobkoch stanovili Islam et al., (2023). Podľa ich merania obsah cholesterolu tu dosahoval hodnoty od 27,6 až do 1142,6 mg.kg^{-1} (koláč Castella). Podľa Ahna et al., (2012) obsahovali vzorky smotanového koláča do 796 mg.100 g^{-1} cholesterolu, vzorky sušienok so smotanou do 70 mg/kg a tabuľkovej čokolády do 171 mg.100 g^{-1} cholesterolu. Norhayati et al., (2015) uviedli, že obsah cholesterolu v komerčne kúpených sušienkach v Malajzii varioval od 14,2 do 356,5 mg.100 g^{-1} a zistili sa významné rozdiely medzi jednotlivými typmi sušienok. Veľmi vysoký obsah cholesterolu bol zistený v sušienkach s vaječnými produktami, podľa Verarda et al., (2020) 5 887 mg.100 g^{-1} tuku a podľa Lerckera a Rodriguez-Estrada (2000) do 3 700 mg.100 g^{-1} tuku. Tieto výsledky teda jasne naznačujú, že aj cereálne výrobky môžu byť významnými zdrojmi výživového cholesterolu.

ZÁVER

Cieľom tejto práce bol monitoring obsahu cholesterolu vo vybraných cereálnych výrobkoch zakúpených v obchodných reťazcoch na území Slovenska. Na začiatku práce sa metodika stanovenia obsahu cholesterolu v mliečnych výrobkoch validovala aj na výrobky cereálneho pôvodu. K tomu účelu sa laboratórne pripravili vzorky maslových sušienok. Hodnoty výťažnosti metódy dosahovali 98 % a odchýlky opakovateľnosti boli minimálne. Linearita metódy bola potvrdená kalibračnou priamkou s vyhovujúcimi parametrami LOD a LOQ. Z analýzy rôznych cereálnych výrobkov vyplynulo, že obsah cholesterolu sa pohyboval od 27,23 do 328,65 mg.100 g^{-1}. Keďže cereálne výrobky patria medzi najviac konzumované komodity na svete, tak ich spotreba môže tiež prekračovať odporúčaný príjem výživového cholesterolu (300 mg/osoba/deň).

Tabuľka 2 Obsah cholesterolu v rôznych cereálnych výrobkoch

Číslo vzorky	Obsah cholesterolu [mg.kg^{-1}][a]	RSD [%]
1	273,79 ±0,07	0,02
2	39,47 ±0,15	0,39
3	27,23 ±0,91	3,33
4	100,06 ±0,58	0,58
5	75,88 ±2,38	3,14
6	95,60 ±1,33	1,40
7	48,24 ±1,74	3,60
8	223,45 ±1,81	0,81
9	124,46 ±8,15	6,55
10	152,03 ±13,47	8,86
11	63,88 ±4,87	7,63
12	190,61 ±8,19	4,30
13	139,45 ±0,61	0,44
14	27,59 ±1,29	4,69
15	262,78 ±12,73	4,84
16[b]	328,65 ±14,13	4,30

Pozn.: [a] Hodnoty sú vyjadrené ako priemer ±smerodajná odchýlka (n = 3); [b] Experimentálna sušienka; RSD – relatívna smerodajná odchýlka

LITERATÚRA

Ahn, J. H., Jeong, I. S., Kwak, B. M., Leem, D., Yoon, T., Yoon, Ch., Jeong, J., Park, J. M., Kim, J. M. 2012. Rapid determination of cholesterol in emulsified confectioneries by ultra-performance liquid chromatography. In *European Journal of Lipid Science and Technology*, vol. 114, pp. 1304-1311. ISSN 1438-9312. Dostupné na: doi: 10.1002/ejlt.201200149

Albuquerque, T. G., Oliveira, M. B. P. P., Sanches-Silva, A. Costa, H.S. 2016. Cholesterol determination in foods: Comparison between high performance and ultra-high performance liquid chromatography. In *Food Chemistry*, vol. 193, pp. 8–25. ISSN 0308-8146. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodchem.2014.09.109

Bauer, L. C. , De Santana, D. A., Dos Macedo, M. S., Torres, A. G., De Souza, N. E., Simionato, J. I. 2014. Method Validation for Simultaneous Determination of Cholesterol and Cholesterol Oxides in Milk by RP-HPLC-DAD. In *Journal of the Brazilian Chemical Society*, vol. 25, pp. 161–168. ISSN 0103-5053. Dostupné na: doi: 10.5935/0103-5053.20130283

Chen, Y. Z., Kao, S. Y., Jian, H. C., Yu, Y. M., Li, J. Y., Wang, W. H., Tsai, C. W. 2015. Determination of cholesterol and four phytosterols in foods without derivatization by gas chromatography-tandem mass spectrometry. In *Journal of Food and Drug Analysis*, vol. 23, pp. 636-644. ISSN 1021-9498. Dostupné na: doi: 10.1016/j.jfda.2015.01.010

Clayton, Z. S., Fusco, E., Kern, M. 2017. Egg consumption and heart health: A review. In *Nutrition*, vol. 37, pp. 79 – 85. ISSN 1873-1244. Dostupné na: doi: 10.1016/j.nut.2016.12.014

Daneshfar, A., Khezeli, T., Lofti, H. J. 2009. Determination of cholesterol in food samples using dispersive liquid-liquid micro extraction followed by HPLC-UV. In *Journal of Chromatography B*, vol. 877, pp. 456 – 460. ISSN 1570-02032. Dostupné na: doi: 10.1016/j.jchromb.2008.12.050

Dinh, T. T. N., Thompson, L. D., Galyean, M. L., Brooks, J. C., Patterson, K. Y., Boylan, L. M. 2011. Cholesterol Content and Methods for Cholesterol Determination in Meat and Poultry. In *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 10, pp. 269-289. ISSN 1541-4337. Dostupné na: doi: 10.111/j.1541-4337.2011.00158.x

Fernández-Pérez, V., de Castro, M. D. L. 2003. Superheated water extraction of cholesterol from solid food. In *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 375, pp. 437-442. ISSN 1618-2642. Dostupné na: doi: 10.1007/s00216-002-1699-7

IDF: Nutritional quality of milkfat. 2008. In IDF, 10 p. Dostupné na: https://shop.filidf.org/products/nutritional-quality-of-milkfat.

Islam, Md. A., Hong, W. H. H., Chun, J. 2023. Importance of derivatization in cholesterol analysis using GC-FID for bakery products containing plant and animal lipid. In *Research Square*, pp. 1-12. Dostupné na: doi: 10.21203/rs.3.rs-2480458/v1

Jeong, H. J., Sun, H., Chogsom, C., Kwak, H. S. 2014. Cholesterol Removal from Whole Egg by Crosslinked β-Cyclodextrin. In *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, vol. 27, pp. 537-542. ISSN 1976-5517. Dostupné na: doi: 10.5713/ajas.2013.13706

Kolarič, L., Šimko, P. 2020. Determination of cholesterol content in butter by HPLC: Up-to-date optimization, and in-house validation using reference materials. In *Foods*, vol. 9, pp. 1378. ISSN 2304-8158. Dostupné na: doi:10.3390/foods9101378

Kolarič, L., Šimko, P. 2022. Simultaneous determination of cholesterol, stigmasterol, and beta-sitosterol contents in milk and dairy products. In *Journal of Food Processing and Preservation*, vol. 46, no. 16146. ISSN 0145-8892. Dostupné na: doi: 10.1111/jfpp.16146.

Kukula, M., Kolarič, L., Šimko, P. 2020. Decrease of cholesterol content in milk by sorption onto β-cyclodextrin crosslinked by tartaric acid, considerations and implications. In *Acta Chimica Slovaca*, vol. 13, pp. 1–6. ISSN 1339-3065. Dostupné na: doi: 10.2478/acs-2020-0024

Laskowski, W., Górska-Warsewicz, H., Rejman, K., Czeczotko, M., Zwolińska, J. 2019. How Important are Cereals and Cereal Products in the Average Polish Diet? In *Nutrients*, vol. 11, no. 679. ISSN 2072-6643. Dostupné na: doi: 10.3390/nu11030679

Lercker, G., Rodriguez-Estrada, M. T. 2000. Cholesterol Oxidation: Presence of 7-ketocholesterol in Different Food Products. In *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 13. pp. 625-631. ISSN 0889-1575. Dostupné na: doi: 10.1006/jfca.2000.0901

Magnusson, B., Örnemark, U. 2014. Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A laboratory guide to method validation and related topics, 2nd ed., 62 p. ISBN 978-91-87461-59-0. Dostupné na: www.eurachem.org.

Mach, F., Baigent, C., Catapano, A. L., Koskinas, K. C., Casula, M., Badimon, L., Chapman, M. J., De Backer, G. G., Delgado, V., Ference, B. A., Graham, I. M., Halliday, A., Landmesser, U., Mihaylova, B., Pedersen, T. R., Riccardi, G., Richter, D. J., Sabatine, M. S., Taskinen, M. R., Tokgozoglu, L., Wiklund, O. 2020. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. In *European Heart Journal*, vol. 41, no. 1, pp. 111 – 188. ISSN 1522-9645. Dostupné na: doi: 10.1093/eurheartj/ehz455

Manzi, P., Di Costanzo, M. G., Mattera, M. 2013. Updating nutritional data and evaluation of technological parameters of Italian milk. In *Foods*, vol. 2, pp. 254–273. ISSN 2304-8158. Dostupné na: doi: 10.3390/foods2020254

Norhayati, M. K., Mohd Fairulnizal, M. N., Zaiton, A., Wan Syuriahti, W. Z., Rusidah, S., Aswir, A. R., Ang, J. L., Mohd Naeem, M. N., Suraiami, M., Mohd Azerulazree, J., Vimala, B. 2015. Nutritional Composition of Selected Commercial Biscuits in Malaysia. In *Sains Malaysiana*, vol. 44, pp. 581-591. ISSN 01266039. Dostupné na: doi: 10.17576/jsm-2015-4404-13

Nwakalor, C. N. 2014. Sensory evaluation of cookies produced from different blends of wheat and *Moringa oleifera* leaf flour. In *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, vol. 3, no. 4, pp. 307-310. ISSN 2327-2716. Dostupné na: doi: 10.11648/j.ijnfs.20140304.21

Osman, H., Chin, Y. K. 2006. Comparative Sensitivities of Cholesterol Analysis Using GC, HPLC and Spectrophotometric Methods. In *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, vol. 10, pp. 205-210. ISSN 13942506.

Ramalho, H. M. M., Casal, S., Oliveira, M. B. P. P. 2011. Total cholesterol and desmosterol contents in raw, UHT, infant formula powder and human milks determined by a new fast micro-HPLC method. In *Food Analytical Methods*, vol. 4, pp. 424-430. ISSN 1936976X. Dostupné na: doi: 10.1007/s12161-010-9182-0

Verardo, V., Messia, M. C., Marconi, E., Caboni, M. F. 2020. Effect of Different Egg Products on Lipid Oxidation of Biscuits. In *Foods*, vol. 9, no. 1714. ISSN 2304-8158. Dostupné na: doi: 10.3390/foods9111714

Zampelas, A., Magriplis, E. 2019. New Insights into Cholesterol Functions: A Friend or an Enemy? In *Nutrients*, vol. 11, no. 1645. ISSN 2072-6643. Dostupné na: doi: 10.3390/nu11071645

Poďakovanie: Táto práca bola podporená Operačným programom integrovanej infraštruktúry v rámci projektu: Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny Drive4SIFood 313011V336 spolufinancovaným z Európskeho fondu regionálneho rozvoja ako aj Agentúrou na podporu vedy a výskumu v rámci projektu APVV 18-0061 a grantom VEGA č. 1/0583/20.

Kontaktná adresa: Lukáš Kolarič Ing. PhD., Ústav potravinárstva a výživy, Oddelenie potravinárskej technológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, e-mail: lukas.kolaric@stuba.sk

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

TAURIN V HMYZU JAKO POTRAVINA A KRMIVO
TAURINE IN INSECTS AS FOOD AND FEED

Lenka Kouřimská, František Kvasnička, Michal Kurečka, Aleš Rajchl, Petra Škvorová, Martin Kulma

Abstract: Taurine is an important bioactive compound which certain living organisms cannot synthesize metabolically, thus requiring its dietary supplementation for normal physiological processes. This study analysed taurine content in ten commercially available insect species (*Alphitobius diaperinus, Acheta domesticus, Blaberus craniifer, Blatta lateralis, Gryllus assimilis, Hermetia illucens, Musca domestica, Periplaneta americana, Schistocerca gregaria*, and *Tenebrio molitor*) by an electrophoretic method. Levels of total nitrogen substances (Kjeldahl method) and chitin (spectrophotometric method after hydrolysis to glucosamine) present in the insect samples were also determined. Amongst the samples, G. assimilis contained the highest levels of taurine (121.0 ± 10.2 mg.100 g^{-1} fresh weight; 436 ± 34 mg.100 g^{-1} dry matter). On the contrary, the lowest taurine level was detected in S. gregaria (5.4 ± 0.6 mg.100 g^{-1} fresh weight; 15 ± 2 mg/100 g dry matter). There was no significant correlation between the taurine content and the insect order or developmental stage of insects.
Keywords: 2-aminoethane sulfonic acid, chitin, electrophoretic method, insect order

INTRODUCTION

2-aminoethane sulfonic acid, commonly known as taurine, was first isolated from the bile of Bos taurus in the early 19th century (Tiedemann and Gmelin, 1827). Taurine is not incorporated into any of the proteins, but is one of the most abundant free amino acids present throughout the tissues in mammalian organs, especially the brain, retina, and muscle (Jacobsen and Smith, 1968) as well as in some invertebrates (Allen and Garrett, 1971). However, taurine is practically absent in the plant kingdom; plants contain less than 1% of taurine in comparison with animals (Kataoka and Ohnishi, 1986).

Taurine plays a key role in the central nervous system, light-sensitive tissues in the retina, and in cardiac and vascular functions (Huxtable, 1989). Further, this “free amino acid“ performs several indispensable roles such as an intracellular osmolyte, a neurotransmitter, and an antioxidant (Huxtable, 1992; Albrecht and Schousboe, 2005). The major route for the biosynthesis of taurine is from methionine and cysteine via cysteine sulphonic acid decarboxylase (CSAD) followed by the oxidation of hypotaurine to taurine as the final step (Stipanuk, 1986). CSAD levels are very low in cats, as well as in humans and other primates (Ripps and Shen, 2012). On the other hand, most vertebrates including terrestrial livestock can synthesize taurine from sulphur-containing amino acids, and, therefore, do not require its supplementation. However, certain species cannot synthesize taurine metabolically and require dietary supplementation for physiological processes (Salze et al., 2011). The deficiency of taurine in such species is associated with various disorders including retinal degradation, dilated cardiomyopathy, and reproductive defects (Pion et al., 1987; Ito and Azum, 2012; Ito et al., 2014).

Compared with conventional resources, insects are a protein-rich food source with a low ecological footprint (Oonincx et al., 2010; Van Huis, 2013). Currently, knowledge of taurine content in insects is limited and available only for a few species (Finke, 2002, 2013, 2015a,b; McCusker et al., 2014; Wu et al., 2020). This study aims to bridge this gap and provides the detection of several other relevant commercially reared insect species.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

MATERIAL AND METODOLOGY

Insects

Commercially available insect species, suitable for large scale production, were selected for this study: lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* – larvae and pupae; house cricket, *Acheta domesticus*; death's head cockroach, *Blaberus craniifer*; Turkestan cockroach, *Blatta lateralis*; Jamaican field cricket, *Gryllus assimilis*; black soldier fly, *Hermetia illucens*; house fly, *Musca domestica*; American cockroach, *Periplaneta americana*; desert locust, *Schistocerca gregaria*; and yellow mealworm, *Tenebrio molitor*).

The insects were obtained from rearing facilities of Czech University of Life Sciences, Prague (*A. diaperinus, A. domesticus, B. craniifer, G. assimilis, S. gregaria,* and *T. molitor*, growth conditions; 27 ± 1 °C, 40–60 % relative humidity (RH), photoperiod 12 h light: 12 h darkness) and from the National Institute of Public Health, Prague (*B. lateralis, H. illucens, M. domestica, P. americana*; growth conditions: 26 ± 2 °C, 40–50 % RH, no controlled photoperiod). Diet provided to insects was as follows: chicken feed based on soybean meal and wheat (77.9 % wheat, 17.6 % soybean meal, 1.8 % rapeseed oil, 2.7 % minerals, macronutrients, and micronutrients; particle size <1 mm) for *A. domesticus, B. craniifer*, and *G. assimilis;* chicken feed, hay, and fresh bramble leaves for *S. gregaria*; moist chicken feed for *H. illucens*; a mixture of chicken feed and bran oats (1:4) for *A. diaperinus* and *T. molitor*; pellets for omnivorous laboratory animals ST1 (Velaz, Prague) for *B. lateralis* and *P. americana*, and housefly larvae substrate (dry milk, yeasts, agar, sugar) for *M. domestica*.

Sample preparation and dry matter determination

Prior to analysis, the harvested insects were starved for 24 h, freeze-killed and lyophilized at -110 °C for 72 h (Trigon Plus lyophiliser, Čestlice, Czech Republic). Thereafter, the samples were homogenized using a laboratory mill (MultiDrive basic, IKA, Germany) and stored at -80 °C until analysis. Approximately 30 g of fresh insect sample was analysed. Each type of insect sample was collected and prepared in three individual replicates, and there were two analytical replicates per sample. Dry matter (DM) was estimated after drying the samples at 103 ± 2 °C for a minimum of 12 h until a constant weight was achieved (Memmert oven, Schwabach, Germany).

Protein analysis

Nitrogen substances (N-substances) were analysed using a Kjeltec 2400 analyser unit (FOSS, Hilleroed, Denmark) according to Regulation (EC) Number 152/2009 using a mineral nitrogen-to-protein conversion factor of 6.25. N-substances (crude protein) represent both protein and non-protein nitrogen compounds, including chitin, purines, uric acid, vitamins, and taurine. The protein content (true protein) was then calculated as follows: proteins = (total mineral nitrogen − chitin nitrogen − taurine nitrogen) × 6.25, where chitin nitrogen = chitin/14.51 (conversion factor derived from the representation of nitrogen at 6.89 % in a molecule of chitin) and taurine nitrogen = taurine/8.54 (11.19% of N in a taurine molecule).

Chitin analysis

The chitin present in the insect samples was hydrolysed in 6M sulphuric acid at 110 °C for 6 h to form glucosamine which was then determined by spectrophotometric method using double beam spectrophotometer GENESYS™ 180 UV-Visible (Fischer Scientific, Ltd., Czech Republic). The principle of the method is that the released glucosamine reduces the yellowish Si(IV)-Mo(VI) species to form a mixed-valence molybdo-silicate anion Si(IV)Mo(V)Mo(VI) (blue) with an absorbance maximum at 750 nm (Katano et al., 2016).

Taurine analysis

Free taurine was determined by an electrophoretic method using electrophoretic analyser EA 102 (LABECO-VILLA, Ltd., Slovakia). Taurine was extracted from a sample using demineralized water and then converted to isethionic acid utilizing the van Slyke method (reaction of an amino acid with nitrous acid to form hydroxy acid and molecular nitrogen). The amount of isethionic acid was determined by on-line coupled capillary isotachophoresis with capillary zone electrophoresis with conductivity detection (Kvasnička and Rajchl, 2021).

Statistical analysis

Data were statistically evaluated using the Statistica 13.2 software package (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA) by cluster analysis, one-way factorial analysis of variance (ANOVA), and Scheffe's post-hoc analyses with a significance level of $\alpha = 0.05$. Pearson's correlation coefficients between taurine, dry matter, and crude protein contents of the samples were also calculated. The results were expressed as arithmetical means (x) ± standard deviations using three individual independent samples.

RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 lists the DM, N-substances, proteins, and chitin contents in the insect samples as well as the taurine levels per fresh weight (FW) of insect samples. The taurine content ranged widely amongst the samples; *G. assimilis* and *P. americana* contained significantly higher levels whereas the lowest level was measured in *S. gregaria*. The results of ANOVA indicated four significantly distinct groups ($p < 0.001$) of insect samples (see Table 1): a) *G. asimilis* and *P. americana*; b) *Acheta domesticus*; c) *M. domestica* and larvae of *A. diaperinus*; and d) pupae of *A. diaperinus*, *H. illucens*, *B. lateralis*, *B. craniifer*, *T. molitor*, and *S. gregaria*. There was no significant correlation between the taurine content and the insect order. Regarding the developmental stage of insects, the larvae of *A. diaperinus* contained approximately twice the level of taurine than that the pupae.

The N-substances (crude protein) content of insect samples varied from 11.62 to 31.04 mg.100 g^{-1} FW, and the protein content, from 10.75 to 30.07 g/100 g FW; insects of order Diptera had the lowest values. The chitin content in the samples ranged from 1.64 to 3.03 mg.100 g^{-1} FW; larvae had the lowest values as compared to other developmental stages. The unique representation of both protein as well as non-protein nitrogen compounds in individual insect species also confirms that no significant correlation was found between the observed parameters (proteins, chitin, and taurine) ($p > 0.05$; absolute value of correlation coefficient less than 0.3).

To date, only nine studies have reported taurine content of insects comprising a total of 17 species (Giannetto *et al*., 2020; Finke, 2002, 2005, 2013, 2015a, 2015b; McCusker *et al*., 2014; Wu *et al*., 2020). Because knowledge of taurine in insects is very limited, this study aimed to examine the taurine content of ten insect species, which are commonly available in Europe, and which have been recently proposed as alternative food or feed. According to the results of this as well as that of previous studies, the taurine content of insects varies notably amongst species. Interestingly, the highest taurine content reported (727 mg.100 g^{-1} DM) was detected in *Trimerotropis pallidipennis* (Finke, 2015a) and *Pogonomyrmex occidentalis* (642 mg.100 g^{-1} DM) (McCusker *et al*., 2014). However, these species are not commonly reared for production of food or feed. Among those species which are reared for this purpose, high taurine levels (>600 mg.100 g^{-1} DM) were previously reported for *A. domesticus* and *M. domestica* (Finke, 2002, 2013). In this study, the highest amounts of taurine (see Table 1) were measured in *G. assimillis* and *P. americana*. These values appear to be moderate to high in context of the above-mentioned papers. Similar levels of taurine were reported in adult insects of *Sarcophaga*

bullata by McCusker *et al.* (2014). Because no previous data are available for *G. assimilis*, the comparison of the obtained value is not possible. However, the taurine level in *P. americana* (110 mg.100 g^{-1} DM) (McCusker *et al.*, 2014) was less by more than a third as compared to that in this study. The third-highest taurine level determined in this study was that in *A. domesticus*. This value was about three times higher than that of *A. domesticus* nymphs (180 mg/kg) analysed by Finke (2015a), but interestingly, less by more than two-thirds than that of *A. domesticus* adults (1410 mg.100 g^{-1}) reported by Finke (2002). On the other hand, no significant differences could be observed in the taurine levels of mealworms, the results of this study being in concordance with those reported previously, wherein mealworms were observed to be a poor taurine source. The taurine content in larvae of *T. molitor* was reported to be <35 mg.kg^{-1} DM (Wu *et al*., 2020) and 0.08, 0.39, and <0.1 g.kg^{-1} on "as is" basis (Finke, 2002, 2013, 2015a,). Thus, it is obvious that some species contain more taurine than others, and, that the content of taurine seems to be variable within the same species wherein it may increase with age. For instance, Finke (2002) reported higher levels of taurine in adult *A. domesticus* and *T. molitor* (1410 and 140 mg.kg^{-1} on "as is" basis) than that observed in their respective larval stages (810 and 80 mg.kg^{-1}). Similarly, significantly higher contents of taurine were observed in pupae of *Hermetia illucens* (45 mg.kg^{-1} DM) and adult of *Sarcophaga bullata* (3.33 mg/g DM) than that in their larvae (24 mg.kg^{-1} DM and 0.92 mg.g^{-1} DM respectively) (Giannetto *et al*., 2020; McCusker *et al*., 2014). In our study, the larvae of *A. diaperinus* contained less taurine than pupae. These differences may be partly explained by the regulation of the genes associated with taurine synthesis (Giannetto *et al*., 2020) as well as by the significant contribution of taurine in the development of adult structures, especially flight muscles (Bodnaryk, 1980; Whitton *et al*., 1987). For instance, van Marrewijk *et al*. (1988) reported taurine levels in flight muscles of 20-day old adults of *L. migratoria* to be more than eight times than that of the penultimate instar belonging to the same species. This, therefore, might be one of the factors causing certain distortions in the adult insects. Further, the taurine content of adult *Drosophila melanogaster* showed a general increase in whole-body levels with increasing age (Massie *et al*., 1989), which supports this hypothesis. Therefore, harvesting insects at the prepupal, pupal or adult stages seems to be a measure which may lead to an increase in the taurine yield. Moreover, van Marrewijk *et al.* (1988) reported that taurine content of the flight muscles continued to increase even after adult moulting, so the age of adults should be also considered from this point of view.

In addition, taurine levels in insects might be affected by external factors. The composition of feed may be one such factor, especially when the presence of taurine precursors is known to be essential. It is well-known that the composition of insects reflects the composition of their feed to some extent, and therefore, their nutritional value can be manipulated by artificial fortification of their feed (Oonincx and Finke, 2021). However, addition of taurine to the diet seems rather counterproductive from the long-term perspective especially due to its negative impact on the fertility of insects (Massie *et al.*, 1989).

The difference in taurine levels reported across studies could also be attributed to the analytical method used. Taurine is known to be present in its free form in insect samples, and therefore, acid hydrolysis of the sample, a procedure commonly performed to extract amino acids that are bound in proteins, is not required. Gentle extraction with water, as performed in this study, is sufficient to release it into the solution. Most of the previous studies associated with taurine content in insects have used the acid hydrolysis extraction method which could have led to degradation of taurine resulting in observation of lower levels.

Table 1 Levels of dry matter in experimental insects; nitrogen substances, proteins, chitin, and taurine contents in fresh weight of experimental insects

Tested insect	Stage	Order	Dry matter (g/100 g)	N-substances (g/100 g FW)	Proteins (g/100 g FW)	Chitin (g/100 g FW)	Taurine (mg/100 g FW)
G. assimilis	adult	Orthoptera	27.74 ± 0.91	21.84 ± 1.65	20.83 ± 0.71	2.14 ± 0.11^{bc}	121.0 ± 10.2^{a}
P. americana	adult	Blattodea	33.10 ± 1.11	23.04 ± 0.84	21.95 ± 0.74	2.33 ± 0.08^{b}	115.1 ± 4.0^{a}
A. domesticus	adult	Orthoptera	24.97 ± 0.26	21.57 ± 0.44	20.57 ± 0.70	2.24 ± 0.06^{b}	55.3 ± 2.2^{b}
M. domestica	larvae	Diptera	24.38 ± 0.82	11.62 ± 0.09	10.75 ± 0.36	1.97 ± 0.06^{bc}	34.6 ± 1.8^{c}
A. diaperinus	larvae	Coleoptera	31.21 ± 1.05	21.53 ± 0.73	20.67 ± 0.70	1.93 ± 0.05^{bc}	33.8 ± 1.8^{c}
A. diaperinus	pupae	Coleoptera	36.62 ± 1.23	31.04 ± 1.05	30.07 ± 1.02	2.22 ± 0.11^{b}	15.3 ± 1.4^{d}
H. illucens	prepupae	Diptera	43.25 ± 1.45	12.87 ± 0.19	11.89 ± 0.40	2.25 ± 0.11^{b}	10.6 ± 1.4^{d}
B. lateralis	adult	Blattodea	34.83 ± 1.17	23.68 ± 0.05	22.78 ± 0.77	2.06 ± 0.07^{bc}	9.5 ± 1.2^{d}
B. craniifer	adult	Blattodea	24.62 ± 1.36	13.39 ± 0.45	12.47 ± 0.42	2.11 ± 0.03^{bc}	7.1 ± 0.7^{d}
T. molitor	larvae	Coleoptera	26.96 ± 0.96	18.25 ± 1.95	17.54 ± 0.60	1.64 ± 0.11^{c}	6.5 ± 0.7^{d}
S. gregaria	adult	Orthoptera	34.67 ± 1.16	14.88 ± 0.11	13.57 ± 0.46	3.03 ± 0.19^{a}	5.4 ± 0.6^{d}

FW = fresh weight (insect samples after freeze-killing but prior to lyophilisation); N-substances (crude protein) = mineral nitrogen × 6.25; Proteins = (mineral nitrogen – taurine nitrogen – chitin nitrogen) × 6.25; taurine nitrogen = taurine/8.94; chitin nitrogen = chitin/14.51; values are expressed as mean ± standard deviations (*n = 3*); numbers followed by different lowercase letters are statistically different ($p \leq 0.05$).

CONCLUSION

A complex set of ten different commercially reared insect species was examined for taurine content and all insect samples were shown to contain taurine. Inclusion of insects into feed for animals is crucial considering its economical, and especially ecological aspects that could aid with the imminent protein crisis in the future. As chemical composition is known to be variable, the further research should follow this study to investigate the factors influencing taurine level of commercially available insects.

REFERENCES

Albrecht, J., Schousboe, A. 2005. Taurine interaction with neurotransmitter receptors in the CNS: An update. *Neurochemical Research* 30: 1615-1621. https://doi.org/10.1007/s11064-005-8986-6

Allen, J. A., Garrett, M. R. 1971. Taurine in marine invertebrates. *Advances in Marine Biology* 9: 205-253. https://doi.org/10.1016/S0065-2881(08)60343-0

Bodnaryk, R. P. 1981. The biosynthesis function, and fate of taurine during the metamorphosis of the Noctuid moth *Mamestra configurata* Wlk. *Insect Biochemistry* 11: 199-205. https://doi.org/10.1016/0020-1790 (81)90096-2

Finke, M. D. 2002. Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biology* 21: 269-285. https://doi.org/10.1002/zoo.10031

Finke, M. D. 2005. Nutrient composition of bee brood and its potential as human food. *Ecology of Food and Nutrition* 44(4): 257-270. https://doi.org/10.1080/03670240500187278

Finke, M. D. 2013. Complete nutrient content of four species of feeder insects. *Zoo Biology* 32: 27-36. https://doi.org/10.1002/zoo.21012

Finke, M. D. 2015a. Complete nutrient content of four species of commercially available feeder insects fed enhanced diets during growth. *Zoo Biology* 34: 554-564. https://doi.org/10.1002/zoo.21246

Finke, M. D. 2015b. Complete nutrient content of three species of wild caught insects, pallid-winged grasshopper, rhinoceros beetles and white-lined sphinx moth. *Journal of Insects as Food and Feed* 1: 281-292. https://doi.org/10.3920/JIFF2015.0033

Giannetto, A., Oliva, S., Riolo, K., Savastano, D., Parrino, V., Cappello, T., Maisano, M., Fasulo, S., Mauceri, A. 2020. Waste Valorisation via Hermetia Illucens to Produce Protein-Rich Biomass for Feed: Insight into the Critical Nutrient Taurine. *Animals* 10: 1710. https://doi.org/10.3390/ani10091710

Huxtable, R. J. 1989. Taurine in the central nervous system and the mammalian actions of taurine. *Progress in Neurobiology* 32: 471-533. https://doi.org/10.1016/0301-0082(89)90019-1
Huxtable, R. J. 1992. Physiological actions of taurine. *Physiological Reviews* 72: 101-163. https://doi.org/10.1152/physrev.1992.72.1.101
Ito, T., Azuma, J. 2012. Taurine Depletion-Related Cardiomyopathy in Animals. In: Cardiomyopathies - From Basic Research to Clinical Management. Ed. Veselka, J., Intech Open, London, UK, p. 537-552. https://doi.org/10.5772/30023
Ito, T., Yoshikawa, N., Inui, T., Miyazaki, N., Schaffer, S. W. and Azuma, J. 2014. Tissue depletion of taurine accelerates skeletal muscle senescence and leads to early death in mice. *PLOS ONE* 9: e107409. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107409
Katano, H., Takakuva, M., Hayakawa, H. and Kimoto, H. 2016. Determination of chitin based on the colorimetric assay of glucosamine in acidic hydrolysate. *Analytical Sciences* 32: 701-703. https://doi.org/10.2116/analsci.32.701
Kataoka, H. and Ohnishi, N. 1986. Occurrence of taurine in plants. *Agricultural and Biological Chem*istry 50: 1887-1888. https://doi.org/10.1080/00021369.1986.10867664
Kvasnička, F., Rajchl, A. 2021. Electrophoretic determination of taurine. *Journal of Chromatography* A 1645: e462075. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462075
Massie, H. R., Williams, T. R. and DeWolfe, L. K. 1989. Changes in taurine in aging fruit-flies and mice. *Experimental Gerontology* 24: 57-65. https://doi.org/10.1016/0531-5565(89)90035-1
McCusker, S., Buff, P. R., Yu, Z. S., Fascetti, A. J. 2014. Amino acid content of selected plant, algae and insect species: a search for alternative protein sources for use in pet foods. *Journal of Nutritional Science* 3: e39. https://doi.org/10.1017/jns.2014.33
Oonincx, D. G. A. B., van Itterbeeck, J., Heetkamp, M. J. W., van den Brand, H., van Loon, J. J. A., van Huis, A. 2010. An exploration on greenhouse gas and ammonia production by insect species suitable for animal or human consumption. *PLOS ONE* 5: e14445. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014445
Oonincx, D. G. A. B., Finke, M. D. 2021. Nutritional value of insects and ways to manipulate their composition. *Journal of Insects as Food and Feed* 7: 639-659. https://doi.org/10.3920/JIFF2020.0050
Pion, P. D., Kittleson, M. D., Rogers, Q. R., Morris, J. G. 1987. Myocardial failure in cats associated with low plasma taurine: A reversible cardiomyopathy. *Science* 237: 764-768. https://doi.org/10.1126/science.3616607
Ripps, H., Shen, W., 2012. Review: Taurine: A "very essential" amino acid. *Molecular Vision* 18: 2673-2686.
Salze, G., Craig, S. R., Smith, B. H., Smith, E. P., McLean, E. 2011. Morphological development of larval cobia *Rachycentron canadum* and the influence of dietary taurine supplementation. *Journal of Fish Biology* 78: 1470-1491. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2011.02954.x
Stipanuk, M. H., 1986. Metabolism of sulfur-containing amino-acids. *Annual Review of Nutrition* 6:179-209. https://doi.org/10.1146/annurev.nu.06.070186.001143
Tiedemann, F., Gmelin, L. 1827. Einige neue Bestandtheile der Galle des Ochsen. Annalen der Physik 85: 326–337. https://doi.org/10.1002/andp.18270850214
Van Huis, A. 2013. Potential of insects as food and feed in assuring food security. Annual Review of Entomology 58: 563-583. https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153704
Van Marrewijk, W. J. A., Van den Broek, A. T. M., De Graan, P. N. E., Beenakkers, A. M. T. 1988. Formation of partially phosphorylated glycogen-phosphorylase in the fat-body of the migratory locust. I*nsect Biochemistry* 18: 821-827. https://doi.org/10.1016/0020-1790(88)90106-0
Whitton, P. S., Strang, R. H. C., Nicholson, R. A. 1987. The distribution of taurine in the tissues of some species of insects. *Insect Biochemistry* 17: 573-577. https://doi.org/10.1016/0020-1790(87)90056-4
Wu, R. A., Ding, Q., Yin, L., Chi, X., Sun, N., He, R., Luo, L., Ma, H. and Li, Z. 2020. Comparison of the nutritional value of mysore thorn borer (*Anoplophora chinensis*) and mealworm larva (*Tenebrio molitor*): Amino acid, fatty acid, and element profiles. *Food Chemistry* 323: e126818. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126818.

Acknowledgments: This study was supported by the METROFOOD-CZ research infrastructure project (MEYS grant number: LM2018100), including access to its facilities, the Czech Science Foundation (GAČR), project number 21-47159L (INPROFF: Quality, Safety and Authenticity of Insect Protein-based Food and Feed Products), and the OP VVV, project number CZ.02.2.69/0.0/0.0/19_073/0016944, improving the quality of the internal grant scheme at the CZU.

Contact address: prof. Ing. Lenka Kouřimská, Ph.D. Department of Microbiology, Nutrition and Dietetics. Faculty of Agrobiology, Food and Natural Resources. Czech University of Life Sciences Prague. Kamýcká 129, 165 00 Praha – Suchdol. Czech Republic/e-mail: kourimska@af.czu.cz

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

SPOTREBITEĽSKÉ SPRÁVANIE PRI NÁKUPE MEDU
CONSUMER BEHAVIOR WHEN BUYING HONEY

Roman Récky, Peter Šedík, Michaela Kulichová

Abstract: The main objective of the paper was to study consumer behaviour and purchasing behaviour in the honey market. The research was based on primary data obtained by conducting online questionnaire survey. In total, 237 honey consumers between 18 – 30 years participated in the survey. The results showed that the majority of respondents purchase honey on regular basis mostly at retail stores or at specialty shops. The optimal price for 1 kg of honey was indicated between 7 and 8 euros. The most important factor considered at honey purchase was country of origin, followed by taste and recommendations from family or friends. The least important factors were label design and advertisement. The majority of respondents prefer light honey of liquid consistency sold in 250 grams packaging.

ÚVOD

V súčasnej dobe je spotrebiteľ považovaný za ústredný prvok marketingovej teórie i praxe. Zákon o ochrane spotrebiteľa 250/2007 Z. z. definuje spotrebiteľa ako fyzickú osobu, ktorá pri uzatváraní a plnení spotrebiteľskej zmluvy nekoná v rámci predmetu svojej podnikateľskej činnosti, zamestnania alebo povolania. Spotrebiteľom je teda každý občan, ktorý nakupuje výrobky a služby pre svoju osobnú spotrebu. Tento zákon taktiež uvádza práva spotrebiteľa i povinnosti predávajúceho. Podobne definuje spotrebiteľa aj Zákon č. 40/1964 Zb. Občiansky zákonník.

Spotrebiteľom je každý jeden z nás, keďže prejavujeme záujem o produkty, ktoré využívame na uľahčenie každodenného života, ako aj na jeho spríjemnenie. Ide o nákup produktov a služieb pre vlastnú spotrebu, pre členov v domácnosti, či zaobstaraných ako dar (Horská, Ubrežiová, 2001). Vo všetkých uvedených prípadoch je produkt určený pre konečnú spotrebu, preto sa spotrebitelia označujú aj ako koneční spotrebitelia.

Sokolowski (2011) uvádza, že v momente, kedy sa k spotrebiteľovi dostanú informácie o produktoch, nastáva proces rozhodovania sa. Toto rozhodovanie ovplyvňujú faktory, ktoré na seba navzájom pôsobia. Na spotrebiteľské správanie vplýva okrem faktorov aj marketingový mix, ktorý využíva podnik na dosiahnutie svojich cieľov.

Spotrebiteľské správanie je významným prvkom marketingu, kedy je potrebné rozoznať, kto je spotrebiteľom a kto len kupujúcim. Spotrebiteľ je chápaný ako ekonomický jedinec, ktorého cieľom je racionálne sa rozhodnúť s minimálnym výdajom a maximálnym nákupom. Spotrebiteľ sa na základe viacerých faktorov rozhoduje, ktorý produkt a službu využije, kupujúci je ten, ktorý nakupuje a platí (Horská et al., 2009).

Keď uvažujeme o spotrebiteľskom správaní, vidíme spotrebiteľa ako realizuje proces nákupného rozhodovania pod vplyvom faktorov pôsobiacich z externého prostredia, formovaný jeho vlastnými individuálnymi špecifikami a konkrétnou nákupnou situáciou (Richterová et al., 2015).

Východiskovým bodom správania sa spotrebiteľa je poznanie, ako zákazník reaguje na rôzne podnety. Marketingové podnety a pôsobenie prostredia vstupujú do podvedomia zákazníka. Typické vlastnosti zákazníka a jeho rozhodovací proces vedú k určitému kúpnemu rozhodovaniu. Úlohou marketérov je poznať čo sa deje v zákazníkovej mysli od okamžiku, kedy sa dostanú do jeho podvedomia určité podnety z vonkajšieho prostredia, do okamžiku, kedy urobia kúpne rozhodnutie (Golian, 2017).

Na konečné rozhodnutie spotrebiteľa vplývajú osobnostné črty spotrebiteľa, subjekty vonkajšieho prostredia a faktory ovplyvňujúce spotrebiteľské správanie (Nawal, 2020).

Jedným z tradičných slovenských remesiel, ktorých začiatky siahajú mnoho storočí do minulosti, je chov včiel. Slovensko malo veľké plochy lesov a lúk, ktoré poskytovali vhodné podmienky na včelárstvo. Med bol v tom čase jediným sladidlom a medom a voskom sa dokonca platili aj dane. Keď sa po objavení Ameriky a s rozvojom námorníctva začal do Európy dovážať cukor, Mária Terézia prišla včelárom na pomoc a podporila ich vydaním včelárskych patentov. Včelárstvo pokračuje na Slovensku dodnes, mnohé včelie farmy sú rodinné a nájdeme na nich množstvo kvalitných a chutných medových výrobkov (Mikulcová 2018).

MATERIÁL A METODIKA

Cieľom príspevku bolo analyzovať spotrebiteľské správanie mladých spotrebiteľov na Slovensku pri nákupe a spotrebe včelieho medu. Primárne údaje boli získané dotazníkovým prieskumom, ktorého sa zúčastnilo 237 respondentov. Dotazníkový prieskum bol realizovaný elektronickou formou prostredníctvom Google Docs v mesiacoch január a február 2022. Charakteristika výskumnej vzorky je zobrazená v tabuľke 1. Pri vyhodnocovaní dát boli okrem deskriptívnej štatistiky využité ak neparametrické testy ako Friedmanov test a Neméniyho metóda.

Výskumná otázka: Existuje rozdiel v hodnotení vybraných faktorov, ktoré respondent zvažuje pri nákupe včelieho medu.

Tabuľka č.1 Socio-demografický profil respondentov

Pohlavie	Muž	40,51 %
	Žena	59,49 %
Vek	18 – 24 rokov	28,69 %
	25 – 30 rokov	71,31 %
Miesto bydliska	Dedina	27,85 %
	Mesto	72,15 %
Vzdelanie	Základné	5,06 %
	Stredoškolské bez maturity	21,52 %
	Stredoškolské s maturitou	46,41 %
	Vysokoškolské	27,00 %
Ekonomická aktivita	Materská dovolenka	7,17 %
	Nezamestnaný/á	13,08 %
	Samostatne zárobkovo činná osoba / Živnostník	16,88 %
	Študent	13,50 %
	Zamestnaný/á	49,37 %

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky dotazníkového prieskumu ukázali, že mladí konzumenti medu uprednostňujú med ako sladidlo namiesto cukru (89,87 %) pričom skoro 90 % uprednostňuje med slovenského pôvodu. V domácnosti sa mesačne spotrebuje väčšinou od 500 g (29,11 %) až po 750 g (23,21 %). Väčšina respondentov uviedla, že med konzumujú viackrát do týždňa (35,86 %) buď celoročne (51,90 %) alebo počas zimného obdobia (29,96 %). Približne 89 % respondentov uviedlo, že počas ochorenia zvyšujú konzumáciu medu. Pri otázke „Nakupujete včelí med?“ odpovedalo pozitívne až 86,92 % respondentov, pričom väčšina uviedla, že med nakupujú každý mesiac (29,61 %) alebo na štvrťročnej báze (22,33 %). Miesto nákupu bolo vo väčšine prípadov indikovane pre obchodné reťazce, predajne BIO potravín a zdravej výživy

a špecializované predajne. Ďalej mali respondenti zhodnotiť dôležitosť vybraných faktorov, ktoré zvažujú pri nákupe medu využitím 5 bodovej škály (5-najdôležitejší faktor, 1-najmenej dôležitý faktor). Aplikovaním Friedmanovho testu a Neméniyho metódy sme zistili, že respondenti zhodnotili vybrané faktory rozdielne (p-hodnota = 0,001). Medzi najdôležitejšie faktory patria: krajina pôvodu, chuť, recenzie od priateľov/rodiny a predchádzajúca skúsenosť. Najmenej dôležité faktory boli reklama a dizajn obalu včelieho medu (Tabuľka č. 2). Závery prieskumu spoločnosti Nielsen konštatujú, že slovenského spotrebiteľa pri nákupe potravín ovplyvňujú predovšetkým čerstvosť a kvalita potravín, na treťom mieste je cena (Halásová, Bakošová 2019). Krajina pôvodu obsadila 5. priečku. Med je špecifická potravina, kde krajina pôvodu je významnejším faktorom ako pri ostatných potravinách.

Slovenský spotrebiteľ pomaly mení svoje správanie a čoraz viac je takých, pre ktorých cena nie je rozhodujúca, aspoň pri určitých druhoch komodít. Slováci čoraz viac uprednostňujú slovenské výrobky, ktoré sú kvalitné a často majú za sebou nejaký príbeh, ktorý spotrebiteľa osloví. V obchodných reťazcoch sa objavujú špeciálne pulty či regály, ktoré ponúkajú čisto slovenské výrobky, vznikajú aj menšie samostatné obchodíky s farmárskymi slovenskými špecialitami, ktoré sa medzi spotrebiteľmi tešia čoraz väčšej obľube (Mikulcová, 2018). Medzi tieto produkty patrí aj med.

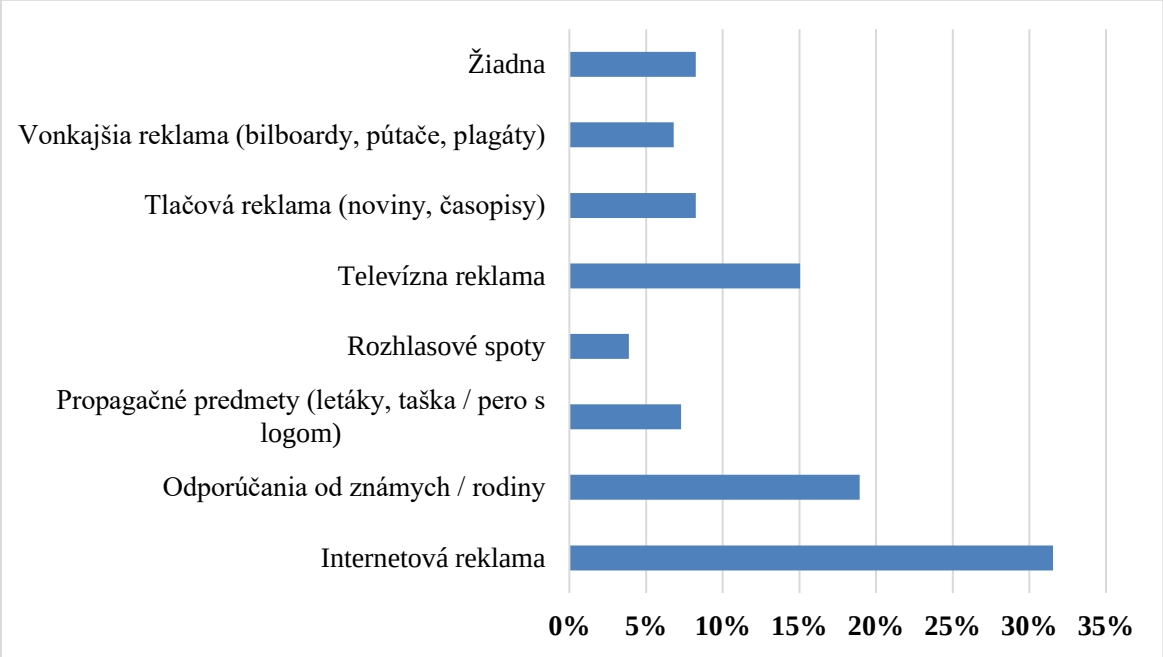
Tabuľka 2 Dôležitosť faktorov ovplyvňujúcich respondentov pri nákupe medu

Faktory	Priemer poradí	Skupiny						
Reklama	3,873	A						
Dizajn obalu	4,493	A						
Značka	6,476		B					
Cena	6,863		B	C				
Druh medu	7,176		B	C				
Konzistencia medu	7,224		B	C				
Farba/vôňa	7,571		B	C	D			
Aktuálna akcia	7,612		B	C	D			
Veľkosť balenia	7,627		B	C	D			
Výrobca medu	8,080			C	D	E		
Predchádzajúce skúsenosti	8,895				D	E	F	
Recenzie od priateľov / rodiny	9,071					E	F	G
Chuť	9,615						F	G
Krajina pôvodu	10,.424							G

Väčšina respondentov uviedla, že je ochotná maximálne zaplatiť za 1kg medu od 7 do 8 eur, pričom pri otázke zameranej na preferenciu balenia najviac respondentov uprednostnilo 250 g balenie. Približne 79 % zúčastnených uviedlo, že reklama a zľava majú určitý vplyv na ich nákupné rozhodovanie. Najviac ich vie ovplyvniť internetová reklama a odporúčania od známych alebo rodiny (Obrázok č.1).

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Obrázok č. 1 Vplyv reklamy na nákupné rozhodovanie



Zdroj: vlastné spracovanie

Ďalej väčšina respondentov uviedla, že ochutnávka medov by pomohla pri rozhodovaní sa pred nákupom (56,12 %). Až 57 % uviedlo, že sa zaujímajú o informácie uvedená na etikete a záleží im na zložení a pôvode medu. Z hľadiska spotrebiteľských preferencií väčšina respondentov uviedla, že preferujú tekutú konzistenciu medu (50,20 %) a v prípade farby buď nemajú preferenciu (45,15%) alebo preferujú svetlé medy (40,51 %). Až 61,65 % respondentov sa domnievajú že med zakúpený priamo od včelára je vyššej kvality v porovnaní s medom zakúpeným v obchode.

ZÁVER

Med je tradičnou slovenskou potravinou a včelárstvo tradičným, prevažne rodinným remeslom s dlhodobou tradíciou. Spotrebiteľ je kľúčovým prvkom marketingu a skúmanie jeho správanie môže pomôcť výrobcom a predajcom medu identifikovať ich preferencie pri nákupe a spotrebe medu. V príspevky analyzujeme spotrebiteľské správanie pri nákupe a konzumácii medu mladej generácie slovenských spotrebiteľov. Primárne údaje boli získané dotazníkovým prieskumom. Zo zistených výsledkov vyplýva predovšetkým, že med je potravinou so silnou domácou preferenciou. Väčšina respondentov konzumuje med viackrát do týždňa počas celého roka. Konzumácia medu sa zvyšuje počas ochorenia. Až 87 % respondentov nakupuje med, najčastejšie v obchodných reťazcoch a špecializovaných a BIO predajniach potravín. Najdôležitejším faktorom pri nákupe medu bola krajina pôvodu, nasleduje chuť a recenzie od priateľov/rodiny. Najmenej dôležité faktory boli reklama a dizajn obalu včelieho medu. Spotrebiteľov by oslovila aj ochutnávka medu a taktiež sa domnievajú, že med zakúpený priamo od včelára je kvalitnejší v porovnaní s medom zakúpeným v obchode. Pri vyhodnotení uvedeného môžeme konštatovať, že spotrebiteľ sa pri nákupe medu väčšinou nespráva racionálne a nevyberá si najlacnejší produkt. Preferuje domáceho, často osvedčeného dodávateľa, ktorému dôveruje na základe vlastnej skúsenosti, resp. skúsenosti priateľov a rodiny.

LITERATÚRA

Bakošová, Halásová, H. 2019. *Fandíme našim.* Obchod. MAFRA Slovakia a. s. Bratislava. Ročník XXIV, číslo 3. jún 2019. 20 s. ISSN 1335-2008.

Horská, E., Ubrežiová, I. 2001. *Manažment a marketing v medzinárodnom prostredí*. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 418 s. ISBN 80-7137-884-4.

Horská, E. et al. 2009. *Európsky spotrebiteľ a spotrebiteľské správanie*. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 219 s. ISBN 978-80-552-0318-8.

Golian, J. 2017. *Potraviny a spotrebiteľ*. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 104 s. ISBN 978-80-552-1767-3.

Kapitán, P. 2022. *E-shopy chcú väčší komfort pre zákazníkov*. Praha. ATOZ Marketing Services, spol. s. r. o. 52 s. ISSN 1805-0549.

Mikulcová, K. 2019. *Zlaté slovenské ručičky.* Obchod. MAFRA Slovakia a. s. Bratislava. Ročník XXIII, číslo 2. apríl 2018. 18 s. ISSN 1335-2008.

Nawal, A. 2020. *What is Consumer Behavior?* [Ultimate Guide]. [online]. https.//www.feedough.com/what-is-consumer-behaviour-ultimate-guide.

Richterová, K., Klepochová, D., Kopaničová, J., Žák, Š. 2015. Spotrebiteľské správanie. Sprint dva. 404 s. ISBN 978-80-89710-188.

Sladkovská, I. 2019. *Čím všetkým sa riadime pri nákupe potravín?* SITA webnoviny. Slováci prekvapili v prieskume. [online]. https://sita.sk/vpotravinarstve/cim-vsetkym-sa-riadime-pri-nakupe-potravin-slovaci-prekvapili-v-prieskume/

Sokolowski, O. 2011. *Influences and Attitudes Within Consumer Behaviour Process*. Nemecko: GRIN Verlag, 40 s. ISBN 9783640979783.

Poďakovanie: Táto publikácia vznikla vďaka podpore Vedeckej grantovej agentúry MŠVVaŠ SR a projektu VEGA 1/0404/22 „Racionalita a iracionalita pri kreovaní preferencií v nákupnom správaní spotrebiteľov na prahu 3. tisícročia.

Kontaktná adresa: Roman Récky, Ing., PhD. ÚMOaSS FEM SPU v Nitre, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, roman.recky@uniag.sk

Peter Šedík, Ing., PhD. ÚMOaSS FEM SPU v Nitre, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, peter.sedik@uniag.sk

Michaela Kulichová, Ing., Mestský úrad Sereď, Námestie republiky 1176/10 926 01 Sereď, michaela.kulichova@sered.sk

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

BEZPEČNOSŤ POTRAVÍN AKO LIMITUJÚCI FAKTOR ZDRAVIA OBYVATEĽSTVA SR
FOOD SAFETY AS LIMITING FACTOR OF THE HEALTH OF SLOVAKIAN POPULATION

Peter Šimko, Lukáš Kolarič

Abstract: The Annual State of Health in the Slovak Republic provides a concise and policy-relevant overview of health and health systems in the country to be elaborated by the OECD and the European Observatory on Health Systems and Policies, in cooperation with the European Commission. On the base of accessible data, dominant risks were identified as follows: obesity, poor nutritional habits in some social groups, resulting in frequent cardiovascular disease appearance and cancer to be brought about, apart from others, by eating habits. Frequency of occurrence of these illnesses results in has one of the highest cancer and cardiovascular mortality rates in the EU. The solution is minimisation of contaminants contents in processed foods using modern elimination procedures based on van der Waals physico-chemical interactions.
Key words: *food safety; food contaminants; daily intake; cardiovascular disease; cancer;*

Úvod

Stredná dĺžka života na Slovensku patrí medzi najkratšie v Európe a dočasne sa v roku 2020 skrátila takmer o jeden rok v dôsledku vplyvu ochorenia COVID-19. Rizikové faktory správania a environmentálne rizikové faktory prispievajú takmer k polovici všetkých úmrtí. Slovenské obyvateľstvo má k dispozícií široký balík služieb, ktorý obsahuje nedávno zavedenú telemedicínu. Problémy spojené s nízkymi úrovňami výdavkov na zdravotníctvo a nedostatkom pracovných síl v zdravotníctve však pretrvávajú a vplyvom pandémie sa zhoršili. Stredná dĺžka života na Slovensku sa medzi rokmi 2010 a 2019 predĺžila o viac ako dva roky, pričom sa v roku 2020 skrátila takmer o jeden rok v dôsledku úmrtí spôsobených ochorením COVID-19. V porovnaní s priemerom EÚ je stále o štyri roky kratšia. Rozdiely v strednej dĺžke života na základe sociálnoekonomického postavenia sú naďalej jedny z najväčších v EÚ. Slovensko má takisto jednu z najvyšších mier úmrtnosti na rakovinu v EÚ. Hoci sa spotreba tabaku u dospelých v minulom desaťročí vo väčšine krajín znížila, na Slovensku zostala stabilná a v súčasnosti je v porovnaní s priemerom EÚ vyššia. Spotreba alkoholu je porovnateľná s priemerom EÚ. Miery obezity u dospelých a mladistvých sú na vzostupe a sú vyššie v porovnaní s priemerom EÚ, a to sčasti pre nesprávne stravovacie návyky a nízku úroveň fyzickej aktivity (OECD/European Observatory on Health Systems and Policies, 2021).

Stredná dĺžka života

Stredná dĺžka života pri narodení sa na Slovensku medzi rokmi 2000 a 2020 predĺžila o 3,6 roka zo 73,3 roka na76,9 roka, no zostáva o 3,7 roka kratšia v porovnaní s priemerom EÚ a o 1,4 roka kratšia v porovnaní so susedným Českom. Medzi rokmi 2019 a 2020 sa stredná dĺžka života dočasne skrátila takmer o jeden rok, čo je najvýznamnejšie skrátenie za predchádzajúcich 20 rokov. Takéto zhoršenia takisto zaznamenali vo väčšine krajín EÚ, pričom v niektorých prípadoch boli ešte výraznejšie. V priemere žijú ženy takmer o sedem rokov dlhšie ako muži: 80,4 roka v porovnaní so 73,5 roka. Tento rodový rozdiel je v porovnaní s priemerom EÚ výraznejší (5,6 roka) a prevažne odráža rozdiely vo vystavení rizikovým faktorom (OECD/European Observatory on Health Systems and Policies, 2021).

Rizikové faktory

Približne polovicu všetkých úmrtí na Slovensku možno spojiť s rizikovými faktormi správania vrátane rizík súvisiacich so stravovaním, fajčením tabaku, spotrebou alkoholu a nízkou fyzickou aktivitou, čo je väčší podiel v porovnaní s priemerom EÚ na úrovni približne dve z piatich úmrtí. Environmentálne faktory ako znečistenie ovzdušia prispievajú k výraznému počtu úmrtí, pričom len vystavenie jemným tuhým časticiam (PM2.5) a ozónu súvisí so 7 % všetkých úmrtí. Úmrtia spôsobené znečistením ovzdušia sú spájané hlavne s ochoreniami obehovej sústavy, respiračnými ochoreniami a niektorými druhmi rakoviny. Riziká spojené so stravovaním vrátane nízkeho príjmu ovocia a zeleniny a vysokej spotreby soli prispeli k 26 % všetkých úmrtí na Slovensku, čo je vysoko nad priemerom EÚ, ktorý je 17 %. Podiely súvisiace so spotrebou tabaku (17 %), spotrebou alkoholu (6 %) a nedostatkom fyzickej aktivity (2 %) sa rovnali priemerom EÚ (OECD/European Observatory on Health Systems and Policies, 2021).

Príčiny úmrtnosti

Nárast strednej dĺžky života medzi rokmi 2000 a 2020 bol spôsobený najmä zníženiami úmrtnosti na kardiovaskulárne ochorenia – predovšetkým na ischemickú chorobu srdca. Napriek tomu bola v roku 2019 ischemická choroba srdca naďalej vedúcou príčinou smrti a spôsobovala každé štvrté úmrtie. Miera úmrtnosti na cievne mozgové príhody od roku 2000 takisto klesla, ale zostala druhou vedúcou príčinou smrti v roku 2019. Úmrtnosť na rakovinu je veľmi vysoká. Rakovina pľúc a rakovina hrubého čreva a konečníka sú u slovenskej populácie najčastejšími príčinami úmrtia na rakovinu, aj keď sa od roku 2000 táto úmrtnosť mierne znížila (OECD/European Observatory on Health Systems and Policies, 2021).

Možnosti riešenia súčasnej situácie

Súčasná potravinárska veda ponúka riešenia efektívneho znižovania obsahu chemických zlúčenín, ktoré sú schopné vyvolávať závažné zdravotné problémy v populácii obyvateľov Slovenskej republiky. Sú vypracované postupy na efektívne znižovanie obsahu cholesterolu a aflatoxínu M1v mlieku a mliečnych výrobkoch (Kolarič a Šimko, 2022), znižovanie obsahu akrylamidu v tepelne opracovaných výrobkoch (Marková et al., 2012), polycyklických aromatických uhľovodíkov v údených mäsových výrobkoch (Semanová et al., 2016) na základe fyzikálnochemických interakcií van der Waalsového charakteru, ktoré dokážu byť vo vzťahu k eliminačným dejom veľmi efektívne, pričom na druhej strane nedeformujú zásadným spôsobom nutričné a organoleptické profily opracúvaných potravín.

Literatúra

OECD/European Observatory on Health Systems and Policies. 2021. *Slovensko: Zdravotný profil krajiny 2021, State of Health in the EU*, OECD Publishing, Paris / European Observatory on Health Systems and Policies, Brusel.
Kolarič, L., Šimko, P. 2022. Application of β-cyclodextrin in the production of low-cholesterol milk and dairy products. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 13-22.
Marková, L., Ciesarová, Z., Kukurová, K., Zieliński, H., Przygodzka, M., Bednáriková, A., Šimko, P. 2012. Influence of various spices on acrylamide content in buckwheat ginger cakes. *Chemical Papers*, 66(10), 949-954.
Semanová, J., Sklaršová, B., Šimon, P., Šimko, P. 2016. Elimination of polycyclic aromatic hydrocarbons from smoked sausages by migration into polyethylene packaging. *Food Chemistry*, 201, 1-6.

Poďakovanie: *Tento príspevok vznikol ako výsledok riešenia projektu APVV-18-0061, ktorý finančne podporuje Agentúra pre podporu výskumu a vývoja.*

Kontaktná adresa: prof. Ing. Peter Šimko, DrSc., Ústav potravinárstva a výživy, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava. E-mail: qsimko@stuba.sk

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

VLIV KULINÁRNÍHO ZPRACOVÁNÍ NA MIKROBIOLOGICKOU KVALITU POTEMNÍKA MOUČENÉHO (*Tenebrio molitor*)
THE EFFECT OF CULINARY PROCESSING ON THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF (*Tenebrio molitor*)

Petra Škvorová, Roman Švejstil Lenka Kouřimská

Abstract: The placing on the market of dried, frozen and powder yellow mealworm (*Tenebrio molitor* larva) as a novel food under Regulation (EU) 2015/2283 has been recently authorized by the European Commission. Insects are consumed with their gastrointestinal tract and therefore their microbial risk should be considered. The aim of this study was to monitor microbiological of yellow mealworm larvae during their heat treatment, namely cooking, roasting, drying and microwave heating. The effect of killing (boiling or freezing) was also monitored. From microbiological aspects *Bacillus cereus* and total bacterial counts were determined. Culture methods according to ISO standards for individual categories of bacteria were used for the detection of microorganisms. Killing by boiling alone had a significant effect on the decline of all microbiological indicators, in contrast to insects killed by frost. In the case of further processing, the best microbiological results were recorded in the insects, which were subsequently roasted. However, the smallest overall loss of microorganisms was observed in the microwave treatment, but it was still acceptable. In the case of *Bacillus cereus*, there was a significant decrease when killed by boiling, but the overall destruction of *Bacillus cereus* was only after the namely cooking. Overall, it can be stated that if the insects are killed by boiling before culinary preparation, they provide sufficient microbiological quality regardless of further processing.
Keywords: *bacillus cereus*, cooking, roasting, drying, microwave heating

ÚVOD

Konzumace hmyzu se nazývá entomofágie. Již od roku 2003 Organizace pro výživu a zemědělství (FAO) uznává potenciál užívání jedlého hmyzu pro potraviny a krmiva a podporuje řadu témat souvisejících s jedlým hmyzem. Hmyz je konzumován v různých vývojových stádiích (larvy, kukly i dospělci). Od 1. 1. 2018 je v EU použitelné nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2015/2283 o nových potravinách, které jasně definuje hmyz a výrobky z hmyzu jako novou potravinu ve smyslu tohoto nařízení. Hmyz a hmyzí produkty totiž nebyly tradiční součástí jídelníčku obyvatel EU před 15. 5. 1997 a splňují tím definici nové potraviny (Mishyna et al. 2020). Ministerstvo zemědělství v České republice s ohledem na stávající vědecké poznatky doporučilo chovat k lidské spotřebě zatím pouze následující druhy hmyzu: *Tenebrio molitor* – potemník moučný, *Alphitobius diaperinus* – potemník stájový, *Acheta domesticus* – cvrček domácí, *Grylodes sigillatus* – cvrček krátkokřídlý a *Gryllus assimilis* – cvrček banánový (Ministerstvo zemědělství 2018). Prvním druhem jedlého hmyzu, který Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) shledal bezpečným pro využití v potravinářském průmyslu je *Tenebrio molitor* (Turck et al. 2021).

Do budoucna je předpokládán nárůst světové populace a konzumace hmyzu se může jevit jako možné zajištění nového zdroje živočišných bílkovin. Navíc může být hmyz krmen potravou, kterou člověk nedokáže zkonzumovat, některé druhy dokonce dokážou recyklovat i živočišný odpad (Van Huis et al. 2013; De Castro et al. 2018). Další nespornou výhodou, je také to, že hmyz má rychlý životní cyklus a dobrou schopnost reprodukce (Kulma et al. 2019).

Hmyz je stále častěji prosazován jako maso budoucnosti, což je vysvětlováno dobrou udržitelností jeho produkce. Zatímco skutečné dopady na životní prostředí a míra konverze krmiv se liší podle druhu hmyzu a použitých chovatelských metod, zjišťuje se, že chov hmyzu vyžaduje menší přísun krmiva, vody a půdy k produkci ekvivalentního množství bílkovin oproti tradičním hospodářským zvířatům (van Broekhoven et al. 2015; Shelomi 2016; Mancini et al. 2019).

Chemické složení hmyzu může záviset na faktorech vnějšího prostředí, jako například vliv ročního období nebo technologický postup v chovu (Oonincx et al. 2015), i faktorech vnitřních jako je vývojové stádium či pohlaví jedince (Kulma et al. 2019).

Existuje řada odlišných možností, jak jedlý hmyz upravit, ale konzumuje se i hmyz celý včetně jeho střevní mikroflóry, která může ovlivnit mikrobiologickou kvalitu potravin. Správné podmínky technologického zpracování a také následného skladování mohou výrazně snížit potenciální mikrobilogické riziko (Klunder et al. 2012). Mezi rody, které zahrnují patogenní nebo potenciálně patogenní kmeny a byly detekovány v mikroflóře jedlého hmyzu patří: *Cronobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Vibrio*, *Escherichia*, *Serratia*, *Proteus*, *Yersinia*, *Campylobacter*, *Salmonella* a *Listeria* (Garofalo et al. 2019).

Ministerstvo zemědělství zpracovalo v roce 2018 příručku pro chovatele a zpracovatele jedlého hmyzu. V příručce jsou doporučená mikrobiologická kritéria, které vycházejí z již dříve platných evropských právních předpisů. *Salmonella spp*. Nesmí být přítomna v 25 g vzorku, mezofilní aerobní bakterie nesmí přesáhnout hodnotu 10^5 v 1 g vzorku, *Enterobacteriaceae* 10^2 v 1 g vzorku, *Staphylococcus aureus* nesmí být zjištěn v 1 g. V hmyzích výrobcích mohou být přítomny i další patogenní i nepatogenní mikroorganismy, proto by měl výrobce spektrum sledovaných mikroorganismů přizpůsobit dle předpokládaných rizik (např. původ hmyzu, způsob skladování) (Ministerstvo zemědělství ČR 2018).

U cvrčka domácího (*Acheta domestica*) byly identifikovány bakterie rodu *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Yersinia*, *Bacteriocedes*, a *Fusobacterium* (Marshall et al. 2016). V další studii, kde byly analyzovány vzorky cvrčků (sušené, v prášku), kobylek (sušené) a larvy potemníka moučného (sušené), byly přítomné bakterie čeledi *Enterobacteriaceae* a druhu *Clostridium perfringens*, zatímco testy na *Salmonella* a Listeria *monocytogenes* byly negativní (Garofalo et al. 2017). Na základě mikrobiologické analýzy smažené saranče stěhovavé (*Locusta migratoria*) bylo dokázáno, že nalezené počty mikroorganismů byly výrazně nižší oproti sušenému. Ve vzorcích byly však nadále *Enterobacteriaceae* (1,0 log KTJ.g^{-1}), *Staphylococcus* (2,5 log KTJ/g) a *Bacillus* (3,0 log KTJ.g^{-1}). Avšak na *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* a *Staphylococcus aeureus* byly negativní, což naznačuje pozitivní vliv technologického zpracování na vzorky hmyzu (Grabowski a Klein 2017).

MATERIÁL A METODIKA

Příprava vzorků

Pro experiment byl vybrán druh *Tenebrio molitor*, který byl krmen směsí určenou pro výkrm brojlerů. Vodu pak červi získávali z přídavku mrkve. Kontrola a případné doplňování zdrojů potravy i vody probíhalo po celou dobu pokusu jednou denně. Aby byly červi zbaveni obsahu trávícího traktu, bylo jim 24 hodin před sklizní odebráno krmivo. Pro následující analýzu byly červy usmrceny dvěma způsoby a jedna polovina spařením a druhá polovina zmražením při -80 °C. Následně byli červi kulinárně zpracovány. V tabulce 1 jsou uvedena použitá kulinární zpracování.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Tabulka 1 – Přehled použitých kulinárních zpracování

mikrovlnný ohřev	pražení	sušení	vaření
5 minut, 600 W	4 minuty	75 °C, 6 hodin	30 minut
mikrovlnná trouba - Samsung	pánev	sušárna – Memmert	hrnec

Mikrobiologické rozbory:

Tabulka 2 – metodologie rozborů základních kvalitativních parametrů, které mohou být využity v analýze jedlého hmyzu

Parametr	Jednotky	Naměřená hodnota	Metoda	Princip metody
Bacillus cereus	KTJ/g	M = 10^3	ČSN EN ISO 7932	Kultivačně
Enterobacteriaceae	KTJ/g	M = 10^2	ČSN ISO 21528-2	Kultivačně
E. coli	KTJ/g	<10	ČSN ISO 16649-2	Kultivačně
koaguláza pozitivní stafylokoky	KTJ/g	<10	ČSN EN ISO 6888-1	Kultivačně
Staphylococcus aureus	/1 g	nezjištěno	ČSN EN ISO 6888-1	Kultivačně
Kvasinky a plísně	KTJ/g		ČSN ISO 21527	Kultivačně
Mezofilní aerobní b.	KTJ/g	M = 10^5	ČSN EN ISO 4833-1	Kultivačně
Listeria monocytogenes	/25 g	nezjištěno	ČSN EN ISO 11290-1	Kultivačně
Salmonella	/25 g	nezjištěno	ČSN EN ISO 6579-1	Kultivačně

M = maximální přípustná (hraniční) hodnota; výsledek se pokládá za nevyhovující, pokud je rovný hodnotě M
KTJ = kolonie tvořící jednotky

Vzorky byly důkladně homogenizovány a poté byl 1 g vzorku asepticky převeden do 9 ml ředícího média (9 g NaCl, 1 g peptonu (Oxoid), 1000 ml dH_2O). Následně byly vzorky sériově naředěny do hodnoty 10^{-6}. Všechny skupiny mikroorganismů byly stanoveny klasickou kultivační metodou podle platných norem a standardních postupů:

Celkové počty aerobních mikroorganismů (CPM): Standard plate count agar (trypron 5 g/l, kvasničný extrakt 2,5 g/l, glukóza 1 g/l, agar 9 g/l; Oxoid) dle ČSN EN ISO 4833-1. Jeden mililitr z příslušného ředění byl převeden do Petriho misky a zalit agarem. Aerobní kultivace při 30 °C po dobu 72 hodin.

Bacillus cereus: *Bacillus cereus* agar base (Himedia) obohacený o polymyxin B (2 vialky/l, Himedia) a žloutkovou emulzi (50 ml/l, Himedia) dle ČSN EN ISO 7932. Jeden mililitr z prvního ředění byl přenesen na povrch třech předem připravených agarových ploten. Pro vyšší ředění bylo pipetováno 0,1 ml a rozetřeno sterilní mikrobiologickou hokejkou. Kultivace aerobně při teplotě 30 °C po dobu 24 hodin. Konfirmace byla provedena pomocí testu k průkazu hemolýzy na agaru s ovčí krví a MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie.

***E. coli*:** Tryptone Bile X-Glucuronide (TBX) médium (Oxoid) dle ČSN ISO 16649-2. Jeden mililitr z prvního ředění byl nanesen na tři předem připravené agarové plotny a rozetřen sterilní mikrobiologickou hokejkou. Aerobní kultivace při 37 °C po dobu 24 hodin. *E. coli* hodnoceny jako počet modrých kolonií, případně bílých kolonií s modrým středem.

***Salmonella*:** Průkaz bakterií rodu *Salmonella* byl uskutečněn dle ČSN EN ISO 6579-1. Dvacet pět gramů homogenizovaného vzorku bylo převedeno do peptonové vody a inkubováno 18 h při 37 °C. Následně bylo 0,1 ml přeneseno do semiselektivního Rappaport-Vassiliadis (Oxoid) bujónu a kultivováno při 37 °C po dobu 48 h. Suspenze byla následně natřena na selektivní *Salmonella Shigella* (SS) agar (Oxoid) a kultivována dalších 24 h při 37 °C. *Salmonella* sp.

tvoří na SS agaru světlé kolonie s černým středem. Takové kolonie byly použité pro konfirmační test. Příslušnost k rodu *Salmonella* byla ověřena latexovým aglutinačním testem (*Salmonella* Test Kit, Oxoid).

VÝSLEDKY

Tabulka 3 – Celkové počty bakterií: vyjádřeno v log KTJ.g^{-1} ±SD

	bez kulinární úpravy	mikrovlnný ohřev	pražené	sušené	vařené
zmražené	7,23 ±0,83	3,95 ±0,51	3,78 ±0,99	4,51 ±0,92	5,01 ±0,41
spařené	5,85 ±1,02	3,87 ±0,63	3,73 ±0,71	3,98 ±0,41	4,00 ±0,76

Grabowsky & Klein (2017a) a Nyenje et al. (2012), ve svých studiích uvádí, že jedlý hmyz bez technologické či kulinární úpravy vykazuje obecně vysoké mikrobiální počty, stojí však za zmínku, že jedlý hmyz se před konzumací obvykle zpracovává, což by mohlo snížit mikrobiální zátěž. Tyto poznatky se shodují i s výsledky v naší studii. Chen et al. (2009) konstatuje, že nejběžnější způsoby používané pro kulinární zpracování jedlého hmyzu jsou vaření v páře, pražení, uzení, smažení, dušení a dušení, které se často používají ke zlepšení chutnosti hmyzu. Kromě toho lze jedlý hmyz zpracovat na prášky či moučky. Tyto úkony jsou spojeny s tepelným zpracováním případně s odstraněním vody, což má na obsah mikroorganismů dominantní vliv.

V současné době neexistují žádná specifická mikrobiologická kritéria pro hmyz využitý jako potravina. Podle Nejvyšší rady pro zdraví (SHC) a Federální agentury pro bezpečnost potravinového řetězce (FASFC) jsou kritéria hygieny zpracování mletého masa popsané v nařízení EU (ES) č. 1441/2007 a lze je použít i pro jedlý hmyz (SHC a FASFC, 2014). Platná dolní hranice m pro počet aerobních bakterií v mletém mase je 5×10^5 KTJ.g^{-1} a horní hranice M je 5×10^6 KTJ/g. Ačkoli jsme nezkoumali pět různých vzorků na šarži, jak je předepsáno v kritériu, čísla získaná v naší studii tuto hodnotu daleko převyšovala. Ovšem stejně tak se tomu stalo i u Stoops el al. (2016), Grabowsky, Klein (2017b), Vandeweyer et al. (2017), Wynants et al. (2017), Macini et al. (2019) a Cacchiarelli et al. (2022). To naznačuje, že před konzumací jedlého hmyzu je nezbytný krok zpracování. Jak můžeme vidět v naší studii, technologické zpracování jedlého hmyzu dostává hodnoty ke stanoveným mezím a v případě zařazení spaření (10 vteřin) s následnou technologický zpracováním zajišťuje již dostatečný pokles a splnění kritérií.

Taktéž v FASGS můžeme nalézt hodnoty pro následujíc patogeny: *Salnonella* (absence v 10 resp. 25 g), *L. monocytogenes* (<2,0 lg KTJ,g^{-1}), *Bacillus cereus* (<5,0 lg KTJ,g^{-1}), *Clostridium perfringens* (<5,0 lg KTJ,g^{-1}), *S. aureus* (<5,0 lg KTJ,g^{-1}) (FACFS, 2014).

Dle Klunder et al. (2012) je krok zahřívání dostatečný pro inaktivaci bakterií *Enterobacteriace*, avšak zbývajícím potenciálním rizikem u jedlého hmyzu je přítomnost sporotvorných bakterií, které jsou s největší pravděpodobností zavlečeny kontaktem s krmivem a nelze je zcela odstranit varem. V souvislosti s potravinami představují sporotvorné *Bacillus cereus* často riziko vzniku alimentárních onemocnění. Cvrččí mouka dle Grabowski & Klein (2017) obsahovala ≤6 log KTJ,g^{-1}mikroorganismů rodu *Bacillus* v neošetřené moučce jak *Tenebrio molitor*. Dle Messina et al. (2019) je zatížení skupinou *Bacillus* u *Tenebrio molitor* minimální, ovšem například u *Acheta domestica* tvoří až 25 % relativního zastoupení mikrobioty. Jelikož popularita jedlého hmyzu v posledních letech roste a rod *Bacillus* je

v hmyzích moučkách detekován je tedy riziko výskytu i *Bacillus cereus* jako původce alimentárních onemocnění (Grabowski, Klein 2017a, Osimani et al. 2018). Ačkoliv Wynants et al. (2017) uvádí, že *Bacillus cereus* nebyl u moučných červů detekován, tak výsledky jejich výzkumu naznačují možnou přítomnost sporotvorných potravinových patogenů. V našem experimentu byl *Bacillus cereus* detekován, ovšem pouze ve vzorku, který byl zabit mrazen a neměl žádné další technologické opracování.

Lze tedy souhlasit s tvrzením Grabowski, Klein (2017) že potraviny živočišného původu se obecně konzumují po zahřátí nebo jiném technologickém procesu, který inhibuje růst bakterií, a pro případy, kdy je povolena konzumace v syrovém stavu je nutno nastavit přísná hygienická kritéria. V našem výzkumu se potvrdila nutnost jedlý hmyz tepelně upravit zvláště kvůli vysoké detekované přítomnosti celkových počtů aerobních bakterií. Avšak už předřazení blanšírování vzorků výrazně pomáhá snížit mikrobiální zátěž, což se shoduje i s tvrzením v literatuře (Vandeweyer et al. 2017, Wynants et al. 2017, Macini et al. 2019, Cacchiarelli et al. 2022).

ZÁVĚR

Celkově lze konstatovat, že pokud je hmyz usmrcen spařením, poskytuje dostatečnou mikrobiologickou kvalitu bez ohledu na další zpracování. V případě zabití mrazem je nutné další technologické či kulinární zpracování.

LITERATURA

Cacchiarelli C., Fratini F., Puccini M., Vitolo S., Paci G., Mancini S. 2022. Effects of different blanching treatments on colour and microbiological profile of *Tenebrio molitor* and *Zophobas morio* larvae. LWT 157.

ČSN EN ISO 4833-1. 2014. Mikrobiologie potravinového řetězce – Horizontální metoda pro stanovení počtu mikroorganismů – Část 1: Technika přelivem a počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C.

ČSN EN ISO 6579-1. 2017. Mikrobiologie potravinového řetězce – Horizontální metoda průkazu, stanovení počtu a sérotypizace bakterií rodu *Salmonella* – Část 1: Průkaz bakterií rodu *Salmonella*

ČSN EN ISO 7932. 2005. Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda stanovení počtu presumptivního *Bacillus cereus* – Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C.

ČSN ISO 16649-2. 2003. Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda stanovení počtu beta-glukuronidázopozitivních *Escherichia coli* – Část 2: Technika počítání kolonií vykultivovaných při 44 °C s použitím 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glukuronidu.

Chen X., Feng Y., Chen Z. 2009. Common edible insects and their utilization in China. Entomological Research 39:299-303.

de Castro R. J. S, Ohara A, dos Santos Aguilar J. G, Fontenele Domingues MA. 2018. Nutritional, functional and biological properties of insect proteins: Processes for obtaining, consumption and future challenges. *Trends in Food Science & Technology* 76: 82-89.

Garofalo C., Osimani A, Milanović V., Taccari M., Cardinali F., Aquilanti L., Riolo P., Ruschioni S, Isidoro N, Clementi F. 2017. The microbiota of marketed processed edible insects as revealed by high-throughput sequencing. *Food Microbiology* 62:15–22.

Garofalo, C., Milanović, V., Cardinali, F., Aquilanti, L., Clementi, F., Osimani, A. 2019. Current knowledge on the microbiota of edible insects intended for human consumption: A state-of-the-art review. *Food Research International* 125.

Grabowski N. T., Klein G. 2017a. Microbiology of processed edible insect products – Results of a preliminary survey. *International Journal of Food Microbiology* 243:103-107.

Grabowski N.T., Klein G. 2017b. Microbiological analysis of raw edible insects. Journal of Insects as Food and Feed 3:7-14.

Klunder, H., Wolkers-Rooijackers, J., Korpela, J., Nout, M. 2012. Microbiological aspects of processing and storage of edible insects. *Food Control*, 26(2): 628-631.

Kulma M., Kouřimská L., Plachý V., Božik M., Adámková A., Vrabec V. 2019. Effect of sex on the nutritional value of house cricket, *Acheta domestica* L. *Food Chemistry* 272: 267-272.

Mancini S., Moruzzo R., Riccioli F., Paci G. 2019. European consumers' readiness to adopt insects as food. A review. *Food Research International* 122: 661–678.
Marshall D. L., Dickson J. S., Nguyen N. H. 2016. Chapter 8 - Ensuring Food Safety in Insect Based Foods: Mitigating Microbiological and Other Foodborne Hazards 223–253.
Messina, Gaglio, Morghese, Tolone, Arena, Moschetti, Santulli, Francesca, Settanni. 2019. Microbiological Profile and Bioactive Properties of Insect Powders Used in Food and Feed Formulations. Foods 8.
Ministerstvo zemědělství ČR. 2018. Zásady správné zemědělské a výrobní praxe produkce hmyzu určeného pro lidskou spotřebu. Available from http://eagri.cz/public/web/file/576458/Zasady_produkce_hmyzu_4__2_.pdf.
Mishyna M., Chen J., Benjamin O. 2020. Sensory attributes of edible insects and insect-based foods – Future outlooks for enhancing consumer appeal. *Trends in Food Science & Technology* 95:141-148.
Oonincx D. G. A. B., van Broekhoven S., van Huis A., van Loon J. J. A., Papadopoulos N. T. 2015. Feed Conversion, Survival and Development, and Composition of Four Insect Species on Diets Composed of Food By-Products. *PLOS ONE* 10.
Osimani A., Milanović V., Cardinali F., Garofalo C., Clementi F., Pasquini M., Riolo P., Ruschioni S., Isidoro N., Loreto N., Franciosi E., Tuohy K., Petruzzelli A., Foglini M., Gabucci C., Tonucci F., Aquilanti L. 2018. The bacterial biota of laboratory-reared edible mealworms (*Tenebrio molitor* L.): From feed to frass. International Journal of Food Microbiology 272:49-60.
Shelomi M. 2016. The meat of affliction: Insects and the future of food as seen in Expo 2015. Trends in Food Science & Technology 56: 175-179.
SHC, FASFC Voedselveiligheid Van Insecten Bestemd Voor Humane Consumptie (Dossier SciCom 2014/04-HGR 9160) (2014) http://www.afsca.be/wetenschappelijkcomite/adviezen/_documents/ADVIES14-2014_NL_DOSSIER2014-04_002.pdf
Turck D. et al. 2021. Safety of dried yellow mealworm (*Tenebrio molitor* larva) as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. *EFSA Journal* 19.
Vandeweyer D., Lenaerts S., Callens A., Van Campenhout L. 2017. Effect of blanching followed by refrigerated storage or industrial microwave drying on the microbial load of yellow mealworm larvae (*Tenebrio molitor*). *Food Control* 71:311-314.
Van Broekhoven S., Oonincx D. G. A. B., van Huis A., van Loon J. J. A. 2015. Growth performance and feed conversion efficiency of three edible mealworm species (Coleoptera: *Tenebrionidae*) on diets composed of organic by-products. *Journal of Insect Physiology* 73: 1–10.
Van Huis A., Van Itterbeeck J., Klunder H., Mertens E., Halloran A., Vantomme P. 2013. Edible insects: Future prospects for food and feed security. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.
Wynants E., Crauwels S., Lievens B., Luca S., Claes J., Borremans A., Bruyninckx L., Van Campenhout L. 2017. Effect of post-harvest starvation and rinsing on the microbial numbers and the bacterial community composition of mealworm larvae (*Tenebrio molitor*). *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 42:8-15.

Poděkování: Tato práce vznikla za podpory Evropského fondu pro regionální rozvoj – projekt „Centrum pro výzkum syntézy a transformace nutričních látek v potravním řetězci v interakci s potenciálně škodlivými látkami antropogenního původu: komplexní hodnocení rizik kontaminace půdy pro kvalitu zemědělské produkce produktů" (č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000845), Ministerstvo zemědělství, projekt č. 15/001/16220/563/000008 – NUTRISK centre. Dále také za podpory Grantové agentury České republiky GAČR projekt No. 21-47159L, Quality, safety and authenticity of insect protein-based food and feed products (INPROFF) a díky Národní agentuře pro zemědělský výzkum (NAZV) projekt - QK23020101 Komplexní laboratorní strategie pro identifikaci druhů hmyzu určeného k lidské spotřebě a produkci zpracované živočišné bílkoviny, autentizace potravin na jeho bázi z programu: QK – Program aplikovaného výzkumu Ministerstva zemědělství na období 2017-2025.

Kontaktní adresa: Ing. Petra Škvorová, Katedra mikrobiologie výživy a dietetiky, Fakulta agrobiologie potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 165 00 Praha-Suchdol. Email: skvorova@af.czu.cz

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

AKTUÁLNE TRENDY VO VYUŽITÍ CHITOSANOVÝCH JEDLÝCH NÁTEROV/FILMOV NA KONZERVÁCIU POTRAVÍN
CURRENT TRENDS IN THE USE OF CHITOSAN EDIBLE COATINGS/FILMS FOR FOOD PRESERVATION

Tomáš Vlčko, Jozef Golian, Martina Fikselová, Jozef Čapla

Abstract: Application of edible coatings/films is an innovative technique to prolong shelf life of food. Edible coatings/films are made from biopolymers, which ensure their biodegradability, biocompatibility, non-toxicity, edibility and at the same time create a protective barrier. Due to their biocompatibility, individual biopolymers are suitable carriers of bioactive substances, which are incorporated into their structure and provide a function other than just packaging, namely antimicrobial, antioxidant and proliferative with regard to the selected bioactive component. Chitosan as a natural polysaccharide is one of these biopolymers suitable for the preparation of edible coatings/films. Its physicochemical properties and especially for its antimicrobial activity, chitosan is an effective way of extending the shelf life of food in accordance to green policies.
Keywords: chitosan, edible coatings/films, food preservation

ÚVOD

Súčasný nárast požiadaviek spotrebiteľov na bezpečné, kvalitné potraviny s čo najdlhšou dobou trvanlivosti a zároveň s čo najmenším zásahom v podobe chemických konzervačných látok má za následok výrazný posun v oblasti inovatívnych obalových a konzervačných technológii (Hu, Gänzle, 2019; Chawla et al., 2021). Inovačnou technológiou skúmanou v súčasnosti v súvislosti s balením a konzervovaním potravín je aplikácia jedlých filmov/náterov vytváraných z bio-polymérov, ktorými sú sacharidy, proteíny a lipidy. Daná technológia posúva konzerváciu a balenie potravín na ďalšiu úroveň. Dochádza k búraniu hraníc medzi obalom, konzerváciou a potravinou, nakoľko sa jedná o spojenie procesu balenia, konzervácie a potraviny do filmu/náteru, ktorý je jedlý, biologicky odbúrateľný, zabraňuje stratám farby, vlhkosti, oxidačným procesom, nepríjemným zápachom a celkovo predlžuje trvanlivosť potraviny a dodáva jej funkčnosť (Umaraw et al., 2020).

CHARAKTERISTIKA JEDLÝCH NÁTEROV/FILMOV

Častokrát dochádza ku zamieňaniu medzi pojmami jedlý film a jedlý náter. Jedlý film definujeme ako samostatný obalový materiál, ktorý presahuje hrúbku 0,3 mm. Naopak jedlý náter predstavuje tenkú vrstvu s hrúbkou menšou ako 0,3 mm, ktorá sa tvorí priamo na povrchu potraviny po jeho aplikácii. Existuje viacero spôsobov aplikácie náterov a filmov na potraviny, jedná sa o ponorenie potraviny do roztoku náteru, natieranie/sprejovanie náteru na potravinu alebo samostatným vytvorením filmu, do ktorého sa následne potravina obalí (Abdollazadeh et al., 2021). Jedlé nátery/filmy sú vytvárané z prírodných polymérov, ktoré sú získavané z rastlinných a živočíšnych zdrojov, ako aj z produktov mikroorganizmov. Spravidla sa jedná o proteíny, sacharidy a lipidy. Zo skupiny rastlinných proteínov sa jedná prevažne o sójové proteíny, slnečnicové proteíny, kukuričný zeín, pšeničný lepok, zo skupiny živočíšnych proteínov sa jedná najmä o želatínu, keratín a širokú škálu mliečnych proteínov, ako napríklad srvátka alebo kazeín. Z pomedzi sacharidov evidujeme prevažne deriváty celulózy, pektíny, algináty, chitosan, karagénany či škrob. Z dôvodu, že predmetné bio-polyméry sú hydrokoloidné, do matrice náterov/filmov sa začleňujú takisto viaceré typy olejov a tukov, ako vosky, triglyceridy, acetylované monoglyceridy, voľné mastné kyseliny a rastlinné oleje (Umaraw et al., 2020; Song et al., 2021). Základom prípravy náteru/filmu je po výbere

jednotlivých zložiek zmiešanie s rozpúšťadlom až do úplného rozpustenia. Následne sa do zmesi pridá zmäkčovadlo v podobe glycerolu, monoglyceridov, glukózy, polyetylénglykolu alebo iných. Hodnota pH roztoku sa upraví a zmes sa zahrieva až do vytvorenia homogénneho roztoku. Nasleduje ochladenie a samotné obalové techniky v podobe nástreku alebo ponorenia potraviny, či zabalenie do samostatného filmu, ktorý sa získa sušením. Pri voľbe nástreku a ponorenia potraviny sa nechá roztok z potraviny odkvapkať a následne sa potravina za kontrolovaných podmienok suší (Suhag et al., 2020; Tkaczewska, 2020; Song et al., 2021). Jednotlivé výsledné fyzikálne vlastnosti náteru/filmu sú určené viacerými faktormi, medzi ktoré patria pôvod zdroja, štruktúrna organizácia polymérneho reťazca, zvolená technológia spracovania, podmienky sušenia a stupeň zosieťovania a kryštalinity (Galus et al., 2020).

Okrem výhod v podobe ľahkej biologickej degradácie, netoxicity, konzumovateľnosti, schopnosti vytvorenia ochrannej bariéry sú jedlé nátery/filmy charakteristické aj vynikajúcou schopnosťou pôsobiť ako nosiče bioaktívnych látok, ktoré sa začleňujú do ich matrice. Jedná sa o široké spektrum polyfenolov enzýmov, hydrolyzátov proteínov, bioaktívnych peptidov, esenciálnych olejov, probiotík a iných, ktoré zabezpečujú aktívnosť jedlých náterov/filmov (Salgado et al., 2015; Barbosa et al., 2022).

JEDLÉ NÁTERY AKO SÚČASŤ AKTÍVNYCH BALENÍ PRE POTRAVINY

Aktívne balenie môžeme definovať ako systém, v ktorom potravina, obalový materiál a prostredie balenia vzájomne interagujú, čoho výsledkom je predĺženie trvanlivosti potraviny. Súčasťou aktívneho balenia je aktívna zložka, ktorá zabezpečuje baleniu iné ako typické obalové vlastnosti (Almasi et al., 2020). Legislatívny základ týkajúci sa balení na potraviny nachádzame v Nariadení Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 1935/2004 z 27 októbra 2004 o materiáloch a predmetoch určených na styk s potravinami a o zrušení smerníc 80/590/EHS a 89/109/EHS. Predmetné Nariadenie v článku 2, bod (2), písmeno a) definuje aktívne materiály a predmety prichádzajúce do styku s potravinami nasledovne: pojem „aktívne materiály a predmety v styku s potravinami“ (ďalej len „aktívne materiály a predmety“) znamená materiály a predmety, ktoré majú predĺžiť životnosť alebo zachovať, či vylepšiť stav balených potravín. Sú zámerne navrhnuté tak, aby obsahovali zložky, ktoré budú uvoľňovať alebo absorbovať látky do alebo z balených potravín alebo prostredia obklopujúceho potraviny“. V nariadení, konkrétne v preambule, bod (5) sa ďalej uvádza: „Aktívne materiály a predmety v styku s potravinami sú vyrobené tak, aby zámerne obsahovali „aktívne“ zložky, ktoré sa majú uvoľňovať do potravín alebo ktoré majú naopak absorbovať látky uvoľňujúce sa z potravín. Mali by byť odlíšené od materiálov a predmetov, ktoré sa tradične používajú na to, aby uvoľňovali svoje prirodzené zložky do konkrétnych typov potravín v priebehu ich výroby, napríklad drevené sudy“. Nariadenie Komisie (ES) č. 450/2009 z 29. mája 2009 o aktívnych a inteligentných materiáloch a predmetoch určených na styk s potravinami uvádza osobitné požiadavky na aktívne obalové materiály. Jedny z najčastejších aktívnych obalov predstavujú antimikrobiálne aktívne obaly, ktoré možno vytvoriť štyrmi najbežnejšími spôsobmi. Jedná sa o umiestnenie vrecka/vankúšika obsahujúceho antimikrobiálne látky do vnútra obalu; zabudovanie antimikrobiálnych látok do obalovej fólie; pokrytie obalu matricou pôsobiacou ako nosič antimikrobiálnych látok; použitie polymérov s antimikrobiálnymi vlastnosťami (Fang et al., 2017). Do štruktúry jedlých náterov/filmov je možné z dôvodu ich bio-kompatibility zapracovať bioaktívne látky (Alves et al., 2018; Tumbarski et al., 2019; Chen, et al., 2020; Paidari et al., 2021; Kulawik et al., 2022) čím získavame takzvaný „aktívny jedlý obal“. Aktívne jedlé obaly Barbosa et al. (2021) charakterizuje ako obaly na potraviny vyrobené z požívateľných bioproduktov, ktorými sú najmä biopolyméry v kombinácii s aktívnymi zlúčeninami (látky zabraňujúce hnednutiu potravín, farbivá, arómy, živiny, antimikrobiálne látky, antioxidačné látky, zlúčeniny na predĺženie trvanlivosti a pod.), ktoré musia byť uznané ako bezpečné a vhodné na ľudskú konzumáciu. Do tejto charakteristiky podľa širokého

množstva vedeckých a odborných publikácii spadajú jedlé nátery/filmy, avšak zastávame názor, že zaradenie jedlých náterov/filmov podľa súčasnej legislatívnej úpravy nie je úplne jednoznačné. V Preambule, bod (9) Nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 1935/2004 z 27. októbra 2004 o materiáloch a predmetoch určených na styk s potravinami a o zrušení smerníc 80/590/EHS a 89/109/EHS sa uvádza nasledovné: „Na obalové alebo povlakové materiály, ktoré tvoria súčasť potravín a ktoré môžu byť potenciálne konzumované spolu s potravinou, by sa toto nariadenie nemalo vzťahovať. Nariadenie by sa však malo vzťahovať na obalové alebo povlakové materiály, ktoré pokrývajú kôru syrov, spracované mäsové výrobky alebo ovocie, ale ktoré netvoria súčasť potraviny a nie sú určené na konzumáciu s takouto potravinou“. Dané Nariadenie podľa Článku 1, odsek 2 sa vzťahuje svojim účelom a predmetom úpravy aj na aktívne a inteligentné materiály a predmety v styku s potravinami. No zároveň predmetné Nariadenie sa podľa článku 1, odsek 3, písmeno b) nevzťahuje na „obalové alebo povlakové materiály, napríklad materiály pokrývajúce kôru syra, spracované mäsové výrobky alebo ovocie, ktoré tvoria súčasť potraviny a ktoré môžu byť spolu s touto potravinou konzumované“. Osobitné požiadavky na uvádzanie aktívnych a inteligentných materiálov a predmetov, ktoré majú prísť do styku s potravinami upravuje Nariadenie Komisie (ES) č. 450/2009 z 29. mája 2009 o aktívnych a inteligentných materiáloch a predmetoch, ktoré majú prísť do styku s potravinami. Predmetné Nariadenie stanovuje požiadavky na aktívne a inteligentné obaly, ktorými podľa nášho názoru jedlé nátery/filmy vyznačujúce sa preukázateľnými antimikrobiálnymi, antioxidačnými alebo inými vlastnosťami sú. Jedlé nátery/filmy plnia obalovú funkciu, ako aj inú ako bežnú obalovú funkciu z dôvodu obsahu aktívnej zložky (Chawla et al., 2021; Paidari et al., 2021). Nariadenie (ES) č. 450/2009 definuje v článku 3, písmeno a) aktívne materiály a premety ako: „materiály a predmety, ktoré majú predĺžiť životnosť alebo zachovať či vylepšiť stav balených potravín. Sú zámerne navrhnuté tak, aby obsahovali zložky, ktoré by uvoľňovali alebo absorbovali látky do alebo z balených potravín alebo prostredia obklopujúceho potraviny“. Podľa nášho názoru, daná definícia zodpovedá celkovému princípu a účelu použitia jedlých náterov/filmov obohatených o bioaktívne zložky. Nakoľko v konečnom dôsledku sa v prípade jedlých náterov a filmov jedná sa o súčasť a zložku finálneho potravinového výrobku, na túto zložku sa vzťahujú všeobecné legislatívne požiadavky týkajúce sa potravín na základe nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 178/2002 a ďalších všeobecne záväzných nariadení EÚ nadväzujúcich na toto nariadenie, ako aj právnych predpisov týkajúcich sa prídavných látok do potravín (Nariadenie Európskeho parlamentu A Rady (ES) č. 1333/2008 zo 16. decembra 2008 o prídavných látkach v potravinách) ako aj právnych predpisov týkajúcich sa nových potravín, ak takýto výrobok ešte nebol uvedený na trh (Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2015/2283 z 25. novembra 2015 o nových potravinách, ktorým sa mení nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 1169/2011, ktorým sa zrušuje nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 258/97 a nariadenie Komisie (ES) č. 1852/2001). V prípade, že neexistujú osobitné opatrenia EÚ, členské štáty EÚ môžu zachovať alebo prijať svoje vlastné vnútroštátne predpisy týkajúce sa predmetných materiálov v súlade s článkom 6 Nariadenia (ES) č. 1935/2004. Predmet definovania a posudzovania jedlých povlakov/fólií v súlade s legislatívnym rámcom EÚ je pomerne zložitý, ako sme už v práci uviedli vyššie, jedná sa skutočne o inovatívnu techniku, pri ktorej sa potravina, konzervačná technika a obal spájajú do jedného celku.

CHITOSAN AKO ZLOŽKA JEDLÝCH NÁTEROV/FILMOV

Chitosan je lineárny polysacharid, ktorý má druhé najväčšie zastúpenie v prírode po celulóze. Pozostáva z β-(1-4)-viazaného glukozamínu a N-acetyl-D glukozamínu a jeho príprava sa zabezpečuje deacetyláciou chitínu, ktorý je prítomný v exoskelete kôrovcov, hmyzu a v bunkových stenách väčšiny húb a niektorých rias (Hu, Gänzle, 2019). Práve prítomnosť

chitínu u kôrovcov a rias dáva priestor na využívanie produktov odpadového hospodárstva rybolovu na jeho získavanie (Santos et al., 2020). Molekulová hmotnosť chitosanu sa pohybuje medzi 10 až 1 000 kDa v závislosti od zdroja, ako aj v prípade stupňa deacetylácie. Stupeň deacetylácie a molekulová hmotnosť ovplyvňujú fyzikálno-chemické vlastnosti. Chitosan je viskózny polysacharid tvoriaci štruktúrovanejšie gély pri zvýšenej molekulovej hmotnosti, okrem toho sa považuje za pseudoplastický materiál (Díaz-montes, Castro-muñoz, 2021). V tuhej fáze je chitosan semikryštalický, nerozpustný vo vode ale rozpustný v zriedených organických kyselinách (Paidari et al., 2021). V súvislosti s prípravou jedlých filmov/náterov je chitosan jedným z najviac preskúmaných biopolymérov (Díaz-montes, Castro-muñoz, 2021), nakoľko okrem požadovaných vlastností biopolymérov na prípravu jedlých náterov/filmov ako sú tvorba filmu, viskozita, biokompatibilita, biodegrabilita, netoxickosť, chitosan disponuje aj antimikriobiálnym účinkom voči širokému spektru baktérii, mikroskopických húb a vírusov (Grande-Tovar et al., 2018; Romanazzi, Moumni, 2022; V et al., 2022). Teda už samotná prítomnosť chitosanu v konkrétnom jedlom nátere/filme zabezpečuje jeho aktívnosť. Tento antimikrobiálny účinok sa uvádza v spojitosti s elektrostatickými silami medzi protonizovanými aminoskupinami chitosanu a záporne nabitými zvyškami na povrchu buniek (Paidari et al., 2021). Vo všeobecnosti jedlé nátery/filmy na báze polysacharidov sa vyznačujú dobrými bariérnymi vlastnosťami pre oxid uhličitý a kyslík, avšak nemajú požadované vlastnosti v prípade prieniku vodnej pary a taktiež kvôli krehkej štruktúre je potrebné do matrice náterov/filmov zakomponovať zmäkčovadlá napríklad vo forme glycerolu (Song et al., 2021). Dané nedostatky sa týkajú aj náterov/filmov na báze chitosanu, na základe čoho sa uplatňujú prístupy s cieľom zlepšenia fyzikálnych vlastností napríklad vo forme prídavku prísad s hydrofóbnymi vlastnosťami v podobe lipidov a iných (Grande-Tovar et al., 2018). Taktiež hydrofóbne a hydrofilné vlastnosti chitosanu sa dajú ovplyvniť stupňom deacetylácie, v prípade ak je stupeň deacetylácie vyšší, molekula si zachováva hydrofóbne vlastnosti chytínu a jeho poklesom sa zvyšujú naopak hydrofilné vlastnosti (Kumar et al., 2019; Díaz-montes, Castro-muñoz, 2021). Evidujeme široké spektrum výskumných prác ohľadom jedlých náterov/filmov, kde chitosan je zastúpený samostatne ako biopolymér (Fasciglione et al., 2020; Duran, Kahve, 2020; Tokatlı, Demirdöven, 2020), v kombináciách s inými biopolymérmi, či už s inými polysacharidmi, bielkovinami alebo lipidmi (Velickova et al., 2013; Cardoso et al., 2016; Zam, 2019; Xiong et al., 2020, 2021), ako aj chitosanové nátery/filmy vyhotovené na báze nanotechnológii (Chaudhary et al., 2020; Hu et al., 2020; Kumar et al., 2019, 2020; Abdollahzadeh et al., 2023). Na zefektívnenie bioaktívneho účinku je aj napriek antimikrobiálnym účinkom chitosanu zakomponovávané široké spektrum bioaktívnych zlúčenín v podobe nanočastíc, polyfenolov, extraktov rastlín, esenciálnych olejov a iných (Ventura-Aguilar et al., 2018; Fang et al., 2018; Ortiz-Duarte et al., 2019; Liu et al., 2020; Rezaeifar et al., 2020; Saleem et al., 2021; Al-Moghazy et al., 2021).

Tabuľka 1 Príklady aplikácie jedlých náterov obsahujúcich chitosan na potraviny

Biopolymér	Bioaktívna zlúčenina	Potravina	Spozorovaný efekt	Zdroj
Chitosan, Alginát sodný, Karboxymetylcelulóza	Probiotické kmene (*Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*)	Mäkký syr	Antimikrobiálny efekt voči všetkým testovaným patogénnym MO; Zachovanie viac ako 8 log KTJ.g^{-1} probiotických kultúr počas 45 dní skladovania pri	(El-Sayed et al., 2021)

			chladiarenských teplotách	
Chitosan	Esenciálny olej škorice	Ananás	Konzervačný efekt na počas 15 dní pri teplote skladovania 5 °C; Inhibícia rastu najmä mikroskopických húb; Ochranný efekt voči stratám hmotnosti; Spomalenie texturálnych zmien; Ochrana pred farebnými zmenami	(Basaglia et al., 2021)
Chitosan	olej z čajových semien	Hruška nashi	Konzervačný efekt počas 15 dní pri teplote skladovania 25 °C a RH 85 %; Synergický antimikrobiálny efekt voči *B. cinerea* po pridaní oleja z čajových semien; Vyššie senzorické skóre v prípade kombinácie chitosanu a oleja z čajových semien v porovnaní s kontrolou a filmom bez prídavku oleja	(Tran et al., 2021)
Chitosan	-	Fermentovaná, sušená klobása „SUCUK“	Inhibícia rastu nežiadúcich MO najmä s ohľadom na mikroskopické huby; Zachovanie požadovaných fermentačných kultúr; Antioxidačný efekt; Zlepšenie senzorických vlastností počas 12 dní zrenia	(Arslan, Soyer, 2018)
Chitosan	-	Klobása Harbin „Harbin red sausage“	Konzervačný efekt pri 2 % a 3 % koncentrácii chitosanového náteru počas 12 dní skladovania pri izbovej teplote; Inhibícia poklesu pH; Stabilizácia farebných zmien; Udržiavanie textúry;	(Dong et al., 2020)

			Nižší antioxidačný účinok v porovnaní s vákuovým balením	
Chitosan	-	Hovädzie mäso	Antimikrobiálny účinok voči *S. aureus* a baktériám mliečneho kvasenia v porovnaní s vákuovým balením; Zníženie tvorby celkového prchavého zásaditého dusíka (TVB-N) počas 15 dní skladovania pri teplote 4 °C; Zníženie hodnôt TBARS pri kombinácii aplikácie náteru a vákuového balenia počas 45 dní skladovania	(Duran, Kahve, 2020)
Chitosan, pululán	Extrakt z kôry granátového jablka	Zelená paprika	Konzervačný efekt počas 18 dní pri teplote skladovania 23 °C a RH 40-45 %, ako aj pri teplote skladovania 4 °C a RH 90-95%; Vyššie senzorické skóre (čerstvosť, farba, chuť, tvrdosť) pri oboch teplotách skladovania; Ochrana obsahu fenolov a flavonoidov; Zníženie strát hmotnosti	(Kumar et al., 2021)
Chitosan	Tymiánový olej	Mango	Kompletná a účinnejšia inhibícia *C. gloesporoides* pri kombinácii 1 % chitosanu a 400 $\mu l.l^{-1}$ tymiánového oleja v porovnaní s aplikáciou len tymiánového oleja; Podpora ochranných enzýmov; Vyššie senzorické skóre; Zníženie strát hmotnosti; Lepšia kontrola mangovej antraknózy	(Shah et al., 2021)

			v porovnaní so syntetickým fungicídom	
Chitosan	Klinčekový esenciálny olej, nizín	Bravčové fašírky	Predĺženie trvanlivosti o 3 dni v prípade chitosanového náteru a kombinácii chitosan-nizín, o 6 dní v prípade kombinácie chitosan-klinčekový esenciálny olej a chitosan-klinčekový esenciálny olej-nizín pri teplote skladovania 4 °C; Antioxidačný účinok; Vyššie senzorické skóre; Čiastočná inhibícia rastu psychrotrofných baktérii, *Enterobacteriaceae* a baktérii mliečneho kvasenia	(Venkatach alam, Lekjing, 2020)
Chitosan, Furcellaran	Peptidy LL37, RW4, Lfcinβ, Cys-LL-37, PLGG, melittin, MBP-1	Bravčové mäso	Antimikrobiálny účinok voči patogénnym druhom *in vitro* v prípade všetkých peptidov; Najefektívnejší účinok v prípade peptidov RW4 a LL37 *in vitro*; Výber peptidov RW4 a LL37 pre analýzy *in vivo*; Rovnaký antimikrobiálny účinok v prípade kombinácii chitosan-furcellaran, chitosan-furcellaran-LL37, chitosan-furcellaran-RW4	(Kulawik et al., 2022)
Chitosan-NPCS	-	Krájaná paprika	Antimikrobiálny účinok voči širokému spektru MO; Potenciálna anti-biofilmová aktivita voči patogénnym druhom; Ochrana pred stratou hmotnosti a texturálnej degradácii;	(X. Hu et al., 2020)

			Konzervačný efekt počas 12 dní pri teplote skladovania 5 °C	
Chitosan-NPCS	Voľný a nano-enkapsulovaný esenciálny olej Boľševníka perzského	Pstruh dúhový	Konzervačný efekt počas 15 dní skladovania pri teplote 4 °C; Antimikrobiálny účinok voči širokému spektru MO; Vyššie senzorické skóre; Antioxidačný účinok; Lepší konzervačný účinok kombinácie Chitosan NPCS-nanoenkapsulovaný olej Boľševníka perzského	(Abdollahzadeh et al., 2023)

ZÁVER

Chitosan ako biopolymér je predmetom skúmania vo vzťahu k jeho využitiu ako zložky jedlých náterov/filmov. Chitosan pre svoje fyzikálno-chemické vlastnosti a najmä pre svoje antimikrobiálne účinky zabezpečuje vhodnosť jedlých náterov/filmov na báze chitosanu na aplikáciu na potraviny s cieľom predĺženia ich trvanlivosti. Jedlé nátery/filmy na báze chitosanu sú biodegradovateľné, netoxické, jedlé a svoju biokompatibilitu poskytujú možnosť zakomponovania širokého spektra bioaktívnych zlúčenín do ich matrice s antimikrobiálnymi, antioxidačnými, proliferatívnymi a inými účinkami podľa povahy konkrétnej bioaktívnej zlúčeniny. To zabezpečuje pridanú hodnotu a široký potenciál takýmto náterom/filmom, ktoré z ich povahy búrajú hranice medzi potravinou, konzervačnou technikou a obalom. Chitosan ako druhý najviac rozšírený polysacharid obsiahnutý v chitíne otvára možnosti na aplikácie princípov obehového hospodárstva najmä v spojitosti s rybolovom a využitím produktov odpadového hospodárstva rybolovu, ako jeho zdroja

Literatúra

Abdollahzadeh, M., Elhamirad, A. H., Shariatifar, N., Saeidiasl, M., Armin, M. 2023. Effects of nano-chitosan coatings incorporating with free/nano-encapsulated essential oil of Golpar (*Heracleum persicum* L.) on quality characteristics and safety of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Journal of Food Microbiology, 385*, 109996. https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2022.109996

Abdollahzadeh, E. et al. 2021. Composition of antimicrobial edible films and methods for assessing their antimicrobial activity: A review. In *Trends in Food Science & Technology*, vol. 110, p. 291-303. ISSN: 0924-2244. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.084

Al-Moghazy, M., El-sayed, H. S., Salama, H. H., Nada, A. A. 2021. Edible packaging coating of encapsulated thyme essential oil in liposomal chitosan emulsions to improve the shelf life of Karish cheese. *Food Bioscience, 43*. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101230

Alves, V. L. C. D., Rico, B. P. M., Cruz, R. M. S., Vicente, A. A., Khmelinskii, I., Vieira, M. C. 2018. Preparation and characterization of a chitosan film with grape seed extract-carvacrol microcapsules and its effect on the shelf-life of refrigerated Salmon (*Salmo salar*). LWT, 89, 525–534. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2017.11.013

Arslan, B., Soyer, A. 2018. Effects of chitosan as a surface fungus inhibitor on microbiological, physicochemical, oxidative and sensory characteristics of dry fermented sausages. *Meat Science, 145*, 107–113. https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2018.06.012

Barbosa, C. H., Andrade, M. A., Vilarinho, F., Fernando, A. L., Silva, A. S. 2022. *Edible Active Coating Systems for Food Purposes* (pp. 253–299). https://doi.org/10.1007/978-3-030-90299-5_10

Barbosa, C. H., Andrade, M. A., Vilarinho, F., Fernando, A. L., Silva, A. S. 2021. Active Edible Packaging. Encyclopaedia, 1(2), 360–370. https://doi.org/10.3390/encyclopedia1020030

Basaglia, R. R., Pizato, S., Santiago, N. G., Maciel de Almeida, M. M., Pinedo, R. A., Cortez-Vega, W. R. 2021. Effect of edible chitosan and cinnamon essential oil coatings on the shelf life of minimally processed pineapple (*Smooth cayenne*). In *Food Bioscience* (Vol. 41). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.fbio. 2021.100966

Cardoso, G. P., Dutra, M. P., Fontes, P. R., Ramos, A. de L. S., Gomide, L. A. de M., Ramos, E. M. 2016. Selection of a chitosan gelatin-based edible coating for colour preservation of beef in retail display. *Meat Science*, *114*, 85–94. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.12.012

Chaudhary, S., Kumar, S., Kumar, V., Sharma, R. 2020. Chitosan nanoemulsions as advanced edible coatings for fruits and vegetables: Composition, fabrication and developments in last decade. In *International Journal of Biological Macromolecules* (Vol. 152, pp. 154–170). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020. 02.276

Chawla, R., Sivakumar, S., Kaur, H. 2021. Antimicrobial edible films in food packaging: Current scenario and recent nanotechnological advancements- a review. In *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications* (Vol. 2). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.carpta.2020.100024

Chen, J. H., Ren, Y., Seow, J., Liu, T., Bang, W. S., Yuk, H. G. 2012. Intervention Technologies for Ensuring Microbiological Safety of Meat: Current and Future Trends. In Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety (Vol. 11, Issue 2, pp. 119–132). https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00177.x

Díaz-montes, E., Castro-muñoz, R. 2021. Trends in chitosan as a primary biopolymer for functional films and coatings manufacture for food and natural products. In *Polymers* (Vol. 13, Issue 5, pp. 1–28). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/polym13050767

Dong, C., Wang, B., Li, F., Zhong, Q., Xia, X., Kong, B. 2020. Effects of edible chitosan coating on Harbin red sausage storage stability at room temperature. *Meat Science*, *159*. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107919

Duran, A., Kahve, H. I. 2020. The effect of chitosan coating and vacuum packaging on the microbiological and chemical properties of beef. *Meat Science*, *162*, 107961. https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2019.107961

El-Sayed, H. S., El-Sayed, S. M., Mabrouk, A. M. M., Nawwar, G. A., Youssef, A. M. 2021. Development of Eco-friendly Probiotic Edible Coatings Based on Chitosan, Alginate and Carboxymethyl Cellulose for Improving the Shelf Life of UF Soft Cheese. *Journal of Polymers and the Environment*, *29*(6), 1941–1953. https://doi.org/10.1007/s10924-020-02003-3

Fang, Z., Lin, D., Warner, R. D., Ha, M. 2018. Effect of gallic acid/chitosan coating on fresh pork quality in modified atmosphere packaging. *Food Chemistry*, *260*, 90–96. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.005

Fang, Z., Zhao, Y., Warner, R. D., Johnson, S. K. 2017. Active and intelligent packaging in meat industry. *Trends in Food Science & Technology*, 61, 60–71. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2017.01.002

Fasciglione, G., Goñi, M. G., Yommi, A. K., Perez-Bravo, J. J., Ortueta, R., Scampini, A., Buffa, L., Andreu, A. B., Creus, C. M. 2020. Revaluation of waste from fishing industry through generation of chitosan coatings to improve quality and extend shelf-life of minimally processed lettuce. *Postharvest Biology and Technology*, *170*. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111310

Galus, S., Kibar, E. A. A., Gniewosz, M., Kraśniewska, K. 2020. Novel materials in the preparation of edible films and coatings-A review. In *Coatings* (Vol. 10, Issue 7). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/coatings10070674

Grande-Tovar, C. D., Chaves-Lopez, C., Serio, A., Rossi, C., Paparella, A. 2018. Chitosan coatings enriched with essential oils: Effects on fungi involved in fruit decay and mechanisms of action. *Trends in Food Science Technology*, *78*, 61–71. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2018.05.019

Hu, X., Saravanakumar, K., Sathiyaseelan, A., Wang, M. H. 2020. Chitosan nanoparticles as edible surface coating agent to preserve the fresh-cut bell pepper (*Capsicum annuum* L. var. grossum (L.) Sendt). *International Journal of Biological Macromolecules*, *165*, 948–957. https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.09.176

Hu, Z., Gänzle, M. G. 2019. Challenges and opportunities related to the use of chitosan as a food preservative. In *Journal of Applied Microbiology* (Vol. 126, Issue 5, pp. 1318–1331). Blackwell Publishing Ltd. https://doi.org/10.1111/jam.14131

Kulawik, P., Jamróz, E., Janik, M., Tkaczewska, J., Krzyściak, P., Skóra, M., Guzik, P., Milosavljević, V., Tadele, W. 2022. Biological activity of biopolymer edible furcellaran-chitosan coatings enhanced with bioactive peptides. *Food Control*, *137*. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108933

Kumar, N., Pratibha, Neeraj, Ojha, A., Upadhyay, A., Singh, R., Kumar, S. 2021. Effect of active chitosan-pullulan composite edible coating enrich with pomegranate peel extract on the storage quality of green bell pepper. *LWT*, *138*. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110435

Kumar, S., Mukherjee, A., Dutta, J. 2020. Chitosan based nanocomposite films and coatings: Emerging antimicrobial food packaging alternatives. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 97, pp. 196–209). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.002

Kumar, S., Ye, F., Dobretsov, S., Dutta, J. 2019. Chitosan nanocomposite coatings for food, paints, and water treatment applications. *Applied Sciences (Switzerland)*, *9*(12). https://doi.org/10.3390/app9122409

Liu, X., Zhang, C., Liu, S., Gao, J., Cui, S. W., Xia, W. 2020. Coating white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) with edible fully deacetylated chitosan incorporated with clove essential oil and kojic acid improves preservation during

cold storage. *International Journal of Biological Macromolecules*, *162*, 1276–1282. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.248
Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2015/2283 z 25. novembra 2015 o nových potravinách, ktorým sa mení nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 1169/2011, ktorým sa zrušuje nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 258/97 a nariadenie Komisie (ES) č. 1852/2001
Nariadenie Komisie (ES) č. 450/2009 z 29. mája 2009 o aktívnych a inteligentných materiáloch a predmetoch, ktoré majú prísť do styku s potravinami
Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 1935/2004 z 27. októbra 2004 o materiáloch a predmetoch určených na styk s potravinami a o zrušení smerníc 80/590/EHS a 89/109/EHS
Oduro, K. O. 2021. Edible Coating. In (Ed.), Postharvest Technology - Recent Advances, New Perspectives and Applications. Intech Open. https://doi.org/10.5772/intechopen.101283
Ortiz-Duarte, G., Pérez-Cabrera, L. E., Artés-Hernández, F., Martínez-Hernández, G. B. 2019. Ag-chitosan nanocomposites in edible coatings affect the quality of fresh-cut melon. *Postharvest Biology and Technology*, *147*, 174–184. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.09.021
Paidari, S., Zamindar, N., Tahergorabi, R., Kargar, M., Ezzati, S., shirani, N., Musavi, S. H. 2021. Edible coating and films as promising packaging: a mini review. In *Journal of Food Measurement and Characterization* (Vol. 15, Issue 5, pp. 4205–4214). Springer. https://doi.org/10.1007/s11694-021-00979-7
Rezaeifar, M., Mehdizadeh, T., Mojaddar Langroodi, A., Rezaei, F. 2020. Effect of chitosan edible coating enriched with lemon verbena extract and essential oil on the shelf life of vacuum rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Food Safety*, *40*(3). https://doi.org/10.1111/jfs.12781
Romanazzi, G., Moumni, M. 2022. Chitosan and other edible coatings to extend shelf life, manage postharvest decay, and reduce loss and waste of fresh fruits and vegetables. *Current Opinion in Biotechnology*, *78*, 102834. https://doi.org/10.1016/J.COPBIO.2022.102834
Saleem, M. S., Anjum, M. A., Naz, S., Ali, S., Hussain, S., Azam, M., Sardar, H., Khaliq, G., Canan, İ., Ejaz, S. 2021. Incorporation of ascorbic acid in chitosan-based edible coating improves postharvest quality and storability of strawberry fruits. *International Journal of Biological Macromolecules*, *189*, 160–169. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.08.051
Salgado, P. R., Ortiz, C. M., Musso, Y. S., di Giorgio, L., Mauri, A. N. 2015. Edible films and coatings containing bioactives. *Current Opinion in Food Science*, *5*, 86–92. https://doi.org/10.1016/J.COFS.2015.09.004
Santos, V. P., Marques, N. S. S., Maia, P. C. S. V., de Lima, M. A. B., Franco, L. de O., de Campos-Takaki, G. M. 2020. Seafood waste as attractive source of chitin and chitosan production and their applications. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Issue 12, pp. 1–17). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/ijms21124290
Shah, S., Hashmi, M. S., Qazi, I. M., Durrani, Y., Sarkhosh, A., Hussain, I., Brecht, J. K. 2021. Pre-storage chitosan-thyme oil coating control anthracnose in mango fruit. *Scientia Horticulturae*, *284*, 110139. https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2021.110139
Song, D. H., Hoa, V. B., Kim, H. W., Khang, S. M., Cho, S. H., Ham, J. S., Seol, K. H. 2021. Edible films on meat and meat products. In *Coatings* (Vol. 11, Issue 11). MDPI. https://doi.org/10.3390/coatings11111344
Suhag, R., Kumar, N., Petkoska, A. T., Upadhyay, A. 2020. Film formation and deposition methods of edible coating on food products: A review. *Food Research International*, *136*, 109582. https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2020.109582
Tkaczewska, J. 2020. Peptides and protein hydrolysates as food preservatives and bioactive components of edible films and coatings - A review. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 106, pp. 298–311). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.022
Tokatlı, K., Demirdöven, A. 2020. Effects of chitosan edible film coatings on the physicochemical and microbiological qualities of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Scientia Horticulturae*, *259*, 108656. https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2019.108656
Tran, V. T., Kingwascharapong, P., Tanaka, F., Tanaka, F. 2021. Effect of edible coatings developed from chitosan incorporated with tea seed oil on Japanese pear. *Scientia Horticulturae*, *288*. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110314
Tumbarski, Y., Nikolova, R., Petkova, N., Ivanov, I., Lante, A. 2019. Biopreservation of fresh strawberries by carboxymethyl cellulose edible coatings enriched with a bacteriocin from *Bacillus methylotrophicus* BM47. *Food Technology and Biotechnology*, 57(2), 230–237. https://doi.org/10.17113/ftb.57.02.19.6128
Umaraw, P., Munekata, P. E. S., Verma, A. K., Barba, F. J., Singh, V. P., Kumar, P., Lorenzo, J. M. 2020. Edible films/coating with tailored properties for active packaging of meat, fish and derived products. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 98, pp. 10–24). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.032
V. A. K., Hasan, M., Mangaraj, S., M, P., Verma, D. K., Srivastav, P. P. 2022. Trends in Edible Packaging Films and its Prospective Future in Food: A Review. *Applied Food Research*, *2*(1), 100118. https://doi.org/10.1016/J.AFRES.2022.100118

Velickova, E., Winkelhausen, E., Kuzmanova, S., Alves, V. D., Moldão-Martins, M. 2013. Impact of chitosan-beeswax edible coatings on the quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa* cv Camarosa) under commercial storage conditions. *LWT*, *52*(2), 80–92. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.02.004

Venkatachalam, K., Lekjing, S. 2020. A chitosan-based edible film with clove essential oil and nisin for improving the quality and shelf life of pork patties in cold storage. *RSC Advances*, *10* (30), 17777–17786. https://doi.org/10.1039/d0ra02986f

Ventura-Aguilar, R. I., Bautista-Baños, S., Flores-García, G., Zavaleta-Avejar, L. 2018. Impact of chitosan based edible coatings functionalized with natural compounds on *Colletotrichum fragariae* development and the quality of strawberries. *Food Chemistry*, *262*, 142–149. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.063

Xiong, Y., Chen, M., Warner, R. D., Fang, Z. 2020. Incorporating nisin and grape seed extract in chitosan-gelatine edible coating and its effect on cold storage of fresh pork. *Food Control*, *110*. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.107018

Xiong, Y., Kamboj, M., Ajlouni, S., Fang, Z. 2021. Incorporation of salmon bone gelatine with chitosan, gallic acid and clove oil as edible coating for the cold storage of fresh salmon fillet. *Food Control*, *125*. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.107994

Zam, W. 2019. Effect of Alginate and Chitosan edible coating enriched with olive leaves extract on the shelf life of sweet cherries (*Prunus avium* L.). *Journal of Food Quality*, *2019*. https://doi.org/10.1155/2019/8192964

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

Kontaktná adresa: Ing. Tomáš Vlčko, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Ústav potravinárstva, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko, e-mail: tomasvlcko01@gmail.com

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

POROVNANIE VYBRANÝCH PARAMETROV HYGIENICKEJ KVALITY ZEMIAKOVÝCH ŠALÁTOV OCHUTENÝCH MAJONÉZOU A TATÁRSKOU OMÁČKOU
COMPARISON OF SELECTED HYGIENIC QUALITY PARAMETERS OF POTATO SALADS FLAVORED WITH MAYONNAISE AND TARTAR SAUCE

Lucia Zeleňáková, Martina Fikselová, Anna Kolesárová, Andrea Mendelová

Abstract: The aim of the work was to compare selected parameters of the hygienic quality of potato salads flavoured with mayonnaise and tartar sauce with various additions of salt. During the experiment period, we monitored total viable count of microorganisms (TVC), coliform bacteria, microscopic filamentous fungi (MFF), as well as pH and water activity. The TVC varied depending on the type of dressing added and the salt content. In the mayonnaise dressing, the values of TVC were higher and increased continuously with increasing addition of salt (from 9.39 log CFU.g^{-1} to 9.82 log CFU.g^{-1}). We did not notice this trend in salads with tartar sauce dressing. MFF did not occur in most samples, or their number was lower than 10 colonies in g. Only three samples of potato salads with mayonnaise dressing without added salt (1M) contained from 1.1.10^{1} to 3.4.10^{1} CFU.g^{-1}. Coliform bacteria were not found in the samples. With increasing addition of salt, a_w and pH decreased slightly ($P > 0.05$). The analysis showed that tartar sauce has a higher inhibitory effect on the growth of microorganisms.
Keywords: potato salads, hygienic quality, mayonnaise, tartar sauce, salt

ÚVOD

V gastronómii vznikajú stále nové trendy a studené kuchyňa nie je výnimkou. Aj tá prechádza zmenami, a podlieha požiadavkám modernej doby, novým technológiám a postupom. Čoraz viac začínajú experimentovať aj kuchári a prinášajú nové nápady. Moderná studená kuchyňa predstavuje realizovanie nových nápadov a niečoho nového s predpokladom smerujúcim do budúcna. K ďalším pokrmom studenej kuchyne môžeme zaradiť paštéty, studené výrobky z rýb, studené obložené misy, aspiky (Campos et al., 2013).

Výhody studenej kuchyne:

- vyššia biologická hodnota;
- napriek použitiu rovnakých potravín – zaujímavá kompozícia;
- rýchla príprava;
- rozmanitosť a farebnosť pokrmu;
- pri uchovaní v chladničke sa môžu podávať kedykoľvek;
- úspora energie – neohrievajú sa (Tsiraki et al., 2018).

Za jednu z najobľúbenejších dochucovaných omáčok pridávaných k jedlám a predovšetkým šalátom sa považuje majonéza. Vaječný žĺtok, ocot a rastlinný olej, s obsahom oleja od 70 do 80 % predstavujú zložky tvoriace majonézu. Vo vhodných skladovacích podmienkach je skladovateľná týždne až mesiace. Oxidačná stabilita lipidových zložiek majonézy určuje jej kvalitu. Okrem základných zložiek môže majonéza obsahovať ochucovadlá, ktoré sa používajú pri príprave pokrmov a to cukor, soľ, med, prípadne horčicu, papriku, korenie za predpokladu a iba v takej miere, že sa nezmení farba žĺtka (Morley, 2016).

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Pre použitie surovín na prípravu šalátov ich teplota vrátane majonézy musí byť maximálne do 5 °C. Jedným z dôležitých faktorov pri príprave šalátov je pH. Pri šalátoch podávaných za studena i skladovaných za studena musí byť hodnota pH < 4,5. Naopak iné druhy šalátov, kde hodnota pH je viac ako 4,5 musia byť predané v deň ich výroby. Majonézové šaláty po ukončení ich výroby sa musia ihneď dať vychladiť na teplotu maximálne 5 °C. Pre iné druhy šalátov je vhodná teplota aj do 10 °C (Výnos č. 28167/2007-OL).

Majonézu a tatársku omáčku definuje Vyhláška č. 29/2014 ako výrobok polotuhej konzistencie získaný emulgáciou oleja vo vaječnej zložke, ktorá musí byť tepelne ošetrená. Podľa vyhlášky sa majonézou rozumie ochutená majonéza, do ktorej bola pridaná potravina, ktorá jej dodáva charakteristickú chuť, farbu alebo vôňu. „Tatárska omáčka, ak ide o majonézový výrobok, ktorý, obsahuje predovšetkým vaječnú zložku, ocot, sterilizované uhorky, modifikovaný škrob, alebo iný emulgátor, cibuľu, horčicu, cukor, soľ a koreniny“.

Biologická kontaminácia je najčastejšie sprevádzaná prítomnosťou živých organizmov, predstavujúcich pre spotrebiteľa možnosť vzniku ochorenia, alebo vznik rôznych zdravotných ťažkostí. V potravine sa nesmú nachádzať mikroorganizmy, ani ich toxíny v takých množstvách, ktoré by mohli predstavovať riziko pre zdravie človeka (Thaivalappil et al., 2018).

Ako uvádza Zeleňáková et al. (2017), *medzi hlavné faktory ovplyvňujúce vznik mikrobiologického nebezpečenstva patria:* teplota, pH a vodná aktivita (a_w). Pre rýchlosť rastu si mikroorganizmy vyžadujú určité optimálne teploty.

Väčšina patogénnych mikroorganizmov rastie pri vodnej aktivite nižšej ako 0,9. Avšak pre rast baktérií, ktoré spôsobujú kazenie potravín je minimálna hodnota a_w 0,90 – 0,91. Kvasinky spôsobujú kazenie pri hodnote 0,87 – 0,94 a vláknité mikroskopické huby pri hodnote 0,70 – 0,80 (Fišera et al., 2016).

Zistilo sa, že pri tejto hodnote pH a skladovacej teplote šalátu z morských plodov s majonézou je najnižší rast *Listerie monocytogenes*. Pri zvýšení pH majonézy, ale zachovaní rovnakej skladovacej teploty bolo zaznamenané rýchlejšie rozmnoženie tohto patogénu. Preukázalo sa teda, že hlavný faktor podieľajúci sa na rozmnožení *L. monocytogenes* v morských šalátoch s pridaním majonézy je práve jej pH (Hwang a Tamplin, 2005).

Mnohokrát lahôdkarské šaláty vo svojom zložení obsahujú narezanú prípadne aj celú surovú a niekedy aj varenú zeleninu. Tieto šaláty sú skupinou s krátkou dobou trvanlivosti. Na znížení trvanlivosti sa podieľajú suroviny napadnuté mikroorganizmami, ktoré tolerujú prítomnosť kyseliny octovej. Vláknité mikroskopické huby z dôvodu tolerovania nízkeho pH majú taktiež značný podiel pri znehodnotení lahôdkarských šalátov (Ryan et al., 2016).

Cieľom práce bolo porovnať vybrané parametre hygienickej kvality zemiakových šalátov ochutených majonézou a tatárskou omáčkou s rôznymi prídavkami soli.

MATERIÁL A METODIKA

V zmysle stanovených cieľov sme si v laboratórnych podmienkach simulujúcich kuchynské prostredie pripravili 10 vzoriek zemiakových šalátov, ktoré obsahovali rovnaké ingrediencie (uvarené zemiaky, vajcia a mrkva, sterilizované uhorky a hrášok), líšili sa prídavkom tatárskej omáčky (T) a majonézy (M), ako aj obsahom jedlej soli, ktoré boli rozhodujúcim faktorom pri posúdení ich hygienickej kvality. Hmotnosť oboch pripravených šalátov bez prídavku zálievky bola 550 g. Na ich prípravu sme použili: 200 g uvarených očistených a pretlačených zemiakov, 125 g uvarenej očistenej nakrájanej mrkvy, 100 g sterilizovaných nakrájaných uhoriek odkvapkaných a zbavených vody, 75 g sterilizovaného odkvapkaného hrášku a 50 g domácich uvarených a očistených vajec. Označenie vzoriek je uvedené v tab. 1.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Tabuľka 1 Základné informácie o vzorkách

Zemiakový šalát s majonézovou zálievkou		Zemiakový šalát so zálievkou z tatárskej omáčky	
Označenie vzorky	Pridanie soli [%]	Označenie vzorky	Pridanie soli [%]
1M	0	1T	0
2M	0,5	2T	0,5
3M	1,3	3T	1,3
4M	2	4T	2
5M	2,5	5T	2,5
Sledované parametre	• celkový počet mikroorganizmov (CPM), koliformné baktérie, mikroskopické vláknité huby • pH, a_w		

V každej z uvedených vzoriek sme uskutočnili mikrobiologický rozbor, kde sme sledovali celkový počet mikroorganizmov (CPM), koliformné baktérie a mikroskopické vláknité huby (MVH). Na stanovenie uvedených mikroorganizmov sme použili platňovú zrieďovaciu metódu a vzorky boli pripravené zaliatím. Celý pokus sme opakovali päťkrát. Charakteristika jednotlivých stanovení je uvedená v tab. 2.

Na izolovanie koliformných baktérií sme použili VČŽL agar, ktorý sa používa na rozmnoženie a izoláciu rastovo náročných baktérií, najmä črevných patogénnych mikroorganizmov. Je to agar s kryštálovou violeťou, neutrálnou červeňou, žlčovými soľami a laktózou.

Na hodnotenie celkového počtu mikroorganizmov sme použili PCA agar – Plate Count Agar (Standard Methods Agar), čo je neselektívne rastové médium, a je bežne používané na monitorovanie celkového bakteriálneho rastu vo vzorke. Skladá sa z kazeínového enzymatického hydrolyzátu, kvasnicového extraktu, dextrózy a agaru.

Pri mikroskopických vláknitých hubách sme použili živnú pôdu Dichloran Medium Base/w Rose ktorá je zložená z peptonu, dextrózy, hydrogenfosforečnanu draselného, síranu horečnatého, bengálskej červene, dichloranu, agaru.

Na prípravu živných pôd sme si navážili príslušné množstvo dehydrovanej živnej pôdy, ktoré sme rozmiešali v destilovanej vode. Po precíznom rozmiešaní sme živnú pôdu sterilizovali v autokláve pri teplote 121 °C, tlaku 120 kPa, 15 minút.

Na meranie vodnej aktivity sme použili prístroj FA-st lab a pH sme stanovovali pomocou pH metra.

Tabuľka 2 Charakteristika metodických postupov na mikrobiologické analýzy

Mikroorganizmus	Riedenie	Objem	Živná pôda	Kultivácia	STN/ISO
Koliformné baktérie	10^{-1}, 10^{-2}	1 ml	VČŽL agar	30±1 °C, 24 h	STN EN ISO 4832
CPM	10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}	1 ml	PCA agar	30±1 °C, 72 h±3h	ISO STN 4833
Mikroskopické vláknité huby	10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}	1 ml	DRBC agar	25±1 °C, 5 dní	ISO 7954

Dosiahnuté výsledky sme spracovali pomocou matematicko-štatistických metód. Vypočítali sme aritmetický priemer (x), smerodajnú odchýlku (s) a variačný koeficient (Vk). Pomocou jednofaktorovej analýzy rozptylu (F) boli testované hypotézy o rovnostiach stredných

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

hodnôt na hladine významnosti α = 0,05, α = 0,01 a α = 0,001. Na porovnanie rozdielu medzi skupinami sme použili Scheffeho test na hladine významnosti α = 0,05. Všetky uvedené matematicko-štatistické analýzy boli testované v programe SAS, verzia 8.2.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Lahôdkarské výrobky s majonézou i bez majonézy, napr. šaláty, obložené chlebíčky a pod. patria medzi výrobky studenej kuchyne. Mikrobiologické požiadavky na túto skupinu hotových pokrmov definuje Výnos MP SR, č. 06267/2006 –SL (tab. 3)

Tabuľka 3 Mikrobiologické kritéria na lahôdkarské výrobky s majonézou a bez majonézy

	n	c	m	M
Koliformné baktérie	5	2	10^3	10^4
Kvasinky	5	2	5.10^3	5.10^4
Escherichia coli	5	2	10^2	10^3
Koagulázopozitívne stafylokoky	5	1	10^2	10^3
Sulfitredujúce klostrídie	5	1	10^2	10^4
Bacillus cereus	5	2	10^3	10^4
Salmonella sp.	5	0	0/25	-

kde:
n: (rozsah výberu), množstvo vzoriek určených na mikrobiologické vyšetrenie,
c: množstvo vzoriek z (n), kde sa najviac pripúšťa medzná hodnota (M). Avšak platí, že vo vzorkách v počte „n“ mínus „c“ môže byť najviac hodnota „m“,
m: prípustný počet mikroorganizmov v (n) v stanovenom množstve vzorky,
M: medzná (prípustná) hodnota mikroorganizmov v ustanovenom množstve vzorky, ale len v počte vzoriek, ktorých je menší ako „c“ , alebo sa rovná „c“

Prvou skupinou, ktorú sme v rámci mikrobiologických hodnotení analyzovali, bol celkový počet mikroorganizmov (CPM). CPM sa zisťuje z dôvodu preverenia čistoty výroby. Ak presahuje počet CPM predpísaný počet, môže to byť spôsobené použitím surovín s vysokým počtom baktérií, prípadne došlo k nedodržaniu čistiaceho postupu. Taktiež poukazuje na nezvládnutie chladiaceho procesu a neprípustný čas skladovania. Z uvedeného dôvodu sme sledovali túto skupinu mikroorganizmov vo všetkých skupinách zemiakových šalátov a získané hodnoty sme porovnali. Sumárne výsledky sú uvedené v tab. 4.

Rozmedzie hodnôt CPM v zemiakovom šaláte s majonézovou zálievkou sa pohybovalo od minimálnej hodnoty 3,16 log KTJ.g^{-1} vo vzorke 5M s 2,5 %-ným prídavkom soli až po maximálnu hodnotu 9,98 log KTJ.g^{-1} tiež vo vzorke 5M. Vzorka 3M, ktorá obsahovala 1,3 % pridanej soli (limitné množstvo soli na 100 g potraviny určenej na priamu spotrebu), mala priemernú hodnotu 9,51 log KTJ.g^{-1}. Vo vzorke 4M, v ktorej boli 2 % soli, narástlo 9,71 log KTJ.g^{-1} a vo vzorke 5M, kde sme pridali až takmer dvojnásobok limitného množstva soli bol CPM na úrovni 9,39 log KTJ.g^{-1}. Najvyššia priemerná hodnota CPM bola 9,81 log KTJ.g^{-1} vo vzorke 2M.

V zemiakovom šaláte so zálievkou z tatárskej omáčky sme taktiež zaznamenali široké rozpätie hodnôt CPM. Od minimálnej hodnoty 1,69 log KTJ.g^{-1} vo vzore 3T, kde bol 1,3 %-tný podiel nami pridanej soli, po maximálnu hodnotu 9,90 log KTJ.g^{-1}, čo bola najvyššia hodnota vo vzorke 5T, kde bol pridaný najväčší podiel soli až 2,5 %.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Tabuľka 1 Vyhodnotenie celkového počtu mikroorganizmov v zemiakových šalátoch

Vzorka	CPM [log KTJ.g^{-1}]			
1M	$\bar{x}$	9,39	1T	9,33
	± s	8,98		8,72
	Vk [%]	1,58		1,38
2M	$\bar{x}$	9,81	2T	9,22
	± s	9,03		8,89
	Vk [%]	1,21		1,67
3M	$\bar{x}$	9,51	3T	9,25
	± s	9,39		9,13
	Vk [%]	1,87		1,88
4M	$\bar{x}$	9,71	4T	9,69
	± s	9,09		8,95
	Vk [%]	1,37		1,25
5M	$\bar{x}$	9,39	5T	9,82
	± s	9,6		9,05
	Vk [%]	2,2		1,23

Porovnaním vzoriek zemiakového šalátu s majonézovou zálievkou a zemiakového šalátu so zálievkou z tatárskej omáčky môžeme konštatovať, že pri majonézovej zálievke boli hodnoty celkového počtu mikroorganizmov vyššie. Tie zároveň rástli kontinuálne so zvyšujúcim sa prídavkom soli (od 9,39 log KTJ.g^{-1} po 9,82 log KTJ.g^{-1}). Tento trend sme u šalátov so zálievkou z tatárskej omáčky nezaznamenali. Svedčí o tom tab. 4.

Štatistickou analýzou pomocou Sheffeho testu sme získané výsledky doplnili (tab. 5). Aj tu možno pozorovať rozdiely medzi oboma šalátmi, pričom u tých s prídavkom majonézy neboli potvrdené štatisticky významné rozdiely medzi skupinami vo vzťahu k pridaniu rôznych množstiev soli. Naopak, v zemiakových šalátoch s prídavkom tatárskej omáčky boli rozdiely zistené a to najmä medzi vzorkou 5T (2,5 % soli) a ostatnými vzorkami.

Tabuľka 5 Štatistické vyhodnotenie prítomnosti CPM v zemiakových šalátoch pomocou Scheffeho testu

F test	$4{,}61^{++}$				F test	$13{,}13^{+++}$			
Ukazovateľ	2M	3M	4M	5M	Ukazovateľ	2T	3T	4T	5T
1M	-	-	-	-	1T	-	-	+	+
2M		-	-	+	2T		-	+	+
3M			-	-	3T			-	+
4M				-	4T				-

+: štatistický preukazný rozdiel podľa Sheffeho testu ($P < 0{,}05$)
-: štatistický nepreukazný rozdiel podľa Sheffeho testu ($P > 0{,}05$)

Podľa obchodnej sterility uvedenej vo Výnose č. 06267/2006 - SL všeobecne je celkový počet mikroorganizmov pre 5 odobratých vzoriek: M = 10^2 v 1g; m = 0b (0b- nesmie byť preukázateľnosť mikroorganizmov pri zaliatí, alebo roztere 1 ml riedenej vzorky, pri riedení 10^{-1}); c = 2. Ak podľa tejto obchodnej sterility neboli splnené podmienky, boli presiahnuté vyššie medzné hodnoty a prítomné boli mikroorganizmy a ich metabolity, schopné vyvolať ochorenia z potravín, tieto potraviny sa nesmú uvádzať na trh. Z hľadiska obchodnej sterility teda platí, že prítomnosť CPM nie je prípustná v potravinách aj napriek tomu, že zahŕňa široké

množstvo mikroorganizmov. Naopak iné druhy baktérií sú legislatívou limitované a neplatí u nich nulová tolerancia prítomnosti v potravinách.

Osobitnou skupinou mikroorganizmov, ktorú sme v zemiakových šalátoch sledovali boli mikroskopické vláknité huby (tab. 6). Rozdiely medzi oboma druhmi šalátov nie sú veľké, dokonca u vzoriek 4 a 5 M/T sme zaznamenali rovnaké hodnoty (< 10 KTJ.g^{-1}). Vo väčšine vzoriek sa mikroskopické vláknité huby nevyskytovali, resp. ich počet bol nižší ako 10 kolónií v g. Výnimku tvorili vzorky zemiakových šalátov s majonézovou zálievkou bez prídavku soli (1M), kde sa v troch vzorkách nachádzalo od 1,1.10^{1} až 3,4.10^{1} KTJ.g^{-1}. Opäť sa potvrdilo, že tatárska omáčka má vyšší inhibičný účinok na rast tejto skupiny mikroorganizmov na rozdiel od majonézy. Tieto výsledky sú porovnateľné s výsledkami stanovenia CPM.

Tabuľka 6 Prítomnosť MVH v zemiakových šalátoch

Vláknité mikroskopické huby (KTJ.g^{-1})								
Poradie analýz	**1M**	**1T**	**2M**	**2T**	**3M**	**3T**	**4M/T**	**5M/T**
1.	2,5.10^{1}	< 1	< 1	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
2.	3,4.10^{1}	< 10	< 1	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
3.	1,1.10^{1}	< 10	< 1	< 1	< 10	< 10	< 10	< 10
4.	< 10	< 10	< 10	< 1	< 1	< 10	< 10	< 10
5.	< 10	< 10	< 10	< 1	< 1	< 10	< 10	< 10

Výskyt kvasiniek a koliformných baktérií v použitom majonézovom základe k šalátu je obmedzený, pretože majonéza má nízku mikrobiálnu hodnotu. Hodnota pH lahôdkarských šalátov sa pohybuje v rozmedzí od 4,0 do 5,5 z dôvodu pridania octu k majonézovému základu (Lund et al., 2000).

Prítomnosť koliformných baktérií sme nezaznamenali ani v jednej z analyzovaných vzoriek zemiakových šalátov.

Vo Výnose MP SR č. 06267/2006-SL, ktorým sa vydáva hlava PK SR o mikrobiologických kritériách sa uvádza, že v lahôdkarských výrobkoch by množstvo koliformných baktérií nemalo presiahnuť 10^{3} KTJ.g^{-1} v 5 vzorkách. Tieto baktérie neboli prítomné ani v jednej z analyzovaných nátierok, čo svedčí o kvalite použitých surovín, ale aj o dôslednej príprave zemiakových šalátov.

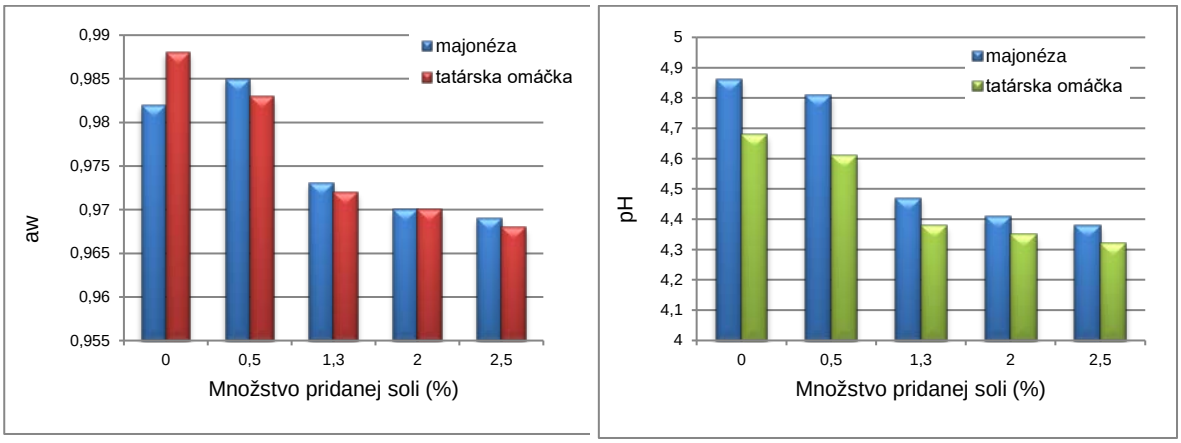
Trvanlivosť lahôdkarských šalátov závisí predovšetkým od dodržiavania hygienických podmienok a hygienického stavu pri ich výrobe. Ďalej od ich materiálového zloženia a vnútorných podmienok, od počiatočného počtu mikroorganizmov, ktoré v nich prevládajú. Dominantnou skupinou mikroorganizmov, ktorá vo významnej miere podmieňuje trvanlivosť lahôdkarských šalátov, sú v závislosti od ich kyslej povahy rody: *Leuconostoc a Pediococcus*, ako aj kvasinky a mikroskopické vláknité huby (Kharavat a Singh, 2018).

Považujú sa za jednu z najčastejších príčin kontaminácie potravín. Sú to mnohobunkové huby, ktoré vytvárajú tenké vlákna podobné štruktúram nazývaným hýfy. Nachádzajú sa všade tam, kde je prítomná vlhkosť a dostatok živín, ktoré udržiavajú ich rast (Adeyeye, 2016).

Koliformné baktérie predstavujú indikátory mikrobiologickej kvality a bezpečnosti potravín alebo aj vody. Ich prítomnosť v potravinách znamená fekálne znečistenie, ktoré býva spôsobené nedostatočnou hygienou alebo hygienickými postupmi (Hervert et al., 2016).

Rýchlosť rastu baktérií môže byť ovplyvnená aj kombináciou teploty či pH (Akkermans et al., 2018; Maneffa, 2017). Práve pH bolo ďalším parametrom, ktorý sme v šalátoch merali. Ako vyplýva z grafu 1b, nižšie hodnoty pH boli zaznamenané v šalátoch s tatárskou omáčkou, no ich charakter v rámci rôznych prídavkov jedlej soli bol identický so šalátmi s majonézou. So zvyšujúcim sa množstvom pridanej jedlej soli sa pH oboch šalátov znižovalo (od 4,68 do 4,32 – tatárska omáčka, resp. 4,86 po 4,38 – majonéza).

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp



Graf 1 Porovnanie a_w (a) a pH (b) v zemiakových šalátoch

Uvedené zistenia sme testovali aj pomocou Scheefeho testu (tab. 7).

Tabuľka 7 Štatistické vyhodnotenie pH v zemiakových šalátoch pomocou Scheffeho testu

F test	$16,28^{+++}$				F test	$13,13^{+++}$			
Ukazovateľ	2M	3M	4M	5M	Ukazovateľ	2T	3T	4T	5T
1M	-	+	+	+	1T	-	+	+	+
2M		+	+	+	2T		+	+	+
3M			-	-	3T			-	-
4M				-	4T				-

+: štatistický preukazný rozdiel podľa Sheffeho testu ($P < 0,05$)
-: štatistický nepreukazný rozdiel podľa Sheffeho testu ($P > 0,05$)

Z hľadiska posúdenia kvality a zdravotnej bezpečnosti zemiakových šalátov v zmysle platnej legislatívy môžeme konštatovať, že nie všetky splnili predpísané kritériá (pH < 4,5). Dôležitým faktorom je aj teplota, pričom najmä majonézové šaláty sa musia po ukončení výroby ihneď dať vychladiť na teplotu maximálne 5 °C.

Willis et al. (2016) zistili, že pridanie šalátových dressingov alebo majonézy do šalátov spomaľuje rast patogénov, ak by sa šaláty uchovávali pri teplote nižšej ako 7 °C. V šaláte obsahujúcom majonézu, ktorá má pH hodnotu nižšiu ako 4,1 a jej obsah kyseliny octovej je v rozmedzí 0,5 – 1,4 % vo vodnej fáze, sa patogénne mikroorganizmy nerozmnožujú a počas niektorých dní odumrú.

Dressingy používané pri príprave zemiakových šalátov majú zvyčajne priemerné pH 4,0 kvôli obsahu kyseliny octovej. Zmiešanie dressingov so zemiakmi a zložkami šalátu môže zriediť kyselinu octovú a tým znížiť jej inhibičné vlastnosti (Smittle a Cirigliano, 2001).

Vo všeobecnosti by z bezpečnostných dôvodov majonéza alebo šalátová omáčka nemali mať vyššie pH ako 4,4 a obsah kyseliny octovej počítaný na celý produkt by nemal byť nižší ako 0,25 % (Christison et al., 2008; Kilcast a Subramaniam, 2011).

Vysoké koncentrácie soli spôsobujú, že niektoré baktérie sa rozmnožujú výlučne pri nízkej vodnej aktivite. Ide o halofilné baktérie s a_w 0,65 – 0,63. Kvasinky sa rozmnožujú pri minimálnej aktivite vody 0,91 – 0,88 a vláknité mikroskopické huby pri nižšej ako majú baktérie či kvasinky (Maneffa et al., 2017; Ahmad et al., 2018). Aktivita vody sa v našich

vzorkách pohybovala v rozmedzí 0,99 – 0,97, čo potvrdzuje, že šaláty patria k ľahko sa kaziacim potravinám.

Ako vyplýva z grafu 1a, priemerné hodnoty a_w sa u oboch zemiakových šalátov v rámci rovnakých prídavkov soli príliš neodlišovali. V jednom prípade boli hodnoty dokonca identické (4T/M – 0,970). Napriek tomu, že so zvyšujúcim sa prídavkom soli aktivita vody mierne klesala, štatistickou analýzou sme túto skutočnosť nepotvrdili. Koncentrácia soli v jednotlivých vzorkách zemiakových šalátov nemá vplyv na zvýšenie alebo zníženie vodnej aktivity.

ZÁVER

Lahôdkarské výrobky z hľadiska ich skladby a použitých surovín majú krátku dobu trvanlivosti a sú označované ako najrizikovejšie potraviny. Kvalita lahôdkarských výrobkov je ovplyvnená kvalitou surovín. Surovina môže byť poškodená jednak prítomnosťou mikroorganizmov, ale i výrobcom pri nedodržaní zásad pri výrobe, alebo skladovaní. Preto je dôležité pri výrobe a manipulácii s takýmito potravinami dodržiavať hygienické zásady, osobnú hygienu zamestnancov i dodržiavanie chladiarenského reťazca

LITERATÚRA

Adeyeye, S. 2016. Fungal mycotoxins in foods: A review. In *Cogent Food and Agriculture*, vol. 2, no. 1. Dostupné na: Full article: Fungal mycotoxins in foods: A review (tandfonline.com).

Ahmad, S., Ahmad, M., Maqbool, M., Dar, B. N., Greiner, R., Roohinejad, S. 2018. Microbiological contamination of ready-to-eat vegetable salads in developing countries and potential solutions in the supply chain to control microbial pathogens. In *Food Control*. Dostupné na: https://www.sciencedirect.com/science/article/S09567135.

Akkermans, S., Logist, F., Van Impe, J. F. 2018. An interaction model for the combined effect of temperature, pH and water activity on the growth rate of *E. coli K12*. In *Food Research International*, vol. 106, pp. 1123 – 1131. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.026.

Campos, J., Mourao, J., Pestana, N., Peixe, L., Novais, C., Antunes, P. 2013. Microbiological quality of ready – to – eat salads: An underestimated vehicle of bacteria and clinically relevant antibiotic resistance genes. In *Journal of Food Microbiology*, vol. 166, pp. 464 – 470. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.08.005

Christison, C. A., Lindsay, D., Holy, A. 2008. Microbiological survey of ready-to-eat foods and associated preparation surfaces in retail delicatessens, *Johanne*sburg, South Africa. In *Food Control*, vol. 19 (7), pp. 727 – 733.

Fišera, M. et al. 2016. Gastronomie – vybrané kapitoly. Brno. Vysoká škola obchodní a hotelová. 286 s. ISBN: 978-80-86380-78-0.

Hervert, C. J., Alles, A. S., Martin, N. H., Boor, K. H., Wiedmann, M. 2016. Evaluation of different methods to detect microbial hygiene indicators relevant in the dairy industry. In *Journal of Dairy Science*, vol. 99, no. 9. pp. 7033 – 7042. Dostupné na: Evaluation of different methods to detect microbial hygiene indicators relevant in the dairy industry - ScienceDirect.

Hwang, Ch. A., Tamplin, M. L. 2005. The influence of mayonnaise pH and storage temperature on the growth of *Listeria monocytogenes* in seafood salad. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 102, pp. 277 – 285. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.11.019.

Kharavat, S. B., SIngh, Y. 2018. Microbial Contamination and Food Degradation. In *Handbook of Food Bioengineering*. pp. 395 – 402. ISBN 978-0-12-811515-2. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811515-2.00013-5.

Kilcast, D., Subramaniam, P. 2011. *Food and Beverage Stability and Shelf Life.* Woodhead Publishing. 864 p. ISBN 978-1-84569-701-3.

Lund, B., Baird-Parker, A. C., Gould, G. W. 2000 *Microbiological Safety and Quality of Food.* 1. vyd. Maryland: Aspen Publisher, Inc., 2024 p. ISBN: 978-0-8342-1323-4.

Maneffa, A. J., Stenner, R., Matharu, A. S., Clark, J. H., Matubayasi, N., Shimizu, S. 2017. Water activity in liquid food systems: A molecular scale interpretation. In *Food Chemistry*. vol. 237, pp. 1133 – 1138. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.046.

Morley, W. G. 2016. Encyclopaedia Food and Health. In *Mayonnaise*. pp. 669 – 676. Dostupné na: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B97801849472004499.

Ryan, U., Paparini, A., Monis, P., Hijawilt´s, N. 2016. Official-Cryptosporidium is a gregarine. In *What are the implications for the water industry*? Dostupné na: http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2016.09.013.

Smittle, R. B., Cirigliano, M. C. 2001. Salad dressings. In Downes, F. P. Ito, K. *Compendium for the microbiological examination of foods*. Washington, D. C.: American Public Health Association, pp. 975 – 983. ISBN 978-1-4419-0825-4.
Thaivalappil, A., Waddell, L., Greig, J., Meldrum, R., Young, I. 2018. A systematic review and thematic synthesis of qualitative research studies on factors affecting safe food handling at retail and food service. In *Food Control*, vol. 89, pp. 97 – 107. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.01.028.
Tsiraki, M. I, Yehia, H. M., Elobeid, T., Osaili, T. Sakkas, H., Savvaidis, I. N. 2018. Viability of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in a delicatessen appetizer (yogurt-based) based as affected by citrus extract and storage temperature. In *Food Microbiology*, vol. 69, p. 11 – 17. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.07.014.
Vyhláška č. 29/2014 Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky o majonézach a majonézových výrobkoch.
Výnos MP SR a MZ SR č. 28167/2007-OL z 12 apríla 2006, ktorým sa vydáva hlava PK SR upravujúca všeobecné požiadavky na konštrukciu, usporiadanie a vybavenie potravinárskych prevádzok a niektoré osobitné požiadavky na výrobu a predaj tradičných potravín a na priame dodávanie množstva potravín.
Výnos MP SR a MZ SR č. 06267/2006-SL, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu upravujúca mikrobiologické požiadavky na potraviny a na obaly na ich balenie.
Willis, C., Mc Lauchlin, J., Amar, C. 2016. Assessment of the microbiological safety of precut fruit from retail and catering premises in the United Kongdom. In *Journal of Food Protection*, vol. 79 (4), pp. 598 – 604. ISSN 0362-028X. Dostupné na: https:10.4315/0362-028X.JFP-15-460.
Zeleňáková, L., Žiarovská, J., Kolesárová, A., Ryšánek, N. 2017. Podporné procesy a ich význam pri prevádzkovaní stravovacích zariadení. In XLVII. Lenfeldovy a Höklovy dny. 1. vyd. Brno : Veterinární a farmaceutická univerzita, s. 256 – 261.

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

Kontaktná adresa: doc. Ing. Lucia Zeleňáková, PhD., Ústav potravinárstva, FBP SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra Slovakia, E-mail: lucia.zelenakova@uniag.sk. ORCID https://orcid.org/0000-0003-1387-7410

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Bezpečnosť a kvalita mlieka a mliečnych výrobkov

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

SENZORICKÁ ANALÝZA SYROV VYROBENÝCH Z OVČIEHO A KOZIEHO MLIEKA
SENSORY ANALYSIS OF CHEESE MADE FROM SHEEP AND GOAT MILK

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

Abstract: The combination of flavours and aromas associated with goat's and sheep's milk results in a number of unique flavours and sensory properties that are critical to the overall quality of goats and sheep's milk and milk products. The aim of this work was the sensory analysis of fresh, soft and hard ripening cheeses (6 samples of cheeses made from goat's milk and 15 cheeses made from sheep's milk). 10 trained evaluators participated in the sensory evaluation. We used principal component analysis to analyse the data. Based on the results, we found that further research is needed to determine the factors associated with the sensory quality of sheep and goat milk cheeses with regard to milk production, processing and storage of the manufactured products, in order to precisely determine the cause and effect relationships in the sensory and organoleptic properties in sheep and goat milk products.
Keywords: Cheese, sheep milk, goat milk, sensory analysis, PCA

ÚVOD

Charakteristické zmyslové vlastnosti ovčieho a kozieho syra sú primárne spojené s chemickým zložením ovčieho a kozieho mlieka. Okrem toho používanie surového mlieka a iných koagulačných enzýmov (iných ako syridlo z hovädzieho dobytka), pri výrobe syrov naočkovanie mlieka autochtónnymi kmeňmi baktérií mliečneho kvasenia a niektoré výnimočné výrobné postupy, odlišujú syry z ovčieho a kozieho mlieka od syrov z kravského mlieka (Medina et al., 2011). Hodnotenie zmyslových atribútov umožňuje definovať chuťový profil a preferencie spotrebiteľov ku mliečnym výrobkom s inovovanými vlastnosťami. Analýza senzorického profilu syrov umožňuje identifikovať špecifické atribúty, ktoré by mohli byť preferenčnými vlastnosťami (Santillo et al., 2015). Vnímanie kvality potravín spotrebiteľmi je odlišné a silne závisí od osobných preferencií, ako je úroveň skúseností, kultúrne vplyvy, demografické a fyziologické charakteristiky, vnímanie pravosti výrobkov a očakávania kvality. Toto vnímanie môže byť ovplyvnené niekoľkými faktormi, napr. pôvodom značky, cenou, výživovými informáciami a tradičnými technologickými postupmi (Supeková et al., 2008). V celkovej kvalite syra má hlavnú úlohu chuť, a preto prítomnosť senzorických defektov a/alebo nedostatok typickej chuti, významne znižuje jeho kvalitu, čo spôsobuje finančné straty pre mliekarenský priemysel (Engel et al., 2001). Veľké množiny údajov sú čoraz bežnejšie a často sa ťažko interpretujú. Hlavná analýza komponentov (PCA) je technikou na znižovanie rozmerov takýchto súborov údajov, čím sa zvyšuje interpretovateľnosť, ale zároveň sa minimalizuje strata informácií (Jolliffe et al., 2016). Cieľom práce bolo senzoricky analyzovať čerstvé, mäkké a tvrdé zrejúce syry vyrábané z ovčieho a kozieho mlieka.

MATERIÁL A METODIKA

V práci sme analyzovali 6 vzoriek syrov vyrobených z kozieho mlieka a 15 syrov vyrobených z ovčieho mlieka. Počas vykonávania senzorického hodnotenia boli vzorky skladované v chladničkách pri teplote 4 °C. Syry boli krájané až pred senzorickou analýzou na kocky veľkosti 1x1 cm. Hodnotenia sa zúčastnilo 10 zaškolených hodnotiteľov. Senzoricky boli analyzované atribúty: vzhľad a konzistencia a chuť a vôňa. Hodnotiteľom boli predložené

formuláre v ktorých prideľovali jednotlivým vzorkám syrov body, ktoré boli v rozmedzí 1 – 10.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

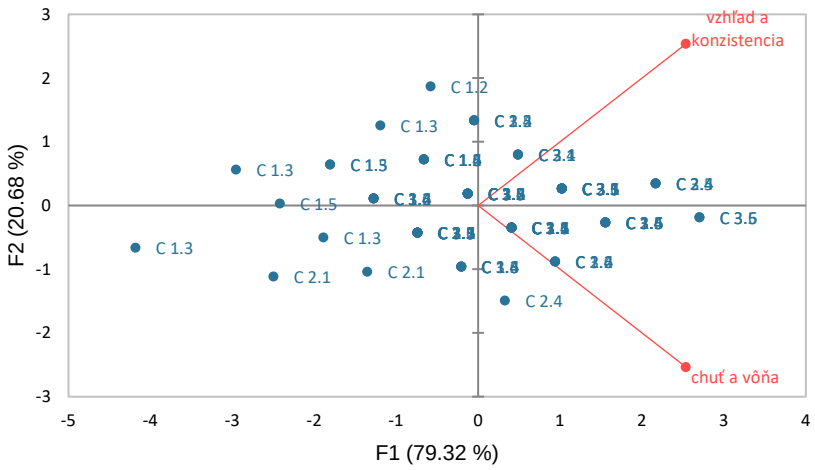
Výsledky senzorickej analýzy boli vyhodnotené pomocou štatistického softvéru XLSTAT, v. 2021.4.1 (Addinsoft, USA). Použili sme metódu komplexného hodnotenia podobnosti a organoleptickej prijateľnosti analýzu hlavných komponentov (PCA). V tabuľke 1 je uvedené označenie a popis vzoriek pre senzorické a štatistické vyhodnotenie.

Tabuľka 1 Označenie vzoriek použitých v senzorickom hodnotení

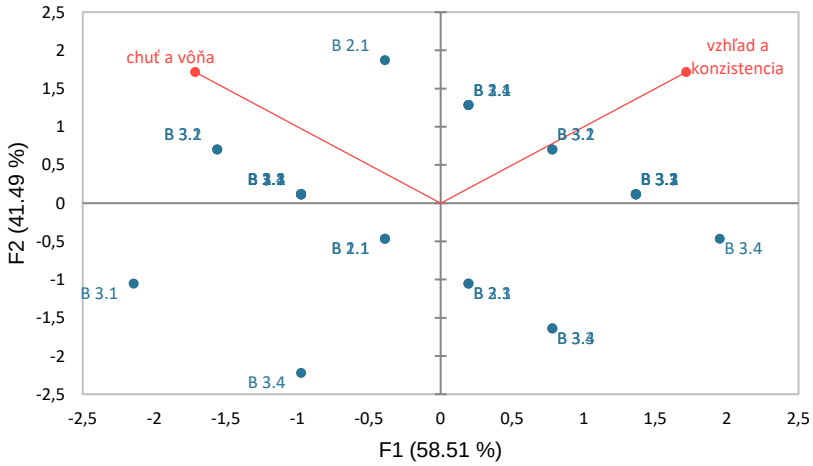
Syry z kozieho mlieka		Syry z ovčieho mlieka			
Vz.	**Popis**	**Vz.**	**Popis**	**Vz.**	**Popis**
B 1.1	čerstvý syr	C 1.1	čerstvý syr	C 2.1	mäkký zrejúci syr
B 2.1	mäkký syr	C 1.2	čerstvý syr	C 2.4	mäkký zrejúci syr
B 3.1	tvrdý zrejúci syr	C 1.3	čerstvý syr	C 2.5	mäkký zrejúci syr
B 3.2	tvrdý zrejúci syr	C 1.4	čerstvý syr	C 3.1	tvrdý zrejúci syr 2 mesiace
B 3.3	tvrdý zrejúci syr	C 1.5	čerstvý syr	C 3.2	tvrdý zrejúci syr 2 mesiace
B 3.4	tvrdý zrejúci syr	C 1.6	čerstvý syr	C 3.3	tvrdý zrejúci syr 18 mesiace
				C 3.4	tvrdý zrejúci syr 3 mesiace
				C 3.5	tvrdý zrejúci syr 12 mesiacov
				C 3.6	tvrdý zrejúci syr 20 mesiacov

Analýza hlavných komponentov syrov vyrobených z ovčieho a kozieho mlieka (obrázok 1 a 2) bola použitá na štatistické vyhodnotenie údajov získaných zo senzorického hodnotenia. Výsledky PCA mapy senzorickej analýzy syrov z ovčieho mlieka Bartlettovho testu naznačujú, že údaje boli pravdepodobne faktorizovateľné (Chí-kvadrát (pozorovaná hodnota = 30,538), Chí-kvadrát (kritická hodnota = 3.841) a $p \leq 0{,}001$. Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) test primeranosti odberu vzoriek ukázal strednú vhodnosť údajov pre úplný model (KMO = 0,500) PCA ukazuje, že 100,00 % celkových variácií premenných možno zoskupiť a vysvetliť pomocou prvých dvoch hlavných komponentov (PC), s vlastnými hodnotami 1,586 a 0,414. PC1 predstavuje 79,32 % a opisujú ju parametre vzhľad a konzistencia a parameter chuť a vôňa, zatiaľ čo PC2 predstavuje 20,86 %. Výsledky Bartlettovho testu z PCA analýzy syrov z kozieho mlieka naznačujú, že údaje boli pravdepodobne faktorizovateľné (Chí-kvadrát (pozorovaná hodnota = 0,809), Chí-kvadrát (kritická hodnota = 3,841) a $p \leq 0{,}001$. Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) test primeranosti odberu vzoriek ukázal strednú vhodnosť údajov pre úplný model (KMO = 0,500) PCA ukazuje, že 100,00 % celkových variácií premenných možno zoskupiť a vysvetliť pomocou prvých dvoch hlavných komponentov (PC), s vlastnými hodnotami 1,170 a 0,830. PC1 predstavuje 58,51 % a opisujú ju parametre vzhľad a konzistencia a parameter chuť a vôňa, zatiaľ čo PC2 predstavuje 41,49 % a opisuje ju parameter chuť a vôňa.

Chuť syra je výsledkom rovnováhy medzi prchavými a neprchavými chemickými zlúčeninami mliečneho tuku, bielkovín a sacharidov počas dozrievania. Metabolizmus reziduálnej laktózy a kyseliny citrónovej vedie k vzniku aromatických látok, ako je acetát, acetaldehyd, etanol, diacetyl a acetonín (Hayaloglu et al., 2013). Napríklad Chambers et al. (2005) hodnotili 30 chuťových atribútov v 42 syroch, 3 z toho boli ovčie syry. González Viñas et al. (2007) hodnotili deskriptívny profil osem syrov manchego počas 12 mesiacov skladovania. Valdivielso et al. (2016) získal senzorický profil pre ovčí syr v rámci rôznych sezónnych režimoch kŕmenia.



Obrázok 1 Vyhodnotenie senzorickej analýzy syrov z ovčieho mlieka pomocou PCA



Obrázok 2 Vyhodnotenie senzorickej analýzy syrov z kozieho mlieka pomocou PCA

Výživová hodnota ovčieho mlieka je vyššia, ako u kozieho a kravského mlieka, s vyšším obsahom bielkovín, lipidov, minerálnych látok a vitamínov nevyhnutných pre ľudské zdravie (Barłowska et al., 2011). Produkcia kozieho mlieka za posledné dve desaťročia dramaticky vzrástla. Keďže mnohé plemená kôz boli chované v rôznych lokalitách, podmienkach prostredia a hospodárení v mnohých častiach sveta, žiadny faktor nemôže univerzálne opísať alebo identifikovať senzorické vlastnosti širokej škály kozích syrov vyrábaných a konzumovaných na celom svete. Chuť a senzorické vlastnosti syrov z kozieho mlieka ovplyvňujú mnohé faktory. Chuť syra vzniká zo série komplexných reakcií zahŕňajúcich mikrobiálny metabolizmus a enzymatické reakcie, ktoré zahŕňajú proteolýzu bielkovín, lipolýzu tukov a fermentáciu sacharidov. Druhy pastvín, ovplyvňujú nielen chuť syra, ale aj farbu výrobkov. Kvôli množstvu karoténu prítomného vo veľkých množstvách v zelenom krmive a jeho príspevku k žltej farbe syra, syry vyrobené z jarného mlieka budú mať pravdepodobne žltkastejšiu farbu ako syry vyrobené zo zimného mlieka. Lipolýza tuku spôsobuje zatuchnutú chuť v mlieku, syre a iných mliečnych výrobkoch, zatiaľ čo proteolýza má veľký vplyv na chuť, vôňu a textúrne vlastnosti väčšiny druhov syrov (Park et al., 2017).

ZÁVER

Zistilo sa, že určité hlavné faktory môžu mať spoločné účinky na senzorickú a spotrebiteľskú prijateľnosť mliečnych ovčích a kozích produktov. Uvádza sa, že napríklad kozie mlieko má vyšší obsah sušiny, tuku a bielkovín v tvrdých a polotvrdých syroch v skorých a neskorých štádiách laktácie. Druhy pastvín, na ktorých sa pasú zvieratá dodávajú nielen chuť syra, ale aj farbu produktov. Zvieratá, ktoré boli kŕmené lucernovým senom, produkovali syry s oveľa intenzívnejšou chuťou ako tie kŕmené kukuričnou silážou. Je potrebný ďalší výskum na určenie faktorov spojených so senzorickou kvalitou syrov z ovčieho a kozieho mlieka s ohľadom na produkciu mlieka, spracovanie a skladovanie vyrobených produktov, aby sa presne určili vzťahy príčin a dôsledkov v senzorických a organoleptických vlastnostiach vo výrobkoch z ovčieho a kozieho mlieka.

LITERATÚRA

Barłowska, J., Szwajkowska, M., Litwinczuk, Z., Krol, J. 2011. Nutritional value and technological suitability of milk from various animal species used for dairy production. In *Compr Rev Food Sci Food Safety* [online], vol.10, no. 6, pp. 291-302. ISSN 1541-4337. Dostupné na doi: 10.1111/j.1541-4337.2011.00163.x

Chambers, D., Chambers, E., Johnson, D. E. Flavour description and classification of selected natural cheeses. In *OAI* [online], Culinary Arts and Sciences V: Global and National Perspectives, 2005, ed. Edwards, J.S.A., Kowrygo, B, & Rejman, K. pp 641-654, Publisher, Worshipful Company of Cooks Research Centre, Bournemouth, Poole, UK.

Engel, E., Nicklaus, S., Septier, C., Salles, C., Le Quéré, J. L. 2001. Evolution of the taste of a bitter Camembert cheese during ripening: characterization of a matrix effect. In *J. Agric. Food Chem*. [online], vol. 49, no. 6, p. 2930-2939. ISSN 1520-5118. Dostupné na doi: 10.1021/jf000967m

González Viñas, M. A., Ballesteros, C., Martín-Alvarez, P. J., Cabezas, L. 2007. Relationship between sensory and instrumental measurements of texture for artisanal and industrial Manchego cheeses. In *Journal of Sensory Studies* [online], vol. 22, no. 4, pp. 462-476. ISSN 1745-459X. Dostupné na doi: 10.1111/j.1745-459X.2007.00120.x

Valdivielso, I., Albisu, M., de Renobales, M., Barron, L. J. R. 2016. Changes in the volatile composition and sensory properties of cheeses made with milk from commercial sheep flocks managed indoors, part-time grazing in valley, and extensive mountain grazing. In *International Dairy Journal* [online], vol. 53, pp. 29-36. ISSN 1897-0143. Dostupné na doi: 10.1016/j.idairyj.2015.09.007

Hayaloglu, A. A., Tolu, C., Yasar, K., Sahingil, D. 2013. Volatiles and sensory evaluation of goat milk cheese Gokceada as affected by goat breeds (Gokceada and Turkish Saanen) and starter culture systems during ripening. In *Journal of Dairy Science* [online], vol. 96, no. 5, pp. 2765-278. ISSN 1525-3198. Dostupné na doi: 10.3168/jds.2012-6170

Jolliffe, I. T., Cadima, J. 2016. Principal component analysis: a review and recent developments. In *Philosophical transactions* [online], vol. 374, no. 2065, pp. 2015-2020. ISSN 1364-503X. Dostupné na doi: 10.1098/rsta. 2015.0202

Medina, R. B., Oliszewskia, R., Mukdsia, A. M. C., Van Nieuwenhovea, C. P., González, S. N. 2011. Sheep and goats dairy products from South America: microbiota and its metabolic activity. In *Small Ruminant Res* [online], vol. 101, pp. 84-91. ISSN 0921-4488. Dostupné na doi: 10.1016/j.smallrumres.2011.09.028

Park, Q. W., Jeanjulien, Ch., Siddique, A. 2017. Factors Affecting Sensory Quality of Goat Milk Cheeses: A Review. In *Advances in Diary Research* [online], vol. 5, no. 3, pp. 1000185. ISSN 2348-0394. Dostupné na doi: 10.4172/2329-888X.1000185

Santillo, A., Albenzio, M. 2015. Sensory Profile and Consumers' Liking of Functional Ovine Cheese. In *Foods* [online], vol. 4, no. 4, p. 665-677. ISSN 2304-8158. Dostupné na doi: /10.3390/foods4040665

Supeková, S. 2008. Kvalita potravín a „značka kvality SK" z pohľadu spotrebitelia. In *Trendy v potravinárstve* [online], vol. 15, no. 2, p. 5-6. ISSN 1336-085X.

.

Poďakovanie: Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-19-0180. Táto práca bola podporená projektom VEGA 1/0239/21. Poďakovanie: Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny, Drive4SIFood 313011V336, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Kontaktná adresa: Lucia Benešová Ing. PhD., Výskumné centrum AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra, Slovensko, e-mail: lucia.benesova@uniag.sk

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

NAJČASTEJŠÍ PÔVODCOVIA MASTITÍD VEMENA KÔZ - REVIEW
THE MOST COMMON CAUSES OF GOAT UDDER MASTITIS - A REVIEW

Barbora Gancárová, Kristína Tvarožková , Vladimír Tančin

Abstract: Goat mastitis is the most important disease affecting goats´ health, welfare, agricultural economy, and food safety. Clinical symptoms of mastitis caused by *Staphylococcus aureus* are visible, which is why the disease is easier to detect. However, the most common disease concerning goats is subclinical mastitis, which is an intramammary infection without any visible signs. Many studies reported that subclinical mastitis is 15-40 times more prevalent than clinical form. Subclinical mastitis causes a major loss of milk production and negatively influences milk composition, technological and hygienic quality. Coagulase-negative staphylococci are the most prevalent in subclinical mastitis (more than 50% in most of the studies). The bacteriological quality of milk is directly related to the hygienic level of husbandry and is mostly determined by the correct routine at milking and compliance hygiene during the milking process. Knowledge about the causes of dairy goats' mastitis is indispensable for a successful anti-mastitis program**.**
Keywords: mastitis, goat milk, pathogens

ÚVOD

Celosvetová rozšírenosť chovu dojných kôz je daná ich vysokým produkčným potenciálom. S narastajúcim dopytom po zdraviu prospešných potravinách, ktoré sú vyrábané čo najprirodzenejším spôsobom s ohľadom na dobré životné podmienky zvierat sa dopyt po kozom mlieku, syroch a mliečnych kozích výrobkoch zvyšuje (Vargas-Bello-Pérez, 2022).

Zdravotný stav mliečnej žľazy je základným faktorom ovplyvňujúcim produkciu, technologické a hygienické vlastnosti mlieka (Silanikove et al., 2010) a je jedným zo základných ukazovateľov dobrých životných podmienok kôz (Stilwell, 2016). Mastitída je zápalové ochorenie mliečnej žľazy spôsobený zvyčajne bakteriálnou infekciou. Toto závažné produkčné ochorenie negatívne ovplyvňuje rentabilitu chovu kôz (Gelasakis et al., 2016; Cannas et al., 2019). Negatívny ekonomický vplyv mastitídy dojných kôz je spôsobený znížením produkcie mlieka a zhoršením jeho kvality v dôsledku fyzického poškodenia alveolárnych buniek mliečnej žľazy, čo negatívne vplýva na ich syntetickú a sekrečnú funkciu (Granado et al., 2014).

Narušenie zdravotného stavu mliečnej žľazy sa v chove dojných kôz častokrát neprejavuje viditeľnými príznakmi na vemene alebo mlieku a táto forma mastitídy je ťažko detekovateľná – subklinické mastitídy. Z tohto dôvodu je výskyt tohto ochorenia u kôz vysoký, prevalencia subklinickej mastitídy sa pohybuje od 5 % do 30 % (Contreras et al., 2007), ale nedávne výskumy poukazujú, že prevalencia môže byť ešte vyššia (Novac et al., 2022). Naopak klinická forma mastitídy (zreteľné príznaky na vemene a mlieku) je u kôz zriedkavejšia, do 5 % (Contreras et al., 2007) a v niektorých prípadoch sa vôbec nemusí vyskytovať (Kuchtík et al., 2021). Niektorí autori predpokladajú, že prevalencia subklinickej mastitídy oproti klinickej mastitíde je o 15 až 40 krát vyššia (Islam et al., 2012).

Skorá diagnostika subklinickej mastitídy je životne dôležitá, pretože k narušeniu fyziologickej a sekrečnej činnosti sekrečného tkaniva mliečnej žľazy dochádza oveľa skôr ako sú tieto negatívne zmeny viditeľné. Cieľom tohto príspevku je sumarizovať doterajšie vedecké výskumy zamerané na prevalenciu bakteriálnych patogénov spôsobujúcich mastitídu vemena

kôz a poukázať na to, že kultivácie baktérií sú právom považované za zlatý štandard diagnostiky.

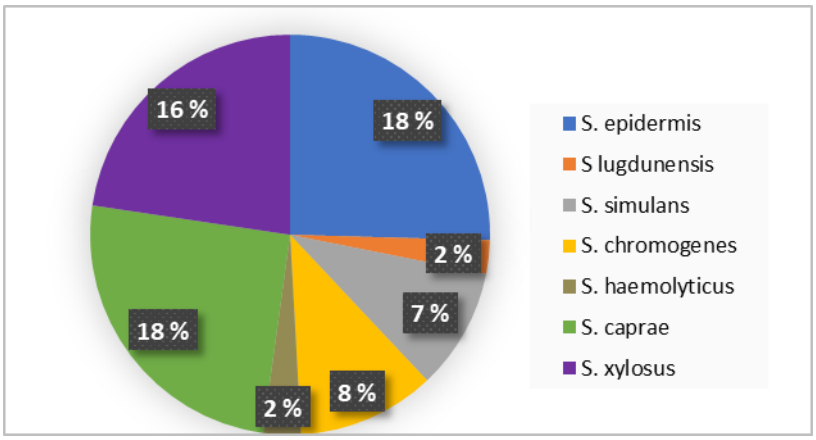
PATOGÉNY SPÔSOBUJÚCE MASTITÍDU U KÔZ

Mastitídne patogény sa podľa pôvodu dajú rozdeliť na kontagiózne (infekčné) alebo enviromentálne (prostreďové). Medzi majoritné kontagiózne patogény patrí *Staphylococcus (S.) aureus, Streptococcus (Str.) agalactiae* prípadne *Str. dysgalactiae* a medzi enviromentálne patogény v mlieku kôz patria najčastejšie koaguláza negatívne stafylokoky (KNS), a to najmä *S. epidermis, S. caprae, S. simulans, S. chromogenes, S. xylosus* a *S. warnerii* (Contreras et al., 2007).

Hlavným patogénom často spôsobujúci najmä klinickú, ale aj subklinickú a gangrenóznu mastitídu vemena kôz je *S. aureus* (Jácome et al., 2014). Tento patogén spôsobuje dramatické zvýšenie počtu somatických buniek (PSB) spojeného s poklesom produkcie kozieho mlieka a jeho vysoká infekčnosť môže viesť až ku vzniku závažnej gangrenóznej mastitídy, ktorá je charakteristická nekrotickými zmenami na vemene a vysokou mortalitou kôz (Bagnicka et al., 2011; Rainard et al., 2018). Z pohľadu konzumenta mlieko od kôz postihnutých stafylokokovou mastitídou a výrobky z neho vyrobené predstavujú potencionálne riziko pre ľudské zdravie (Van de Brom et al., 2020; Anderson et al., 2019). *S. aureus* produkuje leukotoxíny a ďalšie faktory virulencie, ako sú hemolyzíny, exfoliatívne toxíny a toxín syndrómu toxického šoku a niektoré izoláty tejto baktérie dokážu vytvárať biofilm (Taponen a Pyörälä, 2009). Staphylococcové enteroxíny je možné detegovať nielen v surovom kozom mlieku, ale v kozích syroch vyrábaných s pasterizovaného mlieka (Gonzales-Barron et al. 2017). Bogdanovičová et al. (2015) vo svojom výskume bakteriologickej kvality bazénových vzoriek kozieho a ovčieho mlieka v Českej republike zistila vyššiu prevalenciu *S. aureus* v ovčom mlieku (34,8 %) oproti koziemu mlieku (29 %). Akter et al. (2020) zaznamenali v Bangladéši nižšiu prevalenciu *S. aureus* (11,3 %) v kozom mlieku, ale tento patogén bol častejšie izolovaný vo vzorkách kozieho mlieka s vyšším PSB.

Baktérie rodu *Staphylococcus* predstavujú 60 až 96 % mikroorganizmov vyvolávajúcich mastitídu u kôz (Coimbra-e-Souza et al., 2019) a dominantnými patogénmi spôsobujucími subklinické mastitídy v chove kôz sú KNS (McDougall a Voermans, 2002; Moroni et al., 2005a; Jácome et al., 2014; Anderson et al., 2019). Tieto patogény sa radia medzi minoritné kontagiózne patogény nachádzajúce sa v prostredí zvierat a na ich tele, ale v súčasnosti sú čoraz častejšie klasifikované ako oportúnne patogény (Turchi et al., 2020). Anderson et al. (2019) vo svojom výskume štatisticky preukázali, že strojové dojenie kôz oproti ručnému spôsobu dojenia bolo spojené s vyššou prevalenciou baktérie *S. aureus* a pravidelné nosenie jednorazových rukavíc pri dojení kôz znižovalo riziko vzniku mastitíd spôsobených KNS.

Prevalencia najčastejšie vyskytujúcich sa KNS z rodu *Staphlococcus* v kozom mlieku je zobrazená na obrázku č. 1, ktorý vznikol sumarizáciou údajov z viacerých výskumov (Marogna et al. 2012; Gosselin et al., 2018; Rupp et al., 2019; Coimbra-e-Souza et al., 2019; Rosa et al., 2022). Z týchto výskumov vyplýva, že z celkového počtu baktérií z rodu *Staphylococcus* (n=1626) sú dominantnými patogénmi KNS, a to najmä *S. epidermis* spolu so *S. caprae*, nasleduje *S. xylosus* a *S. chromogenes*. Prevalencia druhov KNS je na každej farme rozdielna a rôzne druhy KNS sa môžu líšiť vo svojej patogenite (Kunz et al., 2011).



Obrázok 1 Prevalencia najčastejšie izolovaných KNS (Marogna et al. 2012; Gosselin et al., 2018; Rupp et al., 2019; Coimbra-e-Souza et al., 2019; Rosa et al., 2022)

Z tabuľky č.1 vyplýva, že po baktériách rodu *Staphylococcus* patria baktérie rodu *Streptococcus (Str.)* k druhým najčastejšie izolovaným mastitídnym patogénomi (Moroni et al., 2005a; Marogna et al., 2012; Gelasakis et al., 2016). Prevládajúcim druhom u kôz s mastitídou sú *Str. uberis, Str. agalactiae, Str. dysgalactiae* (Windria et al. 2021).

Tabuľka 1 Prevalencia najčastejších patogénov spôsobujúcich mastitídu u kôz

Vzorky (n)	Bakteriologicky pozitívne vzorky (%)	KNS[1] (%)	*S. aureus* (%)	Str.[2] (%)	Zdroj
4571	40,2	80,2	6,10	3	Moroni et al.(2005a)
4802 211	50,0 20,4	80,7 39,5	1,80 4,7	– 2,3	Moroni et al.(2005b) McDougall et al. (2010)
487	35,0	25,3	3,5	2,2[3]	Bagnicka et al. (2011)
2854	38,6	32,2	3,9	4	Koop et al. (2012)
209	97,6	61,3	15,7	10,9	Zhao et al. (2015)
181	19,9	73,8	5,5	23,3	Mishra et al. (2018)
2688	42,5	73,8	7,0	6,6	Rupp et al. (2019)
20201	48,7	57,5	28,6	0,6	Smistad et al. (2021)
357	54,9	83,7	6,12	–	Aragão et al. (2021)
76	86,8	39,4	9,1	1,5	Novac et al. (2022)

1 KNS- Koauguláza negatívne stafylokoky

2 *Streptococcus* spp., bez *Enterococcus*

3 alfa-hemolitické *Streptokoky* spp.

Intramamárnu infekciu v chove malých prežúvavcov môžu taktiež spôsobiť baktérie ako *Bacillus spp., Listeria spp., Corynebacterium spp., Pseudomonas spp., Mycoplasma spp., Enterococcus spp., Mannheimia haemolytica, Clostridium perfringens* a *Escherichia coli* (Granado et al., 2014; Bogdanovičová et al., 2015).

ZÁVER

Skorá diagnostika mastitíd vemena kôz je oproti dojniciam náročnejšia. PSB v mlieku je považovaný za pomerne spoľahlivý ukazovateľ zdravotného stavu mliečnej žľazy a

hygienickej kvality kravského mlieka, ale v prípade kôz sú hodnoty PSB v zdravej mliečnej žľaze fyziologicky vyššie a nemusia vždy indikovať zápalový proces v mliečnej žľaze. Z tohto dôvodu je jediným spoľahlivým nástrojom pre diagnostiku mastitíd vemena kôz kultivácia baktérií. Údaje o identifikácii rôznych druhov baktérií spôsobujúcich mastitídu vemena kôz sú čoraz dôležitejšie nielen z pohľadu zabezpečenia dobrého zdravotného stavu kôz a odpovedajúcej úrovne welfare s dôrazom na zdravotný stav vemena, ale aj pre zaistenie zdravotnej bezpečnosti kozieho mlieka a kozích mliečnych výrobkov. Podľa druhu identifikovaného patogénu je možné navrhnúť manažérske opatrenia pre zlepšenie techniky a technológie chovu kôz a nastaviť účinné protimastitídne opatrenia, vďaka ktorým bude zabezpečená produkcia kvalitného a hygienicky bezpečného kozieho mlieka.

LITERATÚRA

Akter, S., Rahman, M. M., Sayeed, M. A., Islam, M. N., Hossain, D., Hoque, M. A., Koop, G. 2020. Prevalence, aetiology and risk factors of subclinical mastitis in goats in Bangladesh. In *Small Ruminant Research* [online], vol. 184, 106046. ISSN 1879-0941. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106046

Anderson, K. L., Kearns, R., Lyman, R., Correa, M. T. 2019. Staphylococci in dairy goats and human milkers, and the relationship with herd management practices In *Small Ruminant Research* [online], vol. 171, pp. 13-22. [cit. 2023-01-28]. ISSN 1879-0941. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.11.021

Aragão, B. B., Trajano, S. C., de Oliveira, R. P., Juliano, M. A., Junior, J. W. P., Mota, R. A. 2021. Multiresistant zoonotic pathogens isolated from goat milk in Northeastern Brazil. In *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* [online] vol. 79, 101701. [cit. 2023-01-28]. ISSN 1878-1667. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.cimid.2021.101701

Bagnicka, E., Winnicka, A., Jozwik, A., Rzewuska, M., Strzalkowska, N., Kościuczuk, E., Prusak, B., Kaba, B., Horbańczuk, J., Krzyzewski, J. 2011. Relationship between somatic cell count and bacterial pathogens in goat milk. In *Small Ruminant Research* [online], vol. 100 , no. 1, pp. 72-77. [cit. 2023-01-28]. ISSN 1879-0941. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.04.014

Bogdanovičová, K., Skočková, A., Šťastková, Z., Koláčková, I., Karpíšková, R. 2015, The bacteriological quality of goat and bovine milk. In *Potravinarstvo: Slovak Journal of Food Sciences* [online], vol. 9, no.1, pp. 72–76. ISSN 1337-0960. [cit. 2023-01-21]. Dostupné na: https://doi.org/10.5219/438

Cannas, A. E., Dore, S., Lollai, S., Liciardi, M., Addis, F. A. 2019. Mastitis in small ruminants. [online], B. m. : B. v., (ca 2019), pp. 11. [cit. 2022-10-24]. Dostupné na: https://www.izs-sardegna.it/quaderni/Mastitis%20in%20small%20ruminant.pdf

Coimbra-e-Souza, V., Rossi, C. C., Jesus-de Freitas, L. J., Brito, M. A. V. P, Laport, M. S., Giambiagi-deMarval, M. 2019. Short communication: Diversity of species and transmission of antimicrobial resistance among Staphylococcus spp. isolated from goat milk. In *Journal of Dairy Science* [online], vol. 102, no. 6, pp. 5518-5524. [cit. 2023-01-30]. ISSN 1525-3198. Dostupné na: https://doi.org/10.3168/jds.2018-15723

Contreras A., Sierra D., Sánchez A., Corrales J. C., Marco J. C., Paape M. J., Gonzalo C. 2007. Mastitis in small ruminants.In *Small Ruminant Research* [online], vol. 68, no. 1-2, pp.145-153. [cit. 2023-01-30]. ISSN 1879-0941. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.011

Gelasakis, A. I., Angelidis, A. S., Giannakou, G., Filioussis, M. S., Kalamaki, G., Arsenos, G. 2016. Bacterial subclinical mastitis and its effect on milk yield in low-input dairy goat herds. In *Journal of Dairy Science* [online], vol. 99, no. 5, pp. 3698-3708. [cit. 2023-01-30]. ISSN 1525-3198. Dostupné na: https://doi.org/10.3168/jds.2015-10694

Gonzales-Barron, U., Gonçalves-Tenório, A., Rodrigues, V., Cadavez, V. 2017. Foodborne pathogens in raw milk and cheese of sheep and goat origin: a meta-analysis approach. In *Current Opinion in Food Sci*ence [online], vol. 18, pp. 7-13. [cit. 2023-01-31]. ISSN 2214-7993. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.10.002

Gosselin, V. B., Lovstad, J., Dufour, S., Adkins, P. R. F, Middleton, J. R. 2018. Use of MALDI-TOF to characterize staphylococcal intramammary infections in dairy goats. In *Journal of Dairy Science* [online], vol. 101, no. 7, pp. 6262-6270. [cit. 2023-01-25]. ISSN 1525-3198. Dostupné na: https://doi.org/10.3168/jds.2017-14224

Granado, R. J., Rodriguez, M. S., Arce, C., Stevez, V. R. 2014. Factors affecting somatic cell count in dairy goats: a review. In *Spanish Journal of Agriculture Research* [online], vol. 12, no. 1, pp.133-150. [cit. 2023-01-31]. ISSN 1695-971-X. Dostupné na: http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2014121-3803

Islam, A., Samad, M. A., Anisur Rahman, A. K. M. 2012. Prevalence of Subclinical Caprine Mastitis in Bangladesh Based on Parallel Interpretation of Three Screening Tests. In *International Journal of Animal and Veterinary Advances*, vol. 4, no. 3., pp. 225-228. ISSN 2041-2908.

Jácome, I. S., Sousa, F. G., De Leon, C. M., Spricigo, D. A., Saraiva, M. MS., Givisiez, P. EN., Gebreyes, W. A. ,Vieira, R. F. C., Oliveira, C. J. B., 2014. Pre-parturition staphylococcal mastitis in primiparous replacement goats: persistence over lactation and sources of infection. In *Veterinary Research* [online], vol. 45, no. 115 [cit. 2023-02-01]. Dostupné na: https://doi.org/10.1186/s13567-014-0115-6

Koop, G., De Vliegher, S., De Visscher, A., Supré, K., Haesebrouck, F., Nielen, M., van Werven, T. 2012. Differences between coagulase-negative Staphylococcus species in persistence and in effect on somatic cell count and milk yield in dairy goats, In *Journal of Dairy Science* [online], vol. 95, no. 9, pp. 5075-5084. [cit. 2022-10-17]. ISSN 1525 3198. Dostupné na: https://doi.org/10.3168/jds.2012-5615

Kuchtík, J., Šustová, K., Sýkora, V., Kalhotka, J., Pavlata, L., Konečná, L. 2021. Changes in the somatic cells counts and total bacterial counts in raw goat milk during lactation and their relationships to selected milk traits. In *Italian Journal of Animal Science* [online], vol.20, no. 1, pp. 911–917. [cit. 2023-02-01]. ISNN 1828-051X. Dostupné na: https://doi.org/10.1080/1828051X.2021.1913077

Kunz, F., Corti, S., Giezendanner, N., Stephan, R., Wittenbrink, M., Zweifel, C. 2011. Antibiotikaresistenz von Staphylococcus aureus und Koagulase-negativen Staphylokokken isoliert aus Mastitismilchproben von Schafen und Ziegen. In *SAT Schweizer Archiv für Tierheilkunde* [online], vol. 153, no. 2, pp. 63-69. [cit. 2023-02-01]. ISSN 1664-2848. Dostupné na: https://doi.org/10.1024/0036-7281/a000152

Marogna, G., Pillo, C., Vidili, A., Tola, S., Schianchi, G., Leori, S. G. 2012. Comparison of clinical findings, microbiological results, and farming parameters in goat herds affected by recurrent infectious mastitis. In *Small Ruminant Research* [online], vol. 102, no. 1, pp. 74-83. [cit. 2023-01-25]. ISSN 1879-0941. Dostupné na: https:/ /doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.08.013

McDougall, S., Supré, K., De Vliegher, S., Haesebrouck, F., Hussein, H., Clausen, L., Prosser, C. 2010. Diagnosis and treatment of subclinical mastitis in early lactation in dairy goats. In *Journal of Dairy Science* [online], vol. 93, no. 10, pp. 4710-4721. [cit. 2023-01-28]. ISSN 1525-3198. Dostupné na: https://www.journalofdairyscience.org/ article/S0022-0302(10)00502-3/fulltext

Mishra, A. K., Sharma, N., Singh, D. D., Gururaj, K., Abhishek, A., Kumar, V., Sharma, D. K. 2018. Prevalence and bacterial etiology of subclinical mastitis in goats reared in organized farms. In *Veterinary World* [online], vol. 11, no. 1, pp. 20-24. [cit. 2023-01-29]. ISSN 2231-0916. Dostupné na: https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.20-24

Moroni, P., Pisoni, G., Antonini, M., Ruffo, G., Carli, S., Varisco, G., Boettcher 2005b. Subclinical Mastitis and Antimicrobial Susceptibility of Staphylococcus caprae and Staphylococcus epidermidis Isolated from Two Italian Goat Herds. In *Journal of Dairy Science* [online], vol. 88, no.5,16941704. [cit. 2023-01-28]. ISSN 1525-3198. Dostupné na: https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72841-1

Moroni, P., Pisoni, G., Ruffo, G., Boettcher, P.J. 2005a. Risk factors for intramammary infections and relationship with somatic-cell counts in Italian dairy goats. In *Preventive Veterinary Medicine* [online], vol. 69, no. 3-4, pp. 163-173. [cit. 2023-01-29]. ISSN 0167-5877. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2004.10.013

Novac, C. S, Nadăs, G. C., Matei, I. A., Bouari, C. M., Kalmár, Z., Crăciun, S., Fit, N. I., Dan, S. D, Andrei, S. 2022. Milk Pathogens in Correlation with Inflammatory,Oxidative and Nitrosative Stress Markers in Goat Subclinical

Mastitis. In *Animals* [online], vol. 12, no.23:3245, [cit. 2023-01-25]. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/ani122 33245

Rainard, P., Gitoon, N., C., Chaumeil, T., Theirry, F., Huau, CH., Riou, M., Tosser-Klopp, G., Krupova, Z., Chaize, A., Gilbert, G. B., Rupp, R., Martin, P. 2018. Host factors determine the evolution of infection with Staphylococcus aureus to gangrenous mastitis in goats. In *Veterinary Research* [online], vol. 49, no. 72, [cit. 2023-02-02]. Dostupné na: https://doi.org/10.1186/s13567-018-0564-4

Rosa, N. M., Penati, M., Fusar-Poli, S., Addis, M. F., Tola, S. 2022. Species identification by MALDI-TOF MS and gap PCR–RFLP of non-aureus Staphylococcus, Mammaliicoccus, and Streptococcus spp. associated with sheep and goat mastitis. In *Veterinary Research* [online], vol. 53, no. 84, [cit. 2023-02-02]. Dostupné na: https://doi.org/10.1186/s13567-022-01102-4

Rupp, R., Huau, C., Caillat, H., Fassier, T., Bouvier, F., Pampouille, E., Clément, V., Palhiére, I., Larroque, H., Tosser-Klopp, G., Jacquiet, P., Rainard, P. 2019. Divergent selection on milk somatic cell count in goats improves udder health and milk quality with no effect on nematode resistance. In *Journal of Dairy Science* [online], vol. 102, no. 6, pp. 5242-5253. [cit. 2023-01-29]. ISSN 1525-3198. Dostupné na: https://doi.org/10.3168/jds.2018-15664

Silanikove, N., Leitner, G., Merin, U., Prosser, C. G., 2010. Recent advances in exploiting goat´s milk: Quality, safety and production aspects. In *Small Ruminants Research* [online], vol. 89, no. 2-3, pp. 110-124. [cit. 2023-01-25]. ISSN 1879-0941. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.12.033

Smistad, M., Sølverød, L., Inglingstad, R. A., Østerås, O. 2021. Distribution of somatic cell count and udder pathogens in Norwegian dairy goats. In *Journal of Dairy Science* [online], vol. 104, no 11, pp 11878-11888. [cit. 2023-01-28]. ISSN 1525-3198. Dostupné na: https://doi.org/10.3168/jds.2021-20549
Stilwell, G., 2016. Small ruminants´welfare assessment-Dairy goat as an example. In *Small Ruminant Research* [online], vol. 142, pp. 51-54. [cit. 2023-01-20]. ISSN 1879-0941. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.02.014
Taponen, S., Pyörälä, S. 2009. Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis-Not so different from *Staphylococcus aureus*?, In *Veterinary Microbiology* [online], vol. 134, no. 1-2, pp.29-36. [cit. 2023-01-26]. ISSN 1873-2542, Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.011
Turchi, B., Bertelloni, F., Marzoli, F., Cerii, D., Tola, S., Azara, E., Longheu, C. M., Tassi, R., Schiavo, M., Cillia, G., Fratini, F. 2020. Coagulase negative staphylococci from ovine milk: Genotypic and phenotypic characterization of susceptibility to antibiotics, disinfectants and biofilm production. In *Small Ruminant Research* [online], vol. 183, 106030. [cit. 2023-01-31]. ISSN 1879-0941. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.106030
Van de Brom., R, De Jong, A., Van Engelen, Heuvelink, A., Vellema, P. 2020. Zoonotic risks of pathogens from sheep and their milk borne transmission, In *Small Ruminant Research* [online], vol. 189, 106123. [cit. 2023-01-25]. ISSN 1879-0941. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106123
Vargas-Bello-Pérez, E., Tajonar, K., Foggi, G., Mele, M., Simitzis, P., Mavrommatis, A., Tsiplakou, E., Habib, Md. R., Gonzalez-Ronquillo, M., Toro-Mujica, P. 2022. Consumer attitudes toward dairy products from sheep and goats: A cross-continental perspective, In *Journal of Dairy Science* [online], vol. 105, no 11, pp 8718-8733. [cit. 2023-01-25]. ISSN1525-3198. Dostupné na: https://doi.org/10.3168/jds.2022-21894.
Windria, S., Salasia, S. I. O., Nugroho, W., Widayanti, R., Indarjulianto, S. 2021. Development of ELISA against milk haptoglobin for diagnosis of subclinical mastitis in goats. In *Heliyon* [online], roč. 183, [cit. 2023-02-01]. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06314
Zhao, Y., Liu, H., Zhao, X., Gao, Y., Zhang, M., Chen, D., 2015. Prevalence and pathogens of subclinical mastitis in dairy goat in China. In *Tropical Animal and Helth Production* [online], vol. 47, no. 2. pp. 429-435. [cit. 2023-02-01]. ISSN 1573-7438. Dostupné na: https://doi.org/10.1007/s11250-014-0742-y

Poďakovanie: Táto publikácia bola podporená projektom APVV-21-0134 „Subklinická mastitída u oviec a kôz: somatické bunky a morfológia vemena“, VEGA 1/0597/22 „Etiológia zmien počtu somatických buniek v mliečnej žľaze kôz: fyziologické a patologické aspekty“ a GA FAPZ 06/2023

Kontaktná adresa: Ing. Barbora Gancárová, Ústav chovu zvierat, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, e-mail: xgancarova@uniag.sk

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

VPLYV VEKU OTELENIA NA PRODUKCIU A ZLOŽENIE MLIEKA PRI DOJNICIACH NA PRVEJ LAKTÁCII
THE EFFECT OF CALVING AGE ON MILK PRODUCTION AND COMPOSITION OF DAIRY COWS IN FIRST LACTATION

Lucia Mačuhová, Vladimír Tančin, Juliana Mačuhová, Michal Uhrinčať

Abstract: The effect of the first calving age on milk yield and milk composition (content of lactose, fat, protein (%)) was evaluated in Holstein heifers on two farms (farm 1 and farm 2) in west part of Slovakia. Heifers were divided into four groups according to the age at the first calving: ≤ 25.00 months, from 25.01 to 28.00 months, from 28.01 to 31.99 months, and ≥ 32.00 months). The average age at the first calving was 26.07 and 24.20 months on farm 1 and farm 2, resp. 42 and 73 % animals calved first time in age ≤ 25 months, 44 and 22% in age between 25.01 and 28.00 months, 11 and 4% in age from 28.01 to 31.99 months and 3 and 1 % in age ≥ 32 months on farm 1 and farm 2, resp. The average milk production during 305 days of lactation was 8 270 and 9 245 kg on farm 1 and farm 2, resp. On both farms, no significant effects of the first calving age were found on milk production and composition. Milk production and age at the first calving cows depends mainly on management on the evaluated farms.
Keywords: cow, age calving, milk yield, milk composition

ÚVOD

Odchov jalovíc od narodenia po prvé otelenie je drahá investícia, ktorá potrebuje dlhší čas na vrátenie nákladov (Boulton et al., 2017). Dĺžka doby odchovu po prvé otelenie má priamy vplyv na celkové náklady na chov jalovíc (Gabler et al., 2000; Tozer a Heinrichs, 2001; Ettema a Santos, 2004; Boulton et al., 2015). Preto cieľom chovateľov je znížiť vek pri prvom otelení jalovíc, aby sa znížili náklady na ich odchov. Vek pri prvom otelení patrí medzi faktory, ktoré môžu ovplyvňovať produkciu, zloženie mlieka, plodnosť zvierat a závažnosť pôrodu (Hoffman., 1997; Van Amburgh et al.,1998; Pirlo et al., 2000; Ettema a Santos, 2004; Cooke et al., 2003; Wathes et al., 2008; Atashi et al., 2021). Redukcia veku pri prvom otelení o 1 mesiac znižuje náklady na odchov (krmivo, prácu, reprodukciu, zdravie, ustajnenie a atď.) o 4,3 % (Tozer a Heinrichs, 2001). Aby sa maximalizovala produkcia mlieka za laktáciu a znížili náklady na chov, odporúča sa priemerný vek pri prvom otelení pri holštajnskom plemene ≤ 24 mesiacov a dosiahnutie telesnej hmotnosti nad 560 kg po otelení (Heinrichs, 1993; Tozer a Heinrichs, 2001). Zvieratá s nižším vekom pri prvom otelení (22,6 mesiaca) a nižšou váhou produkovali menej mlieka a mali nižší obsah tuku v mlieku (Ettema a Santos, 2004).

Farmy zamerané na produkciu mlieka sa v poslednom období dostávajú pod zvýšený ekonomický tlak, nakoľko okrem zvýšených nákladov na krmivo, došlo aj k vysokému nárastu cien za energie a výkupné ceny za mlieko sú pomerne nízke. Toto má vplyv na pomalú návratnosť nákladov na odchov jalovíc cez produkciu mlieka. Dochádza tak k tlaku na znižovanie veku pri prvom otelení. Zároveň však je potrebné brať ohľad na to, že tieto zvieratá sú kľúčové pre budúcu produktivitu a ziskovosť farmy. Cieľom tejto práce bolo zistiť vplyv veku pri prvom otelení na produkciu mlieka a jeho zloženie pri kravách holštajnského plemena.

MATERIÁL A METODIKA

Údaje boli získané z databázy PLIS Plemenárskych služieb Slovenskej republiky. Zhodnotené boli dve farmy na západe Slovenska. Údaje z farmy 1 boli zozbierané z rokov 2013 až 2017 a z farmy 2 z rokov 2012 až 2018. Zvieratá zahrnuté do tejto štúdie boli holštajnského plemena s ukončenou prvou laktáciou. Trvanie laktácie je pri kravách rozličné, preto úžitkovosť

zvierat bola prepočítaná na 305 dňovú laktáciu. Hodnotené boli produkčné vlastnosti ako produkcia mlieka (kg) a jeho zloženie (tuk, bielkoviny, laktóza, %). Jalovice boli rozdelené do štyroch skupín podľa ich veku pri prvom otelení ≤ 25,00 mesiacov, od 25,01 do 28,00 mesiacov, od 28,01 do 31,99 mesiacov, ≥ 32,00 mesiacov).

Štatistické vyhodnotenie údajov sa uskutočnilo pomocou ANOVA a Tukeyho *post hoc* testu viacnásobným porovnaním s použitím proc mixed procedure SAS®9.4 oddelene pre každú farmu. Hladina významnosti bola zvolená na $p < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Priemerný vek pri prvom otelení na farme 1 bol 26,07 mesiacov (782 dní) a na farme 2 24,20 mesiaca (726 dní) (Tabuľka č. 1 a 2). Podobný vek pri prvom otelení ako na farme 1 (26,72 a 26,83 mesiaca) pozorovali aj Nilforooshan a Edriss (2004) a Atashi et al., (2012) pri Iránskom holštajnskom plemene. Rovnako ako Pirlo et al., (2 000) aj Eastham (2018) zistili pri Talianskych holštajsko-frízskych jaloviciach vyšší vek pri prvom otelení (28,12 a 29,1 mesiaca). Avšak Atashi et al., (2021) pri hoštajskom plemene zistili priemerný vek pri prvom otelení 25,34 mesiaca.

Na farme 1 a 2 bolo zvierat s vekom pri prvom otelení do ≤ 25 mesiacov 42 % a 73 %, medzi 25,01 a 28,00 mesiacom 44 a 22 % a vo veku od 28,01 do 31,99 mesiacov 11 % a 4 %. zvierat. Na rozdiel od pozorovaní Froidmont et al., (2013), ktorí zistili až 29 % zvierat, ktoré boli prvýkrát otelené až po veku 32 mesiacov a viac (čo je veľmi vysoké zastúpenie a poukazuje na neefektívne riadenie chovu), na hodnotenej farme 1 percentuálne zastúpenie zvierat, ktoré sa otelili vo veku 32 mesiacov a viac bolo len 3 % a na farme 2 dokonca len 1 %.

Tabuľka 1 Základná charakteristika súboru farma 1

Ukazovateľ	Priemer	SD	Min	Max
Vek pri prvom otelení, mesiac	26,07	2,2	22,03	35,2
Tuk, %	3,57	0,5	2,01	5,00
Bielkoviny, %	3,46	0,25	2,48	4,24
Laktóza, %	4,92	0,18	5,22	3,97

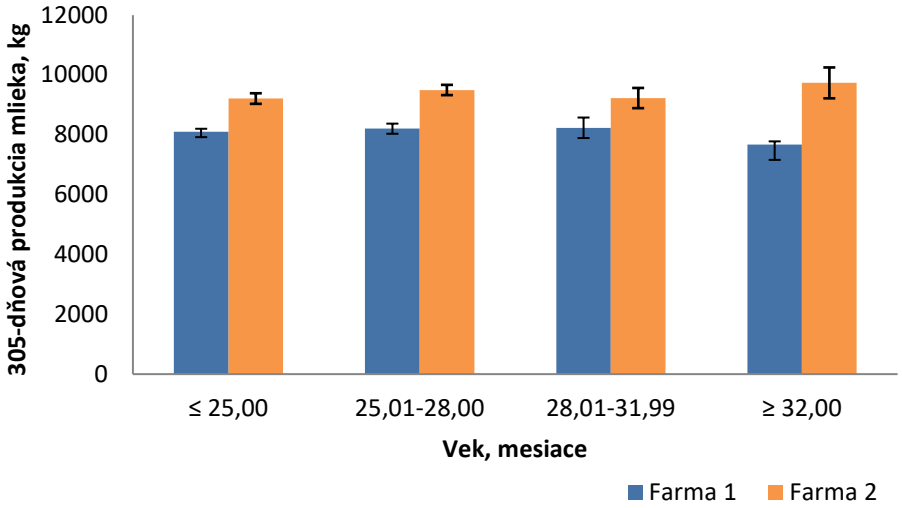
Tabuľka 2 Základná charakteristika súboru farma 2

Ukazovateľ	Priemer	SD	Min	Max
Vek pri prvom otelení, mesiac	24,2	1,94	20,53	33,07
Tuk, %	3,69	0,45	2,37	4,98
Bielkoviny, %	3,28	0,18	2,75	3,89
Laktóza, %	4,94	0,12	4,56	5,24

Atashi et al.,(2021) zistili, že viac ako 40 % zvierat sa prvýkrát otelilo medzi 23. a 25. mesiacom. Na nami hodnotených farmách to bolo na farme 2 o niečo viac (44 %) a na farme 1 o niečo menej zvierat (37 %). Zvierat, ktoré pri prvom otelení nedosiahli vek 23 mesiacov bolo na farme 1 5 % a na farme 2 29 %. Za najoptimálnejší vek pri prvom otelení pri holštajskom plemene z hľadiska maximálneho profitu sa považuje obdobie medzi 23. až 24. mesiacom (Heinrichs, 1993; Nilforooshan a Edriss, 2004). Aj v ďalších štúdiách (Mourits et al.,1999; Tozer a Heinrichs, 2001; Ettema a Santos, 2004) je odporúčaný vek pri prvom otelení, ktorý berie do úvahy biologické a aj finančné perspektívy chovu podobný a to 23 až 25 mesiacov. Aj Boulton et al., (2017) navrhujú za optimálny vek pri prvom otelení 24 mesiacov s tým, že musí

byť zabezpečená dostatočná, počiatočná výživa pre zvieratá, aby sa zabezpečila primeraná rýchlosť rastu (hodnotili spolu aj iné plemená ako holštajnske).

Podľa zdrojov zo zahraničnej literatúry neskorší vek jalovíc pri prvom otelení mal pozitívny vplyv na produkciu mlieka (Pirlo et al., 2000, Atashi et al., 2021). Vplyv veku pri prvom otelení na celkový nádoj pri 305 dňovej normovanej laktácii na hodnotených farmách je znázornený na Grafe 1. Ani na jednej z fariem sa nezistili preukazné rozdiely v produkcii mlieka vplyvom veku jalovíc pri prvom otelení. Priemerná produkcia mlieka pri 305 dňovej laktácii bola 8 270 kg na farme 1 a 9 245 kg na farme 2. Iba číselne bola na farme 1 najvyššia produkcia mlieka pozorovaná pri zvieratách pri veku prvého otelenia od 28,01 do 31,99 mesiaca a na farme 2 pri veku ≥ 32 mesiacov. Ettema et al., (2004) zistili, že vek pri prvom otelení nižší ako 700 dní (23,33 mesiaca) sa negatívne prejavil na produkcii a zložení mlieka. Aj výsledky zaznamenané v štúdii Nilforooshana a Edrissa (2004) potvrdzujú negatívny vplyv skorého veku pri prvom otelení (do 21 mesiaca) na produkciu mlieka a obsah tuku.

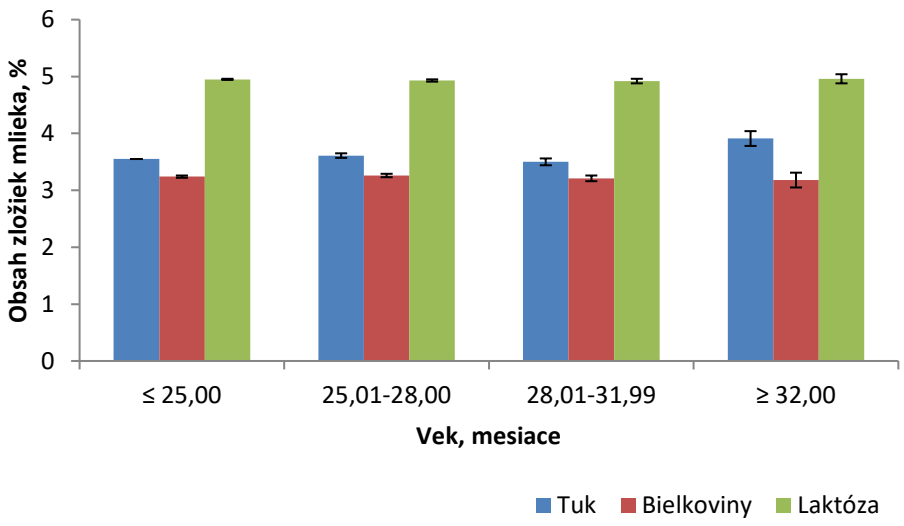


Graf 1 305-dňová produkcia mlieka v závislosti od veku pri prvom otelení na farme 1 a 2 (nepreukazný vplyv veku ($p > 0,05$) na oboch farmách)

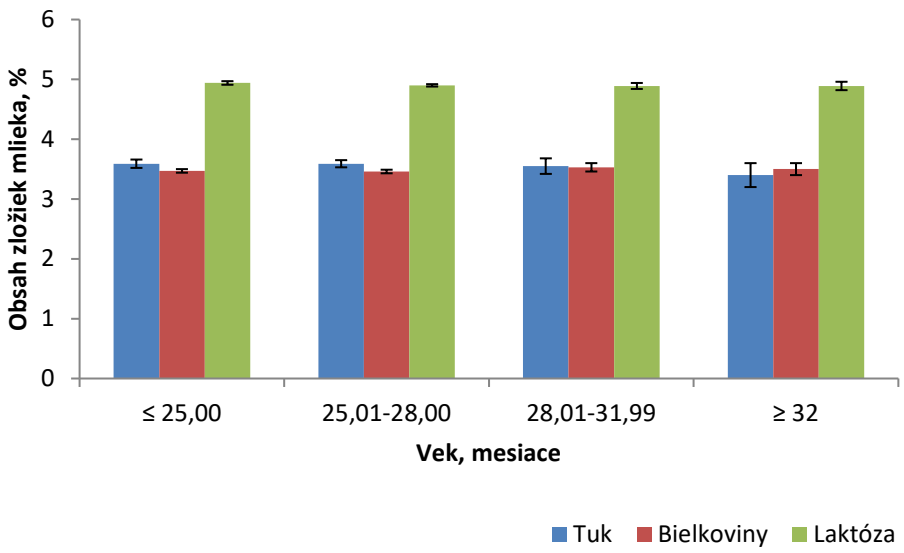
Čo sa týka zloženia mlieka, na farme 1 bol zistený priemerný percentuálny obsah tuku na úrovni 3,57 % a bielkovín 3,46 % a na farme 2 3,69 % a 3,28 % (Tabuľka 1 a 2). V porovnaní so zdrojmi z literatúry sú tieto hodnoty obsahu bielkovín vyššie ako boli pozorované v štúdii Atashiho et al., (2021) a Pirloho et al., (2000).

Ako pri produkcii mlieka, ani v zložení mlieka (percentuálny obsah tuku, bielkovín a laktózy) neboli pozorované žiadne významné rozdiely vplyvom veku pri prvom otelení (Graf 2 a 3). Pirlo et al., (2000) zistili mierne pozitívny vplyv na obsah tuku. Pri percentuálnom obsahu bielkovín na prvej laktácii zistili, že vek pri prvom otelení mal mierne negatívny vplyv, teda zvieratá skôr otelené mali vyšší obsah bielkovín. Avšak ani v štúdii Atashiho et al., (2021) nebol zistený vplyv veku pri prvom otelení na obsah bielkovín v mlieku.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp



Graf 2 Obsah jednotlivých zložiek mlieka v závislosti od veku pri prvom otelení na farme 1 (nepreukazný vplyv veku (p > 0,05) pri všetkých zložkách)



Graf 3 Obsah jednotlivých zložiek mlieka v závislosti od veku pri prvom otelení na farme 2 (nepreukazný vplyv veku (p > 0,05) pri všetkých zložkách)

ZÁVER

Na záver môžeme konštatovať, že nami hodnotený vek pri prvom otelení sa na produkcii a zložení mlieka (percentuálny obsah tuku, bielkovín, laktózy) na sledovaných farmách neprejavil. Z porovnania hodnotených fariem vyplýva, že do značnej miery na veku pri prvom otelení a nádoj vplýva manažment chovu na hodnotenej farme.

LITERATÚRA

Atashi, H., Zamiri, M. J., Sayyadnejad, M. B., Akhlaghi, A. 2012. Trends in the reproductive performance of Holstein dairy cows in Iran. In *Tropical Animal Health and Production*, no. 44, 2001-2006.

Boulton, A. C, Rushton, J., Wathes, D. C., 2015. A study of dairy heifer rearing practices from birth to weaning and their associated costs on UK dairy farms. In *Open Journal of Animal Sciences*; vol. 5, pp. 185–197.

Boulton A, Rushton J, Wathes D., 2017. An empirical analysis of the cost of rearing dairy heifers from birth to first calving and the time taken to repay these costs. In *Animal*, vol. 11, no. 8, 1372–80. https://doi.org/10.1017/S1751731117000064 PMID: 28173887
Cooke J. S, Cheng Z, Bourne N. E, Wathes D. C. 2013. Association between growth rates, age at first calving and subsequent fertility, milk production and survival in Holstein-Friesian heifers. In *Open Journal of Animal Science*, vol. 3: 1-12.
Eastham, N. T., Coates, A., Cripps, P., Richardson, H., Smith, R., Oikonomou, G. 2018. Associations between age at first calving and subsequent lactation performance in UK Holstein and Holstein-Friesian dairy cows. In *PloS one*, vol. 13, no. 6, e0197764.
Ettema, J. F., Santos, J. E. P. 2004. Impact of age at calving on lactation, reproduction, health, and income in first-parity Holsteins on commercial farms. In *Journal of Dairy Science*, vol. 87, no. 8, 2730-2742.
Froidmont, E., Mayeres, P., Picron, P., Turlot, A., Planchon, V., Stilmant, D. 2013. Association between age at first calving, year and season of first calving and milk production in Holstein cows. In *Animal*, vol. 7, no. 4, 665-672.
Gabler, M. T., Tozer, P. R., Heinrichs, A. J. 2000. Development of a cost analysis spreadsheet for calculating the costs to raise a replacement dairy heifer. In *Journal of Dairy Science*, vol. 83, no. 5, 1104-1109. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74975-7
Heinrichs, A. J. 1993. Raising dairy replacements to meet the needs of the 21st century. *Journal of Dairy Science*, 76(10), 3179-3187.
Hoffman, P. C., 1997. Optimum body size of Holstein replacement heifers. In *Journal of Animal Science*, vol. 75, 836–845.
Mourits, M. C. M., Huirne, R. B. M., Dijkhuizen, A. A., Kristensen, A. R., Galligan, D. T. 1999. Economic optimization of dairy heifer management decisions. In *Agricultural systems*, vol. 61, no. 1, 17-31.
Nilforooshan, M. A., Edriss, M. A. 2004. Effect of age at first calving on some productive and longevity traits in Iranian Holsteins of the Isfahan province. In *Journal of Dairy Science*, vol. 87, no. 7, 2130-2135.
Pirlo, G., Miglior, F., Speroni, M. 2000. Effect of age at first calving on production traits and on difference between milk yield returns and rearing costs in Italian Holsteins. In *Journal of Dairy Science*, vol. 83, no. 3, 603-608.
Tozer, P. R., Heinrichs, A. J. 2001. What affects the costs of raising replacement dairy heifers: A multiple-component analysis. In *Journal of Dairy Science*, vol. 84, no. 8, 1836-1844. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01) 74623-1 PMID: 11518308
Van Amburgh, M. E., Galton, D. M., Bauman, D. E., Everett, R. W., Fox, D. G., Chase, L. E., Erb, H. N. 1998. Effects of three prepubertal body growth rates on performance of Holstein heifers during first lactation. In *Journal of Dairy Science*, vol. 81, no. 2, 527-538.
Wathes, D. C., Brickell, J. S., Bourne, N. E., Swali, A., Cheng, Z. 2008. Factors influencing heifer survival and fertility on commercial dairy farms. In *Animal*, vol. 2, no. 8, 1135-1143. https://doi.org/10.1017/S175173 1108002322

Poďakovanie: Táto publikácia vznikla vďaka podpore Agentúry na podporu výskumu a vývoja č. APVV-18-0121 „Vplyv zvieraťa a faktorov prostredia na produkciu mlieka a zdravie vemena dojníc na Slovensku" a s podporou v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Tvorba nukleových stád dojníc s požiadavkou na vysoký zdravotný status cestou využitia genomickej selekcie, inovatívnych biotechnologických metód a optimálneho manažmentu chovu (NUKLEUS) 313011V387, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Kontaktná adresa: Lucia Mačuhová, NPPC – Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky, lucia.macuhova@nppc.sk
Vladimír Tančin, prof. Ing., DrSc., NPPC-Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 95141 Lužianky, SPU – FAPZ Ústav chovu zvierat, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, vladimir.tancin@nppc.sk
Michal Uhrinčať, NPPC – Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky, michal.uhrincat@nppc.sk
Juliana Mačuhová, Institute for Agricultural Engineering and Animal Husbandry, Vöttinger Str. 36, 85354 Freising, Germany

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

QUALITY PROPERTIES OF SHEEP MILK CHEESES WITH WILD GARLIC

Dorota Najgebauer-Lejko, Agnieszka Pluta-Kubica, Jacek Domagała, Katarzyna Turek, Iwona Duda, Maria Walczycka, Jozef Golian, Jana Štefániková

Abstract: The aim of the study was to estimate the effect of wild garlic (*Allium ursinum* L.) addition on the physicochemical properties of soft rennet cheeses produced from sheep milk. Air-dried leaves of wild garlic were added to cheese grain (0.5 %, w/w). Cheeses were analysed for chemical composition, degree of proteolysis (OPA value) and lipolysis (FFA), antioxidant properties (anti-radical power against DPPH radical [ARP] and ferric reducing ability parameter [FRAP]), microbiological and sensory quality. Obtained results revealed that fortification with wild garlic resulted in lower moisture content in cheeses without altering the concentration of fat, protein, ash and salt. Moreover, microbiological quality, pH and water activity of cheeses were not affected by the supplementation with herbs. On the other hand, it increased antioxidant parameters. Herbal cheeses were also more prone to proteolysis and lipolysis as indicated by the higher OPA values and FFA content when compared to natural (plain) cheeses.

Keywords: soft cheese, chemical composition, sensory quality, microbiological quality, fatty acid profile, antioxidant properties, proteolysis and lipolysis

INTRODUCTION

Sheep milk, when compared to cow or goat milk, is richer in nutrients, especially it has high protein and casein contents, which makes it an excellent raw material for cheese production. In Poland, about 220,000 sheep are bred mainly in the ecologically clean mountain areas (Ptasińska-Marcinkiewicz, 2014). However, the amount of collected milk is relatively small and amounts to about 100 tons per year, of which approximately 70 % is used for cheese production. Among cheeses produced from ewes milk in Poland Oscypek, Redykolka and Bryndza Podhalańska (PDO cheeses) are the most popular. In France, milk of Lacaune sheep breed is used for the production of Roquefort cheese (Najgebauer-Lejko et al., 2022a). Bear (wild) garlic (*Allium ursinum* L.) is a wild edible plant popular in folk medicine, cuisine and as a food additive in Northern and Central Europe and North Asia. It is rich in many bioactive substances, such as vitamins, minerals, volatiles, antimicrobial and antioxidant compounds (Sobolewska et al., 2015). Herbs, including wild garlic, are added to some cheeses, e.g. Turkish Otlu peynir or Polish Koryciński Cheese to impart flavor and to prolong shelf-life (Najgebauer-Lejko et al. 2022b). In that light, the aim of the present study was to estimate the effect of wild garlic (*Allium ursinum* L.) addition to the cheese grain (0.5%, w/w), on the selected physicochemical properties of soft rennet cheeses produced from sheep milk.

MATERIAL AND METHODOLOGY

Soft cheese was produced using a previously described method of production with minor modifications (Pluta-Kubica et al., 2022). The curd was separated into two groups prior molding. Half of it was intended for production of natural cheese (N). The rest of the curd was gently mixed with wild garlic leaves (5 $g.kg^{-1}$ of the curd) (H). The cheeses were individually packed in LLDPE film.

The cheeses were analysed for contents of water (ISO 5534:2004), fat (ISO 3433:2008), protein, ash and NaCl (AOAC, 2007), as well as for water activity (ISO 18787:2017). A pH-meter was used to assess the acidity of cheese. Color, external and cross-sectional appearance, texture, odor and taste were evaluated by trained panelists using a 5-point scale (from 1 – the least desirable, to 5 – the most desirable). The overall quality was calculated using the following

indices of importance: 0.15, 0.20, 0.15, 0.25 and 0.25, respectively (Baryłko-Pikielna and Matuszewska, 2014). *Lactococcus* count (Ong and Shah, 2009), yeast and mold count (PN-ISO 21527-1:2009), and coliform count (PN-ISO 4832:2007) were determined aerobically by the plate count technique. The degree of proteolysis was evaluated using o-phthaldialdehyde (OPA) spectrophotometric assay and lipolysis by estimation of the free fatty acid (FFA) content. Antioxidant capacity of cheese was assessed by means of two methods: ferric reducing antioxidant parameter (FRAP, performed on aqueous-ethanolic cheese extract) and anti-radical power against DPPH radical (ARP, performed after incubation of cheese sample with methanolic DPPH solution) (Najgebauer-Lejko et al., 2022b). All chemical analyses were done in triplicates and results were subjected to the statistical analysis – test t (Statistica, 13.3, TIBCO Software Inc., USA) at $p \leq 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Obtained natural and herbal cheeses were characterised by the following average chemical composition (g.100 g^{-1}): moisture 53.8 vs. 50.5; fat 22.7 vs. 20.5; protein 17.2 vs. 19.2; salt 1.0 vs. 0.9; ash 2.68 vs. 2.85 and the only significant difference was stated for moisture content ($p \leq 0.05$). Similar results were observed in our previous work devoted to the effect of bear garlic addition on the selected properties of cheese produced from cow milk (Najgebauer-Lejko et al., 2022b) and we proposed that lower moisture content in herbal cheese may be the effect of more intense processing during addition of herbs to the cheese grain, which promoted whey separation. Microbiological quality of cheese was not affected by the wild garlic fortification: the number of mesophilic cocci was in the range of 8.84 – 8.97 log cfu.g^{-1}, whereas yeast, moulds and coliform bacteria were not detected in any of the samples. The same was observed for pH (4.58 – 4.64) and water activity (0.966 – 0.971) values which did not differ greatly between cheeses with and without added herbs.

Supplementation of cheese with bear garlic had no significant inluence on the calculated overall sensory quality when compared to natural/plain cheeses (4.67 vs. 4.73 in a 5-point scale). Among all assessed sensory features, i.e., color, external and cross-sectional appearance, texture, odor and taste, the only significant difference between both cheese types was noticed for texture – in this case the note for the herbal cheese was 0.45 lower than for the plain treatment. The results are partiallly in agreement with our previous findings (Pluta-Kubica et al., 2022) in which addition of dried leaves of bear garlic did not significantly influence sensory characteristics of soft rennet cheeses produced from cow milk.

On the contrary, differences between both cheese types were found in the degree of proteolysis and lipolysis. OPA value in cheese increased upon supplementation with bear garlic by 40 %, while the concentration of free fatty acids increased from 28.9 to 32.7 meq.kg^{-1} fat. The same phenomenon was observed by Coşkun and Tunçtürk (2000) as wild garlic addition in the pickled form to cheese grain promoted proteolysis and lipolysis in rennet ripened herby cheese. The authors suggest that more pronounced proteolysis or lipolysis may result from the promoted growth of selected microorganisms, particularly yeasts and molds. However, in our study microbiological evaluation indicate that added dried herbs did not affect count of microorganisms, including yeast and molds, in cheeses.

Addition of dried bear garlic leaves increased also significantly antioxidant capacity measured using FRAP method (0.039 mmol Fe^{2+}/100 g^{-1} vs. 0.055 mmol Fe^{2+}/100 g^{-1}, respectively in natural and herbal cheese), whereas observed slight increase of ARP value was not statistically significant. These results are not consistent with the results of Çelik et al. (2008), who reported that thiol-type antioxidant compounds present in wild garlic do not react sufficiently in FRAP assay. On the contrary, according to the results obtained by Kose and Ocak (2020) herbs, such as *Allium vineale* L., *Chaerophyllum macropodum* Boiss., *Ferula*

rigidula DC., increased total phenolic concentration and radical scavenging activity against DPPH radical in Herby sheep cheese.

CONCLUSION

Addition of 0.5 % of dried bear garlic leaves to the cheese grain during production of soft rennet cheeses from sheep milk increased antioxidant parameters and degree of proteolysis and lipolysis of the final product without altering its microbiological and sensory quality. Therefore, it can be successfully added to fresh soft cheeses as flavoring rather than preservation agent. However, further studies are needed to track changes during cheese storage or ripening and to evaluate possible health benefits of supplementation, such as the influence on fatty acid and amino acid profiles etc.

REFERENCES

AOAC. 2007. Official Methods of Analysis of AOAC International (18th Ed.). Chapter 33. Dairy Products.

Baryłko-Pikielna N., Matuszewska I. 2014. Rozdział 10. Metody sensorycznej analizy opisowej. Wydawnictwo Naukowe PTTŻ, Kraków.

Çelik S. E., Özyürek M., Altun M., Bektaşoğlu B., Güçlü K., Berker K. I., Özgökçe F., Apak' R. 2008. Antioxidant capacities of herbal plants used in the manufacture of Van herby cheese: 'Otlu peynir'. *Int. J. Food Prop., 11*, 747-761.

Coşkun, H.; Tunçtürk, Y. 2000. The effect of *Allium* sp. on the extension of lipolysis and proteolysis in Van herby cheese during maturation. *Nahrung, 44*, 52-55.

ISO18787:2017. 2017. Foodstuffs — Determination of water activity. ISO, Geneva, Switz.

ISO3433:2008. 2008. Cheese – Determination of fat content – Van Gulik method. Int. Organ. Stand. Geneva, Switz. 3433.

ISO5534:2004. 2004. Cheese and processed cheese - Determination of the total solids content. ISO, Geneva, Switz.

Kose S., Ocak E. 2020. Determination of antioxidant and antimicrobial activity of Herby cheese. *J. Food Process. Preserv. 44(11)*: e14841.

Najgebauer-Lejko D., Domagała J., Walczycka M. 2022a. Traditional Cheeses from the Malopolska Region. *Cultural Heritage—Possibilities for Land-Centered Societal Development*, 171-190.

Najgebauer-Lejko D., Pluta-Kubica A., Domagała J., Turek K., Duda I., Golian J. 2022b. Effect of bear garlic addition on the chemical composition, microbiological quality, antioxidant capacity, and degree of proteolysis in soft rennet cheeses produced from milk of Polish Red and Polish Holstein-Friesian cows. *Molecules*, *27*(24), 8930.

Ong L., Shah N. P. 2009. Probiotic Cheddar cheese: Influence of ripening temperatures on survival of probiotic microorganisms, cheese composition and organic acid profiles. *LWT Food Sci. Technol*., 42, 1260–1268.

Pluta-Kubica A., Najgebauer-Lejko D., Domagała J., Štefániková J., Golian J. 2022. The effect of cow breed and wild garlic leaves (*Allium ursinum* L.) on the sensory quality, volatile compounds, and physical properties of unripened soft rennet-curd cheese. *Foods*, 3948. doi:10.3390/ foods11243948.

PN-ISO 21527-1:2009. Microbiology of Food and Animal Feeding stuffs—Horizontal Method for the Enumeration of Yeasts and Moulds—Part 1: Colony Count Technique in Products with Water Activity Greater than 0.95; International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2009.

PN-ISO 4832:2007. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs—Horizontal Method for the Enumeration of Coliforms—Colony count Technique; International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2009.

Ptasińska-Marcinkiewicz J. 2014. Hodowla owiec i produkcja mleka owczego w Polsce i na świecie. *Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie/Cracow Review of Economics and Management*, 3 (927), 43-55.

Sobolewska D., Podolak I., Makowska-Was, J. 2015. *Allium ursinum*: Botanical, phytochemical and pharmacological overview. *Phytochem. Rev.*, 14, 81–97.

Contact address: Dorota Najgebauer-Lejko, Department of Animal Product Technology, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow, Mickiewicza 21, 31-120, Krakow, Poland, e-mail: dorota.najgebauer-lejko@urk.edu.pl

Agnieszka Pluta-Kubica, Jacek Domagała, Katarzyna Turek, Iwona Duda, Maria Walczycka, Department of Animal Product Technology, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow, Mickiewicza 21, 31-120, Krakow, Poland,

Jozef Golian, Department of Food Hygiene and Safety, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

Jana Štefániková, AgroBioTech Research Centre, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

UKAZOVATELE MLIEKOVEJ ÚŽITKOVOSTI V ZÁVISLOSTI OD POČTU SOMATICKÝCH BUNIEK A SEZÓNY
MILK YIELD AND ITS COMPOSITION TRAITS IN DEPENDENCE ON SOMATIC CELL COUNT AND SEASON

Marta Oravcová, Maroš Čobirka, Vladimír Tančin, Lucia Mačuhová, Michal Uhrinčať

Abstract: The objective was to analyse the influence of somatic cell count (SCC) on milk yield and its composition (fat, protein and lactose contents) in Holstein cows. Data of primiparous (4,866 records) and multiparous cows (6,011 records) were analysed separately using mixed model methodology. In addition to SCC class, factors as parity (included only for multiparous cows), month in milk, control year, season of sampling (fixed components) and cow (random component) were considered. Almost all fixed factors showed significant influence on investigated traits, except for control year and season that appeared both significant or insignificant. With increasing SCC, milk yield and lactose content clearly decreased; contrariwise, fat and protein contents increased. With season, no clear pattern was revealed: milk yield in second to fourth parity was highest in spring (evenly decreasing through summer and autumn to winter); first parity milk yield was also highest in spring (decreasing to minimum in summer/ autumn and reversely increasing in winter); similarly, milk components were of unsteady trends. Further research is needed, nevertheless, separate analyses might be useful in studying similarities and dissimilarities between milk traits of primiparous and multiparous cows.
Keywords: Holstein, milk production, somatic cell score, mixed models

ÚVOD

Počet somatických buniek (PSB) je indikátorom zdravotných problémov vemena, i keď nie výlučným. Čím vyšší je PSB, tým pravdepodobnejší je výskyt mastitíd (Hand et al., 2012), i napriek tomu, že nie každá krava s vysokým PSB v mlieku, trpí zápalom vemena. V porovnaní s ovcami a kozami, sa predpokladá, že PSB v kravskom mlieku závisí menej od fyziologických faktorov a viac ho ovplyvňuje prítomnosť patogénov (Smistad et al., 2021). Problémy vemena sa prejavujú zmenami v jeho štruktúre a funkcii; majú za následok zmeny v množstve vydojeného mlieka i v jeho zložení (Rajčevič et al., 2003). Náklady na výrobu mlieka rastú z roka na rok (aj v súvislosti s riešením zdravotných problémov), preto je potrebné, aby mali chovatelia k dispozícii postupy, ktoré im pomôžu vyrovnať sa s touto situáciou (Mariani et al., 2022). Nižšia kvalita mlieka má vplyv na ekonomickú efektívnosť chovu.

Medzi významné faktory, ktoré ovplyvňujú množstvo mlieka a obsah mliečnych zložiek patria okrem PSB plemeno, farma, vek, poradie a mesiac laktácie, rok a sezóna merania. Podľa Rajčeviča et al., (2003) rok a sezóna zahŕňajú nielen vplyv klimatických podmienok, ale aj kŕmnej dávky a jej zloženia, resp. schopnosti príjmu krmív organizmom.

Cieľom práce bolo preskúmať vplyv PSB a sezóny merania na premenlivosť dennej produkcie mlieka a jeho zložiek: obsah tuku, bielkovín a laktózy. Osobitne sme analyzovali prvú a druhú až štvrtú (2+) laktáciu so zámerom naznačiť podobnosti a rozdielnosti medzi prvôstkami a kravami na vyšších laktáciách. V analýzach sme prihliadli aj na ďalšie vplyvy.

MATERIÁL A METODIKA

Analyzovali sme údaje z rutinného testovania holštajnských kráv v rokoch 2018 a 2019, výkonom ktorého sú na Slovensku poverené Plemenárske služby. Do hodnotenia bolo zaradené stádo 621 kráv, k dispozícii sme mali 10 877 kontrolných záznamov; 4 866 záznamov bolo

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

z prvej laktácie a 6 011 z druhej, tretej a štvrtej laktácie. Priemerný počet denných nádojov bol 9,5 (prvá laktácia), resp. 7,8 (2+ laktácie). Vzorky mlieka (denný nádoj) boli odoberané raz za mesiac; obsah tuku, bielkovín a laktózy bol stanovený prístrojom MilkoScan FT120 (Foss, Hillerod, Dánsko); počet somatických buniek (PSB) bol stanovený prístrojom Fossomatic 90 (Foss Electric, Hillerod, Dánsko) po zahriatí na 40 °C po dobu 15 min.

Na výpočty sme použili štatistický program SAS Studio 3.8 (2022), procedúru MIXED. Osobitne sme hodnotili a) prvú laktáciu a b) druhú, tretiu a štvrtú (2+) laktácie. Štatistický model pre prvú laktáciu zahrnoval pevné faktory: trieda PSB (do 200 tis./ml, 200 tis.<400 tis., 400 tis.<600 tis., 600 tis.<1 mil., 1 mil. a viac), mesiac laktácie (1, 2, ... 10), kontrolný rok (2018 a 2019), sezóna merania (jar: marec až máj, leto: jún až august, jeseň: september až november, zima: december až február). Štatistický model pre 2+ laktáciu zahrňoval okrem uvedených faktorov aj poradie laktácie (2, 3, 4). Oba modely obsahovali náhodnú zložku: vplyv kravy a chybu merania.

Pevné faktory boli odhadnuté metódou najmenších štvorcov, ich významnosť bola posúdená Fisherovým F-testom. Na posúdenie významnosti rozdielov medzi jednotlivými úrovňami každého faktora sme použili Schefféhо test.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky analýzy rozptylu (tabuľka 1 a 2) ukázali významný vplyv faktorov PSB a mesiac laktácie pri všetkých ukazovateľoch; čo je v súlade s poznatkami autorov Atasever a Stádník, (2015), Cerón-Munoz et al., (2002), Tančin et al., (2022). Pri hodnotení prvej laktácie mal rok kontroly významný vplyv iba na obsah laktózy. Pri hodnotení 2+ laktácií mal okrem kontrolného roka (nevýznamný vplyv na obsah tuku), nevýznamný vplyv aj faktor sezóna, avšak iba na obsah bielkovín; vplyv poradia laktácie bol na hranici významnosti pri obsahu tuku (P=0,06). Ceyhan et al., (2015), ktorí analyzovali 1. a 2. laktáciu zistili významný vplyv poradia laktácie pri všetkých ukazovateľoch; podobne sa vplyv laktácie ukázal ako významný v našej predchádzajúcej štúdii (Oravcová et al., 2022).

Tabuľka 1 Analýza rozptylu (model pre 1. laktáciu 1)

Ukazovateľ/Faktor	Trieda SCC	Mesiac l. [1]	Rok	Sezóna
Mlieko (kg)	**	**	-	**
Tuk (%)	**	**	-	**
Bielkoviny (%)	**	**	-	**
Laktóza (%)	**	**	**	**

[1] – mesiac laktácie; ** – P<0,01; - – P>0,05

Tabuľka 2 Analýza rozptylu (model pre 2., 3. a 4. laktáciu)

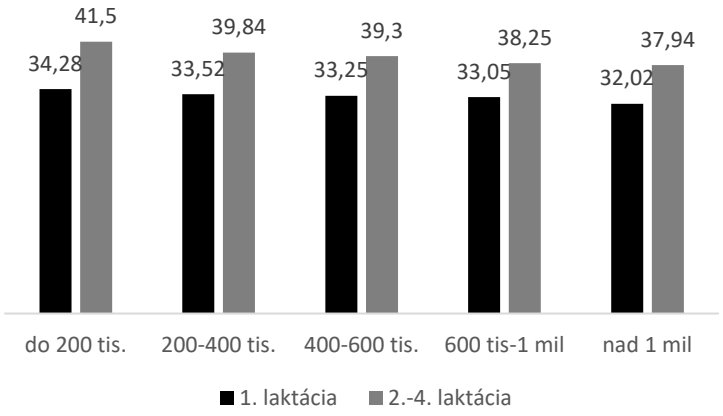
Ukazovateľ/Faktor	Trieda SCC	Mesiac l. [1]	Rok	Sezóna	Laktácia
Mlieko (kg)	**	**	**	**	**
Tuk (%)	**	**	-	**	-
Bielkoviny (%)	**	**	*	-	**
Laktóza (%)	**	**	**	**	**

[1] – mesiac laktácie; ** – P<0,01; * – P<0,05; - – P>0,05

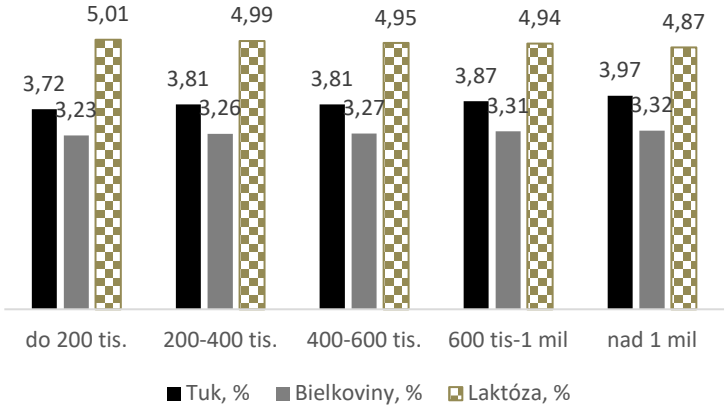
Faktory poradie laktácie (pri druhej a ďalších laktáciách), mesiac laktácie, kontrolný rok sme do analýz zahrnuli z dôvodu oddelenia ich vplyvu od vplyvu triedy PSB a sezóny merania. Tieto dva faktory hodnotíme v ďalšom texte podrobne.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Závislosť ukazovateľov mliekovej úžitkovosti od triedy PSB je graficky znázornená na obrázku 1, 2 a 3: 1. a 2+ laktácie osobitne. Pri produkcii mlieka a obsahu laktózy (v oboch analýzach) sa potvrdila negatívna závislosť, t. j. s rastúcim PSB sa znižoval denný nádoj a obsah laktózy. Podobné zistenia publikovali El-Tahawy a El-Fa (2010), Kul et al., (2019), Mariani et al., (2022). Za príčinu tohto javu možno podľa Bezmana et al., (2015) a Bobba et al., (2017) považovať prítomnosť patogénov v mlieku. Obsah tuku a bielkovín sa s rastúcim PSB zvyšoval. K podobnému zisteniu dospeli Cinar et al., (2015); títo autori však zistili významný vplyv triedy PSB iba na obsah bielkovín. K vyšším rozdielom v obsahu tuku a bielkovín medzi jednotlivými triedami PSB dospeli Silva da et al., (2018). Kul et al., (2019) zistili rastúci trend obsahu tuku a bielkovín v triedach PSB od 100 tis. do 500 tis./ml, v triede PSB nad 500 tis./ml zaznamenali pokles pri oboch ukazovateľoch. Bobbo et al., (2017) v súvislosti so zvyšujúcim sa PSB uvádzajú jeho škodlivý účinok na technologické vlastnosti mlieka (predovšetkým spomalenie zrážanlivosti). Rozdielne výsledky oproti tejto štúdii zaznamenali aj Marinov et al., (2021), ktorí zistili najvyššiu produkciu mlieka v triede PSB nad 1 mil./ml. Odôvodnili to tým, že do tejto triedy PSB mohlo byť zaradené stádo s najvyššou mliekovou úžitkovosťou, ako aj nádoje zo začiatku laktácie, ktoré majú tendenciu byť vyššie; z hľadiska výskytu mastitíd ide o rizikové obdobie.

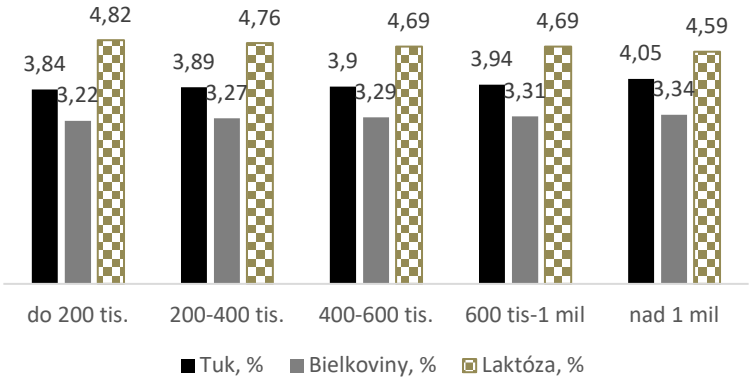


Obrázok 1 Odhadnuté priemery denného nádoja (kg) v závislosti od triedy PSB (1. a 2. až 4. laktácia osobitne)



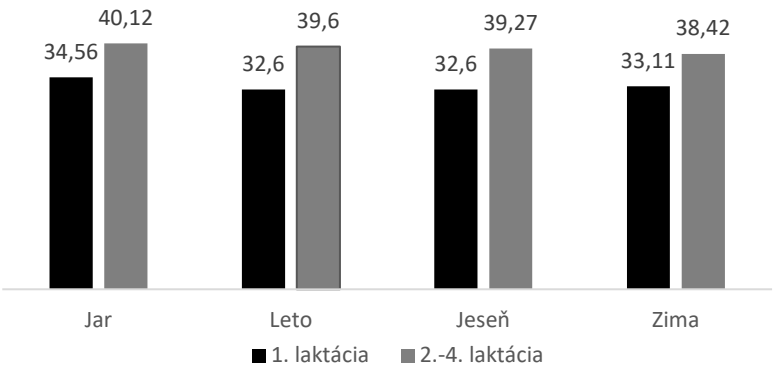
Obrázok 2 Odhadnuté priemery obsahu tuku, bielkovín, laktózy v závislosti od triedy PSB (1. laktácia)

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

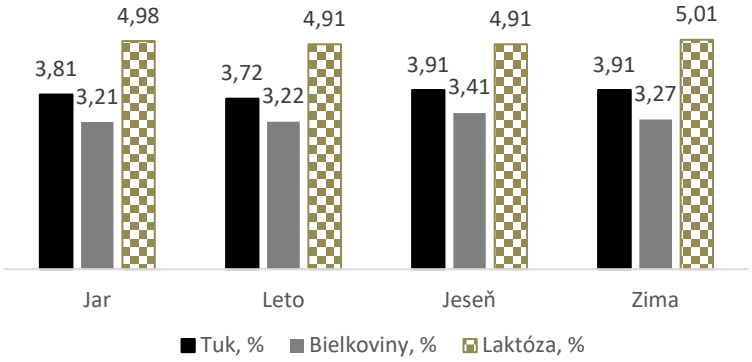


Obrázok 3 Odhadnuté priemery obsahu tuku, bielkovín, laktózy v závislosti od triedy PSB (2. až 4. laktácia)

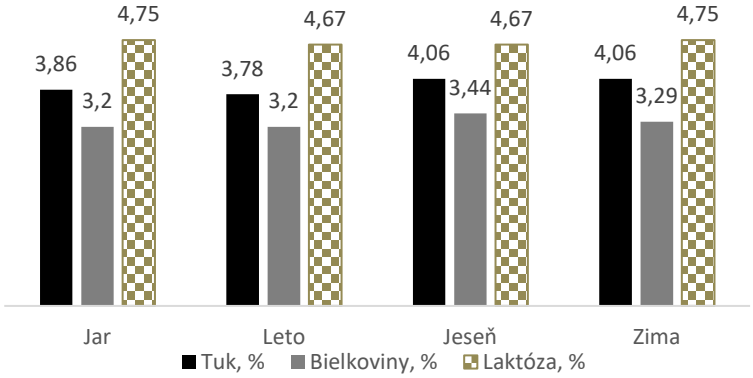
Závislosť sledovaných ukazovateľov mliekovej úžitkovosti od sezóny merania je graficky znázornená na obrázku 4, 5 a 6 (1. a 2+ laktácie osobitne). Významný vplyv sezóny merania a potrebu jej zaradenia do analýz zistili El-Tahawy a El-Far (2010), Bertocchi et al., (2014), Mariani et al., (2022). V prvej laktácii mali slovenské kravy najnižší denný nádoj počas leta a jesene (medzi týmito nádojmi bol nevýznamný rozdiel), v 2+ laktáciách sme zistili najnižší nádoj v zimnom období. K rovnakým poznatkom dospeli Marinov et al., (2021). Trend v obsahu laktózy v závislosti od sezóny merania viac-menej kopíroval trend v dennom nádoji (s najnižšími hodnotami počas leta a jesene). Obsah tuku bol najnižší počas leta a najvyšší počas jesene a zimy (v oboch analýzach); obsah bielkovín bol najnižší počas jari a leta, najvyšší počas jesene (v oboch analýzach). Bertocchi et al., (2014) zaznamenali vyššie hodnoty obsahu tuku a bielkovín v jesennom a zimnom období, najnižšie v lete. V porovnaní s našou štúdiou El-Tahawy a El-Far (2010) zaznamenali odlišný trend v obsahu laktózy (najvyššia hodnota v lete, najnižšia na jeseň). Rajčevič et al., (2003) naznačili, že faktor sezóna okrem klimatických podmienok odráža nielen zmeny v kŕmnej dávke, ale aj v príjme krmív, ktorý sa pri vysokých teplotách (nad 30 ºC) môže znižovať.



Obrázok 4 Odhadnuté priemery denného nádoja (kg) v závislosti od sezóny (1. a 2. až 4. laktácia osobitne)



Obrázok 5 Odhadnuté priemery obsahu tuku, bielkovín, laktózy v závislosti od sezóny (1. laktácia)



Obrázok 6 Odhadnuté priemery zložiek mlieka (tuk, bielkoviny, laktóza) v závislosti od sezóny (2. až 4. laktácia)

ZÁVER

Potvrdilo sa, že denná produkcia mlieka aj obsah zložiek sa menia v závislosti od počtu somatických buniek a sezóny, v ktorej sa meranie urobilo. V prvej i v druhej až štvrtej laktáciách sa s rastúcim počtom somatických buniek znižoval denný nádoj a obsah laktózy; obsah tuku a bielkovín sa zvyšoval. V závislosti od sezóny sa trendy vývoja jednotlivých ukazovateľov medzi prvou a druhou až štvrtou laktáciami líšili. Potvrdilo sa, že počet somatických buniek je užitočné sledovať a poznatky o ich vplyve na množstvo a kvalitu mlieka využiť pri riadení chovu kráv.

LITERATÚRA

Atasever, S., Stádník, L. 2015. Factors affecting daily milk yield, fat and protein percentage, and somatic cell count in primiparous Holstein cows. In *Indian Journal of Animal Research*, vol. 49, 313–316. Dostupné na doi: 10.5958/0976-0555.2015.00048.5.

Bertocchi, L., Vitali, A., Lacetera, N., Nardone A., Varisco, G., Bernabucci, U. 2014. Seasonal variations in the composition of Holstein cow's milk and temperature-humidity index relationship. In *Animal*, vol. 8, 667–674. Dostupné na doi: 10.1017/S1751731114000032.

Bezman, D., Lemberskiy-Kuzin, L., Katz, G., Merin, U., Leitner, G. 2015. Influence of intramammary infection of a single gland in dairy cows on the cow's milk quality. In *Journal of Dairy Research*, vol. 82, 1–8. Dostupné na doi: 10.1017/S002202991500031X.

Bobbo, T., Ruegg, P. L., Stocco, G., Fiore, E., Gianesella, M., Morgante, M., Pasotto, D., Bittante, G. Cecchinato, A. 2017. Associations between pathogen-specific cases of subclinical mastitis and milk yield, quality, protein

composition, and cheese-making traits in dairy cows. In *Journal of Dairy Science*, vol. 100, 1–16. Dostupné na doi:10.3168/jds.2016-12353.
Cerón-Munoz, M., Tonhati, H., Duarte, J., Oliveira, J., Munoz-Berrocal, M., Jurado-Gámez, H. 2002. Factors affecting somatic cell counts and their relations with milk and milk constituent yield in buffaloes. In *Journal of Dairy Science*, vol. 85, 2885–2889. Dostupné na doi: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74376-2.
Ceyhan, A., Cinar, M., Serbester, U. 2015. Milk yield, somatic cell count, and udder measurements in Holstein cows at different lactation number and months. In *Media Peternakan*, vol. 38, 118–122. Dostupné na doi: 10.5398/medpet.2015.38.2.118.
Cinar, M., Serbester, U., Ceyhan, A., Gorgulu, M. 2015. Effect of somatic cell count on milk yield and composition of first and second lactation dairy cows. In *Italian Journal of Animal Science*, vol. 14, 105–108. Dostupné na doi: 10.4081/ijas.2015.3646.
El-Tahawy, A. S., El-Far, A. H. 2010. Influences of somatic cell count on milk composition and dairy farm profitability. In *International Journal of Dairy Technology*, vol. 63, 463–469. Dostupné na doi: 10.1111/j.1471-0307.2010.00597.x.
Hand, K. J., Godkin, A., Kelton, D. F. 2012. Milk production and somatic cell counts: A cow-level analysis. In *Journal of Dairy Science*, vol. 95, 1358–1362. Dostupné na doi: 10.3168/jds.2011-4927.
Kul, E., Sahin, A., Atasever, S., Ugurlutepe, E., Soydaner, M. 2019. The effects of somatic cell count on milk yield and milk composition in Holstein cows. In *Veterinarski Arhiv*, vol. 89, 143–154. Dostupné na doi: 10.24099/vet.arhiv/0168.
Mariani, E., Cipolat-Gotet, C., Stefanon, B., Zecconi, A., Stocco, G., Sandri, M., Ablondi, M., Mountricha, M., Summer, A. 2022. Effect of total and differential somatic cell count on yield composition and predicted coagulation properties from individual dairy cows. In *International Journal of Dairy Technology*, vol. 75, 298–306. Dostupné na doi: 10.1111./1471-0307.12857.
Marinov, I., Dimov, D., Penev, T. 2021. Somatic cell count and its relation with productive traits in dairy cows. In *Agricultural Science and Technology*, vol. 13, 417–424. Dostupné na doi: 10.15547/ast.2021.04.067.
Oravcová, M., Čobirka, M., Tančin, V. 2022. Relations among somatic cell count and milk yield/milk composition and factors affecting their variability in dairy cows. In Food Hygiene and Technology – LI. Lenfeld and Hökl Days, Brno: Veterinary University, 268–271. ISBN: 978-80-7305-876-0.
Rajčevič, M., Potočnik, K., Levstek, J. 2003. Correlations between somatic cells count and milk composition with regard to the season. In *Agriculturae Conspectus Scientificus*, vol. 68, 221–226. e-ISSN: 1331-7776. Dostupné na https://acs.agr.hr/acs/index.php/acs/article/view/226.
SAS Institute Inc. 2022. SAS OnlineDoc® Studio 3.8. Cary, NC: SAS Institute Inc., USA.
Silva, J. E. da, Barbosa, S. B. P., Abreu, D., Santoro, K. R., Silva E. C. da, Batista, A. M. V., Martinez, R. L. V. 2018. Effect of somatic cell count on milk yield and milk components in Holstein cows in a semi-arid climate in Brazil. In *Revista Brasileira de Saúde e Producao Animal*, vol. 19, 391–402. Dostupné na doi: 10.1590/s1519-99402018000400004.
Smistad, M., Solverod, L., Inlingstad, R. A., Osteras, O. 2021. Distribution of somatic cell count and udder pathogens in Norwegian dairy goats. In *Journal of Dairy Science*, vol. 104, 11878–11888. Dostupné na doi: 10.3168.jds.2021-20549.
Tančin, V., Mačuhová, V., Čobirka, M., Uhrinčať, M., Vršková, M., Tvarožková, K., Mikláš, Š., Sláma, P. 2022. Vzťah somatických buniek v mlieku dojníc k množstvu a jeho zloženiu. In Bezpečnosť a kvalita potravín, Nitra 2022, 170–174. ISBN 978-80-8266-007-7.

Poďakovanie: Práca bola podporená projektom APVV-18-0121 „The effect of animal and environmental factors on milk production and udder health“ a projektom 313011W112, spolufinancovaným Európskym fondom regionálneho rozvoja „Sustainable smart farming systems taking into account the future challenges” (Operačný program Integrovaná infraštruktúra).

Kontaktná adresa: Marta Oravcová, Ing. PhD., Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

POČET SOMATICKÝCH BUNIEK AKO INDIKÁTOR ZDRAVIA VEMENA KÔZ
SOMATIC CELL COUNTS AS AN INDICATOR OF UDDER HEALTH IN GOATS

Vladimír Tančin, Barbora Gancárová, Lucia Mačuhová, Michal Uhrinčať, Martina Vršková, Kristína Tvarožková,

Abstract: Dairy goat breeding has an important place in the production of milk and its processing into dairy products for healthy human nutrition. For this purpose, the milk produced must meet both quantitative and qualitative characteristics. One of the factors influencing the quality and quantity of milk is the health of the mammary gland. The most common disease of the udder is mastitis caused by the presence of microorganisms in the udder. The presence of microorganisms in the udder causes an increase in white blood cells in the milk - somatic cells. For this reason, determination of somatic cell count (SCC) is a suitable indicator of udder health. However, compared to dairy farming, in small ruminant farming and especially in goat farming, the determination of SCC as an indicator of goat udder health is an open and constantly discussed problem, especially in relation to the establishment of physiological limit levels for a healthy udder as in dairy cows farming and partly also in the breeding of ewes.
Keywords: goat, milk, somatic cells, mastitis

ÚVOD

Chov oviec a kôz získava celosvetový význam, produkcia mliečnych výrobkov neustále narastá a pre krajiny s rozvinutým chovom malých prežúvavcov má ich produkčná funkcia mimoriadnu ekonomickú hodnotu (Pandya a Ghodke, 2007; Raynal-Ljutovaca et al., 2008). Špecifická textúra a chuť ovčieho a kozieho mlieka, ako aj ich nutričné a funkčné vlastnosti urobili z neho cennú a zdravšiu alternatívu kravského mlieka. Dokonca ich mnohí autori označujú ako „funkčné potraviny“ pre ich moduláciu fyziologických funkcií a ich vlastnosti znižujúce riziko chronických ochorení (Correia a Cruz, 2006). Okrem pozitívnych nutričných vlastnosti kozieho mlieka, kozie mlieko obsahuje aj celý rad makro a mikro prvkov čo poukazuje na komplexnosť jeho zloženia (Moreno-Rojas et al., 1994).

Aj v chovateľských podmienkach Slovenska zaznamenávame v posledných rokoch pozitívny trend zvyšovania početných stavov kôz. Prevažujúcu časť populácie kôz chovaných na Slovensku predstavujú dojné plemená kôz, ktoré sú chované za účelom produkcie mlieka. Rentabilita chovu dojných kôz je závislá na produkcií kvalitného kozieho mlieka, ktoré je primárnou surovinou pre výrobu kozích výrobkov, najmä kozích syrov. Predaj kozieho mlieka a kozích mliečnych výrobkov predstavuje pre chovateľa jeden z najdôležitejších zdrojov príjmu. Krupová et al. (2018) uvádzajú tržby z predaja mliečnych produktov ako najvýznamnejší zdroj príjmov (až 92 %) v chove dojných kôz v Českej republike. Z tohto dôvodu je v záujme každého chovateľa kôz pravidelne sledovať zdravotný stav mliečnej žľazy ako kľúčového orgánu produkcie mlieka a predovšetkým jeho kvality ako technologickej tak hygienickej.

Vemeno dojných zvierat je v procese ich chovu vystavené pôsobeniu prostredia v ustajňovacích objektoch, ale predovšetkým vplyvu dojacej techniky ako z hľadiska technického, funkčného tak aj správne zvolenej organizácie práce pri dojení. Dojacie zariadenie je jediným zariadením v živočíšnej výrobe, ktoré priamo denne pôsobí na živé tkanivo – cecky vemena dojných zvierat. Nevhodné používanie dojacieho zariadenia ako aj jeho technický či

hygienický stav predstavuje vysoké riziko vzniku ochorenia vemena na mastitídu (Tančin a Tvarožková, 2020).

Mastitída je jedným z najdôležitejších ochorení vyskytujúcim sa v chovoch dojných zvierat. Zdravie mliečnej žľazy je kritickým aspektom pre farmy produkujúce mlieko a je vo vzťahu k produkcii mlieka, jeho kvalite a potravinovej bezpečnosti (Akter et al., 2020). Intramamárna infekcia má negatívny vplyv na množstvo mlieka a jeho kvalitu (Razi et al., 2013), pričom negatívne tiež ovplyvňuje obsah bielkovín, laktózy a tuku (Novac a Andrei, 2020). Podobné výsledky uvádzame aj v našich štúdiách realizovaných v chovoch bahníc (Tvarožková et al., 2019). Mastitída takto výrazne ovplyvňuje ekonomiku chovu kôz (Gelasakis et al., 2016; Cannas et al., 2019). Za negatívny ekonomický vplyv mastitídy dojných kôz sa považuje predovšetkým zníženie produkcie mlieka a zhoršenie jeho kvality (Granado et al., 2014). Liečba mastitíd je finančne a časovo náročná a v niektorých prípadoch ochorenie končí úhynom kôz (Šimková a Lauschmanová, 2020). Podľa Kováča et al. (2022) ekonomické straty v prípade klinickej mastitídy sú 48 eur na kozu a pri subklinických mastitídach sú straty ešte vyššie, až okolo 80 eur na kozu.

Cieľom príspevku je sumarizácia poznatkov zameraných na diagnostiku ochorení vemena kôz prostredníctvom sledovania počtu somatických buniek v mlieku.

POČET SOMATICKÝCH BUNIEK

Somatické bunky v mlieku sú prirodzene vyskytujúce sa epiteliálne bunky, pochádzajúce z tkaniva, krvi alebo imunitného systému. Kozie mlieko obsahuje navyše aj cytoplazmatické častice, čo je dané apokrinným typom sekrécie mlieka (Droke et al., 1993; Haenlein, 2002). Cytoplazmatické častice neobsahujú jadro alebo DNA, ale iba značné množstvo RNA a proteínov (Šustová et al., 2016). Svojou veľkosťou sú v rozsahu veľkosti somatických buniek a preto môžu byť mylne identifikované ako somatické bunky. Z tohto dôvodu je nutné využívať identifikačné metódy založené na špecifickej identifikácií DNA (Antunac et al., 1997; Haenlein, 2002) a tieto prístroje je nutné používať pre kozie mlieko ako štandard pre získanie spoľahlivých údajov (Clark a García, 2017).

Mastitída priamo súvisí so zvýšením počtu somatických buniek v mlieku (PSB), pričom pri uvedenom ochorení sa zvyšuje najmä počet bielych krviniek (leukocytov) ako prirodzenej odozvy imunitného systému na prítomnosť mikroorganizmov v mliečnej žľaze. Podľa Droke et al. (1993) obsahovali vzorky kozieho mlieka 9,9 % makrofágov, 2,8 % lymfocytov a 87 % neutrofilov. Dulin et al. (1983) uvádzajú u neinfikovaných polovíc kozích vemien obsah neutrofilov od 40 % do 79 %, lymfocytov od 5 % do 22 % a percento makrofágov od 15 % do 38 % a u infikovaných polovíc kozích vemien bol obsah neutrofilov od 44 % do 90 %, obsah lymfocytov od 3 % do 18 % a makrofágov od 7 % do 37 %. Z celkového PSB tvorili neutrofily 45 % až 74 % v kozom mlieku a u infikovaných polovičiek mliečnej žľazy 71 % až 86 %. Pri kozách trpiacich mastitídou sa zvýšil aj obsah makrofágov (8-18 % vs. 15-41 %). Naopak obsah lymfocytov bol vyšší (9-20 %) u neinfikovaných polovíc vemien kôz ako pri infikovaných (5-11 %) (Paape et al., 2007). Uvedený autori sa zhodujú v tom, že neutrofily predstavujú hlavný bunkový typ v infikovaných a neinfikovaných vemenách kôz z celkového PSB v kozom mlieku. Bagnicka et al. (2011) vo svojom výskume pozorovala nižší obsah leukocytov (35 %) vo vzorkách kozieho mlieka bez patogénu alebo s malým množstvom minoritných patogénov. Naproti tomu vzorky obsahujúce majoritné kontagiózne bakteriálne patogény alebo menšie množstvo environmentálnych patogénov, označovaných aj ako minoritné kontagiózne patogény, boli charakteristické vyšším percentuálnym obsahom leukocytov (približne 50 %) a pri vzorkách obsahujúcim majoritné kontagiózne patogény sa dramaticky zvýšil obsah eozonofilov a neutrofilov. Zvýšený obsah monocytov Bagnicka et al. (2011) pozorovala pri vzorkách kozieho mlieka s vysokou hladinou minoritných patogénov.

Viacerí autori uvádzajú vyšší PSB v kozom mlieku ako v kravskom mlieku (Hanuš et al., 2010; Vařeka et al., 2022), pričom vyšší PSB nemusí vždy indikovať mastitídu (Paape et al., 2007; Chen et al., 2010; Laušman et al., 2017; Podhorecká et al., 2021). Vyšší PSB v mlieku kôz oproti dojniciam môže byť ovplyvnený nielen rozdielnou fyziológiou sekrécie mlieka, ale aj menej prepracovanými postupmi prevencie a kontroly mastitíd v chove malých prežúvavcov (Laušman et al., 2017). Mnohí autori sa zhodujú, že vysoká variabilita PSB v kozom mlieku môže byť ovplyvnená aj mnohými neinfekčnými faktormi ako sú najmä poradie a štádium laktácie, ale aj plemeno, počet kozliatok vo vrhu, hygiena pri dojení, čas dojenia, pohlavný cyklus a iné (Olechnowicz a Sobek, 2008; Bagnicka et al., 2016; Zamuner et al., 2020; Podhorecká et al., 2021; Kuchtík et al., 2021).

VÝZNAM POČTU SOMATICKÝCH BUNIEK PRE DIAGNOSTIKU

Vyšší PSB v mlieku kôz oproti dojniciam do určitej miery ovplyvňuje vypovedaciu hodnotu pri diagnostike subklinických mastitíd vemena kôz. Podobné úvahy je možné pozorovať aj pri diagnostike subklinických mastitíd vemena bahníc (Tvarožková et al., 2019). Avšak v chovoch bahníc mnohé štúdie potvrdzujú význam sledovania PSB pri diagnostike subklinických mastitíd, kde sa uvádza hodnota pod $500x10^3$/ml ba dokonca sa udávajú aj hodnoty do $250x10^3$/ml ako limit pre stanovenie dobrého zdravia vemena (Tvarožková et al., 2019). Napriek hore uvedeným poznatkom poukazujúci na vzťah medzi PSB a zdravím vemena kôz, sa mastitída zaraďuje medzi významné príčiny zvýšenia PSB v kozom mlieku, pričom skoré PSB je závislé od patogénu infikujúceho mliečnu žľazu (Paape et al. 2001; Paape et al. 2007; Bagnicka et al., 2011). Vyšší priemerný PSB ($1537x10^3$/ml) v kozom mlieku s patogénom oproti koziemu mlieku bez patogénu ($861x10^3$/ml) uvádza aj Borková et al. (2020), ktorá vo svojom výskume zistila štatisticky preukazne nižšiu hodnotu log PSB v mlieku bez patogénov v porovnaní s mliekom s patogénmi. Rovnako aj Rupp et al. (2019) vo svojom výskume potvrdzujú, že vyšší priemerný PSB ($1542x10^3$/ml) zistili v mlieku línie kôz s vysokým skóre somatických buniek a tento nárast bol spojený s vyššou frekvenciou bakteriologicky pozitívnych vzoriek (49 %) oproti línií kôz s nízkym skóre PSB ($855x10^3$/ml). Napriek mnohým environmentálnym faktorom zvyšujúcim PSB v kozom mlieku môže sledovanie PSB predstavovať cenný nástroj pre posúdenie prevalencie mastitíd vemena aj v chovoch kôz (Rupp et al., 2019). Je potrebné však zdôrazniť, že aj keď bol publikovaný určitý vzťah medzi PSB a výskytom patogénov v mlieku, je naďalej interpretácia vysokého PSB v kozom mlieku oproti dojniciam a bahniciam náročnejšia a nie tak jednoznačná.

ZÁVER

Prítomnosť mikroorganizmov vo vemene vyvoláva vzostup bielych krviniek v mlieku – somatických buniek. Z tohto dôvodu je stanovenie počtu somatických buniek (PSB) vhodným ukazovateľom zdravia vemena. Avšak, v porovnaní s chovom dojníc, je v chove malých prežúvavcov a obzvlášť v chove kôz stanovovanie PSB ako ukazovateľa zdravia vemena otvoreným a neustále diskutovaným problémom. Tento predovšetkým súvisí so stanovením limitných hladín PSB pre zdravé vemeno tak, ako je tomu v chove dojníc a čiastočne už aj v chove bahníc.

LITERATÚRA

Akter, S., Rahman, M. M., Sayeed, M. A., Islam, M. N., Hossain, D., Hoque, M. A., Koop, G. 2020. Prevalence, aetiology and risk factors of subclinical mastitis in goats in Bangladesh. In *Small Ruminant Research* [online], vol. 184, 106046. ISSN 1879-0941. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106046

Antunac, N., Havranek, J., Samaržija, D. 1997. Somatske stanice u kozjem mlijeku. In *Mljekarstvo* [online], vol. 47, no. 2, pp. 123-134. ISSN 1846-4025. Dostupné z: https://hrcak.srce.hr/file/139749

Bagnicka, E., Łukaszewicz, M., Ådnoy, T. 2016. Genetic parameters of somatic cell score and lactose content in goat's milk. In *Journal of Animal and Feed Sciences* [online], vol. 25, no. 3, pp. 210-215. ISSN 1230-1388. Dostupné z: https://doi.org/10.22358/jafs/65552/2016

Bagnicka, E., Winnicka, A., Jozwik, A., Rzewuska, M., Strzalkowska, N., Kościuczuk, E., Prusak, B., Kaba, B., Horbańczuk, J., Krzyzewski, J. 2011. Relationship between somatic cell count and bacterial pathogens in goat milk. In *Small Ruminant Research* [online], vol. 100, no. 1, pp. 72-77. ISSN 1879-0941. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.04.014

Borková, M., Seydlová, R., Dragounová, H., Švejcarová, M., Elich, O. 2020. Vliv hygieny mléčné žlázy na kvalitu syrového kozího mléka. In *Náš chov*, roč. 80, č. 10, s. 73-75. ISSN: 0027-8068.

Cannas, A. E., Dore, S., Lollai, S., Liciardi, M., Addis, F. A. 2019. Mastitis in small ruminants. [online], B. m. : B. v., (ca 2019), pp. 11. Dostupné z: https://www.izs-sardegna.it/quaderni/Mastitis%20in%20small%20ruminant.pdf

Clark, S., García, M. M. B. 2017. A 100-Year Review: Advances in goat milk research. In *Journal of Dairy Science* [online], vol. 100, no. 12. pp. 10026-10044. ISSN 1525-3198. Dostupné z: https://doi.org/10.3168/jds.2017-13287

CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. 2018. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement M100. Replaces M100-S22, vol. 38, no. 3. ISBN 1-56238-839-8.

Correia, R. T. P., CRUZ, V. M. F. 2006. Leite de cabra e derivados. ACOSC – Associação dos Criadores de Ovinos e Caprinos do Sertão do Sertão do Cabugi. Bulletin.

Droke, E. A., Paape, J., di Carlo, A. L. 1993. Prevalence of High Somatic Cell Counts in Bulk Tank Goat Milk. In *Journal of Dairy Science* [online], vol. 76, no. 4, pp. 1035-1039. ISSN 1525-3198. Dostupné z: https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(93)77431-7/pdf

Dulin, A. M., Paape, J., Schultze, W. D., Weinland, B. T. 1983. Effect of Parity, Stage of Lactation, and Intramammary Infection on Concentration of Somatic Cells and Cytoplasmic Particles in Goat Milk. In *Journal of Dairy Science* [online], vol. 66, no. 11, pp. 2426-2433. ISSN 1525-3198. Dostupné z: https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(83)82101-8

Gelasakis, A. I., Angelidis, A. S., Giannakou, G., Filioussis, M. S., Kalamaki G., Arsenos, G. 2016. Bacterial subclinical mastitis and its effect on milk yield in low-input dairy goat herds. In *Journal of Dairy Science* [online], vol. 99, no. 5, pp. 3698-3708. ISSN 1525-3198. Dostupné z: https://doi.org/10.3168/jds.2015-10694

Granado, R. J., Rodriguez, M.S., Arce, C., Stevez, V. R. 2014. Factors affecting somatic cell count in dairy goats: a review. In *Spanish Journal of Agriculture. Res*earch [online], vol. 12, no. 1, pp.133-150. ISSN: 1695-971-X. Dostupné na: http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2014121-3803

Haenlein, G. F. V. 2002. Relationship of somatic cell counts in goat milk to mastitis and productivity. In *Small Ruminant Research* [online], vol. 45, no. 2, pp. 163-178. ISSN 1879-0941. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/S0921-4488(02)00097-4

Hanuš, O., Hronek, M., Hyšpler, R., Yong, T., Tichá, A., Fikrová, P., Hanušová, K., Sojková, K., Kopecký, J., Jedelská, R. 2010. Vztah mezi počtem somatických buněk a obsahem laktózy v mléce různých savců. In *Acta univ. agriculturae et silviculturae Mendelianae Brunensis* [online], roč. 58, č. 2, s. 87–100. Dostupné z: https://acta.mendelu.cz/pdfs/acu/2010/02/10.pdf

Chen, S. X., Wang, J. Z., Van Kessel, J. S., Ren, F. Z., Zeng, S. S. 2010. Effect of somatic cell count in goat milk on yield, sensory quality, and fatty acid profile of semisoft cheese. In *Journal of Dairy Science* [online], vol. 93, no. 4, pp. 1345-1354. ISSN 1525-3198. Dostupné z: https://doi.org/10.3168/jds.2009-2366

Kováč, G., Zigo, F., Farkašová, Z., Kováč, M., Vozár, T. 2022. Príčiny vzniku mastitíd malých prežúvavcov. In *Roľnícke noviny* [online], č. 37, s. 10-11. ISSN 0231-6617. Dostupné z: https://rno.sk/wp-content/uploads/2022/09/RNA0_0914_TT.pdf

Krupová, Z., Krupa, E., Rychtářová, J., 2018. Impact of udder health on economics of dairy goat. In *Journal of Central European Agriculture* [online], vol. 19, no. 4, pp. 897-905. ISSN 1332-9049. Dostupné z: https://doi.org/10.5513/JCEA01/19.4.2344

Kuchtík, J., Šustová, K., Sýkora, V., Kalhotka, J., Pavlata, L., Konečná, L. 2021. Changes in the somatic cells counts and total bacterial counts in raw goat milk during lactation and their relationships to selected milk traits. *Italian Journal of Animal Science* [online], vol. 20, no. 1, pp. 911–917. ISSN 1828-051X. Dostupné z: https://doi.org/10.1080/1828051X.2021.1913077

Laušman, J., Hanuš, O., Kopunecz, P., Kopecký, J., Jedelská, R., Klimešová, M., Němečková, I., Roubal, P., Zlatníček, J. 2017. Laktační dynamika složek a vlastností mléka a ztráty dojivosti podle počtu somatických buněk u koz. In *Mlekařské listy* [online], roč. 28 č. 1, s. 14-20. ISSN 1212 - 950X. Dostupné z: http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2017/veda_160_s.14-20.pdf

Moreno-Rojas, R., Zurera-Cosano, G., Amaro-Lopez, M. A. 1994. Concentration and seasonal variation of calcium, magnesium, sodium and potassium in raw cow, ewe and goat milk. In *International Journal of Food*

Sciences and Nutrition [online], vol. 45, no. 2, pp. 99-105. ISSN 1465-3478 Dostupné z: https://doi.org/10.3109/09637489409166148
Novac, C. S., Andrei, S. 2020. The Impact of Mastitis on the Biochemical Parameters, Oxidative and Nitrosative Stress Markers in Goat´s Milk: A Review. In *Pathogens* [online], vol. 9, no. 11, 822. ISSN: 2076-0817. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/pathogens9110882
Olechnowicz, J., Sobek, Z. 2008. Factors of variation influencing production level, SCC and basic milk composition in dairy goats. In *Journal of Animal and Feed Sciences* [online], vol. 17, pp. 41–49. ISSN 1230-1388 Dostupné z: https://doi.org/10.22358/jafs/66468/2008
Paape, M. J., Poutrel, B., Contreras, A., Marco, J. C., Capuco, A. V. 2001. Milk Somatic Cells and Lactation in Small Ruminants. In *Journal of Dairy Science*, vol. 84, Supplement, pp. E237-E244. Dostupné z: https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70223-8
Paape, M. J., Wiggans, G. R., Bannerman, D. D., Thomas, D. L., Sanders, A. H., Contreras, A., Moroni, P., Miller, R. H. 2007. Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. In *Small Ruminant Research* [online], vol. 68, no. 1-2, pp. 114-125. ISSN 1879-0941. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.014
Pandya, A. J., Ghodke, K. M. 2007. Goat and sheep milk products other than cheeses and yoghurt. In *Small Ruminant Research* [online], vol. 68, no. 1-2, pp. 193-206. ISSN 1879-0941. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.007
Podhorecká, K., Borková, M., Šulc, M., Seydlová R., Dragounová, H., Švejcarová, M., Peroutková, J., Elich, O. 2021. Somatic Cell Count in Goat Milk: An Indirect Quality Indicator. In *Foods* [online], vol. 10, no. 5, pp. 1046. ISSN: 2304-8158. Dostupné z: https://doi.org/10.3390/foods10051046
Raynalt-Ljutovac, K., Lagriffoul, G., Paccard, P., Guillet, I., Chilliard, Y. 2008. Composition of goat and sheep milk products: An update. In *Small Ruminant Research* [online], vol. 79, no. 1, pp. 57-72. ISSN 1879-0941. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.07.009
Raynalt-Ljutovac, K., Pirisi, A., De Crémoux, R., Gonzalo, C. 2007. Somatic cells of goat and sheep milk: Analytical, sanitary, productive and technological aspects. In *Small Ruminant Research* [online], vol. 68, no. 1-2, pp. 126-144. ISSN 1879-0941. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.012
Razi, K. M. A., Rahman, M. B., Flores-Gutiérrez, G. H., & Rahman, M. T. 2013. Prevalence of Caprine Subclinical Mastitis in Mymensingh Area, Bangladesh and Characterization of Associated Bacterial Agents and the Risk Factors. In *Microbes and Health* [online], vol. 1, no. 1, pp. 1–5. ISSN 2226-0153. Dostupné z: https://doi.org/10.3329/mh.v1i1.13705
Rupp, R., Huau, C., Caillat, H., Fassier, T., Bouvier, F., Pampouille, E., Clément, V., Palhiére, I., Larroque, H., Tosser Klopp, G., Jacquiet, P., Rainard, P. 2019. Divergent selection on milk somatic cell count in goats improves udder health and milk quality with no effect on nematode resistance. In *Journal of Dairy Science* [online], vol. 102, no. 6, pp. 5242-5253. ISSN 1525-3198. Dostupné z: https://doi.org/10.3168/jds.2018-15664
Šimková, I., Lauschmanová, A. 2020. Klinický případ gangrenózní mastitidy u kozy. In *Veterinářství*, roč.70, č.7, s.410-415. ISSN 0506-8231.
Šustová, K., Kuchtík, J., Kalhotka, L. 2016. Vliv zvýšeného počtu somatických buněk na kvalitu mléka. In *Mlékařské listy* [online], roč. 27, č. 154, s. 14-16. ISSN 1212-950X. Dostupné z: http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2016/154-155/veda_154_1316.pdf
Tančin, V., Tvarožková, K. 2020 Mastitídy v chove bahníc. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2020. 63 s. ISBN 9788055222561.
Tvarožková, K., Tančin, V., Holko, I., Uhrinčať, M., Mačuhová, L. 2019. Mastitis in ewes: somatic cell counts, pathogens and antibiotic resistance. In *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences.* vol. 9, no. 3., pp. 661-670. ISSN 1338-5178.
Vařeka, J., Štípková, M., Vostrý, L., Zavadilová, L., 2022. Onemocnění skotu mastitidou ve vztahu k exteriéru. In *Náš chov*, roč. 7, č. 2, s. 41-43. ISSN: 0027-8068.
Zamuner, F., Digiacomo, K., Cameron, A. W. N., Leury, B. J. 2020. Effects of month of kidding, parity number, and litter size on milk yield of commercial dairy goats in Australia. In *Journal of Dairy Science* [online], vol.103, no. 1, pp. 954-964. ISSN 1525-3198. Dostupné z: https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(19)30925-7/fulltext

Poďakovanie: Práca podporená riešením projektu VEGA 1/0597/22 „Etiológia zmien počtu somatických buniek v mliečnej žľaze kôz: fyziologické a patologické aspekty”.

Kontaktná osoba: Vladimír Tančin, prof. Ing., DrSc., SPU – FAPZ Ústav chovu zvierat, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, NPPC-Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 95141 Lužianky, vladimir.tancin@uniag.sk

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

PATOGÉNY A POČET SOMATICKÝCH BUNIEK V OVČOM MLIEKU
PATHOGENS AND THE SOMATIC CELLS COUNT IN EWE'S MILK

Kristína Tvarožková, Vladimír Tančin, Michal Uhrinčať, Lucia Mačuhová, Ivan Imrich, Barbora Gancárová

Abstract: Health status of mammary gland is crucial aspect for production high-quality and hygienically safe of milk. The aim of this study was to evaluate the presence of mastitis pathogens and somatic cell count (SCC) in ewe's milk and their relationship. Totally 132 milk samples were analysed on somatic cell count and the presence of pathogens. The most frequency pathogens were coagulase-negative staphylococci (CNS) (90,24 %). *Staphylococcus (S.) caprae* was the most common CNS. *S. aureus* was identified in 7,32 % of bacteriological positive samples. SCC ≥ 400 × 10^3 cells/ml were recorded in 73,17 % bacteriological positive samples. The bacteriological positive samples had significant higher SCC compared to bacteriological negative samples ($P < 0,05$). In conclusion, SCC could be good indicator for detection health problem of udder in ewes.
Keywords: ewe's milk, somatic cell count, pathogen

ÚVOD

Počet somatických buniek (PSB) je jedným zo základných ukazovateľov zdravotného stavu mliečnej žľazy dojných zvierat (Bergonier et al., 2003). Práve tento ukazovateľ dokáže chovateľovi efektívne odhaliť zvieratá postihnuté zdravotnými problémami mliečnej žľazy- subklinickou mastitídou a následne aplikovať adekvátnu liečbu a zabezpečiť tým produkciu zdravotne bezpečného mlieka s dobrými technologickými vlastnosťami pre optimálne spracovanie. Mastitída negatívne ovplyvňuje nielen už spomínanú hygienickú bezpečnosť a technologické vlastnosti, ale v prvom rade znižuje množstvo vyprodukovaného mlieka a ovplyvňuje jeho zloženie (Leitner et al., 2004). V dôsledku subklinickej mastitídy klesá produkcia mlieka až o 43,1 % a taktiež obsah laktózy v mlieku klesá. Naopak celkový obsah bielkovín stúpa v dôsledku nárastu srvátkových bielkovín, avšak pre spracovanie dôležitý obsah kazeínu klesá (Martí-De Olives et al., 2020). Riziko predstavuje aj samotná prítomnosť patogénov spôsobujúcich mastitídu a ich enterotoxínov v mlieku (Pilipčinová et al., 2010). Všetky tieto aspekty negatívne ovplyvňujú ekonomiku a rentabilnosť chovu. Ekonomické straty sú spôsobené už spomínanou nižšou produkciou a znížením výťažnosti pri spracovaní mlieka, ale aj nákladmi na liečbu a predčasnú brakáciu postihnutých zvierat (Attili et al., 2016). Práve pravidelné monitorovanie PSB v mlieku dokáže účinne napomôcť k zlepšeniu kvality samotného chovu v dôsledku zvýšenia množstva nadojeného mlieka s optimálnym zložením od zvierat so zdravou mliečnou žľazou a tým aj prispieť zlepšeniu jeho rentabilnosti.

Cieľom štúdie bolo zhodnotiť zdravotný stav mliečnej žľazy na základe počtu somatických buniek, prítomnosti patogénov v mlieku bahníc a ich vzájomného vzťahu.

MATERIÁL A METODIKA

Na farme dojných oviec bolo odobraných 132 vzoriek mlieka od 66 bahníc bez viditeľných zmien na vemene, alebo mlieku. Vzorky boli odoberané na úrovni polovíc vemena pre zhodnotenie výskytu patogénov, stanovenia PSB a ich vzájomného vzťahu. Pre kultiváciu baktérií boli vzorky mlieka odoberané po oddojení prvých strekov a následnej dezinfekcii cecku a hrotu cecku do sterilnej skúmavky. Následne boli odobrané vzorky mlieka pre stanovenie PSB z každej polovice vemena. Pre stanovenie prítomnosti patogénov v mlieku boli vzorky (10 µl) naočkované na krvný agar (MkB Test a. s., Rosina, SR). Následne boli vzorky

kultivované v aeróbnych podmienkach po dobu 24 hodín pri teplote 37 °C. Kolónie baktérií boli rozlíšené na základe morfológie, Gramovho farbenia, typu hemolýzy, katalázového testu (3 % H_2O_2, Merck, Darmstadt, Germany) eskulin testu, a cytochrom C oxidáza (Bactident Oxidase, Merck). *S. aureus* bol predbežne identifikovaný pomocou clumbing faktor testu (DiaMondiaL Staph Plus Kit, Germany). Všetky baktérie boli identifikované použitím prístroja MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) (Tvarožková et al., 2021). Ako pozitívna bola vzorka označená, ak bola zistená prítomnosť minimálne päť kolóniu tvoriacich jednotiek (KTJ.ml^{-1}) pre všetky patogény okrem infekčných (*S. aureus*, *Str. agalactiae*), pri ktorých bola vzorka označená ako pozitívna, ak bola zistená aspoň jedna KTJ.ml^{-1}. Kontaminovanou bola vzorka označená, ak bolo zistených viac ako dva rozdielne patogény, pričom žiadny z nich nebol infekčný druh. Vzorky mlieka boli na základe PSB rozdelené do nasledovných PSB skupín: $< 200 \times 10^3$ buniek/ml; $\geq 200 < 400 \times 10^3$ buniek/ml; $\geq 400 < 600 \times 10^3$ buniek/ml; $\geq 600 < 1\,000 \times 10^3$ buniek/ml a $\geq 1\,000 \times 10^3$ buniek/ml. Pre matematické vyhodnotenie zastúpenia vzoriek mlieka v jednotlivých PSB skupinách bol použitý program MS Excel (Office 365). PSB bol pre štatistické spracovanie transformovaný na skóre somatických buniek (SSB) podľa (Lusisa et al., 2010):

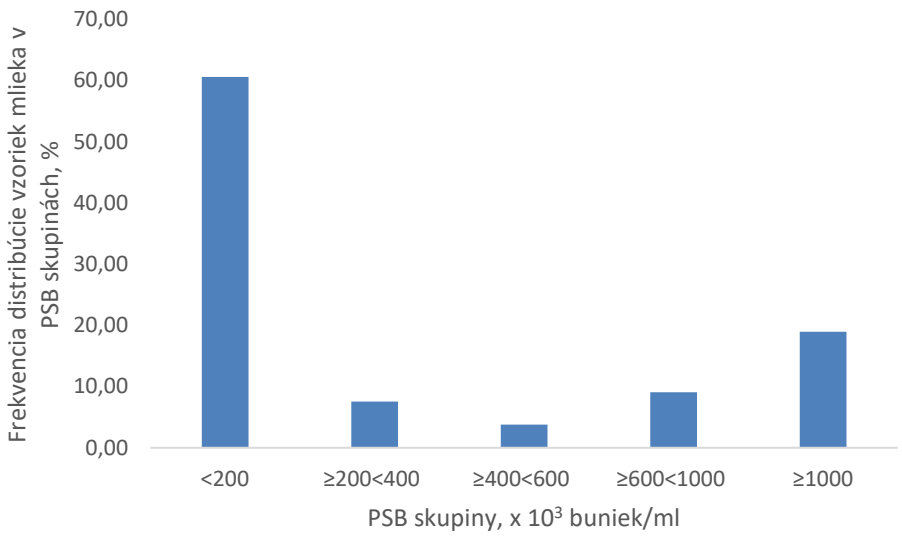
$$SSB = LOG_2(PSB/100000) + 3$$

Pre štatistické vyhodnotenie vplyvu prítomnosti patogénov na PSB bola použitá jednofaktorová analýza rozptylu v programe SAS/ 8.8 (2002):

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri hodnotení PSB vo vzorkách mlieka vybraných bahníc sme zistili najvyšší počet vzoriek (68,18 %) s nízkym PSB ($< 400 \times 10^3$ buniek/ml) (Graf 1). Podobne aj v predchádzajúcich štúdiách realizovaných v podmienkach našej chovateľskej praxe bolo zaznamenané vysoké percento vzoriek s nízkym PSB až okolo 80 % (Tančin et al., 2017; Tvarožková et al., 2018). Pričom až 73,17 % bakteriologicky pozitívnych vzoriek sa nachádzalo v PSB skupinách s PSB vyšším ako 400×10^3 buniek/ml. Zafalon et al. (2016) a Hussein et al. (2016) stanovili ako limitujúcu hodnotu pre detekciu subklinickej mastitídy práve 400×10^3 buniek/ml. Spanu et al. (2011) zaznamenali 5,6 až 7,5-krát vyššiu pravdepodobnosť výskytu subklinickej mastitídy pri bahniciach s PSB nad 400×10^3 buniek/ml počas troch a viac mesiacov. Zistili sme preukazne nižšie SSB (1,98 ± 0,28) pri bakteriologicky negatívnych vzorkách v porovnaní s bakteriologicky pozitívnymi vzorkami (5,27 ± 0,55) ($P < 0,05$). Persson et al. (2017) a Tvarožková et al. (2020) zistili vyšší PSB vo vzorkách mlieka, kde bol identifikovaný patogén v porovnaní so vzorkami bez prítomnosti patogénu.

Z celkového počtu 132 vzoriek boli patogény identifikované v 31,06 % vzoriek. Najčastejšie sa vyskytujúcou skupinou patogénov boli koaguláza-negatívne stafylokoky (KNS), pričom *S. caprae* bol najčastejším KNS (43,24 %). *S. aureus* bol zistený v 7,32 % bakteriologicky pozitívnych vzoriek. V ďalšej štúdií realizovanej taktiež v podmienkach našej chovateľskej praxe bol *S. aureus* identifikovaný v 8,3 % vzoriek mlieka (Zigo et al., 2014). Vasileiou et al. (2018) zaznamenali *S. aureus* v 10,1 % prípadov bahníc so subklinickou mastitídou. Pomerne nízke percento zistených vzoriek so *S. aureus* je pozitívnym signálom nielen pre chovateľa ale tiež aj konzumenta.



Graf 1 Frekvencia zastúpenia vzoriek mlieka v jednotlivých PSB skupinách

ZÁVER

Najčastejšie identifikovanými patogénmi vo vzorkách mlieka boli koaguláza-negatívne stafylokoky. PSB ≥ 400 × 10^3 buniek/ml by sa mohol použiť ako limit pre posúdenie zdravia vemena bahníc. Pravidelný monitoring PSB dokáže chovateľovi odhaliť zvieratá trpiace subklinickou mastitídou. Sledovanie zdravotného stavu vemena je jedným z dôležitých chovateľských postupov pre docielenie optimálnej produkcie kvalitného a zdravotné bezpečného mlieka.

LITERATÚRA

Attili, A. R., Preziuso, S., Ngu Ngwa, V., Cantalamessa, A., Moriconi, M., Cuteri, V. 2016. Clinical evaluation of the use of enrofloxacin against Staphylococcus aureus clinical mastitis in sheep. In *Small Ruminant Research*, vol. 136, pp. 72-77. Dostupné na: doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.01.004

Bergonier, D., De Crémoux, R., Rupp, R., Lagriffoul, G., Berthelot, X. 2003. Mastitis of dairy small ruminants. In *Veterinary Research*, vol. 34, pp. 689-716. Dostupné na: doi: https://dx.doi.org/10.1051/vetres:2003030

Hussein, H. A., El-Khabaz, K. A. S., Malek, S. S. 2015. Is udder ultrasonography a diagnostic tool for subclinical mastitis in sheep? In *Small Ruminant Research*, vol. 129, pp. 121-128. Dostupné na: doi: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.05.010

Leitner, G., Chaffer, M., Shamay, A., Shapiro, F., Merin, U., Ezra, E., Saran, A., Silanikove, N. 2004. Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in sheep. In *Journal of Dairy Science*, vol. 87, pp. 46-52. Dostupné na: doi: https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73140-9

Lusis, I., Antane, V., Laurs, A. 2010. Effectiveness of static cell count determination in the milking robots. *Proceedings of 9th International Scientific Conference Engineering for Rural Development*, pp. 112–116.

Martí-De Olives, A., Peris, C., Molina, M. P. 2020. Effect of subclinical mastitis on the yield and cheese-making properties of ewe's milk. In *Small Ruminant Research*, vol. 184, Dostupné na: doi: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.106044

Persson, Y., Nyman, A. K., Söderquist, L., Tomic, N., Persson Waller, K. 2017. Intramammary infections and somatic cell count in meat and pelt producing ewes with clinically healthy udders. In *Small Ruminant Research*, vol. 156, p. 66-72. Dostupné na: doi: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.09.012

Pilipčincová, I., Bhide, M., Dudriková, E., Trávniček, M. 2010. Genotypic Characterization of Coagulase-negative *Staphylococci* Isolated from Sheep Milk in Slovakia. In *Acta Veterinaria Brno*, vol. 79, p. 269-275. Dostupné na: doi: https://doi.org/10.2754/avb201079020269

Spanu, C., Berger, Y. M., Thomas, D. L., Ruegg, P. L. 2011. Impact of intramammary antimicrobial dry treatment and teat sanitation on somatic cell count and intramammary infection in ewes. In *Small Ruminant Research*, vol. 97, p. 139-145. Dostupné na: doi: https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.03.005

Tančin, V., Baranovič, Š., Uhrinčať, M., Mačuhová, L.,Vršková, M., Oravcová, M. 2017. Somatic cell count in raw ewes milk in dairy practice: frequency of distribution and possible effect on milk yield and composition. In Mljekarstvo, vol. 67, p. 253-260. Dostupné na: doi: https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2017.0402
Tvarozkova K, Tancin V, Uhrincat M, Hleba L, Macuhova L. 2020. Mastitis pathogens and somatic cell count in ewes milk. In *Potravinarstvo*, vol. 14, pp.164-9. Dostupné na: doi: https://doi.org/10.5219/1338
Tvarožková, K., Tančin, V., Uhrinčat, M., Mačuhová, L., Toman, R., Tunegová, M. 2018. Evaluation of somatic cells in milk of ewes as possible physiological level. In *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, vol. 21, pp. 149-151. Dostupné na: doi: https://doi.org/10.15414/afz.2018.21.04.149-151
Tvarožková, K., Vašíček, J., Uhrinčať, M., Mačuhová, L., Hleba, L., Tančin, V. 2021. The presence of pathogens in milk of ewes in relation to the somatic cell counts and subpopulations of leukocytes. In *Czech Journal of Animal Science*, vol. 66, pp. 315-322 Dostupné na: doi: https://doi.org/10.17221/43/2021-CJAS
Vasileiou, N. G. C., Cripps, P. J., Ioannidi, K. S., Chatzopoulos, D. C., Gougoulis, D. A., Sarrou, S., Orfanou, D. C., Politis, A. P., Calvo Gonzalez-Valerio, T., Argyros, S., Mavrogianni, V. S., Petinaki, E., Fthenakis, G. C. 2018. Extensive countrywide field investigation of subclinical mastitis in sheep in Greece. In *Journal of Dairy Science*, vol. 101, pp. 7297-7310. Dostupné na: doi: https://doi.org/10.3168/jds.2017-14075
Zafalon, L. F., Mascarenhas Santana, R. C., Pilon, L. E., Fim Júnior, G. A. 2016. Diagnosis of subclinical mastitis in Santa Ines and Morada Nova sheep in south eastern Brazil. In *Tropical Animal Health and Production*, vol. 48, pp. 697-972. Dostupné na: doi: https://doi.org/10.1007/s11250-016-1046-1
Zigo, F., Vasiľ, M., Elečko, J., Lapin, M., Farkašová, Z. 2014. Production of enterotoxins of *Staphylococcus* sp. isolated from samples of sheep milk. In *Potravinarstvo*, vol. 8, pp. 92-96. Dostupné na: doi: https://doi.org/10.5219/361

Poďakovanie: Táto publikácia bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja č. APVV-21-0134 „Subklinické mastitídy v chovoch bahníc a kôz: patogény, somatické bunky a morfológia vemena“ a GA FAPZ 06/2023 „Mastitídy v chove dojných oviec a kôz: patogény a antibiotická rezistencia“

Kontaktná adresa: Kristína Tvarožková, Ing. PhD., Ústav chovu zvierat, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, kristina.tvarozkova@gmail.com

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

EPIGENETICKÉ VPLYVY SEZÓNY NARODENIA HOLŠTAJNSKÝCH DOJNÍC NA PRODUKCIU MLIEKA, TUKU A BIELKOVÍN ZA PRVÚ LAKTÁCIU
EPIGENETIC EFFECTS OF THE SEASON OF BIRTH OF HOLSTEIN DAIRY COWS ON MILK, FAT AND PROTEIN PRODUCTION IN THE FIRST LACTATION

Michal Uhrinčať, Vladimír Tančin, Lucia Mačuhová, Marta Oravcová

Abstract: Epigenetic influences on the fetus can be triggered by various factors, among which we can also include the external temperature of the environment or the length of the photoperiod. The aim of the work was to test the hypothesis that different conditions during different seasons affect the mother during pregnancy in such a way that they can cause changes that during the first lactation of her daughter can lead to different production of milk and its components. Productive data on 305 days lactation period for 510 Holstein dairy cows born on one farm from January 2018 to April 2020 were evaluated. The sorting criterion was the season of birth: spring (20.3. - 20.6.), summer (21.6. - 22.9.), autumn (23.9. - 20.12.), winter (21.12. - 19.3.), or alternatively, the month of birth. We compared the amount of milk, fat and protein, as well as the percentage of these components in the milk. The season in which the animal was born caused significant differences ($P < 0.05$) in the amount of fat (F) and protein (P) with maximum production in summer-born animals (F; P 425.08 kg; 358.97 kg) and minimum in spring-born animals (F; P 425.08 kg; 358.97 kg). B 390.64 kg; 341.77 kg). We did not find any significant differences between months in regards to the month of birth. However, there were significant differences between the animals that were born during different years.
***Keywords*:** dairy cows, birth season, first lactation, milk yield, fat, protein

ÚVOD

Epigenetika je štúdium dedičných zmien v génovej expresii, ktoré sa vyskytujú bez zmeny sekvencie DNA, ale k zmenám dochádza modifikáciou metylácie DNA a prestavbou chromatínu (Wolffe a Matzke, 1999). Epigenetické zmeny môžu byť zdedené mitoticky v somatických bunkách, čo poskytuje potenciálny mechanizmus, ktorým environmentálne účinky na epigenóm môžu mať dlhodobé účinky na génovú expresiu (Jirtle a Skinner, 2007). Singh et al., (2011) uvádzajú, že je možné, že trvalé vplyvy na plod môžu byť spôsobené priamymi vplyvmi prostredia na plod, a nie sprostredkované epigenetickými mechanizmami matky. Zmeny môžu byť spustené rôznymi faktormi, medzi ktoré môžeme zaradiť aj vonkajšiu teplotu prostredia, či dĺžku fotoperiódy. Zmeny fotoperiódy menia profily sekrécie melatonínu, čím sa následne menia profily uvoľňovania a cirkulujúce koncentrácie niekoľkých hormónov, ktoré ovplyvňujú rôzne fyziologické reakcie (Dahl et al., 2012, Pal et al., 2022). Pri teplotách je problémom najmä tepelný stres matky, ktorý v neskorej gravidite tiež ohrozuje vývoj placenty a rast plodu a negatívne ovplyvňuje imunitnú kompetenciu potomstva (Tao a Dahl, 2013). Nepriaznivé vnútromaternicové tepelné podmienky počas posledného trimestra gravidity vedú k menej produktívnej dcére pre viacnásobné laktácie (Laporta et al., 2022). Ako uvádzajú Ouellet et al. (2020), vnútromaternicový tepelný stres mení metylačný profil pečeňovej a mliečnej DNA, čo môže u teliat vystavených tepelnému stresu v maternici tiež prispieť k horšiemu výkonu v dospelosti. Zmeny v produkcii mlieka vplyvom mesiaca narodenia hodnotili Susanto et al. (2019), v produkcii mlieka, tuku a bielkovín, ako aj percenta tuku a bielkovín sledovali Barash et al. (1996), s maximom produkcie mlieka na prvej laktácii u zvierat narodených v septembri a novembri a minimom u narodených v marci. Pri triedení podľa ročného obdobia mali najnižšiu produkciu zvieratá narodené v zime (Van Eetvelde et al., 2017, Mikláš et al. 2020).

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Cieľom práce bolo otestovať hypotézu, že rozdielne podmienky rôznych ročných období pôsobiace na matku v období gravidity môžu spôsobiť zmeny, ktoré neskôr môžu u jej dcéry viesť k rôznej produkcii mlieka a jeho zložiek za prvú laktáciu.

MATERIÁL A METODIKA

V experimente bolo hodnotených 510 dojníc holštajnského plemena, narodených na jednej farme od januára 2018 do apríla 2020, s ukončenou normovanou laktáciou (305 dní). Triediacim kritériom bola sezóna narodenia - ročné obdobie: jar (20.3. - 20.6.); leto (21.6. - 22.9.); jeseň (23.9. - 20.12.); zima (21.12. - 19.3.), respektíve mesiac narodenia. Údaje o množstve mlieka, tuku a bielkovín za normovanú laktáciu, ako aj percentuálnom zastúpení zložiek vo vzorkách pochádzajú z databázy kontroly úžitkovosti, spracovanej na základe mesačných odberov vzoriek Plemenárskymi službami SR, š.p.

Štatistické analýzy vzťahov medzi premennými boli vykonané dvojfaktorovou analýzou rozptylu (Proc ANOVA; SAS/STAT ver. 14.3; SAS Institute Inc., 2017), rozdiely sme vyhodnotili Scheffeho multiple range testom. Do modelu bol okrem faktora „sezóna“, ktorý predstavovalo buď ročné obdobie alebo mesiac narodenia zvieraťa zahrnutý aj rok narodenia.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vplyv ročného obdobia spôsobil, že produkcia mlieka jedincov narodených počas leta bola najvyššia (Tab. 1), avšak rozdiel 453,6 kg za 305 dní oproti zvieratám narodeným v jarných mesiacoch bol minimálny. Rozdiely v produkcii mlieka vplyvom ročných období nezistili ani Mikláš et al. (2020), zatiaľ čo Van Eetvelde et al., (2017) zistil významný rozdiel medzi zimou a ostatnými ročnými obdobiami. Lyashuk (2021) zistil u holštajnských dojníc na prvej laktácii najnižšiu produkciu u zvierat narodených na jar, podobne ako v našom prípade, avšak s významným rozdielom voči produkcii v lete a na jeseň. Významné rozdiely sme však zistili v produkcii tuku a bielkovín. Najviac tuku vyprodukovali zvieratá narodené v lete a o niečo menej narodené na jeseň, zatiaľ čo Lyashuk (2021) zistil najvyššiu produkciu na jeseň, no iba o 2 kg vyššiu ako v lete. Zvieratá narodené na jar vyprodukovali za normovanú laktáciu o 34.4 kg tuku menej ako narodené v lete. Najnižšiu produkciu na jar uvádza aj Lyashuk (2021), no rozdiel v produkcii bol iba 18 kg, no pri produkcii mlieka nižšej o 2000 kg v porovnaní s naším hodnotením. Podobne aj v produkcii bielkovín bol významný rozdiel

Tabuľka 1 Produkcia mlieka, tuku a bielkovín za normovanú laktáciu podľa ročného obdobia narodenia

Ročné obdobie narodenia	Jar (20.3. - 20.6.)		Leto (21.6. - 22.9.)		Jeseň (23.9. - 20.12.)		Zima (21.12. - 19.3.)	
N	61		146		160		143	
Ukazovateľ	Priemer	SD	Priemer	SD	Priemer	SD	Priemer	SD
Mlieko (kg)	10 048,0	1434,5	10501,0	1363,0	10350,0	1356,4	10265,0	1350,6
Tuk (kg)	390,64^{B}	60,69	425,08^{A}	59,04	418,19^{A}	60,40	404,36^{AB}	70,08
Bielkoviny (kg)	341,77^{B}	46,92	358,97^{A}	38,95	354,34^{AB}	44,02	352,62^{AB}	45,10
Tuk (%)	3,91	0,45	4,08	0,52	4,06	0,47	3,95	0,53
Bielkoviny (%)	3,41	0,17	3,43	0,21	3,43	0,24	3,44	0,24

^{A,B} Priemery s rôznymi písmenami v jednom riadku boli preukazne rozdielne pri P≤0,05, SD – smerodajná odchýlka

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Tabuľka 2 Produkcia mlieka, tuku a bielkovín za normovanú laktáciu podľa roku narodenia

Rok narodenia	2018		2019		2020	
N	150		290		70	
Ukazovateľ	Priemer	SD	Priemer	SD	Priemer	SD
Mlieko (kg)	10921,00^{A}	1427,70	10097,00^{B}	1243,80	10055,00^{B}	1372,30
Tuk (kg)	429,33^{A}	66,87	404,63^{B}	58,33	412,60^{AB}	72,31
Bielkoviny (kg)	360,71	46,50	349,48	40,84	356,01	45,82
Tuk (%)	3,94^{B}	0,46	4,03^{AB}	0,51	4,11^{A}	0,52
Bielkoviny (%)	3,31^{C}	0,19	3,47^{B}	0,22	3,55^{A}	0,19

^{A,B,C} Priemery s rôznymi písmenami v jednom riadku boli preukazne rozdielne pri P≤0,05, SD – smerodajná odchýlka

Tabuľka 3 Produkcia mlieka, tuku a bielkovín za normovanú laktáciu podľa mesiaca narodenia

Mesiac narodenia	Január		Február		Marec	
N	64		44		34	
Ukazovateľ	Priemer	SD	Priemer	SD	Priemer	SD
Mlieko (kg)	10342,00	1398,20	10147,00	1364,20	10118,00	1346,80
Tuk (kg)	413,28	80,52	394,93	59,30	397,91	67,43
Bielkoviny (kg)	353,52	49,22	349,57	42,69	344,79	43,01
Tuk (%)	4,00	0,57	3,91	0,47	3,94	0,49
Bielkoviny (%)	3,42	0,24	3,46	0,20	3,42	0,23
Mesiac	Apríl		Máj		Jún	
N	17		16		27	
Ukazovateľ	Priemer	SD	Priemer	SD	Priemer	SD
Mlieko (kg)	10347,00	2030,80	9981,90	1161,30	9972,60	1082,90
Tuk (kg)	405,47	63,06	388,25	54,19	386,52	53,22
Bielkoviny (kg)	349,24	63,98	343,88	35,62	339,11	41,52
Tuk (%)	3,98	0,51	3,91	0,45	3,88	0,37
Bielkoviny (%)	3,38	0,17	3,45	0,16	3,40	0,16
Mesiac	Júl		August		September	
N	38		56		46	
Ukazovateľ	Priemer	SD	Priemer	SD	Priemer	SD
Mlieko (kg)	10689,00	1374,50	10560,00	1306,30	10418,00	1370,20
Tuk (kg)	421,55	45,76	431,63	60,91	431,46	65,15
Bielkoviny (kg)	365,03	37,81	360,84	36,53	356,67	39,41
Tuk (%)	3,99	0,57	4,11	0,51	4,16	0,50
Bielkoviny (%)	3,43	0,21	3,43	0,22	3,44	0,21
Mesiac	Október		November		December	
N	58		62		48	
Ukazovateľ	Priemer	SD	Priemer	SD	Priemer	SD
Mlieko (kg)	10390,00	1186,00	10425,00	1427,30	10148,00	1478,50
Tuk (kg)	427,60	56,07	422,06	57,54	390,06	64,15
Bielkoviny (kg)	361,66	37,19	352,92	43,74	348,15	51,46
Tuk (%)	4,13	0,49	4,07	0,44	3,86	0,50
Bielkoviny (%)	3,49	0,25	3,40	0,25	3,44	0,25

medzi zvieratami narodenými v lete a na jar, kde rozdiel predstavoval 17,2 kg na zviera. Aj v prípade bielkovín sa naše zistenia zhodujú s výsledkami, ktoré uvádza Lyashuk (2021).

Zvieratá narodené v roku 2018 vyprodukovali významne viac mlieka ako tie, ktoré sa narodili v nasledujúcich rokoch (Tab. 2). Rozdiel v produkcii bol 824,1 kg na zviera medzi rokmi 2018 a 2019 a 865,9 kg medzi rokmi 2018 a 2020. Významné rozdiely v produkcii mlieka v rámci hodnotených rokov zistili aj Susanto et al. (2019). Produkcia tuku bola tiež v prospech zvierat narodených v roku 2018, keď ho vyprodukovali o 24,7 kg viac ako prvôstky narodené o rok neskôr. Produkcia v roku 2020 stúpla v porovnané s predchádzajúcim rokom, hoci nevýznamne, no rozdiel voči roku 2018 bol tiež nevýznamný. Množstvo bielkovín vyprodukovaných zvieraťom narodeným v roku 2018 bolo o 11,23 kg vyššie, ako produkovalo zviera narodené v roku 2019, no tento rozdiel bol na hranici štatistickej významnosti. Koncový bod intervalu spoľahlivosti pre strednú hodnotu množstva bielkovín vyprodukovaných za rok 2018 bol súčasne počiatočným bodom intervalu spoľahlivosti pre strednú hodnotu množstva bielkovín vyprodukovaných za rok 2019. Percento tuku a bielkovín bolo však najvyššie u zvierat narodených v roku 2020, hoci množstvo vyprodukovaného mlieka bolo u týchto zvierat najnižšie. Rozdiely oboch zložiek boli významne nižšie u zvierat narodených v roku 2018. V percente bielkovín boli zistené významné rozdiely medzi všetkými hodnotenými rokmi navzájom.

Mesiac narodenia nespôsobil významný rozdiel medzi jednotlivými sledovanými ukazovateľmi (Tab. 3), k zhodnému záveru dospeli aj Susanto et al. (2019). Spôsobiť to mohla vysoká variabilita a nízky počet jedincov narodených v jednotlivých mesiacoch v rámci každého hodnoteného roka. Na rozdiel od týchto zistení, Barash et al. (1996) zistili vysoko významný vplyv na všetky hodnotené ukazovatele. V našom prípade tu však môžeme sledovať určité trendy. Najvyššiu produkciu mlieka mali zvieratá narodené v júli, o niečo menšiu v auguste a najnižšiu mali jedince narodené v júni. Rozdiel v produkcii medzi júlom a júnom predstavoval 716,8 kg mlieka na zviera za 305 dní. Najvyššiu produkciu tuku mali zvieratá narodené v auguste a v septembri, najnižšiu opäť jedince narodené v júni. Tu predstavoval rozdiel 45,1 resp. 44,9 kg tuku. Produkciu bielkovín mali, podobne ako množstvo mlieka, najvyššiu zvieratá narodené v júli a najnižšiu narodené v júni, s rozdielom 25,9 kg za normovanú laktáciu. Tu dochádza k určitému posunu oproti zisteniam Barash et al. (1996), ktorí zistili minimum produkcie mlieka a bielkovín v marci, tuku v máji a maximum všetkých sledovaných ukazovateľov v novembri. V našom prípade je pozoruhodné aj to, že ide o dva po sebe nasledujúce mesiace. Zvieratá narodené v júni, resp. v máji, teda tie s najnižšou produkciou mlieka boli pri priemernej dĺžke teľnosti 285 dní počaté v období od 20.7. do 18.9., teda v období, keď býva na juhu Slovenska, kde sa nachádzala farma vysoká teplota, ktorá môže vyvolať vnútromaternicový tepelný stres. Ten býva jedným z dôvodov (Ouellet et al. 2020) epigenetických zmien.

ZÁVER

Produkcia mlieka dojníc hovädzieho dobytka je ovplyvnená množstvom faktorov, z ktorých faktor prostredia patrí medzi kľúčové. Vonkajšia teplota vplýva na všetky živé jedince, najmä teplotami mimo komfortnej zóny, no tiež tu je dĺžka svetelnej fázy, ktorá ovplyvňuje vnútorné prostredie organizmu cez fyziologické zmeny. Z našich zistení vyplýva, že existuje určitý vzťah medzi sezónou narodenia jalovičky a jej následnou produkciou na prvej laktácii. Keďže hodnotené zvieratá pochádzali z jednej farmy, všetky jedince mali rovnakú starostlivosť a krmivo, mohli by to byť práve vplyvy prostredia, ktoré sú príčinou zistených zmien. Hoci rozdiely medzi jedincami narodenými v rôznych mesiacoch nie sú veľké, maximálny rozdiel predstavoval 6,7%, pri veľkom počte zvierat sa už vedia aj ekonomicky prejaviť. Sezóna narodenia má však minimálny vplyv na percento tuku a bielkovín, takže ich množstvo je ovplyvnené hlavne množstvom vyprodukovaného mlieka.

LITERATÚRA

Barash, H., Silanikove, N., Weller, J. I. 1996. Effect of season of birth on milk, fat, and protein production of Israeli Holsteins. *Journal of Dairy Science*, *79*(6), 1016-1020.
Dahl, G. E., Tao, S., Thompson, I. M. 2012. Lactation Biology Symposium: Effects of photoperiod on mammary gland development and lactation. *Journal of Animal Science*, *90*(3), 755-760.
Jirtle, R. L., Skinner, M. K. 2007. Environmental epigenomics and disease susceptibility. *Nature Reviews Genetics*, *8*(4), 253-262.
Laporta, J., Dado-Senn, B., Skibiel, A. L. 2022. Late gestation hyperthermia: epigenetic programming of daughter's mammary development and function. *Domestic Animal Endocrinology*, *78*, 106681.
Lyashuk, A. R. 2021. Influence of the birth season of first-calf heifers on milk productivity and milk production efficiency in the conditions of the Orel region. *Вестник аграрной науки*, (1 (88)), 165-171.
Mikláš, Š., Tančin, V., Sláma, P., Čobirka, M., Uhrinčať, M., Vršková, M., Mačuhová, L. 2020. Effect of season and temperature before and after calving on the future milk production of born heifers. *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, *23*(4).
Ouellet, V., Laporta, J., Dahl, G. E. 2020. Late gestation heat stress in dairy cows: Effects on dam and daughter. *Theriogenology*, *150*, 471-479.
Pal, P., Aggarwal, A., Deb, R. 2022. Effects of photoperiod on reproduction of cattle: a review. *Biological Rhythm Research*, *53*(12), 1950-1960.
Singh, K., Molenaar, A. J., Swanson, K. M., Gudex, B., Arias, J. A., Erdman, R. A., Stelwagen, K. 2011. Epigenetics: a possible role in acute and transgenerational regulation of dairy cow milk production. *Animal*, *6*(3), 375-381.
Susanto, A., Hakim, L., Nurgiartiningsih, V. M. A. 2019. November). Environment (Year and Season of Birth) Effects on First-Lactation Milk Yield of Dairy Cows. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 372, No. 1, p. 012010). IOP Publishing.
Tao, S., Dahl, G. E. 2013. Invited review: Heat stress effects during late gestation on dry cows and their calves. *Journal of Dairy Science*, *96*(7), 4079-4093.
Van Eetvelde, M., Kamal, M. M., Vandaele, L., Opsomer, G. (2017). Season of birth is associated with first-lactation milk yield in Holstein Friesian cattle. *Animal*, *11*(12), 2252-2259.
Wolffe, A. P., Matzke, M. A. 1999. Epigenetics: regulation through repression. *Science*, *286*(5439), 481-486.

Poďakovanie: Táto publikácia bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja č. APVV-18-0121 "Vplyv zvieraťa a faktorov prostredia na produkciu mlieka a zdravie vemena dojníc na Slovensku" a podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: NUKLEUS 313011V387, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Kontaktná adresa: Michal Uhrinčať, PaedDr., PhD., NPPC – Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 95141 Lužianky, michal.uhrincat@nppc.sk
Vladimír Tančin, prof. Ing., DrSc., NPPC – Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 95141 Lužianky, SPU – FAPZ Ústav chovu zvierat, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, vladimir.tancin@nppc.sk
Lucia Mačuhová, Ing., PhD., NPPC – Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky, lucia.macuhova@nppc.sk
Marta Oravcová, Ing., PhD., NPPC – Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky, marta.oravcova@nppc.sk

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

ZHODNOTENIE ÚČINNOSTI DEZINFEKCIE PROSTREDNÍCTVOM MIKROBIOLOGICKEJ KONTROLY V PRIESTOROCH MLIEKARENSKÉHO PODNIKU
EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF DISINFECTION THROUGH MICROBIOLOGICAL CONTROL IN THE PREMISES OF A DAIRY ENTERPRISE

Mária Vargová, František Zigo, Zuzana Farkašová, Katarína Veszelits Laktičová

Abstract: The aim of the presented study was to evaluate the effectiveness of disinfection through microbiological control in the premises of a dairy enterprise based on microbiological swabs (n = 42) from evaluated surfaces: floor, wall, work table, door, crusher, auger and dispenser, before and after disinfection. Disinfection was performed by disinfectant Hypofoam in 2 % concentration with a exposure time 15 minutes, applied by spraying. The obtained results point to a satisfactory hygienic level of the individually evaluated surfaces and technological equipment except for the swabs taken from the auger, where we observed the presence of $1x10^2$ KTJ.10 cm^2 of coliform bacteria and a wall with $10x10^2$ KTJ.10 cm^2 of Fungi which is related to insufficient mechanical cleaning that precedes disinfection itself and is also related to the material of the monitored surfaces. Based on the results obtained, it is possible to talk about the effective disinfecting effect of Hypofoam in the evaluated operation.
Keywords: disinfection, dairy enterprise, hygiene, microbiological control, swabs

ÚVOD

Prioritou potravinárskej výroby je zdravotná bezpečnosť potravín, ktorá je počas výroby ovplyvňovaná mnohými faktormi. Za bezpečné potraviny možno považovať také, ktoré neobsahujú patogény alebo oportúnne patogény, ako aj cudzorodé, zdraviu škodlivé a toxické látky (Golian et al., 1998). Hygiena a sanitácia v mliekarenských prevádzkach vyžaduje nevyhnutné prispôsobenie a úzku nadväznosť na jednotlivé výrobné postupy, aby bola zaistená zdravotná neškodnosť potravín a následne, aby sa znížilo riziko výroby ovplyvňované zlou hygienou prevádzky (Ondrašovičová et al., 2003). V mikrobiologickom ponímaní je sanitácia definovaná ako čistiaci a dezinfekčný proces, ktorý vedie k 99,0 až 99,9 % zníženiu počtu vegetatívnych baktérií (Grušpier, 2011).

Kontrola účinnosti dezinfekcie je v praktických podmienkach veľmi dôležitá, nakoľko slúži na overenie účinnosti dezinfekčných postupov. Dezinfekcia je úspešná pri správnej voľbe dezinfekčného prípravku, pri dodržaní predpísanej koncentrácie, teploty a doby pôsobenia (Koo et al., 2013). Mikrobiologická kontrola účinnosti dezinfekcie predstavuje najobjektívnejšiu metódu kontroly účinnosti dezinfekčných prostriedkov a postupov. Výsledky získané pomocou mikrobiologickej kontroly účinnosti sú podkladom pre vyhľadávanie nedostatkov v sanitácii a spätne vytvárajú možnosť na ich odstraňovanie (Ivanová, 1998). Patogénne mikroorganizmy sú v prostredí len málo záchytné, no pre hodnotenie a kontrolu sa účinnosť posudzuje hlavne na základe prítomnosti indikátorových mikroorganizmov (Štefkovičová, 2004).

MATERIÁL A METODIKA

Na dezinfekciu priestorov bol použitý prípravok Hypofoam v 2 % koncentrácii s časovou expozíciou 15 minút, aplikovaný postrekom. Hypofoam je alkalický čistiaci prostriedok s obsahom dezinfekčnej zložky na báze aktívneho chlóru, sekvestračných látok a tenzidov, určený pre dennú sanitáciu v potravinárskom, nápojovom a mliekarenskom

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

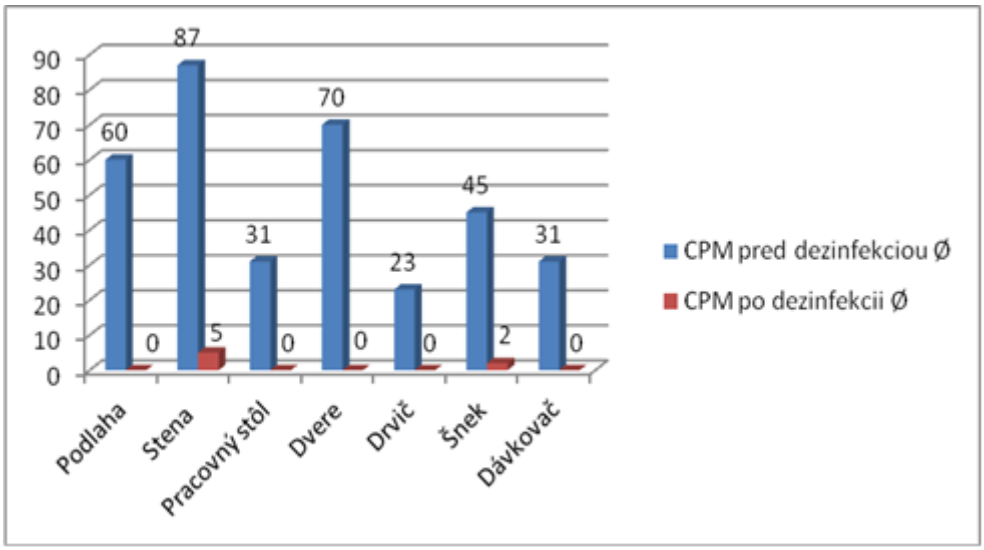
priemysle. Účinne odstraňuje široké spektrum organických nečistôt, predovšetkým živočíšne a rastlinné tuky, krv a bielkoviny.

Mikrobiologické stery (n = 42) boli odoberané v priestoroch mliekarenskej prevádzky, z vyšetrovaných povrchov – podlaha, stena, pracovný stôl, dvere, drvič, šnek a dávkovač. Odber mikrobiologických sterov bol vykonávaný z plochy 10 cm^2 pred dezinfekciou a po dezinfekcii pomocou sterilných tampónov, následne bol prenesený do 10 ml sterilného fyziologického roztoku. Suspenzia bola naočkovaná na živné agary v množstve 0,1 ml. Pre stanovenie celkového počtu mikroorganizmov (CPM) bol použitý mäsopeptonový agar (MPA) počas 24 hodinovej kultivácie pri 37±1 ºC. Na stanovenie počtu koliformných baktérii (KB) bol použitý Endo agar (EA) počas 24 hodinovej kultivácie pri 37±1 ºC. Stanovenie počtu mikroskopických húb (MH) bolo založené na počítaní kolónií tvoriacich jednotiek (KTJ) po 3 - 5 dňovej kultivácii na Sabouraudovom agare (SA) pri izbovej teplote. Na stanovenie CPM, počtu KB a MH bol použitý postup podľa platných ISO noriem. Jednotlivé druhy mikroorganizmov uvedené v grafoch sú vyjadrené v počte kolónii tvoriacich jednotiek (KTJ), bez prepočtu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Ku kontaminácii potraviny počas produkcie, spracovania, distribúcie a prípravy môže prispieť aj samotný človek, keďže mikroorganizmy sú v prostredí ubikvitárne rozšírené a často kontaminujú rôzne povrchy, suroviny alebo hotové produkty. Niektoré z mikroorganizmov dokážu prežiť aj ochranné technologické operácie. Práve preto, každá potravina, či už surová alebo spracovaná, predstavuje určité riziko vzniku alimentárneho ochorenia (Hudecová et al., 2011).

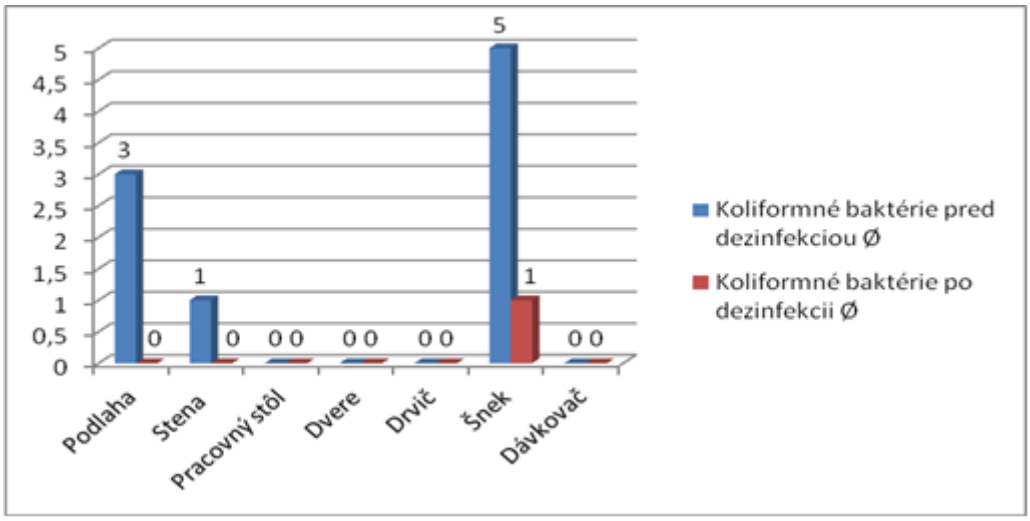
Účinnosť dezinfekčných prostriedkov na mikroorganizmy závisí od mnohých faktorov. Na jednej strane ide o vlastnosti samotných mikroorganizmov, na druhej strane o chemické a fyzikálne vlastnosti vonkajšieho prostredia. Znalosť týchto faktorov by mala viesť k správnemu používaniu dezinfekčných prípravkov (Vargová et al., 2022). Na základe výsledkov grafu 1, možno konštatovať, že CPM, po vykonanej dezinfekcii na sledovaných povrchoch, vyhovujú hygienickým požiadavkám a získané výsledky poukazujú na dostatočnú účinnosť použitého prípravku.



Graf 1 Priemerné celkové počty mikroorganizmov na vyšetrovaných povrchoch

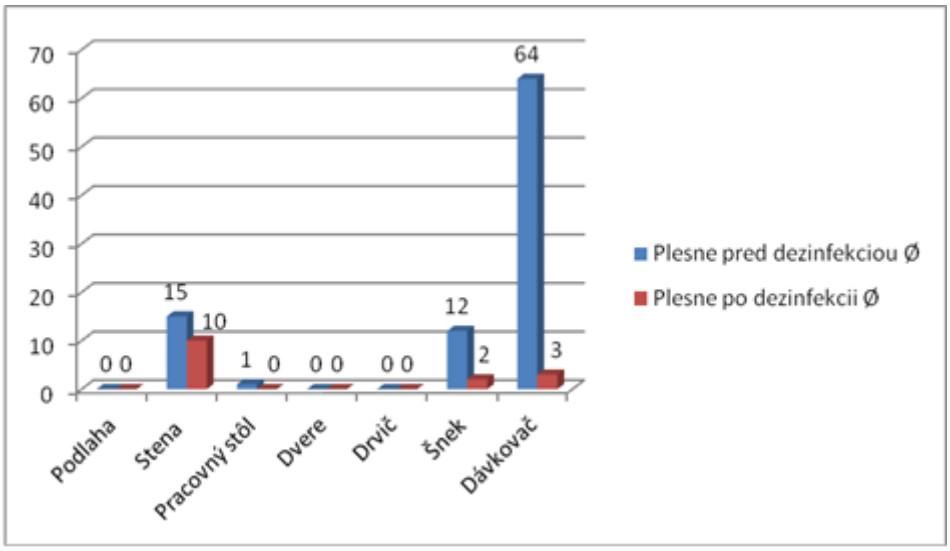
https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Priemerné počty KB po dezinfekcii na jednotlivých hodnotených povrchoch sú zaznamenané v grafe 2. Na základe počtu KB po dezinfekcii (> $1x10^2$ KTJ.10 cm^2) môžeme konštatovať, že dezinfekcia bola účinná na jednotlivých hodnotených povrchoch okrem šneku, kde sme po dezinfekcii zaznamenali $1x10^2$ KTJ.10 cm^2 KB, čo môže poukazovať na nedostatočne vykonanú mechanickú očistu pred samotnou dezinfekciou. Prítomnosť organických látok v prostredí značne inhibuje účinok dezinfekčných prostriedkov (Ondrašovič et al., 2013).



Graf 2 Priemerné počty koliformných baktérii na vyšetrovaných povrchoch

Výsledky z grafu 3 poukazujú na skutočnosť, že dezinfekcia bola vykonaná efektívne, o čom svedčia znížené počty sledovaných MH po dezinfekcii. Vyšší nález sme zaznamenali po dezinfekcii na stene, s počtom kolónií $10x10^2$ KTJ.10 cm^2, čo súvisí s vlastnosťami povrchu, na ktorý bol aplikovaný dezinfekčný prípravok.



Graf 3 Priemerné počty plesní na vybraných povrchoch

Značným problémom pri dezinfekcii pevných plôch je poréznosť stavebných materiálov, kedy tieto materiály dobre pohlcujú dezinfekčné prostriedky, ale môžu ich chemicky inaktivovať. Významnú úlohu pri mikrobiálnej kontaminácii surovín, ktorá priamo

ovplyvňuje kvalitu potravín a zdravie spotrebiteľa, má hygienický stav povrchov (Zailani et al., 2016).

ZÁVER

Výroba bezpečných potravín je jednou zo základných podmienok zabezpečovania zdravia ľudí a preto sa na hygienu potravinárskych prevádzok kladú stále prísnejšie požiadavky. Na základe výsledkov kontroly mikrobiologickej účinnosti dezinfekcie v sledovanej prevádzke môžeme konštatovať, že dezinfekčný prípravok Hypofoam, použitý v 2 % koncentrácii s časovou expozíciou 15 minút bol účinný na všetkých sledovaných povrchoch až na stery odobraté zo šneku, kde sme zaznamenali $1x10^2$ KTJ.10 cm^2 koliformných baktérii a stery odobraté zo steny, na ktorej sme zaznamenali výskyt mikroskopických húb s počtom $10x10^2$ KTJ.10 cm^2. Na základe týchto zistení, boli spätne vykonané nápravné opatrenia.

LITERATÚRA

Golian, J. 1998. *Ochorenia z potravín*, 1. vydanie. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita. 128 s. ISBN 80-7137-519-5.

Ondrašovičová, O., Vargová, M., Ondrašovič, M., Biswencel, H., Kašková, A., Nagy, J. 2003. *Sanitácia v mäso spracujúcich prevádzkach*. In Sborník referátů ze semináře o údržnosti masa, Skaský Dvůr, s. 51-55.

Grušpier, L. 2011. *Hygiena výrobného prostredia*, Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2011

Štefkovičová, M. a kol. 2007. *Dezinfekcia a sterilizácia, teória a prax II*, Vrana, Žilina, 2007, 164 s. ISBN 978-80-968248-3-0.

Koo, O. K., Martin, E. M., Story, R., Lindsay, D., Ricke, S. C., Crandall, P. G. 2013. Comparison of cleaning fabrics for bacterial removal from food-contact surfaces. In *Food Control*, vol. 30, no. 1, 292–297.

Hudecová, D., Šimkovič, M. 2011. *Mikrobiológia*. Bratislava: Nakladateľstvo STU, 2011, 200 s. ISBN 978-80-227-3600-8.

ISO 18593:2004 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.

ISO 21527:2008 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds.

ISO 4832:2006 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method or the enumeration of coliforms.

Ondrašovič a kol. *Ochrana životného prostredia a verejného zdravia*, Košice, 2013, 272 s., ISBN 978-80-8077-430-1.

Vargová, M., Veszelits Laktičová, K., Sasáková, N., Gregová, G., Hromada, R., Szabóová, T. 2022. *Hygiena zdravotníckych a farmaceutických zariadení*. 193 s. ISBN 978 – 80 – 8077 – 754 – 8.

Zailani, A., Bello, M., Raji, A., Kabir, J. and Yahuza, M. 2016. Microbial evaluation of meat contact surfaces in red meat abattoirs of Bauchi State, North-Eastern Nigeria. In *Open Journal of Medical Microbiology*, vol 6, 3–8. DOI: 10.4236/ojmm.2016.61002

Ivanová, M., Lokajová, K., Najmik, F., Pavľák, M., Dunčáková, E., Petrová, Z., Petro, J. 1998. *Hodnotenie kontaminácie a sledovanie účinnosti dezinfekcie pri spracovaní jatočnej hydiny za II. štvrťrok 1998*. Hygiena Alimentorum XIX, Zborník prednášok a posterov, Košice, 2008.

Poďakovanie: Práca bola riešená s podporou grantového projektu KEGA č. 009-UVL –4/2021.

Kontaktná adresa: Mária Vargová MVDr. PhD., Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81, Košice, email: Maria.Vargova@uvlf.sk

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

VPLYV MANAŽMENTU ZASÚŠANIA NA ZDRAVIE MLIEČNEJ ŽĽAZY DOJNÍC
THE EFFECT OF DRY-OFF MANAGEMENT ON UDDER HEALTH OF DAIRY COWS

Martina Vršková, Kristína Tvarožková, Vladimír Tančin, Michal Uhrinčať, Lucia Mačuhová, Ivan Holko

Abstract: The aim of the work was to study value somatic cell count and the occurrence of mastitis pathogens before and after calving in the same dairy cows. The Holstein cows suspicious on subclinical mastitis (positive California Mastitis Test) were sampled at quarter level under practical farm with high level of milk yield (11,278 kg). The cows were treated with antibiotics (Cefquinomum) before drying. In total 245 samples before drying and 173 samples after calving from the same dairy cows were collected. The samples were cultured on blood agar (MkB Test as, Rosina, SR). MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Germany) was used to identify mastitis pathogens. Bacteriologically positive (BP) samples from dairy cows before drying were found in 35 % of the milk samples. The most frequent pathogens in BP milk samples were coagulase-negative *staphylococci* (CNS) (77,38 %). The most common CNS was *Staphylococcus* (S.) *xylosus* (32,14 %). *S. aureus* was detected in 5,95 % of BP samples. After calving, we found BP samples in 14,02 % of dairy cows. The most common pathogens in milk samples were CNS (10,39 %). *S. aureus* was detected in 0,94 % of BP samples. Antibiotic treatment during the drying period clearly reduced the occurrence of CNS and *S. aureus* in dairy cows at the beginning of lactation.
Keywords: dairy cow, dry cow management, somatic cell count, intramammary pathogens

ÚVOD

Kvalitu mlieka možno hodnotiť meraním rôznych parametrov, ktoré poukazujú na jeho bezpečnú konzumáciu a spracovanie na mliečne výrobky, ako aj poukazujú na zdravotný stav dojnice. Hlavným parametrom, ktorý sa v tejto súvislosti medzinárodne používa, je počet somatických buniek (PSB) v mililitri mlieka (Kelly et al., 2011). Bezpečnosť a kvalita mlieka na rôzne druhy mliečnych výrobkov sa posudzuje stanovením celkového počtu mikroorganizmov (CPM) alebo prítomnosti špecifických druhov technologicky významných baktérií. Mastitídy majú obrovský ekonomický dopad, najmä v súvislosti s nepriaznivým vplyvom na výšku produkcie mlieka, liečbu, vyradenie kráv (Huijps et al., 2008).

Počet somatických buniek v mlieku je kľúčovým parametrom kvality mlieka a indikátorom zdravia vemena a prevalencie klinickej a subklinickej mastitídy u dojníc (nariadenie (ES) č. 853/2004, ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické pravidlá potravín živočíšneho pôvodu, podľa ktorej je počet somatických buniek v 1 ml mlieka ≤ 400 000).

Obdobie zasušenia je pre dojnicu veľmi dôležitým obdobím. Dojnici poskytuje možnosť regenerácie epitelového tkaniva mliečnej žľazy pred ďalšou laktáciou a prípravy na pôrod teľaťa. Dojnice s krátkym obdobím sucha (10 až 40 dní) produkovali v nasledujúcej laktácii výrazne menej mlieka ako kravy s obdobím sucha 40 až 60 dní (Watters et al. 2008). Adekvátna proliferácia a diferenciácia sekrečného epitelu mliečnej žľazy počas obdobia zasušenia sú nevyhnutné pre optimálnu syntetickú a sekrečnú funkciu v nasledujúcej laktácii, a preto trvanie tranzitného obdobia úzko súvisí s produkciou mlieka v nasledujúcej laktácii (Schukken et al., 2011).

U dojníc sa okrem použitia antibiotík v liečbe klinickej a subklinickej mastitídy počas laktácie používa aj použitie intramamárnych antibiotík v čase zasušenia medzi laktáciami.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Avšak pri správnej diagnostike mastitídy v jednotlivých štvťkách vemena dojníc, by bolo možné použiť mechanickú bariéru bez antibiotík, ktorá pôsobí ako mechanická bariéra proti environmentálnym mikroorganizmom pred pôrodom (Higgins et al.,2017, Scherpenzeel et al.,2017).

Legislatíva o používaní antibiotík v prevencii chorôb je v oblasti živočíšnej výroby presne evidovaná, vrátane liečby antibiotikami v období sušenia a čoraz viac obmedzovaná (Kuipers et al., 2016, Piddock, 2016). Existuje obava zo zníženia používania antibiotík pri zasúšaní dojníc, pričom sa odporúča liečiť iba štvťky s intramamárnymi infekciami s predchádzajúcou diagnostikou mastitídnych patogénov a ich citlivosťou na antibiotiká (Lopes et al., 2019)|.

Cieľom práce bolo sledovať hodnotu počtu somatických buniek pred zasušením a po období zasušenia u tých istých dojníc na danej farme aj s identifikáciou mastitídnych patogénov.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky sme odoberali na farme v Trenčianskom regióne od júna do novembra 2021, spolu 418 vzoriek. Ide o farmu mliekového dobytka holštajnského plemena s priemernou úžitkovosťou za laktáciu v roku 2021 11 278 l mlieka (n=300 ks dojníc).

Vzorky mlieka sme odoberali od dojníc pred zasušením na základe pozitívneho NK testu na úrovni štvrtiek vemena. Pri pozitívnom výsledku NK testu sme cecok najmä jeho hrot vydezinfikovali 70 % alkoholom a následne oddojili prvé streky do nádoby s čiernym dnom. Z každej pozitívnej štvrtky vemena sme odobrali vzorku mlieka pre bakteriologickú kultiváciu a taktiež vzorku na stanovenie počtu somatických buniek (240 vzoriek mlieka). Vzorky mlieka sme previezli do laboratória na stanovenie počtu somatických buniek a vzorky mlieka pre stanovenie prítomnosti patogénov boli zmrazené až do bakteriologickej analýzy.

Počet somatických buniek sme stanovili na prístroji Somacount 150 (Bentley Instruments, Inc., Chaska, Minnesota, USA). Dojnice sme zaradili do kategórií PSB nasledovne: zdravé do < $200x10^3$ buniek/ml mlieka, $200\text{-}400x10^3$ buniek/ml mlieka a mastitídne zvieratá > $400x10^3$ buniek/ml mlieka. Uvedená farma paušálne používa intramamárne antibiotiká s účinnou látkou *Cefquinomum*.

Vzorky mlieka pre zistenie prítomnosti a identifikáciu patogénov sme kultivovali na krvnom agare (5 % defibrinovanej ovčej krvi, MkB Test a.s., Rosina, SR) pri teplote 37 °C v aeróbnych podmienkach po dobu 24 – 48 hodín. Narastené kolónie boli rozlíšené na základe morfológie, typu hemolýzy, Gramovho farbenia, eskulin testu, katalázového testu (3 % H_2O_2, Merck, Darmstadt, Germany) a aj cytochrom C oxidáza (Bactident Oxidase, Merck), pričom *S. aureus* bol predbežne potvrdený pomocou clumbing faktor testu (DiaMondiaL Staph Plus Kit, Germany) (Wente et al., 2016). Na definitívnu identifikáciu baktérií bol použitý prístroj MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) (Tvarožková et al., 2019).

Vzorka mlieka bola klasifikovaná ako pozitívna pre všetky patogény okrem kontagióznych (*S. aureus, Streptococcus (Str.) agalactiae*), ak bola zaznamenaná prítomnosť aspoň päť kolóniu tvoriacich jednotiek ($CFU.ml^{-1}$) a pre kontagiózne patogény bola vzorka označená ako pozitívna, ak bola identifikovaná minimálne jedna kolóniu tvoriaca jednotka. Vzorka bola klasifikovaná ako kontaminovaná, ak bolo zistených tri a viac druhov patogénov, pričom ani jeden z nich nebol kontagióznym druhom. Pre matematické vyhodnotenie zastúpenia jednotlivých vzoriek a patogénov bol použitý program MS Excel (Office 365).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Obdobie sucha je pravdepodobne obdobím, počas ktorého je mliečna žľaza najcitlivejšia na intramamárnu infekciu. Počas involučnej fázy je žľaza plná mlieka, a preto je dosť náchylná

na infekciu. Z tohto dôvodu je metóda zasúšania a paušálne používanie antibiotík nevyhnutné na prevenciu infekcií v počiatočnom období zasúšania. Niekoľko štúdií ukázalo, že nižšia produkcia mlieka pri zasušení je spojená s menším počtom infekcií v ranom období zasušenia (Schukken et al., 2011).

Nové infekcie vzniknuté v tomto období u kráv neliečených antibiotikami pri zasušení sa pohybujú od 3,8 do 35,1 % štvrtiek s priemerom okolo 10 % (Robert et al. 2006).

Zistili sme najvyššie zastúpenie počtu somatických buniek v kategórii do 200x10^3 buniek v ml (tab. 1). Potvrdilo sa nám zníženie počtu PSB po otelení s použitím intremamárnych antibiotík (tab. 2).

Tabuľka 1 Frekvencia distribúcie PSB vo vzorkách mlieka z jednotlivých štvrtiek vemena dojníc pred zasušením

	počet vzoriek	frekvencia distribúcie (PSB v 10^3 buniek/ml) v % zo štvrtiek		
štvrťka	n	< 200	200 - 400	> 400
ľavá zadná	60	63,33	13,33	23,33
ľavá predná	61	62,30	11,48	26,23
pravá predná	62	69,35	12,90	17,74
pravá zadná	62	54,84	19,35	25,81

Tabuľka 2 Frekvencia distribúcie PSB vo vzorkách mlieka z jednotlivých štvrtiek vemena dojníc po zasušení

	počet vzoriek	frekvencia distribúcie (PSB v 10^3 buniek/ml) v % zo štvrtiek		
štvrťka	n	< 200	200 - 400	> 400
ľavá zadná	42	85,71	4,76	9,52
ľavá predná	43	83,72	2,33	13,95
pravá predná	43	86,05	9,30	4,65
pravá zadná	45	86,67	8,89	4,44

V súčasnosti u prežúvavcov dominujú „environmentálne“ mastitídy spôsobené patogénnymi baktériami, ktoré ľahko prežívajú v prostredí, najmä koaguláza-negatívne stafylokoky. Na druhom mieste sú infekčné mastitídy spôsobené baktériami Streptococcus agalactiae a Staphylococcus aureus, ktoré sa šírili z dojnice na dojnicu pri dojení, pomocou dojiaceho stroja a boli z veľkej časti eliminované preventívnymi opatreniami.

Bakteriologicky pozitívne (BP) vzorky od dojníc pred sušením boli zistené v 35 % vzoriek mlieka. Najčastejšími patogénmi vo vzorkách BP mlieka boli koaguláza-negatívne stafylokoky (CNS) (77,38 %). Najčastejším CNS bol *Staphylococcus (S.) xylosuss* (32,14 %, tab.1). *S. aureus* sme zistili v 5,95 % vzoriek TK po otelení, vzorky TK sme zistili u 14,02 % dojníc. Najčastejšími patogénmi vo vzorkách mlieka boli CNS (10,39 %).

Selektívne ošetrenie ceckov u zasušených dojníc má oproti metóde zasúšania bez antibiotík výhodu, že znižuje nerozvážne používanie antibiotík, zabraňuje bakteriálnej rezistencii, zabezpečuje lepšiu kvalitu mlieka a väčšiu bezpečnosť potravín. Antibiotiká by sa mali používať len na cecky so subklinickou mastitídou, pričom mikrobiologická kultivácia na konci laktácie sa vykonáva na úrovni štvtiek mliečnej žľazy (Lopes et al., 2019). Keďže prevalencia subklinickej mastitídy v stáde, mlieková úžitkovosť kráv a poradie laktácie pred

zasušením ovplyvňujú odhad faktorov, ktoré by sa mohli vziať do úvahy pri výbere (a) hraničných hodnôt PSB, napríklad pri zavádzaní selektívneho zasúšania jednotlivých dojníc na farme (Lipkens et al., 2019). Krattley-Roodenburg et al., (2021) odporučili aplikovať

Patogény	**Výskyt pri zasušení (%)**	**Výskyt po zasušení (%)**
S. aureus	5,95	1,30
S. xylosus	32,14	4,55
S. chromogenes	29,76	4,55
S. epidermidis	7,14	-
S. haemolyticus	5,95	-
Str. uberis	4,76	-
Corynebacterium amycolatum	3,57	-
Serratia ureilytica	3,57	-
S. arlettae	2,38	-
Enterococcus faecalis	1,19	-
Str. lutetiensis	1,19	-
Citobacter koseri	1,19	-
Serratia rubidae	1,19	-
Escherichia coli	-	0,65
Str. sciuri	-	0,65

antibiotickú liečbu u kráv s vysokým PSB s predchádzajúcimi zdravotnými problémami vemena. Ustajnenie suchostojacich kráv sa javí ako vplyvné, ale vyžaduje si ďalšie štúdium.

Tabuľka 3 Zastúpenie identifikovaných patogénov vo vzorkách mlieka

ZÁVER

Pre chovateľov dojníc je najväčším problémom rýchla identifikácia „problémových kráv“ a určenie patogénov, ktoré spôsobujú zápaly mliečnych žliaz. Cielená liečba na úrovni štrvtiek vemena s určenou citlivosťou antibiotík na jednotlivé druhy mastitídnych patogénov vyskytujúcich sa v chove, môže pomôcť k zníženiu používania antibiotík v živočíšnej výrobe a predísť vzniku rezistentných kmeňov mikroorganizmov. Antibiotická liečba v období zasušenia jednoznačne znížila výskyt CNS a *S. aureus* u dojníc na začiatku laktácie.

LITERATÚRA

Higgins H. M., Golding S. E., Mouncey J., Nanjiani I., Cook A. J. C. 2017. Understanding veterinarians' prescribing decisions on antibiotic dry cow therapy. *J Dairy Sci* 100(4):2909–16. https://doi.org/365 10.3168/jds.2016-11923

Huijps K., Lam T. J. G. M., Hogeveen H. 2008. Costs of mastitis: facts and perception. *J. Dairy Sci*., 2008, 75: p. 113-120.

Kelly, A. L., Leitner, G., Merin, U. 2011. Milk Quality and Udder Health (Test Methods and Standards). Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition), 2011, p. 894-901, http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00353-8.

Krattley-Roodenburg, B., Huybens L. J, Nielen, M., van Werven T. 2021. Dry period management and new high somatic cell count during the dry period in Dutch dairy herds under selective dry cow therapy. *J Dairy Sci*. 2021 Jun;104(6):6975-6984. doi: 10.3168/jds.2020-19133.

Kuipers, A., Koops, W. J., Wemmenhove, H. 2016. Antibiotic use in dairy herds in the Netherlands from 2005 to 2012. *J Dairy Sci* 2016; 99(2): 1632–48. https://doi.org/10.3168/jds.2014-8428

Lipkens, Z., Piepers, S., De Visscher, A., De Vliegher, S. 2019. Evaluation of test-day milk somatic cell count information to predict intramammary infection with major pathogens in dairy cattle at drying off. *J Dairy Sci*. 2019 May;102(5):4309-4321. doi: 10.3168/jds.2018-15642.

Lopes, L. O., Lima, A. M. C. 2019. Rational Decision On the Use of Antibiotics During the Dry Period in Dairy Cows, bioRxiv 667873; doi: https://doi.org/10.1101/667873
McGuire,M., A., Annen, E. L., Collier, R., J. 2004. Is a Dry Period Really Necessary? *Advances in Dairy Technology* (2004) Volume 16, page 277
Piddock L. J. V. 2016. Reflecting on the final report of the O'Neill Review on Antimicrobial Resistance. *The Lancet Infectious Diseases.* 2016. p. 767–8. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30127-X
Regulation (EC) No 853/2004 lays down specific rules on the hygiene of food of animal origin for food business operators.
Robert, A., Bareille, N., Roussel, P., Poutrel, B., Heuchel, V., Seegers, H. 2006. Interdependence of udder quarters for new intramammary infection during the dry period in cows submitted to selective antibiotic therapy. *J Dairy Res.* 2006 Aug;73(3):345-52. doi: 10.1017/S0022029906001981.
Scherpenzeel, C. G. M., Hogeveen H., Maas L., Lam T. J. G. M. 2017. Economic optimization of selective dry cow treatment. *J Dairy Sci* [Internet]. American Dairy Science Association; 2017 Feb https://doi.org/370 10.3168/jds.2017-13076
Schukken, Y. H., Gurjar, A., Moroni, P. 2011. Physiology and patho-physiology of the mammary gland during the dry period. *Large Animal Review*. December 2011, p. 1-11.
Watters, R. D., Guenther, J. N., Brickner, A. E., Rastani, R. R., Crump, P. M., Clark, P. W., Grummer, R. R. 2008. Effects of dry period length on milk production and health of dairy cattle. *J Dairy Sci*. Jul;91(7):2595-603.

Poďakovanie: Tento článok bol vytvorený realizáciou projektu APVV-18-0121 a Operačného programu NUKLEUS číslo 313011V387.

Kontaktná adresa: Martina Vršková, Odbor systémov chovu, šľachtenia a kvality produktov, VÚŽV Nitra, Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

VPLYV MANAŽMENTU ZASÚŠANIA NA ZDRAVIE MLIEČNEJ ŽĽAZY DOJNÍC
THE EFFECT OF DRY-OFF MANAGEMENT ON UDDER HEALTH OF DAIRY COWS

Martina Vršková, Kristína Tvarožková, Vladimír Tančin, Michal Uhrinčať, Lucia Mačuhová, Ivan Holko

Abstract: The aim of the work was to study value somatic cell count and the occurrence of mastitis pathogens before and after calving in the same dairy cows. The Holstein cows suspicious on subclinical mastitis (positive California Mastitis Test) were sampled at quarter level under practical farm with high level of milk yield (11,278 kg). The cows were treated with antibiotics (Cefquinomum) before drying. In total 245 samples before drying and 173 samples after calving from the same dairy cows were collected. The samples were cultured on blood agar (MkB Test as, Rosina, SR). MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Germany) was used to identify mastitis pathogens. Bacteriologically positive (BP) samples from dairy cows before drying were found in 35 % of the milk samples. The most frequent pathogens in BP milk samples were coagulase-negative *staphylococci* (CNS) (77,38 %). The most common CNS was *Staphylococcus* (S.) *xylosus* (32,14 %). *S. aureus* was detected in 5,95 % of BP samples. After calving, we found BP samples in 14,02 % of dairy cows. The most common pathogens in milk samples were CNS (10,39 %). *S. aureus* was detected in 0,94 % of BP samples. Antibiotic treatment during the drying period clearly reduced the occurrence of CNS and *S. aureus* in dairy cows at the beginning of lactation.
Keywords: dairy cow, dry cow management, somatic cell count, intramammary pathogens

ÚVOD

Kvalitu mlieka možno hodnotiť meraním rôznych parametrov, ktoré poukazujú na jeho bezpečnú konzumáciu a spracovanie na mliečne výrobky, ako aj poukazujú na zdravotný stav dojnice. Hlavným parametrom, ktorý sa v tejto súvislosti medzinárodne používa, je počet somatických buniek (PSB) v mililitri mlieka (Kelly et al., 2011). Bezpečnosť a kvalita mlieka na rôzne druhy mliečnych výrobkov sa posudzuje stanovením celkového počtu mikroorganizmov (CPM) alebo prítomnosti špecifických druhov technologicky významných baktérií. Mastitídy majú obrovský ekonomický dopad, najmä v súvislosti s nepriaznivým vplyvom na výšku produkcie mlieka, liečbu, vyradenie kráv (Huijps et al., 2008).

Počet somatických buniek v mlieku je kľúčovým parametrom kvality mlieka a indikátorom zdravia vemena a prevalencie klinickej a subklinickej mastitídy u dojníc (nariadenie (ES) č. 853/2004, ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické pravidlá potravín živočíšneho pôvodu, podľa ktorej je počet somatických buniek v 1 ml mlieka ≤ 400 000).

Obdobie zasušenia je pre dojnicu veľmi dôležitým obdobím. Dojnici poskytuje možnosť regenerácie epitelového tkaniva mliečnej žľazy pred ďalšou laktáciou a prípravy na pôrod teľaťa. Dojnice s krátkym obdobím sucha (10 až 40 dní) produkovali v nasledujúcej laktácii výrazne menej mlieka ako kravy s obdobím sucha 40 až 60 dní (Watters et al. 2008). Adekvátna proliferácia a diferenciácia sekrečného epitelu mliečnej žľazy počas obdobia zasušenia sú nevyhnutné pre optimálnu syntetickú a sekrečnú funkciu v nasledujúcej laktácii, a preto trvanie tranzitného obdobia úzko súvisí s produkciou mlieka v nasledujúcej laktácii (Schukken et al., 2011).

U dojníc sa okrem použitia antibiotík v liečbe klinickej a subklinickej mastitídy počas laktácie používa aj použitie intramamárnych antibiotík v čase zasušenia medzi laktáciami.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Avšak pri správnej diagnostike mastitídy v jednotlivých štvťkách vemena dojníc, by bolo možné použiť mechanickú bariéru bez antibiotík, ktorá pôsobí ako mechanická bariéra proti environmentálnym mikroorganizmom pred pôrodom (Higgins et al.,2017, Scherpenzeel et al.,2017).

Legislatíva o používaní antibiotík v prevencii chorôb je v oblasti živočíšnej výroby presne evidovaná, vrátane liečby antibiotikami v období sušenia a čoraz viac obmedzovaná (Kuipers et al., 2016, Piddock, 2016). Existuje obava zo zníženia používania antibiotík pri zasúšaní dojníc, pričom sa odporúča liečiť iba štvťky s intramamárnymi infekciami s predchádzajúcou diagnostikou mastitídnych patogénov a ich citlivosťou na antibiotiká (Lopes et al., 2019)|.

Cieľom práce bolo sledovať hodnotu počtu somatických buniek pred zasušením a po období zasušenia u tých istých dojníc na danej farme aj s identifikáciou mastitídnych patogénov.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky sme odoberali na farme v Trenčianskom regióne od júna do novembra 2021, spolu 418 vzoriek. Ide o farmu mliekového dobytka holštajnského plemena s priemernou úžitkovosťou za laktáciu v roku 2021 11 278 l mlieka (n=300 ks dojníc).

Vzorky mlieka sme odoberali od dojníc pred zasušením na základe pozitívneho NK testu na úrovni štvrtiek vemena. Pri pozitívnom výsledku NK testu sme cecok najmä jeho hrot vydezinfikovali 70 % alkoholom a následne oddojili prvé streky do nádoby s čiernym dnom. Z každej pozitívnej štvrtky vemena sme odobrali vzorku mlieka pre bakteriologickú kultiváciu a taktiež vzorku na stanovenie počtu somatických buniek (240 vzoriek mlieka). Vzorky mlieka sme previezli do laboratória na stanovenie počtu somatických buniek a vzorky mlieka pre stanovenie prítomnosti patogénov boli zmrazené až do bakteriologickej analýzy.

Počet somatických buniek sme stanovili na prístroji Somacount 150 (Bentley Instruments, Inc., Chaska, Minnesota, USA). Dojnice sme zaradili do kategórií PSB nasledovne: zdravé do < $200x10^3$ buniek/ml mlieka, $200\text{-}400x10^3$ buniek/ml mlieka a mastitídne zvieratá > $400x10^3$ buniek/ml mlieka. Uvedená farma paušálne používa intramamárne antibiotiká s účinnou látkou *Cefquinomum*.

Vzorky mlieka pre zistenie prítomnosti a identifikáciu patogénov sme kultivovali na krvnom agare (5 % defibrinovanej ovčej krvi, MkB Test a.s., Rosina, SR) pri teplote 37 °C v aeróbnych podmienkach po dobu 24 – 48 hodín. Narastené kolónie boli rozlíšené na základe morfológie, typu hemolýzy, Gramovho farbenia, eskulin testu, katalázového testu (3 % H_2O_2, Merck, Darmstadt, Germany) a aj cytochrom C oxidáza (Bactident Oxidase, Merck), pričom *S. aureus* bol predbežne potvrdený pomocou clumbing faktor testu (DiaMondiaL Staph Plus Kit, Germany) (Wente et al., 2016). Na definitívnu identifikáciu baktérií bol použitý prístroj MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) (Tvarožková et al., 2019).

Vzorka mlieka bola klasifikovaná ako pozitívna pre všetky patogény okrem kontagióznych (*S. aureus, Streptococcus (Str.) agalactiae*), ak bola zaznamenaná prítomnosť aspoň päť kolóniu tvoriacich jednotiek ($CFU.ml^{-1}$) a pre kontagiózne patogény bola vzorka označená ako pozitívna, ak bola identifikovaná minimálne jedna kolóniu tvoriaca jednotka. Vzorka bola klasifikovaná ako kontaminovaná, ak bolo zistených tri a viac druhov patogénov, pričom ani jeden z nich nebol kontagióznym druhom. Pre matematické vyhodnotenie zastúpenia jednotlivých vzoriek a patogénov bol použitý program MS Excel (Office 365).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Obdobie sucha je pravdepodobne obdobím, počas ktorého je mliečna žľaza najcitlivejšia na intramamárnu infekciu. Počas involučnej fázy je žľaza plná mlieka, a preto je dosť náchylná

na infekciu. Z tohto dôvodu je metóda zasúšania a paušálne používanie antibiotík nevyhnutné na prevenciu infekcií v počiatočnom období zasúšania. Niekoľko štúdií ukázalo, že nižšia produkcia mlieka pri zasušení je spojená s menším počtom infekcií v ranom období zasušenia (Schukken et al., 2011).

Nové infekcie vzniknuté v tomto období u kráv neliečených antibiotikami pri zasušení sa pohybujú od 3,8 do 35,1 % štvrtiek s priemerom okolo 10 % (Robert et al. 2006).

Zistili sme najvyššie zastúpenie počtu somatických buniek v kategórii do 200x10^3 buniek v ml (tab. 1). Potvrdilo sa nám zníženie počtu PSB po otelení s použitím intremamárnych antibiotík (tab. 2).

Tabuľka 1 Frekvencia distribúcie PSB vo vzorkách mlieka z jednotlivých štvrtiek vemena dojníc pred zasušením

	počet vzoriek	frekvencia distribúcie (PSB v 10^3 buniek/ml) v % zo štvrtiek		
štvrťka	n	< 200	200 - 400	> 400
ľavá zadná	60	63,33	13,33	23,33
ľavá predná	61	62,30	11,48	26,23
pravá predná	62	69,35	12,90	17,74
pravá zadná	62	54,84	19,35	25,81

Tabuľka 2 Frekvencia distribúcie PSB vo vzorkách mlieka z jednotlivých štvrtiek vemena dojníc po zasušení

	počet vzoriek	frekvencia distribúcie (PSB v 10^3 buniek/ml) v % zo štvrtiek		
štvrťka	n	< 200	200 - 400	> 400
ľavá zadná	42	85,71	4,76	9,52
ľavá predná	43	83,72	2,33	13,95
pravá predná	43	86,05	9,30	4,65
pravá zadná	45	86,67	8,89	4,44

V súčasnosti u prežúvavcov dominujú „environmentálne“ mastitídy spôsobené patogénnymi baktériami, ktoré ľahko prežívajú v prostredí, najmä koaguláza-negatívne stafylokoky. Na druhom mieste sú infekčné mastitídy spôsobené baktériami Streptococcus agalactiae a Staphylococcus aureus, ktoré sa šírili z dojnice na dojnicu pri dojení, pomocou dojiaceho stroja a boli z veľkej časti eliminované preventívnymi opatreniami.

Bakteriologicky pozitívne (BP) vzorky od dojníc pred sušením boli zistené v 35 % vzoriek mlieka. Najčastejšími patogénmi vo vzorkách BP mlieka boli koaguláza-negatívne stafylokoky (CNS) (77,38 %). Najčastejším CNS bol *Staphylococcus (S.) xylosuss* (32,14 %, tab.1). *S. aureus* sme zistili v 5,95 % vzoriek TK po otelení, vzorky TK sme zistili u 14,02 % dojníc. Najčastejšími patogénmi vo vzorkách mlieka boli CNS (10,39 %).

Selektívne ošetrenie ceckov u zasušených dojníc má oproti metóde zasúšania bez antibiotík výhodu, že znižuje nerozvážne používanie antibiotík, zabraňuje bakteriálnej rezistencii, zabezpečuje lepšiu kvalitu mlieka a väčšiu bezpečnosť potravín. Antibiotiká by sa mali používať len na cecky so subklinickou mastitídou, pričom mikrobiologická kultivácia na konci laktácie sa vykonáva na úrovni štvtiek mliečnej žľazy (Lopes et al., 2019). Keďže prevalencia subklinickej mastitídy v stáde, mlieková úžitkovosť kráv a poradie laktácie pred

zasušením ovplyvňujú odhad faktorov, ktoré by sa mohli vziať do úvahy pri výbere (a) hraničných hodnôt PSB, napríklad pri zavádzaní selektívneho zasúšania jednotlivých dojníc na farme (Lipkens et al., 2019). Krattley-Roodenburg et al., (2021) odporučili aplikovaťantibiotickú liečbu u kráv s vysokým PSB s predchádzajúcimi zdravotnými problémami vemena. Ustajnenie suchostojacich kráv sa javí ako vplyvné, ale vyžaduje si ďalšie štúdium.

Tabuľka 3 Zastúpenie identifikovaných patogénov vo vzorkách mlieka

Patogény	**Výskyt pri zasušení (%)**	**Výskyt po zasušení (%)**
S. aureus	5,95	1,30
S. xylosus	32,14	4,55
S. chromogenes	29,76	4,55
S. epidermidis	7,14	-
S. haemolyticus	5,95	-
Str. uberis	4,76	-
Corynebacterium amycolatum	3,57	-
Serratia ureilytica	3,57	-
S. arlettae	2,38	-
Enterococcus faecalis	1,19	-
Str. lutetiensis	1,19	-
Citobacter koseri	1,19	-
Serratia rubidae	1,19	-
Escherichia coli	-	0,65
Str. sciuri	-	0,65

ZÁVER

Pre chovateľov dojníc je najväčším problémom rýchla identifikácia „problémových kráv“ a určenie patogénov, ktoré spôsobujú zápaly mliečnych žliaz. Cielená liečba na úrovni štrvtiek vemena s určenou citlivosťou antibiotík na jednotlivé druhy mastitídnych patogénov vyskytujúcich sa v chove, môže pomôcť k zníženiu používania antibiotík v živočíšnej výrobe a predísť vzniku rezistentných kmeňov mikroorganizmov. Antibiotická liečba v období zasušenia jednoznačne znížila výskyt CNS a *S. aureus* u dojníc na začiatku laktácie.

LITERATÚRA

Higgins H. M., Golding S. E., Mouncey J., Nanjiani I., Cook A. J. C. 2017. Understanding veterinarians' prescribing decisions on antibiotic dry cow therapy. *J Dairy Sci* 100(4):2909–16. https://doi.org/365 10.3168/jds.2016-11923

Huijps K., Lam T. J. G. M., Hogeveen H. 2008. Costs of mastitis: facts and perception. *J. Dairy Sci.*, 2008, 75: p. 113-120.

Kelly, A. L., Leitner, G., Merin, U. 2011. Milk Quality and Udder Health (Test Methods and Standards). Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition), 2011, p. 894-901, http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00353-8.

Krattley-Roodenburg, B., Huybens L. J, Nielen, M., van Werven T. 2021. Dry period management and new high somatic cell count during the dry period in Dutch dairy herds under selective dry cow therapy. *J Dairy Sci*. 2021 Jun;104(6):6975-6984. doi: 10.3168/jds.2020-19133.

Kuipers, A., Koops, W. J., Wemmenhove, H. 2016. Antibiotic use in dairy herds in the Netherlands from 2005 to 2012. *J Dairy Sci* 2016; 99(2): 1632–48. https://doi.org/10.3168/jds.2014-8428

Lipkens, Z., Piepers, S., De Visscher, A., De Vliegher, S. 2019. Evaluation of test-day milk somatic cell count information to predict intramammary infection with major pathogens in dairy cattle at drying off. *J Dairy Sci*. 2019 May;102(5):4309-4321. doi: 10.3168/jds.2018-15642.

Lopes, L. O., Lima, A. M. C. 2019. Rational Decision On the Use of Antibiotics During the Dry Period in Dairy Cows, bioRxiv 667873; doi: https://doi.org/10.1101/667873
McGuire,M., A., Annen, E. L., Collier, R., J. 2004. Is a Dry Period Really Necessary? *Advances in Dairy Technology* (2004) Volume 16, page 277
Piddock L. J. V. 2016. Reflecting on the final report of the O'Neill Review on Antimicrobial Resistance. *The Lancet Infectious Diseases.* 2016. p. 767–8. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30127-X
Regulation (EC) No 853/2004 lays down specific rules on the hygiene of food of animal origin for food business operators.
Robert, A., Bareille, N., Roussel, P., Poutrel, B., Heuchel, V., Seegers, H. 2006. Interdependence of udder quarters for new intramammary infection during the dry period in cows submitted to selective antibiotic therapy. *J Dairy Res.* 2006 Aug;73(3):345-52. doi: 10.1017/S0022029906001981.
Scherpenzeel, C. G. M., Hogeveen H., Maas L., Lam T. J. G. M. 2017. Economic optimization of selective dry cow treatment. *J Dairy Sci* [Internet]. American Dairy Science Association; 2017 Feb https://doi.org/370 10.3168/jds.2017-13076
Schukken, Y. H., Gurjar, A., Moroni, P. 2011. Physiology and patho-physiology of the mammary gland during the dry period. *Large Animal Review*. December 2011, p. 1-11.
Watters, R. D., Guenther, J. N., Brickner, A. E., Rastani, R. R., Crump, P. M., Clark, P. W., Grummer, R. R. 2008. Effects of dry period length on milk production and health of dairy cattle. *J Dairy Sci*. Jul;91(7):2595-603.

Poďakovanie: Tento článok bol vytvorený realizáciou projektu APVV-18-0121 a Operačného programu NUKLEUS číslo 313011V387.

Kontaktná adresa: Martina Vršková, Odbor systémov chovu, šľachtenia a kvality produktov, VÚŽV Nitra, Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

DETEKCIA FALŠOVANIA BRYNZDE METÓDOU IZOELEKTRICKEJ FOKUSÁCIE GAMA KAZEÍNOV
DETECTION OF BRYNZDA CHEESE ADULTERATION BY THE METHOD OF ISOELECTRIC FOCUSING OF GAMMA CASEINS

Peter Zajác, Jozef Čapla, Lucia Benešová, Jozef Čurlej, Silvia Jakabová, Adam Partika, Stanislava Zubrická

Abstract: „Slovak bryndza" is a traditional Slovak cheese manufactured by milling a lump of matured ewe's cheese or by milling a mixture of lump ewe's cheese and lump cow's cheese. The percentage of lump ewe's cheese is greater than 50 % w/w dry matter. Differences in the purchase prices of ewe's and cow's milk create the potential for adulteration. The detection of cow's milk compounds by isoelectric focusing of γ-caseins after plasmolysis is a suitable method for the determination of adulteration of this traditional cheese. The analysis and final results may be affected by factors affecting laboratory activity and biological factors. Biological factors are manifested primarily as variations in the casein content of ewe's and cow's milk. Despite this variation, this method may also be used for quantification purposes.
Keywords: bryndza, falšovanie

ÚVOD

Slovenská bryndza je prírodný syr vyrábaný z hrudky vyzretého ovčieho syra alebo zo zmesi tohto syra s kravským hrudkovým syrom alebo zo zmesi skladovanej hrudky vyzretého ovčieho syra a kravského hrudkového syra. Slovenská bryndza musí obsahovať minimálne 50 % hmotn. ovčieho syra v sušine výrobku. Ovčí hrudkový syr a kravský hrudkový syr sa vyrábajú vyzrážaním bielkovín z čerstvého mlieka pôsobením syridla a čiastočným oddelením srvátky uvoľnenej pri výrobe. Skladovaná hrudka vyzretého ovčieho syra je zmes drveného a mletého vyzretého ovčieho hrudkového syra a soli, dokonale vylisovaná a skladovaná (EC, 2007; EC, 2008a; MPRV SR, 2016).

Pri odrodách syrov s určitým stupňom proteolýzy sa striktne odporúča izoelektrická fokusácia gama kazeínov podľa referenčnej metódy EÚ (Mayer, 2005). Referenčnou metódou EÚ je detekcia kravského mlieka a kazeinátu v syroch vyrobených z ovčieho mlieka izoelektrickou fokusáciou γ-kazeínov po plazminolýze. Táto metóda je vhodná na citlivú a špecifickú detekciu natívneho a tepelne upraveného kravského mlieka a kazeinátu v čerstvých a zrejúcich syroch vyrobených z ovčieho mlieka. Nie je vhodný na detekciu mlieka a syrov znehodnotených tepelne upravenými proteínovými koncentrátmi z hovädzej srvátky. Vo všeobecnosti je táto metóda určená na kvalitatívne stanovenie (EC, 2008b), ale kvantifikácia podielu kravskej a ovčej zložky pomocou tejto metódy je možná (Zajác et al., 2021).

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky bryndze sme zakúpili v obchodoch a priamo na farmách. Celkovo sme analyzovali 24 vzoriek zmesnej bryndze. Vzorky sme preniesli do laboratória v súlade s normou ISO 707, 2008 pri teplote 0 – 5 °C. Následne sme vykonali analýzu základných parametrov:

Obsah tuku: ISO 1735:2004 (IDF 5:2004) Syry a tavené syrové výrobky -- Stanovenie obsahu tuku -- Gravimetrická metóda (referenčná metóda).

Obsah bielkovín: ISO 8968-1:2014 (IDF 20-1:2014) Mlieko a mliečne výrobky -- Stanovenie obsahu dusíka -- Časť 1: Kjeldahlova metóda a výpočet dusíkatých látok.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Obsah laktózy: ISO 22662:2007 (IDF 198:2007) Mlieko a mliečne výrobky -- Stanovenie obsahu laktózy pomocou vysokoúčinnej kvapalinovej chromatografie (referenčná metóda).

Obsah sušiny: ISO 5534:2004 (IDF 4:2004) Syry a tavené syry -- Stanovenie celkového obsahu pevných látok (referenčná metóda).

Obsah popola: Obsah popola bol zistený po spaľovaní vzorky v muflovej peci pri 550 °C počas 5 hodín.

Obsah kazeínu: bol analyzovaný gravimetrickou metódou po izolácii kazeínu acetónom (Zajác et al., 2021).

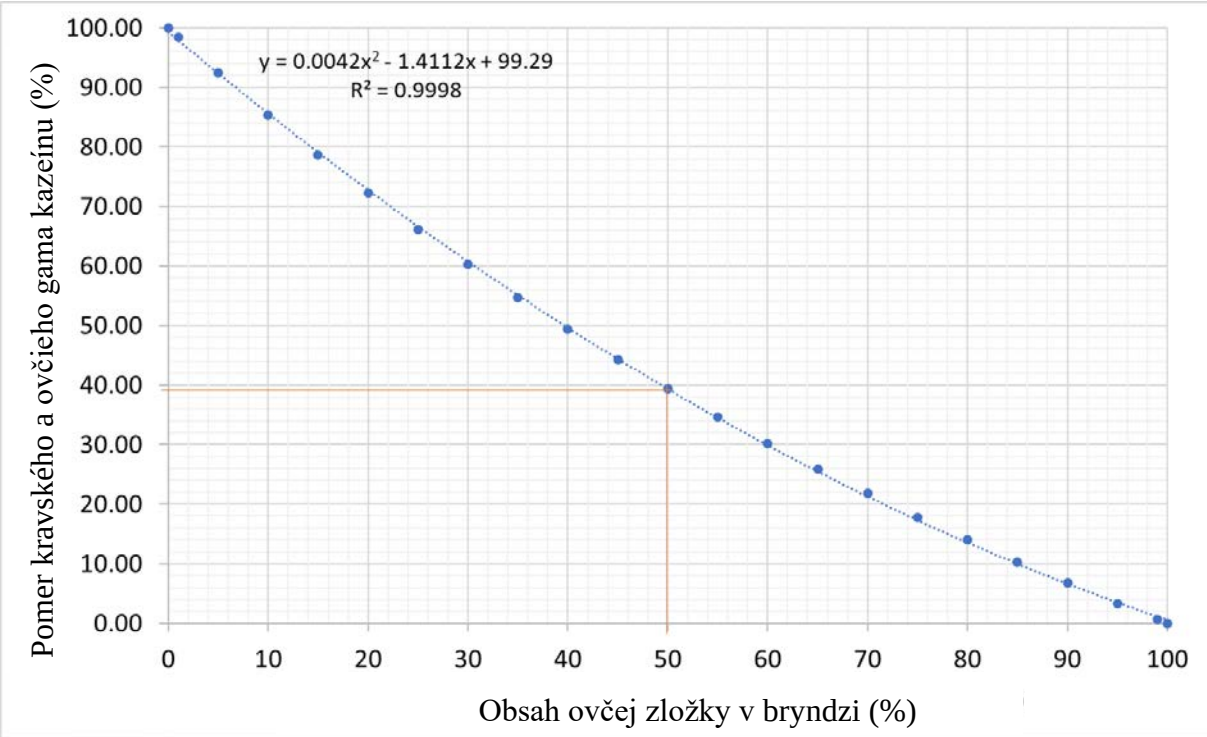
Pre každý parameter bola vypočítaná priemerná hodnota a smerodajná odchýlka. Následne sme analyzovali obsah kazeínových frakcií gama2 a gama3 po plazminolýze v izolovaných kazeínoch izoelektrickou fokusáciou podľa metodiky, ktorú sme v minulosti publikovali (Zajác et al., 2021).

Pomer kravského a ovčieho gama kazeínu (%) = ((r1 + r3) / (r1 + r2 + r3 + r4)) ×100 (1)

Kde:

r – je hustota pásov (r1 – kravský γ2-kazeín, r2 – ovčí γ2-kazeín, r3 – kravský γ3-kazeín, r4 – ovčí γ3-kazeín) (Zajác et al., 2021).

Vypočítaný pomer kravského a ovčieho gama kazeínu sme dosadili do kalibračnej krivky (Obrázok 1), z ktorej sme odčítali množstvo ovčej zložky vo výrobku.



Obrázok 1 Kalibračná krivka pre vyhodnotenie výsledkov obsahu ovčej zložky v bryndzi (Zajác et al., 2021).

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky analýzy sú zhrnuté v Tabuľke 1. Analýzou 24 vzoriek bryndze z obchodnej siete sme zistili nasledovné priemerné výsledky: obsahu sušiny 47,32 g.100 g^{-1}, obsah bielkovín 18,06 g.100g^{-1}, obsah tuku 23,22 g.100 g^{-1}, obsah laktózy 1,52 g.100g^{-1}, obsah popola 4,53 g g.100g^{-1}, obsah kazeínu 17,68 g.100g^{-1}, obsah gama kazeínu 0,51 g.100g^{-1}. Priemerný pomer kravských a ovčích gama kazeínov bol 0,38.

Tabuľka 1 Výsledky stanovenia zloženia bryndze z obchodnej siete

Číslo vzorky	Sušina	Bielko-viny	Tuk	Laktóza	Tuk v sušine	Kazeín	Gama kazeín	Pomer K:O kazeínov	Popol	Množstvo kravskej zložky v sušine výrobku	Množstvo ovčej zložky v sušine výrobku
-	g.100 g^{-1}	g.100g^{-1}	g.100 g^{-1}	g.100 g^{-1}	%	g.100 g^{-1}	g.100g^{-1}	-	g.100 g^{-1}	%	%
1	48,97	18,79	23,25	2,32	47,48	18,23	0,50	0,39	4,61	50	50
2	46,50	16,34	23,14	2,11	49,76	16,19	0,49	0,38	4,91	49	51
3	43,67	15,87	22,81	0,56	52,23	15,43	0,46	0,41	4,43	51	49
4	44,96	16,34	23,53	0,57	52,34	16,02	0,50	0,43	4,52	54	46
5	47,19	17,71	23,08	1,89	48,91	17,51	0,44	0,42	4,51	52	48
6	45,18	16,36	23,54	0,54	52,10	16,13	0,48	0,37	4,74	48	52
7	47,09	17,71	22,64	2,23	48,08	17,02	0,67	0,46	4,51	57	43
8	44,11	15,87	22,83	0,52	51,76	15,21	0,49	0,38	4,89	49	51
9	43,62	15,83	22,88	0,54	52,45	15,34	0,67	0,38	4,37	49	51
10	44,58	16,23	23,04	0,58	51,68	15,98	0,26	0,36	4,73	47	53
11	48,64	20,02	22,14	1,81	45,52	19,65	0,59	0,35	4,67	46	54
12	49,54	19,11	23,17	2,32	46,77	18,96	0,37	0,29	4,94	39	61
13	48,35	20,13	22,01	1,86	45,52	19,74	0,73	0,27	4,35	37	63
14	47,62	17,76	22,63	2,22	47,52	17,13	0,60	0,52	5,01	62	38
15	47,15	17,71	23,08	1,89	48,95	17,11	0,26	0,35	4,47	46	54
16	46,10	16,11	23,34	2,34	50,63	15,87	0,53	0,38	4,31	49	51
17	44,80	17,75	22,46	0,63	50,13	17,65	0,33	0,39	3,96	50	50
18	49,76	20,33	22,33	3,11	44,88	20,02	0,53	0,41	3,99	51	49
19	48,39	18,74	22,78	2,34	47,08	17,45	0,32	0,43	4,53	54	46
20	48,51	20,01	22,14	1,84	45,64	19,87	0,69	0,39	4,52	50	50
21	44,82	16,24	23,78	0,59	53,06	16,04	0,46	0,42	4,21	53	47
22	56,33	22,39	27,68	1,82	49,14	22,11	0,54	0,33	4,44	43	57
23	52,91	21,53	25,67	1,24	48,52	21,32	0,71	0,28	4,47	38	62
24	46,94	18,45	23,25	0,63	49,53	18,34	0,53	0,39	4,61	50	50
X̄	**47,32**	**18,06**	**23,22**	**1,52**	**49,15**	**17,68**	**0,51**	**0,38**	**4,53**	-	-
SD	2,96	1,92	1,20	0,82	2,51	1,95	0,13	0,06	0,27	-	-

Poznámka: X̄ – aritmetický priemer, SD – štandardná odchýlka K:O – pomer kravských a ovčích gama kazeínov.

Falšovanie mliečnych výrobkov inými ako deklarovanými druhmi mlieka predstavuje veľký problém pre monitorovanie potravín. Analýza mliečnych bielkovín je vhodným riešením tohto problému (Borková a Snášelová, 2025), avšak v prípade detekcie bielkovín kravského

mlieka v ovčom mlieku je potrebné najskôr vykonať plazminolýzu γ-kazeínov. Po plazminolýze sa kravský beta-kazeín štiepi na špecifické γ -kazeíny, ktoré môžu byť použité ako špecifické markery. Proteolýzou vzniknú γ-2 a γ-3 kazeíny (Eigel et al., 1979; Addeo et al., 1990; Mayer, Heidler a Rockenbauer et al., 1997; Sienkiewicz, Dogan a Kroh, 2006; EC, 2008b). Laboratórne je možné následne jednotlivé proteínové frakcie separovať izoelektrickou fokusáciou na gély s pH gradientom 3-10. Jednotlivé proteínové frakcie sa separujú podľa ich rôznych izoelektrických bodov. Po separácii a zafarbení sa vykonáva denzitometrické vyhodnotenie elektroforetických pásov pomocou softvéru (Sienkiewicz, Dogan a Kroh, 2006). Na detekciu falšovania ovčieho syra sú k dispozícii aj iné metódy (Zeleňáková et al., 2016; Fekete et al., 2017; Šnirc et al., 2017). a možno ich použiť v kombinácii s touto metódou na podporu platnosti výsledkov.

V rámci analýzy sme sa zamerali na to, či výrobcovia dodržiavajú údaje deklarované na obaloch výrobkov prípadne vývesk ách, ktoré sú k dispozícii spotrebiteľom v mieste predaja týchto výrobkov. Pri vyhodnocovaní výsledkov sme zohľadnili rozšírenú neistotu merania U 11,38%.

Na základe našich výsledkov môžeme konštatovať že u 16 vzoriek prevládala ovčia zložka. V prípade 7 vzoriek prevládala kravská zložka avšak v tolerancii danej rozšírenou neistotou merania, ktorá zohľadňuje vplyv biologických faktorov ako aj vplyv technológie výroby. V prípade jednej vzorky bol identifikovaný väčší podiel kravskej (62%), tesne nad interval rozšírenej neistoty merania, ktorý indikuje podozrenie na falšovanie. V tomto prípade je ťažké určiť, či sa jednalo o zlyhanie v technológii, vplyv ľudského faktora, biologický vplyv alebo úmyselnú činnosť. Z výsledkov nášho predchádzajúceho výskumu vyplynulo, že ak chcú výrobcovia dodržať legislatívou daný limit minimálne 50 % hmotn. ovčieho syra v sušine bryndze, je dôležité, aby pri zmiešavaní ovčieho hrudkového syra s kravským hrudkovým syrom zohľadnili množstvo sušiny alebo upravili zmiešavací pomer. Množstvo sušiny v syre je možné stanoviť rýchlymi prevádzkovými prístrojovými metódami ako sú: sušenie na váhach

V prípade, že sa vo výrobe pri miešaní ovčieho a kravského hrudkového syra nezohľadňuje rôzny obsah sušiny u oboch syrov, odporúčame navýšiť množstvo použitej ovčej zložky na 60%.

Z našich výsledkov vyplýva, že pravidelné vykonávanie kontroly podielu ovčej zložky v bryndzi má svoje opodstatnenie a je dôležité.

ZÁVER

Analýzou 24 vzoriek bryndze sme zistili nasledovné priemerné hodnoty: obsah sušiny 47,32 g.100g^{-1}, obsah bielkovín 18,06 g.100g^{-1}, obsah tuku 23,22 g.100g^{-1}, obsah laktózy 1,52 g.100g^{-1}, obsah popola 4,53 g.100g^{-1}, obsah kazeínu 17,68 g.100g^{-1}, obsah gama kazeínu 0,51 g.100g^{-1}. Priemerný pomer kravských a ovčích gama kazeínov bol 0,38. Zistili sme, že až na jednu vzorku všetky analyzované vzorky vyhovovali obsahom ovčej zložky v sušine výrobku požiadavkám platnej legislatívy.

LITERATÚRA

Addeo, F., Moio, L., Chianese, L., Stingo, C., Resmini, P., Berner, I., Krause, I., Di Luccia, A., Bocca, A. 1990. Use of plasmin to increase the sensitivity of the detection of bovine milk in ovine cheese by gel isoelectric focusing of y2-caseins. *Milchwissenschaft,* 45, 708-711.

Borková, M., Snášelová, J. 2005. Possibilities of Different Animal Milk Detection in Milk and Dairy Products – a Review. In *Czech Journal of Food Sciences*, 23:2, 41-50, DOI: 10.17221/3371-cjfs

EC. 2007. Publication of an application pursuant to Article 6(2) of Council Regulation (EC) No 510/2006 on the protection of geographical indications and designations of origin for agricultural products and foodstuffs. Official Journal of the European Union, 50, 4. Oct., 2007, C 232, 17-22.

EC. 2008a. Commission Regulation (EC) No 676/2008 of 16 July 2008 registering certain names in the Register of protected designations of origin and protected geographical indications (Ail de la Drôme (PGI), Všestarská

cibule (PDO), Slovenská bryndza (PGI), Ajo Morado de Las Pedroñeras (PGI), Gamoneu or Gamonedo (PDO), Alheira de Vinhais (PGI), Presunto de Vinhais or Presunto Bísaro de Vinhais (PGI)) In Off. Journal of the European Union, 51, 17. July, 2008, L 189, 19-20.

EC. 2008b. Commission Regulation (EC) No 273/2008 of 5 March 2008 laying down detailed rules for the application of Council Regulation (EC) No 1255/1999 as regards methods for the analysis and quality evaluation of milk and milk products. In Official Journal of the European Union, 51, 29. March, 2008, L 88, pp. 53-61.

Eigel, W. N., Hofmann, C. J., Chibber, B. A., Tomich, J. M., Keenan, T. W., Mertz, E. T. 1979. Plasmin-mediated proteolysis of casein in bovine milk. Proceedings of the National Academy of Sciences, 76:5, 2244-2248, DOI: 10.1073/pnas.76.5.2244

Fekete, T., Šnirc, M., Belej, Ľ., Židek, R., Golian, J., Haščík, P., Zeleňáková, L., Zajác, P. 2017. Authentication of caprine milk and cheese by commercial qPCR assay. In *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences,* 11:1, 2017, 580-586, DOI: 10.5219/780

Mayer, H. K. 2005. Milk species identification in cheese varieties using electrophoretic, chromatographic and PCR techniques. In *International Dairy Journal* (Vol. 15, Issues 6–9, pp. 595–604). Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.idairyj.2004.10.012

Mayer, H. K., Heidler, D., Rockenbauer, C. 1997. Determination of the percentages of cows', ewes' and goats' milk in cheese by isoelectric focusing and cation-exchange HPLC of γ- and para-κ-caseins. In *International Dairy Journal*, 7:10, 619-628, DOI: 10.1016/s0958-6946(97)00064-2

MPRV SR. 2016. Decree of the Ministry of Agriculture and Rural Development of the Slovak Republic on certain milk products. In Coll. of the law of the SR.

Sienkiewicz, T., Dogan, M., Kroh, L. W. 2006. Investigation of proteins in ewe, goat and cow cheeses by gel isoelectric focusing. In *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences,* 56(15), 203-207.

Šnirc, M., Fekete, T., Belej, Ľ., Židek, R., Golian, J., Haščík, P., Zajác, P., Čapla, J. 2017. Detection of ovine milk adulteration using taqman real-time PCR assay. In *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences,* 11:1,. 338-343, DOI: 10.5219/782

Zajác, P., Beňová, E., Židek, R., Čapla, J., Benešová, L., Čurlej, J., Golian, J. 2021. Detection of adulteration of traditional Slovak bryndza ewe's cheese with cow's lump cheese by isoelectric focusing of gamma caseins. In *International Journal of Food Properties* (Vol. 24, Issue 1, pp. 1034–1060). Informa UK Limited, DOI: 10.1080/10942912.2021.1953066

Zeleňáková, L., Židek, R., Čanigová, M., Žiarovská, J., Zajác, P., Maršálková, L., Fikselová, M., Golian, J. 2016. Research And Practice: Quantification Of Raw And Heat-Treated Cow Milk in Sheep Milk, Cheese And Bryndza By ELISA Method. In *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences,* 10:1, 14-22, DOI: 10.5219/566

Poďakovanie: Táto práca bola podporená Slovenskou agentúrou pre výskum a vývoj v rámci grantu zmluva č. APVV-19-0180.

Kontaktná adresa: doc. Ing. Peter Zajác, PhD. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Ústav potravinárstva, Katedra hygieny a bezpečnosti potravín. Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra. E-mail: peter.zajac@uniag.sk

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Bezpečnosť a kvalita mäsa a mäsových výrobkov

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

VPLYV HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA KVALITU STEHENNEJ SVALOVINY VO VÝKRME MORIEK
THE INFLUENCE OF HUMIC SUBSTANCES ON THIGH MEAT QUALITY IN FATTENING OF TURKEYS

Alena Hreško Šamudovská, Lukáš Bujňák, Andrej Marcin, Tomáš Mihok, Michaela Harčárová, Pavel Naď

Abstract: In a 70-day experiment was studied the effect of humic substances (HUMAC MycotoxiSorb; added to the diet in experimental group in amount of 5 g.kg^{-1}) on chemical composition of thigh meat in turkeys (dry matter, water, crude protein, fat, some minerals). Supplementation of humic substances led to an increase the crude protein content of thigh meat ($P < 0,001$). The dry matter/water, fat and mineral content of thigh were not affected by dietary treatment ($P > 0,05$). Due to the higher crude protein content, meat from turkeys fed with a diet supplemented with humic substances can be evaluated as valuable for human nutrition.
Keywords: poultry, feed additive, humic substances, meat, chemical composition

ÚVOD

Kvalitu hydinového mäsa je možné ovplyvniť pridaním rôznych druhov kŕmnych doplnkových látok do krmív či kŕmnych zmesí. Humínové látky sú prírodné produkty, ktoré majú potenciál zlepšiť kvalitu mäsa hydinových brojlerov. Tieto látky sa už dlhšie používajú pre ich protihnačkové, imunostimulačné a antimikrobiálne vlastnosti v chovoch hydiny. Vo výkrme hydinových brojlerov tvoria náklady na krmivá až 70 % z celkových výrobných nákladov (Sugiharto, 2019). Vzhľadom na náklady je chuťou a nutričnou hodnotou mäso brojlerov jedným z najobľúbenejších druhov mäsa vo výžive ľudí (Marcinčák et al., 2018). Morčacie mäso patrí medzi najlepšie zdroje kvalitných bielkovín a má minimálny obsah tukov.

Humínové látky vznikajú rozkladom najmä organickej hmoty rastlinných a pôdnych zložiek (Bahadori, et al., 2017). Aktívne zložky humínových látok pozostávajú z humínových kyselín, kyseliny ulmovej, kyseliny fulvovej, humínu a niektorých mikroelementov (Edmonds, et al., 2014, Arif, et al., 2019). Hoci sa primárne používali na stimuláciu rastu rastlín (van Rensburg, 2015), neskôr sa úspešne aplikovali v rôznych formách a koncentráciách aj vo výžive hydiny (Marcinčáková et al., 2015, Domínguez-Negrete, et al., 2019, Semjon et al., 2020, Hudák, et al., 2021). Viaceré zistenia naznačujú, že humínové látky môžu byť potenciálnou kŕmnou prísadou používanou na zlepšenie kvality mäsa hydiny (Ozturk, et al., 2012). Z výsledkov mnohých štúdii vyplýva, že prídavok humínových látok do krmiva alebo vody môže ovplyvniť nielen intenzitu rastu a využitie živín, ale aj chemické zloženie hydinového mäsa (Semjon, et al., 2020, Jaďuttová, et al., 2019, Ozturk, et al., 2010).

Cieľom tejto práce bolo v experimentálnych podmienkach na modelovom kŕmnom pokuse sledovať vplyv podávania humínových látok do krmiva na chemické zloženie stehennej svaloviny u moriek (obsah sušiny, hrubého proteínu, tuku a minerálnych látok).

MATERIÁL A METODIKA

Do 70-dňového pokusu bolo zaradených 20 kusov 6-týždňových moriek hybridu Big 6, ktoré boli rozdelené do dvoch skupín (kontrolnej a pokusnej; n = 10). V oboch skupinách boli morky individuálne odvážené a označené identifikačným krúžkom. Priemerná hmotnosť moriek na začiatku pokusu bola 1734,43 ± 42,86 g. Ustajnené boli na hlbokej podstielke pri dodržaní štandardných podmienok prostredia (s kontrolovanou teplotou a vlhkosťou prostredia).

V priebehu pokusu boli morky oboch skupín kŕmené kompletnými kŕmnymi zmesami (DE HEUS s.r.o. Kendice, Slovenská republika): Midi forte – kŕmna zmes pre morky do 12. týždňa veku, Maxi – kŕmna zmes pre morky od 13. týždňa veku do porážky. V pokusnej skupine boli k uvedeným kŕmnym zmesiam pridané humínové látky v množstve 5 $g.kg^{-1}$ kŕmnej zmesi (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. Príjem krmiva a napájanie bolo počas celého pokusu zabezpečené *ad libitum*. Hmotnosť moriek a spotreba krmiva boli počas celého sledovaného obdobia zaznamenávané v dvojtýždňových intervaloch.

Na konci pokusu (na 70. deň), vo veku 16 týždňov, boli morky po odvážení usmrtené (cervikalnou dislokáciou) a jatočne opracované (odstránenie peria, hlavy, krku, behákov, vnútornosti). Boli odobrané vzorky stehennej svaloviny, v ktorých bol stanovený obsah sušiny/vody, hrubého proteínu, tuku a minerálnych látok (Ca, P, Mg, Cu, Zn). Vzorky svaloviny boli pred analýzou rozomleté.

Chemická analýza kŕmnych zmesí, ako aj vzoriek svaloviny bola vykonaná analytickými metódami podľa Nariadenia komisie (ES) č. 152/2009. Analyzovaný obsah živín v jednotlivých kŕmnych zmesiach je uvedený v tabuľke 1.

Tabuľka 1 Analyzovaný obsah živín v kŕmnych zmesiach

	MIDI FORTE (do 12. týždňa veku)		**MAXI** (od 13. týždňa veku)	
	Kontrolná skupina	**Pokusná skupina**	**Kontrolná skupina**	**Pokusná skupina**
Sušina (%)	88,68	88,62	89,74	89,44
Dusíkaté látky (%)	21,18	20,83	17,56	17,43
Hrubý tuk (%)	3,50	3,51	4,89	4,79
Hrubá vláknina (%)	4,50	4,50	4,01	4,13
Škrob (%)	41,87	41,65	47,00	46,39
Popol (%)	6,96	7,29	5,21	5,58
Ca (%)	1,01	1,06	1,11	1,10
Na (%)	0,16	0,16	0,13	0,16
P (%)	0,61	0,61	0,60	0,60
Cu ($mg.kg^{-1}$)	20,50	20,60	22,00	23,50
Zn ($mg.kg^{-1}$)	126,50	129,50	102,60	105,00
ME ($MJ.kg^{-1}$)	12,12	12,04	12,77	12,61

ME - Metabolizovateľná energia

Získané výsledky boli zhodnotené štatisticky nepárovým t-testom s použitím štatistického softvéru GraphPad Prism 8.0. Výsledky sú vyjadrené ako priemer ± štandardná chyba priemeru (SEM).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V mnohých štúdiách bolo zistené, že prídavok humínových látok do krmiva (Ozturk, et al., 2012, Hudák, et al., 2021) alebo do pitnej vody (Ozturk, et al., 2010) môže mať vplyv na chemické zloženie prsnej alebo stehennej svaloviny hydiny. Ozturk, et al., (2012), ktorí sledovali účinok prídavku humínových látok v rôznej koncentrácii do kŕmnych zmesí u brojlerových kurčiat (0,5, 1 a 1,5 $g.kg^{-1}$), zaznamenali významné zníženie obsahu bielkovín v prsnej aj stehennej svalovine brojlerov, ktorým bola podávaná kŕmna zmes s prídavkom

humínových látok v množstve 1 g.kg^{-1}. Obsah sušiny a tuku nebol ovplyvnený. Zníženie obsahu bielkovín v prsnej svalovine bolo zistené aj u brojlerových kurčiat, ktorým bolo podávané krmivo s prídavkom acidifikovaných humínových látok v 0,7 % koncentrácii (Hudák, et al., 2021)

V našom pokuse na morkách boli však zistené opačné výsledky. Prídavok humínových látok do krmiva viedol k signifikantnému zvýšeniu obsahu hrubého proteínu (P< 0,001) v stehennej svalovine moriek (Tabuľka 2). Zvýšenie obsahu bielkovín vo svalovine by mohlo byť dôsledkom zvýšenia využitia dusíka z krmiva vplyvom humínových látok. Humínové látky ako iónomeniče a chelatačné činidlá zvyšujú využitie dusíka a fosforu a tiež zvyšujú resorpciu železa a medi (Rath, et al., 2006).

Rovnako, zvýšenie obsahu bielkovín v stehennej svalovine vplyvom prídavku humínových látok do krmiva bolo zistené aj u bažantov (prídavok v 0,5 a 0,75 % koncentrácii) (Gálik, et al., 2023) a brojlerových kurčiat (prídavok v 0,8 % koncentrácii) (Semjon, et al., 2020). Na druhej strane, obsah tuku v stehennej svalovine bažantov bol významne znížený (Gálik, et al., 2023).

Odlišné výsledky vo svojej štúdii zaznamenali Ozturk, et al., (2010), ktorí podávali humínové látky brojlerovým kurčatám prostredníctvom pitnej vody. V stehennej svalovine brojlerových kurčiat, ktorým boli humínové látky podávané v 1,5 % koncentrácii, bol analyzovaný signifikantne vyšší obsah tuku než v kontrolnej skupine. Nižšie sledované koncentrácie (0,5 % a 1 %) nemali významný vplyv na chemické zloženie stehennej svaloviny.

Zmenu obsahu tuku v mäse zaznamenali aj Hudák, et al., (2021). Prídavok humínových látok v 0,7 % koncentrácii do krmiva znížil obsah tuku v prsnej svalovine brojlerových kurčiat. Prídavok acidifikovaných humínových látok viedol aj k významnému zníženiu obsahu sušiny/zvýšeniu obsahu vody.

V našom pokuse však obsah sušiny/vody a tuku v stehennej svalovine moriek nebol prídavkom humínových látok do krmiva ovplyvnený (P > 0,05) (Tabuľka 2).

Tabuľka 2 Chemické zloženie stehennej svaloviny moriek (% čerstvej hmoty)

Parameter	**Kontrolná skupina**	**Pokusná skupina**	P hodnota t-test
Sušina (%)	25,42 ± 0,29	24,83 ± 0,27	0,162
Voda (%)	74,58 ± 0,29	75,17 ± 0,27	0,162
Hrubý proteín (%)	18,01 ± 0,36	20,71 ± 0,22	<0,001
Tuk (%)	2,27 ± 0,27	2,88 ± 0,32	0,173

Prídavok humínových látok nemal významný vplyv ani na obsah minerálnych látok v stehennej svalovine moriek (P > 0,05) (Tabuľka 3). Zhodné výsledky zaznamenali Ozturk, et al., (2014), ktorí sledovali vplyv prídavku humínových látok do pitnej vody (v množstve 7,5, 15 a 22,5 g.kg^{-1}) u brojlerových kurčiat. V stehennej svalovine brojlerových kurčiat, ktorým boli podávané humínové látky, neboli zistené významné zmeny v obsahu Ca, P, Mg, Zn a Cu v porovnaní s kontrolnou skupinou.

Podobné výsledky zaznamenali aj vo svojej predchádzajúcej štúdii (Ozturk, et al., 2010). Rovnako, nebol zistený vplyv na obsah P, Mg, Zn a Cu v stehennej svalovine brojlerových kurčiat, ktorým boli humínové látky poskytované prostredníctvom pitnej vody v 0,5, 1 a 1,5 % koncentrácii. No prídavok humínových látok v najvyššej koncentrácii viedol k významnému zvýšeniu obsahu Ca v porovnaní s kontrolnou skupinou a skupinou s najnižším prídavkom humínových látok. Na druhej strane, v prsnej svalovine nebol obsah Ca prídavkom humínových látok ovplyvnený, ale obsah Cu sa významne zvýšil u brojlerových kurčiat

s prídavkom najvyššej koncentrácie humínových látok. Okrem zvýšenia Cu v prsnej svalovine zaznamenali aj významné zvýšenie Fe v prsnej aj stehennej svalovine vplyvom prídavku najvyššej koncentrácie humínových látok.

Zmeny v obsahu niektorých minerálnych látok v mäse môžu byť spôsobené chelatačnými účinkami humínových kyselín, ktoré sú ovplyvnené veľkým počtom bočných reťazcov karboxylových kyselín (Ozturk, et al., 2014). V našom pokuse na morkách však tento účinok pri danej koncentrácii humínových látok (0,5 %) podávaných do krmiva nebol zaznamenaný.

Tabuľka 3 Obsah minerálnych látok v stehennej svalovine moriek (v čerstvej hmoty)

	Kontrolná skupina	**Pokusná skupina**	P hodnota t-test
Ca ($g.kg^{-1}$)	1,06 ± 0,11	0,93 ± 0,09	0,396
P ($g.kg^{-1}$)	4,33 ± 0,49	4,46 ± 0,33	0,822
Mg ($g.kg^{-1}$)	0,47 ± 0,02	0,59 ± 0,09	0,214
Cu ($mg.kg^{-1}$)	3,55 ± 0,24	4,18 ± 0,66	0,390
Zn ($mg.kg^{-1}$)	62,95 ± 2,80	64,42 ± 5,24	0,810

ZÁVER

Na základe našich výsledkov, ako aj rôznych štúdií vyplýva, že humínové látky môžu mať vplyv na chemické zloženie mäsa, ktorý ale môže byť ovplyvnený zložením a množstvom podávaných humátov, spôsobom ich podávania, ako aj druhom zvierat. V našom pokuse na morkách viedol prídavok 0,5 % humínových látok do krmiva k významnému zvýšeniu obsahu hrubého proteínu v stehennej svalovine. Z dôvodu vyššieho obsahu bielkovín je možné mäso z moriek kŕmených kŕmnou zmesou s prídavkom humínových látok zhodnotiť ako hodnotné pre výživu ľudí.

LITERATÚRA

Arif, M., Alagawany, M., Abd El-Hack, M. E., Saeed, M., Arain, M. A., Elnesr, S. S., 2019. Humic acid as a feed additive in poultry diets: A review. In *Iranian Journal of Veterinary Research* [online], vol. 20, no. 3, pp.167-172 [cit. 2023-02-08]. Dostupné na: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6811714/

Bahadori, Z., Esmaielzadeh, L., Karimi-Torshizi, M. A., Seidavi, A., Olivares, J., Rojas, S., Salem, A. Z. M., Khusro, A., López, S., 2017. The effect of earthworm (*Eisenia foetida*) meal with vermi-humus on growth performance, haematology, immunity, intestinal microbiota, carcass characteristics, and meat quality of broiler chickens. In *Livestock Science* [online], vol. 202, pp.74-81 [cit. 2023-02-08]. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.05.010

Domínguez-Negrete, A., Gómez-Rosales, S., Angeles, M. D. L., López-Hernández, L. H., Reis-de Souza, T. C., López-García, Y., Zavala-Franco, A., Téllez-Isaias, G. 2019. Effect of the addition of humic substances as growth promoter in broiler chickens under two feeding regimens. In *Animals* [online], vol. 9, no. 12, p.1101 [cit. 2023-02-08]. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/ani9121101

Edmonds, M. S., Johal, S., Moreland, S., 2014. Effect of supplemental humic and butyric acid on performance and mortality in broilers raised under various environmental conditions. In *Journal of Applied Poultry Research* [online], vol. 23, no. 2, pp.260-267 [cit. 2023-02-08]. Dostupné na: https://doi.org/10.3382/japr.2013-00901

Gálik, B., Hrnčár, C., Gašparovič, M., Rolinec, M., Hanušovský, O., Juráček, M., Šimko, M., Zábranský, L., Kovacik, A., 2023. The effect of humic substances on the meat quality in the fattening of farm pheasants (*Phasianus colchicus*). In *Agriculture* [online], vol. 13, no. 2, p.295 [cit. 2023-02-06]. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/agriculture13020295

Hudák, M., Semjon, B., Marcinčáková, D., Bujňák, L., Naď, P., Koréneková, B., Nagy, J., Bartkovský, M., Marcinčák, S., 2021. Effect of broilers chicken diet supplementation with natural and acidified humic substances on quality of produced breast meat. In *Animals* [online], vol. 11, no. 4, p.1087 [cit. 2023-02-06]. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/ani11041087

Jaďuttová, I., Marcinčáková, D., Bartkovský, M., Semjon, B., Harčárová, M., Nagyová, A., Váczi, P., Marcinčák, S., 2019. The effect of dietary humic substances on the fattening performance, carcass yield, blood biochemistry parameters and bone mineral profile of broiler chickens. In *Acta Veterinaria Brno* [online], vol. 88, pp.307-313 [cit. 2023-02-08]. Dostupné na: https://doi.org/10.2754/avb201988030307

Marcinčák, S., Klempová, T., Bartkovský, M., Marcinčáková, D., Zdolec, N., Popelka, P., Mačanga, J., Čertík, M., 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], vol. 2018, pp.1-8 [cit. 2023-02-08]. Dostupné na: https://doi.org/10.1155/2018/2609548

Marcinčáková, D., Mačanga, J., Nagy, J., Marcinčák, S., Popelka, P., Vašková, J., Jaďuttová, I., Mellen, M., 2015. Effect of supplementation of the diet with humic acids on growth performance and carcass yield of broilers. In *Folia Veterinaria*, vol. 59, no. 3, pp.165-168.

NARIADENIE KOMISIE (ES) č. 152/2009 z 27. januára 2009, ktorým sa stanovujú metódy odberu vzoriek a analýzy na účely úradných kontrol krmív.

Ozturk, E., Ocak, N., Coskun, I., Turhan, S., Erener, G., 2010. 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* [online], vol. 94, no. 1, pp.78-85 [cit. 2023-02-06]. Dostupné na: https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2008.00886.x

Ozturk, E., Ocak, N., Turan, A., Erener, G., Altop, A., Cankaya, S., 2012. Performance, carcass, gastrointestinal tract and meat quality traits, and selected blood parameters of broilers fed diets supplemented with humic substances. In *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online], vol. 92, no. 1, pp.59-65 [cit. 2023-02-06]. Dostupné na: https://doi.org/10.1002/jsfa.4541

Ozturk, E., Coskun, I., Ocak, N., Erener, G., Dervisoglu, M., Turhan, S., 2014. Performance, meat quality, meat mineral contents and caecal microbial population responses to humic substances administered in drinking water in broilers. In *British Poultry Science* [online], vol. 55, no. 5, pp.668-674 [cit. 2023-02-06]. ISSN 1466-1799. Dostupné na: http://dx.doi.org/10.1080/00071668.2014.960807

Rath, N. C., Huff, W. E., Huff, G. R., 2006. Effects of humic acid on broiler chickens. In *Poultry Science* [online], vol. 85, no. 3, pp.410-414 [cit. 2023-02-06]. Dostupné na: https://doi.org/10.1093/ps/85.3.410

Semjon, B., Marcinčáková, D., Koréneková, B., Bartkovský, M., Nagy, J., Turek, P., Marcinčák, S., 2020. Multiple factorial analysis of physicochemical and organoleptic properties of breast and thigh meat of broilers fed a diet supplemented with humic substances. In *Poultry Science* [online], vol. 99, no. 3, pp.1750-1760 [cit. 2023-02-06]. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.11.012

Sugiharto, S., 2019. A review of filamentous fungi in broiler production. In *Annals of Agricultural Sciences* [online], vol. 64, no. 1, pp.1-8 [cit. 2023-02-08]. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.aoas.2019.05.005

van Rensburg, C.E.J., 2015. The antiinflammatory properties of humic substances: A mini review. In *Phytotherapy Research* [online], vol. 29, no. 6, pp.791-795 [cit. 2023-02-08]. Dostupné na: https://doi.org/10.1002/ptr.5319

Poďakovanie: Práca bola podporená projektom Vedeckej grantovej agentúry MŠ SR VEGA 1/0402/20 „Vplyv aditív vo výžive monogastrických zvierat na produkčné zdravie, produkciu, kvalitu produktov a životné prostredie“.

Kontaktná adresa: Alena Hreško Šamudovská, MVDr., PhD., Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

ZVÝŠENÍ MIKROBIÁLNÍ STABILITY A ÚDRŽNOSTI MASA POMOCÍ ANTIOXIDANTŮ Z ROSTLIN NEBO ROSTLINNÝCH VEDLEJŠÍCH MATERIÁLŮ
ENHANCING THE MICROBIAL STABILITY AND SHELF LIFE OF MEAT USING ANTIOXIDANTS FROM PLANTS OR PLANT BY-MATERIALS

Kateřina Janoušková, Dana Jirotková, Pavel Smetana

Abstract: Meat is highly susceptible to microbial contamination. The whole process before slaughter, but also after it, presents many possibilities for microbial contamination despite compliance with all hygienic principles and rules. Meat is thanks to its composition, water activity and pH, an ideal environment for the multiplication of microorganisms that can reduce its quality. For these reasons, possibilities are being sought to reduce surface microbial contamination in bovine carcasses. An alternative to lactic acid is the use of natural antioxidants from plants or plant by-products. As part of this work an experiment was carried out, the quarters of the bovine carcasses (n=10) were treated in different ways immediately before cooling (using an extract from onion peels, which show the content of substances with antioxidant effects, using a mixture of the already mentioned extract and lactic acid, and only lactic acid, one quarter was kept as a reference sample). Microbial activity and the effect on pH were investigated for individual quarters of carcasses.
Keywords: post-mortem treatment, onion peel extract, lactic acid, aerobic plate count, beef

ÚVOD

Během zrání masa může docházet k oxidačním procesům, které mohou být vnímány jako vady. Jedná se například o oxidaci hemových barviv a tuků, při níž dochází ke vzniku mnoha sloučenin, které způsobují negativní změny v senzorické, nutriční a hygienické kvalitě. Z praktického hlediska je lze zpomalit použitím antioxidantů, které výše popsané změny v potravinách během dlouhodobého skladování nebo zahřívání potlačí.

Antioxidanty jsou látky, schopné přímo zachytávat reaktivní formy kyslíku, inhibovat produkci těchto forem nebo nepřímo působit jako pozitivní regulátor antioxidační obrany. Podle mechanismu účinku se člení na primární, sekundární, sekvestranty a lapače kyslíku (Bedrníček, 2020).

Přírodní antioxidanty jsou do masných výrobků přidávány běžně. Řadí se mezi ně například oregano, extrakt z rozmarýnu, majoránky nebo šalvěje. Tyto přídavné složky zajišťují ve výrobku zejména stálost barvy, vůně, zpomalení oxidace tuků nebo bílkovin (Riberio *et al.*, 2019).

Gulcin (2020) uvádí, že již od 90. let 20. století se v jatečných provozech provádí ošetřování povrchu jatečně upravených těl mléčnou kyselinou pro snížení jejich povrchové kontaminace. Do masných výrobků jsou řadu let používány syntetické antioxidanty butylovaný hydroxyanisol (BHA), butylovaný hydroxytoluen (BHT), terc-butylhydrochinon (TBHQ) a propylgalát (PG), které však mohou mít při dlouhodobém působení negativní dopad (potravinové alergie, poruchy trávení) na lidský organismus (Gupta, 2011).

To, že cibule (*Allium cepa* L.) obsahuje antioxidační látky, bylo známo již dávno, a proto byla přidávána do masných výrobků pro zpomalení oxidace lipidů. Cibule je jednou z nejvíce konzumovaných zelenin a je důležitým zdrojem flavonoidů v lidské výživě. Bylo zjištěno, že vysoký obsah těchto látek je i v cibulových slupkách, považovaných za odpad. Obsahují velké množství bioaktivních sloučenin, zejména flavonoidů – kvercetinu

a jeho derivátů (např. glykosidy) a případě červených odrůd i anthokyanů (Manoj *et al*., 2022; Bedrníček *et al*., 2019).

Cibulové flavonoidy jsou prozkoumané z hlediska zdravotních přínosů (antioxidační, protizánětlivé, antimikrobiální a protirakovinné účinky) a prevence oxidativního stresu. Cibulové extrakty nebo sušený prášek mohou být přidávány jako funkční složka například do pšeničného a bezlepkového chleba, masových karbanátků nebo uzenin ze strojně odděleného rybího masa (Bedrníček *et al*., 2020).

Manoj *et al*. (2022) a Shabir *et al*. (2022) prokázali, že kvercetin z cibulových slupek působí jako antimikrobiální činidlo tím, že narušuje energetický metabolismus a funkce cytoplazmatické membrány a inhibuje biosyntézu nukleových kyselin několika kmenům *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae* a *Staphylococcus pyogenes*.

MATERIÁL A METODIKA

Výluh z cibulových slupek (1 000 ml vody, 50 g cibulových slupek, 60 minut var) byl po zchlazení scezen a doplněn vodou na 1 000 ml.

Jalovice plemene masný simentál (10 kusů, n=10)) o stáří 30 měsíců, které byly chovány extenzivně v podmínkách ekologického hospodářství, byly poraženy na certifikované ekologické porážce jatek Maso Brejcha, s.r.o. Na jednotlivé hovězí čtvrtě byly na konci porážkové linky (po zvážení a klasifikaci) aplikovány roztoky 1, 2 a 3 s různou koncentrací antioxidačních a mikrobistatických látek (tabulka 1) pomocí rozprašovače tak, aby celá plocha hovězí čtvrtě byla pokryta a aplikovaná látka nestékala. Levá zadní čtvrť z každého kusu byla vždy ponechána bez ošetření (tabulka 2).

Tabulka 1 Složení postřiků k ošetření hovězích čtvrtí

Roztok	Pitná voda (ml.1 000 ml^{-1})	Kyselina mléčná (ml.1 000 ml^{-1})	Výluh z cibulových slupek (ml.1 000 ml^{-1})
ML	875	125	-
C	625	-	375
C+ML	565	60	375

Tabulka 2 Aplikace roztoků s antioxidanty a mikrobistatiky na jednotlivé hovězí čtvrtě

Hovězí čtvrť	levá zadní (LZ)	pravá zadní (PZ)	levá přední (LP)	pravá přední (PP)
Roztok	bez ošetření	ML	C	C+ML

Hovězí čtvrtě byly ihned po nastříkání roztoků přesunuty do chladírny s teplotou vzduchu +2 °C a relativní vlhkosti vzduchu 82 % rh. Po 12 dnech od porážky byly odebrány vzorky masa z vysokého roštěnce (MLLT – *musculus longissimus lumborum et thoracis*), vakuově zabaleny a nechány zrát dalších 10 dní v chladírně při teplotě +2 °C.

Měření pH

Hodnota pH byla měřena v MLLT v oblasti řezu mezi 6. a 7. obratlem vpichovou sondou přístrojem GMH 3500 SERIES (GMH – GREISINGER, SRN). První měření pH proběhlo 1 hodinu po usmrcení zvířete, další měření následovala vždy po 48 hodinách.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Celkový počet mikroorganismů

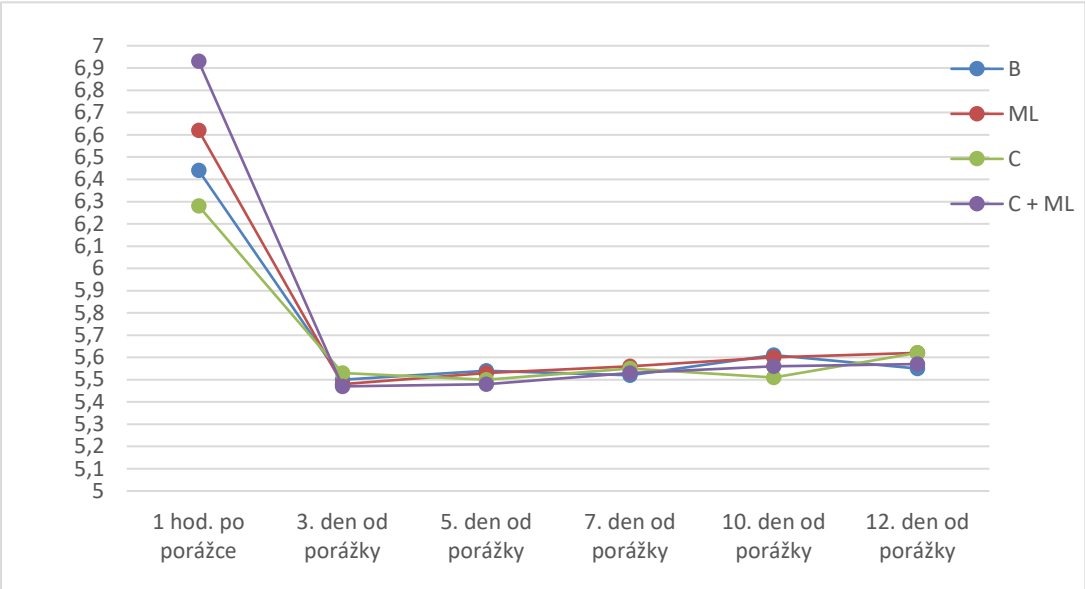
Pro zjištění celkového počtu mikroorganismů (CPM) na povrchu masa byla použita stěrová metoda odběru. Stěry byly provedeny na každé čtvrti ve 2 opakováních na ploše 20 cm^2 stěrkou (bavlněný tampón na špejli) navlhčenou v ředícím roztoku (fyziologický roztok) desetkrát odshora dolů, zleva doprava a diagonálně. Stěry byly uloženy do označených zkumavek s ředicím roztokem. CPM byl stanoven metodou dle ČSN EN ISO 4833-1, ČSN EN ISO 4833-2. Počet mikroorganismů byl stanovován v KTJ.cm^2. Stěry byly odebrány 6. a 9. den od porážky.

Statistická analýza dat

Statistická analýza dat byla provedena v programech Microsoft Excel 2019 a Statistica 12 CZ pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA) a pomocí Post hoc Tukey-HSD testu na hladině významnosti $p < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Běžný pokles pH ve svalu po porážce je z hodnoty pH 7,0 na pH 5,3-5,8, pro hovězí maso je obvykle pokles pH dokončen za 18-40 hodin od poražení zvířete (Savell *et al*., 2005). Dle Silva, *et al*. (1999) lze hovězí maso podle finální hodnoty pH při zrání rozdělit na nezatížené vadou DFD (pH 5,5-5,8), středně zatížené vadou DFD (5,8<pH<6,2) a poškozené vadou DFD (pH 6,2-6,7). Muižniec a Kairiša (2020) uvádějí, že požadovaná hodnota pH se na konci zrání hovězího masa pohybuje v intervalu pH 5,4-5,8. Hodnocen byl průběh pH masa během zrání, který byl u všech vzorků běžný, po porážce prudký pokles a poté pozvolné zvyšování až na hodnoty pH 5,55-5,62. V tomto intervalu jsou i hodnoty, které byly zjištěny u ošetřených čtvrtí, pH masa nebylo ošetřením nijak ovlivněno a odpovídalo běžným hodnotám pro hovězí maso (Obrázek 1).



B (referenční vzorek bez ošetření), ML (mléčná kyselina), C (extrakt z cibulových slupek), ML + C (mléčná kyselina + extrakt z cibulových slupek)

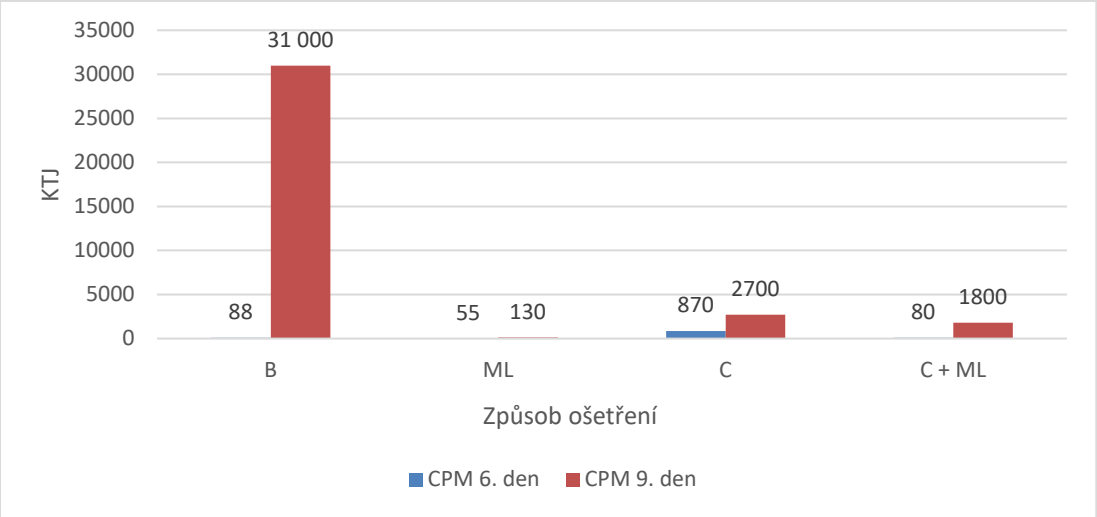
Obrázek 1 Hodnota pH hovězích čtvrtí (n=10) ošetřených různými roztoky antioxidantů a mikrobistatik

Množství CPM závisí na dodržování hygieny na porážkové lince, při přesunech, zrání a balení masa. Ani dodržování všech opatření však nezaručí, že nedojde ke kontaminaci. Z výzkumu Rodriguez-Melcon *et al.* (2017) vyplývá, že postřik 2 % kyselinou mléčnou na povrch hovězího masa snížil počet *Enterobacteriaceae* o 1,0 log KTJ.cm^2 a celkový počet mikroorganismů o 1,6 log KTJ.cm^2. Použití 2-5 % kyseliny mléčné vedlo ke snížení počtu mikroorganizmů v rozmezí 0,57-0,95 log KTJ.cm^2.

Tabulka 3 Celkový počet mikroorganismů (KTJ.cm^2) na povrchu hovězích čtvrtí (n=10)

	6. den od porážky	9. den od porážky
Roztok	**CPM (KTJ.cm^2)**	**CPM (KTJ.cm^2)**
bez ošetření	**8,8x10^1**	**3,1x10^4**
ML	**5,5x10^1**	**1,3x10^2**
C	**8,7x10^2**	**2,7x10^3**
ML+C	**8x10^1**	**1,8x10^3**

Výsledky z námi provedeného pokusu (tabulka 3, obrázek 2) ukázaly patrný vysoký potenciál inovativního ošetření povrchu masa.



B (referenční vzorek bez ošetření), ML (mléčná kyselina), C (extrakt z cibulových slupek), ML + C (mléčná kyselina + extrakt z cibulových slupek)

Obrázek 2 Celkový počet mikroorganismů (KTJ.cm^2) na povrchu hovězích čtvrtí ošetřených různými roztoky antioxidantů a mikrobistatik

Karr *et al.* (1996) při pokusu na dvaceti tělech jatečného skotu zjistili po 48 hodinách CPM na mase v rozpětí 11^5-10^6 KTJ.cm^2, nejvíce vzorků se pohybovalo v intervalu 10^3 a 10^4 KTJ.cm^2. Jatečná těla nebyla po porážce nijak speciálně ošetřována. Námi sledovaný referenční vzorek bez ošetření odpovídá uvedenému intervalu i přesto, že vzorky byly odebrány 6. a 9. den od porážky. Na obrázku 2 je patrné, že nárůst mikroorganismů na čtvrti bez ošetření je řádově vyšší než na ostatních pokusných čtvrtích. Na všech vzorcích byla primokultivací potvrzena masivnost mikrobiologické kontaminace mikrokoky. Hodnota CPM byla řádově nižší u vzorků s ošetřením, nejnižší u vzorku ošetřeného kyselinou mléčnou 1,3.10^2 KTJ.cm^2,

u ošetření zahrnující extrakt z cibulových slupek bylo množství v řádech 10^3 KTJ.cm^2, což je ale stále o řád nižší, než hodnota u vzorku referenčního 3,1.10^4 KTJ.cm^2.

ZÁVER

Výsledky experimentu prokázaly potenciál použití extraktu z cibulových slupek pro snížení celkového počtu mikroorganismů na povrchu hovězích čtvrtí. Jeho nespornou výhodou je biologická odbouratelnost a možnost využití v bioprodukci. Statisticky nebyl prokázán vliv ošetření různými roztoky na průběh pH při zrání.

U mikrobiologického zatížení byla vidět souvislost mezi celkovým počtem mikroorganismů a ošetřením. Statistická závislost nebyla prokázána.

Použití extraktu z cibulových slupek na ošetření povrchu masa ve čtvrtích je inovativní postup, který dosud nebyl aplikován. Námi zjištěné výsledky ukazují antimikrobiální potenciál extraktu a případnou vhodnost použití nejen pro účinky antioxidační, ale i antimikrobiální.

Nové možnosti ošetření povrchu jatečného těla vzbudily zájem jak u zpracovatele, tak i u producentů hovězího masa. Zjištěné výsledky mají potenciál pro další výzkum metody ošetřování masa po porážce extrakty z přírodních látek s obsahem antioxidantů a jejich vlivu na prodloužení trvanlivosti masa.

LITERATÚRA

Bedrníček, J. 2020. *Obsah antioxidantu v surovinách a jejich stabilita v obohacených potravinách v závislosti na technologii výroby* [online]. Disertační práce. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta. Vedoucí práce doc. Ing. Eva Samková, Ph.D., [cit. 2023-02-07]. Dostupné na: https://theses.cz/id/qlenes/.

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. In *Antioxidants* [online], vol. 9, pp. 974 [cit. 2023-02-07]. eISSN 2076-3921. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/antiox9100974.

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. In *Czech Journal of Food Sciences* [online], vol. 37, no. 4, pp. 268–275 [cit. 2023-02-07]. ISSN 1212-1800. Dostupné na: https://doi.org/10.17221/68/2018-CJFS.

Gulcin, İ. 2020. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. In *Arch Toxicol* [online], vol. 94, pp. 651–715 [cit. 2023-02-06]. Dostupné na: https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3.

Gupta, D. 2015. Methods for determination of antioxidant capacity: A review. In *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* [online], vol. 6, pp. 546-566 [cit. 2023-02-07]. E-ISSN 0975-8232. Dostupné na: doi.: 10.13040/IJPSR.0975-8232.6(2).546-66.

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. In *Journal of Food Protection* [online], vol. 59, no. 7, pp. 778-780 [cit. 2023-02-08]. ISSN 0362-028X. Dostupné na: https://doi.org/10.4315/0362-028X-59.7.778.

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. In *Biomedicine & Pharmacotherapy* [online], vol. 146 [cit. 2023-02-07]. ISSN 0753-3322. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112498.

Muižniece, I., Kairiša, D. 2020. Effect of sex and age on beef cattle meat pH. In *Agricultural Science and Practice* [online], vol. 7, no. 2, pp. 55-60 [cit. 2023-02-08]. ISSN 2312-3389. Dostupné na: https://doi.org/10.15407/agrisp7.02.055.

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. In *Meat Science* [online], vol. 148, pp. 181-188 [cit. 2023-02-08]. ISSN 0309-1740. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.10.016.

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. In *Meat Science* [online], vol. 129, pp. 169-175 [cit. 2023-02-07]. ISSN 0309-1740. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.01.007.
Savell, J. W., Mueller, S. L., Baird, B. E. 2005. The chilling of carcasses. In Meat Science [online], vol. 70, no. 3 pp. 449-459 [cit. 2023-02-08]. ISSN 0309-1740. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.06.027.
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. In *Sustainability* [online], vol. 14, no. 11958 [cit. 2023-02-07]. eISSN 2071-1050. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/su141911958.
Silva, J. A., Patarata, L., Martins, C. 1999. Influence of ultimate pH on bovine meat tenderness during ageing. In *Meat Science* [online], vol. 52, no. 4, pp. 453-459 [cit. 2023-02-08]. ISSN 0309-1740. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/S0309-1740(99)00029-7.

Poďakovanie: Práce vznikla s podporou projektu Ministerstva zemědělství České republiky PRV 17/005/16220/232/000089 Vývoj inovativní technologie porážkové linky.

Kontaktná adresa: Ing. Kateřina Janoušková, Katedra potravinářských biotechnologií a kvality zemědělských produktů, Fakulta zemědělská a technologická, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Studentská 1668, 370 05 České Budějovice

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

VPLYV FERMENTOVANÝCH KRMÍV NA KVALITATÍVNE PARAMETRE MÄSA BROJLEROVÝCH KURČIAT
THE INFLUENCE OF FERMENTED FEEDS ON THE QUALITY PARAMETERS OF THE MEAT OF BROILER CHICKENS

Andrej Makiš, Boris Semjon, Martin Bartkovský, Anna Reitznerová, Lýdia Mesarčová Slavomír Marcinčák

Abstract: The aim of this study was to investigate the effect of fermented product (10 %) and humic substances (HS, 0.7 %) in chicken diet and its effect on selected quality parameters of poultry meat produced. Fermented product (FF) was prepared by solid state fermentation from by-products using microscopic filamentous fungi. In this study, 120 one day old chicks (COBB 500) were used and randomly divided into 3 equal groups, K (control group), F (experimental group enriched with 10 % FF) and FH (experimental group enriched with 10 % FF and 0.7 % HS). The results confirmed that the addition of FF and HS to the diet of the animals had a positive effect on the parameters studied. Statistical analysis showed us a significant effect of FF on fat and protein content of meat. We also observed several statistically significant results in the blood parameters studied (decrease in total lipids, aspartate aminotransferase and, on the contrary, increase in triacylglycerol).
***Keywords*:** broiler chicken, humic substances, fermented feed, meat quality

ÚVOD

Fermentácia je dynamický proces zahŕňajúci mikroorganizmy, substráty a podmienky prostredia na premenu zložitých substrátov na jednoduchšie zlúčeniny (Niba et al., 2009). Je to jedna z najstarších techník konzervovania potravín. Fermentované produkty sú produkty, ktoré boli podrobené pôsobeniu mikroorganizmov alebo ich enzýmov tak, že žiadúce biochemické zmeny, ktoré nastali pôsobením týchto mikroorganizmov, spôsobujú kladnú a žiadúcu modifikáciu potravín. Tieto fermentačné procesy spôsobujú, že daná produkovaná potravina môže byť vo výsledku stráviteľnejšia, výživnejšia alebo chutnejšia. Nami podávané fermentované krmiva boli pripravené pomocou techniky Solid-state fermentation (SSF), ktorá sa využíva na biologické obohatenie druhotných potravinárskych surovín a krmív. Podstata SSF je vo využití mikroorganizmov, rastúcich na tuhom substráte v kontrolovaných podmienkach bez prítomnosti voľnej vody. Najdôležitejším cieľom tejto fermentácie je produkcia enzýmov, organických kyselín a iných metabolitov, ktoré sa tvoria počas rastu mikroorganizmov (Semjon et al., 2020).

Prostredníctvom SSF bolo dokázané znižovanie antinutričných faktorov a zlepšenie biologickej dostupnosti živín v krmive zvierat (Zhu et al., 2020). Určité druhy mikroskopických vláknitých húb z čeľadí *Cunninghamellaceae Mucoraceae, Mortierellaceae, Umbelopsidaceae*, 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 et al., 2020). Jednou z najväčších výhod fermentovaného produktu získaného prostredníctvom SSF je možnosť jeho priameho použitia ako doplnku výživy pre ľudí alebo hospodárske zvieratá bez ďalšieho následného spracovania (Marcinčák et al., 2018). U hydiny sú mastné kyseliny (MK) obsiahnuté v krmive vstrebané z gastro-intestinálneho traktu do krvi a prenášané do tukových tkanív. Ich koncentrácia a zloženie v krmive tak priamo ovplyvňuje zloženie tukov v mäse (Koniecka et al., 2017). Ukázalo sa, že takýmto nepriamym spôsobom je možné modifikovať zloženie tukov, ktoré sa nachádzajú v mäse zvierat v prospech zvýšeného obsahu PUFA, čím sa stávajú dostupnými aj vo výžive ľudí.

Technika SSF predstavuje možnosť obohatenia výživy, bez akéhokoľvek zásahu do genómu rastlín alebo živočíchov (Marcinčák et al., 2018).

Cieľom nášho výskumu bolo zistiť vplyv skrmovania fermentovaných krmív obohatených o významné mastné kyseliny (10 % podiel v kŕmnej dávke) samostatne a v kombinácii s humínovými látkami kvalitu prsnej svaloviny a biochemický profil krvi brojlerových kurčiat.

MATERIÁL A METODIKA

Výskum bol realizovaný v priestoroch experimentálneho zverinca UVLF KE. Do pokusu bolo zapojených 120 kusov 1-dňových brojlerových kurčiat plemena COBB 500, ktoré boli privezené od dodávateľa (Hydina Slovensko s.r.o.). Následne boli zvieratá náhodne rozdelené do troch rovnomerných skupín po 40 zvierat (kontrola K a 2 experimentálne F a FH). Kurčatá mali prístup k vode *ad libitum* a boli kŕmené základnými kŕmnymi zmesami (KZ) BR1 (1. – 10 deň), BR2 (11. – 30. deň) a BR3 (31. – 37. deň) (De Heus s.r.o., Česká republika). Kontrolnej skupine (K) boli počas celej doby výkrmu podávané len základné kŕmne zmesi. Prvá experimentálna skupina (F) dostavala od 11. dňa kŕmenia do základných KZ BR2 a BR3 prídavok fermentovaných krmív (FF) v množstve 10 % (zdroj kys. γ – linolénovej, kys. α – linolénovej a eikozapentaénovej). F skupina mala takto obohatené 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 experimentálnych skupinách bol objem základných kŕmnych zmesi znížený o objem pridaných zložiek (FF a HL). Po ukončení výkrmu, na 38. deň, boli zvieratá omráčené a usmrtené a prsná svalovina skladovaná v chladničke po dobu 7 dní pri teplote 4 °C a analyzovaná. Vzorky krvi boli od kurčiat získané počas procesu vykrvovania.

Chemické zloženie prsnej svaloviny bolo vykonané podľa metód AOAC (1990). Obsah vody sme stanovili rozdielom hmotnosti, medzi surovou vzorkou a vzorkou po vysušený 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 (Det Gras J. P. Selecta S. A., Barcelona, Španielsko) s použitím petroléteru. Rozkladné zmeny tukov boli stanovované podľa metódy Reitznerová et al., (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. Thermo spectronic, 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. Stanovenie biochemických parametrov krvi bolo vykonané podľa Semjon et al., (2020). Obsah minerálov a enzýmov bol stanovený spektrofotometricky na základe merania absorbancie.

Štatistické spracovanie výsledkov bolo urobené prostredníctvom štatistického programu Graph Pad Prism 8.3 (2018, GraphPad Software, San Diego, California, USA).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tabuľke 1 sú uvedené výsledky stanovenia chemického zloženia mäsa prsnej svaloviny (obsah vody, tuku a bielkovín). Najnižší obsah vody v mäse bol zaznamenaný v F skupine (74,28 % ± 0,171). V tomto ukazovateli kvality mäsa sme znamenali aj štatistickú významnosť ($p < 0,001$). Ibrahim et al., (2020) vo svojej štúdii tiež zistil, že skrmovanie fermentovaných krmív nemá vplyv na obsah vody resp. sušiny v prsnej svalovine kurčiat. Najnižší obsah tuku bol zaznamenaný v experimentálnej skupine F (0,52 % ± 0,325), štatistické porovnanie Tukeyho testom medzi jednotlivými skupinami nám preukázalo štatisticky významný rozdiel ($p < 0,001$). Najvyšší podiel bielkovín bol zaznamenaný v experimentálnej skupine F (22,45 %

± 0,159), a aj v tomto ukazovateli sme zaznamenali štatistický významný rozdiel. Výsledky fyzikálno-chemickej analýzy nám poukazujú na to, že experimentálna skupina F má v prsnom svalstve najnižší obsah vody a najvyšší obsah bielkovín a aj najnižší obsah tuku, taktiež sme v každom ukazovateli zaznamenali aj štatistickú významnosť (*p < 0,001)*.

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

Skupina / zložka	Voda %	Tuk %	Bielkoviny %
K	75,28 ± 0,113[b]	1,46 ± 0,080[a]	20,93 ± 0,183[c]
F	74,28 ± 0,171[c]	0,52 ± 0,325[b]	22,45 ± 0,159[a]
FH	75,72 ± 0,329[a]	1,62 ± 0,045[a]	21,96 ± 0,119[b]
***p* - hodnota**	< 0,001	< 0,001	< 0,001

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

Tabuľka 2 nám ukazuje výsledky stanovenia oxidácie tukov do 24 hodín po usmrtení a po 7 dňoch skladovania prsnej svaloviny v chladničke pri teplote do 4 °C. Hodnoty stanovenia malóndialdehydu do 24 hodín po jatočnom opracovaní sú štatisticky významné (p < 0,001) medzi všetkými skupinami, avšak nárast, aj keď je štatisticky významný, je z pohľadu zdravia konzumenta zanedbateľný. Po 7-dňovom skladovaní mäsa v chladničke nebol zaznamenaný žiadny štatisticky významný rozdiel medzi skupinami. V štúdií Guo et al., (2020) opisuje, že prídavok 7,5 % fermentovaného krmiva mal pozitívny účinok na zníženie MDA v prsnej svalovine. V nami získaných výsledkoch, kde sme pridávali 10 % fermentovaných krmív bol obsah MDA najnižší v kontrolnej skupine, avšak po 7 dnovom skladovaní bol obsah MDA najnižší v FH skupine. Z tohto pohľadu môžeme konštatovať, že prídavok fermentovaných krmív a humínových látok má vplyv na obsah MDA, ale ďalším skúmaním bude potrebné nájsť správne množstvo a druh týchto suplementov krmiva.

Tabuľka č. 2, Stanovenie oxidácie tukov počas skladovania vzoriek mäsa v pri teplote 4°C , (mg/kg)

deň / skupina	K	F	FH	*p* - hodnota
MDA 1deň	0,06 ± 0,03[ab]	0,15 ± 0,16[a]	0,10 ± 0,10[b]	0,0057
MDA 7 deň	0,17 ± 0,06	0,22 ± 0,03	0,12 ± 0,03	0,4706

Hodnoty zahŕňajúce rovnaký horný index (a, b, c) nie sú štatisticky významné (*Tukeyho test, p < 0,001*).

Tabuľka č. 3 nám vyhodnocuje vybraných minerálnych prvkov a enzýmov v krvi. Aj v týchto ukazovateľoch sme zaznamenali niekoľko štatisticky významných výsledkov. Najvyšší obsah horčíka bol stanovený v experimentálnej skupine F (0,97 ± 0,02) (p < 0,001). Ostatné nami hodnotené minerálne prvky (Ca 2,82 ± 0,12; P 1,92 ± 0,24; K 5,99 ± 0,36) mali najvyššie zastúpenie v experimentálnej skupine FH, ale *Tukeyho test* nám nepreukázal žiadnu štatistickú významnosť. Pri stanovený vybraných enzýmov v krvi kurčiat nám *Tukeyho test* taktiež preukázal štatistickú významnosť v niektorých parametroch. Najnižší obsah AST bol stanovený v F skupine (5,01 ± 0,78; *p < 0,001*). Naopak najvyšší obsah TG bol zaznamenaný v F skupine (0,85 ± 0,21; , *p < 0,001*). Hodnoty celkového cholesterolu nie sú síce štatisticky významné, ale najnižšie hodnoty boli zaznamenané v F skupine, čo potvrdzuje vo svojej štúdii aj Semjon et al., (2020), ktorý taktiež pridával 10 % podiel fermentovaného krmiva do krmiva brojlerov. Ide et al., (2017) taktiež pozorovali účinky pridanej GLA na biochemické parametre krvi u potkanov. Ich výskum potvrdil, že prídavok GLA ovplyvňuje hodnoty celkového cholesterolu, ale aj jeho jednotlivé frakcie HDL, LDL, čo následne môže viesť k zvýšeniu TG. Celkové lipidy mali najnižšie zastúpenie v experimentálnej F skupine (5,22 ± 0,44; *p < 0,001*). Safaa et al., (2014) tiež zaznamenal, že pridanie vlákniny v podobe fermentovaného krmiva má pozitívny vplyv na zníženie celkových lipidov v krvnom sére.

Tabuľka č. 3, Obsah (%) vybraných minerálnych látok a enzýmov v krvi brojlerových kurčiat

Minerál, enzým / skupina	K	F	FH	*p* – hodnota
Ca	2,72 ± 0,16	2,72 ± 0,14	2,82 ± 0,12	0,2007
Mg	0,93 ± 0,06[ab]	0,97 ± 0,02[a]	0,88 ± 0,06[b]	0,00069
P	1,87 ± 0,08	1,87 ± 0,13	1,92 ± 0,24	0,7797
K	5,93 ± 0,33	5,87 ± 0,18	5,99 ± 0,36	0,6913
NEFA	0,42 ± 0,07	0,40 ± 0,07	0,44 ± 0,11	0,5428
AST	6,07 ± 0,44[ab]	5,01 ± 0,78[b]	6,91 ± 1,70[a]	0,0028
GGT	0,69 ± 0,19	0,77 ± 0,12	0,71 ± 0,20	0,5429
AF	58,61±17,67	60,96±26,51	52,60±13,58	0,633
TCH	3,81 ± 0,48	3,70 ± 0,29	3,80 ± 0,94	0,9054
TL	5,32 ± 0,45[b]	5,22 ± 0,44[b]	6,14 ± 1,08[a]	0,01476
TG	0,65 ± 0,14[b]	0,85 ± 0,21[a]	0,79 ± 0,17[ab]	0,04729
HDL	2,77 ± 0,40	2,65 ± 0,24	2,55 ± 0,40	0,3978
LDL	0,61 ± 0,17	0,57 ± 0,14	0,77 ± 0,56	0,385

Ca- vápnik, Mg – horčík, P- fosfor, K –draslík; NEFA – neesterifikované mastné kyseliny, AST – aspartátaminotransferáza, GGT – gama-glutamyltransferáza, AF – alkalická fosfatáza, TCH – celkový cholesterol HDL – vysokodenzný lipoprotein, LHL – lipoprotein s nízkou denzitou, TL – celkové lipidy, TG - triacylglycerol

Hodnoty zahŕňajúce rovnaký horný index (a, b, c) nie sú štatisticky významné (*Tukeyho test, p < 0,001*).

ZÁVER

Tento výskum nám preukázal, že prídavok fermentovaných krmív, či už samostatne alebo v kombinácii s humínovými látkami má pozitívny vplyv na niektoré kvalitatívne parametre mäsa brojlerových kurčiat. Avšak aj v tejto oblasti je ešte potrebné ďalšie testovanie na potvrdenie našich výsledkov.

LITERATÚRA

AOAC, M. 1990. Association of official analytical chemists. Official methods of analysis.

Gao, M., Cieślak, A., Kierończyk, B., Huang, H., Yanza, Y. R., Zaworska-Zakrzewska, A., Józefiak, D., Szumacher-Strabel, M. 2020. Effects of Raw and Fermented Rapeseed Cake on Growth Performance, Methane Production, and Breast Meat Fatty Acid Composition in Broiler Chickens. In *Animals*, vol. 10, no. 12.

Guo, S., Zhang, Y., Cheng, Q., X., J., Hou, Y., Wu, X., Ding, B. 2020. Partial substitution of fermented soybean meal for soybean meal influences the carcass traits and meat quality of broiler chickens. In *Animals*, vol. 10, no. 2.

Ibrahim, D., Abdelfattah-Hassan, A., Arisha, A. H., Abd El-Aziz, R. M., Sherief, W. R., Adli, S. H., Metwally, A. E. 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*, vol. 242, no. 104299. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104299. ISSN 1871 – 1413.

Ide, T.; Iwase, H., Amano, S., Sunahara, S., Tachihara, A., Yagi, M., Watanabe, T. 2017. Physiological effects of γ- linolenic acid and seasamin on hepatic fatty acid synthesis and oxidation. *J. Nutr. Biochem*. 41, 42−55

Konieczka, P., Barszcz, M., Chmielewska, N., Cieślak, M., Szlis, M., Smulikowska, S. 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*. vol. 96, no. 2 Dostupné na: https://doi.org/10.3382/ps/pew219. ISSN 0032-5791.

Marcinčák, S., Klempová, T., Bartkovský, M., Marcinčáková, D., Zdolec, N., Popelka, P., Mačanga, J., Čertík, M. 2018. Effect of fungal solid-state fermented product in broiler chicken nutrition on quality and safety of produced breast meat. In *BioMed Research International*. Art. ID 2609548 [online]. Dostupné na: https://doi.org/10.1155/2018/2609548. ISSN 2578-8892.

Niba, A. T., Beal, J. D., Kudi, A. C., Brooks, P. H. 2009. Potential of bacterial fermentation as a biosafe method of improving feeds for pigs and poultry. In *African Journal of Biotechnology*. vol. 8, no. 9, p1758 – 1767. ISSN 1684-5315.

Reitznerová, A., Šuleková, M., Nagy, J.; Marcinčák, S., Semjon, B., Čertík, M., Klempová, T. 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* 2017, vol. *22*, no. 11. p 1988. [online]. Dostupné na https://doi.org/10.3390/molecules22111988.

Slaný, O., Klempová, T., Shapaval, V., Zimmermann, B., Kohler, A., Čertík, M. 2020. Biotransformation of Animal Fat-By Products into ARA-Enriched Fermented Bioproducts by Solid-State Fermentation of *Mortierella*

alpina. In *Journal of Fungy*. [online]. vol. 6, no. 4. [online] Dostupné na: https://doi.org/10.3390/jof6040236. ISSN 2309-608X.
Safaa, H. M.; Jimenez-Moreno, E.; Frikha, M.; Mateos, C. G. Plasma lipid metabolites and liver lipid components in broilers at 21 days of age in response to dietary different fibre sources. *Egpt. J. Anim. Prod*. 2014, 51, 115–127
Semjon, B., Bartkovský, M., Marcinčáková, D., Klempová, T., Bujnák, L., Hudák, M., Jaďuttová, I., Čertík, M., Marcinčák, S. 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], vol. 10, no. 6 [online] Dostupné na: https://doi.org/10.3390/ani10060942. ISSN 2076-2615.
Zhu. F., Zhang, B., Li, J., Zhu, L. 2020. 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]. vol. 99, no. 5, p. 2573 – 2580 [online] Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.044. ISSN 0032-5791.

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

Kontaktná adresa: Andrej Makiš, MVDr., 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
Boris Semjon, MVDr., PhD., Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika
Martin Bartkovský, Mgr., PhD., Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika
Anna Reitznerová, MVDr., PhD., Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika
Lýdia Mesarčová, MVDr., PhD., Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika
Slavomír Marcinčák, prof., MVDr., PhD., Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

NUTRIČNÉ A MINERÁLNE PARAMETRE STEHENNEJ SVALOVINY MORIEK PO PERORÁLNOM PRÍJME PROBIOTIKA
NUTRITIONAL AND MINERAL PARAMETERS OF THIGH MUSCLES OF TURKEYS AFTER ORAL ADMINISTRATION OF A PROBIOTIC

Andrej Marcin, Tomáš Mihok, Michaela Harčárová, Alena Hreško Šamudovská, Lukáš Bujňák, Jana Koščová, Pavel Naď

Abstract: The study aimed to investigate the effects of the per oral intake of probiotics on the nutritional and mineral parameters in the thigh muscle of turkeys (Hybrid Converter). Two groups (control, experimental) of birds 6 weeks of age (n=20) were fed with two diets - grower (CP 238,8 $g.kg^{-1}$) till week 12 of age and finisher (CP 195,7 $g.kg^{-1}$) till day 70 of an experiment. The live probiotic bacteria *Lactobacillus fermentum* 2I3 was added to drinking water (1.1×10^8 CFU of strain in 1 ml medium for one bird) of the experimental group in the morning drinking each day. The samples from the thigh muscle (*m. gastrocnemius*) samples were collected after humane slaughter. Subsequently, chemical (dry matter, water, fat, crude protein) and mineral parameters (Ca, P, Mg, Cu, Zn) were analysed. The per oral intake of probiotics had a positive effect on the reduction of fat content in the thigh muscle ($p<0,01$). The decrease in fat was the result of the beneficial physiological effects of probiotic bacteria in the intestinal tract with a secondary effect on muscle metabolism. On the contrary, the effects on the concentration of CP and Ca, P, Cu and Zn were not significant. The content of Mg was decreased ($p<0,01$) in muscle samples taken from the experimental group.
Keywords: poultry nutrition, probiotics, dry matter, crude protein, mineral elements

ÚVOD

Význam zlepšenia welfare zvierat a potenciálny rozvoj antimikrobiálnej rezistencie u ľudí ovplyvnil zmeny v legislatíve a následne zákaz používania antibiotických rastových stimulátorov v Európskej únii Nariadením 1831/2003 (Castanon, 2007). Dôsledkom bolo zhoršenie úžitkovosti a zdravia zvierat, ako aj nárast črevných porúch, ako je nekrotická enteritída v dôsledku chýbajúcich profylaktických účinkov antimikrobík (Pineda-Quiroga, et al., 2017).

Alternatívnymi stimulátormi rastu sú organické kyseliny (Konieczka, et al., 2021), rastlinné extrakty (Arpášová, et al., 2018), probiotiká a prebiotiká (El-Ghany et al., 2022, Algawany et al., 2018) a enzýmy (Slominski, 2011). Probiotické baktérie regulujú kolonizáciou črevný mikrobióm a zabraňujú kolonizácii črevného traktu patogénnymi baktériami (Schlee et al., 2008), zlepšujú imunitnú rezistenciu (Yasui, et al., 1992, Shu a Gill, 2001) a v experimentálnych podmienkach redukujú bakteriálnu translokáciu (Barc, et al., 2008).

Nutričné parametre mäsa moriek sa posudzujú podľa kvantitatívneho a kvalitatívneho obsahu bielkovín, sacharidov, tuku, minerálnych látok a vitamínov. Pre toto hodnotenie je najvýznamnejší obsah tuku a bielkovín (Straková, et al., 2003).

Cieľom štúdie bolo experimentálne vyhodnotiť pozitívne účinky perorálneho príjmu živých probiotických baktérií na nutričné a minerálne parametre stehennej svaloviny (*m. gastrocnemius*) výkrmových moriek.

MATERIÁL A METODIKA

Experimentálna štúdia bola autorizovaná Etickou komisiou Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach.

20 moriek (Hybrid Converter, priemerná hmotnosť 1 726,8 g) vo veku 6 týždňov bolo

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

dodaných z komerčnej farmy (Nadbuvar, Maďarsko). Vtáky boli náhodne rozdelené do 2 skupín po 10 jedincov (kontrolná a pokusná skupina) a označené identifikačnými krúžkami. Ustajnenie bolo realizované v 2 kotercoch v pokusnej hale pre chov hydiny so stálym prístupom ku krmivu a vode. Koterce mali identickú orientáciu.

Na kŕmenie počas pokusu po dobu 70 dní boli použité dve komerčné kŕmne zmesi (KZ) (De Heus, a.s., Česká republika) a/ morka midi forte (MMF, NL 238,8 $g.kg^{-1}$) od 1. dňa pokusu do 12 týždňov veku, b/ morka maxi (MM, NL 195,7 $g.kg^{-1}$) od 13 týždňov veku do 70. dňa pokusu). Žiadna KZ neobsahovala antibiotiká a rastové stimulátory. MM obsahovala antikokcidikum a histomonostatikum monenzinát sodný 70,0 $mg.kg^{-1}$.

Morkám bol podávaný kmeň *Lactobacillus fermentum 2I3*, získaný z Českej zbierky mikroorganizmov v Brne. Zbierkové číslo kmeňa bolo CCM 7158. Inokulum bolo pripravované v čerstvom stave, v bujónovej suspenzii, so zabezpečením počtu baktérií $1,1\times10^{8}$ $KTJ.ml^{-1}$. Probiotické baktérie boli aplikované v množstve 1 ml bujónu na kus do malého objemu vody pri rannom napájaní.

Experimentálne diéty boli analyzované (tabuľka 1) podľa metód Asociácie oficiálnych analytických chemikov (Cunniff, 1995). Vykonané bolo stanovenie sušiny, dusíkatých látok, hrubého tuku, škrobu a popola v oboch kŕmnych zmesiach. Neutrálne detergentná vláknina bola analyzovaná metódou podľa Van Soesta et al., (1991). Atómová absorpčná spektrofotometria (AAS) bola použitá pre analýzu minerálneho zloženia krmív (Van Loon, 1980). Fosfor bol kvantifikovaný spektrofotometricky (Carvalho, et al., 1998). Stanovenie podielu popola nerozpustného v HCl v kŕmnej zmesi bolo vykonané podľa Daněka, et al., (2005). Hodnota metabolizovateľnej energie (ME) bola vypočítaná vzorcom podľa Nariadenia Komisie (ES) č. 152/2009 (European Commission, 2009). Zloženie kŕmnych zmesí je uvedené v tabuľke 2.

Tabuľka 1 Analyzovaný obsah živín a komponenty v experimentálnych diétach

Analyzované živiny ($g.kg^{-1}$)	**Kŕmna zmes**	
	Morka midi forte (MMF)	**Morka maxi (MM)**
Sušina	1 000,0	1 000,0
Dusíkaté látky	238,80	194,90
Hrubý tuk	39,50	53,60
NDV[1]	146,60	167,40
ADV[2]	77,80	72,70
Škrob	472,10	518,70
BNLV[3]	592,50	643,0
Popol	78,50	62,40
Ca	11,40	12,30
P	6,90	6,70
Na	1,80	1,80
Cu	0,023	0,026
Zn	0,143	0,117
ME[4] ($MJ.kg^{-1}$)	13,67	14,10

[1-] neutrálne detergentná vláknina, [2-] acido detergentná vláknina, [3-] bezdusíkaté látky výťažkové, [4-] Metabolická energia (Európska komisia (2009)

Analýzy nutričných a minerálnych parametrov stehennej svaloviny moriek boli vykonané po humánnom usmrtení na 70. deň pokusu. Vzorky svaloviny boli odobraté z *m. gastrocnemius* do sterilných sklenených nádob. V svalovine boli analyzované nutričné parametre: sušina, obsah vody, dusíkaté látky a hrubý tuk (Cunniff, 1995). Následne boli

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

analyzované minerálne látky Ca, P, Mg, Cu a Zn metódou AAS (Van Loon, 1980) plameňovým atómovým absorpčným spektrometrom (Unicam Solar 939, Great Britain). Podmienky merania zodpovedali odporúčaniam výrobcu pre prvky Ca, Mg, Zn a Cu (vlnové dĺžky: 422,7; 285,2; 213,9; 324,8 nm, pásmový filter 0.5 nm). Stanovenia boli vykonané podľa metodiky špecifikovanej v zozname oficiálnych metód a laboratórnej diagnostiky pre potraviny a krmivá uvedenej vo Vestníku Ministerstva pôdohospodárstva SR (2004).

Tabuľka 2 Zloženie experimentálnych diét

Deklarované parametre (g.kg^{-1})	**Kŕmna zmes**	
	Morka midi forte (MMF)	**Morka maxi (MM)**
Komponenty	kukurica, pšenica, pšeničné otruby, jačmeň, ovsené vločky, kukuričný výluh, sója, sójový extrahovaný šrot, repkový extrahovaný šrot, slnečnicový lúpaný extrahovaný šrot, živočíšny tuk,	kukurica, pšenica, pšeničné otruby, jačmeň, obilná múka, sójový extrahovaný šrot, repkové výlisky, slnečnicový olej,
Minerálne látky	dihydrogénfosforečnan vápenatý, chlorid sodný, uhličitan vápenatý, monokalcium fosfát,	dihydrogénfosforečnan vápenatý, chlorid sodný, uhličitan vápenatý, monokalcium fosfát, hydrogénuhličitan sodný, bikarbonát sodný,
Vitamíny	A (10 000 mj.kg^{-1}), D_3 (2 000 mj.kg^{-1}), D (1 500 mj.kg^{-1}), E (55 mg.kg^{-1}),	A (9 000 mj.kg^{-1}), D_3 (2 000 mj.kg^{-1}), E (42 mg.kg^{-1}),
Enzýmy	endo 1,4 betaxylanáza EC 3.2.1.8 (1 624 U.kg^{-1}), 6-fytáza EC 3.1.3.26 (508 FTU.kg^{-1}),	endo 1,4 betaxylanáza EC 3.2.1.8 (1 624 U.kg^{-1}), 6-fytáza EC 3.1.3.26 (508 FTU.kg^{-1}),
Kokcidiostatiká a histomonostatiká	monenzinát sodný (70 mg.kg^{-1}),	nepridávané

Údaje sú vyjadrené ako priemer ± štandardná odchýlka (SD) jednotlivých hodnôt vyhodnotených pomocou programu GraphPad. Priemery výsledkov z ošetrení sa porovnávali jednosmernou analýzou rozptylu a Tukey-Kramerovým testom viacnásobného porovnávania.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Chemické zloženie stehennej svaloviny moriek prijímajúcich živé probiotické baktérie *L. fermentum* 2I3 v pitnej vode (pokusná skupina) a bez ich príjmu (kontrolná skupina) je uvedené v tabuľke č. 3.

Výsledky štatistickej analýzy ukázali, že morky pokusnej skupiny mali výrazne nižší obsah tuku v stehennej svalovine ako morky kontrolnej skupiny ($p<0,01$). Enzýmy lipáza a esteráza sú produkované probiotickými baktériami a môžu rozrušiť esterové väzby, ktoré

spájajú glycerol a mastné kyseliny a tak zabraňujú tvorbe triglyceridov. To má za následok zníženú absorpciu triglyceridov do plazmy a zníženie obsahu tuku v mäse (Suryadi et al., 2019).

Tabuľka 3 Chemické zloženie stehennej svaloviny moriek

Analyzované parametre ($g.kg^{-1}$)	**kontrolná skupina**	**pokusná skupina**
Sušina	25,42 ± 0,772	24,02 ± 0,423 **
Voda	74,58 ± 0,772	75,98 ± 0,423 **
Tuk	2,27± 0,713	1,23 ± 0,425 **
Dusíkaté látky	18,01 ± 0,878	18,15 ± 1,031

* p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001

Podľa Mahdaviho et al., (2005) sú probiotiká schopné integrovať esterázové enzýmy s enzýmami lipázy štiepením esterových väzieb, ktoré spájajú glycerol a mastné kyseliny prostredníctvom esterifikácie. Tým sa znižuje množstvo triglyceridov v črevách, čo v konečnom dôsledku znižuje absorpciu triglyceridov a ich koncentráciu v plazme. Lipidy sa ukladajú v tukovom a svalovom tkanive vo forme triglyceridov a pri zníženom vstrebávaní triglyceridov klesá tiež obsah tuku v mäse, čo má za následok menej tučné mäso. Analýza zakladného chemického zloženia odhalila, že morky, ktoré dostávali prídavok probiotík, mali vyšší obsah bielkovín v stehennej svalovine ako morky kŕmené bez prídavku probiotík. Nebol tu pozorovaný štatisticky významný rozdiel medzi skupinami. Podobne výsledky zaznamenali Suryadi et al., (2019) u brojlerových kurčiat. Vyšší obsah bielkovín vo svalovine u kurčiat kŕmených s prídavkom probiotík je výsledkom aktivity baktérií mliečneho kvasenia. Baktérie sú schopné prežiť v tráviacom trakte, viazať sa na črevnú stenu a produkovať enzýmy ako sú napr. proteázy. Widiyaningsih (2011) naznačuje, že probiotiká obsahujúce baktérie mliečneho kvasenia môžu produkovať v tráviacom trakte enzýmy, ktoré rozkladajú chemické väzby v živinách, vďaka čomu sú molekuly menšie a ľahšie absorbovateľné. Má to za následok zrýchlené vstrebávanie živín vrátane bielkovín. Obsah vody v stehennej svalovine bol vyšší v pokusnej skupine moriek (p<0,01) prijímajúcich živé probiotické baktérie v porovnaní s kontrolou.

Minerálne zloženie stehennej svaloviny moriek kontrolnej a pokusnej skupiny je uvedené v tabuľke č. 4.

Tabuľka 4 Minerálne zloženie stehennej svaloviny moriek

Minerálny prvok	**kontrolná skupina**	**pokusná skupina**
Ca ($g.kg^{-1}$)	1,01 ± 0,265	0,82 ± 0,115
P ($g.kg^{-1}$)	4,33 ± 1,204	3,31 ± 0,349
Mg ($g.kg^{-1}$)	0,47 ± 0,054	0,35 ± 0,049 **
Cu ($mg.kg^{-1}$)	3,55 ± 0,589	3,2 ± 0,424
Zn ($mg.kg^{-1}$)	62,95 ± 6,866	67,92 ± 11,447

* p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001

Výsledky ukázali, že morky perorálne prijímajúce probiotické baktérie mali vyšší obsah vápnika, fosforu a medi v stehennej svalovine v porovnaní s morkami kontrolnej skupiny, ale vyšší obsah týchto minerálnych látok nebol štatisticky významný (p>0,05). Štatisticky významný nižší obsah bol zaznamenaný len u horčíka (p<0,01). Zo všetkých piatich sledovaných prvkov bol zaznamenaný vyšší výskyt len u zinku, ale bez štatistickej významnosti (p>0,05). Niektorí autori popisujú pozitívny vplyv probiotík na retenciu a absorpciu minerálnych prvkov u hydiny (Urdzik, 2010; Balukh, 2016). Zistenia o zvýšenej stráviteľnosti živín vplyvom probiotických aditív sú v súlade s predchádzajúcimi štúdiami (Belova, et al., 2009; Urdzik, 2010; Fedorchenko, 2017; Azemraw a Sewalem, 2017). Simonová, et al., 2015 pripisujú lepšiu absorpciu a retenciu minerálnych prvkov účinku probiotík na proliferáciu eneterocytov, keď tieto zistenia zaznamenali u králikov. Sohail, et al., 2011 pozoroval, že probiotiká zvyšujú obsah všetkých minerálnych prvkov v sére.

ZÁVER

Perorálny príjem živých probiotických baktérií *L. fermentum* 2I3 vo vode mal pozitívny fyziologický účinok na zníženie obsahu tuku v stehennej svalovine výkrmových moriek. Pokles tuku bol výsledkom priaznivých fyziologických účinkov probiotických baktérií v črevnom aparáte so sekundárnym účinkom na metabolizmus vo svaloch. Na druhej strane neboli pozorované signifikantné účinky na koncentráciu dusíkatých a minerálnych látok (Ca, P, Cu, Zn). Štatisticky významný pokles bol pozorovaný v prípade Mg.

LITERATÚRA

Algawany, M., Abd El-Hack, M. E., Farag, M. R., Sachan, S., Karthik, K., Dhama, K. 2018. The use of probiotics as eco-friendly alternatives for antibiotics in poultry nutrition. *Environmental Science and Pollution Research International* [online], *25*(11), 10611-10618 [cit. 2023-02-02]. Dostupné na doi: 10.1007/s11356-018-1687-x

Arpášová, H., Pistová, V., Hrnčár, C., Fík, M., Haščík, P., Kačániová, M., Gálik, B., Bučko, B. 2018. The impact of the humic acid and phytobiotics on performance and carcass parameters of broiler chickens. In *Acta fytotechnica et zootechnica* [online], 21(4), 173-178 [cit. 2023-02-02]. ISBN 1336-9245. Dostupné na doi: 10.15414/afz.2018.21.04.173-178

Azemraw, W., Sewalem, M. 2017. Review on application of probiotics in poultry. In *British Journal of Poultry Sciences* [online], 6(3), 46–52 [cit. 2023-02-07]. ISSN 1995-901X. Dostupné na: DOI:10.5829/idosi.bjps.2017.46.52

Balukh, N. 2016. Probiotyk ta ferment u ratsionakh broileriv [Probiotic and enzyme in broiler diets]. In *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 4(1), 23–26.

Barc, M. C., Charrin-Sarnel., C., Rochet, V., Bourlioux, F., Sandre, C., Boureau, H., Dore, J., Collignon, A. 2008. Molecular analysis of the digestive microbiota in a gnotobiotic mouse model during antibiotic treatment: influence of Saccharomyces boulardii. In *Anaerobe* [online], vol. 14(4), pp. 229-233 [cit. 2019-03-30]. Dostupné na doi: 10.1016/j.anaerobe.2008.04.003

Belova, N., Yezhova, O., Kornilova, V., Maslov, M. 2009. Vlyianye probyotykov y vytamyna S na yspolzovanye pytatelnыkh veshchestv korma [The effect of probiotics and vitamin C on the use of feed nutrients]. In *Poultry keeping*, 5, 16–18.

Carvalho, L. H. M., Koe, T. D., Tavares, P. B. 1998. An improved molybdenum blue method for simultaneous determinaantion of inorganic phosphate and arsenate. In *Ecotoxicology and Environmental Restoration* [online], vol. 1(1), pp. 13-19 [cit. 2023-02-02]. ISSN 0032-5791. Dostupné na: https://www.researchgate.net/publication/284670220

Castanon, J. I. R. 2007. History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. In *Poultry Science* [online], vol. 86(11), pp. 2466-2471 [cit. 2023-02-02]. ISSN 0032-5791. Dostupné na doi: 10.3382/ps.2007-00249

Cunniff, P. 1995. *Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists.* 16th Edition, AOAC International, Airlington, Va, USA. ISBN: 9780935584547

Daněk, P., Paseka, A., Smola, J., Ondráček, J., Bečková, R., Rozkot, M. 2005. Influence of lecithin emulsifier on the utilisation of nutrients and growth of piglets after weaning. In *Czech Journal of Animal Science* [online],

50(10), 459–465 [cit. 2023-02-02]. Dostupné na doi: 10.17221/4245-CJAS
El-Ghany, W. A., Abdel-Latif, M. A., Hosny, F., Alatfeehy, N. M., Noreldin, A. E., Quesnell. R. R., Chapman, R., Sakai, L., Elbestawy, A. R. 2022. Comparative efficacy of postbiotic, probiotic, and antibiotic against necrotic enteritis in broiler chickens. *Poultry Science* [online], *101*,(8), 101988 [cit. 2023-02-02]. Dostupné na doi: 10.1016/j.psj.2022.101988
European Commission 2009: Commission Regulation (EC) No 152/2009 of 27 January 2009 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of feed. *Official Journal of European Union* [online], *54*. 1-130[cit. 2023-02-02]. Dostupné na http://data.europa.eu/eli/reg/2009/152/oj
Fedorchenko, A. 2017. Probiotyky dlia broilera [Probiotics for broiler]. In *Our Poultry*, 3, 35–48.
Konieczka,P., Józefiak, D., Kinsner, M., Smulikowska, S. 2021. Effects of high-moisture corn preserved with organic acids combined with rapeseed meal and peas on performance and gut microbiota activity of broiler chickens. In *Animal Feed Science and Technology* [online], 280, 115063 [cit. 2023-02-02]. Dostupné na doi: 10.1016/j.anifeedsci.2021.115063
Mahdavi A. H., Rahmani, H. R., Pourreza, J. 2005. Effect of probiotic supplements on egg quality and laying hen's performance. In *International journal of poultry science* [online], 4 (7), 488-492 [cit. 2023-01-30]. Dostupné na: doi: 10.3923/ijps.2005.488.492
Pineda-Quiroga, C., Atxaerandio, R., Ruiz, R., Garcia- Rodríguez, A. 2017. Effects of dry whey powder alone or combined with calcium butyrate on productive performance, duodenal morphometry, nutrient digestibility, and ceca bacteria counts of broiler chickens. In *Livestock Science* [online], 206, 65–70 [cit. 2023-02-02]. Dostupné na doi: 10.1016/j.livsci.2017.10.001
Schlee, M., Harder, J., Koten, B., Stange, E. F., Wehkamp, J., Fellermann, K. 2008. Probiotic lactobacilli and VSL #3 induce enterocyte betadefensin 2. In *Clinical Experimental Immunology* [online], 15(3), 528-535 [cit. 2019-03-30]. Dostupné na doi: 10.1111/j.1365-2249.2007.03587.x
Shu, Q., Gill, H. S. 2001. A dietary probiotic (*Bifidobacterium lactic* HN019) reduces the severity of *Escherichia coli* O157:H7 infection in mice. In *Medical Microbiology and Immunology* [online], vol. 189(3), pp. 147-152 [cit. 2019-03-30]. Dostupné na doi: 10.1007/s430-001-8021-9
Simonová, M., Lauková, A., Žitňan, R., Chrastinová, Ľ. 2015. Effect of rabbit origin enterocin-producing strain *Enterococcus faecium* CCM7420 application on growth performance and gut morphometry in rabbits. In *Czech Journal of Animal Science* [online], 60, 509–512 [cit. 2023-02-08]. Dostupné na DOI: 10.17221/8559-CJAS
Slominski, P. 2011. Recent advances in research on enzymes for poultry diets. In *Poultry Science* [online], 90(9), 2013-2023 [cit. 2023-02-02]. Dostupné na doi: 10.3382/ps.2011-01372
Straková, E., Večerek, V., Suchý, P., Vitula, F. 2003. The comparison of carcass quality in fattening chicks and pheasants. In Současnost a perspektivy chovu drůbeže. Sborník z mezinárodní konference, 15-16 května 2003, Praha, s. 83-87. ISBN 80-2013-1037-5
Sohail, M. U., Rahman, Z. U., Ijaz, A., Yousaf, M. S., Ashraf, K., Yaqub, T., Zaneb, H., Anwar, H., Rehman, H. 2011. Single or combined effects of manna-oligosaccharides and probiotic supplements on the total oxidants, total antioxidants, enzymatic antioxidants, liver enzymes and serum trace minerals in cyclic heat-stressed broilers. In *Journal of Poultry Science* [online], 90(11), 2573-2577. [cit. 2023-02-08]. Dostupné na: DOI: 10.3382/ps.2011-01502
Suryadi, U., Nugraheni Y. R., Prasetyo, A. F., Awaludin, A. 2019. Evaluation of effects of a novel probiotic feed supplement on the quality of broiler meat. In *Veterinary World* [online], 12(11), 1775-1778 [cit. 2023-01-30]. Dostupné na doi: 10.14202/vetworld.2019.1775-1778
Urdzik, R. M. 2010. Probyotyky vmesto antybyotykov - stymuliatorov rosta. [Probiotics instead of antibiotics - growth stimulants]. In *Effective poultry farming*, 3, 26–29.
Van Soest, P. J., Robertson, J. B., Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* [online], *74*(10), 3583–3597 [cit. 2023-02-02]. Dostupné na doi: 10.3168/jds.S0022-0302 (91)78551-2
Van Loon, J. C. 1980. *Analytical Atomic Absorption Spectroscopy, Selected methods*. New York: Academic Press, New York, 348 pp. ISBN: 9780323154864.
VESTNÍK č. 22/2004 Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky z 10.septembra 2004 [online] – 101. Výnos Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky z 23. augusta 2004 č.2145/2004-100, ktorým sa mení a dopĺňa výnos Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky zo 7. októbra 1997 č. 1497/4/1997-100 o úradnom odbere vzoriek a laboratórnom skúšaní a hodnotení krmív v znení výnosu Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky z 12. februára 2003 č. 149/2/2003-100 [cit. 2023-02-02]. Dostupné na: https://www.mpsr.sk/index.php?navID=126&year=2004
Widiyaningsih, E. N. 2011. Peran probiotik untuk kesehatan. In *Journal Kesehatan*, 4 (1), 14-20.

Yasui, H., Nagaoka, N., Mike, A., Hayakawa, K., Ohwaki, M. 1992. Detection of *Bifidobacterium* strains that induce large quantities of IgA. In *Microbial Ecology in Health and Disease* [online], vol. 5(3), pp. 155-162 [cit. 2019-03-30]. Dostupné na doi: 10.3109/08910609209141310

Poďakovanie: Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny, Drive4SIFood 313011V336, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja a projektu KEGA 006UVLF-4/2022 - Študijné texty a virtuálne laboratórium pre e-vzdelávanie v oblasti technológií a bezpečnostných systémov pri výrobe krmív od Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky.

Kontaktná adresa: doc. MVDr. Andrej Marcin, CSc., Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, (E-mail: andrej.marcin@uvlf.sk)

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

FERMENTOVANÉ PRODUKTY A HUMÍNOVÉ LÁTKY VÝŽIVE HYDINY, NOVÝ PRÍSTUP K PRODUKCII BEZPEČNÝCH A FUNKČNÝCH POTRAVÍN
FERMENTED PRODUCTS AND HUMIC SUBSTANCES IN POULTRY NUTRITION NEW APPROACH TO PRODUCTION OF SAFE AND FUNCTIONAL FOODS

Slavomír Marcinčák, Boris Semjon, Martin Bartkovský, M., Danka Marcinčáková, Tatiana Klempová, Milan Čertík, Jozef Nagy

Abstract: One of the main intention of biotechnology application is to produce health-promoting substances by means of suitable microorganism. In production of these substances the filamentous fungi (*Umbelopsis* sp., *Mortierella* sp., *Thamnidium* sp., *Actinomucor* sp., *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp.) are very important. They are able to produce significant amounts of active substances on various substrates including by-products of food industry (bran, malt, pomace). The solid-state fermentation enriches these by-products with hydrolytic enzymes, important fatty acids (PUFA), microbial sterols, chitin, chitosan, coenzyme Q, beta glucans and pigments. Due to this enrichment by-products can be considered as suitable feed component in animal nutrition. The profile of fatty acids in poultry meat can be significantly affected by feeding. The enriched by-product feeding enhances amounts of active substances in meat. Humic substances represent natural source of substances that significantly improve animal health and are useful in production of food without contaminants. The addition of fermented products and humic substances to poultry feed significantly improve production parameters and animal health status. The result product is safe and functional food with positive impact on human health.
Keywords: fermentation, PUFA, meat, functional foods

ÚVOD

V poslednej dekáde sa pohľad na potraviny výrazne mení. Potraviny nie sú považované len za zdroj energie pre zachovanie života a rast organizmu, ale očakáva sa, že budú predchádzať ochoreniam a zlepšovať fyzické a mentálne zdravie konzumenta. Presadzuje sa trend konzumácie funkčných potravín (Ye et al., 2018). Funkčné potraviny boli v roku 1994 definované ako potraviny, ktoré môžu poskytovať zdravotný úžitok. Mnohopočetné vedecké štúdie potvrdili správnosť konceptu takýchto potravín (Yeung et al., 2018). Ukazujú, že nevyváženosť stravy v spojení so životným štýlom napomáha vzniku rôznych neinfekčných civilizačných ochorení, ako je obezita, rakovina, kardiovaskulárne alebo neurodegeneratívne ochorenia. Funkčné potraviny dokážu slúžiť ako prevencia takýchto ochorení, preto sa v poslednom období dostávajú do popredia. Medzi najzaujímavejšie chemické zlúčeniny, u ktorých sa potvrdili pozitívne účinky na ľudský organizmus a ktoré sa prirodzene nachádzajú v potravinách patria napr. polynenasýtené mastné kyseliny (PUFA), karotenoidné pigmenty, fenolové kyseliny, tokoferoly, koenzým Q, vláknina, prebiotiká atď. Väčšina týchto látok je obsiahnutá prevažne v rastlinných zložkách potravy, ktoré výrazne chýbajú v strave západnej civilizácie. Zároveň sa vo vyspelých štátoch zvyšuje príjem tukov v potrave, hlavne nasýtených tukov. To všetko negatívne ovplyvňuje fyziológiu organizmu a často vedie ku vzniku širokej škály neinfekčných ochorení.

FERMENTOVANÉ PRODUKTY A KVALITA MÄSA

Mäso spolu s rastlinnými olejmi je hlavným zdrojov tukov v ľudskej výžive. Zloženie bežne dostupných olejov ako je masť, repkový olej, slnečnicový olej alebo hovädzie, bravčové alebo kuracie mäso však neobsahuje dostatočné množstvá „funkčných zlúčenín“. V posledných rokoch bol preto zaznamenaný záujem o možnosť modifikácie najmä tukov pochádzajúcich z mias zvierat pomocou výživy. Ide najmä o zvyšovanie množstva PUFA v krmive

prostredníctvom pridávania napr. morských rias, rybieho oleja alebo rastlinných olejov do krmiva týchto zvierat. Ukázalo sa, že takýmto nepriamym spôsobom je možné modifikovať zloženie tukov, ktoré sa nachádza v mäse zvierat, v prospech zvýšeného obsahu PUFA, čím sa stávajú dostupnými aj vo výžive ľudí. U monogastrických zvierat (ošípané alebo hydina) sú mastné kyseliny krmiva vstrebávané z gastrointestinálneho traktu do krvi a prenášané do tukových tkanív. Ich koncentrácia a zloženie v krmive tak priamo ovplyvňuje zloženie tukov v mäse (Konieczka et al. 2016). Podobný efekt krmív bol popísaný aj na zloženie vajec nosníc, ktorým bolo podávané krmivo so zvýšenom obsahom najmä n-3 PUFA a karotenoidných pigmentov. Pomocou modifikácie animálnej stravy, tak dokážeme produkovať živočíšne produkty (mäso a vajcia), ktoré prinášajú obrovský potenciál nielen z nutričného pohľadu finálneho spotrebiteľa, ale zároveň prinášajú atraktívny marketingový potenciál pre nové technológie využívajúce prirodzené obohacovanie výživy, bez akéhokoľvek zásahu do genómu či už rastlín alebo živočíchov.

Za najbežnejší zdroj PUFA sú považované rybie oleje získavané z morských rýb. Súčasne snahy o rozvoj udržateľnej miery rybolovu bez závažných ekologických dôsledkov však redukujú množstvo dostupného rybieho oleja. Zvýšený záujem o získavanie funkčných lipidov tak otvára dvere alternatívnym zdrojom týchto látok. Boli objavené a popísané rôzne mikroorganizmy, ktoré majú obrovský produkčný potenciál. Do praxe boli uvedené technológie, ktoré využívajú na získavanie olejov s vysokou pridanou hodnotou a sú založené na mikrobiálnych fermentáciách (Ochsenreither et al., 2016). Cena takejto produkcie je však pomerne vysoká najmä vzhľadom na cenu bežne dostupných olejov. Aj preto sa súčasný výskum produkcie funkčných lipidov orientuje na znižovanie nákladov najmä prostredníctvom znižovania ceny vstupných substrátov. Medzi komerčne najúspešnejších producentov PUFA patria nižšie vláknité huby z triedy *Zygomycetes* a to najmä kmene *Mortierella* sp., *Umbelopsis* sp., *Thamnidium* sp. a *Cunninghamella* sp. (Klempova et. al., 2013). Nižšie vláknité huby sú z fermentačného hľadiska pomerne unikátne mikroorganizmy. Čo ich robí unikátnymi je ich obrovská schopnosť využívať rôzne druhy substrátov a to nie len rozpustných vo vodnom prostredí, ale i na tuhých substrátoch s dostatočnou vlhkosťou. Tento typ fermentácií sa nazýva polosuché fermentácie (SSF; z angl. solid-state fermentation) a sprevádza ľudskú spoločnosť od nepamäti. Aj v súčasnosti je to bežný spôsob prípravy fermentovaných potravín najmä v krajinách juhovýchodnej a východnej Ázie. Atraktívnosť týchto kultivácií spočíva najmä vo využívaní ľahko dostupných a lacných substrátov, ktoré predstavujú zvyšky poľnohospodárskej výroby ako sú napr. cereálne otruby, mláto, repkové a slnečnicové výlisky. Fermentácia odpadov a obohatenie ich o významné aktívne látky je aj pre tieto firmy zaujímavý spôsob zhodnocovania odpadov. Po SSF uskutočnených na odpadových produktoch získavame produkt obohatený o významné PUFA (kyselina gama-linolénová, GLA, dihomo-gamalinolénová DGLA, arachidónová ARA alebo eikozapentaénová, EPA), ktorý môže byť priamo použitý ako prídavok do krmiva hospodárskych zvierat. Niektoré kmene vláknitých húb okrem produkcie PUFA, dokážu produkovať aj karotenoidné pigmenty. Pigmenty ako beta-karotén sú z hľadiska funkčných potravín veľmi zaujímavé pre ich antioxidačné a radikál-zhášajúce vlastnosti. Pomocou SSF tak získavame krmivo obohatené nielen o jednu ale dve skupiny látok, u ktorých bol preukázaný jednoznačný pozitívny účinok na zdravie organizmov (Mudroňová et al. 2018b). Bunková stena vláknitých húb je tvorená polysacharidickými zlúčeninami ako je chitín a chitozan. Tieto patria medzi látky tvoriace významnú súčasť potravinovej vlákniny. Vlákninu takisto radíme do skupiny látok s pozitívnym účinkom na organizmy. Vláknité huby sú však aj výborný producenti extracelulárnych hydrolytických enzýmov. Medzi takýchto nepatria len už spomenuté zygomycétne huby, ale i vyššie vláknité huby ako je *Aspergillus* sp. Význam takýchto enzýmov v animálnej strave je dvojaký. Ako už bolo spomínané medzi zaujímavé „funkčné“ zlúčeniny patria aj fenolické kyseliny. Tie sa veľmi často vyskytujú práve v rastlinných odpadových materiáloch akým sú napr. pšeničné

otruby. V takom materiáli sú však viazané na nerozpustné polysacharidové reťazce, čo ich z hľadiska výživy robí nevyužiteľnými. Extracelulárne hydrolytické enzýmy produkované vláknitými hubami počas SSF však dokážu tieto kyseliny uvoľniť z rastlinnej matrice a tak ich spraviť využiteľnými pre organizmus. SSF tak prináša ďalšiu pridanú hodnotu z pohľadu funkčných potravín a krmív. Produkcia extracelulárnych enzýmov pomocou vláknitých húb v SSF procesoch však môže priniesť okrem nutričného aj ekonomický bonus. Vláknité huby sú schopné produkcie enzýmov, ktoré sú schopné štiepiť rôzne typy polysacharidových reťazcov ale i tukov, ktoré sa nachádzajú v tuhých substrátoch. Medzi najzaujímavejšie radíme enzýmy z triedy amyláz, xylanáz a lipáz. Konzumáciou takýchto enzýmov hospodárskymi zvieratami zvyšujeme schopnosť organizmov stráviť energiu dodávanú vo forme rastlinného krmiva. Enzýmy obsiahnuté v SSF bioprodukte napomáhajú štiepeniu polymérov prítomných v krmive, čo zabezpečí dostatočné množstvo uhlíka pre metabolizmus zvierat. Účinnejšie využívanie podávaného krmiva tak znižuje nevyhnutné dávky, ktoré je nutné zvieratám podávať, čím sa jednoznačne vylepšuje ekonomika celého procesu.

HUMÍNOVÉ LÁTKY A KVALITA MÄSA

Humínové látky (HL) predstavujú heterogénnu skupinu prírodných organických molekúl, ktoré sú súčasťou pôdnej a vodnej organickej hmoty. Ide o látky s celou škálou pozitívnych účinkov na zdravie. HS môžu zvyšovať tvorbu mucínu na epiteli gastrointestinálneho traktu, čím zvyšujú odolnosť voči infekciám a toxínom a tým sa aj zabezpečí zlepšenie využívania krmív pri zvieratách (Mudroňová et al., 2018). Imunostiumulačný účinok HS je sprostredkovaný jednak aktiváciou buniek vrodenej imunity, a to fagocytov a NK buniek. Ako ale naznačujú posledné štúdie, ktorých je zatiaľ veľmi málo, HL majú vplyv aj na bunky získanej imunity, kde bola imunostimulácia zaznamenaná predovšetkým v podobe zvýšenia zastúpenia všetkých lymfocytov v krvi (Cetin et al. 2011), ako aj T pomocných CD4+ lymfocytov (Mudroňová et al., 2018) Podpora imunitných funkcií prostredníctvom HL samozrejme umožňuje aj podporu zdravia a produkčných parametrov hospodárskych zvierat. HL podávané brojlerovým kurčatám ovplyvňovali základné chemické zloženie mäsa. Vo vykonaných experimentoch bol zaznamenaný pokles obsahu tuku a zvýšenie obsahu bielkovín v prsnej, ale nárast obsahu tuku a mierny pokles obsahu bielkovín v stehennej svalovine kurčiat (Ozturk et al.,2012). Vplyv HS na profil mastných kyselín nebol doposiaľ sledovaný. Preto sme náš výskum zamerali aj na vplyv pridávania humínových látok do kŕmnych zmesí brojlerových kurčiat na zloženie mastných kyselín tukov mäsa a telovej dutiny. Významný je tiež nárast podielu kyseliny olejovej a pokles podielu kyseliny arachidónovej v porovnaní so stehnovou svalovinou kontroly (tabuľka 1).

Pridávanie fermentovaného produktu (10 %, obohateného o GLA, ALA a EPA) a humínových látok (0,7 %) do kŕmnych zmesí brojlerových kurčiat malo výrazne pozitívny vplyv na zloženie mastných kyselín v tuku mäsa a telových dutín. Pri analýze mastných kyselín tuku mäsa stehnovej svaloviny kurčiat sa jednoznačne preukázal pozitívny vplyv prídavku fermentovaného produktu do kŕmnej zmesi (tabuľka 1). Vo vzorkách skupín F a FH je evidentný nárast kyseliny ALA, GLA, eikozapentaénovej EPA a DHA v celkových mastných kyselinách. Výrazne pozitívny účinok prídavku fermentovaného produktu však vidíme najmä na vzájomnom pomere obsahu n-6 a n-3 mastných kyselín. Prídavok fermentovaného produktu znížil tento pomer z hodnoty 12,1 na 8,6 resp. 8,7, čo jednoznačne svedčí o náraste množstva n-3 polynenasýtených mastných v tuku experimentálnych zvierat.

Tabuľka 1 Obsah a percentuálne zastúpenie vybraných mastných kyselín (MK) v mäse stehnovej svaloviny brojlerových kurčiat po skrmovaní humínových látok a fermentovaného produktu.

% mastnej kyseliny	K	H	F	FH
C14:0	0.605	0.590	0.550	0.594
C16:0	23.581	23.039	23.690	24.367
C16:1-9c	6.631	5.979	6.432	6.549
C18:0	5.532	5.816	5.619	5.480
C18:1-9c	39.333	40.229	39.884	39.355
C18:1-11c	2.447	2.325	2.407	1.843
C18:2-9,12c	17.417	17.335	16.245	16.817
C18:3-6,9,12c GLA	0.124	0.111	0.164	0.171
C18:3-9,12,15c, ALA	1.191	1.242	1.625	1.694
C20:4-5,8,11,14c, ARA	0.855	0.960	1.036	0.905
C20:5-5,8,11,14,17c, EPA	0.052	0.054	0.101	0.088
C22:6-4,7,10,13,16,19c, DHA	0.092	0.095	0.105	0.079
ΣSFA	30.118	29.898	30.271	30.857
ΣMUFA	49.472	49.567	49.763	48.753
ΣPUFA	20.410	20.535	19.966	20.390
Σn-6	18.846	18.891	17.897	18.305
Σn-3	1.564	1.644	2.069	2.085
Σn-6/ Σn-3	12.053	11.495	8.657	8.780

K – kontrola, H – kurčatá kŕmené s prídavkom 0,7 % humínových látok, F- kurčatá kŕmené s prídavkom 10 % fermentovaného produktu, FH – kurčatá kŕmené s prídavkom 0,7 % humínových látok a 10 % fermentovaného produktu; SFA – nasýtené mastné kyseliny, MUFA – mononenasýtené mastné kyseliny, PUFA – polynenasýtené mastné kyseliny, GLA – k. gamalinolénová, ALA – k. alfalinolénová, ARA – k. arachidónová, EPA – k. eikozapentaénová, DHA – k. dokazapentaénová

ZÁVER

Fermentované produkty, s priaznivým obsahom PUFA dokážu priaznivo ovplyvňovať obsah a zastúpenie mastných kyselín v mäse brojlerových kurčiat. Vzájomnou kombináciou vhodne pripravených fermentovaných produktov a humínových látok, ako zložiek krmív pre výkrm kurčiat, dokážeme pripraviť produkt, mäso kurčiat, ktorý môže priaznivo ovplyvniť zdravie ľudí.

LITERATÚRA

Cetin E., Berrin K. G., Nazmi C. 2011. Effect of dietary humate and organic acid supplementation on social stress induced by high stocking density in laying hens. *J. Anim. Vet. Adv*. 10: 2402-2407.

Klempová, T., Basil, E., Kubatová, A., Čertík, M. 2013. Biosynthesis of gamma-linolenic acid and beta-carotene by Zygomycetes fungi. *Biotechnology Journal*, 8, 794–800.

Konieczka, P., Barszcz, M., Chmielewska, N., Ciešlak, M., Szlis, M., Smulikowska S. 2017. Interactive effects of dietary lipids and vitamin E level on performance, blood eicosanoids, and response to mitogen stimulation in broiler chickens of different ages. *Poultry Science*, 96, 2, 359–369.

Marcinčák, S., Klempová, T., Bartkovský, M., Marcinčáková, D., Zdolec, N., Popelka, P., Mačanga, J., Čertík, M. 2018a. Effect of fungal solid-state fermented product in broiler chicken nutrition on quality and safety of produced breast meat. *BioMed Research International*, art. no. 2609548.

Mudroňová, D., Pešulová, T., Karaffová, V., Koščová, J., Marcinčáková, D., Marcinčák, S. 2018. Vplyv humínových kyselín na črevnú mikrobiotu a imunitnú odpoveď brojlerov. Lazarove dni výživy a veterinárnej dietetiky XIII, 6. – 7. 9. 2018, Košice. ISBN: 978-80-8077-581-0, s. 186-189.

Mudroňová, D., Karraffová, V., Koščová, J., Bartkovský, M., Marcinčáková, D., Popelka, P., Čertík, M., Klempová, T., Mačanga, J., Marcinčák, S. 2018b. Effect of fungal gamma-linolenic acid and beta-carotene containing prefermented feed on immunity and gut of broiler chickens. *Poultry Science*, http://dx.doi.org/10.3382/ps/pey306

Ochsenreither, K., Glück, C., Stressler, T., Fischer, L., Syldatk, CH. 2016. Production strategies and applications of microbial single cell oils. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1539
Ozturk, E.; Ocak, N.; Turan, A.; Erener, G.; Altop, A.; Cankaya, S. 2012. Performance, carcass, gastrointestinal tract and meat quality traits, and selected blood parameters of broilers fed diets supplemented with humic substances. *Journal of Science and Food Agriculture*, 92, 59 – 65.
Ye, Q., Georges, N., Selomulya, C. 2018. Microencapsulation of active ingredients in functional foods: From research stage to commercial food products. *Trends in Food Technology*. 78, 167 – 179.
Yeung, A. W. K., Mocan, A., Atanasov A. G. 2018. Let food be thy medicine and medicine be thy food: A bibliometric analysis of the most cited papers focusing on nutraceuticals and functional foods. *Food Chemistry*. 269, 455 – 565.

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

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

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

VPLYV PROBIOTÍK A HUMÍNOVYCH LÁTOK NA CHEMICKÉ ZLOŽENIE A MINERÁLNY PROFIL PRSNEJ SVALOVINY U MORIEK
EFFECT OF PROBIOTICS AND HUMIC SUBSTANCES ON THE CHEMICAL COMPOSITION AND MINERAL PROFILE OF BREAST MUSCLE IN TURKEYS

Lýdia Mesarčová, Anna Reitznerová, Andrej Makiš, Pavel Naď, Boris Semjon, Lukáš Bujňák, Slavomír Marcinčák

Abstract: The aim of this work was to evaluate the effect of the addition of probiotics, humic substances and their combination on muscle development and meat quality of turkeys /basic chemical composition and mineral profile of breast muscle/. 40 turkeys (seven weeks old) were included in the experiment and randomly divided into 4 groups. The control group (KS) was fed a standard feed mixture designed for turkeys throughout the duration of the experiment. The second group of animals had the standard feed mixture supplemented with 0.5% Humac MycotoxiSorb containing humic acids (HK), the third group received 0.5% Humac MycotoxiSorb supplement during the whole duration of the experiment and also had their water fortified every morning with *Lactobacillus fermentum* 2I3 probiotic supplement (HKP), and group four was fed with the standard feed mixture and received probiotic supplement in their drinking water (P). The effect of the addition of humic substances, probiotics and their combination had a significant effect on the reduction of fat content in the breast muscle of turkeys, but had no effect on the protein content of the meat. We observed a significant increase in calcium, iron, sodium and zinc content in turkey breast muscle in the experimental groups containing HL.
Keywords: chemical composition, humic acids, minerals, probiotics, turkey

ÚVOD

Morčacie mäso je spotrebiteľmi cenené z viacerých dôvodov. Vysoké množstvo vitamínov, minerálov, cenných aminokyselín a nízky obsah cholesterolu ho radia do skupiny potravín dieteticky vhodných pri znižovaní hmotnosti. Aj kvôli pomerne krátkemu času potrebnému na kulinársku úpravu je medzi spotrebiteľmi značne obľúbené. Vo veľkochovoch, kde sa chová hydina, je častý výskyt problémov súvisiacich s rôznymi ochoreniami a zhoršenými environmentálnymi podmienkami vedúcimi k ekonomickým stratám. Získanie kontroly nad chorobami a preventívne opatrenia prispeli k nárastu využívania veterinárnych antimikrobiálnych prípravkov, avšak obavy z vývoja antimikrobiálnej rezistencie patogénnych baktérií vedú k neustálemu hľadaniu vhodných alternatív.

Jednou z možných súčasných alternatív stimulácie a podpory rastu, zdravia hydiny a jej úžitkovosti sú humínové látky (HL) (Arif et al., 2019). Sú to prirodzene sa vyskytujúce rozložené organické zložky pôdy a lignitu, ktoré sú komplexnými zmesami polyaromatických a heterocyklických zlúčenín s viacerými bočnými reťazcami karboxylových kyselín (Mac-Carthy, 2001).

Suplementácia komerčných prípravkov s obsahom HL pridávaná do pitnej vody alebo do krmiva brojlerov sa podieľala na zvýšení množstva spotrebovaného krmiva, jeho využití a zvyšovaní hmotnostných prírastkov brojlerových kurčiat a tiež zlepšila hmotnosti vajec a mala za následok zvýšenie produkcie vajec u nosníc (Arif et al., 2019). Okrem stimulácie rastu sa HL uplatnili v podpore imunity a zvyšovaní odolnosti voči stresu u vtákov (Mudroňová et al., 2020) a konkrétne u brojlerov sa zlepšila ileálna stráviteľnosť energie a zadržiavanie živín (Gomez-Rosales, Angeles, 2015). Od roku 2015 boli humínové látky povolené Európskou komisiou na používanie vo výžive všetkých druhov zvierat ako produkt, ktorý vznikol prírodnou humifikáciou rastlinných zložiek (Humac Portal, 2017). Bolo potvrdené, že pridávanie HL do krmiva prispieva k dobrému zdravotnému stavu zvierat, má pozitívny vplyv na produkčné parametre a pri ich podávaní navyše nie je nutné dodržiavanie ochranných lehôt (Skalicka et al., 2021).

Ďalšou z možných perspektívnych náhrad/alternatív sa probiotiká. V súčasnosti farmy, vrátane hydinárskych, používajú komplexné biologicky aktívne látky, prebiotiká a probiotiká najmä na podporu vývoja a rastu mladých hospodárskych zvierat a hydiny (Amirkhanov et al., 2017).

FAO/WHO aktuálne definuje probiotiká ako: „živé mikroorganizmy, ktoré pri podávaní v primeraných množstvách prinášajú hostiteľovi zdravotný prínos“ (FAO/ WHO, 2001). Probiotiká sú jednou z doplnkových látok do vody a krmiva – sú to živé mikroorganizmy, ktoré pri správnom dávkovaní vhodne ovplyvňujú mikrobiálny ekosystém čreva hostiteľa tým, že zabezpečujú priaznivú rovnováhu medzi komenzálnou a patogénnou mikroflórou (Śmiałek et al., 2021).

Probiotické druhy patriace k *Bacillus, Bifidobacterium, Enterococcus, Aspergillus, Lactobacillus, Streptococcus, Candida a Saccharomyces* sa uplatňujú vo výžive brojlerových kurčiat. Medzi ich najvýznamnejšie benefity pre rast a vývoj brojlerov sa potvrdili priaznivý vplyv na moduláciu črevnej mikroflóry a inhibíciu patogénov (Higgins et al., 2007), pozitívny vplyv na úžitkovosť (Ashayerizadeh et al., 2009), histologické zmeny na sliznici čriev (Chichlowski et al., 2007), úpravu niektorých biochemických parametrov, vrátane krvných (Mathivanan et al., 2007), vylepšenie senzorických vlastností kulinársky upraveného mäsa brojlerov (Pelicano et al., 2003) a podporu mikrobiologickej kvality brojlerov (Kabir et al., 2004).

V tejto štúdii sa preto skúmal vplyv kombinácie podávania humínových látok a probiotík na vývin prsnej svaloviny u moriek a tiež vplyv podávania kombinácie týchto suplementov na základné chemické parametre a minerálny profil morčacieho mäsa.

MATERIÁL A METODIKA

Morky plemena *Hybrid Converter* (farma Nadbudvar, Hungary) vo veku siedmich týždňov boli zvážené a náhodne rozdelené do 4 skupín (n=40). Vytvorené skupiny boli kŕmené nasledovne: skupina KS dostávala počas celej doby trvania experimentu štandardnú kŕmnu zmes (KZ) určenú pre morky (De Heus, a.s., Česká republika). Skupina HK mala štandardnú KZ doplnenú o 0,5 % prídavok Humac MycotoxiSorb primiešanú ku základnej kŕmnej zmesi, skupina HKP dostávala počas celej doby trvania experimentu prídavok 0,5 % Humac MycotoxiSorb k základnej kŕmnej zmesi a zároveň mala vodu fortifikovanú o prídavok probiotík kmeň *Lactobacillus fermentum* 2I3, získaný z Českej zbierky mikroorganizmov, Brno; zbierkové číslo kmeňa je CCM 7158. Inokulum bolo pripravované v čerstvom stave, v bujónovej suspenzii, so zabezpečením počtu baktérií 1,1×108 KTJ.ml^{-1} aplikovaných v množstve 1 ml/kus do malého objemu vody pri rannom napájaní. Skupina P bola kŕmená štandardnou KZ a dostávala prídavok probiotík do pitnej vody. Zvieratá boli kŕmené *ad libitum* a mali neobmedzený prístup k pitnej vode počas celej doby trvania experimentu (70 dní).

Štatistické spracovanie výsledkov bolo vykonané štatistickým programom Graph Pad Prism 8.3 (2018, GraphPad Software, San Diego, California, USA). Dosiahnuté výsledky experimentu boli vyjadrené ako priemery a smerodajné odchýlky (priemer ± SD).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tabuľke 1 sú prezentované výsledné hodnoty chemického zloženia v prsnej svalovine moriek. V skupine zvierat HKP, ktorej boli podávané probiotiká v kombinácii s HL bolo namerané štatisticky významne najnižšie množstvo tuku ($P < 0,05$). Nižšie množstvá tuku boli zistené aj v skupine HK (1,667 % ± 0,49), najviac tuku v prsnej svalovine bolo stanovené v kontrolnej skupine (2,089 %), podobne ako v štúdii Semjon et al. (2020). Skrmovanie humínových látok, probiotík ani ich kombinácie nemalo vplyv na celkový obsah bielkovín v prsnej svalovine morčacieho mäsa, čo podporila aj štúdia kolektívu autorov Korsakov et al. (2019), kde pri obohatení pitnej vody prídavkom HL (v množstve 0,5 ml.l^{-1}) sa množstvo bielkovín vo svalovine bojlerových kurčiat oproti kontrolnej skupine nezmenilo. Na druhej strane, v štúdii Semjon et al. (2020) obohatenie krmiva prídavkom HL u brojlerových kurčiat malo vplyv na výslednú kvalitu mäsa, a to zvýšením obsahu bielkovín a znížením podielu tuku. Aj v nami zaznamenaných výsledkoch je obsah celkových bielkovín vyšší v pokusných skupinách v porovnaní s kontrolou ($P > 0,05$), pričom najvyšší obsah celkových bielkovín bol zaznamenaný v pokusnej skupine P po pridávaní probiotického kmeňa do vody moriek.

V tabuľke 2 je uvedený obsah vybraných minerálnych prvkov nameraných v svalovine morčacieho mäsa (v mg.kg^{-1}). Obsah minerálnych látok (sodík, vápnik, železo a zinok) v morčacom mäse bol u pokusných skupín a kontroly rozdielny. Štatisticky významné rozdiely medzi kontrolou a experimentálnymi skupinami boli zaznamenané hlavne u pokusných skupín HK a HKP, kde bol do KZ morkám pridávaný prípravok s obsahom HL. Aj obsah draslíka bol u pokusných skupín HK a HKP vyšší ako u kontroly ($P > 0,05$). Podobne aj Skalicka et al. (2021) v štúdii uvádza, že použitie 0,7 % a 0,3 % Humac Natur AFM Mycotoxisorb ako doplnku krmiva prispelo k zvýšeniu obsahu vápnika a

horčíka v svalovine brojlerov. Popisuje sa, že zmeny v koncentráciách po pridaní humínových kyselín boli spôsobené vzájomnými interakciami a tvorbou chelátových komplexov s prvkami (Skalicka et al. 2021).

Tabuľka 1 Chemické zloženie morčacieho mäsa

vzorka	sušina %	voda %	tuk %	bielkoviny %
KS	31,76 ± 1,14[ab]	68,33 ± 1,10[ab]	2,09 ± 0,54[a]	25,62 ± 1,74
HK	31,89 ± 0,89[ab]	68,11 ± 0,89[ab]	1,67 ± 0,49[ab]	26,20 ± 0,61
HKP	30,80 ± 0,86[b]	69,15 ± 0,90[a]	1,31 ± 0,33[b]	26,29 ± 0,27
P	32,53 ± 1,35[a]	67,47 ± 1,34[b]	1,99 ± 0,68[a]	26,54 ± 0,29

KS — kontrolná skupina bez prídavkov vo výžive, **HK** - 0,5 % prídavok Humac MycotoxiSorb s obsahom humínových kyselín; **HKP** — 0,5 % prídavok Humac MycotoxiSorb + fortifikácia vody probiotikami 1 ml/kus, **P** – fortifikácia vody probiotikami 1 ml/kus. Priemery zdieľajúce rozdielny horný index (a - b) sú štatisticky významné (Tukeyho test, $p < 0,05$).

Tabuľka 2 Obsah vybraných minerálnych prvkov vo svalovine morčacieho mäsa (mg.kg^{-1})

	KS mg.kg^{-1}	HK mg.kg^{-1}	HKP mg.kg^{-1}	P mg.kg^{-1}
sodík	400,95 ± 32,17[a]	462,45 ± 19,45[b]	453,95 ± 1,48[b]	472,10 ± 31,40[b]
horčík	278,55 ± 22,98	297,74 ± 16,64	293,45 ± 8,56	284,50 ± 3,54
draslík	2733,50 ± 170,41	2813,00 ± 159,81	2787,50 ± 89,80	2598,00 ± 89,10
vápnik	84,63 ± 4,42[b]	95,41 ± 1,83[a]	91,50 ± 2,97[ab]	93,98 ± 3,85[a]
železo	7,70 ± 1,25[b]	15,41 ± 2,67[a]	12,56 ± 0,32[a]	6,77 ± 1,62[b]
zinok	4,30 ± 0,03[b]	5,48 ± 0,98[a]	5,23 ± 0,19[a]	5,08 ± 0,72[ab]

KS — kontrolná skupina bez prídavkov vo výžive, **HK** - 0,5 % prídavok Humac MycotoxiSorb s obsahom humínových kyselín; **HKP** — 0,5 % prídavok Humac MycotoxiSorb + fortifikácia vody probiotikami 1 ml/kus, **P** – fortifikácia vody probiotikami 1 ml/kus. Priemery zdieľajúce rozdielny horný index (a - b) sú štatisticky významné (Tukeyho test, $p < 0,05$).

ZÁVER

Na základe predložených výsledkov je možné konštatovať, že prídavok samotných humínových látok v podobe prípravku Humac MycotoxiSorb v dávke 0,5 % do kŕmnej dávky moriek určených na výkrm mal vplyv na zníženie obsahu tuku v morčacom mäse, a to i v kombinácii s prídavkom probiotík. Zdá sa, že obohatenie vody probiotikami *Lactobacillus fermentum* 2I3 nemá vplyv na chemické zloženie mäsa moriek. Fortifikácia výživy moriek vyššie uvedenými aditívami nemá vplyv na obsah bielkovín vo svalovine. Zmeny v obsahu minerálnych látok v morčacom mäse po pridávaní uvedených kŕmnych aditív sa potvrdili hlavne u pokusných skupín s prídavkom HL v krmive, kde došlo k nárastu obsahu vápnika, železa, sodíka a zinku.

LITERATÚRA

Amirkhanov, K., Igenbayev, A., Nurgazezova, A., Okuskhanova, E., Kassymov, S., Muslimova, N., Yessimbekov, Z. 2017. Comparative analysis of red and white Turkey meat quality. In *Pakistan Journal of Nutrition*, vol. pp. 16 (6): 412-416.

Arif, M., Alagawany, M., Abd El-Hack, M. E., Saeed, M., Arain, M. A., Elnesr, S. S. 2019. Humic acid as a feed additive in poultry diets: a review In *Iran Journal of Veterinary Research*, Summer, vol., 20(3), pp. 167-172. PMID: 31656520, PMCID: PMC6811714.

Ashayerizadeh, A, Dabiri, N, Ashayerizadeh, O, Mirzadeh, K. H, Roshanfekr, H, Mamooee, M. 2009. Effect of dietary antibiotic, probiotic and prebiotic as growth promoters, on growth performance, carcass characteristics and haematological indices of broiler chickens. In *Pakistan Journal of Biological Sciences*, vol., 12, pp. 52–57.

FAO/WHO. 2001. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. In Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria, FAO/WHO: American Córdoba Park Hotel, Córdoba, Argentina, pp. 1–34.

Higgins, J. P., Higgins, S. E., Vicente, J. L., Wolfenden, A. D., Tellez, G., Hargis, B. M. 2007. Temporal effects of lactic acid bacteria probiotic culture on Salmonella in neonatal broilers. In *Poultry Science*, vol., 86, pp. 1662–1666.

HUMACPORTAL. Certifikát o voľnom predaji. [cit. 1. 2. 2023]. Dostupné na: https://humac-portal.eu/certificate/humac-natur-afm-pufer/

Mudroňová, D., Karaffová, V., Pešulová, T., Koščová, J., Maruščáková, I. C., Bartkovský, M., Marcinčáková, D., Ševčíková, Z., Marcinčák, S. The effect of humic substances on gut microbiota and immune response of broilers. In *Food Agric Immunol* 2020, vol, 31, pp. 137–149.

Chichlowski, M., Croom, W. J., Edens, F.W., McBride, B. W., Qiu, R., Chiang, C. C. Daniel, L. R., Havenstein, G. B., Koci, M. D. 2007. Microarchitecture and spatial relationship between bacteria and ileal, cecal, and colonic epithelium in chicks fed a direct-fed microbial, primalac, and salinomycin. In *Poultry Science*, vol., 86, pp. 1121–1132.
Kabir, S. M. L., Rahman, M. M., Rahman, M. B. 2005, Potentiation of probiotics in promoting microbiological meat quality of broilers. In *Journal of the Bangladesh Society for Agricultural Science and Technology*, vol., 2, p. 93–96.]
Korsakov, K., Simakova, I., Vasilyev, A., Lifanova, S., Gulyaeva, L. 2019. The effect of humic acids on the natural resistance of the body of broiler chickens and the quality of their meat. In *Agronomy Research*, vol., 17(S2), pp. 1356–1366. . Dostupné na: https://doi.org/10.15159/AR.19.088
MacCarthy, P. 2001. The principles of humic substances. In *Soil Science*. 166:738–751.
Mathivanan, R., Kalaiarasi, K. 2007. Panchagavya and *Andrographis paniculata* as alternative to antibiotic growth promoters on haematological, serum biochemical parameters and immune status of broilers. In *Journal of Poultry Science*, vol, 44, pp. 198–204.
Pelicano, E. R. L, de Souza, PA, de Souza, H. B. A, Oba, A, Norkus, E. A, Kodawara, L. M, de Lima, T. M. A. 2003. Effect of different probiotics on broiler carcass and meat quality. In *British Poultry Science* 2003, vol., 5, pp. 207–214.
Semjon, B., Marcinčáková, D., Koréneková, B., Bartkovský, M., Nagy, J., Turek, P., Marcinčák, S. 2020. Multiple factorial analysis of physicochemical and organoleptic properties of breast and thigh meat of broilers fed a diet supplemented with humic substances, In *Poultry Science*, vol., 99 (3), pp. 1750-1760. ISSN 0032-5791. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.11.012.
Skalická, M., Naď, P., Bujňák, L. Marcin, A. 2021. Impact of Dietary Humic Substances Supplementation on Selected Minerals in Muscles of Broiler Chickens. In *Folia Veterinaria*, vol.65, no.3, 2021, pp.51-59. Dostupné na: https://doi.org/10.2478/fv-2021-0027
Śmiałek, M., Kowalczyk, J., Koncicki, A. 2021. The Use of Probiotics in the Reduction of *Campylobacter spp.* Prevalence in Poultry. In *Animals*, vol. 11, pp. 1355. Dostupné na: https://doi.org/10.3390/ani11051355

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

Kontaktná adresa: Lýdia Mesarčová, MVDr., PhD., Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

APPLICATION OF WILD GARLIC (*ALLIUM URSINUM L.*) FOR PRODUCTION OF LAMB SAUSAGE

Władysław Migdał, Maria Walczycka, Josef Golian, Slavomir Marcincak, Jakub Szlagor

Abstract: In Poland, from ages, the lamb meat is a consumption meat mainly there where sheep have natural pastures. The prevailing regions with mutton meat consumption are the mountains areas where it can be easily bought in markets or directly from producers. The lamb meat dishes are served in many local restaurants and bistros. Actually the consumption of mutton meat in Poland is not large and stands for 0.044 kg/capita/year (Bancewicz et al., 2016). The lamb meat has pale red –pinky color and preserves tenderness and juiciness even after the thermal treatment. Despite that lamb meat is characterized by a high nutritional value and specific, desired by some consumers, sensory characteristics, this meat is not so popular mainly because of low accessibility and high price and typical, characteristic taste. The taste of mutton meat resembles a bit of game meat especially dear meat, although the taste of lamb meat depends mainly on the way of sheep breeding (Branicka et al. 2018). The fatty acids present in a mutton meat fat such as: caprylic and caproic are responsible for that specific taste and odor of sheep meat. One of the forms of consumption of mutton meat, especially of adult sheep (age above 1 year), are sausages. To moderate the specific taste and odor and to elongate the shelf life of mutton sausage the garlic seasoning is applied.

Although the specific taste, accepted by Polish consumers, and some antibacterial and shelf life bettering effects were observed in our experiments there are further studies needed to better elucidate if different garlic products/concentrations could support higher beneficial effects.

INTRODUCTION

Garlic (*Allium sativum L.)* is one of the most important vegetables throughout the world. Commonly used for culinary purposes, garlic is also interestingly appreciated due to its therapeutic and medicinal properties, both in traditional and modern medicine. The main compounds responsible for its flavor are mostly sulfur-containing, non-volatile amino acids (thiosulfates), among which alliin or S-allyl-cysteine sulfoxide (ACSO) is the most predominant garlic flavor precursor (Sobolewska et al., 2015). The wild (bear) garlic (*Allium ursinum L.*), deserves the special attention because of its large contents of flavonoids, chlorophyll and carotenoids. The leaves of wild garlic (and the seasoning obtained of) show antifungal, anticancer, antibacterial and diuretic characteristics. The consumption of bear garlic influences advantageously on human body when the stomach-intestines disorders took place. It acts as aseptical and antiparasitic medium and helps with regeneration of intestines bacterial microflora applied after the antibiotic cure (Znamirowska et al. 2018). Moreover gives a specific taste and smell to dishes so it is applied as the precious seasoning in meat processing industry.

The aim of research was to elaborate of recipe and the quality assessment of model lamb sausage with wild garlic additive.

MATERIAL AND METHODS

The experimental material were the medium size comminuted sausages with 1% of ordinary garlic (*Allium sativum L.*) or with 1% of wild garlic (*Allium ursinum L.*) additive. The meat from Blackhead sheep was used as raw material for sausages production. The sausage were stored in refrigerator (0-4ºC) and basic chemical composition, presence and load of microorganisms (PCA, MRS, YM), chemical indicators of fat deterioration (AV, PV, TBArs) also the pH and water activity of sausages were estimated at 1st, 7th, 14th and 21st day of storage.

RESULTS AND DISCUSSION

The analyzed model lamb sausages were characterized by a high protein (19,29 - 20,48%) and rather low fat (10,78-12,6%) content typical for Malopolska region sausages. The antioxidative activity against deterioration of fatty acids of wild garlic was shown for model sausages. The content of malonaldehyde after 21 days of sausages cooled storage was almost 40% lower in sausages with wild garlic that the ordinary garlic additive. The results confirm that the wild garlic has strong antioxidative features against fats oxidation and is a good functional additive for meat products. The pH of sausage with wild garlic additive has grown slower during chilled storage than that for sausage with ordinary garlic additive. The better combing of water was stated in sausage with wild garlic – it contained, at average, 5% more water in comparison to sausage with ordinary garlic what influenced on its better juiciness. The additive of wild garlic to sausages caused lowering of the number of microorganisms and also inhibited their growth. The sausages with wild garlic additive had an unique taste which was better accepted by consumers in comparison to ordinary garlic added sausage. The sausage with wild garlic got the total organoleptic score higher than that with ordinary garlic.

There was reported in literature that also other varieties of garlic influence favorably the taste and shelf life of meat products. Zhao et al. (2021) revealed that *Allium mongolicum Regel* and its extract can improve the nutritive value of lamb dry fermented sausage because of higher amounts of MUFA, PUFA, PUFA/SFA and TFFA found there in comparison to control sausage, at the end of ripening process (the 7th day). The additive of *Allium mongolicum Regel* also bettered the content and kinds of volatile taste components at the end of ripening process and influenced the bunch of taste substances of dry fermented lamb sausage. Garlic could slow down the increasing TBA values during storage at cooled conditions (Nurwantoro et al., 2015). According to Zhao Yaxing et al. (2021) the supplementation of sheep feed with extract of *Allium mongolicum Regel* can improve the yield of growth and carcass weight, the quality parameters of meat and enlarge amounts of some fatty acids with pro-health activity. Mancini et al. (2020) highlighted that garlic powder was not capable to reduce significantly the negative effect related to the salt addition. Salt induced different modifications to burgers leading to a more liked product due to its properties to enhance sensory characteristics, on the other hand, induced different oxidation processes that could decrease the nutritional value. The strong garlic odor/flavor might completely overcome the effects related to the shelf life and change the consumers perception (Rosin et al., 1992).

CONCLUSION

Although the specific taste, accepted by Polish consumers, and some antibacterial and shelf life bettering effects were observed in our experiments there are further studies needed to better elucidate if different garlic products/concentrations could support higher beneficial effects.

REFERENCES

Bancewicz J., Spiel J., Ząbek K. 2016. Jagnięcina i koźlęcina w tradycji kulinarnej Warmii, Mazur i Powiśla. Warmińsko-Mazurski ośrodek Doradztwa Rolniczego z siedzibą w Olsztynie. Olsztyn.

Braniecka K., Radzik-Rant A., Rant W., Bednarczyk M., Orłowski E., Gajewska A. 2018. Wykorzystanie mięsa owczego w diecie konsumentów pochodzenia polskiego i ormiańskiego, *Wiadomości Zootechniczne*, s. 118–127.

Mancini S., Mattioli S., Nuvoloni R., Pedonese F., Dal Bosco A., Paci G. 2020. Effects of garlic powder and salt additions on fatty acids profile, oxidative status, antioxidant potential and sensory properties of raw and cooked rabbit meat burgers. *Meat Sci*. 2020 Nov; 169:108226. doi: 10.1016/j.meatsci.2020.108226. *Epub Jun* 19. 2020 PMID: 32599418.

Nurwantoro, Bintoro, V. P., Legowo, A. M., Purnomoadi, A., Setiani, B. E. 2015. Garlic Antioxidant (*Allium Sativum* L.) to Prevent Meat Rancidity. *Procedia Food Science*, 3, 137-141. DOI: https:/org/10.1016/j.profoo. 2015.01.014

Rosin, S., Tuorila, H., Uutela, A. 1992. Garlic: A sensory pleasure or a social nuisance? Appetite, 19(2), 133–143. DOI: https:/doi.org/10.1016/0195-6663(92)90016-Y.

Sobolewska D., Podolak I., Makowska-Wąs J. 2015. *Allium ursinum*: botanical, phytochemical and pharmacological overview. *Phytochem Rev*. 14(1): 81–97.
Zhao Lihua, Sun Xueying, Wu Jing, Su Lin, Yang Fan, Jin Ye, Meizhi Zhang, Changjin Ao. 2021. Effects of *Allium mongolicum* Regel and its extracts on the quality of fermented mutton sausages. *Food Science & Nutrition*. 10. 10.1002/fsn3.2657.
Zhao Yaxing, Khas Erdene, Changjin Ao, Bao Zhibi, Du Hongxi, Fan Zejun, Ashraf Umair, Bai Chen 2021. Effects of *Allium mongolicum* Regel and its extracts supplementation on the growth performance, carcass parameters and meat quality of sheep, *Italian Journal of Animal Science*, 20:1, 1899-1908, DOI: 10.1080/1828051X.2021.1971572
Znamirowska A., Rożek P., Buniowska M., Kalicka D., Kuźniar P. 2018. Zastosowanie czosnku niedźwiedziego (*Allium ursinum* L.) do produkcji mleka fermentowanego przez *Bifidobacterium animalis* ssp. lactis BB-12. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 25, 1 (114), 126-136.

Contact address: Władysław Migdał, Maria Walczycka, Department of Animal Product Technology, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow, Balicka 122, 31-149 Kraków, Poland
Jozef Golian, Department of Food Hygiene and Safety, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic
Slavomír Marcinčák, Department of Food Hygiene, Technology and Safety, University of Veterinary Medicine and Farmacy in Kosice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

VPLYV PRÍDAVKU PROBIOTÍK A HUMÍNOVÝCH LÁTOK VO VÝŽIVE BROJLEROVÝCH KURČIAT NA KVALITU STEHENNEJ SVALOVINY
EFFECT OF THE ADDITION OF PROBIOTICS AND HUMIC SUBSTANCES IN THE DIET OF BROILER CHICKENS ON THE QUALITY OF THIGH MUSCLE

Anna Reitznerová, Lýdia Mesarčová, Dagmar Mudroňová, Jana Koščová, Andrej Makiš, Jozef Nagy, Slavomír Marcinčák

Abstract: The purpose of this experiment was to investigate the effect of dietary administration of humic substances and probiotics to broiler chickens on the chemical composition and sensory characteristics of thigh muscle. The thigh muscle samples from experimental groups showed a statistically significant difference in protein content ($p < 0.05$). Application of probiotics *Lactobacillus fermentum 2I3* in broiler chicken water caused an increase in protein content in thigh muscle samples. Sensory analysis of thigh muscle samples showed that the addition of humic substances and probiotics significantly affected the colour and tenderness ($p < 0.01$) of the experimental meat samples and had no negative effect on the taste, flavour and juiciness of the meat.
Keywords: thigh meat, humic substances, fat, protein, sensory analysis

ÚVOD

V minulosti sa pri produkcii hydiny používali antibiotiká ako stimulátory rastu na zvýšenie produktivity. V roku 2006 však Európska únia a mnohé iné krajiny zakázali používanie antibiotík ako stimulátorov rastu vo výžive zvierat z dôvodu zvýšenia počtu baktérií odolných voči antibiotikám, akumulácie rezíduí antibiotík v živočíšnych produktoch a potenciálu prenosu rezistentných kmeňov zo zvierat na ľudí prostredníctvom potravinového reťazca (Stanećev et al., 2011). Eliminácia používania antibiotík spôsobila v mnohých chovoch hospodárskych zvierat zvýšený výskyt chorôb, zvýšenú úmrtnosť a zníženie úžitkovosti (Jha et al., 2019) a preto sa predmetom výskumu za účelom zlepšenia zdravia a rastu brojlerových kurčiat stali prírodné aditíva (Arif et al., 2019).

Kŕmne aditíva resp. doplnkové látky v krmivách definuje nariadenie (ES) č. 1831/2003 Európskeho parlamentu a Rady ako látky, mikroorganizmy alebo prídavky, ktoré sú odlišné od kŕmnych surovín a premixov, a ktoré sa zámerne pridávajú do krmiva alebo do vody, aby priaznivo ovplyvňovali vlastnosti krmiva, živočíšnych produktov a uspokojovali nutričné potreby zvierat, taktiež aby priaznivo ovplyvňovali živočíšnu výrobu, úžitkovosť zvierat alebo prosperitu zvierat a minimalizovali dôsledky živočíšnej výroby na životné prostredie.

Humínové látky sú perspektívnymi komplexnými molekulami ako alternatíva antibiotík vo výžive hydiny. Vo veterinárnej praxi sa používajú pre protihnačkové, analgetické, imunostimulačné a antimikrobiálne vlastnosti. Po podávaní humínových látok do krmiva brojlerových kurčiat boli zaznamenané zlepšenia produktivity, črevnej mikroflóry, imunitnej reakcie a antioxidačného stavu (Dominguez-Negrete et al., 2019).

Probiotiká sú živé mikroorganizmy podávané v primeraných množstvách, ktoré poskytujú hostiteľovi priaznivý fyziologický účinok (Reid et al., 2003). Používanie probiotík v chove hydiny sa v posledných rokoch zvyšuje pre pozitívny vplyv na produkciu a zdravie čriev hydiny. Najčastejšie používanými produkčnými mikroorganizmami pre prípravu probiotík sú laktobacily. Tvoria prirodzenú súčasť mikroflóry črevného traktu, kde plnia významnú úlohu pri zisťovaní prirodzeného obranného systému a pozitívne ovplyvňujú proces celkového metabolizmu (Tannock, 2004).

Cieľom práce bolo analyzovať vplyv humínových látok a probiotík vo výžive kurčiat na chemické zloženie a senzorické vlastnosti stehennej svaloviny brojlerových kurčiat.

MATERIÁL A METODIKA

V experimente bolo chovaných 160 kusov brojlerových kurčiat (mäsový hybrid, COBB 500). Jednodňové kurčatá boli privezené priamo od dodávateľa (Hydina Slovensko s.r.o.) a rovnomerne rozdelené do štyroch skupín (40 kurčiat). Všetky skupiny kurčiat boli kŕmené dvakrát denne rovnakými priemyselne vyrábanými kŕmnymi zmesami BR1 (1. – 10. deň), BR2 (11. – 30. deň) a BR3 (31. – 37. deň). Kontrolnej skupine (K) boli podávané len základné kŕmne zmesi (KZ). V prvej experimentálnej skupine (P) bol od 1. dňa výkrmu do vody podávaný probiotický kmeň *Lactobacillus fermentum* 2I3 v dávke 1ml/kura/deň. Druhej experimentálnej skupine (H) boli v KZ podávané humínové látky v dávke 0,6 % vo forme prípravku Humac Natur AFM Mycotoxisorb (Humac s.r.o., Košice), pričom o dané množstvo bolo znížené množstvo KZ. V tretej experimentálnej skupine (HP) bol kurčatám podávaní vo vode probiotický kmeň (*Lactobacillus fermentum*; 1 ml/kurča/deň) a spolu s krmivom boli podávané humínové látky (Humac Natur AFM Mycotoxisorb; 0,6 %), pričom o uvedené množstvo bolo znížené množstvo KZ. Na 38. deň výkrmu boli kurčatá jatočne opracované. Jednotlivé vzorky stehennej svaloviny boli analyzované 24 hodín po zabití a po siedmych dňoch skladovania v chladiacej komore pri teplote 4 ± 2 °C. Fyzikálno-chemická analýza experimentálnych vzoriek prsnej svaloviny bola vykonaná podľa metód AOAC (1990). Vo vzorkách bol v prvý deň stanovený obsah tuku, vody, vyjadrený prepočtom na základe stanoveného obsahu sušiny a obsah bielkovín.

Experimentálne vzorky stehennej svaloviny 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, ktorí mali dostatočné praktické skúsenosti s hodnotením hydinového mäsa. Pri zostavovaní protokolu pre posudzovanie experimentálnych vzoriek prsnej svaloviny kurčiat sa postupovalo podľa autorov Lawless a Heymann (2010). Protokol pozostával z 9 bodovej hedonickej stupnice na hodnotenie farby, vône, šťavnatosti, krehkosti a celkovej prijateľnosti predložených vzoriek nasledovne: 1 - veľmi zlý/á, 2 - zlý/á, 3 - menej chutný/á, 4 - neuspokojivý/á, 5 - priemerný/á, 6 - uspokojivý/á, 7 - chutný/á, 8 - dobrý/á, 9 - veľmi dobrý/á.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Priemerné hodnoty chemického zloženia stehennej svaloviny získanej z pokusných skupín brojlerových kurčiat sú uvedené v tabuľke 1. Najvyšší obsah bielkovín v stehennej svalovine bol stanovený v pokusnej skupine P ($p < 0,05$) po aplikácií probiotík *Lactobacillus fermentum* 2I3 vo vode brojlerových kurčiat. Yaqoob et al. (2022) uvádzajú, že probiotiká zlepšujú zdravie čriev hydiny, čo v konečnom dôsledku zlepšuje stráviteľnosť živín a tým sa zvyšuje produktivita rastu a kvalitu mäsa. Taktiež použitie humínových kyselín vo výžive brojlerových kurčiat pozitívne vplýva na zlepšenie kvality mäsa, zvýšenie prírastkov a zlepšenie imunity zvierat (Ozturk et al., 2014). Podávanie humínových látok v dávke 0,6 % samostatne alebo v kombinácií s probiotikami neovplyvnili podiel tuku a bielkovín oproti kontrolnej skupine. Podobne aj Jaďuttová (2019) uvádza, že 0,8 % prídavok humínových látok nemal vplyv na obsah tuku a bielkovín stehennej svaloviny. Naopak Semjonom et al. (2020) zaznamenali zvýšeniu podielu tuku v stehennej svalovine pri 0,8 % zastúpení humínových látok v krmive.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Tabuľka 1 Chemické zloženie stehennej svaloviny (%) pokusných skupín brojlerových kurčiat (priemer ± SD)

parameter	*K*	*P*	*H*	*HP*	*p – hodnota*
voda	73,89 ± 0,68	74,99 ± 0,63	74,62 ± 0,87	74,03 ± 1,80	0,4853
sušina	26,11 ± 0,68	25,01 ± 0,63	25,38 ± 0,87	25,97 ± 1,80	0,4868
tuk	6,74 ± 0,67	4,71 ± 1,10	6,44 ± 1,13	5,90 ± 2,09	0,2090
bielkoviny	18,42 ± 0,57^{b}	19,39 ± 0,31^{a}	18,41 ± 0,38^{b}	18,52 ± 0,37^{ab}	**0,0169**

K – kontrolná skupina; P – pokusná skupina s prídavkom probiotického kmeňa *Lactobacillus fermentum* 2I3; H – pokusná skupina s prídavkom 0,6 % Humac® Natur AFM Mycotoxisorb; HP – pokusná skupina s prídavkom probiotického kmeňa *Lactobacillus fermentum* 2I3 a humínových látok 0,6 % Humac® Natur AFM Mycotoxisorb

Tabuľka 2 Hodnoty senzorického hodnotenia pokusných vzoriek stehennej svaloviny brojlerových kurčiat pred a po skladovaní (4 ± 2 °C, 7 dní; priemer ± SD)

parameter		*K*	*H*	*P*	*HP*	*p - hodnota*
farba	**1. deň**	7,60 ± 1,17^{a}	6,10 ± 1,37^{b2}	7,60 ± 0,84^{a}	7,60 ± 0,97^{a}	**0,0080**
	7. deň	7,70 ± 1,06	7,70 ± 1,16^{1}	7,40 ± 1,26	7,80 ± 0,92	0,8648
vôňa	**1. deň**	7,00 ± 1,15	6,90 ± 1,52	7,20 ± 1,14	7,30 ± 1,06	0,8820
	7. deň	7,30 ±1,42	7,20 ± 1,14	7,00 ± 1,49	7,30 ± 1,16	0,9499
chuť	**1. deň**	7,20 ± 0,63^{2}	7,30 ± 1,42	7,10 ± 1,37	7,40 ± 0,97	0,9431
	7. deň	8,00 ± 0,82^{1}	7,70 ± 1,25	7,30 ± 0,95	7,40 ± 0,97	0,4311
šťavnatosť	**1. deň**	6,50 ± 0,85^{2}	7,10 ± 0,88	7,20 ± 1,32	7,50 ± 1,08	0,2058
	7. deň	7,70 ± 1,16^{1}	7,60 ± 1,51	6,80 ± 0,92	7,30 ± 1,25	0,3679
krehkosť	**1. deň**	6,20 ± 0,79^{a2}	7,60 ± 0,52^{b}	7,00 ± 1,05^{ab}	7,40 ± 0,70^{b}	**0,0017**
	7. deň	7,90 ± 0,74^{a1}	7,80 ± 0,92^{a}	6,60 ± 0,97^{b}	7,60 ± 0,70^{ab}	**0,0050**
celková prijateľnosť	**1. deň**	7,20 ± 0,42^{2}	7,20 ± 1,03^{2}	7,70 ± 0,95	7,60 ± 0,84	0,4180
	7. deň	8,10 ± 0,74^{1}	8,10 ± 0,74^{1}	7,30 ± 0,95	7,80 ± 1,03	0,1529

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

Kvalita mäsa je ovplyvnená stravou na viac ako 30 % (Haščík et al., 2012). Senzorické parametre mäsa (farba, vzhľad, vôňa, chuť, šťavnatosť a krehkosť) patria medzi dôležité vlastnosti, ktoré výrazne rozhodujú o obľúbenosti mäsa medzi konzumentmi a tiež o vhodnosti na kulinársku úpravu (Čurlej et al., 2015).

V tabuľke 2 sú uvedené hodnoty senzorického hodnotenia stehennej svaloviny získanej z pokusných brojlerových kurčiat, ktorá bola hodnotená pred a po skladovaní v chladničke pri teplote 4 ± 2 °C. Na prvý deň skladovania hodnotitelia určili štatistický významnú rozdielnosť vo farbe pokusných skupín stehennej svaloviny ($p < 0,01$) s najnižším bodovým hodnotením pokusnej skupiny H, v ktorej bola zaznamená štatistická významnosť v priebehu skladovania ($p < 0,05$). Krehkosť mäsa bola štatisticky významná vo všetkých pokusných skupinách oproti kontrolnej skupine na prvý deň skladovania ($p < 0,01$). V kontrolnej skupine došlo medzi 1. a 7. dňom skladovania k štatisticky významnému zvýšeniu hodnotenia krehkosti ($p < 0,01$). Vo vzorkách mäsa stehennej svaloviny pokusných skupín K a P došlo medzi 1. a 7. dňom skladovania k štatisticky významnému zvýšeniu hodnotenia celkovej prijateľnosti ($p < 0,01$; resp. $p < 0,05$), pričom medzi jednotlivými pokusnými skupinami nebol zaznamenaný výrazný rozdiel v celkovej prijateľnosti ($p > 0,05$).

Pelicano et al. (2003) hodnotili účinok probiotík na senzorické vlastnosti mäsa brojlerových kurčiat a uviedli, že suplementácia probiotík vo vode a v kŕmnej dávke brojlerov zlepšila kvalitu mäsa.

ZÁVER

Pridávanie probiotík *Lactobacillus fermentum 2I3* a humínových látok v pokuse malo vplyv na chemické zloženie vzoriek stehennej svaloviny. Z výsledkov celkového senzorického hodnotenia vyplýva, že pridávanie probiotík a humínových látok výrazne neovplyvnilo celkovú prijateľnosť stehennej svaloviny. Krehkosť mäsa bola lepšie hodnotená v pokusných skupinách stehennej svaloviny oproti kontrole. Rozdiely vo vôni, chuti a šťavnatosti vo vzorkách stehennej svaloviny neboli pozorované.

LITERATÚRA

AOAC 1990. Official Methods of Analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.

Arif, M., Alagawany, M., Abd El-Hack, M. E., Saeed, M., Arain, M. A., Elnesr, S. S. 2019. Humic acid as a feed additive in poultry diets: a review. In *Iranian Journal of Veterinary Research*, 20(3), 167–172.

Čurlej, J., Mellen, M., Marcinčák, S., Belej, Ľ., Židek, R., Čertík, M., Klempová, T. 2015. Impact of additives in broiler nutrition on the quality of breast muscles. In *Folia Veterinaria*, 59, 179-184.

Domínguez-Negrete, A., Gómez-Rosales, S., Angeles, M. L., López-Hernández, L. H., Reis-de Souza, T. C., López-García, Y., Zavala-Franco, A., Téllez-Isaias, G. 2019. Effect of the Addition of Humic Substances as Growth Promoter in Broiler Chickens Under Two Feeding Regimens. In *Animals* (Basel), 9, 9(12),1101.

Haščík, P., Pavelková, A., Arpašová, H., Čuboň, J., Bobko, M., Tkáčová, J., Kačániová, M., Bučko, O. 2019. The profile of fatty acids in chicken meat after humic acid and phytobiotics application, In *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 9, 439-444.

Jaďuttová, I. 2019. Humínové kyseliny ako kŕmne aditíva a ich vplyv na produkčné zdravie hydiny a kvalitu produkovaného mäsa. Dizertačná práca. UVLF : Košice, 87 s.

Jha, R., Das, R., Oak, S., Mishra, P. 2020. Probiotics (Direct-Fed Microbials) in Poultry Nutrition and Their Effects on Nutrient Utilization, Growth and Laying Performance, and Gut Health: A Systematic Review. In *Animals*, 10, 1863.

Nariadenie (ES) č. 1831/2003 Európskeho Parlamentu a Rady z 22. septembra 2003 o doplnkových látkach určených na používanie vo výžive zvierat

Ozturk, E., Ocak, N., Turan, A., Erener, G., Altop, A., Cankaya, S. 2012. Performance, carcass, gastrointestinal tract and meat quality 54 traits, and selected blood parameters of broilers fed diets supplemented with humic substances. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92, 1, 59-65.

Pelicano, E. R. L, de Souza, P. A., de Souza, H. B. A., Oba, A., Norkus, E. A., Kodawara, L. M., de Lima, T. M. A. 2003. Effect of different probiotics on broiler carcass and meat quality. In *Br. J. Poultry Sci*;5, 207–214.

Reid, G., Sanders, M. E., Gaskins, H. R., Gibson, G. R.,. Mercenier, A., Rastall, R., Roberfroid, M., Rowland, I., Cherbut C., Klaenhammer, T.R. 2003. New scientific paradigms for probiotics and prebiotics. In *Journal of Clinical Gastroenterology*, 37, 105-118.

Semjon, B., Marcinčáková, D., Koréneková, B., Bartkovský, M., Nagy, J., Turek, P., Marcinčák, S. 2020. Multiple factorial analysis of physicochemical and organoleptic properties of breast and thigh meat of broilers fed a diet supplemented with humic substances. In *Poultry Science*, 99(3), 1750-1760.

Stanaćev, V., Glamočić, D., Milošević, N., Puvača, N., Stanaćev, V., Plavša, N. 2011. Effect of garlic (*Allium sativumL.*) in fattening chicks nutrition. *African Journal of Agricultural Research*, 6(4), 943-948.

Tannock, G. A. 2004. Special Fondness for *Lactobacilli*. In *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 4, 3189-3194.

Yaqoob M, Wang G, Wang M. 2022. An updated review on probiotics as an alternative of antibiotics in poultry. A review. In *Anim Biosci*, 35(8), 1109-1120.

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

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

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.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Bezpečnosť a kvalita potravín rastlinného pôvodu

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

HODNOTENIE OBSAHU POLYFENOLOV A ANTOKYÁNOV V SLOVENSKÝCH RUŽOVÝCH VÍNACH ODRODY CABERNET SAUVIGNON VO VZŤAHU K ANTIRADIKÁLOVEJ AKTIVITE THE EVALUATION OF POLYPHENOLIC AND ANTHOCYANIN CONTENT OF SLOVAK ROSÉ WINES CABERNET SAUVIGNON VARIETY IN RELATION TO ANTIRADICAL ACTIVITY

Daniel Bajčan, Marek Šnirc, Július Árvay, Ivana Tirdiľová , Pavol Trebichalský, Mária Timoracká

Abstract: Fifteen rosé wine samples (variety Cabernet Sauvignon), originated from three different Slovak wine regions, were analysed for the content of total polyphenols, content of total anthocyanins and antiradical activity by UV-VIS spectrometry. Our results showed that Slovak rosé wines had high content of healthy useful phenolic and anthocyanin compounds and high value of antiradical activity. The results didn´t showed statistically significant differences for all 3 studied parameters in wines made in different vineyard areas in Slovakia. Our results confirmed very strong, resp. strong linear correlations between all three analysed parameters (TPC, TAC and AA).
Keywords: anthocyanins, antioxidants, antiradical activity, polyphenols, rosé wine

INTRODUCTION

Modern ways of life styles with non-healthy nutritional habits usually result in progression of various physiological threats and diseases such as cardiovascular complications, cancer, immune dysfunction and premature aging (Singh et al., 2019).

Antioxidant is a component which in low concentration in reaction with reactive metabolite forms relatively stable and non-toxic products, and thus protects cells, tissues and the whole organisms against oxidative damage by free radicals (Vollmannova et al., 2018). This is one of the basic purposes of respectable demand for natural antioxidants and their potential role in human health and nutrition (Chandra et al., 2020).

Wine is worldwide consumed beverage and undoubtedly presents important food commodity with relatively high commercial value (Perestrelo et al., 2020). Winemaking has many records in history, its production is popular almost on each continent and is considered to be both art and science. Quality of wine is affected by many enological factors including the type of grapes, and its structure, climatic factors and fermentation procedure (Haseeb et al., 2019).

Phenolic components are secondary metabolites that exert large diversity of structure, including relatively simple molecules (e.g. vanillin, gallic acid, caffeic acid) and polyphenols, such as stilbenes, flavonoids and polymers derived from mentioned various groups (Cheynier, 2012).

In previous studies, we described some antioxidant properties, such as total polyphenol content, total anthocyanin content and antioxidant activity of the Slovak monovarietal red wines originating in different vineyard areas (Bajčan et al., 2012a,b; 2015, 2016). Numerous papers have been published on red and white wines but relatively few data are available on rosé wines. So we analysed some of the abovementioned properties in the monovarietal rosé wines (Cabernet Sauvignon) here, and compared them with those of selected red wine samples originating from various Slovak vineyard regions.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

MATERIAL AND METODOLOGY

All analysed parameters – total polyphenol content, total anthocyanin content and antiradical activity in wines were analysed by UV/VIS spectrophotometry (spectrophotometer Shimadzu UV/VIS – 1240, Shimadzu, Japan). The chemicals used for all analysis were: Folin-Ciocalteau reagent, monohydrate of gallic acid p.a., anhydrous natrium carbonate p.a., hydrochloric acid p.a., citric acid monohydrate p.a., disodium hydrogen phosphate dodecahydrate p.a., methanol p.a., 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical p.a., Trolox (pure) /Sigma-Aldrich Chemie and Merck KGaA, Germany/.

Analysed, bottled, rosé wines, variety Cabernet Sauvignon and their characteristics are mentioned in Table 1. Wine samples with origin in various Slovak vineyard areas (VA) were purchased in retail network, to provide that analysed wine samples would have the same properties as wines that are consumed by common consumers (properties of wine affected by various factors, such as period and conditions of storage or distribution of wine).

Table 1 Characteristics of analysed rosé wine samples variety Cabernet Sauvignon

Sample	Producer	Vineyard area	Vintage	Quality
CS-LC1	Villa Víno Rača, a.s., Bratislava	Little Carpathian	2012	quality
CS-LC2	Malokarpatská vinohradnícka spol., a.s., Pezinok	Little Carpathian	2009	late harvest
CS-LC3	Chateu Zumberg – VPS, s.r.o., Pezinok	Little Carpathian	2011	quality
CS-LC4	Vinárstvo Golguz, Panonia Winery s.r.o., Hlohovec	Little Carpathian	2014	late harvest
CS-SS1	Vinárske závody Topoľčianky, Topoľčianky	South Slovak	2011	late harvest
CS-SS2	Vinárske závody Topoľčianky, Topoľčianky	South Slovak	2012	late harvest
CS-SS3	Víno Nitra, s.r.o., Nitra	South Slovak	2010	late harvest
CS-SS4	Malokarpatská vinohradnícka spol., a. s., Pezinok	South Slovak	2013	late harvest
CS-SS5	HR Winery, Gbelce	South Slovak	2012	grapes selection
CS-N1	Víno Nitra, s.r.o., Nitra	Nitra	2011	quality
CS-N2	Víno Nitra, s.r.o., Nitra	Nitra	2008	quality
CS-N3	Vinárske závody Topoľčianky, Topoľčianky	Nitra	2012	late harvest
CS-N4	Agropest, s.r.o., Veľký Cetín	Nitra	2012	grapes selection
CS-N5	PD Mojmírovce, Mojmírovce	Nitra	2012	grapes selection
CS-N6	PD Mojmírovce, Mojmírovce	Nitra	2013	late harvest

Total polyphenol content (TPC) was determined by modified method of Singleton and Rossi (1965). The content of total polyphenols (TP) in wines was calculated as amount of gallic acid equivalent (GAE) in mg per 1 litre of wine.

Total anthocyanin content (TAC) was assessed by modified pH differential method of Lapornik et al. (2005). The content of total anthocyanins (TA) was expressed as the amount of cyanidin-3-glucoside equivalent (CGE) in mg/L of wine.

Antiradical activity (AA) was assessed by method of Brand-Williams et al. (1995) using of DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical. Absorbance was read at 515.6 nm and antioxidant effectiveness was expressed as % inhibition of DPPH (quantitative ability of tested compound to remove in certain period a part of DPPH radical).

All chemical analyzes were performed as four parallels. The Shapiro-Wilk test showed that the data were not normally distributed. Therefore, nonparametric Kruskal-Wallis test was conducted in order to obtain statistically significant information about the differences between the tested samples and Spearman correlation was performed to investigate the relationship between the tested variables. All calculations were performed using MS Excel 2016 and XLSTAT (Addinsoft, 2014).

RESULTS AND DISCUSSION

Total polyphenol content in analysed Cabernet Sauvignon (CS) rosé wine samples was in the range from 353.9 to 671.8 mg GAE/L. Average content of TP was 459.6 mg GAE/L. We did not find any information on the content of phenolic substances in rosé CS wines in available scientific and professional works. Therefore, we cannot compare our results with those of other authors. Slovak rosé wines – Cabernet Sauvignon have on average 5.3 times lower content of total polyphenols than CS red wines (Bajčan et al., 2015). According to the average value of TPC an order for rosé wines – Cabernet Sauvignon could be as following: wines from South Slovak VA > wines from Nitra VA > wines from Little Carpatian VA. Gained results also did not exert statistically significant differences (at significance level P = 0.05) between TPC in rosé wines – Cabernet Sauvignon made in various vineyard areas in Slovakia.

Total anthocyanin content in analysed Cabernet Sauvignon (CS) rosé wine samples was in the range from 3.2 to 100.5 mg CGE/L. Average content of TA was 38.9 mg CGE /L. We also did not find any information on the content of anthocyanins in rosé CS wines in available scientific and professional works. Slovak rosé wines – Cabernet Sauvignon have on average 5.7 times lower content of total anthocyanins than CS red wines (Bajčan et al., 2015). According to the average value of TAC an order for rosé wines - Cabernet Sauvignon could be as following: wines from South Slovak VA > wines from Little Carpatian VA > wines from Nitra VA. Gained results also did not exert statistically significant differences (at significance level P = 0.05) between TAC in rosé wines – Cabernet Sauvignon made in various vineyard areas in Slovakia.

Antiradical activity in analysed Cabernet Sauvignon rose wine samples was in range from 38.7 % inhibition of DPPH to 61.9 % inhib. of DPPH. Average value of AA in all rose wines variety CS was 50.1 % inhib. of DPPH. We also did not find any information on the antiradical activity in rosé CS wines in available scientific and professional works. Slovak rosé wines – Cabernet Sauvignon have on average 1.6 times lower value of AA than CS red wines (Bajčan et al., 2015). On the basis of value of AA for rose wines – Cabernet Sauvignon an order could be as following: wines from Nitra VA > wines from Little Carpathian VA > wines from South Slovak VA. Gained results did not exert statistically significant differences (at significance level P = 0.05) between values of AA in rose wines – Cabernet Sauvignon made in various vineyard areas in Slovakia.

The statistical evaluation of the obtained results confirmed very strong positive relationship at significance level P<0.01 between TPC and TAC (r=0.660), resp. AA and TPC (r=0.738). We have found also strong positive relationship between TAC and AA (r= 0.563). This was consistent with many other articles in the literature, which also reported strong positive relationship between the total phenols, total anthocyanins and antiradical properties of wines (Chircu Brad et al., 2012; Li et al., 2009 and Minussi et al., 2003).

CONCLUSION

The phenolic, resp. anthocyanin content and antiradical activity of Cabernet Sauvignon rosé wines made in 3 most important Slovak vineyard areas was evaluated in the present study. All studied parameters of analysed Slovak wines - total polyphenol content, total anthocyanin

content and antiradical activity are comparable to the wines produced in other regions in the world. Slovak rosé wines, Cabernet Sauvignon variety, have high content of healthy useful phenolic compounds and high antiradical activity. The results didn´t showed statistically significant differences for all 3 studied parameters in wines made in different vineyard areas in Slovakia. On the basis of statistical evaluation of our results we can state that statistically highly significant, resp. significant correlations were demonstrated between all 3 parameters (TPC, TAC and AA).

REFERENCES

Addinsoft. 2014. XLSTAT, Analyse de données et statistique avec MS Excel. Addinsoft, NY, USA.

Bajčan, D., Čéryová, S., Tomáš, J. 2012a. Antioxidant properties of the bestselling Slovak red wines. In *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, vol. 1(4), pp. 455-465.

Bajčan, D., Čéryová, S., Tóth, T. 2012b. Phenolic compounds and antioxidant activity of mono varietal red wines produced in Limbach region. In *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, vol. 1 (special issue), pp. 868-875.

Bajčan, D., Šimanský, V., Tóth, T., Árvay, J. 2015. Colour, phenolic content and antioxidant activity of the Slovak Alibernet red wine samples. In *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, vol. 4(special issue 3), pp. 5-8. Dostupné na: doi.org/10.15414/jmbfs.2015.4.special3.5-8

Bajčan, D., Vollmannová, A., Šimanský, V., Bystrická, J., Trebichalský, P., Árvay, J., Czako, P. 2016. Antioxidant activity, phenolic content and colour of the Slovak Cabernet Sauvignon wines. In *Potravinárstvo*, vol. 10(1), 2016, pp. 89-94. Dostupné na: dx.doi.org/10.5219/534

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. In *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, vol. 28, pp. 25-30. Dostupné na: dx.doi.org/10.1016/s0023-6438(95)80008-5

Haseeb, S., Alexander, B., Santi, R. L., Liprandi, A. S., Baranchuk, A. 2019. What's in wine? A clinician's perspective. In Trends in *Cardiovascular Medicine*, vol. 29, pp. 97-106. Dostupné na: doi.org/10.1016/j.tcm.2018.06.010

Chandra, P., Sharma, R. K., Arora, D. S., 2020. Antioxidant compounds from microbial sources: A review. In *Food Research International*, vol. 129, p. 108849. Dostupné na: doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108849

Cheynier, V. 2012. Phenolic compounds: from plants to foods. In *Phytochemistry Reviews*, vol. 11, pp. 153-177.

Chircu Brad, C., Muste, S., Mudura, E., Bobis, O. 2012. The content of polyphenolic compounds and antioxidant activity of three monovarietal wines and their blending, used for sparkling wine production. In *Bulletin UASVM serie Agriculture*, vol. 69(2), pp. 222-227. Dostupné na: dx.doi.org/10.15835/buasvmcn-agr:8764

Lapornik, B., Prošek, M., Wondra, A. G. 2005. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. In *Journal of Food Engineering*, vol. 71, no. 2, pp. 214-222. Dostupné na: dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.10.036

Li, H., Wang, X., Li, Y., Li, P., Wang, H. 2009. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. In *Food Chemistry*, vol. 112(2), pp. 454-460. Dostupné na: doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.111

Perestrelo, R., Silva, C., Goncalves, C., Castillo, M., Camara, J. S. 2020. An Approach of the Madeira Wine Chemistry. In *Beverages*, vol. 6, p. 6 Dostupné na: doi.org/10.3390/beverages6010012

Singh, A., Kukreti, R., Saso, L., Kukreti, S. 2019. Oxidative Stress: A Key Modulator in Neurodegenerative Diseases. In *Molecules* Vol. 24 (8), pp. 1583-1598.

Singleton, V. L., Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. In *American Journal of Enology and Viticulture*, vol. 16, pp. 14-158.

Vollmannová, A., Musilová, J., Urminská, D., Bajčan, D., Bobková, A., Bojňanská, T., Bystrická, J., Čanigová, M., Kročko, M., Mašková, Z., Mendelová, A., Stanovič, R., Szabová, E., Tančinová, D., Tóth, T. 2018. Food chemistry (Chémia potravín). Nitra: SPU v Nitre, 2018, 544 p. ISBN 978-80-552-1814-4

Acknowledgments: This work was supported by Slovak Scientific Foundation VEGA, Grant no. 1/0113/21.

Contact address: Daniel Bajčan, RNDr. PhD., Institute of food sciences, Faculty of biotechnology and food sciences, Slovakia university of agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

VPLYV PRÍDAVKU *OPUNTIA FICUS-INDICA* NA TERMOMECHANICKÉ VLASTNOSTI PŠENIČNÉHO CESTA
EFFECT OF *OPUNTIA FICUS-INDICA* ADDITION ON THERMOMECHANICAL PROPERTIES OF WHEAT DOUGH

Tatiana Holkovičová, Zlatica Kohajdová, Michaela Lauková, Lucia Minarovičová, Daniela Oslacká

Abstract: Nopal powder obtained from the stems of *Opuntia ficus-indica* cactus represents a good source of dietary fibre with enhanced health benefits. This plant material is often used for bakery applications. The effect of partial replacement (0%, 5%, 10%, 15%) of wheat flour by nopal powder on rheological parameters of wheat dough were studied. Mixing, pasting and gelling properties of composite flours were determined by Mixolab device. Nopal-enriched doughs were characterized with higher water absorption and dough stability. Moreover, it was concluded that incorporation of nopal into wheat dough significantly affected parameters C1, C2, C3, C4 and C5 (these parameters decreased with increasing amounts of nopal powder). From the results it was also stated that the incorporation of nopal fibre into the dough matrix induces the disruption of the viscoelastic system by producing weaker doughs, and it greatly competes for water with starch affecting pasting and gelling. Taking into account the obtained results it may be concluded that mixolab can be successfully used to predict the quality of wheat dough incorporated with alternative raw materials.
Keywords: nopal, dough rheology, mixolab, dietary fibre

ÚVOD

V posledných desaťročiach neustále rastie záujem spotrebiteľov o nové druhy potravín so zvýšeným obsahom vlákniny (Silva et al., 2021). Pekárske výrobky sa denne konzumujú vo veľkých množstvách a zohrávajú významnú úlohu vo výžive obyvateľstva (Biljwan et al., 2019).

Potravinová vláknina získaná z rôznych zdrojov sa v súčasnosti používa ako náhrada pšeničnej múky pri výrobe pekárskych výrobkov (El-Shahat et al., 2019). Inkorporácia rastlinných materiálov ako alternatívnych surovín do potravinových produktov na báze obilnín sa ukazuje ako vhodný spôsob na zvýšenie obsahu vlákniny vo výrobkoch (Silva et al., 2021). V súčasnosti sa mnoho štúdií zameriava na využitie stoniek kaktusu *Opuntia ficus-indica* (nopál) ako zdroja vlákniny. Táto surovina sa do výrobkov pridáva najčastejšie v práškovej forme (surovina sa po zbere premyje, nareže pozdĺžne alebo na kocky a následne sa upravuje sušením, mletím a preosievaním na požadovanú veľkosť častíc) (Dick et al., 2019; Reda a Atsbha, 2019; Dick et al., 2020). Nopál má vysokú nutričnú hodnotu, najmä vďaka svojmu obsahu vlákniny (41,83 - 51,24 %), minerálnych látok (Mg, K, Ca, Mn, Fe) a antioxidantov (fenolové zlúčeniny). Obsah bioaktívnych zlúčenín ako aj chemické zloženie a nutraceutický potenciál kaktusu závisí od mnohých faktorov, ako je typ kultivaru, spôsob pestovania, klimatické podmienky a štádium dozrievania (Amaya-Cruz et al., 2019; Pessoa et al., 2020).

Na základe reologických meraní možno predvídať chovanie sa cesta v priebehu technologického procesu spracovania (Lauková et al., 2018). Mixolab je zariadenie, ktoré umožňuje sledovať nielen mechanické, ale aj termické vlastnosti cesta v priebehu zahrievania (vlastnosti proteínov a škrobu). Tento prístroj taktiež umožňuje v pomerne krátkom čase posúdiť aj vplyv prídavku alternatívnych surovín na reologické parametre pšeničného cesta.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Z odbornej literatúry vyplýva, že prídavok materiálov bohatých na vlákninu môže ovplyvniť najmä väznosť a viskoelastické vlastnosti pšeničného cesta (Rosell et al., 2010).

Cieľom tejto práce bolo sledovanie vplyvu prídavku nopálového prášku v zmesi s pšeničnou múkou v rôznych pomeroch na reologické parametre pšeničného cesta.

MATERIÁL A METODIKA

Použitý materiál

Pšeničná múka hladká špeciál, 00 Extra, (Mlyn Kolárovo a.s., Slovenská republika).
Komerčne vyrábaný nopálový prášok z kaktusu *Opuntia ficus-indica*, krajina pôvodu: Mexiko (výrobca a distribútor: Natural Jihlava JK s.r.o., Česká republika) (chemické zloženie uvedené na obale výrobku: tuky: 4,3 g; sacharidy: 68,44 g; bielkoviny: 7,8 g; vláknina: 52,8 g na 100 g výrobku).
Kompozitné múčne zmesi s rôznym podielom nopálového prášku (0 %, 5 %, 10 % a 15 % podiel pšeničnej múky bol nahradený nopálovým práškom).

Metodika práce

Termomechanické vlastnosti cesta boli stanovené pomocou prístroja Mixolab 2 (Chopin Technologies, Villeneuvela-Garenne, Francúzsko) s použitím protokolu Chopin + za daných podmienok: rýchlosť miesenia 80 ot/min, počiatočné premiešavanie cesta pri 30 °C počas 8 min, zvýšenie teploty cesta na 90 °C počas 15 min rýchlosťou 4 °C/min. Po dosiahnutí 90 °C sa cesto pri tejto teplote udržiava 7 min, následné chladenie na 50 °C (4 °C/min) a výdrž počas 5 min pri teplote 50 °C. Čas trvania celej analýzy je 45 minút (Pastukhov a Dogan, 2014).

Správanie cesta je zaznamenané pomocou nasledujúcich parametrov mixolabu: väznosť (%), stabilita cesta (min), C1 (Nm) – maximálny krútiaci moment počas miesenia (na stanovenie väznosti), C2 (Nm) – predstavuje oslabenie bielkovín pri mechanickej práci s rastúcou teplotou (indikátor kvality bielkovín), C3 (Nm) – vyjadruje mieru mazovatenia škrobu, C4 (Nm) – vyjadruje stabilitu za tepla vytvoreného škrobového gélu, C5 (Nm) – predstavuje retrogradáciu škrobu počas fázy chladenia, rozdiel C1 – C2 vyjadruje mieru oslabenia bielkovinovej siete s narastajúcou teplotou, rozdiel C3 – C2 vyjadruje rýchlosť mazovatenia škrobu, C3 – C4 vyjadruje súvis amylázovej aktivity s pádovým číslom, C5 – C4 zodpovedá retrogradácii škrobu (Banu et al., 2011). Namerané výsledky poskytujú komplexné poznatky o kvalite a sile bielkovín, škrobu, enzymatickej aktivite a ďalších vlastnostiach cesta (Rosell et al., 2010).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Reologické vlastnosti múk a kompozitných múčnych zmesí predstavujú dôležité parametre, pomocou ktorých je možné predikovať správanie sa suroviny v technologickom procese výroby ako aj kvalitatívne parametre z nich pripravených výrobkov (Xhabiri el al., 2016). Zariadenie Mixolab predstavuje nástroj pre optimalizáciu zloženia kompozitných múčnych zmesí a na základe reologických vlastností cesta v procese miešania, zahrievania a chladenia umožňuje predikciu kvality cereálnych výrobkov (Torbica et al., 2019).

Analýza reologických vlastností pšeničnej múky a kompozitných múčnych zmesí pripravených s 5, 10 a 15 % náhradou pšeničnej múky nopálovým práškom bola uskutočnená pomocou testu Chopin+, ktorý cesto podrobuje mechanickému namáhaniu a testu odolnosti voči teplotným zmenám - zahriatiu, tepelnej výdrži a nasledujúcemu ochladeniu cesta (Stoenescu et al., 2010). Vplyv prídavku nopálového prášku na termomechanické parametre cesta je uvedený v tab. 1.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Tabuľka 1 Reologické parametre pšeničného cesta s prídavkom práškového nopálu

Parameter	HM	NP 5 %	NP 10 %	NP 15 %
Väznosť (%)	57,63 ± 0,06	59,4 ± 0,10	63,83 ± 0,11	65,96 ± 0,06
Stabilita (min)	6,18 ± 1,92	6,83 ± 1,39	8,54 ± 0,45	9,25 ± 0,08
C2 (Nm)	0,49 ± 0,02	0,36 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,30 ± 0,01
C3 (Nm)	1,79 ± 0,01	1,63 ± 0,00	1,55 ± 0,02	1,52 ± 0,02
C4 (Nm)	1,97 ± 0,04	1,58 ± 0,00	1,47 ± 0,03	1,28 ± 0,33
C5 (Nm)	3,30 ± 0,20	3,19 ± 0,15	2,95 ± 0,01	2,67 ± 0,13
C1 - C2 (Nm)	0,63 ± 0,01	0,72 ± 0,01	0,79 ± 0,02	0,82 ± 0,00
C3 - C2 (Nm)	1,30 ± 0,01	1,32 ± 0,01	1,22 ± 0,01	1,19 ± 0,10
C3 – C4 (Nm)	-0,18 ± 0,02	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,00	0,27 ± 0,22
C5 – C4 (Nm)	1,33 ± 0,10	1,67 ± 0,22	1,61 ± 0,11	1,20 ± 0,07

HM- hladká múka; NP- kompozitná múčna zmes s 5, 10 resp. 15 % podielom nopálového prášku

Bolo zistené, že prídavok nopálového prášku mal za následok zvýšenie väznosti kompozitnej múčnej zmesi. Najvyššia hodnota väznosti bola stanovená v kompozitnej múčnej zmesi s 15 % podielom nopálového prášku (65,96 %). Väznosť závisí najmä od kvality a množstva bielkovín, škrobu a vlákniny (El-Shahat et al., 2019). Miller (2011) vo svojej štúdii pozoroval rovnaký trend pri inkorporácii 2,5 % podielu citrónovej vlákniny do pšeničného cesta. Zvýšenie väznosti v kompozitných zmesiach mohlo byť spôsobené prítomnosťou vyššieho počtu hydroxylových skupín v nopálovom prášku a ich početnými interakciami s vodou prostredníctvom vodíkových väzieb (Tuna Ağirbaş et al., 2022).

Stabilita cesta predstavuje odolnosť cesta voči mechanickému namáhaniu a súvisí s množstvom a kvalitou bielkovín (Gedrovica, Karlina, 2011). Z nameraných údajov vyplynulo, že so zvyšujúcim sa prídavkom práškového nopálu sa hodnota stability cesta zvyšovala z 6,18 min (pšeničná múka) na 9,25 min (kompozitná zmes s 15 % podielom nopálového prášku). El-Safy (2013) uvádza podobné zvýšenie stability pšeničného cesta po prídavku 5 % až 20 % nopálového prášku. Tento jav je spôsobený vyšším obsahom vlákniny v nopálovom prášku, kedy dochádza k jej interakcii s bielkovinami a vodou v múčnych zmesiach, a tým k spomaleniu hydratácie a procesu vývinu lepku (El-Shahat et al., 2019).

V druhej fáze mixolabového merania sa zvyšuje teplota z 30 °C na 60 °C, kedy nárastom teploty dochádza k oslabeniu proteínov, a tým k poklesu konzistencie cesta (C2) (Rosell et al., 2010). V bode C2 bola dosiahnutá najvyššia hodnota pri kontrolnej vzorke a to 0,49 Nm. S rastúcim prídavkom nopálového prášku hodnota C2 klesala až na 0,30 Nm pri 15 % substitúcií. Je možné konštatovať, že nopálový prášok znížil konzistenciu cesta v bode C2, čo možno pripísať nižšiemu obsahu lepku v múčnej zmesi, čo malo za následok oslabenie pevnosti proteínovej siete (Tuna Ağirbaş et al., 2022). Rovnaký trend bol pozorovaný aj autormi El-Shahat et al. (2019) v kompozitných zmesiach obsahujúcich 7,5 % sušených šupiek plodu *Opuntia ficus-indica*. Hodnota rozdielu C2 – C1 sa zvyšovala so zvyšujúcim sa obsahom nopálu v kompozitnej múčnej zmesi, čo taktiež naznačuje oslabovanie proteínovej siete cesta.

V priebehu tretej fázy dochádza k ďalšiemu zvýšeniu teploty zo 60 °C na 90 °C. Zrná škrobu napučiavajú v dôsledku absorpcie vody, čím sa zvyšuje viskozita cesta a je potrebná väčšia torzná sila na miešanie cesta. Následne dochádza k mazovateniu škrobu (Gedrovica a Karlina, 2011). Vzorka pšeničnej múky vykazovala vo fáze C3 krútiaci moment 1,79 Nm. So zvyšujúcim sa podielom nopálu v kompozitnej múčnej zmesi dochádzalo k poklesu hodnoty C3 na 1,52 Nm (15 % prídavok nopálového prášku). K rovnakému záveru dospeli aj autori Rosell et al. (2010) pri inkorporácii 3 % až 13 % vlákniny z cukrovej repy do pšeničného cesta.

Zníženie viskozity cesta vo fáze C4 indikuje nižšiu stabilitu škrobového gélu počas zahrievania. Teplota v tejto fáze dosahuje 90 °C (Ekinci a Gökbulut, 2020). V tomto štádiu bola najvyššia hodnota C4 zaznamenaná pri kontrolnej vzorke (1,97 Nm) a so zvyšujúcim sa prídavkom nopálového prášku hodnota C4 klesala. Najnižšia hodnota C4 bola zaznamenaná pri 15 % substitúcií pšeničnej múky nopálovým práškom (1,28 Nm). Zníženie viskozity v tejto fáze je výsledkom fyzikálneho rozpadu škrobových zŕn v dôsledku mechanického poškodenia (El-Shahat et al., 2019). Pokles stability škrobového gélu taktiež naznačuje, že gél je oslabený vyšším obsahom vlákniny prítomnej vo vzorkách (Bressiani et al., 2019). Zníženie hodnoty parametra C4 zaznamenali aj autori Sirbu a Arghire (2017) po prídavku 5% až 20 % vlákniny z čakanky do pšeničného cesta.

Rozdiel C3 – C4 je mierou aktivity amyláz v ceste. Čím vyšší je rozdiel medzi C3 a C4, tým je aktivita amyláz väčšia (El-Shahat et al., 2019). Najväčší rozdiel v hodnotách daného parametra bol zaznamenaný pri 15 % prídavku nopálového prášku v kompozitnej múčnej zmesi, a to 0,27 Nm. Táto skutočnosť môže byť spôsobená vyšším obsahom α-amyláz v nopále, čo taktiež spôsobuje pokles hodnoty C4 (El-Shahat et al., 2019).

S poklesom teploty pri chladení cesta z 90 °C na 50 °C je spojená retrogradácia škrobu. V tejto fáze dochádza k zvýšeniu odolnosti cesta, škrob tuhne, a tým sa zvyšuje jeho konzistencia (hodnota C5) (Collar et al. 2007). Tento parameter sa v dôsledku pridávania nopálu znižoval z 3,30 Nm (pšeničná múka) na 2,67 Nm (15 % podiel nopálového prášku v kompozitnej múčnej zmesi). Rovnaký trend bol pozorovaný aj autormi Olubunmi et al. (2015) pri prídavku 5 % až 15 % kokosovej vlákniny do pšeničného cesta. Capouchová et al. (2012) uvádzajú, že nižšie hodnoty parametra C5 predikujú dlhšiu trvanlivosť výrobkov.

ZÁVER

Nopál získaný z kaktusu *Opuntia ficus-indica* sa v súčasnosti často využíva v oblasti cereálneho priemyslu (Barba et al., 2020). Na základe odbornej literatúry možno konštatovať, že nopál je významným zdrojom celkovej potravinovej vlákniny a môže tak predstavovať vhodnú alternatívnu surovinu na prípravu rôznych pekárskych výrobkov (Liguori et al., 2020; Hussain et al., 2022).

Z výsledkov práce vyplynulo, že inkorporácia nopálového prášku do kompozitných múčnych zmesí významne ovplyvnila reologické charakteristiky pšeničného cesta (zvýšila sa väznosť kompozitnej múčnej zmesi, predĺžila sa stabilita cesta, znížila sa odolnosť štruktúry bielkovín a došlo tak k ich oslabeniu, znížila sa konzistencia cesta vzhľadom na menšiu mieru mazovatenia škrobu, znížila sa retrogradácia škrobu a stabilita horúceho gélu).

LITERATÚRA

Amaya-Cruz, D. M., Pérez-Ramírez, I. F., Delgado-García, J., Mondragón-Jacobo, C., Dector-Espinoza, A., Reynoso-Camacho, R. 2019. An integral profile of bioactive compounds and functional properties of prickly pear (*Opuntia ficus indica* L.) peel with different tonalities. In *Food Chemistry*, vol. 278, pp. 568-578. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodchem.2018.11.031

Banu, I., Stoenescu, G., Ionescu, V., Aprodu, I. 2011. Estimation of the baking quality of wheat flours based on rheological parameters of the Mixolab curve. In *Czech Journal of Food Sciences*, vol. 29, no. 1, pp. 35-44. Dostupné na: doi: 10.17221/40/2009-CJFS

Barba, F. J., Garcia, C., Fessard, A., Munekata, P. E., Lorenzo, J. M., Aboudia, A., Remize, F. 2022. *Opuntia ficus-indica* edible parts: A food and nutritional security perspective. In *Food Reviews International*, vol. 38, no. 5, pp. 930-952. Dostupné na: doi: 10.1080/87559129.2020.1756844

Biljwan, M., Naik, B., Sharma, D., Singh, A., Kumar, V. 2019. Recent Development in Dough Based Bakery Products: a mini review. In *The Pharma Innovation Journal*, [online] vol. 8, no. 5, pp. 654-658. [cit. 2023-01-30] Dostupné na: https://www.thepharmajournal.com/archives/?year=2019&vol=8&issue=5&ArticleId=3488

Bressiani, J., Oro, T., Da Silva, P., Montenegro, F., Bertolin, T., Gutkoski, L., Gularte, M. 2019. Influence of milling whole wheat grains and particle size on thermo-mechanical properties of flour using Mixolab. In *Czech Journal of Food Sciences*, vol. 37, no.4, pp. 276-284. Dostupné na: doi: 10.17221/239/2018-CJFS

Capouchová, I., Papoušková, L., Kostelanská, M., Prokinová, E., Škeříková, A., Hajšlová, J., Faměra, O. 2012. Effect of different intensities of Fusarium infestation on grain yield, deoxynivalenol content and baking quality of winter wheat. In *Romanian Agricultural Research*, vol. 2012, no. 29, pp. 297-306.

Collar, C., Bollain, C., Rosell, C. M. 2007. Rheological behaviour of formulated bread doughs during mixing and heating. In *Food Science and Technology International*, vol. 13, no. 2, pp. 99-107. Dostupné na: doi: 10.1177/1082013207078341

Dick, M., Dal Magro, L., Rodrigues, R. C., de Oliveira Rios, A., Flôres, S. H. 2019. Valorization of *Opuntia monacantha* (Willd.) Haw. cladodes to obtain a mucilage with hydrocolloid features: physicochemical and functional performance. In *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 123, pp. 900-909. Dostupné na: doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.126

Dick, M., Limberger, C., Thys, R. C. S., de Oliveira Rios, A., Flôres, S. H. 2020. Mucilage and cladode flour from cactus (*Opuntia monacantha*) as alternative ingredients in gluten-free crackers. In *Food Chemistry*, vol. 314, pp. 126178. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodchem.2020.126178

Ekinci, D., Gökbult, P. 2020. Determination of the rheological properties of red and white bread wheat flours with different methods. In *Preprints*, vol. 1, no. 1. pp. 1-20. Dostupné na: doi: 10.20944/preprints202001. 0172.v1

El-Safy, F. S. 2013. Evaluation and utilization of cladodes flour in formulating functional sponge cake. In *World Applied Sciences Journal*, vol. 27, no. 4, pp. 512-523. Dostupné na: doi: 10.5829/idosi.wasj.2013.27.04.81117

El-Shahat, M. S., Rabie, M. A., Ragab, M., Siliha, H. 2019. Changes on physicochemical and rheological properties of biscuits substituted with the peel and alcohol-insoluble solids (AIS) from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). In *Journal of Food Science and Technology*, vol. 56, no. 8, pp. 3635-3645. Dostupné na: doi: 10.1007/s13197-019-03805-7

Gedrovica, I., Karklina, D. 2011. Influence of Jerusalem artichoke powder on dough rheological properties. In *Proceedings of the 6th Baltic Conference on Food Science and Technology* , [online] vol. 5, no. 6, pp. 7-12. [cit. 2023-02-01] Dostupné na: https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=LV2011000461

Hrušková, M., Švec, I., Jurinová, I. 2013. Chemometrics of wheat composites with hemp, teff, and chia flour: comparison of rheological features. In *International Journal of Food Science*, vol. 2013, no. 4, pp. 1-6. Dostupné na: doi: doi.org/10.1155/2013/968020

Hussain, S., Alamri, M. S., Mohamed, A. A., Ibraheem, M. A., Qasem, A. A. A., Shamlan, G., Ababtain, I. A. 2022. Dough performance and quality evaluation of cookies prepared from flour blends containing cactus (*Opuntia ficus-indica*) and acacia (*Acacia seyal*) gums. In *Molecules*, vol. 27, no. 21, pp. 7217. Dostupné na: doi: 10.3390/molecules27217217

Lauková M., Kohajdová Z., Karovičová J., Minarovičová L. 2018. Effect of powdered cellulose addition on thermomechanical properties of wheat dough. In *Chemické listy*, vol. 112, no. 1, pp. 34-37. Dostupné na: doi: 10.1177/1082013217704122

Liguori, G., Gentile, C., Gaglio, R., Perrone, A., Guarcello, R., Francesca, N., Settanni, L. 2020. Effect of addition of *Opuntia ficus-indica* mucilage on the biological leavening, physical, nutritional, antioxidant and sensory aspects of bread. In *Journal of Bioscience and Bioengineering*, vol. 129, no. 2, pp. 184-191. Dostupné na: doi: 10.1016/j.jbiosc.2019.08.009

Miller, R. A. 2011. Increased yield of bread containing citrus peel fiber. In *Cereal Chemistry*, vol. 88, no. 2, pp. 174-178. Dostupné na: doi: 10.1094/CCHEM-11-10-0161

Olubunmi, I. P., Akinyele, O. O., Babatunde, K. S., Olusola, O. E., Adetokunbo, O. A., Gloria, E. N. 2015. Influence of coconut fibre inclusion on rheological properties of composite wheat-cassava flour dough using the mixolab. In *Journal of Food and Nutrition Science*, vol. 3, no. 6, pp. 229-235. Dostupné na: doi: 10.11648/j.jfns.20150306.15

Oniszczuk, A., Wójtowicz, A., Oniszczuk, T., Matwijczuk, A., Dib, A., Markut-Miotła, E. 2020. *Opuntia fruits* as food enriching ingredient, the first step towards new functional food products. In *Molecules*, vol. 25, no. 4, pp. 916. Dostupné na: doi: 10.3390/molecules25040916

Pessoa, D. V., de Andrade, A. P., Magalhães, A. L. R., Teodoro, A. L., dos Santos, D. C., de Araújo, G. G. L., Cardoso, D. B. 2020. Forage cactus of the genus *Opuntia* in different with the phenological phase: nutritional value. In *Journal of Arid Environments* vol. 18, pp. 1-8. Dostupné na: doi: 10.1016/j.jaridenv.2020.104243

Rosell, C. M., Santos, E., Collar, C. 2010. Physical characterization of fiber-enriched bread doughs by dual mixing and temperature constraint using the Mixolab®. In *European Food Research and Technology*, vol. 231, no. 4, pp. 535-544. Dostupné na: doi: 10.1007/s00217-010-1310-y

Silva, M. A., Albuquerque, T. G., Pereira, P., Ramalho, R., Vicente, F., Oliveira, M. B. P., Costa, H. S. 2021. *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.: a multi-benefit potential to be exploited. In *Molecules*, vol. 26 no. 4, pp. 951. Dostupné na: doi: 10.3390/molecules26040951

Sirbu, A., Arghire, C. 2017. Functional bread: Effect of inulin-type products addition on dough rheology and bread quality. In *Journal of Cereal Science*, vol. 75, no. 7, pp. 220-227. Dostupné na: doi: 10.1016/j.jcs. 2017.03.029

Stoenescu, G., Ionescu, V., Vasilean, I., Aprodu, I. 2010. Prediction the quality of industrial flour using the Mixolab device. In *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Agriculture*, vol. 67, no. 2, pp. 429 – 434. Dostupné na: doi: 10.15835/buasvmcn-agr:5160

Torbica, A., Blažek, K. M., Belović, M., Hajnal, E. J. 2019. Quality prediction of bread made from composite flours using different parameters of empirical rheology. In *Journal of Cereal Science*, vol. 89, pp. 1-8. Dostupné na: doi: 10.1016/j.jcs.2019.102812

Tuna Ağirbaş, H. E., Yavuz-Düzgün, M., Özçelik, B. 2022. Valorisation of fruit seed flours: rheological characteristics of composite dough and cake quality. In *Journal of Food Measurement and Characterization*, vol. 16, no. 4, pp. 1-13. Dosupné na: doi: 10.1007/s11694-022-01423-0

Xhabiri, G., Idrizi, X., Ferati, I., Hoxha, I., Durmishi, N. 2016. Rheological qualities of dough from mixture of flour and wheat bran and possible correlation between Brabender and Mixolab chopin equipments. In *MOJ Food Process Technology*, vol. 2, no. 4, pp. 1-7. Dostupné na: doi: 10.15406/mojfpt.2016.02.00042

Poďakovanie: Táto práca vznikla s podporou projektov VEGA 1/0583/20 a operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny Drive4SIFood 313011V336 spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.
Autori tiež ďakujú STU za finančnú podporu v rámci Grantovej schémy na podporu mladých výskumníkov č. 1893.

Kontaktná adresa: Ing. Tatiana Holkovičová, Oddelenie potravinárskej technológie, Ústav potravinárstva a výživy, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika, e-mail: tatiana.holkovicova@stuba.sk

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

MOŽNOSTI VYUŽITIA ALTERNATÍVNYCH SUROVÍN NA ZVÝŠENIE NUTRIČNEJ HODNOTY CEREÁLNYCH PRODUKTOV POSSIBILITIES OF USING ALTERNATIVE RAW MATERIALS TO INCREASE THE NUTRITIONAL VALUE OF CEREAL PRODUCTS

Tatiana Holkovičová, Zlatica Kohajdová, Michaela Lauková, Lucia Minarovičová

Abstract: Legumes and pseudocereals have been known for decades for their good nutritional properties. They are important source of protein, dietary fibre and phytochemicals. Due to their composition, they can be used for enrichment of cereal products and are recognized as beneficial components in human diet. The aim of the study was to assess the potential of selected plant materials (quinoa, chickpea, lupin) for bakery applications.
It was concluded that lupine contained the highest amount of proteins (40,18 %) and dietary fibre (32 %) and can be applicated to baked goods to increase amount of these compounds in final products. Moreover, the lack of gluten-forming proteins gives lupin high potential for the nutritional quality improvement of gluten-free cereal products.
Keywords: legumes, pseudocereals, nutritional value, cereal products

ÚVOD

Bielkoviny predstavujú dôležitú zložku potravy vo výžive človeka. Sú považované za významný zdroj esenciálnych aminokyselín, ktoré sú potrebné pre udržanie fyziologických funkcií ľudského tela (Sarmadi a Ismail, 2010). Súčasný trend znižovania konzumácie potravín živočíšneho pôvodu má však za následok nízky príjem bielkovín (Hengeveld et al., 2019). Preto sa mnohé odborné štúdie zaoberajú zlepšením nutričného profilu výrobkov na báze cereálií inkorporáciou rastlinných materiálov so zvýšeným obsahom bielkovín (Hoehnel et al., 2019; Yaver and Bilgiçli, 2021a; Malekipoor et al., 2022).

Pseudocereálie a strukoviny sú vhodným a lacným zdrojom bielkovín v potrave, najmä pri nedostatočnom príjme živočíšnych bielkovín (Tas et al., 2021). Strukoviny sa okrem toho vyznačujú aj vysokým obsahom esenciálnych aminokyselín lyzínu, leucínu, arginínu a kyseliny asparágovej, čím v kombinácií s cereáliami bohatými na tryptofán a sírne aminokyseliny zabezpečujú vyvážený príjem aminokyselín (Nkhata et al., 2018). Bielkoviny strukovín sú dôležité prekurzory bioaktívnych peptidov, ktoré majú antimikrobiálne, protirakovinové a antioxidačné účinky (Stone et al., 2019; Visvanathan et al., 2020; Aslan, 2021; Czubinski et al., 2021).

V poslednom období sa viaceré štúdie zameriavajú na prídavok rôznych strukovín (napr. lupina, cícer) do cereálnych produktov (Atudorei et al., 2021; Cutillo et al., 2021; Kaur a Prasad, 2021; Semba et al., 2021; Lu et al., 2022).

Lupina (vlčí bôb) patrí do čeľade *Leguminoseae*, je z ekonomického aj poľnohospodárskeho hľadiska cenná plodina, ktorá obsahuje 40 - 45 % bielkovín a 25 - 30 % vlákniny (Mazumder et al., 2021; Pleming et al., 2021). Hlavnými pestovanými druhmi sú biela širokolistá lupina (*Lupinus albus*), žltá lupina (*Lupinus luteus*) a modrá úzkolistá lupina (*Lupinus angustifolius*) (Noort et al., 2017).

Cícer (*Cicer arietinum* L.) je po fazuli druhou najviac pestovanou strukovinou na svete (Kaur a Prasad, 2021). Cícer obsahuje 18–25,5 % bielkovín, ktoré sa vyznačujú vyváženým obsahom esenciálnych aminokyselín, vysokou biologickou dostupnosťou a nízkou alergénnosťou v porovnaní so sójovými bôbmi (Boukid, 2021).

Pseudocereália quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*) je rastlina patriaca do čeľade *Chenopodiaceae*, ktorá zahŕňa približne 250 druhov (De Bock et al., 2021). Z hľadiska

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

pestovania sa quinoa vyznačuje odolnosťou voči suchu, škodcom a chorobám, a preto sa ľahko prispôsobuje rôznym podmienkam prostredia. Vo výžive je quinoa jedna z mála rastlín, pri ktorej je možné konzumovať jej listy ako aj zrná. Quinoa sa vyznačuje nielen vyšším obsahom bielkovín (9,1–16,7 %) ale najmä vysokým obsahom celkovej potravinovej vlákniny (7,0 - 26,5 %), minerálnych látok predovšetkým Ca, Mg, Fe a Zn (Martínez-Villaluenga et al., 2020) a fenolových zlúčenín ako napr. deriváty kvercetínu a kempferolu.

Cieľom tejto práce bolo posúdiť potenciál pseudoobilniny quinoi a strukovín (cícer a lupina) ako alternatívnych surovín pri výrobe cereálnych produktov.

MATERIÁL A METODIKA

Použitý materiál

Pšeničná múka, hladká extra špeciál 00, (Mlyn Kolárovo a.s., SR), lupinová múka (krajina pôvodu: Nemecko), cícerová múka (krajina pôvodu: Turecko), biela quinoa (krajina pôvodu: Nemecko). Všetky použité suroviny boli zakúpené v obchodnej sieti. Cícerová múka a quinoa boli v bio kvalite.

Metodika práce

Semená quinoi sa pred analýzou pomleli v mlynčeku na jemnú múku. Následne sa v použitých surovinách stanovili ich základné chemické parametre: vlhkosť (Kohajdová et al., 2013), obsah škrobu polarimetricky (Lukešová, 2010), obsah celkových tukov podľa Soxhleta (Virot et al., 2008), obsah bielkovín podľa Kjeldahla (Jang et al., 2014; Kleckerová, 2014; Licon, 2021), obsah celkovej potravinovej vlákniny enzymaticko-gravimetrickou metódou (Sun-Waterhouse et al., 2010) a obsah saponínov (Koziol, 1991).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V poslednom období rastú požiadavky spotrebiteľov na cereálne výrobky so zvýšeným podielom výživovo dôležitých zložiek ako sú napríklad bielkoviny. Z tohto hľadiska sú za veľmi perspektívne považované predovšetkým strukoviny a pseudocereálie. Okrem vysokého obsahu bielkovín sú aj dôležitým zdrojom vlákniny, minerálnych látok, fytochemikálií a majú nízky glykemický index (Stone et al., 2019).

Chemické zloženie analyzovaných alternatívnych surovín a pšeničnej hladkej múky je uvedené v tab. 1.

Tabuľka 1 Chemické zloženie pšeničnej múky a vybraných alternatívnych surovín

Chemické zloženie (%)	HM[a]	QM	CM	LM
Vlhkosť	13,60 ± 0,02	9,48 ± 0,01	9,15 ± 0,25	6,83 ± 0,15
Tuk	1,51 ± 0,02	5,63 ± 0,04	4,53 ± 0,03	7,40 ± 0,28
Bielkoviny	11,70 ± 0,07	12,5 ± 0,52	21,04 ± 0,25	40,18 ± 0,40
Vláknina	3,80 ± 0,00	15,3 ± 0,09	22,47 ± 0,47	32,0 ± 0,00
Škrob	70,73 ± 0,33	54,10 ± 0,36	47,02 ± 0,92	20,07 ± 0,51
Saponíny	-	0,17 ± 0,00	0,43 ± 0,01	0,66 ±0,03

HM – hladká múka; QM – quinoová múka; CP – cícerová múka; LM – lupinová múka
a- hodnoty prevzaté od Kohajdová et al. (2013)

Škrob je zásobný polysacharid vyskytujúci sa v rôznych rastlinných materiáloch (Raigond et al., 2015). Z nameraných údajov bolo zistené, že strukovinové múky obsahovali 1,5-3,5 krát menej škrobu ako pšeničná múka, pričom z analyzovaných surovín obsahovala najvyšší podiel škrobu quinoová múka (54,10 %). Du, et al. (2014) a Li a Zhu (2018) uvádzajú, že v strukovinách sa obsah škrobu pohybuje od 42 % do 54 % a v pseudoobilnine quinoi sa pohybuje od 30 % do 70 %, pričom škrob je jedna zo zložiek, ktorej vlastnosti môžu výrazne ovplyvniť kvalitu cereálnych výrobkov (Du, et al., 2014).

Ďalej bolo stanovené, že strukoviny obsahovali vyššie množstvo tuku, pričom lupina obsahovala až 5 krát viac tuku ako pšeničná múka (1,51 %). Porovnateľný obsah tuku v lupine (8,9 %) bol opísaný aj v štúdii autorov Alomari, Abdul-Hussain (2013). Z nutričného hľadiska sú dôležité predovšetkým nenasýtené mastné kyseliny, ktoré v lupine predstavujú až 90 % z celkového množstva mastných kyselín. Jedná sa predovšetkým o kyselinu olejovú (32 - 50 %), kyselinu linolovú (17 - 47 %) a kyselinu linolénovú (3 - 11 %) (Uzun et al., 2007; Rybiński et al., 2018).

Heteroglykozidické zlúčeniny saponíny sú neprchavé povrchovo aktívne látky, ktoré sa vyskytujú prevažne v rastlinách ako ich sekundárne metabolity (Liu et al., 2017). Z nameraných údajov je možné konštatovať, že najvyšší obsah saponínov sa nachádzal v lupinovej múke (0,66 %). Saponíny sa vyznačujú horkou chuťou, preto je nutné aby sa tieto zlúčeniny ešte pred konzumáciou odstránili premývaním vo vode (Maldonado-Alvarado et al., 2023).

Zo získaných výsledkov ďalej vyplynulo, že najvyšší obsah bielkovín mala lupinová múka (40,18 %), čo predstavuje v porovnaní s ostatnými strukovinami takmer dvojnásobnú hodnotu. Grela et al. (2017) uvádzajú, že obsah bielkovín v rôznych odrodách lupiny sa pohybuje od 34,59 % do 44,13 %.

Limitujúcim faktorom pre konzumáciu strukovín a výrobkov z nich je prítomnosť antinutričných faktorov. Hlavnými antinutričnými faktormi nachádzajúcimi sa v lupine sú alkaloidy (lupinín, lupanín, sparteín, lupinidín, hydroxylupanín), ktoré sa však dajú odstrániť napr. tepelným ošetrením a namáčaním lupiny vo vode (Musco et al., 2017; Süli et al., 2017; Córdova - Ramos et al., 2020). Okrem toto, niektoré štúdie uvádzajú, že lupina v akejkoľvek forme môže vyvolať rôzne alergické reakcie. Primárnym alergénom sú lupinové bielkoviny, ktoré sú termostabilné, avšak zníženie ich imunoreaktivity bolo pozorované po tepelnej úprave (138 °C/20 min) (Loza a Lampart-Szczapa, 2008; Guillamon et al., 2010; Mennini et al., 2016).

Z literárnych údajov vyplýva, že pseudocereálie ako aj strukoviny sú významným zdrojom potravinovej vlákniny (Singh a Singh, 2016; Kamboj a Nanda, 2018; Martínez-Villaluenga et al., 2020). Uvádza sa, že v rôznych druhoch strukovín sa nachádza 14 % až 32 % vlákniny (Brummer et al., 2015). Bolo preukázané, že skúmané suroviny sa vyznačovali 5-10 krát vyšším obsahom vlákniny ako pšeničná múka, pričom najvyšší podiel vlákniny obsahovala lupina (32 %). Písaříková, Zralý (2010) vo svojej štúdii opísali, že obsah vlákniny v sladkých odrodách lupiny sa pohybuje od 25 % do 40 %. Prevládajúcou zložkou vlákniny v lupine je nerozpustná vláknina (89 %), ktorú tvorí prevažne celulóza, hemicelulóza a lignín (Sharma, Singh, 2017).

Inkorporácia alternatívnych surovín lupiny, cíceru a quinoi do cereálnych výrobkov môže byť okrem zvýšenia nutričného profilu spojená aj s rôznymi zdravotnými benefitmi (Berger et al., 2013; Bastidas et al., 2016; Singh et al., 2021). Tieto suroviny sú charakterizované nízkym glykemickým indexom (lupina GI= 29,03; cícer GI=33; quinoa GI=35), preto môžu mať pozitívne účinky na reguláciu hladiny glukózy v krvi (Mohamed et al., 2021; Yaver a Bilgiçli, 2021; Shobana et al., 2022).

Okrem toho tieto suroviny neobsahujú lepok a lepku podobné bielkoviny, preto môžu byť použité aj pri výrobe bezlepkových produktov (Melini a Melini, 2021; Necheporuk et al., 2021; Maghaydah et al., 2022).

ZÁVER

Strukoviny a pseudocereálie predstavujú nutrične významné suroviny s mnohými zdravotnými benefitmi (Kumari, Sangeetha, 2017). Cieľom práce bolo posúdenie vhodnosti vybraných surovín (quinoa, cícer, lupina) na zvýšenie obsahu výživovo dôležitých zložiek v cereálnych výrobkoch.

Z výsledkov práce vyplynulo, že z nutričného hľadiska môžu byť tieto suroviny aplikované pri produkcii inovatívnych cereálnych produktov. Predovšetkým lupina predstavuje v tomto smere veľký potenciál vzhľadom na to, že obsahuje významný podiel bielkovín a vlákniny. Pre komplexnú implementáciu lupiny do pekárskych produktov budú potrebné ďalšie štúdie a analýzy zamerané jednak na posúdenie jej vplyvu na reologické vlastnosti pšeničného cesta ako aj na kvalitatívne parametre a senzorické atribúty výrobkov.

LITERATÚRA

Alomari, D. Z., Abdul-Hussain, S. S. 2013. Effect of lupin flour supplementation on chemical, physical and sensory properties of Mediterranean flat bread. In *World*, vol. 3, no. 4, pp. 1-6. Dostupné na: doi: 10.5923/j.food.20130304.01

Arnoldi, A., Greco, S. 2011. Nutritional and nutraceutical characteristics of lupin protein. In *Nutrafoods*, vol. 10, no. 4, pp. 23-29. Dostupné na: doi: 10.1007/BF03223356

Atudorei, D., Ropciuc, S., Codină, G. G. 2022. Possibilities to use germinated lupine flour as an ingredient in breadmaking to improve the final product quality. In *Agronomy*, vol. 12, no. 3, pp. 667. Dostupné na: doi: 10.3390/agronomy12030667

Bastidas, E. G., Roura, R., Rizzolo, D. A. D., Massanés, T., Gomis, R. 2016. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), from nutritional value to potential health benefits: an integrative review. In *Journal of Nutrition and Food Sciences*, vol. 6, no 3., pp. 1-10. Dostupné na: doi: 10.4172/2155-9600.1000497

Berger, J. D., Clements, J. C., Nelson, M. N., Kamphuis, L. G., Singh, K. B., Buirchell, B. 2013. The essential role of genetic resources in narrow-leafed lupin improvement. In *Crop and Pasture Science*, vol. 64, no. 4, pp. 361-373. Dostupné na: doi: 10.1071/CP13092

Brummer, Y., Kaviani, M., Tosh, S. M. 2015. Structural and functional characteristics of dietary fibre in beans, lentils, peas and chickpeas. In *Food Research International*, vol. 67, pp. 117-125. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodres.2014.11.009

Córdova‐Ramos, J. S., Glorio‐Paulet, P., Camarena, F., Brandolini, A., Hidalgo, A. 2020. Andean lupin (*Lupinus mutabilis Sweet*): processing effects on chemical composition, heat damage, and in vitro protein digestibility. In *Cereal Chemistry*, vol. 97, no. 4, pp. 827-835. Dostupné na: doi. 10.1002/cche.10303

Cutillo, S., Farahnaky, A., Marcotuli, I., Gadaleta, A., Sissons, M. 2021. *In vitro* starch digestion and technological properties of spaghetti fortified with lupin protein isolate. In *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 56, no. 7, pp. 3567-3577. Dostupné na: doi: 10.1111/ijfs.14984

Du, S. K., Jiang, H., Yu, X., Jane, J. L. 2014. Physicochemical and functional properties of whole legume flour. In *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*, vol. 55, no. 1, pp. 308-313. Dostupné na: doi: 10.1016/j.lwt.2013.06.001

Grela, E. R., Kiczorowska, B., Samolińska, W., Matras, J., Kiczorowski, P., Rybiński, W., Hanczakowska, E. 2017. Chemical composition of leguminous seeds: part I—content of basic nutrients, amino acids, phytochemical compounds, and antioxidant activity. In *European Food Research and Technology*, vol. 243, no. 8, pp. 1385-1395. Dostupné na: doi: 10.1007/s00217-017-2849-7

Guillamon, E., Rodríguez, J., Burbano, C., Muzquiz, M., Pedrosa, M. M., Cabanillas, B., Cuadrado, C. 2010. Characterization of lupin major allergens (*Lupinus albus* L.). In *Molecular nutrition and Food Research*, vol 54, no. 11, pp. 1668-1676. Dostupné na: doi: 10.1002/mnfr.200900452

Hengeveld, L. M., Pelgröm, A. D., Visser, M., Boer, J. M., Haveman-Nies, A., Wijnhoven, H. A. 2019. Comparison of protein intake per eating occasion, food sources of protein and general characteristics between community-dwelling older adults with a low and high protein intake. In *Clinical nutrition ESPEN*, vol. 29, pp. 165-174. Dostupné na: doi: 10.1016/j.clnesp.2018.10.013

Kamboj, R., Nanda, V. 2018. Proximate composition, nutritional profile and health benefits of legumes-a review. In *Legume Research: An International Journal*, vol. 41, no. 3, pp. 325-332. Dostupné na: doi: 10.18805/LR-3748

Koziol, M. 1991. Afrosimetric estimation of threshold saponin concentration for bitterness in quinoa (*Chenopodium Quinoa* Willd). In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 54, no. 2, p. 211-219. Dostupné na: doi: 10.1002/jsfa.2740540206

Kumari, P. V., Sangeetha, N. 2017. Nutritional significance of cereals and legumes based food mix-a review. In *International Journal of Agricultural and Life Sciences*, vol. 3, no. 1, pp. 115-122. Dostupné na: doi: 10.22573/spg.ijals.017.s12200075 Li, G., Zhu, F. 2018. Quinoa starch: structure, properties, and applications. In *Carbohydrate Polymers*, vol. 181, pp. 851-861. Dostupné na: doi: 10.1016/j.carbpol.2017.11.067

Liu, Z., Li, Z., Zhong, H., Zeng, G., Liang, Y., Chen, M., Shao, B. 2017. Recent advances in the environmental applications of biosurfactant saponins: a review. In *Journal of Environmental Chemical Engineering*, vol. 5, no. 6, pp. 6030-6038. Dostupné na: doi: 10.1016/j.jece.2017.11.021

Loza, A., Lampart-Szczapa, E. 2008. Allergenicity of lupine proteins-a review. In *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, [online] vol. 58, no. 3, pp. 283-287. [cit. 2023-01-30] Dostupné na: https://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element.agro-article-63950df3-92e5-478f-9298-90ac24c95a82

Lu, L., He, C., Liu, B., Wen, Q., Xia, S. 2022. Incorporation of chickpea flour into biscuits improves the physicochemical properties and in vitro starch digestibility. In *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*, vol. 159, pp. 1-9. Dostupné na: doi: 10.1016/j.lwt.2022.113222

Maghaydah, S., Al-Othman, H., Abughoush, M., Olaimat, A. N., Al-Holy, M. A., Ajo, R., Angor, M. 2022. Development and characterization of nutritious gluten-free doughnuts with lupin and inulin flours. In *Foods*, vol. 11, no. 20, pp. 1-11. Dostupné na: doi: 10.3390/foods11203237

Maldonado-Alvarado, P., Pavón-Vargas, D. J., Abarca-Robles, J., Valencia-Chamorro, S., Haros, C. M. 2023. Effect of germination on the nutritional properties, phytic acid content, and phytase activity of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). In *Foods*, vol. 12, no. 2, pp. 389. Dostupné na: doi: 10.3390/foods12020389

Melini, V., Melini, F. 2021. Functional components and anti-nutritional factors in gluten-free grains: A focus on quinoa seeds. In *Foods*, vol. 10, no. 2, pp. 351. Dostupné na: doi: 10.3390/foods10020351

Mennini, M., Dahdah, L., Mazzina, O., Fiocchi, A. 2016. Lupin and other potentially cross-reactive allergens in peanut allergy. In *Current Allergy and Asthma Reports*, vol. 16, pp. 1-6. Dostupné na: doi: 10.1007/s11882-016-0668-8

Mohamed Ahmed, I. A., Al Juhaimi, F., Özcan, M. M. 2021. Insights into the nutritional value and bioactive properties of quinoa (*Chenopodium quinoa*): past, present and future prospective. In *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 56, no. 8, pp. 3726-3741. Dostupné na: doi: 10.1111/ijfs.15011

Musco, N., Cutrignelli, M. I., Calabró, S., Tudisco, R., Infascelli, F. 2017. Comparison of nutritional and antinutritional traits among different species (*Lupinus albus* L., *Lupinus luteus* L., *Lupinus angustifolius* L.) and varieties of lupin seeds. In *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, vol. 101, no. 6, pp. 1227 – 1241. Dostupné na: doi: 10.1111/jpn.12643

Necheporuk, A. G., Tretyakova, E. N., Danilin, S. I., Toporkova, K. I., Pershikova, A. G. 2021. Gluten-free products from chickpea flour. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, vol. 845, no. 1, pp. 1-6. Dostupné na: doi: 10.1088/1755-1315/845/1/012077

Pereira, E., Cadavez, V., Barros, L., Encina-Zelada, C., Stojković, D., Sokovic, M., Ferreira, I. C. 2020. *Chenopodium quinoa* Willd. (quinoa) grains: a good source of phenolic compounds. In *Food Research International*, vol. 137, article: 109574 . Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodres.2020.109574

Písaříková, B., Zralý, Z. 2010. Dietary fibre content in lupine (*Lupinus albus* L.) and soya (*Glycine max* L.) seeds. In *Acta Veterinaria Brno*, vol. 79, no. 2, pp. 211-216. Dostupné na: doi: 10.2754/avb201079020211

Raigond, P., Ezekiel, R., Raigond, B. 2015. Resistant starch in food: a review. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 95, no. 10, pp. 1968-1978. Dostupné na: doi: 10.1002/jsfa.6966

Rybiński, W., Święcicki, W., Bocianowski, J., Börner, A., Starzycka-Korbas, E., Starzycki, M. 2018. Variability of fat content and fatty acids profiles in seeds of a Polish white lupin (*Lupinus albus* L.) collection. In *Genetic Resources and Crop Evolution*, vol. 65, no. 2, pp. 417-431. Dostupné na: doi: 10.1007/s10722-017-0542-0

Sarmadi, B. H., Ismail, A. 2010. Antioxidative peptides from food proteins: a review. In *Peptides*, vol. 31, no. 10, pp. 1949-1956. Dostupné na: doi: 10.1016/j.peptides.2010.06.020

Sharma, S., Singh, S. 2017. Comparison of cell wall constituents, nutrients and anti-nutrients of lupin genotypes. In *Legume Research-An International Journal*, vol. 40, no. 3, pp. 478-484. Dostupné na: doi: 10.18805/lr.v0iOF.11048

Shobana, S., Geetha, G., Bai, M. R., Vijayalakshmi, P., Gayathri, R., Lakshmipriya, N., Sudha, V. 2022. Carbohydrate profiling and glycaemic indices of selected traditional Indian foods. In *Indian Journal of Medical Research*, vol. 155, no. 1, pp. 56-65. Dostupné na: doi: 10.4103/ijmr.IJMR_1935_19

Singh, K. V., Singh, R. 2016. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), functional superfood for today's world: a review. In *World Scientific News*, [online] vol. 58, pp. 84-96. [cit. 2023-01-29]. Dostupné na: http://www.worldscientificnews.com/wp-content/uploads/2016/06/WSN-58-2016-84-96.pdf
Singh, M., Manickavasagan, A., Shobana, S., Mohan, V. 2021. Glycemic index of pulses and pulse-based products: a review. In *Food Science and Nutrition*, vol. 61, no. 9, pp. 1567-1588. Dostupné na: doi: 10.1080/10408398.2020.1762162
Srichuwong, S., Curti, D., Austin, S., King, R., Lamothe, L., Gloria-Hernandez, H. 2017. Physicochemical properties and starch digestibility of whole grain sorghums, millet, quinoa and amaranth flours, as affected by starch and non-starch constituents. In *Food Chemistry*, vol. 233, pp. 1–10. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodchem.2017.04.019
Stone, A. K., Nosworthy, M. G., Chiremba, C., House, J. D., Nickerson, M. T. 2019. A comparative study of the functionality and protein quality of a variety of legume and cereal flours. In *Cereal Chemistry*, vol. 96, no. 6, pp. 1159-1169. Dostupné na: doi: 10.1002/cche.10226
Süli, J., Sobeková, A., Bujdošová, Z. 2017. Antinutričné látky v strukovinách. In *Chemické listy*, [online] vol. 111, no. 12, pp. 797-789. [cit. 2023-01-31]. Dostupné na: http://ww-w.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/2822
Sun-Waterhouse, D., Teoh, A., Massarotto, C., Wibisono, R., Wadhwa, S. 2010. Comparative analysis of fruit-based functional snack bars. In *Food Chemistry*, vol. 119, no. 4, pp. 1369-1379. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodchem.2009.09.016
Uzun, B., Arslan, C., Karhan, M., Toker, C. 2007. Fat and fatty acids of white lupin (*Lupinus albus* L.) in comparison to sesame (*Sesamum indicum* L.). In *Food Chemistry*, vol. 102, no. 1, pp. 45-49. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodchem.2006.03.059
Yaver, E., Bilgiçli, N. 2021. Effect of ultrasonicated lupin flour and resistant starch (type 4) on the physical and chemical properties of pasta. In *Food Chemistry*, vol. 357, article: 129758. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodchem.2021.129758

Poďakovanie: Táto práca vznikla s podporou projektov VEGA 1/0583/20 a operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny Drive4SIFood 313011V336 spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.
Autori tiež ďakujú STU za finančnú podporu v rámci Grantovej schémy na podporu mladých výskumníkov č. 1893.

Kontaktná adresa: Ing. Tatiana Holkovičová, Oddelenie potravinárskej technológie, Ústav potravinárstva a výživy, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika, e-mail: tatiana.holkovicova@stuba.sk

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

ŠTÚDIUM OBSAHU ANTIOXIDANTOV V ČUČORIEDKACH
STUDY OF ANTIOXIDANTS IN BLUEBERRIES

Eva Hybenová, Anna Mikulajová

Abstract: The aim of this study was to analyse antioxidants present in wild bilberries *Vaccinium myrtillus* L. and in commercially grown blueberries *Vaccinium corymbosum* L. The content of total phenols, flavonoids and anthocyanins was determined. Significantly higher contents of phenolics, flavonoids and anthocyanins were found in bilberry fruits compared with blueberry fruits. The most significant difference was shown in the total anthocyanin content, when 198,22 mg of cyanidin-3-glucoside equivalent was determined in 100 g fresh fruit in *Vaccinium myrtillus* L., while the equivalent of cyanidin-3-glucoside in 100 g fresh fruit in *Vaccinium corymbosum* L. was only 8,45 mg.
Keywords: bilberry, blueberry, total phenols, anthocyanins, flavonoids

ÚVOD

Brusnica čučoriedková (*Vaccinium myrtillus* L.), nazývaná aj čučoriedka obyčajná, lesná alebo európska, je ker rastúci najmä v horských oblastiach a lesoch Európy, Severnej Ameriky a Ázie (Pamanabhan et al., 2016; Zoratti et al., 2016). Na Slovensku rastie od nížin až po pásmo kosodreviny, na veľmi kyslých pôdach, ale aj na rašelinových a piesočnatých pôdach. Na slovenskom aj európskom trhu sú medzi spotrebiteľmi obľúbené čučoriedky kanadské (*Vaccinium corymbosum* L.), ktoré sú pestované komerčne na upravených pôdach. Spotrebiteľský záujem o čučoriedky neustále rastie, najmä kvôli ich zdraviu prospešným účinkom na ľudský organizmus a ich vyváženej sladko-kyslej chuti. Bobule sa môžu konzumovať čerstvé alebo vo forme kompótov, džemov, džúsov, sirupov, ale aj v koncentrovanej forme ako doplnky stravy. Využívajú sa aj listy a stonky čučoriedok, z ktorých sa pripravujú bylinné čaje alebo extrakty využívané v tradičnej medicíne (Chu et al., 2011; Ancillotti et al., 2016; Bujor et al., 2016).

Plody čučoriedok sú bohatým zdrojom fenolových zlúčenín, ako sú flavonoly (najmä kvercetín a myricetín), taníny, elagitaníny, fenolové kyseliny (napr. kyselina gálová, kávová, p-kumarová, ferulová a chlorogénová) a antokyaníny. V čučoriedkach bol stanovený aj stilbén *trans*-resveratrol, ktorý sa v najväčšom množstve vyskytuje v modrých odrodách viniča a červenom víne. Za najvýznamnejšie obsahové látky čučoriedok sa považujú antokyaníny, ktoré tvoria až 90 % z celkových fenolov nachádzajúcich sa v dužine a šupke. Fenolové zlúčeniny dodávajú plodom typickú farbu aj chuť. Polyfenoly sú predmetom množstva vedeckých štúdií pre svoje biologické účinky, ako je antioxidačná aktivita, protizápalové, antikarcinogénne, neuroprotektívne a antimikrobiálne účinky (Chu et al., 2011; Ancillotti et al., 2016; Zoratti et al., 2016; Mykkänen et al., 2014). Známe sú aj priaznivé účinky čučoriedok v súvislosti s poruchami zraku vrátane retinopatie, katarakty, degenerácie očnej makuly (Chu et al., 2011; De Pascual-Teresa et al., 2013).

Čučoriedky sú dobrým zdrojom vitamínov a minerálnych látok, ktoré taktiež prispievajú k ich zdravotným účinkom. Z vitamínov sú najviac zastúpené vitamín E a vitamín C, ktoré sú známe svojimi antioxidačnými, kancerostatickými a ďalšími zdraviu prospešnými účinkami. Čučoriedky obsahujú aj veľa karotenoidov, najmä luteínu, detegovaný bol aj β- kryptoxantín a β-karotén (Zoratti et al., 2016).

Bobule obsahujú aj cukry a organické kyseliny, ktorých vzájomný pomer výrazne ovplyvňuje ich chuť. Zloženie čučoriedok je vysoko variabilné a závisí od množstva faktorov, v prvom rade od druhu čučoriedky, podstatný vplyv však majú environmentálne faktory ako

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

napr. množstvo solárnej radiácie, teplota, obsah živín v pôde, stupeň zrelosti plodu počas zberu a spôsob zberu (Ayaz et al., 2001; Mikulic-Petkovsek et al., 2015).

MATERIÁL A METODIKA

Na analýzu boli použité 2 druhy čučoriedok:

- Brusnica čučoriedková (*Vaccinium myrtillus* L.), rok zberu: 2021, Vysoké Tatry, SR
- Brusnica chocholíkatá (*Vaccinium corymbosum* L.), pôvod: Slovensko, pestované a zakúpené v roku 2021, producent: Boni Fruti s.r.o., SR

Čučoriedky boli uchovávané v mrazničke pri teplote - 40 °C a pred každou analýzou, resp. prípravou extraktov, bolo odobraté a rozmrazené potrebné množstvo čučoriedok.

Príprava extraktov:

Čučoriedky sa nechali voľne rozmraziť pri teplote miestnosti. Navážilo sa 5 g čučoriedok, ktoré sa zhomogenizovali a zmiešali s 50 ml rozpúšťadla (acetón, metanol, etanol a metanol s vodou v pomere 1:1). Obsah sa pretrepával v tmavých prachovniciach na trepačke pri 180 rpm a teplote miestnosti po dobu 24 hodín. Prefiltrovaný extrakt sa zahustil na rotačnej vákuovej odparke pri 125 rpm a teplote v rozsahu 40-100 °C v závislosti od použitého rozpúšťadla. Odparky sa následne rozpustili v 50 ml 96 % etanolu. Takto pripravené extrakty boli uskladnené v uzatvorených tmavých prachovniciach v chladničke. Extrakty boli použité na stanovenie obsahu celkových fenolov a celkových flavonoidov.

Stanovenie celkových fenolov

Na stanovenie obsahu celkových fenolov bola použitá spektrofotometrická metóda s Folin-Ciocalteu činidlom (Watterhouse, 2003; Khoddami, 2013). Výsledky sú vyjadrené v mg kyseliny galovej (GAE)/100 g čerstvých plodov.

Stanovenie flavonoidov

Celkové množstvo flavonoidov bolo stanovené modifikovanou spektrofotometrickou metódou s chloridom hlinitým (Kumar et al. 2011). Výsledky sú vyjadrené v mg kvercetínu/100 g čerstvých plodov.

Stanovenie antokyanínov

Obsah antokyanínov bol stanovený pomocou pH diferenciálnej metódy (Giusti, Wrolstad, 2001). Výsledky sú vyjadrené v mg prevládajúceho kyanidín-3-glukozidu/100 g čerstvých plodov.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V práci sme sa venovali štúdiu obsahu antioxidačne pôsobiacich zlúčenín v dvoch druhoch čučoriedok. Išlo o divo rastúcu brusnicu čučoriedkovú (*Vaccinium myrtillus* L.), nazbieranú v oblasti Vysokých Tatier v roku 2021 a komerčne pestovanú brusnicu chocholíkatú (*Vaccinium corymbosum* L.), pôvodom zo Slovenska, pestovanú a zakúpenú v maloobchodnej sieti tiež v roku 2021.

Obsah celkových fenolov sme stanovili v extraktoch čučoriedok spektrofotometrickou metódou s využitím Folin-Ciocalteu činidla. Extrakty boli pripravené s použitím acetónu, metanolu, metanolu zriedeného s vodou (1:1) a etanolu. Množstvo celkových polyfenolov v extraktoch je uvedené v mg kyseliny galovej, na 100 g čerstvých plodov (Tab. 1).

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Tabuľka 1 Obsah celkových polyfenolov v čučoriedkových extraktoch v mg kyseliny galovej (GAE) na 100 g čerstvých plodov ± sd

Extrakt	*V. myrtillus* L.	*V. corymbosum* L.
Acetón	622,95 ± 3,83	224,57 ± 3,72
Metanol	563,46 ± 2,16	210,07 ± 5,48
Metanol : voda	528,75 ± 7,46	153,91 ± 1,42
Etanol	506,05 ± 9,29	179,94 ± 5,95

sd = smerodajná odchýlka

Čučoriedky *V. myrtillus* L. mali najvyšší obsah polyfenolov v acetónovom extrakte (622,95 mg GAE.100 g^{-1}), obsah polyfenolov v acetónovom extrakte v komerčne pestovaných čučoriedkach *V. corymbosum* L. bol 224,57 GAE.100 g^{-1}, čo je o 64 % menej ako u divo rastúcich plodov čučoriedok. Najnižší obsah polyfenolov bol nameraný vo vodnom roztoku metanolu u komerčne pestovaných čučoriedok, 153,91 GAE.100 g^{-1} (Tab. 1).

Údaje z viacerých štúdií čučoriedok *V. myrtillus* L. uvádzajú priemerný obsah polyfenolov v rozmedzí 355-1246 GAE.100 g^{-1} FW (fresh weight). Štúdie potvrdili, že obsahové látky čučoriedok aj toho istého druhu môžu byť veľmi premenlivé, najmä v závislosti od environmentálnych podmienok (Zoratti et al., 2016).

Obsah celkových fenolov v komerčne pestovaných čučoriedkach *V. corymbosum* L. bol v rozmedzí 128,7-287,6 GAE.100 g^{-1} čerstvých plodov (Wang et al., 2007). Iná štúdia zameraná na obsah polyfenolov vo viacerých odrodách *V. corymbosum* L. z Kórey uvádza hodnoty v rozmedzí 170,9-523,8 GAE.100 g^{-1} FW (Kim et al., 2013). Aj v tomto prípade je veľká premenlivosť v hodnotách polyfenolových látok jedného druhu čučoriedok, ktorá môže byť vo všeobecnosti pripisovaná rozdielnym environmentálnym podmienkam, rôznorodosti kultivarov daného druhu ako aj použitým analytickým metódam.

Obsah celkových flavonoidov bol stanovovaný v extraktoch čučoriedok modifikovanou spektrofotometrickou metódou. Výsledky sú uvedené ako ekvivalent kvercetínu v GAE.100 g^{-1} čerstvých plodov (Tab. 2).

Tabuľka 2 Obsah flavonoidov v čučoriedkových extraktoch vyjadrený v mg kvercetínu (QE) na 100 g čerstvých plodov ± sd

Extrakt	*V. myrtillus* L.	*V. corymbosum* L.
Acetón	181,22 ± 6,15	89,74 ± 0,50
Metanol	106,64 ± 1,01	83,52 ± 3,08
Metanol : voda	98,34 ± 2,50	58,51 ± 2,22
Etanol	112,54 ± 1,52	63,81 ± 3,04

sd = smerodajná odchýlka

Podobne, ako pri stanovení celkových fenolov, aj pri stanovení celkových flavonoidov bol najvyšší obsah nameraný v acetónových extraktoch divo rastúcich plodov, 181,22 mg QE.100 g^{-1}. Výrazne nižší obsah flavonoidov bol nameraný v plodoch *V. corymbosum* L., v acetónovom extrakte bol v priemere o 50 % nižší v porovnaní s acetónovými extraktmi *V. myrtillus* L.

Podľa štúdií, v ktorých bol analyzovaný obsah jednotlivých flavonoidov metódou HPLC, sú v čučoriedkach *V. corymbosum* L. najviac zastúpené kvercetín a katechín, nasledujú myricetín a kempferol (Sellapan et al., 2002). Korus et al. (2015) stanovili v divo rastúcich čučoriedkach 342 mg flavonoidov na 100 g čerstvých plodov. Marinova et al. (2005) v divo rastúcich čučoriedkach *V. myrtillus* L. namerali 190,3 mg flavonoidov/100 g^{-1} čerstvých plodov.

Za najvýznamnejšie obsahové látky čučoriedok sa považujú antokyaníny, ktoré tvoria až 90 % z celkových fenolov nachádzajúcich sa v šupke a aj dužine. Tieto fenolové zlúčeniny dodávajú plodom typickú farbu aj chuť. Čučoriedky patria medzi ovocie s najvyšším obsahom antokyanínov. Obsah antokyanínov sme stanovovali vo vodných extraktoch čučoriedok s využitím spektrofotometrickej pH diferenciálnej metódy. Namerané výsledky sú uvedené v tab. 3.

Tabuľka 3 Obsah antokyanínov v čučoriedkach vyjadrený v mg kyanidín-3-glukozidu (C3G) na 100 g čerstvých plodov ± sd

Vzorka	Obsah antokyanínov (mg.100 g^{-1} ± sd)
V. myrtillus L.	198,22 ± 2,41
V. corymbosum L.	8,45 ± 0,10

sd = smerodajná odchýlka

Obsah antokyanínov v lesných plodoch čučoriedok *V. myrtillus* L. bol výrazne vyšší v porovnaní s komerčne pestovanými čučoriedkami *V. corymbosum* L., v ktorých sme namerali v priemere o 96 % menej antokyanínov. Príčinou tak veľkého rozdielu je to, že antokyaníny v plodoch *V. corymbosum* L. sa nachádzajú dominantne v šupke, dužina týchto plodov je svetložtlá až zelenkastá, kým v plodoch *V. myrtillus* L. sa antokyaníny vyskytujú v šupke aj dužine; šupka aj dužina týchto plodov je tmavo fialová (Celik et al., 2018; Riihinen et al., 2008).

Obsah antokyanínov v čučoriedkach je predmetom mnohých výskumov. Celik et al. (2018) porovnávali obsah antokyanínov v acetónových extraktoch *V. myrtillus* L. a *V. corymbosum* L. V 100 g čerstvých plodov *V. myrtillus* L. sa obsah antokyanínov pohyboval v rozmedzí 307-342 mg, komerčné čučoriedky *V. corymbosum* L. obsahovali 142 mg na 100 g plodov. Mikulic-Petkovsek et al. (2015) analyzovali čučoriedky *V. myrtillus* L. z rôznych lokalít Slovinska. Obsah antokyanínov stanovovali v metanolových extraktoch, pričom ich hodnoty sa pohybovali v rozmedzí 90-325 mg na 100 g čerstvých plodov v závislosti od lokality. Čučoriedky nazbierané v oblasti s lepšími svetelnými podmienkami obsahovali podstatne viac antokyanínov, nakoľko syntéza antokyanínov je výrazne ovplyvnená dostupnosťou svetla.

Mikulic-Petkovsek et al. (2015) vo svojej štúdii identifikovali aj jednotlivé antokyanidínové glykozidy. Najväčší podiel z celkových antokyanínov predstavoval kyanidínový glykozid (52 %), nasledoval glykozid delfinínu (27 %), glykozid malvidínu (8%), glykozid petunidínu (7 %) a peonidínu (6 %).

Porovnaním výsledkov z viacerých štúdií môžeme pozorovať pomerne veľké rozdiely v obsahu antokyanínov v čučoriedkach. Koncentrácia jednotlivých antokyanínov je veľmi variabilná, nakoľko závisí od množstva faktorov. V prvom rade sa mení v závislosti od druhu čučoriedky, podstatný vplyv majú aj environmentálne faktory, ako napríklad množstvo solárnej radiácie, teplota a obsah dusíka a fosforu v pôde, ale aj geografické podmienky. Veľký význam má aj použité rozpúšťadlo.

Viaceré štúdie zaoberajúce sa hodnotením kvantitatívneho a kvalitatívneho obsahu antokyanínov v čučoriedkach v závislosti od geografických podmienok, v ktorých čučoriedky rástli, zistili, že bobule zo severnejších lokalít obsahovali vyšší obsah celkových antokyanínov. Podiel hydroxylovaných antokyanínov a delfinidínových glykozidov bol vyšší tiež v plodoch zo severnejších oblastí, naopak v plodoch z južnejších oblastí dominovali kyanidínové glykozidy (Chu et al., 2011; Rohloff et al., 2015; Zoratti et al., 2016).

ZÁVER

Čučoriedky sú medzi spotrebiteľmi populárnym a vyhľadávaným bobuľovým ovocím nielen pre ich vyváženú sladko-kyslú chuť a široké využitie pri príprave pokrmov, ale aj ako zdroja biologicky aktívnych látok, ktorým sa pripisujú zdraviu prospešné účinky na ľudský organizmus. Čučoriedky sa konzumovali a využívali ako medicína už od predhistorických čias, napr. v Európe sa v stredoveku používali na liečbu hnačky, hemoroidov, zápalov tráviaceho traktu a močových ťažkostí. Ich zdravotné účinky sú široko akceptované na základe výskumov, ktoré potvrdili ich vysokú antioxidačnú aktivitu spojenú s vysokým obsahom polyfenolových zlúčenín. Viaceré štúdie preukázali pozitívny účinok konzumácie čučoriedok v prevencii chronických chorôb, ako sú kardiovaskulárne choroby, Alzheimerova choroba, rakovina, či metabolický syndróm súvisiaci s cukrovkou 2. typu a ďalšie.

Na základe našich výsledkov možno konštatovať, že divo rastúce čučoriedky *V. myrtillus* L. sú významným zdrojom biologicky aktívnych zlúčenín. Tieto čučoriedky obsahujú podstatne vyššie hodnoty polyfenolových látok v porovnaní s komerčne pestovanými kanadskými čučoriedkami *V. corymbosum* L.

Viaceré štúdie zaoberajúce sa analýzou týchto druhov čučoriedok prišli k obdobnému záveru, avšak namerané hodnoty bývajú veľmi variabilné, aj čo sa týka jednotlivých druhov čučoriedok. Pozorované rozdiely sú pripisované najmä rozdielnym druhom a kultivarom, rozdielnym geografickým a environmentálnym podmienkam počas rastu, stupňu dozretia počas zberu ako aj spôsobu zberu plodov a v neposlednom rade aj použitým analytickým metódam.

LITERATÚRA

Ancillotti, C., Ciofi, L., Pucci, D., Sagona, E., Giordani, E., Biricolti S., Gori M., Petrucci W. A., Giardi F., Bartoletti R., Chiuminatto U., Orlandini S., Mosti, S., Bubba, M. 2016. Polyphenolic profiles and antioxidant and antiradical activity of Italian berries from *Vaccinium myrtillus* L. and *Vaccinium uliginosum* L. subsp. *gaultherioides* (Bigelow) S.B. Young. In *Food Chemistry*, vol. 204, pp. 176-174. ISSN 0308-8146. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodchem.2016.02.106

Ayaz, F. A., Kadioglu, A., Bertoft, E., Acar, C., Turna, I. 2001. Effect of fruit maturation on sugar and organic acid composition in two blueberries (*Vaccinium arctostaphylos* and *V. myrtillus*) native to Turkey. In *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, vol. 29, no. 2, pp. 137-141. ISSN 1175-8783. Dostupné na: doi: 10.1080/01140671.2001.9514171

Bujor, O.-C., Bourvellec, C., Volf, I., Popa, V. I., Dufour, C. 2016. Seasonal variations of the phenolic constituents in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves, stems and fruits, and their antioxidant activity. In *Food Chemistry*, vol. 213, pp. 58-68. ISSN 0308-8146. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodchem.2016.06.042

Celik, F., Bozhuyuk, M. R., Ercisli, S., Gundogdu, M. 2018. Physicochemical and Bioactive Characteristics of Wild Grown Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) Genotypes from Northeastern Turkey. In *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, vol. 6, no. 1, pp. 128-133. ISSN 1842-4309. Dostupné na: doi: 10.15835/nbha46110842

Giusty, M. M., Wrolstad, R. E. 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, vol. 00, no. 1, pp. F1.2.1-F1.2.13. ISBN: 9780471142911. Dostupné na: doi: 10.1002/0471142913.faf0102s00

Chu, W.-k., Cheung, S. C. M., Lau, R. A. W., Benzie I. F. F. 2011. Bilberry (*Vaccinuim myrtillus* L.). In *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*. Boca Raton: CRC Press, 2011, pp. 55-71. ISBN 978-1-4398-0819.

Khoddami, A., Wilkes, M. A., Roberts, T. H. 2013. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. In *Molecules*. vol. 18, no. 2, pp. 2328-2375. ISSN 1420-3049. Dostupné na: doi: 10.3390/molecules18022328

Kim, J. G., Kim, H. L., Kim, S. J., Park, K.-S. 2013. Fruit quality, anthocyanin and total phenolic contents, and antioxidant activities of 45 blueberry cultivars grown in Suwon, Korea. In *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, vol. 14, no.9, pp. 793-799. ISSN 1862-1783. Dostupné na: doi: 10.1631/jzus.B1300012

Korus, A., Jaworska, G., Bernaś, E., Juszczak, L. 2015. Characteristics of physic-chemical properties of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) jams with added herbs. In *Journal of Food Science and Technology*, vol. 52, no. 5, pp. 2815-2823. ISSN 0975-8402. Dostupné na: doi: 10.1007/s13197-014-1315-9

Kumar, Y. M. S., Dutta, R., Prasad, D., Misra, K. 2011. Subcritical water extraction of antioxidant compounds from Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) leaves for the comparative evaluation of antioxidant activity. In *Food Chemistry*. vol. 127, no. 3, pp. 1309-1316. ISSN 0308-8146. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodchem.2011.01.088

Marinova, D., Ribarova, F., Atanassova, M. 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. In *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*. vol. 40, no. 3, pp. 255 - 260. ISSN 1314-3859. Dostupné na: https://journal.uctm.edu/node/j2005-3/Marinova.pdf

Mikulic-Petkovsek, M., Schmitzer, V., Sltnar, A., Stampar, F., Veberic, R. 2015. A comparison of fruit quality parameters of wild bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) growing at different locations. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 95, no. 4, pp. 776-785. ISSN: 1097-0010. Dostupné na: doi: 10.1002/jsfa.6897

Mykkänen, O. T., Huotari, A., Herzig, K.-H., Dunlop, T. W., Mykkänen, H., Kirjavainen, P. V. 2014. Wild Blueberries (*Vaccinium myrtillus*) Alleviate Inflammation and Hypertension Associated with Developing Obesity in Mice Fed with a High-Fat Diet. In *Plos One.* 21 pp. Dostupné na: doi: 10.1371/journal.pone.0114790

Pamanabhan, P., Correa-Betanzo, J., Paliyath, G. 2016. Berries and Related Fruits. In *Encyclopedia of Food and Health*. Oxford: Elsevier, vol. 1, pp. 364-371. ISBN 978-0-12-384947-2.

De Pascual-Teresa, S., Sánchez-Ballesta, M. T., Garcia-Viguera, C. 2013. Anthocyanins. In *Natural Products: Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes*. Berlin: Springer, pp. 1804-1816. ISBN 978-3-642-22143-9.

Riihinen, K., Jaakola, L., Kärenlampi, S., Hohtola, A. 2008. Organ-specific distribution of phenolic compounds in bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and 'northblue' blueberry (*Vaccinium corymbosum x V. angustifolium*). In *Food chemistry*, vol. 110, no. 1, pp. 156-160. ISSN 0308-8146. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodchem.2008.01.057

Rohloff, J., Uleberg, E., Nes, A., Krogstad, T., Nestby, R., Martinussen, I. 2015. Nutritional composition of bilberries *(Vaccinium myrtillus* L.) from forest fields in Norway – Effects of geographic origin, climate, fertilization and soil properties. In *Journal of Applied Botany and Food Quality*, vol. 88, pp. 274-287. ISSN 1439-040. Dostupné na: doi: 10.5073/JABFQ.2015.088.040

Sellapan, S., Akoh, C. C., Krewer, G. 2002. Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Georgia-Grown Blueberries and Blackberries. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 50, no. 8, pp. 2432-2438. Dostupné na: doi: 10.1021/jf011097r

Wang, S. Y., Chen, CH.-T., Sciarappa, W., Wang, CH. Y., Camp, M. J. 2008. Fruit Quality, Antioxidant Capacity, and Flavonoid Content of Organically and Conventionally Grown Blueberries. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 56, no.14, pp. 5788–5794. ISSN 0021-8561. Dostupné na: doi: 10.1021/jf703775r

Watterhouse, A. L. 2003. Determination of Total Phenolics. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, vol. 6, no. 1, pp. I1.1.1.-I1.1.8. ISBN: 9780471142911. Dostupné na: doi: 10.1002/0471142913.fai0101s06

Zoratti. L., Klemettilä, H., Jaakola. L. 2016. Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) Ecotypes. In *Nutritional Composition od Fruit Cultivars*. London: Elsevier, pp. 83-99. ISBN 978-0-12-408117-8.

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

Kontaktná adresa: Eva Hybenová, Ing., PhD., Ústav potravinárstva a výživy, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava G3

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

POLYFENOLY V BRUSNICIACH
POLYPHENOLS IN CRANBERRIES

Eva Hybenová, Anna Mikulajová

Abstract: Consumption of cranberries is known for its positive effects on the human organism. For this reason cranberries are widely used in folk medicine, food industry, cosmetics and in nutritional supplements. Cranberries are a rich source of bioactive compounds, such as organic acids and polyphenol compounds. Individual components are extensively studied. Their amount in cranberries varies according to environmental conditions. The aim of this study was to analyse polyphenols of wild cranberries from the Slovak Republic from years 2018 and 2019. Total polyphenols were determined within the range of 268,00 to 360,19 mg GAE.100 g^{-1} of fresh weight. They also contain significant amounts of flavonoids and anthocyanins. The content of polyphenols in cranberries was higher in the year 2019 compared to 2018. The observed differences may be related to different environmental conditions during growth and degree of ripening of cranberries.
Keywords: cranberries, total phenols, anthocyanins, flavonoids

ÚVOD

Brusnica pravá (*Vaccinium vitis-idaea* L.*)*, nazývaná aj obyčajná a lesná, patrí na Slovensku medzi menej používané bobuľové ovocie, ale v posledných rokoch jej popularita medzi spotrebiteľmi narastá. Rubínovo červené bobule s charakteristickou kyslou a trpkou chuťou sa len zriedka konzumujú v surovom stave, ale sú obľúbenou surovinou konzervárenského priemyslu a najčastejšie sa z nich vyrábajú šťavy, džemy, omáčky či sladené a sušené ovocie. Brusnice sa delia na tri základné druhy, ktoré sa od seba odlišujú v jednotlivých znakoch, obsahu bioaktívnych zlúčenín a v spôsobe pestovania. Medzi najrozšírenejší druh patrí Brusnica veľkoplodá/americká *(Vaccinium macrocarpon* L.*)*, ktorá pochádza zo Severnej Ameriky a Kanady. Príbuzným druhom brusnice americkej je Brusnica/kľukva močiarna (*Vaccinium oxycoccus* L.). Vyskytuje sa vo východnej a severnej Európe, Rusku a severnej Ázii. Najznámejšou v našich zemepisných šírkach je brusnica pravá (*Vaccinium vitis-idaea* L.). Pochádza z Ázie a Európy a na Slovensku rastie prevažne vo Vysokých a Nízkych Tatrách, vo Veľkej a Malej Fatre a v Slovenskom krase (Kresánek, Krejča, 1988).

Brusnice sú bohatým zdrojom bioaktívnych zložiek, ktoré majú pozoruhodnú biologickú aktivitu. Dodnes bolo v brusniciach identifikovaných viac ako 150 fytochemikálií. Sú v nich zastúpené vitamíny (provitamín vitamínu A, vitamín C), sacharidy, vláknina, minerálne látky (draslík, horčík, vápnik, železo), karotenoidy, flavonoidy, triesloviny, antokyaníny, proantokyaníny, organické kyseliny, triterpénové kyseliny, akou je kyselina ursolová a aj fytoalexín *trans*-resveratrol (Puupponen-Pimiä et al., 2005; Riihinen et al., 2008).

Kyslú chuť týchto bobúľ spôsobujú predovšetkým organické kyseliny, najvýznamnejšie sú kyselina citrónová a jablčná. V menšom množstve sú zastúpené aj kyselina šťavelová, chinová a vínna. Brusnice sú bohaté na kyselinu benzoovú, známu konzervačnú látku široko používanú v potravinárskom priemysle (Timoracká, Vargová, 2011; Khoo, Falk, 2014).

Mnohé štúdie preukázali, že brusnice sú bohatým zdrojom **flavonolov**, s obsahom 20 až 40 mg,100 g^{-1} čerstvej váhy. V brusniciach bolo identifikovaných okolo 40 flavonolov, pričom dominuje kvercetín, myricetín, v menšom množstve kempferol (Blumberg et al., 2013; Khoo, Falk, 2014). Ďalšími polyfenolmi z triedy flavonoidov, ktoré sa v brusniciach vyskytujú

v relatívne vysokých množstvách, sú **flavanoly** (flavan-3-oly). Flavanoly sú monoméry proantokyanidínových polymérov. Spomedzi flavanolov je v brusniciach najviac zastúpený epikatechín. Celkový obsah flavanolov je priemerne 7 mg,100 g^{-1} plodov (Pappas, Schaich, 2009). Brusnice sú unikátne v tom, že obsahujú veľké množstvo polymérov flavanolov - **proantokyanidínov typu A** (známe sú ako kondenzované taníny alebo triesloviny), ktoré sa nenachádzajú v iných druhoch ovocia (Khoo, Falk, 2014). Tieto zlúčeniny sú zodpovedné za typický trpký a zvieravý charakter ovocia a nápojov. Štúdie preukázali, že táto zriedkavo sa vyskytujúca štruktúra proantokyanidínov typu A izolovaná z brusníc má antioxidačné a antiadhézne účinky (Foo et al., 2000).

Obsah a zastúpenie **antokyanínov** v brusniciach je výnimočné, čo potvrdili aj mnohé výskumy. Obsahujú všetkých šesť najznámejších antokyanidínov, a to kyanidín, peonidín, pelagornidín, petunidín, delfinidín a malvidín (Khoo, Falk, 2014). Ich celkové množstvo sa pohybuje v rozmedzí od 19,8 po 65,6 mg,100 g^{-1} (Szajdek, Borowska, 2008).

Polyfenoly sú predmetom množstva vedeckých štúdií pre svoje biologické účinky, ako je antioxidačná aktivita, protizápalové, antimutagénne, antikarcinogénne, neuroprotektívne a antimikrobiálne účinky (Khoo, Falk, 2014). Ďalej pôsobia proti neurodegeneratívnym a kardiovaskulárnym chorobám. Celkovo majú ochranný účinok na výstelku ciev a kapilár, zabezpečujú ich elasticitu a prispievajú tak aj k regulácii krvného tlaku (Süli et al., 2014).

Brusnice sa cenia aj vďaka ich účinkom v prevencii a liečbe infekcií močových ciest. Štúdie naznačujú, že môžu napomáhať zdraviu tráviaceho traktu a ústnej dutiny. Pomáhajú pri zotavovaní z mŕtvice, znižujú LDL a zvyšujú HDL cholesterol, ďalej zlepšujú citlivosť pankreatických β-buniek na glukózu, endotelové funkcie a znižujú biologické markery metabolického syndrómu (Blumberg et al., 2013).

Na obsah polyfenolov v potravinových matriciach vplývajú rôzne faktory ako odroda, stupeň zrelosti v čase zberu (značne ovplyvňuje koncentráciu a pomer jednotlivých polyfenolov), zemepisný pôvod, lokalita pestovania, skladovanie a environmentálne faktory. Environmentálne faktory majú zásadný vplyv na obsah polyfenolov a môžu byť buď pedoklimatické (slnečné žiarenie, zrážky, typ pôdy), alebo agronomické (biologická kultúra, kultúra v skleníkoch, na poliach, atď.) (Süli et al., 2014).

MATERIÁL A METODIKA

Na analýzu boli použité 2 vzorky brusníc: brusnice pravé (*Vaccinium vitis-idaea* L.), rok zberu 2018 a 2019 v lokalite Vysoké Tatry, SR. Vzorky brusníc boli zamrazené a uchovávané v mrazničke pri teplote -40 °C. Pred každou analýzou sa rozmrazilo primerané množstvo brusníc, z ktorého sa pripravili extrakty.

Príprava extraktov

Brusnice sa nechali voľne rozmraziť pri teplote miestnosti. Navážilo sa 5 g brusníc, ktoré sa zhomogenizovali a zmiešali s 50 ml rozpúšťadla (acetón, metanol, etanol a metanol s vodou v pomere 1:1). Obsah sa pretrepával v tmavých prachovniciach na trepačke pri 180 rpm a teplote miestnosti po dobu 24 hodín. Prefiltrovaný extrakt sa zahustil na rotačnej vákuovej odparke pri 125 rpm a teplote v rozsahu 40 až 100 °C v závislosti od použitého rozpúšťadla. Odparky sa následne rozpustili v 50 ml 96 % etanolu. Takto pripravené extrakty boli uskladnené v uzatvorených tmavých prachovniciach v chladničke. Extrakty boli použité na stanovenie obsahu celkových fenolov a celkových flavonoidov.

Stanovenie celkových fenolov

Na stanovenie obsahu celkových fenolov bola použitá spektrofotometrická metóda s Folin-Ciocalteu činidlom (Watterhouse, 2003). Výsledky sú vyjadrené v mg kyseliny galovej (GAE).100 g^{-1} čerstvých plodov.

Stanovenie flavonoidov

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Celkové množstvo flavonoidov bolo stanovené modifikovanou spektrofotometrickou metódou s chloridom hlinitým (Kumar et al. 2011). Výsledky sú vyjadrené v mg (QE).100 g^{-1} čerstvých plodov.

Stanovenie antokyanínov

Obsah antokyanínov bol stanovený pomocou pH diferenciálnej metódy (Giusti, Wrolstad, 2001). Výsledky sú vyjadrené v mg prevládajúceho kyanidín-3-glukozidu(C3G).100 g^{-1} čerstvých plodov.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V práci sme sa venovali štúdiu obsahu antioxidačne pôsobiacich zlúčenín v plodoch brusnice pravej zbieranej v dvoch rôznych rokoch 2018 a 2019. Obidva ročníky boli zbierané v rovnakej lokalite v oblasti Vysokých Tatier na Slovensku.

Obsah celkových fenolov sme stanovili v extraktoch brusníc spektrofotometrickou metódou s využitím Folin-Ciocalteu činidla. Extrakty boli pripravené s použitím acetónu, metanolu, metanolu zriedeného s vodou (1:1) a etanolu. Množstvo celkových polyfenolov v extraktoch je uvedené v mg kyseliny galovej na 100 g čerstvých plodov (Tab. 1).

Tabuľka 1 Obsah celkových polyfenolov v brusnicových extraktoch

Extrakty	Obsah celkových fenolov (mg GAE.100 g^{-1} ± sd*)	
	Brusnice 2018	**Brusnice 2019**
Acetón	334,25 ± 1,56	360,19 ± 1,25
Metanol	323,31 ± 3,12	354,25 ± 2,81
Metanol: Voda	302,06 ± 1,88	325,19 ± 0,63
Etanol	268,00 ± 1,56	284,56 ± 2,50

sd = smerodajná odchýlka

Brusnice z obidvoch ročníkov mali najvyšší obsah polyfenolov v acetónovom extrakte (334,25 mg GAE.100 g^{-1}, resp. 360,19 mg GAE.100 g^{-1}). Najnižší obsah polyfenolov bol nameraný v etanole - 268,0 mg GAE.100 g^{-1}, resp. 284,56 mg GAE.100 g^{-1} čerstvých bobúľ (Tab. 1).

Mnohé vedecké štúdie preukázali veľké rozdiely v obsahu celkových fenolov v bobuliach rodu *Vaccinium*. Ich množstvo sa pohybuje v rozmedzí 228 až 875 mg.100 g^{-1} čerstvého ovocia (Colak et al., 2016). Je známe, že celkové množstvo polyfenolov v brusniciach pravých je vyššie ako v brusniciach amerických. V štúdii z roku 2012 sa zistilo, že priemerný obsah celkových fenolov v acetónových extraktoch v rôznych odrodách brusníc pravých sa pohybuje v rozmedzí od 431 mg po 660 mg GAE na 100 g čerstvej váhy (Lee, Finn, 2012). V brusniciach amerických je toto množstvo v intervale od 192,3 - 676,4 mg GAE. 100 g^{-1} (Česoniené et al., 2015).

Koncentrácia fytochemických látok je značne ovplyvnená environmentálnymi faktormi, stupňom zrelosti aj podmienkami skladovania a spracovania. Analyzované brusnice môžu byť zmesou bobúľ v rôznom štádiu zrelosti. Viskelis et al. (2009) skúmali obsah celkových fenolov v brusnicových plodoch rôznych stupňov zrelosti. Zistili, že v zrelých bobuliach sa nachádzalo menšie množstvo fenolov (192,30 mg GAE.100 g^{-1}) oproti prezretým (237,90 mg GAE. 100 g^{-1}), mierne zrelým (398,52 mg GAE.100 g^{-1}), či nezrelým (392,37 mg GAE.100 g^{-1}) plodom.

Obsah celkových flavonoidov bol stanovovaný v extraktoch brusníc modifikovanou spektrofotometrickou metódou. Výsledky sú uvedené ako ekvivalent kvercetínu v mg.100 g^{-1}

čerstvých plodov (Tab. 2). Kvercetín je dominantným flavonoidom v brusniciach, preto ich množstvo je prepočítané na obsah práve tohto flavonoidu. Flavonoidy sú bioaktívne zlúčeniny, na ich extrakciu sa používajú rôzne rozpúšťadlá, najmä metanol, etanol, acetón, voda alebo zmes týchto rozpúšťadiel (Khoddami et al., 2013).

Tabuľka 2 Obsah celkových flavonoidov v brusnicových extraktoch

Extrakty	Obsah flavonoidov (mg QE.100 g^{-1} ± sd*)	
	Brusnice 2018	Brusnice 2019
Acetón	198,30 ± 2,0	200,80 ± 2,5
Metanol	168,80 ± 1,5	197,80 ± 1,5
Metanol: voda	156,80 ± 1,5	158,80 ± 2,5
Etanol	138,80 ± 0,5	155,80 ± 2,5

sd = smerodajná odchýlka

Podobne, ako pri stanovení celkových fenolov, aj pri stanovení celkových flavonoidov sme najvyššiu koncentráciu namerali v acetónových extraktoch brusníc u obidvoch ročníkov. Najnižší obsah celkových flavonoidov bol stanovený v etanolových extraktoch.

Flavonoidy, medzi ktoré patria napríklad antokyaníny, flavonolové glykozidy, či proantokyanidíny sa považujú za cenné zložky bobuľového ovocia (Riihinen et al., 2014). Colak et al. (2016) uvádzajú celkové množstvo flavonoidov v bobuľovom ovocí v rozmedzí od 2 mg (vodné frakcie) cez 231 mg (polyfenolové frakcie) po 257 mg (antokyanínové frakcie) kvercetínu v 100 g čerstvého ovocia. Spomedzi flavonoidov je v brusniciach najviac zastúpený kvercetín a jeho obsah sa pohybuje od 17,7 do 25,0 mg.100 g^{-1} g v závislosti od odrody (Khoo, Falk, 2014). Hodnoty v tab. 2 sú porovnateľné s výsledkami so štúdiou Colak et al. (2016) pre polyfenolové frakcie, kde ako rozpúšťadlo použili etylacetát.

Obsah antokyanínov v brusnicových extraktoch sme stanovili spektrofotometricky - pH diferenciálnou metódou. Táto metóda je založená na farebných zmenách v dôsledku porušenia štruktúry pigmentov, ku ktorým dochádza pri zmene pH prostredia. Výsledky uvedené v tab. 3 sú vyjadrené ako koncentrácia v brusniciach dominantného monomérneho kyanidín-3-glukozidu.

Tabuľka 3 Obsah celkových antokyanínov v brusniciach

Vzorka	Obsah antokyanínov (mg.100 g^{-1} ± sd)
Brusnice 2018	28,65 ± 3,48
Brusnice 2019	29,75 ± 2,10

sd = smerodajná odchýlka

Neto (2007) uvádza, že plody rodu *Vaccinium* patria medzi najbohatšie zdroje antokyanínov a medzi hlavné antokyaníny v brusniciach patria najmä galaktozidy a arabinozidy kyanidínu a peonidínu. Obsah antokyanínov sa líši medzi jednotlivými kultivarmi, pričom ich hodnota varíruje v priemere od 25 do 65 mg.100 g^{-1} zrelých plodov. Viskelis et al. (2009) sledovali zmenu množstva antokyanínov v brusniciach rôzneho stupňa zrelosti. Zistili, že so zvyšujúcim sa stupňom zrelosti sa zvyšuje aj množstvo týchto látok. Nezrelé brusnice mali v priemere 3,60 mg.100 g^{-1}, mierne zrelé 17,82 mg.100 g^{-1}, zrelé 83,30 mg.100 g^{-1} a prezreté až 152,20 mg.100 g^{-1}. Výsledky sú porovnateľné s hodnotami z literatúry Lee, Finn (2012). V tejto štúdii stanovovali obsah antokyanínov vo viacerých odrodách pravých brusníc dvoma

metódami. Priemerný obsah antokyanínov analyzovaný pH diferenciálnou metódou bol 24,00 ±2,00 mg na 100 g jedlého podielu a použitím HPLC chromatografie bola táto hodnota trochu vyššia, a to 38,20 ±3,10 mg na 100 g jedlého podielu.

ZÁVER

Brusnicové produkty a doplnky sa používajú ako alternatívna medicína najmä v prevencii infekcií močových ciest, no v súčasnosti sa dostáva do popredia aj ich využitie v kozmetike. Bobuľové ovocie si svoj status funkčných potravín a schopnosť predchádzať chronickým chorobám získalo vďaka množstvu bioaktívnych zlúčenín, najmä polyfenolov. Narastajúci počet štúdií naznačuje, že príjem bobuľového ovocia má potenciál znížiť riziko rôznych chronických chorôb, ako sú kardiovaskulárne choroby, rakovina, artritída, pľúcne choroby, mŕtvica, cukrovka, šedý zákal, a majú aj tzv. anti-aging účinok, spomaľujú starnutie organizmu. Tieto zdraviu prospešné vlastnosti bobúľ súvisia s antioxidačnou a protizápalovou aktivitou jednotlivých bioaktívnych látok (Padmanabhan et al., 2016). Fytochemikálie v brusniciach zahŕňajú fenolové zlúčeniny, najmä flavonoidy (proantokyanidíny, antokyaníny) a taníny. Sú bohatým zdrojom vitamínov minerálnych látok (najmä draslíka a mangánu) organických a fenolových kyselín (Wojnicz, et al., 2012).

Nami namerané výsledky preukázali, že brusnice pravé sú významným zdrojom biologicky aktívnych zlúčenín. Obsah polyfenolov bol vyšší v brusniciach z roku 2019 oproti roku 2018. Množstvo celkových fenolov v brusniciach nazbieraných v roku 2019 bol v rozmedzí od 284,56 mg GAE.100 g^{-1} do 360,19 mg GAE.100 g^{-1}, množstvo celkových flavonoidov od 155,80 mg.100 g^{-1} do 200,80 mg.100 g^{-1} a antokyanínov 29,75 mg.100 g^{-1}. Brusnice pravé zbierané v roku 2018 mali tieto množstvá nižšie: od 268,00 mg GAE.100 g^{-1} do 334,25 mg GAE.100 g^{-1} celkových fenolov, od 138,80 mg.100 g^{-1} do 198,30 mg.100 g^{-1} celkových flavonoidov a 28,65 mg.100 g^{-1} antokyanínov. Uvedené rozdiely súvisia s rozdielnymi environmentálnymi podmienkam počas rastu a stupňom dozretia brusníc.

LITERATÚRA

Blumberg, J. B., Camesano, T. A., Cassidy, A., Kris-Etherton, P., Howell, A., Manach, C., Ostertag, L. M., Sies, H., Skulas-Ray, A., Vita, J. A. 2013. Cranberries and their bioactive constituents in human health. In *Advances in Nutrition*, vol. 4, no. 6, pp. 618-632. Dostupné na: doi: 10.3945/an.113.004473

Colak, N., Torun, H., Gruz, J., Strnad, M., Hermosín-Gutiérrez, I., Hayirlioglu-Ayaz, S., Ayaz, F. A. 2016. Bog bilberry phenolics, antioxidant capacity and nutrient profile. In *Food Chemistry*, vol. 201, pp. 339-349. ISSN 0308-8146. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodchem.2016.01.062

Foo, L.Y., Lu, Y., Howell, A.B., Vorsa, N. 2000. The structure of cranberry proanthocyanidins which inhibit adherence of uropathogenic P–fimbriated Escherichia coli in vitro. In *Phytochemistry*, vol. 54, no. 2, pp. 173-181. Dostupné na: doi: 10.1016/s0031-9422(99)00573-7

Giusty, M. M., Wrolstad, R. E. 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, vol. 00, no. 1, pp. F1.2.1-F1.2.13. ISBN: 9780471142911. Dostupné na: doi: 10.1002/0471142913.faf0102s00

Khoddami, A., Wilkes, M. A., Roberts, T. H. 2013. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. In *Molecules*. vol. 18, no. 2, pp. 2328-2375. ISSN 1420-3049. Dostupné na: doi: 10.3390/molecules18022328

Khoo, CH., Falk, M. 2014. Cranberry Polyphenols: Effect on Cardiovascular Risk Factors. In Polyphenols in the Prevention and Treatment of Vascular and Cardiac Disease, and Cancer. In *Polyphenols in Human Health and Disease*, vol. 2, pp. 1049-1065.

Kresánek, J., Krejča, J. 1988. *Atlas liečivývh rastlín a lesných plodov*. Vydavateľsto Osveta, n.p., Martin, 301-08/31, 3. vyd., 400 s, 70-056-88 ALR.

Kumar, Y. M. S., Dutta, R., Prasad, D., Misra, K. 2011. Subcritical water extraction of antioxidant compounds from Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) leaves for the comparative evaluation of antioxidant activity. In *Food Chemistry*. vol. 127, no. 3, pp. 1309-1316. ISSN 0308-8146. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodchem.2011.01.088

Lee, J., Finn, CH.E. 2012. Lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) grown in the Pacific Northwest of North America: Anthocyanin and free amino acid composition. In *Journal of Functional Foods*, vol. 4, no. 1, pp. 213-218. Dostupné na: doi: 10.1016/j.jff.2011.10.007

Neto, C. C. 2007. Cranberry and its phytochemicals: a review of in vitro anticancer studies. In *The Journal of Nutrition*, vol. 137, no. 1Suppl., pp. 186S-193S. Dostupné na: doi: 10.1093/jn/137.1.186s
Padmanabhan, P., Correa-Betanzo, J., Paliyath, G. 2016. Berries and Related Fruits. In *Encyclopedia of Food and Health*. Oxford: Elsevier, vol. 1, pp. 364-371. ISBN 978-0-12-384947-2.
Pappas, E., Schaich, K. M. 2009. Phytochemicals of cranberries and cranberry products: characterization, potential health effects, and processing stability. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 49, no. 9, pp. 741-781. Dostupné na: doi: 10.1080/10408390802145377
Česonienė, L., Daubaras, R., Jasutienė, I., Miliauskienė, I., Zych, M. 2015. Investigation of anthocyanins, organic acids, and sugar show great variability in nutritional and medicinal value of European cranberry (*Vaccinium oxycoccus*) fruit. In *Journal of Applied Botany and Food Quality*, vol. 88, pp.295-299. Dostupné na: doi: 10.5073/JABFQ.2015.088.042
Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Alakomi, H. L., Oksman-Caldentey, K.-M. 2005. Bioactive berry compounds-novel tools against human pathogens. In *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 67, no. 1, pp. 8-18. Dostupné na: doi: 10.1007/s00253-004-1817-x
Riihinen, K., Jaakola, L., Kärenlampi, S., Hohtola, A. 2008. Organ-specific distribution of phenolic compounds in bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and 'northblue' blueberry (*Vaccinium corymbosum x V. angustifolium*). In *Food chemistry*, vol. 110, no. 1, pp. 156-160. ISSN 0308-8146. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodchem.2008.01.057
Riihinen, K. R., Ou, Z. M., Gödecke, T., Lankin, D. C., Pauli, G. F., Wu, CH. D. 2014. The antibiofilm activity of lingonberry flavonoids against oral pathogens is a case connected to residual complexity. In *Fitoterapia*, vol. 97, pp. 78-86. Dostupné na: doi: 10.1016/j.fitote.2014.05.012
Süli, J., Homzová, K., Sobeková, A., Bujdošová, Z., Hrušková, T. 2014. Polyphenolic compounds in foods. In *Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa*, vol. 17, no. 3, pp. 162-170.
Szajdek, A., Borowska, E. J. 2008. Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits: a review. In *Plant foods for human nutrition*, vol. 63, no. 4, pp. 147-156. Dostupné na: doi: 10.1007/s11130-008-0097-5
Timoracká, M., Vargová, A. 2011. Biologicky významné zložky drobného a kôstkového ovocia. In *Biológia, ekológia, chémia*, vol. 15, no. 2, pp. 16-24. ISSN 1338-1024.
Viskelis, P., Rubinskiene, M., Jasutiene, I., Sarkinas, A., Daubaras, R., Cesoniene, L. 2009. Anthocyanins, antioxidative, and antimicrobial properties of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) and their press cakes. *In Journal of food science*, vol. 74, no. 2, pp. 157-161.Dostupné na: doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01066.x
Watterhouse, A. L. 2003. Determination of Total Phenolics. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, vol. 6, no. 1, pp. I1.1.1.-I1.1.8. ISBN: 9780471142911. Dostupné na: doi: 10.1002/0471142913.fai0101s06
Wojnicz, D., Sycz, Z., Walkowski, S., Gabrielska, J., Włoch, A., Kucharska, A., Sokół-Łętowska, A., Hendrich, B. A. 2012. Study on the influence of cranberry extract Zuravit S.O.S(®) on the properties of uropathogenic *Escherichia coli* strans, their ability to form biofilm and its antioxidant properties. In *Phytomedicine*, vol. 19, no. 6, pp. 506-514. Dostupné na: doi: 10.1016/j.phymed.2011.12.013

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

Kontaktná adresa: Eva Hybenová, Ing., PhD., Ústav potravinárstva a výživy, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava G

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Study of physical properties of commercial cocoa powders by acoustic and mechanical evaluation

Lubomír Lapčík, Barbora Lapčíková, Shweta Gautam

Abstract: Cocoa powder is one of the most essential ingredients in the bakery and chocolate industry. The complexity of cocoa powder lies in its cocoa fat content. The main aim of this paper was to understand the flowability of cocoa powder with respect to its fat content and the structure of the particles. Three commercial cocoa powders were analysed for their structure (SEM), particle size (sieve analysis), porosity (sound absorption performance), and cocoa fat crystal behaviour (modulated differential scanning calorimetry (MDSC)). The results obtained showed that the highly cohesive cocoa powder samples exhibited low flowability compared to the sample with more cohesivity. This was supported by the results of acoustic measurements, SEM, and particle size analysis simultaneously. MDSC results revealed a transition of metastable β' cocoa butter crystalline modification around the melting point of 28°C whereas the melting of stable β polymorph was in the range 29° to 34° C.
Keywords: cocoa powder; cocoa fat; acoustic measurement; thermal analysis; flowability

INTRODUCTION

The composition of powders highly influences their physical properties, viz., flowability, cohesion, adhesion, compression, etcetera. Measurement of the physical properties allows the understanding of powder behaviour under the processing, packaging, and storage conditions. The powder behaviour is sensitive to environmental change or surface morphology. The powder behaviour, as measured by acoustical performance testing and particle size distribution, provides an insight into particles' surface behaviour and size (Figura and Teixeira, 2007). Stickiness in powders is a surface property occurring via five main mechanisms: intermolecular and electrostatic forces, mobile liquid bridges, solid bridges, and mechanical interlocking (Boonyai et al., 2004; Jacquot et al., 2016). The interparticle interactions are also characteristic of the particle's shape. Food powders are particularly interesting due to their varied composition and utility in various food industries (Lapčík et al., 2016). Most food powders have fat particles incorporated in the bulk's microstructures, giving them their characteristic flow property. However, like any other powders, the flowability of powders is essential in the industry to carry out many technological operations such as dosing, mixing, transport, packaging, and hopper storage. Therefore, the study of the mechanical properties of powders becomes essential.

Cocoa (*Theobroma cocoa*) is originally a native of dense tropical forests in the Amazon. The Maya established the first known cocoa plantations in the lowlands of south Yucatan about 600 A.D (Lapčík et al., 2017). The genus Theobroma comprises more than 20 species, but only T. cocoa is of commercial importance. The seeds are fermented and processed to make cocoa butter (CB) and cocoa powder (Minifie, 2012). Further CB and cocoa powder processing is carried out to produce chocolates, confectioneries, and beverages. The essential constituent of cocoa powder is cocoa fat which determines the mechanical behaviour of the product. Cocoa butter consists of triglycerols (95%), namely oleic acid (37%), stearic acid (32%), palmitic acid (27%), and linoleic acid (2–5) % (Palmieri and Hartel, 2019). Cocoa fat exhibits intriguing crystallization behaviour that affects cocoa products' sensory and rheological properties, especially chocolate. It exists in six different polymorphic crystalline states (I–VI) with distinguished melting temperatures. The polymorphic states transition from one state to another depending on the processing temperature. The rheological properties of cocoa rely primarily on its composition and the presence of additives such as anticaking agents and emulsifiers (Lapčíková et al., 2022). Cocoa fat, particularly surface fat, plays a vital role in providing structure to cocoa powder, influencing its utility. Commercial cocoa powders have fat content

ranging from 10 to 22 wt.%. Highly defatted cocoa powders contain less than 1 wt.% of cocoa fat (Do et al., 2011). The presented study investigated commercial cocoa powders with different cocoa fat contents. It is well-known that cocoa powder is a versatile product, and its composition defines its functionality. However, its composition depends on its biological origin, pedological and agronomical conditions and raw material processing conditions (Foubert et al., 2004). Therefore, relatively high compositional variability among the studied samples was found in the literature (Adeyeye, 2016; Ilori et al., 2021). However, in this study, the composition information declared by the respective companies complies with European Union Regulation (EU) No. 1169/2011 (EFSA) (European Parliament).

MATERIAL AND METHODOLOGY

Material

Three different commercial cocoa powders (Table 1) were tested in this study. The cocoa powders were kept in cool dry place at a constant laboratory temperature of 22 °C and relative humidity of 35 %.

Sample labelling	Energy (per 100 g) (kJ)	Composition (per 100 g)						
		Fat (g)		Carbohydrates (g)		Proteins (g)	Salt (g)	Fibres (g)
		Total	Saturated	Total	Sugars			
1 (10 % fat)	1194	11	6.4	10	0.7	23	0.08	-
2 (20-22 % fat)	1460	13.7	7.5	17.1	0.6	24.6	1.98	24.6
3 (10-12 % fat)	1302	11	6.8	12.5	1	22	0.75	-

Table 1. Composition of the studied coca powders

Methodology

Particle size analysis

A vibratory sieve shaker Fritsch Analysette 3 (FRITSCH GmbH – Milling and Sizing, Idar-Oberstein, Germany), was used for the particle size analysis. The analysis was carried out three times using 150 g sample for each batch. The mass average particle diameter (d_w) was calculated from the particle size distribution by the following formula (Svensson et al., 2022):

$$d_w = \frac{\sum(d_i \cdot w_i)}{\sum w_i} \quad (1)$$

where d_i is the average particle diameter of the individual fraction, and w_i is the weight fraction retained on the sieve. Samples were stored in the original package in dry form at ambient laboratory temperature of (25 ± 1) °C and relative humidity of 30 %.

Temperature Modulated Differential Scanning Calorimetry

Temperature modulated differential scanning calorimetry (MDSC) was performed on a DSC 250 Discovery instrument (TA Instruments, New Castle, DE, USA) for resolution of polymorph type of cocoa butter in the samples. The instrument was calibrated for indium standard (T_m = 156.6 °C; ΔH = 28.45 J/g). Cocoa powder samples were weighed (5 ± 0.1) mg into non-hermetic aluminium pans and sealed with an aluminium lid. An empty aluminium pan was used as a reference. The measurement was realized in an atmosphere of nitrogen (50 ml/min flow rate). The following temperature program was used: sample equilibration to 0 °C by modulated temperature 1 °C/120 s, isothermal crystallization at 0 °C for 10 min, and subsequent heating to 50 °C at a heating rate of 2 °C/min. The temperature peaks related to cocoa butter melting were expressed as onset temperature $T_{o\ (melt)}$ and peak melting temperature $T_{p(melt)}$. Heat of fusion was calculated by integrating the area under the thermogram and expressed as melting

enthalpy ΔH_{melt}. Reversing and non-reversing heat flows were used to split the endothermic melting peaks, representing heat capacity component (reversing curve) and kinetic component (non-reversing curve) (Leyva-Porras et al., 2019; Tolstorebrov et al., 2014).

Acoustical performance measurements

The ability of granular powder materials to absorb sound is quantified by the sound absorption coefficient α, which is given by the ratio (Sgard et al., 2011):

$$\boldsymbol{\alpha} = \frac{\boldsymbol{P_d}}{\boldsymbol{P_i}} \quad (2)$$

where P_d is the dissipated acoustic power in the tested material, and P_i is the incident acoustic power. The acoustic measurements were performed according to the ISO 10534-2 (Han et al., 2003; ISO, 2001). The normal incidence sound absorption coefficient α is defined:

$$\alpha = 1 - |r|^2 = 1 - r_r^2 - r_i^2 \quad (3)$$

where r is the normal incidence reflection factor, r_r and r_i are the real and imaginary parts of the normal incidence reflection factor.

Statistical data analysis

Data were analyzed using a one-way analysis of variance (ANOVA method). Differences in the mean values among statistical groups were tested at a 0.05 significance level. Sigma Stat version 2.03 statistical software (Systat Software, Inc., San Jose, CA, USA) was used for data analysis. All experiments were performed on cocoa samples prepared in at least three replicates.

RESULTS AND DISCUSSION

Particle size analysis

Mass average particle diameter (*dw*) of (303 ± 10) µm was found for the sample 3, the lowest one of (125.1 ± 5) µm was found for the sample 2, and sample 1 had *dw* of (238 ± 10).

Temperature Modulated Differential Scanning Calorimetry

MDSC technique allows to separate total heat flow into two components (reversing and non-reversing). The reversing heat flow curve represents the process of molecular rearrangement (melting of fat crystals), whereas the non-reversing flow defines the kinetic events during the melting process. The sum of the reversing and non-reversing flows provides the total heat flow (Leyva-Porras et al., 2019). Using MDSC, complex thermal behaviour of cocoa powder was observed, resulting from various crystal configurations of cocoa butter present in the samples. In the measured non-reversing curves, there was observed a small peak in the temperature range of 22 to 23°C which was ascribed to the melting of unstable α modification of cocoa butter for all samples (Deora et al., 2013; Pore et al., 2009; Smith, 2001). The observed melting peaks were associated with the transition of unstable form III to metastable form IV (β' modification). Based on the available literature, it is worth mentioning that form III does not exist itself but it is a polymorph mixture of forms II (unstable α-modification) and form IV (Afoakwa et al., 2007; Deora et al., 2013; Ribeiro et al., 2015). Observed peaks at the temperature of 28°C were attributed to the β' transition to (form IV) the stable β modification (form V) (Joshi et al., 2020; Talhat et al., 2015). Melting of β polymorph was observed in the temperature range of 29 to 34°C indicating a higher thermodynamic stability.

Acoustical performance measurements

Material´s sound absorption is governed by several factors such as excitation frequency, material thickness, porosity, and density (Lapčíková et al., 2019). The lowest sound absorption was found for sample 2 indicating its higher compact structure compared to samples 1 and 3. Interestingly, both lower fats containing cocoa samples 1 and 3 exhibited occurrence of the sound absorption peak maximum at the primary absorption peak frequency *fp*1 of 440 Hz. The decreasing cocoa powders' particle size led to the increasing contact area available, thus increasing adhesive forces. This might have resulted in higher structural compactness.

CONCLUSION

There was clearly demonstrated, that the cocoa powders of higher crystalline structure (samples 1 and 3) were less flowable compared to the ones with the more amorphous character. The studied cocoa powders of higher cocoa fat and dietary fibre contents were more amorphous in nature. It was proposed that the dietary fibres hindered the creation of the well-developed crystals. Observed low sound absorption patterns indicated relatively dense packing of the high cocoa fat powder sample 2 typical for non-porous materials. These observations were supported by the observed increase of the structural mechanical stiffness. MDSC demonstrated cocoa butter polymorphs transition, detected by reversing and non-reversing heat flow curves. Cocoa powder samples adequately followed the applied temperature modulation resulting in minor values of total melting enthalpy (on non-reversing heat flow curves) typical for unstable polymorphs. Transition of metastable β' cocoa butter crystalline modification was detected around the melting point of 28 °C; melting of stable β polymorph was found in temperature range of 29 to 34 °C.

REFERENCES

Adeyeye E. I. 2016. Proximate, mineral and antinutrient compositions of natural cocoa cake, cocoa liquor and alkalized cocoa powders sourced in Nigeria. *Journal of Advanced Pharmaceutical Science and Technology*, 1(3), 12-28.

Afoakwa E. O., Paterson A., Fowler M. 2007. Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate–a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18(6), 290-298.

Boonyai P., Bhandari B., Howes T. 2004. Stickiness measurement techniques for food powders: a review. *Powder Technology*, 145(1), 34-46.

Deora N. S., Misra N. N., Deswal A., Mishra H. N., Cullen P. J., Tiwari B.K. 2013. Ultrasound for improved crystallisation in food processing. *Food Engineering Reviews*, 5(1), 36-44.

Do T., Vieira J., Hargreaves J. M., Mitchell J. R., Wolf B. 2011. Structural characteristics of cocoa particles and their effect on the viscosity of reduced fat chocolate. *LWT-FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY*, 44(4), 1207-1211.

European Parliament. Mandatory Food Information. , 2022 (Aug 18,).

Figura L., Teixeira A. A. 2007. *Food physics: physical properties-measurement and applications.* (pp. 73-115). Springer Science Business Media, Berlin.

Foubert I., Vanrolleghem P. A., Thas O., Dewettinck K. 2004. Influence of chemical composition on the isothermal cocoa butter crystallization. *Journal of Food Science*, 69(9), E478-E487.

Han F., Seiffert G., Zhao Y., Gibbs B. 2003. Acoustic absorption behaviour of an open-celled aluminium foam. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 36(3), 294.

Ilori O.A., Olorode O. O., Albert O. M. 2021. Physical characteristic, proximate composition, polyphenol and antinutritional factors of chocolate produced from new Nigerian cocoa variety. *International Journal of Novel Research in Interdisciplinary Studies*, 8(4).

ISO I. 2001. 10534-2: Acoustics-Determination of sound absorption coefficient and impedance in impedance tubes-Part 2: Transfer-function method. *BS EN ISO*, 10534-10532.

Jacquot C., Petit J., Michaux F., Montes E. C., Dupas J., Girard V., Gianfrancesco A., Scher J., Gaiani C. 2016. Cocoa powder surface composition during aging: A focus on fat. *Powder Technology*, 292, 195-202.

Joshi B. L., Zielbauer B. I., Vilgis T. A. 2020. Comparative study on mixing behavior of binary mixtures of cocoa butter/tristearin (CB/TS) and cocoa butter/coconut oil (CB/CO). *Foods*, 9(3), 327.

Lapčík L., Lapčíková B., Žižková H., Li P., Vojteková V. 2017. Effect of cocoa fat content on wetting and surface energy of chocolate. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*.

Lapčík L., Otyepka M., Otyepková E., Lapčíková B., Gabriel R., Gavenda A., Prudilová B. 2016. Surface heterogeneity: Information from inverse gas chromatography and application to model pharmaceutical substances. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 24, 64-71.
Lapčíková B., Burešová I., Lapčík L., Dabash V., Valenta T. 2019. Impact of particle size on wheat dough and bread characteristics. *Food Chemistry*, 297, 124938.
Lapčíková B., Lapčík L., Salek R., Valenta T., Lorencová E., Vašina M. 2022. Physical characterization of the milk chocolate using whey powder. *LWT*, 154, 112669.
Leyva-Porras C., Cruz-Alcantar P., Espinosa-Solís V., Martínez-Guerra E., Piñón-Balderrama C. I., Compean Martínez I., Saavedra-Leos M. Z. 2019. Application of differential scanning calorimetry (DSC) and modulated differential scanning calorimetry (MDSC) in food and drug industries. *Polymers*, 12(1), 5.
Minifie B. 2012. *Chocolate, cocoa and confectionery: science and technology.* (pp. 3-10). Springer Science & Business Media.
Palmieri P. A., Hartel R. W. 2019. Crystallization of Cocoa Butter in Cocoa Powder. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 96(8), 911-926.
Pore M., Seah H. H., Glover J., Holmes D. J., Johns M. L., Wilson D. I., Moggridge G. D. 2009. In-situ X-ray studies of cocoa butter droplets undergoing simulated spray freezing. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86 (3), 215-225.
Ribeiro A. P. B., Masuchi M. H., Miyasaki E. K., Domingues M. A. F., Stroppa V. L. Z., de Oliveira G. M., Kieckbusch T. G. 2015. Crystallization modifiers in lipid systems. *Journal of food science and technology*, 52(7), 3925-3946.
Sgard F., Castel F., Atalla N. 2011. Use of a hybrid adaptive finite element/modal approach to assess the sound absorption of porous materials with meso-heterogeneities. *Applied Acoustics*, 72(4), 157-168.
Smith K. W. 2001. Cocoa butter and cocoa butter equivalents. *Structured and modified lipids*, 401-422.
Svensson D. N., Messing I., Barron J. 2022. An investigation in laser diffraction soil particle size distribution analysis to obtain compatible results with sieve and pipette method. *Soil and Tillage Research*, 223, 105450.
Talhat A. M., Lister V. Y., Moggridge G. D., Rasburn J. R., Wilson D. I. 2015. Development of a single droplet freezing apparatus for studying crystallisation in cocoa butter droplets. *Journal of Food Engineering*, 156, 67-83.
Tolstorebrov I., Eikevik T. M., Bantle M. 2014. A DSC determination of phase transitions and liquid fraction in fish oils and mixtures of triacylglycerides. *Food Research International*, 58, 132-140.

Acknowledgements: This research was financed by Tomas Bata University in Zlin internal grant agency project no. IGA/FT/2023/007

Contact address: Lubomír Lapčík, Department of Food Technology, Faculty of Technology, Tomas Bata University in Zlín, Vavrečkova 275, 762 72 Zlín, Czech Republic, E-mail: lapcik@ft.utb.cz, ORCID: 0000-0002-9917-7310
Barbora Lapčíková, Department of Food Technology, Faculty of Technology, Tomas Bata University in Zlín, Vavrečkova 275, 762 72 Zlín, Czech Republic, E-mail: lapcikova@ft.utb.cz, ORCID: 0000-0002-4713-0502
Shweta Gautam, Department of Food Technology, Faculty of Technology, Tomas Bata University in Zlin, Vavrečkova 275, 762 72 Zlín, Czech Republic, E-mail: gautam@utb.cz, ORCID: 0000-0003-1545-2205

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

VPLYV FERMENTÁCIE PŠENIČNÝCH OTRÚB NA KVALITATÍVNE VLASTNOSTI MUFFINOV
THE EFFECT OF WHEAT BRAN FERMENTATION ON THE QUALITATIVE CHARACTERISTICS OF MUFFINS

Michaela Lauková, Lucia Minarovičová, Zlatica Kohajdová

Abstract: Wheat bran is a valuable by-product of wheat milling. It is a rich source of dietary fiber. Application of wheat bran has a negative effect on gluten structure which can lead to lower quality of baked products. This negative impact can be reduced by using various methods such as fermentation. The aim of this work was to evaluate the effect of wheat bran fermentation on qualitative properties of muffins. Wheat bran (raw and fermented) was used at addition level 5, 10 and 15 %. In general, volume of enriched muffin decreased with increasing addition level of wheat bran. Result showed that fermentation of wheat bran caused higher volume values compared to volume of muffins enriched with untreated bran. Cambering of muffins was also altered by incorporation of wheat bran. The lowest value (0,68) was noticed when 15 % wheat bran was used. The most acceptable muffins for accessors were after 10 % fermented bran incorporation.
Keywords: wheat bran, fermentation, qualitative parameters, muffin

ÚVOD

Pšeničné otruby sú hlavným vedľajším produktom spracovania pšenice a obsahujú celý rad účinných látok (Liu *et al*., 2019). Predstavujú najčastejšie používaný zdroj vlákniny v pekárskom priemysle, pretože sú lacné a ľahko dostupné (Nandeesh *et al*., 2009). Kvalita pekárskych výrobkov obohatených o pšeničné otruby závisí od typu daného pekárskeho výrobku, do ktorého sa dané otruby pridajú, od veľkosti častíc pridaných otrúb a taktiež od spôsobu ich spracovania, ale aj od spôsobu prípravy výrobku (Onipe *et al*., 2015). Cereálne výrobky sa pšeničnými otrubami obohacujú dvoma spôsobmi: buď sa do múky pridávajú v určitom množstve, alebo sa otruby zmiešajú s klíčkami a ostatnými zložkami múky v takom pomere ako sa prirodzene nachádzajú v zrne (Hemdane *et al*., 2016). Prídavok otrúb vo vyšších množstvách má negatívny vplyv na technologické vlastnosti cesta a kvalitu konečného produktu. Hlavný problém vyplývajúci z prídavku vlákniny vo forme otrúb je zníženie objemu výrobku a zmena v štruktúre výrobku, ktorá je sprevádzaná aj zmenou organoleptických vlastností (Albers *et al*., 2009).

Vlastnosti pšeničných otrúb možno upraviť rôznymi metódami. Významným spôsobom úpravy vlastností otrúb pred ich prídavkom do múky je fermentácia (Hemdane *et al*., 2016). Mikroorganizmy, ktoré sa používajú na fermentáciu pšeničných otrúb sú kvasinky (*Saccharomyces cerevisiae*, *Kazachstania exigua*) a baktérie (*Lactobacillus rhamnosus* L. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, L. *brevis*) (Zhao *et al*., 2017).

Cieľom tejto práce bolo pripraviť cereálne výrobky – muffiny s obsahom pšeničných otrúb pred a po úprave fermentáciou. V pripravených muffinoch sa sledoval vplyv fermentácie na kvalitatívne parametre výrobkov.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

MATERIÁL A METODIKA

Pšeničné otruby, droždie, hladká múka a ostatné suroviny (vajcia, kryštálový cukor, mlieko, olej, soľ, sóda bikarbóna a kyselina citrónová) boli zakúpené v lokálnej maloobchodnej sieti.

Pšeničné otruby boli fermentované podľa upraveného postupu autorov Hamad *et al.* (2015). Otruby (500 g) sa zmiešali v destilovanej vode (1 800 cm^3) zohriatej na 30 °C a zmes sa mixovala 5 min. Fermentácia prebiehala počas 8 h pri teplote 35 °C. Následne sa otruby vysušili v tenkej vrstve pri 80 °C.

Muffiny boli pripravené podľa receptúry od Martínez-Cervera *et al.* (2015) kde boli pšeničné otruby (PO) a fermentované pšeničné otruby (FO) použité ako náhrada múky vo výške 5, 10 a 15 %. V pripravených muffinoch sa sledovali kvalitatívne parametre: klenutosť, straty pečením (Minarovičová *et al.*, 2019) a objem (AACCI, 2009). Tvrdosť muffinov sa vykonala pomocou analyzátora textúry TA.XT plus. Pri senzorickom hodnotení sa použila hedonická stupnica od 1 do 5 bodov, v rozsahu od najviac neprijateľných (1) po najviac prijateľné (5). Celková prijateľnosť sa hodnotila pomocou neštruktúrovanej úsečky s popisom krajných bodov (0 % - najviac prijateľná, 100 % - najmenej prijateľná) (Minarovičová *et al.*, 2019).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V pripravených mufinoch sa pšeničné otruby použili ako náhrada múky vo výške 5, 10 a 15 %. Kvalitatívne parametre pripravených muffinov sú uvedené v Tabuľke 1. Z výsledkov vyplynulo, že prídavok pšeničných otrúb do muffinov mal za následok zníženie hodnôt objemu z 87,60 cm^3 (kontrolná vzorka) na 55,20 cm^3 (15 % PO). Podobný trend poklesu objemu po aplikácii rôznych druhov cereálnych otrúb zaznamenali aj Lebesi a Tzia (2011) Tento negatívny efekt prídavku otrúb sa zmiernil prídavkom fermentovaných otrúb, kedy došlo k poklesu na hodnotu 82,00 cm^3. Hodnoty klenutosti muffinov sa s rastúcim prídavkom otrúb znižovali. Najnižšia hodnota klenutosti 0,68 bola zaznamenaná pri muffinoch s pšeničnými otrubami bez úpravy pri 15 % prídavku. Lauková *et. al.* (2017) uvádzajú, že čím sú hodnoty klenutosti vyššie, tým sú viac žiaduce, pretože predpovedajú lepší tvar produktu a klenutosť výrobku pod hodnotou 0,50 je nevyhovujúca. Pri prídavkoch 10 a 15 % fermentovaných otrúb boli v porovnaní s muffinami s neupravenými otrubami zaznamenané vyššie hodnoty klenutosti (0,83 a 0,79).

Tabuľka 1 Kvalitatívne parametre a celková prijateľnosť muffinov s obsahom otrúb

vzorka	Klenutosť	Objem (cm^3)	Straty pečením (%)	Tvrdosť (g)
Kontrolná vzorka	0,98 ±0,03	87,60 ±1,67	7,50 ±0,41	3242,76 ±4,73
5 % PO	0,99 ±0,04	84,50 ±1,41	7,48 ±0,19	5352,62 ±2,98
10 % PO	0,79 ±0,03	81,67 ±3,15	7,20 ±0,30	5465,82 ±6,10
15 % PO	0,68 ±0,02	55,20 ±2,03	6,30 ±0,29	5830,81 ±2,37
5 % FO	0,86 ±0,03	84,00 ±2,00	7,85 ±0,41	4610,34 ±8,13
10 % FO	0,83 ±0,03	83,75 ±4,03	8,35 ±0,33	4936,64 ±2,31
15 % FO	0,79 ±0,02	82,00 ±3,46	8,58 ±0,27	5950,03 ±6,14

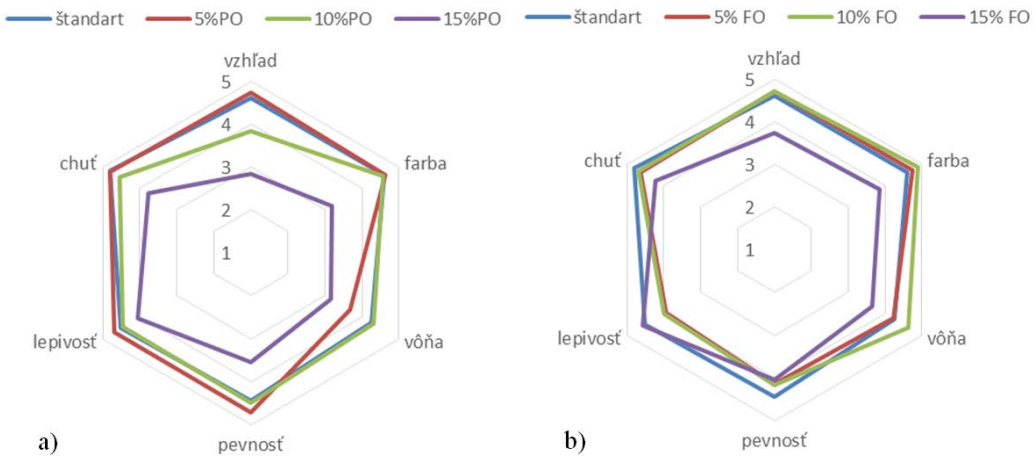
FO – fermentované pšeničné otruby, PO – pšeničné otruby bez úpravy

Z výsledkov ďalej vyplýva, že straty po pečení sa s vyšším prídavkom pšeničných otrúb znížili, naopak straty s vyšším prídavkom fermentovaných pšeničných otrúb sa zvýšili. Najvyššia hodnota straty pečením bola zaznamenaná pri 15 % prídavku pšeničných otrúb (8,58 %). Analýzou textúry sa zistilo, že tvrdosť kontrolnej vzorky bez obsahu otrúb bola

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

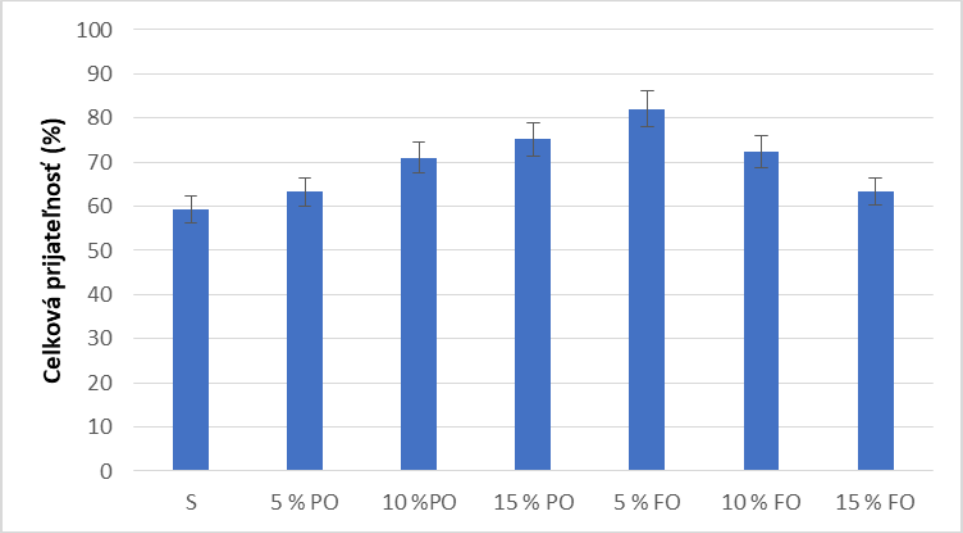
3 242,76 g. Rastúci prídavok otrúb zvýšil tvrdosť muffinov až na hodnotu 5 830,81 g (15 % PO) a 5 950,03 g (15 % FO). Pri porovnaní tvrdosti obohatených muffinov bola tvrdosť nižšia v prípade inkorporácie len 5 a 10 % fermentovaných otrúb.

Pri senzorickom hodnotení muffinov (Obr. 1) sa hodnotil vzhľad, farba, vôňa, pevnosť, lepivosť a chuť. Výsledky ukázali, že vzhľad muffinov bol vo všeobecnosti najprijateľnejší pri nižších prídavkoch pšeničných otrúb pred úpravou a aj po fermentácii. Z výsledkov ďalej vyplynulo, že muffiny s prídavkom otrúb upravených fermentáciou mali prijateľnú tmavšiu farbu. Najprijateľnejšia farba bola zaznamenaná pri aplikácii 10 % fermentovaných otrúb. Pevnosť muffinov sa s rastúcim prídavkom otrúb znižovala. Muffiny s obsahom fermentovaných otrúb mali prijateľnejšiu pevnosť ako muffiny s prídavkami neupravených pšeničných otrúb. Prijateľnosť lepivosti pri rastúcom prídavku pšeničných otrúb klesala, ale naopak pri rastúcich prídavkoch fermentovaných pšeničných otrúb narastala. V porovnaní so štandardom mali muffiny s prídavkami otrúb bez úpravy a s prídavkami fermentovaných otrúb nižšie hodnotenie chuti. Pri vyšších prídavkoch (10 a 15 %) prídavku s fermentovanými pšeničnými otrubami bolo pri žuvaní cítiť kúsky otrúb. Pri porovnaní obohatených otrúb mali prijateľnejšiu chuť muffiny s obsahom fermentovaných otrúb.



Obrázok 1 Senzorické hodnotenie muffinov s prídavkom otrúb
FO – fermentované pšeničné otruby, PO – pšeničné otruby bez úpravy

Najvyššia celková prijateľnosť (obr. 2) muffinov (82,09 %) bola zaznamenaná pri prídavku 10 % fermentovaných otrúb. Ďalej sa zistilo, že muffiny s obsahom pšeničných otrúb upravených fermentáciou majú v porovnaní s muffinmi s neupravenými otrubami vyššiu celkovú prijateľnosť pri jednotlivých prídavkoch.



Obrázok 2 Celková prijateľnosť muffinov s prídavkom otrúb
FO – fermentované pšeničné otruby, PO – pšeničné otruby bez úpravy, S – štandard

ZÁVER

Aplikácia pšeničných otrúb bez úpravy ovplyvnila kvalitatívne parametre pripravených muffinov. Úpravou pšeničných otrúb pomocou fermentácie došlo k zmierneniu tohto nežiaduceho efektu. Vo všeobecnosti mali muffiny s obsahom fermentovaných otrúb v porovnaní s muffinami s neupravenými otrubami väčší objem, vyššiu klenutosť a s výnimkou 15 % prídavku aj nižšiu tvrdosť. Pri senzorickom hodnotení boli muffiny s obsahom fermentovaných otrúb pre hodnotiteľov prijateľnejšie.

LITERATÚRA

Albers, S., Muchova, Z., Fikselova, M. 2009. The effects of different treated brans additions on bread quality. In *Scientia Agriculturae Bohemica*. vol. 40, no. 2, pp. 67-72. ISSN 1211-3174. Dostupné na: https://www.researchgate.net/publication/288263734_The_effects_of_different_treated_brans_additions_on_bread_quality

American Association of Cereal Chemists International. 2009. Approved Methods of Analysis (Method10–05. 01). 11th ed. St. Paul, MN: *AACC International*.

Hamad, Hani J., Ata, M., Hamad, W. J., Takruri, H. R. 2015. Effect of soaking and fermentation of wheat bran on weight gain, accumulative food intake and food efficiency ratio in rats. In *Journal of Agricultural Science*, vol. 7, no. 11, pp. 200-207. ISSN 1916-9752. Dostupné na: doi: 10.5539/jas.v7n11p200.

Hemdane, S., Jacobs, P. J., Dornez, E., Verspreet, J., Delcour, J. A., Courtin, C. M. 2016. Wheat (*Triticum aestivum* L.) bran in bread making: A critical review. In *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. vol. 15, no. 1, pp.28-42, ISSN 1541-4337. Dostupné na: doi: 10.1111/1541-4337.12176

Lauková, M., Karovičová, J., Kohajdová, Z., Babulicová, M. 2017. Využitie otrúb z rôznych odrôd pšenice pri výrobe pekárskych výrobkov. In *Chemické listy*, vol. 111, no. 8, pp. 531-535, ISSN 1213-7103. Dostupné na: http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/57/57

Lebesi, D. M., Tzia, C. 2012. Use of endoxylanase treated cereal brans for development of dietary fibre enriched cakes. In *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. vol. 13, pp. 207–214, ISSN 1466-8564. Dostupné na: doi:10.1016/j.ifset.2011.08.001

Liu, N., Ma, S., Li, L., Wang, X. 2019. Study on the effect of wheat bran dietary fibre on the rheological properties of dough. In *Grain & Oil Science and Technology*, vol. 2, no. 1, pp. 1-5. ISSN: 2590-2598. Dostupné na: doi: 10.1016/j.gaost.2019.04.005

Martínez-Cervera, S., Salvador, A., Sanz, T. 2015. Cellulose ether emulsions as fat replacers in muffins: Rheological, thermal and textural properties. In *LWT-Food Science and Technology*, vol. 63, no. 2, pp. 1083-1090, ISSN: 0023-6438. Dostupné na: doi: 10.1016/j.lwt.2015.04.067.

Minarovičová, L., Lauková, M., Karovičová, J., Kohajdová, Z., Kepičová, V. 2019. Gluten-Free Rice Muffins Enriched With Teff Flour. In *Potravinarstvo*, vol.*13, no.* 1, pp. 187-193, ISSN: 1337-0960. Dostupné na: doi: 10.5219/1045

Nandeesh, K., Jyotsna, R., Venkateswara Rao, G. 2011. Effect of differently treated wheat bran on rheology, microstructure and quality characteristics of soft dough biscuits. In *Journal of Food Processing and Preservation*. vol. 35, no. 2, pp. 179-200, ISSN 1745-4549. Dostupné na: doi: 10.1111/j.1745-4549.2009.00470.x

Onipe, O. O. Jideani, A. I. Beswa, D. 2015. Composition and functionality of wheat bran and its application in some cereal food products. In *International Journal of Food Science and Technology*. vol. 50, no. 12, p. 2509-2518, ISSN 1365-2621. Dostupné na: doi: 10.1111/ijfs.12935

Zhao, H. M., Guo, X.N., Zhu, K. X. 2017. Impact of solid state fermentation on nutritional, physical and flavour properties of wheat bran. In *Food Chemistry*, vol. 217, pp. 28-36, ISSN: 0308-8146. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodchem.2016.08.062

Poďakovanie: Práca bola vypracovaná s podporou projektu VEGA 1/0583/20.

Kontaktná adresa: Michaela Lauková Ing., PhD., Oddelenie potravinárskej technológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, e-mail: michaela.laukova@stuba.sk

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

VPLYV PRÍDAVKU SUŠENÝCH ZEMIAKOVÝCH VLOČIEK NA KVALITU CHLEBA Z RÔZNYCH DRUHOV MÚK
EFFECT OF THE ADDITION OF DRIED POTATO FLAKES ON THE QUALITY OF BREAD MADE FROM DIFFERENT FLOURS

Ján Mareček, Bernadeta Bahorecová, Andrea Mendelová, Miriam Solgajová

Abstract: The aim of this work was to investigate the effect of the addition of dried potato flakes and a selected range of flours on the quality of bread. The flours used were: plain wheat flour T 650, buckwheat flour fine, oat flour wholemeal fine - choice, spelt flour wholemeal and dried potato flakes in different additions. In the samples from the baking trial, we found that the bread doming was very good in all the samples. The baking losses ranged from 12.56 % to 13.97 %. In the farinographic rheological evaluation, the sample containing T 650 plain wheat flour with the addition of 20 % wholemeal fine oat flour and 3 % potato flakes had the highest value of farinographic binding, the highest dough stability and the highest quality number. For the sensory evaluation, the overall appearance and shape, surface and crust characteristics, curdling and appearance of the crumb, texture and elasticity of the crumb, aroma and flavour were assessed - the most acceptable sample overall was the one containing T 650 smooth wheat flour with 20 % spelt flour, wholemeal flour and 3 % potato flakes.
Keywords: bread, flour, oat flour, spelt flour, potato flakes

ÚVOD

Pekárenské výrobky tvoria celú skupinu potravín, ktoré obsahujú významný podiel pšeničnej múky (Cauvain, 2017). Pekárenské výrobky sa vyrábajú pomocou vhodných technologických postupov z mlynských výrobkov, vody, s použitím pekárskeho droždia a iných fermentačných činidiel alebo bez nich, zo soli a iných zložiek. Chlieb je pekárenský výrobok, ktorý sa vyrába zmiešaním, tvarovaním, fermentáciou a pečením cesta alebo zo zmesi na pekárenské výrobky a vody. V závislosti od druhu zložiek a výrobnej metódy sa chlieb klasifikuje: pšeničný chlieb, chlieb z iných chlebových obilnín, zmiešaný chlieb, špeciálne druhy chleba (Vyhláška 24/2014 Z. z.).

Škrob ako hlavná zložka sušiny obilnín v zrelých zrnách pšenice tvorí 65-75 % sušiny a považuje sa za hlavnú zložku endospermu (Shang et al., 2020). Tvorený je primárne z lineárnej amylózy a vysoko rozvetveného amylopektínu. Fyzikálne a chemické vlastnosti škrobu, vlastnosti cesta a konečná kvalita výrobkov sú menené spoločne so zmenou štruktúry škrobových zŕn a obsahom amylózy. Veľkosť škrobových zŕn je jednou z príčin ovplyvňujúcich fyzikálno-chemické vlastnosti škrobu. Škrobové zrná typu A s veľkosťou nad 10 mikrometrov, priemerne 10-35 µm, sú prítomné v množstve viac ako 70 % z celkovej hmotnosti škrobu. Zrná typu B ktoré veľkosťou dosahujú do 10 µm a podieľajú sa na viac ako 90 % z celkovej hmotnosti škrobu. Škroby s rozdielnymi veľkosťami škrobových zŕn sa líšia molekulovou hmotnosťou, štruktúrou a pomerom amylózy a amylopektínu, a tým aj rozdielnym potenciálom využitia, nakoľko sa štúdiou zistili rôzne funkčné a štrukturálne rozdiely medzi veľkými a malými škrobovými zrnami (Li et al., 2020). Typy škrobových zŕn pšenice vykazujú tiež rozličné fyzikálno-chemické a funkčné vlastnosti ako mazovatenie, retrogradácia, napučiavanie, rozpustnosť, čím majú priamy vplyv na charakter a spracovanie cesta a celkovú kvalitu konečného produktu (Shang et al., 2020).

Z funkčného hľadiska je možné pšeničné bielkoviny rozdeliť na bezgluténové, ktorých množstvo predstavuje 15-20 % z celkových bielkovín pšenice a v procese výroby cesta sa im

pripisuje malá alebo žiadna úloha na rozdiel od gluténových, ktoré zohrávajú kľúčovú rolu pri výrobe pekárskych výrobkov (Ma et al., 2020).

Prítomné gluténové bielkoviny sú zodpovedné za významné viskózno-elastické vlastnosti cesta. Počas miešania múky s vodou nastávajú výmenné reakcie, ktorých výsledkom na konci je vytvorenie siete polymérov. Konzumácia pšeničných bielkovín je spájaná s celou skupinou ochorení, ktoré spôsobujú určité zložky vyskytujúce sa v tejto obilnine. Najčastejšie študovanou „chorobou spojenou so pšenicou“ je chronické autoimunitné ochorenie postihujúce tenké črevo známe tiež pod pojmom celiakia. Ďalej sa však môže vyskytnúť v súvislosti s konzumáciou pšenice celý rad iných ochorení ako pekárska astma, alergia na pšenicu a ďalšie (Call et al., 2020).

Malý podiel pšeničného zrna tvoria minerálne látky. Popoloviny reprezentujú anorganický zvyšok, ktorý zostane po spálení alebo úplnej oxidácií potraviny. Tvorený je prevažne prvkami ako Na, Ca, K, Mg, P ktoré patria medzi hlavné a Fe, Cu, Zn a ďalšie, ktoré radíme medzi stopové prvky. Platí tvrdenie, že obsah popolovín udáva celkové množstvo obsahu minerálnych látok v potravine (Sezer et al., 2017).

Cieľom práce bolo hodnotenie kvality vybraných druhov múk (pšeničná múka hladká T 650, pohánková múka jemná, ovsená múka celozrnná jemná – výberová a špaldová múka celozrnná) na základe vybraných technologických parametrov. Na základe rôzneho prídavku zemiakových vločiek a pri použití týchto rôznych druhov múk skúmať vplyv na technologickú a senzorickú kvalitu chleba formou pekárskeho pokusu.

MATERIÁL A METODIKA

Múky použité pri hodnotení a pokuse boli vyrobené v Mlyne Pohronský Ruskov a. s. a boli skladované v priestoroch Katedry technológie a kvality rastlinných produktov Ústavu potravinárstva FBP SPU v Nitre, za podmienok: teplota 20 - 23 °C, relatívna vlhkosť vzduchu 60 - 65 %, do dátumu minimálnej trvanlivosti.

Pšeničná múka hladká T 650 je zložená z potravinárskej pšenice. Pohánková múka jemná je zložená z mletých lúpaných pohánkových semien. Ovsená múka celozrnná jemná - výberová je zložená z ovsenej múky celozrnnej. Ovsená múka celozrnná je vyrábaná z tepelne stabilizovaného potravinárskeho ovsa, čo je zárukou jej trvanlivosti a zachovania výživnej hodnoty. Vyznačuje sa zvýšeným obsahom minerálnych látok a vitamínov. Vďaka šetrnému spracovaniu obsahuje jemne rozomleté ovsené klíčky a otruby, ktoré sú zdrojom potravinárskej vlákniny. Špaldová múka celozrnná je zložená z pšenice – špaldy. Okrem múk boli použité ako prídavok zemiakové vločky sušené (SLOV-MART Kátlovce) vyrobené z hľúz konzumných zemiakov. Pri analýze nižšie uvedených kvalitatívnych parametrov sme postupovali podľa STN, ICC a AACC štandardov.

Stanovenie obchodných, mlynárskych a pekárskych znakov kvality

- stanovenie sušiny - (ICC Standard 110/1)
- stanovenie obsahu popolovín - (ICC Standard 104/1)
- stanovenie množstva lepku - (ICC Standard 106/2)
- stanovenie ťažnosti lepku - (STN 461 011-9)
- stanovenie napučiavania lepku - (STN 461 011-9)
- stanovenie obsahu dusíkatých látok podľa Kjeldahla – (AACC Method 46-12.01)
- stanovenie čísla poklesu – (ICC Standard 107/1)
- stanovenie sedimentačného indexu podľa Zelenyho – (ICC Standard 116/1)
- stanovenie obsahu škrobu podľa Ewersa – (ICC Standard 123/1)
- reologické hodnotenie múky – Farinograph E Brabender - (AACC Method 54-21, 1995)

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

- pekársky pokus Laboratórny miesič Diosna SP12, modifikovaný sp. Diosna, kysiareň, pec (Miwe Condo)

Pekársky pokus

Vzorka 1:
- pšeničná múka hladká T 650,
- 3 % prídavok zemiakových vločiek.

Vzorka 2:
- pšeničná múka hladká T 650,
- 20 % prídavok pohánkovej múky jemnej,
- 3 % prídavok zemiakových vločiek.

Vzorka 3:
- pšeničná múka hladká T 650,
- 20 % prídavok ovsenej múky celozrnnej jemnej – výberovej,
- 3 % prídavok zemiakových vločiek.

Vzorka 4:
- pšeničná múka hladká T 650,
- 20 % prídavok špaldovej múky celozrnnej,
- 3 % prídavok zemiakových vločiek.

Senzorické hodnotenie chleba

Hodnotitelia (zaškolení - 9) pomocou deskriptora hodnotili päť senzorických znakov chleba: celkový vzhľad a tvar, povrch a vlastnosti kôrky, nakysnutie a vzhľad striedky, štruktúru a pružnosť striedky, vôňu a chuť. Maximálny počet možných dosiahnutých bodov bolo 100.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vlhkosť múky ako obchodný znak a znak bezpečnosti skladovanej suroviny sa pohybovala v rozsahu 10,33 % až 13,76 % pri vzorkách múky, čo svedčí o rovnakých podmienkach skladovania analyzovanej vzorky. Vlhkosť by podľa požiadaviek pre obchodné druhy múk mala dosahovať hodnotu maximálne 15 %, všetky vzorky limit normy splnili (Vyhláška 24/2014 Z. z.).

Objemová hmotnosť sa považuje za jedno zo základných meradiel kvality zrna pred spracovaním na múku (Bala, 2017). Slúži pre interpretáciu dôležitých informácií pri vstupe zrna do mlynu. Podáva hodnotu možného výťažku múky zo spracovania, nakoľko bol dokázaný vzťah medzi objemovou hmotnosťou a následným výťažkom múk (Cauvain a Clark, 2017). Ako „čistota“ múky sa udáva stupeň prítomnosti obalov zrna, s ktorým sa mení aj obsah popolovín. Zo zvyšujúcim sa podielom obalov - otrúb sa znižuje retenčná (zadržiavacia) schopnosť cesta pre plyny (Cauvain, 2017). Bojňanská et al. (2013) uvádzajú, že v zrne obilnín sa priemerný obsah popolovín pohybuje medzi 1,5 – 2,9 %. Množstvo popola sa využíva ako ukazovateľ pre zatriedenie typov múk a na rozlíšenie, kde číslo na obale múky reprezentuje tisícnásobok obsahu minerálnych látok v múke. Obsah popolovín v múkach analyzovaných vzoriek sa pohyboval od 0,54 % do 2,38 %, čím ho možno považovať za optimálny. Najvyššiu prítomnosť minerálnych látok sme zaznamenali pri pohánkovej múke. Výsledky dosiahnuté pri analýze obchodných, mlynárskych a pekárskych znakov sú uvedené v tabuľke 1.

Pšeničná múka má špecifické vlastnosti, vďaka ktorým je schopná vytvoriť dostatočne pevné a elastické cesto, preto sú na ňu kladené vysoké kvalitatívne požiadavky (Rossmann,

2020). Glutén je proteín, zložený z kombinácie v alkohole rozpustných gliadínov a v zriedených kyselinách rozpustných glutenínov. Vďaka nerozpustnosti oboch zlúčenín vo vode, je možné ho oddeliť premývaním od viazaného škrobu (Chavoshizadeh et al., 2020). Uvádza sa, že za takmer všetky kvalitatívne vlastnosti pekárenských výrobkov je zodpovedný lepok, pretože vytvára sieť ktorá je schopná zadržiavať plyny vytvorené pri kysnutí, tým vytvára štruktúru striedky a zároveň vytvára objem chleba (Parenti et al., 2020). Obsah mokrého lepku bolo možné stanoviť len vo vzorkách múk, ktoré ho obsahujú – pšeničná a špaldová múka. V pšeničnej múke sa obsah lepku stanovil po 30 minútovom odležaní cesta (G_{30}) a dosiahol hodnotu 43,56 % v sušine a jeho vlastnosti – ťažnosť bola 10 cm a napučiavanie 16 cm^3. Špaldová múka mala obsah lepku 30,45 % v sušine (G_0), ťažnosť lepku bola 9 cm a napučiavanie 9 cm. Požadovaná hodnota lepku v pšeničných múkach je minimálne 26 %. Pšeničnú múku môžeme z tohoto pohľadu hodnotiť ako múku s vysokým podielom lepku (Vyhláška 21/2014 Z. z.). Prítomné peptidické reťazce v 3D štruktúre lepku sú spájané vodíkovými, disulfidovými a metylénovými mostíkmi. S vyšším zastúpením disulfidových väzieb rastie pevnosť a pružnosť, čo sa okamžite prejaví na reologických vlastnostiach cesta (Vollmannová et al., 2018). Nevhodným skladovaním múky môže nastať plesnivenie, ktoré sa prejaví znížením kvalitatívnych vlastnosti lepku, zníženou ťažnosťou, tmavšou farbou a vypieraním v menšom množstve (Tančinová et al., 2017).

V závislosti od klimatických a pestovateľských podmienok, druhu ale aj odrody dopestovanej pšenice, je obsah škrobu premenlivý a pohybuje sa od 60 % do 75 %. Hodnota obsahu škrobu vo vzorkách sa pohybovala v rozmedzí 64,19 - 71,69 %.

Medzi veľmi významné parametre pre pekárenské hodnotenie patrí taktiež obsah N-látok a Zelenyho sedimentačný index. Vyšší obsah hladín bielkovín pozitívne vplýva na textúru cesta a konečný výsledok pečenia a možno ním iba čiastočne kompenzovať zlú kvalitu bielkovín. Pri vyššom množstve bielkovín vyššej kvality (lepkových), nastáva pri napučiavaní ovplyvňovanie rýchlosti sedimentácie a pomalšia indikuje vyššie namerané testovacie hodnoty (Laidig et al., 2018).

Obsah N-látok je vyžadovaný najmä pri tzv. elitnej pšenici. V zahraničí sú na tento parameter kladené vyššie požiadavky z hľadiska vyššieho podielu zložky. Okrem vzorky špaldovej múky, kde bol obsah N-látok najvyšší (16,24 % v suš.), pri ostatných vzorkách bol obsah bielkovín vyrovnaný (13,50 až 14 %). Pri vzorkách pšeničnej a ovsennej múky sme zaznamenali zvýšené hodnoty Zelenyho sedimentačného indexu (ZI), ktorý vyjadruje schopnosť pšeničných bielkovín zväčšovať objem v roztoku kyseliny mliečnej. Najvyššia hodnota ZI bola zaznamenaná pri vzorke ovsenej múky 47 cm^3 a pšeničnej múky 43 cm^3 a najnižšia hodnota bola nameraná vo vzorke špaldovej celozrnnej múky 19 cm^3, čo je dané granuláciou vzorky.

Stanovenie čísla poklesu patrí medzi štandardné schválené metódy pre uskutočnenie merania aktivity alfa-amylázy v zrnách (Shao et al., 2019). Vo viacerých štúdiách bola spájaná korelácia medzi nízkym ČP a zlou kvalitou pekárenských výrobkov. Lepivá a zlá textúra striedky, znížený objem a intenzívnejšie stmavnutie kôrky sa preukázalo pri výrokoch zo pšeničnej múky s ČP nižším ako 200 sekúnd (Neoh et al., 2020). Minimálne 170 sekúnd musí spĺňať vzorka pšeničnej múky v zmysle Vyhlášky 24/2014 Z. z. pre typ T 650. Všetky vzorky prekračujú hranicu 300 sekúnd, čo považujeme za vysoké hodnoty ČP, odzrkadľujúcu nižšiu aktivitu amyláz, ktorá sa môže prejaviť nižším objemom a nižšou pórovitosťou výrobku, nakoľko najvyššie časy vo vzorkách pšeničnej a ovsenej múky dosahujú až 422 s a 453 s. Vysoká aktivita predurčuje malý objem a vysokú pórovitosť výrobkov. Optimálne rozpätie je v rozsahu 200 až 300 s. V pohánkovej múke sa tento parameter nedá stanoviť.

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Tabuľka 1 Výsledky analyzovaných pekárskych znakov kvality

Vzorka/ múka	Vlhkosť (%)	Pp v suš. (%)	Škrob v suš. (%)	NL v suš. (%)	ZI ($cm^{3)}$	ČP (s)
1	12,76	0,54	80,09	13,43	43	422
2	12,26	2,38	71,69	13,97	22	-
3	10,33	1,80	64,44	13,95	47	453
4	11,33	1,82	64,19	16,24	19	378

vzorka: 1 – pšeničná múka hladká T 650, 2 – pohánková múka jemná, 3 – ovsená múka celozrnná jemná – výberová, 4 – špaldová múka celozrnná; parametre: Pp – popoloviny v sušine (%), NL – dusíkaté látky v sušine, ZI – Zelenyho sedimentačný index, ČP – číslo poklesu

Zemiakové sušené vločky boli použité ako prídavná zložka do pekárskeho pokusného výrobku k rôznym múkam. Typickou vlastnosťou ako prídavnej zložky je zjemňujúci vplyv na konzistenciu striedky chleba a senzorické vlastnosti. V zemiakových vločkách boli stanovené hodnoty pre sušinu, vlhkosť, obsah škrobu, jednoduchých cukrov a popolovín (tab. 2).

Tabuľka 2 Výsledky analýzy zemiakových vločiek

Zemiakové vločky sušené	Sušina (%)	Vlhkosť (%)	Škrob (%)	Jednoduché cukry (%)	Popoloviny v suš. (%)
Vzorka 1	90,85	9,15	73,20	1,78	3,52

Reologické vlastnosti vzoriek zmesi múk sa merali pomocou farinografu. Stanovili sa nasledujúce fyzikálne vlastnosti cesta: vlhkosť, väznosť, vývin cesta, stabilita cesta, stupeň zmäknutia a číslo kvality. V tabuľke 3 sú uvedené výsledky farinografického stanovenia. Vysoké hodnoty farinografickej väznosti poukazujú na vyššiu hydratačnú schopnosť múčnych proteínov (Muchová, 2001).

Najvyššiu hodnotu farinografickej väznosti (67,5 %) mala vzorka č. 3, ktorá obsahovala pšeničnú múku hladkú T 650 s prídavkom 20 % ovsenej múky celozrnnej jemnej - výberovej a 3% zemiakových vločiek.

Od kvantity a kvality lepku závisí doba vývinu cesta. Doba vývinu cesta sa pohybovala od 2 min., čo mala vzorka č. 2, ktorá obsahovala pšeničnú múku hladkú T 650 s prídavkom 20 % pohánkovej múky jemnej a 3 % zemiakových vločiek, - do 3,3 min., čo mala vzorka č. 4, ktorá obsahovala pšeničnú múku hladkú T 650 s prídavkom 20 % špaldovej múky celozrnnej jemnej - výberovej a 3 % zemiakových vločiek.

Stabilita cesta určuje odolnosť cesta voči mechanickému namáhaniu. Najvyššiu stabilitu cesta mala vzorka č. 3, ktorá obsahovala pšeničnú múku hladkú T 650 s prídavkom 20 % ovsenej múky celozrnnej jemnej - výberovej a 3 % zemiakových vločiek (6,6 min.) a najnižšiu stabilitu cesta mala vzorka č. 2, ktorá obsahovala pšeničnú múku hladkú T 650 s prídavkom 20 % pohánkovej múky jemnej a 3 % zemiakových vločiek, a to 2,8 min.

Stupeň zmäknutia bol najnižší bol pri vzorke č. 3, ktorá obsahovala pšeničnú múku hladkú T 650 s prídavkom 20 % ovsenej múky celozrnnej jemnej - výberovej a 3 % zemiakových vločiek, a to 77 FU. Najvyššie číslo kvality mala vzorka č. 3, ktorá obsahovala pšeničnú múku hladkú T 650 s prídavkom 20 % ovsenej múky celozrnnej jemnej - výberovej a 3 % zemiakových vločiek (90).

Tabuľka 3 Výsledky farinografického hodnotenia zmesi múk

Vzorka	Vlhkosť (%)	Väznosť (%)	Vývin cesta (min.)	Stabilita cesta (min.)	Stupeň zmäknutia (FU)	Číslo kvality
1	12,8	61,9	2,5	5,0	84	45
2	12,8	61,5	2,0	2,8	158	36
3	12,8	67,5	2,7	6,6	77	90
4	12,8	64,9	3,3	6,5	92	84

Vzorky: 1 - pšeničná múka + 3 % zemiakové vločky, 2 - pšeničná múka + 20 % pohánková múka + 3 % zemiakové vločky, 3 – pšeničná múka + 20 % ovsená múka + 3 % zemiakové vločky; 4 – pšeničná múka + 20 % špaldová múka + 3 % zemiakové vločky

Celkovo najlepšie sumárne senzorické hodnotenie po upečení pokusných chlebových bochníkov sme zaznamenali pri vzorke č. 4, ktorá obsahovala pšeničnú múku hladkú T 650 s prídavkom 20 % špaldovej múky celozrnnej a 3 % zemiakových vločiek. Najnižšie hodnotenie bolo pri kontrolnej vzorke 1, ktorá obsahovala len pšeničnú múku hladkú T 650 s prídavkom 3 % zemiakových vločiek a vzorke 2 s prídavkom pohánkovej múky (tab. 4).

Tabuľka 4 Výsledky senzorického hodnotenia chleba z pekárskeho pokusu

Vzorka	Celkový vzhľad a tvar	Povrch a vlastnosti kôrky	Nakysnutie a vzhľad striedky	Štruktúra a pružnosť striedky	Vôňa a chuť	Body spolu
1	2,9	5,1	16,9	18,3	34,1	77,3
2	3,7	7,1	14,3	15,4	37,3	77,9
3	3,4	6,1	14,3	15,4	39,2	78,5
4	4,1	8,0	16,9	18,6	43,1	90,6

Vzorky: 1 - pšeničná múka + 3 % zemiakové vločky, 2 - pšeničná múka + 20 % pohánková múka + 3 % zemiakové vločky, 3 – pšeničná múka + 20 % ovsená múka + 3 % zemiakové vločky; 4 – pšeničná múka + 20 % špaldová múka + 3 % zemiakové vločky

ZÁVER

Cieľom práce bolo skúmanie vplyvu prídavku sušených zemiakových vločiek a vybraného sortimentu múk na kvalitu chleba. Pri farinografickom reologickom hodnotení pripravených zmesí múk najvyššiu hodnotu farinografickej väznosti, najvyššiu stabilitu cesta a najvyššie číslo kvality mala vzorka, ktorá obsahovala pšeničnú múku hladkú T 650 s prídavkom 20 % ovsenej múky celozrnnej jemnej - výberovej a 3 % zemiakových vločiek. Pri senzorickom hodnotení sme hodnotili celkový vzhľad a tvar, povrch a vlastnosti kôrky, nakysnutie a vzhľad striedky, štruktúru a pružnosť striedky, vôňu a chuť – najprijateľnejšia bola vzorka, ktorá obsahovala pšeničnú múku hladkú T 650 s prídavkom 20 % špaldovej múky celozrnnej a 3 % zemiakových vločiek. Pri všetkých prídavkoch sa potvrdil pozitívny vplyv na technologickú a senzorickú kvalitu chleba.

LITERATÚRA

AACC Method 54-21, 1995. Farinograph Method for Flour.

AACC Method 46-12.01. 1999. Crude Protein-Kjeldahl Method: Boric Acid Modification.

Bala, B. K.. 2017. *ICC Driying and Storage of Cereal Grains (2nd Edition)* [online]. John Wiley & Sons, pp. 341. ISBN 978-1-119-12423-8. Dostupné na: https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpDSCGE002/drying-storage-cereal/drying-storage-cereal

Bojňanská, T. et al. 2013. *Hodnotenie surovín a potravín rastlinného pôvodu.* Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita. 335 s. ISBN 978-80-552-1086-5.
Call, L. et al. 2020. Effects of species and breeding on wheat protein composition. In *Journal of Cereal Science* [online], pp. 102974. ISSN 0733-5210. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.102974
Cauvain, Stanley. 2017. *Baking Problems Solved (2nd Edition)* [online]. Woodhead Publishing, pp. 572. ISBN 978-0-08-100768-6. Dostupné na: https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpBPSE000F/baking-problems-solved/baking-problems-solved
Cauvain, S., Clark, R. 2017. *ICC Handbook of Cereals, Flour, Dough & Product Testing - Methods and Applications (2nd Edition)* [online]. DEStech Publications, pp. 531. ISBN 978-1-5231-2483-1. Dostupné na: https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpICCHCFD2/icc-handbook-cereals/icc-handbook-cereals
Chavoshizadeh, S., Pirsa, S., Mohtarami, F. 2020. Conducting/smart colour film based on wheat gluten/chlorophyll/polypyrrole nanocomposite. In *Food Packaging and Shelf Life* [online], vol. 24, pp. 10050. ISSN 2214-2894. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100501.
ICC Standard 104/1. 1990. Determination of Ash in Cereals and Cereal Products.
ICC Standard 106/2. 1984. Working Method for the Determination of Wet Gluten in Wheat Flour.
ICC Standard 107/1. 1995. Determination of the Falling Number according to Hagberg - as a Measure of the Degree of Alpha-Amylase Activity in Grain and Flour.
ICC Standard 110/1. 1976. Determination of the Moisture Content of Cereals and Cereal Products (Practical method).
ICC Standard 116/1. 1994. Determination of the Sedimentation Value (according to Zeleny) as an Approximate Measure of Baking Quality.
ICC Standard 123/1. 1994. Determination of Starch Content by Hydrochloric Acid Dissolution.
Laidig, Friedrich et al. 2018. Predicting loaf volume for winter wheat by linear regression models based on protein concentration and sedimentation value using samples from VCU trials and mills. In *Journal of Cereal Science* [online], vol. 84, pp. 132-141. ISSN 0733-5210. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.07.015
Li, Ch. et al. 2020. Structure and physicochemical properties of two waxy wheat starches. In *Food Chemistry* [online], vol. 318, pp. 126492. ISSN 0308-8146. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126492
Ma, M. et al. 2020. Deterioration mechanisms of high-moisture wheat-based food – review from physicochemical, structural, and molecular perspectives. In *Food Chemistry* [online], vol. 318, pp. 126495. ISSN 0308-8146. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126495
Mareček, J., Minarovičová, M., Mendelová, A., Solgajová, M. 2022. Technologická kvalita vybraných odrôd *Triticum aestivum* L. In: *Bezpečnosť a kvalita potravín*. Zborník vedeckých prác. Nitra: Garmond, 2022, s. 309-314. ISBN 978-80-8266-007-7.
Muchová, Z. 2001. Faktory ovplyvňujúce technologickú kvalitu pšenice a jej potravinárske využitie. Nitra: SPU, 112 s. ISBN 80-7137-923-9.
Neoh, G. et al. 2020. Effects of cold temperature on starch molecular structure and gelatinization of late-maturity alpha-amylase affected wheat. In *Journal of Cereal Science* [online], vol. 92, pp. 102925. ISSN 0733-5210. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.102925
Parenti, O., Guerrini, L., Zanoni, B. 2020. Techniques and technologies for the bread making process with unrefined wheat flours. In *Trends in Food Science & Technology* [online], vol. 99, pp. 152-166. ISSN 0924-2244. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.034
Rossmann, A. et al. 2020. Effects of a late N fertiliser dose on storage protein composition and bread volume of two wheat varieties differing in quality. In *Journal of Cereal Science* [online], pp. 102944. ISSN 0733-5210. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.102944
Sezer, Banu et al. 2017. A novel method for ash analysis in wheat milling fractions by using laser-induced breakdown spectroscopy. In *Journal of Cereal Science* [online], vol. 78, pp. 33-38. ISSN 0733-5210. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.04.002
Shang, J. et al. 2020. Comparative studies on physicochemical properties of total, A- and B-type starch from soft and hard wheat varieties. In *International Journal of Biological Macromolecules* [online], vol. 154, pp. 714-723. ISSN 0141-8130. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.150
Shao, Y. et al. 2019. Reduction of falling number in soft white spring wheat caused by an increased proportion of spherical B-type starch granules. In *Food Chemistry* [online], vol. 284, pp. 140-148. ISSN 0308-8146. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.006
Schinabeck, T. M. et al. 2019. Dynamics of the particle moisture distribution during storage of wheat under laboratory and pilot-scale conditions. In *Journal of Stored Products Research* [online], vol. 82, pp. 54-66. ISSN 0022-474X. Dostupné na: https://doi.org/10.1016/j.jspr.2019.04.001
STN 46 1011-9. 1997. Skúšanie obilnín, strukovín a olejnín. Skúšanie obilnín : stanovenie mokrého lepku, stanovenie ťažnosti lepku, stanovenie napúčavosti lepku.

Tančinová, D. et al. 2017. *Mikrobiológia potravín.* Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita. 239 s. ISBN 978-80-552-1642-3.
Vollmannová, A. et al. 2018. *Chémia potravín.* Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita. 543 s. ISBN 978-80-552-1814-4.
VYHLÁŠKA č. 24/2014 Z. z. Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky o pekárskych výrobkoch, cukrárskych výrobkoch a cestovinách.

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

Kontaktná adresa: doc. Ing. Ján Mareček, PhD., Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, email: Jan.Marecek@uniag.sk

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

HODNOTENIE OBSAHU A STABILITY CELKOVÝCH POLYFENOLOV A ANTOKYÁNOV V OVOCNÝCH DŽEMOCH Z MENEJ ZNÁMYCH DRUHOV OVOCIA
EVALUATION OF THE CONTENT AND STABILITY OF TOTAL POLYPHENOLS AND ANTHOCYANINS IN FRUIT JAMS FROM MINOR FRUIT SPECIES

Andrea Mendelová, Ľubomír Mendel, Miriam Solgajová, Ján Mareček

Abstract: Fruit jams are one of the typical canned fruit products. Different types of fruit are used for production, but especially small pome fruits with an intense colour. The aim of our work was to evaluate the content and stability of total polyphenols and anthocyanins in jams of chokeberry, elderberry, cornelian cherry fruits and cherry elaeagnus. Depending on the fruit composition, 450 - 500 g of sucrose and 635 - 700 g of fruit puree were used for jam production. In the work we found that there is a decrease in the content of total polyphenols and anthocyanins in jams. In the case of polyphenols, we found a decrease in content of 55,0 - 75,6 % and 73,0 – 85,5 %, respectively. Better stability was achieved for total polyphenols and anthocyanins in chokeberry and cornelian cherry fruits jams. The worst stability was observed for both parameters in cherry elaeagnus jam.
Keywords: minor fruit species, jam, polyphenols, anthocyanins

ÚVOD

Spracovanie ovocia na sladené ovocné nátierky, predovšetkým džemy, sa považuje za tradičný spôsob konzervovania ovocia. Princípom výroby ovocných nátierok je zahustenie ovocnej dužiny alebo pretlaku po prídavku pomerne vysokého množstva sacharózy a čiastočnom odparení vody (Shinwari, Rao, 2018).

V zmysle Vyhlášky 44/2012 Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR o ovocných džemoch, rôsoloch, marmeládach a sladenom gaštanovom pyré, je džemom označená zmes cukrov, dužiny alebo pretlaku z jedného druhu alebo viacerých druhov ovocia a vody spracovaná do vhodnej zrôsolovatenej konzistencie. Extra džemom je zmes cukrov, nezahustenej dužiny z jedného druhu alebo viacerých druhov ovocia a vody spracovaná do vhodnej zrôsolovatenej konzistencie. Extra džem sa v porovnaní s džemom a vyznačuje vyšším obsahom ovocia.

Kvalitný džem má jasnú farbu a typickú sladkokyslú chuť a optimálnu konzistenciu, ktorá nie je ani príliš tekutá ani príliš tuhá. Kvalita džemu je ovplyvnená mnohými faktormi. Na jednej strane sú to vstupné suroviny, najmä druh a odroda ovocia, stupeň zrelosti a zloženie ovocia. Na druhej je to postup spracovania a sním súvisiaca teplota varu, prítomnosť kyslíka, dĺžka varu, množstvo a druh použitého sladidla, druh a koncentrácia pektínu a tiež podmienky skladovania (Haffner et al., 2003, Chaovanalikit, Wrolstad, 2004, Brownmiller et al., 2008, Poiana et al., 2011, Belović et al., 2017; Benedek et al., 2020; Scrob et al., 2022).

Ovocie sa všeobecne vyznačuje vysokou úrovňou antioxidačnej aktivity, ktorá súvisí s prítomnosťou fenolových zlúčenín (Crozier et al., 2006). V drobnom ovocí sú z hľadiska antioxidačných funkcií významné predovšetkým antokyánové farbivá. Prítomnosť a obsah antokyánov v ovocných džemoch ovplyvňuje aj prijateľnosť výrobkov u spotrebiteľov z hľadiska farebnej atraktivity. Antokyánové pigmenty sú labilné zlúčeniny, ich stabilita je veľmi variabilná v závislosti od ich štruktúry a zloženia matrice, v ktorej sa nachádzajú. Stabilitu antokyánov ovplyvňuje mnoho faktorov najmä teplota a čas spracovania, pH prostredia, prítomnosť kyslíka, aktivita vody ale aj podmienky skladovania hotového výrobku (Ersus, Yurdagel, 2007, Poiana et al., 2011). Mechanizmus degradácie antokyánov počas

tepelného spracovania nie je príliš jasný. Rozklad antokyánov je spôsobený nestabilným flavínovým jadrom, ktoré ľahko podlieha rôznym reakciám za vzniku bezfarebných zlúčenín. Rababah et al. (2011) uvádzajú, že straty antokyánových farbív počas spracovania sú spôsobené hydrolýzou glykozidovej väzby antokyanidínov pri vysokej teplote, čo vedie k tvorbe chalkónov, ktoré pri oxidácii vytvárajú hnedé pigmenty. Poiana et al. (2011, 2012) uvádzajú, že straty sú spôsobené enzymatickou a tepelnou degradáciou antokyánov a tvorbou komplexov s inými zlúčeninami ako napr. cukrami, kyselinou askorbovou a produktmi jej rozkladu, ale aj katiónmi kovov. Naproti tomu Fernandes et al. (2014) uvádzajú, že pektín a cukry stabilizujú antokyány tým, že absorbujú flavínový komplex. Ich teóriu potvrdili aj Ścibisz a Mitek (2009), ktorí zistili, že pri výrobe džemov s prídavkom rôznych druhov sladidiel sa vyšší obsah antokyánov zachová v džemoch s obsahom sacharózy ako v džemoch s obsahom alkoholických cukrov alebo syntetických sladidiel.

Cieľom práce bolo zhodnotenie zmien obsahu celkových polyfenolov a antokyánových farbív v ovocných džemov vyrobených z vybraných druhov menej známeho drobného ovocia.

MATERIÁL A METODIKA

V práci sme na výrobu džemov použili pretlak z plodov arónie čiernoplodej (*Aronia melanocarpa* L.), bazy čiernej (*Sambucus nigra* L.), drieňa obyčajného (*Cornus mas* L.) hlošiny mnohokvetej (*Eleagnum multiflora* Thunb.). Pretlak sme získali po krátkom tepelnom ošetrení plodov a následnom pasírovaní plodov. Receptúry pre jednotlivé druhy nátierok sme vypočítali na základe hmotnostnej bilancie sušiny. Na výrobu 1 kg nátierok sme použili 500 g (ev. 450 g) sacharózy a podiel ovocia sme vypočítali, pričom vychádzali z požadovanej výslednej refraktometrickej sušiny stanovenej Vyhláškou 44/2012 a aktuálnej refraktometrickej sušiny ovocia. Var džemov prebiehal v duplikátorovom kotlíku. V prvej fáze výroby sme priviedli do varu ovocnú zložka bez prídavku cukru a z dužiny sme doparili prebytočnú vodu, aby sa var po prídavku cukru mohol čo najskôr ukončiť. V 2. fáze varu sme pridali sacharózu a vo vare pokračovalo do dosiahnutia predpísanej refraktometrickej sušiny 60 %. Hotové džemy sa za horúca plnili do pripravených obalov. Analýzu obsahu celkového množstva polyfenolov a antokyánov sme uskutočnili 48 hodín po výrobe.

Tabuľka 1 Navážky ovocnej a cukornej zložky potrebných na výrobu 1 kg džemu

Druh džemu	Refraktometrická sušina ovocia (%)	Navážka ovocia (g)	Navážka sacharózy (g)
Aróniový	23,5	638	450
Bazový	17,31	577	500
Drieňový	15,5	635	500
Hlošinový	14,26	700	500

Príprava čerstvých plodov na analýzu pozostávala z dôkladnej homogenizácie vzorky na dezintegrátori pri otáčkach 10 000 min^{-1} a následnej extrakcii na trepačke pri otáčkach 150 min^{-1} po dobu 20 hod. v 50 ml 80 % etanolu. Extrakcia ovocných nátierok prebiehala podobným spôsobom ako pri čerstvej vzorke avšak ako extrakčné činidlo bola použitá destilovaná voda z dôvodu horšej rozpustnosti nátierok v etanole.

Stanovovanie celkového obsahu polyfenolov sme uskutočnili pomocou metódy Folin-Ciocalteu. Princíp metódy je založený na reakcii Folin-Ciocalteu činidla s polyfenolmi obsiahnutých v analyzovanej vzorke za vzniku modrého komplexu. Intenzita modrého sfarbenia je priamo úmerná obsahu polyfenolov. Vyhodnotenie celkového obsahu polyfenolov prebieha pomocou spektrofotometra, pri vlnovej dĺžke 700 nm. Obsah celkových polyfenolov sme následne vypočítali z kalibračnej krivky kyseliny gallovej o koncentrácii 50-800 $mg.l^{-1}$ (Lachman et al., 2003).

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Celkový obsah antokyánov v extraktoch plodov a nátierok sme stanovili pH diferenciálnou metódou. Princíp metódy spočíva v znížení hodnoty pH extraktu na hodnotu 0,5-0,8 čo je spojené s transformáciou všetkých antokyánov na červeno sfarbený flavínový katión (Lapornik et al., 2005).
Na stanovenie sme použili rovnaký extrakt ako na stanovenie celkového obsahu polyfenolov. Do dvoch skúmaviek sme napipetovali po 1 ml extraktu a 1 ml 0,01 % HCl v 80 % etanole. Následne sme do prvej skúmavky pridali 10 ml 2 % vodného roztoku HCl a do druhej skúmavky 10 ml tlmivého roztoku s pH 3,5 (c (0,2 mol.dm^{-3}) Na_2HPO_4 a c (0,1 mol.dm^{-3}) kyseliny citrónovej. Absorbanciu oboch vzoriek sme zmerali spektrofotometricky pri vlnovej dĺžke 520 nm. Obsah celkového obsahu antokyánov bol vyjadrený ako mg kyandín-3-glukozidových ekvivalentov na 100 g.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Tabuľka č. 2 Hodnotenie obsahu celkových polyfenolov a antokyánov v čerstvom ovocí a ovocných nátierkach

Druh ovocia	Celkové polyfenoly (mg GAE. 100 g^{-1} sušiny)		Celkové antokyány (mg. 100 g^{-1} sušiny)	
	ovocie	džem	ovocie	džem
Arónia	8 098,37	2 323,31	3 049,48	525,98
Baza	4 270,32	947,15	430,66	63,71
Drieň	7 578,90	2 024,29	1 298,09	208,56
Hlošina	812,11	139,08	98,74	10,01

Obsah celkových polyfenolov v sledovaných druhoch ovocia sa pohyboval v hodnotách 812,11 mg GAE. 100 g^{-1} sušiny v plodoch hlošiny mnohokvetej po 8 098,37 mg GAE. 100 g^{-1} sušiny v plodoch arónie čiernoplodej. Obsah antokyánových farbív, ako významnej skupiny polyfenických látok, sa v našich vzorkách pohyboval v množstve 98,74 mg.100 g^{-1} sušiny po 3 049,48 mg.100 g^{-1} sušiny. Najvyšší obsah sme rovnako ako v prípade celkových polyfenolov zaznamenali v plodoch arónie čiernoplodej a najnižší v plodoch hlošiny mnohokvetej.

Arónia je jedným z najbohatších prírodných zdrojov polyfenolov s potvrdenými zdraviu prospešnými účinkami, vďaka ktorým neustále stúpa jej popularita a využitie v potravinárstve. Plody sa používajú na výrobu ovocných nátierok, štiav, vína, likérov a na výrobu prírodných farbív (Vagiri et al., 2017). Hlavnými polyfenolmi v arónii sú antokyány, prokyanidíny, flavonoly a fenolové kyseliny (Sueiro et al., 2006, Kokotkiewicz, et al., 2010, Rugina et al., 2012). Extrakty z arónie čiernej *in vitro* aj *in vivo* štúdiách vykazovali mnohé zdraviu prospešné účinky a to antioxidačné, antimutagénne, protirakovinové, kardioprotektívne, hepatoprotektívne, gastroprotektívne, antidiabetické, protizápalové, antibakteriálne, antivírusové, rádioprotektívne a imunomodulačné účinky. Samoticha et al. (2016) analyzovali plody arónie čiernoplodej pestovanej v oblasti Trzebnica v Poľsku a v plodoch zistili obsah celkových polyfenolov v množstve 8 008 mg GAE. 100 g^{-1} sušiny a celkový obsah antokyánových farbív 3 917 mg. 100 g^{-1} sušiny, čo sú hodnoty porovnateľné s našimi meraniami.

Medzi hlavné polyfenoly nachádzajúce sa v plodoch bazy čiernej patria kyselina chlorogénová, kvercentín a kempferol, antokyány. Okrem uvedeného bobule obsahujú malé množstvá tanínov s nízkym stupňom kondenzácie, ako sú prokyanidíny, epikatechín a katechín (Mlynarczyk et al., 2018). Stanovenie celkových polyfenolov v čerstvých plodoch bazy čiernej pochádzajúcich zo Srbska uskutočnili Kiprowski et al. (2021). Autori uvádzajú, že obsah celkových polyfenolov v plodoch bol 3 800 mg GAE.100 g^{-1} sušiny. V našej práci sme namerali o niečo vyššie, ale porovnateľné koncentrácie polyfenolov v plodoch bazy (4 270,32 mg GAE.100 g^{-1}). Množstvo antokyánov v baze čiernej kvantifikovali Domínguez et

al., (2020) spektrofotometrickou metódou a zistili obsah v rozmedzí 287,8 - 645,7 mg.100 g^{-1} sušiny.

Plody drieňa obyčajného sú známe svojimi atraktívnymi senzorickými vlastnosťami a silným antioxidačným potenciálom, sú dobrým zdrojom karotenoidov, organických kyselín, fenolových kyselín a flavonoidov, antokyánov, pektínu, trieslovín, vitamínu C a minerálnych látok (Adamenko et al., 2020; Dumitrașcu et al., 2019). Tural, Koca (2008) sledovali obsah celkových polyfenolov v 24 pôvodných druhoch drieňa obyčajného rastúceho v Turecku a zistili priemerný obsah polyfenolov v množstve 2,81-5,79 mg.g^{-1} čerstvej hmoty. Marinova et al. (2005) analyzovali celkový obsahu polyfenolov v 25 najrozšírenejších druhoch ovocia rastúcich v Bulharsku a zistili, že drieň spolu s višňami a čučoriedkami patrí s obsahom 432 mg GAE.100 g^{-1} čerstvej hmoty medzi najcennejšie druhy. Ako uvádzajú Dumitrașcu et al. (2019) hlavnými antokyánmi v plodoch drieňa sú kyanidín-3-glukozid, kyanidín-3-rutinozid, pelargonidín-3-glukozid, petuniín-3-glukozid, kyanidín-3-robinobiosid, pelargonidín-3-robinobiosid, pelargonidín-3-O-galaktozid, kyanidín-3-O-galaktozid a delfinidín-3-O-galaktozid. Množstvo celkových antokyánov v drieni obyčajnom sledovali Pantelidis et al. (2007) a zistili obsah 223,00 mg.100 g^{-1}. Tural, Koca (2008) uvádzajú obsah celkových antokyánov v drieni v množstve 1,12-2,92 mg. g^{-1}.

Plody hlošiny mnohokvetej obsahujú množstvo chemických zlúčenín, ktoré pozitívne ovplyvňujú ľudské zdravie. Sú to najmä fenolové kyseliny, flavonoidy, lipidy, karotenoidy, kyselina askorbová a lykopén (Patel, 2015, Nowak et al., 2021). V čerstvej alebo spracovanej forme plody vykazujú antioxidačné, protizápalové a antiproliferačné účinky. Používajú sa v podpornej liečbe proti hnačke, poruchách gastrointestinálneho traktu a dokonca aj rakoviny hrubého čreva (Abdalla, 2019). Stanovenie obsahu polyfenolov v dvoch odrodách hlošiny mnohokvetej pestujúcich v Poľsku uskutočnili Lachowicz et al. (2020). Priemerný obsah celkových polyfenolov v plodoch odrody Sweet Scarlet bol 268,90 mg.100 g^{-1} sušiny, čo bolo 1,4-krát vyšší obsah ako v plodoch odrody Jahidka (904,65 mg.100 g^{-1} sušiny). V našej práci sme v plodoch hlošiny namerali nižšie ale porovnateľné koncentrácie polyfenolov.

Tabuľka 3 Hodnotenie obsahu a stability celkových polyfenolov a antokyánov v džemoch

Druh džemu	Navážka ovocia (g)	Celkové polyfenoly			Celkové antokyány		
		Obsah v 100 g džemu	Obsah v 100 g ovocia v džeme	% zachovaných v ovocí	Obsah v 100 g džemu	Obsah v 100 g ovocia v džeme	% zachovaných v ovocí
Aróniový	638	2 323,31	3 641,55	45,0	525,98	824,42	27,0
Bazový	577	947,15	1 641,51	38,4	63,71	110,42	25,6
Drieňový	635	2 024,29	3 187,86	42,1	208,56	328,44	25,3
Hlošinový	701	139,08	198,40	24,4	10,01	14,28	14,5

Obsah celkových polyfenolov a antokyánov v džemoch bol výrazne nižší ako v čerstvom ovocí. Najvyšší obsah celkových polyfenolov sme zistili v džeme z arónie (2 323,31 mg. 100 g^{-1} sušiny) a niekoľko násobne najnižší v džeme z hlošiny (139,08 mg.100 g^{-1} sušiny). Po prepočítaní obsahu celkových polyfenolov na skutočný obsah ovocia v nátierke a porovnaním s obsahom v čerstvom ovocí sme zistili, že priemerná stabilita celkových polyfenolov v džemoch bola 37,5 %. Najlepšou stabilitou sa vyznačovali polyfenoly v aróniovom (45 %) a drienkovom (42,1 %) džeme. Nízkou stabilitou sa vyznačovali polyfenoly v džeme z hlošiny (24,4 %).

V prípade celkových antokyánov sme zaznamenali výraznejší pokles a to až na úrovni 76,9 %. Podobne ako v prípade celkových polyfenolov sme najvyšší obsah celkových antokyánov zistili v džeme z arónie (824,42 mg.100 g^{-1} sušiny). Z hľadiska retencie celkového

obsahu antokyánov sa najlepšou stabilitou vyznačoval džem z arónie (27,7 %), porovnateľnú stabilitu dosahovali aj antokyány v džeme z bazy (25,6 %) a drieňa (25,3 %).

Zmenami obsahu celkových polyfenolov a antokyánov v džemoch z jahôd, čerešní a višní sa zaoberali Poiana et al. (2011) a zistili, že počas spracovania klesol obsah celkových polyfenolov v ovocí o 25 - 42 %, čo sú hodnoty vyššie ako sme zistili v našej práci. Naproti tomu autori zistili, že celkové antokyány sa degradovali o 90 - 93 %, čo sú v porovnaní s našimi výsledkami hodnoty zásadne vyššie. Tieto rozdiely môžu byť spôsobené zastúpením rôznych druhov antokyanidínov v jednotlivých druhoch ovocia a ich rôznou stabilitou počas tepelného ošetrenia.

Fernandes et al. (2020) študovali molekulárne interakcie medzi kyanidín-3-O-glukozidom ako reprezentatívnym modelovým antokyanídínom a pektínovými polysacharidmi s rôznymi stupňami a štruktúrou metylesterifikácie a amidácie. Hlavným cieľom ich práce bolo stanoviť vzťah medzi štruktúrou a funkciou pektínu a antokyánov, čo by mohlo prispieť k vyššej stabilizácii antokyánov vo výrobkoch s obsahom pektínových preparátov.

Benedek et al. (2020) vo svojej práci sledovali ako druh použitého sladidla môže ovplyvniť rozklad antokyánových farbív v džeme z ostružiny. V práci použili sacharózu, fruktózu, xylitol a erytritol a zistili, že najintenzívnejší rozklad počas výroby aj počas skladovania boli džemy sladené fruktózou a najstabilnejšie boli džemy s obsahom xylitolu.

Ścibisz a Mitek (2009) sledovali rozklad celkových polyfenolov a antokyanových farbív v čučoriedkovom džeme počas 6-mesačného skladovania pri teplote 6 a 22 °C. Autorky zistili, že počas 2 mesačného skladovanie nedošlo k rozkladu takmer žiadnych polyfenolov. Po 6-mesačnom skladovaní pri teplote 6 °C zaznamenali zníženie obsahu polyfenolov o 2 - 6 % a pri teplote 22 °C 18-27 %. Rozklad antokyánových farbív prebiehal intenzívnejšie. Po 2-mesačnom skladovaní pri teplote 22 °C bol zaznamenaný pokles obsahu o 20 - 61 % a po 6 mesiacoch skladovania 32-70 % oproti obsahu antokyánov bezprostredne po výrobe. Autorky ďalej zistili, že po 6 mesačnom skladovaní nastala úplná deštrukcia derivátov kyanidínu a peonidínu.

Scrob et al. (2022) tiež sledovali vplyv prídavku rôznych sladidiel na stabilitu bioaktívnych látok počas skladovania brusnicového džemu. Autori zistili, že použitie steviozidov a kokosového cukru ako sladidla vedie k nižším konštantám rýchlosti degradácie väčšiny bioaktívnych látok, ale najmä fenolov a vitamínu C. Naproti tomu použitie erytritolu podporovalo najrýchlejší rozklad antokyánov a vitamínu C.

ZÁVER

Ovocné džemy patria na Slovensku k výrobkom s dlhoročnou tradíciou. Menej známe ovocné druhy a drobné ovocie sú často používané na výrobu ovocných džemov. Okrem zaujímavých, pre spotrebiteľa atraktívnych senzorických vlastností, sa tieto džemy vyznačujú aj vysokým obsahom nutrične významných zložiek medzi ktoré patria polyfenoly vrátane antokyánových farbív. V našej práci sme hodnotili obsah a stabilitu celkových polyfenolov a antokyánových farbív v džemoch z arónie, bazy, drieňa a hlošiny. Zistili sme, že po tepelnom spracovaní ovocia dochádza vo výrobkoch k poklesu sledovaných zložiek. V prípade polyfenolov sme zistili pokles na úrovni 55,0 - 75,6 %. V prípade obsahu celkových antokyánov na úrovni 73,0 - 85,5 %. Lepšiu stabilitu dosahovali celkové polyfenoly a antokyány v džemoch z arónie a drieňa. Najhoršiu stabilitu mali obe sledované parametre v džeme z hlošiny.

LITERATÚRA

Abdalla T. E. 2019. Some Wild Elaeagnus Species: Overview, Description, Biochemistry, and Utilization. In *Wild Fruits: Composition, Nutritional Value and Products*, pp. 507-521. https://doi.org/10.1007/978-3-030-31885-7_38

Adamenko, K., Kawa-Rygielska, J., Kucharska, A. Z. 2020. Characteristics of cornelian cherry sour non-alcoholic beers brewed with the special yeast. *Saccharomycodes ludwig*ii. In *Food Chemistry*, vol. 312, p. 125968. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125968

Belović, M., Torbica, A., Pajić-Lijakovic, I., Mastilović, J. 2017. Development of low calorie jams with increased content of natural dietary fibre made from tomato pomace. In *Food Chemistry*, vol. 237, pp. 1226-1233. https://doi.org/10.1016/j. foodchem.2017.06.045.

Benedek, C., Bodor, Z., Merrill, V. T., Kokai, Z., Gere, A., Kovacs, Z., Abranko, L. 2020. Effect of sweeteners and storage on compositional and sensory properties of blackberry jams. In *European Food Research and Technology*, vol. 246, pp. 2187-–2204. https://doi.org/10.1007/s00217-020-03564-2

Brownmiller, C., Howard, L. R., Prior, R. L. 2008. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blueberry products. In *Journal of Food Science*, vol. 73, no. 5, pp. 72-79. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00761.x

Crozier, A., Jaganath, I. B., Clifford, M. N. 2006. *Phenols, polyphenols and tannins*: An overview. In A. Crozier, M. N. Clifford, H. Ashihara (Eds.). Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human diet. Blackwell Publishing Limited, pp. 1-24. UK: Oxford. ISBN: 978-1-405-12509-3

Domínguez, R., Zhang, L., Rocchetti, G., Lucini, L., Pateiro, M., Munekata, P.E.S., Lorenzo, M.S. 2020. Elderberry (*Sambucus nigra* L.) as potential source of antioxidants. Characterization, optimization of extraction parameters and bioactive properties. In *Food Chemistry*, 330. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127266

Dumitrașcu, L., Enachi, E., Sťanciuc, N., Aprodu, I. 2019. Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from cornelian cherry fruits using response surface methodology. In *CyTA - Journal of Food*, vol. 17, no. 1, pp. 814-823. https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1659418

Ersus, S., Yurdagel, U. 2007. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. In *Journal of Food Engineering*, vol. 80, no. 3, pp. 805-812. https://doi.org/10.1016/j. jfoodeng.2006.07.009

Fernandes, A., Brás, N. F., Mateus, N., de Freitas, V. 2014. Understanding the molecular mechanism of anthocyanin binding to pectin. In *Langmuir*, vol. 30, nop. 28, pp. 8516–8527. https://doi.org/10.1021/la501879w

Fernandes, A. S., Oliveira, J., Fonseca, F., Ferreira da Silva, F., Mateus, N., Vincken, J.P., De Freitas, V. 2020. Molecular binding between anthocyanins and pectin polysaccharides – Unveiling the role of pectic polysaccharides structure. In *Food Hydrocolloids*, vol. 102, p. 105625. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd. 2019.105625

Haffner, K., Finstad, M., Rosenfeld, H., Skrede, G., 2003. Color of raspberry jam as influenced by cultivar, temperature and light during storage. In *Acta Horticulturae*, vol. 628, pp. 829-834. https://doi.org/10.17660/*Acta Hortic*.2003.628.105

Chaovanalikit, A., Wrolstad, R. E. 2004. Anthocyanin and polyphenolic composition of fresh and processed cherries. In *Journal of Food Science*, vol. 69, no. 1, pp. 73-83. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb17859.x

Kiprowski, B., Malenčić, D., Ljubojević, M., Ognjanov, V., Veberic, R., Hudina, M., Mikulic-Petkovsek. 2021. Quality parameters change during ripening in leaves and fruits of wild growing and cultivated elderberry (*Sambucus nigra*) genotypes. In *Scientia Horticulturae*, vol. 277. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109792

Kokotkiewicz, A., Jaremicz, Z., Luczkiewicz, M. 2010. Aronia Plants: A review of traditional use, biological activities and perspectives for modern medicine. In *Journal of Medicinal Food*, vol. 13, no. 20, pp. 255-269. https://doi.org/10.1089/jmf.2009.0062

Lachman, J., Proněk, D., Hejtmánková, A., Pivec, V., Faitová, K. 2003. Total polyphenol and main flavonoid antioxidants in different onion (*Allium cepa* L.) varieties. In *Scientia Horticulturae*, vol. 30, pp. 142-147. https://doi.org/10.17221/3876-HORTSCI

Lachowicz, S., Kapusta, I., Świeca, M., Stinca, C. M., Meléndez-Martínez, A., Bienik, A. 2020. *In Vitro* Biological Activities of Fruits and Leaves of *Elaeagnus multiflora* Thunb. and Their Isoprenoids and Polyphenolics Profile. In *Antioxidants*, vol. 9, no. 5, p. 436. https://doi.org/10.3390/antiox9050436.

Lapornik, B., Prošek, M., Wondra, A. G. 2005. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. In *Journal of Food Engineering*, vol. 71, 214-222. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.10.036

Marinova, D., Ribarova, F., Atanassova, M., 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. In *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, vol. 40, pp. 255-260. ISSN 1314-7978

Mlynarczyk, K., Walkowiak-Tomoczak, D., Lysiak, G. P. 2018. Bioactive properties of *Sambucus nigra* L. as afunctional ingredient for food and pharmaceutical industry. In *Journal of Functional Foods*, vol. 40, pp. 377-390. https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.11.025

Nowak, K. C., Mielnik, P., Sieda, M., Staniszewska, I., Bienik, A. 2021. The effect of ultrasound treatment on the extraction of lycopene and β-carotene from cherry silverberry fruits. In *Agriculture and Food*, vol. 6, no. 1, pp. 247-254. https://doi.org/10.3934/agrfood.2021016

Pantelidis, G. E., Vasilakakis, M., Manganaris, G. A., Diamantidis, G. 2007. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. In *Food Chemistry*, vol. 102, pp. 777-783. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.021
Patel, S. 2015. Plant genus Elaeagnus: underutilized lycopene and linoleic acid reserve with permaculture potential. *Fruits*, vol. 70, no. 4, pp. 191-199. https://doi.org/10.1051/fruits/2015014
Poiana, M. A., Moigradean, D., Dogaru, D., Mateescu, C., Raba, D., Gergen, I. 2011. Processing and storage impact on the antioxidant properties and colour quality of some low sugar fruit jams. In *Romanian Biotechnological Letters*, vol. 16, no. 5, pp. 6504-6512
Poiana, M. A., Alexa, E., Mateescu, C. 2012. Tracking antioxidant properties and colour changes in low-sugar bilberry jam as effect of processing, storage and pectin concentration. In *Chemistry Central Journal*, vol. 6, pp. 1-11. https://doi.org/10.1186/1752-153X-6-4
Rababah, T. M., Al-Mahasneh, M. A., Kilani, I., Yang, W., Alhamad, M. N., Ereifej, K. Al-U'datt, M. 2011. Effect of jam processing and storage on total phenolic, antioxidant activity, and anthocyanins of different fruits. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 91, no. 6, pp. 1096-1102. https://doi.org/10.1002/jsfa.4289
Rugina, D., Sconta, Z., Leopold, L., Pintea, A., Bunea, A., Socaciu, C. 2012. Antioxidant activities of chokeberry extracts and the cytotoxic action of their anthocyanin fraction on HeLa human cervical tumour cells. In *Journal of Medicinal Food*, vol. 15, no. 8, pp. 700-706. http://doi.org/10.1089/jmf.2011.0246
Samoticha, J., Wojdylo, A., Lech, K. 2016. The influence of different the drying methods on chemical composition and antioxidant activity in chokeberries. In *LWT- Food Science and Technology*, vol. 66, pp. 484-489. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.073.
Ścibisz, I., Mitek, M. 2009. Effect of processing and storage conditions on phenolic compounds and antioxidant capacity of highbush blueberry jams. In *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, vol. 59, no. 1, pp. 45-52. ISSN 1230-0322.
Scrob, T., Hosu, A., Cimpoiu, C. 2022. Sweeteners from different lingonberry jams influence on bio accessibility of vitamin C, anthocyanins and antioxidant capacity under in vitro gastrointestinal digestion. In *Antioxidants*, vol. 11, pp. 442-455. https://doi.org/10.3390/antiox11030442
Shinwari, K. J., Roa, P. S. 2018. Stability of bioactive compounds in fruit jam and jelly during processing and storage: A review. In *Trends in Food Science & Technology*, vol. 75, pp. 181-193. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.02.002
Sueiro, L., Yousef, G. G., Seigler, D., De Mejia, E. G., Grace, M. H., Lila, M. A. 2006. Chemo preventive potential of flavonoids extracts from plantation-bred and wild *Aronia melanocarpa* (Black Chokeberry) fruits. In *Journal of Food Science*, vol. 71, no. 8, pp.480-488. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00152.x
Tural, S., Koca, I. 2008. Physico-chemical and antioxidant properties of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) grown in Turkey. *Scientia Horticulturae* vol. 116, pp. 362-366. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.02.003
Vagiri, M., Jensen, M. 2017. Influence of juice processing factors on quality of black chokeberry pomace as a future resource for colour extraction. In *Food Chemistry*, vol. 217, pp. 409-417. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.121.
Vyhláška Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky z 26. januára 2012 č. 44/2012 o ovocných džemoch, rôsoloch, marmeládach a sladenom gaštanovom pyré

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

Kontaktná adresa: doc. Ing. Andrea Mendelová, PhD., Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

VYUŽITIE TEKUTÝCH SLADIDIEL AKO NÁHRADY SACHARÓZY V SUŠIENKACH
UTILIZATION OF LIQUID SWEETENERS AS SUCROSE SUBSTITUTES IN COOKIES

Lucia Minarovičová, Michaela Lauková, Zlatica Kohajdová, Katarína Haukszová, Tatiana Holkovičová

Abstract: Consumer pressure to develop products with lower sucrose content is constantly increasing. However, it is important to remember that sucrose is not only responsible for the product's sweet taste. It also contributes to the structure, texture and color of the final product. The aim of the study was to replace sucrose with agave and date syrup in amounts of 50 and 100% and to monitor the effect of this replacement on the basic quality parameters of the biscuits. As a result, the smallest changes in the measured quality parameters were recorded after the incorporation of date syrup in the amount of 50%. Date syrup proved to be a more suitable substitute in the evaluation of the ratio of width and height, porosity, baking loss and of the specific volume. When using date syrup, you should expect a significant change in the color of the finished products. The replacement of sugar with agave syrup proved to be a more suitable alternative in the evaluation of volume index, volume, hardness and fracturability.
Keywords: sucrose replacement; date syrup; agave syrup; biscuits

ÚVOD

Sacharóza je dôležitá zložka sladkých pečených cereálnych výrobkov, čím výrazne prispieva k ich energetickému obsahu. Vysoký príjem potravín bohatých na nízko-molekulové sacharidy preukázateľne prispieva k tvorbe zubných kazov, výskytu kardiovaskulárnych a dietetických ochorení. Aj preto WHO označila za nevyhnutné okamžité zníženie vysokej spotreby cukrov a iných rýchlo vstrebateľných sacharidov, a tiež zvýšenie dennej fyzickej aktivity s cieľom obmedziť výskyt spomínaných ochorení (Struck *et al.*, 2014; Luo *et al.*, 2019; Peris *et al*., 2019).

Okrem toho, že sacharóza dodáva pekárskym výrobkom sladkosť, prispieva k rozvoju ich štruktúry, textúry a farby. Z tohto dôvodu nahradenie sacharózy umelými alebo prírodnými sladidlami pri výrobe pekárenských výrobkov predstavuje výzvu pre potravinársky priemysel. Substitučné látky by mali zabezpečiť zhodu technologických a senzorických vlastností, a zároveň umožniť konečnému produktu splniť požiadavky spotrebiteľov, ale aj regulačných orgánov (Ozuna *et al*., 2020; Di Cairano *et al.*, 2021).

Okrem dodania sladkej chuti sú sladidlá a cukor nositeľmi funkcií, ktoré sú dôležité pre kvalitu a bezpečnosť potravín: inhibujú mikrobiálny rast viazaním vody v džemoch a lekvároch, pečivu dodávajú textúru, chuť a farbu, podporujú rast kvasiniek pri kysnutí alebo fermentácii, pridávajú objem zmrzlinám, pečivu a džemom, prispievajú ku krémovej konzistencii mrazených dezertov, podporujú vznik kryštálov v cukrovinkách, vyvažujú kyslosť v šalátových dresingoch, omáčkach a koreninách, a v neposlednom rade pomáhajú zachovávať prirodzenú farbu, textúru a tvar konzervovanému ovociu (Das a Chakraborty, 2015).

Na použitie pri varení a pečení je k dispozícii veľké množstvo cukrov a sladidiel. Ich výber závisí od viacerých faktorov. Niektoré druhy sa používajú samostatne a niektoré si vyžadujú kombinovanie s inými druhmi (Marcus, 2013).

Prírodné sladidlá sa v poslednej dobe tešia veľkému záujmu. Hlavným dôvodom je zvyšovanie zdravotných obáv z konzumácie cukru, ale aj problémy týkajúce sa bezpečnosti niektorých nevýživných umelých sladidiel (Nguyen *et al.*, 2019).

Prírodné sladidlá sú sacharidy získavané z prírodných zdrojov akými sú zelenina, plody, semená, stromy, korene stromov a orechy. Bežne používanými prírodnými sladidlami sú med, melasa, javorový sirup, kokosový cukor, agávový nektár, datľový cukor, sirup z hnedej ryže, cirokový sirup a xylitol. V porovnaní s umelými sladidlami obsahujú kalórie a živiny, sú metabolizované a pri prechode ľudským telom sa menia (Kumar *et al.*, 2019).

Agávový sirup je prírodné sladidlo získavané hydrolýzou fruktánov uložených v agáve. Svoju popularitu získal v posledných rokoch ako alternatíva k tradičným sladidlám vďaka jeho nízkemu glykemickému indexu (17 - 27) v porovnaní s medom (55) a sacharózou (68), prebiotickej kapacite a vegánskemu statusu. Najviac zastúpeným sacharidom v agáve je fruktóza (55,6 - 90 %), ktorá je príčinou nízkej hodnoty GI a taktiež vyššej sladkosti. Na dosiahnutie rovnakej úrovne sladkosti možno použiť menej agávového sirupu, čím sa znižuje aj príjem kalórii (Willems a Low, 2012; Mellado-Mojica a Lopéz-Perez, 2013).

Datľový cukor v skutočnosti nie je cukor, ale dehydrované datle pomleté na jemný prášok (Amendola a Rees, 2003). Používa sa buď samostatne alebo ako súčasť potravinárskych výrobkov, akými sú zmrzlina, nealkoholické nápoje, cukrovinky, pekárenské výrobky, sezamové pasty, džem, maslo, mliečne nápoje a jogurty (Alanazi, 2010; Gabsi *et al.*, 2013; Ardali *et al.*, 2014; Djaoud *et al.*, 2020). Datľový sirup je vhodnou náhradou sacharózy v pekárenských výrobkoch, kedy zlepšuje ich nutričnú hodnotu zvýšením obsahu minerálnych látok a vitamínov. Taktiež prispieva k mäkkosti a šťavnatosti sušienok a chleba (Alsenaien *et al.*, 2015).

MATERIÁL A METODIKA

Použitý materiál

Pšeničná múka hladká na krehké pečivo, cukor kryštálový, kypriaci prášok do pečiva, morská soľ jódovaná, agávový sirup, datľový sirup a vajcia boli zakúpené v lokálnej maloobchodnej predajni.

Metodika práce

Sušienky boli pripravené podľa modifikovanej receptúry Ikechukwu *et al.*, (2017). Bol pripravený štandard a sušienky, kde bol cukor nahradený dvoma druhmi sirupov (agávový sirup a datľový sirup), a to v množstve 50 a 100 %. Cesto sa vyvaľkalo na doske na rovnakú hrúbku pre všetky verzie receptúry a vykrojili sa jednotlivé sušienky (priemer 50 mm). Sušienky boli pečené pri 150 °C počas 15 minút.

Kvalitatívne parametre sa hodnotili 2 hodiny po upečení sušienok pre 10 sušienok z každej várky. Stanovovala sa hmotnosť a straty pečením (Lauková *et al.*, 2019a; Kuchtová *et al.*, 2018), rozmery sušienok (výška, šírka, pomer šírky a výšky) (Alsenaien *et al.*, 2015; Di Cairano *et al.*, 2021), objem a špecifický objem (Giannou a Tzia, 2016; Datta *et al.*, 2007), objemový index (Turabi *et al.*, 2008) a pórovitosť (Lauková *et al.*, 2016).

Vlastnosti textúry sušienok sa stanovili pomocou analyzátora textúry TA.XT plus (Stable Micro systems, Anglicko). Analyzátor bol vybavený 3-bodovým nadstavcom (HDP/3PB) s 30 kg v kompresnom režime. Stanovovala sa tvrdosť/g a lámavosť/mm sušienok. Stanovenie textúry sa opakovalo 10-krát pre každý typ sušienok pri testovacej rýchlosti 0,55 $m.s^{-1}$ so silou 5g. Tvrdosť a lámavosť sušienok sa prepočítala pomocou softvéru Exponent (Stable Micro Systems, Anglicko) (Lauková *et al.*, 2019b).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Náhrada polovice množstva cukru sirupom, či už agávovým alebo datľovým, spôsobila pokles výšky sušienok. Rovnaký trend pozorovali pri použití datľového sirupu ako náhrady cukru do 50 % aj Sengev a Oguche (2017). Pri 100 % náhrade sacharózy sa pozoroval v oboch prípadoch nárast výšky oproti štandardu, rovnako tomu bolo aj v štúdii Niroula *et al.* (2020).

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Obrázok 1 Porovnanie dosiahnutej výšky sušienok po upečení
DS – datľový sirup, AS – agávový sirup

Šírka sušienok najviac poklesla pri úplnej náhrade sacharózy tekutými prírodnými sladidlami, kedy nastala aj najvýraznejšia deformácia tvaru ihneď po vykrojení. Najnižšia hodnota šírky sa sledovala pri použití agávového sirupu a to 42,30 mm, v porovnaní so šírkou sušienok pripravených podľa štandardnej receptúry, ktorých šírka dosahovala 47,28 mm. Sušienky s obsahom sacharózy 50 % a obsahom agávového sirupu 50 % dosahovali v priemere 44,57 mm. Podobný pokles šírky sušienok so zvyšujúcim sa obsahom tekutého sladidla zaznamenali aj Bornare a Khan (2015), ktorí sledovali vlastnosti sušienok, v ktorých nahradili cukor medom.

Vo všeobecnosti platí, čím je väčší pomer šírky a výšky sušienok, tým sú sušienky žiadanejšie a označované za kvalitnejšie. Tento pomer bol pri sušienkach pripravených štandardne 4,68. Alsenaien *et al.*, (2015) uvádzajú vo svojej štúdii, že prídavok datľového sirupu spôsobil zníženie tohto pomeru. Toto zníženie je spôsobené tým, že prítomnosťou sirupu sa zvýšil počet hydrofilných miest, ktoré boli k dispozícii pre voľnú vodu v ceste. Rovnaký trend bol viditeľný aj v nami pripravených sušienkach, kedy pri úplnej náhrade sacharózy oboma sirupmi nastal pokles tohto pomeru oproti štandardnej receptúre. Najvyšší pokles bol zaznamenaný pri 100 % náhrade sacharózy agávovým sirupom, kedy hodnota pomeru šírky a výšky dosiahla priemernú hodnotu 3,73.

Priemerná hodnota objemového indexu poklesla po náhrade polovice cukru sirupom, a to z 30,63 mm na 26,76 mm agávovým sirupom a na 27,71 mm datľovým sirupom. Pri úplnej náhrade cukru nastal nárast oproti polovičnej náhrade v oboch prípadoch, avšak pri použití agávového sirupu aj oproti štandardnej receptúre.

Tabuľka 1 Vplyv tekutých sladidiel na zmenu fyzikálnych parametrov sušienok

	Výška (mm)	Šírka (mm)	Pomer šírka/výška	Objemový index (mm)
S 100 %	10,19 ±0,38	47,28 ±0,52	4,68 ±0,20	30,63 ±1,44
AS 50 %	9,09 ±0,39	44,57 ±1,65	4,91 ±0,21	26,76 ±1,16
AS 100 %	10,93 ±0,53	42,30 ±1,97	3,73 ±0,22	31,88 ±1,44
DS 50 %	9,66 ±0,40	45,31 ±1,81	4,77 ±0,18	27,71 ±1,26
DS 100 %	10,47 ±0,40	44,71 ±1,04	4,60 ±0,12	28,95 ±1,37

S – sacharóza, AS – agávový sirup, DS – datľový sirup

Strata pečením, ktorú ovplyvňuje predovšetkým hmotnosť výrobku, tvar a obsah vlhkosti, bola stanovená v sušienkach pripravených štandardnou receptúrou na 18,82 %. Sušienky, v ktorých bol datľový sirup, vykazovali minimálny pokles oproti štandardu. Pri sušienkach, ktoré obsahovali agávový sirup bol pokles výraznejší, a to 16,78 % pre AS 50 % a 16,04 % pre AS 100 %. Podobne sa straty vody počas pečenia stanovovali aj pre sušienky obsahujúce vysoko-fruktózový kukuričný sirup, pričom neboli pozorované žiadne výrazné rozdiely oproti sušienkam s obsahom sacharózy (Lauková *et al.*, 2019a; Zargaraan *et al.*, 2016).

Tabuľka 2 Vplyv tekutých sladidiel na zmenu kvalitatívnych parametrov sušienok

	Strata pečením (%)	**Objem (cm^3)**	**Špecifický objem ($cm^3.g^{-1}$)**	**Pórovitosť (cm^3)**
S 100 %	18,82 ±0,74	21,71 ±0,86	2,02 ±0,08	0,33 ±0,02
AS 50 %	16,78 ±0,63	16,82 ±0,81	1,68 ±0,08	0,17 ±0,01
AS 100 %	16,04 ±0,67	16,71 ±0,58	1,56 ±0,05	0,15 ±0,01
DS 50 %	18,69 ±0,90	16,23 ±0,67	1,71 ±0,07	0,18 ±0,01
DS 100 %	18,05 ±0,88	16,37 ±0,68	1,71 ±0,07	0,14 ±0,01

S – sacharóza, AS – agávový sirup, DS – datľový sirup

Sušienky pripravené so sacharózou dosahovali v priemere objem 21,71 cm^3, zatiaľ čo objem sušienok pripravených s tekutými sladidlami klesol. Najvýraznejší pokles sa zaznamenal pri DS 50 %, kedy sušienky dosahovali v priemere 16,23 cm^3 a DS 100 % 16,37 cm^3. Zargaraan *et al.*, (2016) popisoval účinky vysoko-fruktózového kukuričného sirupu na funkčnosť a organoleptické vlastnosti pekárenských výrobkov. Zvýšenie koncentrácie vysoko-fruktózového kukuričného sirupu o viac ako 25 % viedlo k zníženiu počiatočnej teploty želatinácie škrobu a následne k príliš skorému stuhnutiu štruktúry počas pečenia, čo viedlo k zníženiu výsledného objemu pekárenských výrobkov (Zargaraan *et al.*, 2016), čo je v súlade s našimi výsledkami (tab. 2).

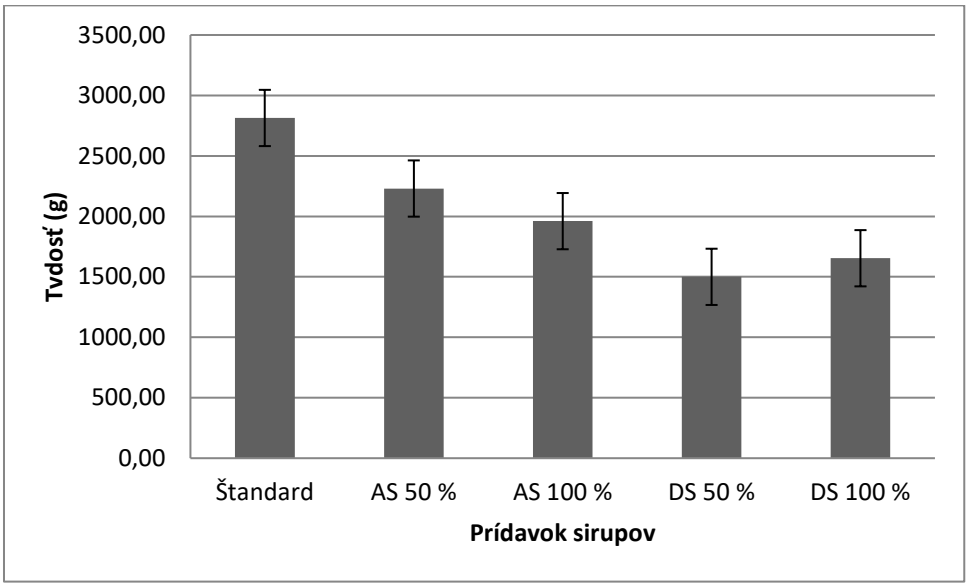
Štúdia od Zacharová *et al.* (2018) skúmala vplyv čakankového sirupu na muffiny a prišla k záveru, že substitúcia cukru významne znížila špecifický objem muffinov. Špecifický objem do značnej miery súvisí so schopnosťou zadržiavať plyn v ceste a vytvorenia dostatočnej pórovitosti, teda vyjadruje množstvo vzduchu, ktoré sa nachádza vo finálnom výrobku (Chareonthaikij *et al.*, 2016). V našom prípade špecifický objem sušienok klesol z 2,02 cm^3/g až na 1,56 – 1,71 $cm^3.g^{-1}$ (AS 100 % – DS 100 %).

Samotnú štruktúru sušienok možno definovať ako výrobok s tuhým „obalom“ s pórovitou vnútornou textúrou (Pareyt, Delcour, 2008). Nahradením cukru datľovým aj agávovým sirupom sme sledovali pokles pórovitosti, čo je viditeľné aj na obr. 2, kde vnútorná textúra sušienok obsahuje menšie množstvo pórov. Priemerná pórovitosť sušienok pripravených iba so sacharózou bola 0,33 cm^3, zatiaľ čo pórovitosť sušienok s agávovým sirupom klesala od 0,17 cm^3 (AS 50 %) do 0,15 cm^3 (AS 100 %), a pórovitosť sušienok pripravených s datľovým sirupom klesala od 0,18 cm^3 (DS 50 %) po 0,14 cm^3 (DS 100 %).

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

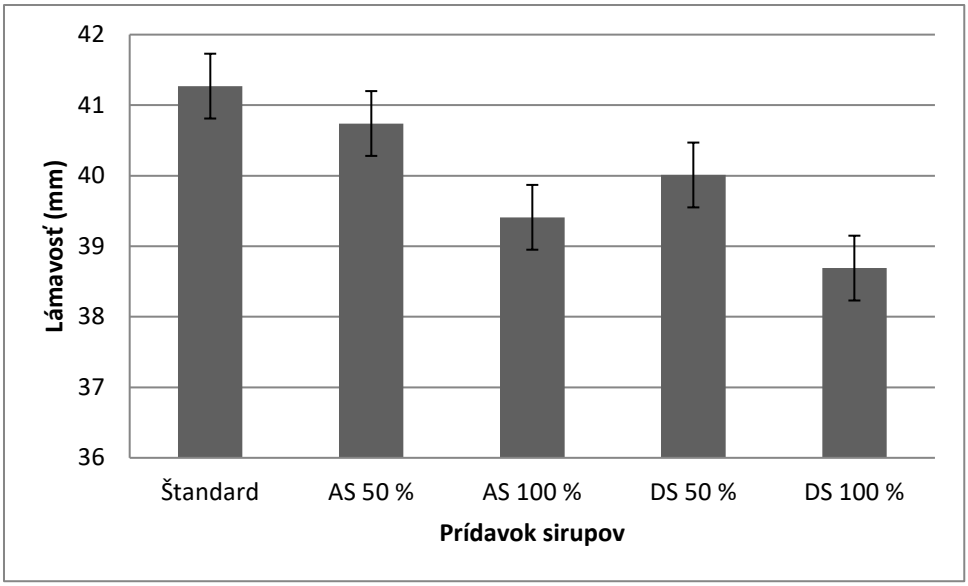
Obrázok 2 Porovnanie pórovitosti sušienok po inkorporácii sirupov
DS – datľový sirup, AS – agávový sirup

Tvrdosť, teda maximálny odpor voči deformácii, s prídavkom tekutých sladidiel klesala (obr. 3). Tvrdosť sušienok pripravených podľa kontrolnej receptúry dosahovala hodnotu 2 813,75 g. Najnižšia hodnota bola zaznamenaná pri DS 50 %, a to 1 499,88 g. Pokles tvrdosti po náhrade sacharózy agávovým sirupom zaznamenali aj Ozuna *et al.* (2020), kedy tvrdosť meraná v muffinoch poklesla oproti kontrolnej vzorke z 1,27 N na 0,65 N. Bornare a Khan (2015) zistili, že med, podobne ako v našom prípade agávový a datľový sirup, znižuje tvrdosť sušienok, pričom namerali pokles z 27,13 N na 13,59 N.



Obrázok 3 Vplyv náhrady sacharózy tekutými sladidlami na tvrdosť sušienok
AS – agávový sirup, DS – datľový sirup

Pokles, aj keď menej výrazný ako pri tvrdosti, bol zaznamenaný aj pri lámavosti sušienok. Lámavosť (obr. 4), teda vzdialenosť od bodu zlomu (čiže odolnosť vzorky voči ohybu), bola najnižšia pri úplnej náhrade sacharózy agávovým (39,41 mm) a datľovým (38,63 mm) sirupom. Pokles nastal oproti lámavosti 41,27 mm, ktorá bola nameraná pre štandard.



Obrázok 4 Vplyv náhrady sacharózy tekutými sladidlami na lámavosť sušienok
AS – agávový sirup, DS – datľový sirup

ZÁVER

Cieľom práce bolo nahradiť sacharózu v cereálnych výrobkoch prírodnými tekutými sladidlami. Výsledky ukázali, že prírodné tekuté sladidlá nielenže prispievajú k zloženiu pekárenských výrobkov svojimi nutričnými kvalitami, ale môžu slúžiť aj ako vhodná náhrada sacharózy. Z hľadiska výšky sušienok sa najviac k štandardu približovali sušienky so 100 % náhradou datľovým sirupom, zatiaľ čo šírku najmenej ovplyvnila inkorporácia 50 % datľového sirupu. Datľový sirup sa ukázal ako vhodnejšia náhrada aj pri hodnotení pomeru šírky a výšky (DS 100 %), pórovitosti (DS 50 %), strate pečením (DS 50 %) a pri hodnotení špecifického objemu, kedy medzi náhradou polovice sacharózy a celého množstva sacharózy datľovým sirupom nebol pozorovaný žiaden rozdiel. Pri použití datľového sirupu treba rátať s výraznou zmenou farby hotových výrobkov. Náhrada cukru agávovým sirupom (AS 50 %) sa ukázala ako vhodnejšia alternatíva pri hodnotení objemového indexu, objemu, tvrdosti a lámavosti.

LITERATÚRA

Alanazi, F. K. 2010. Utilization of Date Syrup as a Tablet Binder, Comparative Study. In *Saudi Pharmaceutical Journal*, vol. 18, p. 81–89. ISSN 1319-0164. Dostupné na: doi: 10.1016/j.jsps.2010.02.003

Alsenaien, W. A., Alamer, R. A., Zhen-Xing Tang, Albahrani, S. A., Al-Ghannam, M. A., Aleid, S. M. 2015. Substitution of Sugar with Dates Powder and Dates Syrup in Cookies Making. In *Advance Journal of Food Science and Technology*, vol. 8, p. 8–13. ISSN 2042-4876. Dostupné na: doi: 10.19026/ajfst.8.1455

Amendola, R., Rees, N. 2003. *Understanding Baking: The Art and Science of Baking*, 3. ed., New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 288 p. ISBN 978-0-471-40546-7.

Ardali, F. R., Nilchian, Z., Ahmadi, S., Shariati, M. A., Akbarian, M. 2014. Replacing Sugar by Date Syrup in Gaz and Investigation of Texture Properties. In *International Journal of Science and Engineering*, vol. 6, p. 11–15. ISSN 2302-5743. Dostupné na: doi: 10.12777/ijse.6.1.11-15

Bornare, D. T., Khan, K. S. A. 2015. Physical and Sensory Evaluation of Cookies Incorporated with Oats and Honey. In *International Journal of Engineering Research & Technology*, vol. 4, p. 407–411. ISSN 2278-0181. Dostupné na: doi: 10.17577/ijertv4is080395

Das, A., Chakraborty, R. 2015. Sweeteners: Classification, Sensory and Health Effects. In Caballero B., Finglas, P. M., Toldrá, F. (ed.), *Encyclopaedia of Food and Health*, Oxford: Academic Press, p. 234–240. ISBN 978-0-12-384947-2.

Datta, A. K., Sahin, S., Sumnu, G., Ozke Keskin, S. 2007. Porous Media Characterization of Breads Baked Using Novel Heating Modes. In *Journal of Food Engineering*, vol. 79, p. 106–116. ISSN 1873-5770. Dostupné na: doi: 10.1016/j.jfoodeng.2006.01.046

Di Cairano, M., Caruso, M. C., Galgano, F., Favati, F., Ekere, N., Tchuenbou-Magaia F. 2021. Effect of Sucrose Replacement and Resistant Starch Addition on Textural Properties of Gluten-Free Doughs and Biscuits. In *European Food Research and Technology*, vol. 247, p. 707–718. ISSN 1438-2385. Dostupné na: doi: 10.1007/s00217-020-03659-w

Djaoud, K., Boulekbache-Makhlouf, L., Yahia, M., Mansouri, H., Mansouri, N., Madani, K., Romero, A. 2020. Dairy Dessert Processing: Effect of Sugar Substitution by Date Syrup and Powder on its Quality Characteristics. In *Journal of Food Processing and Preservation*, vol. 44, p. 1–13. ISSN 1745-4549. Dostupné na: doi: 10.1111/jfpp.14414

Gabsi, K., Trigui, M., Barrington, S., Helal, A. N., Taherian, A. R. 2013. Evaluation of rheological properties of date syrup. In *Journal of Food Engineering*, vol. 117, p. 165–172. ISSN 0260-8774. Dostupné na: doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.02.017

Giannou, V., Tzia, C. 2016. Addition of Vital Wheat Gluten to Enhance the Quality Characteristics of Frozen Dough Products. In *Foods*, vol. 5, p. 1–10. ISSN 2304-8158. Dostupné na: doi: 10.3390/foods5010006

Chareonthaikij, P., Uan–On, T., Prinyawiwatkul, W. 2016. Effects of Pine-Apple Pomace Powder on Physicochemical Properties of Composite Flour and Dough and Consumer Acceptance of Fibre-Enriched Wheat Bread. In *International Journal of Food Science & Technology*, vol. 51, p. 1120–1129. ISSN 1365-2621. Dostupné na: doi: 10.1111/ijfs.13072

Ikechukwu, P. A., Okafor, D. C., Kabuo, N. O., Ibeabuchi, J. C., Odimegwu, E. N., Alagbaoso, S. O., Njideka, N. E., Mbah, R. N. 2017. Production and Evaluation of Cookies from Whole Wheat and Date Palm Fruit Pulp as Sugar Substitute. In *International Journal of Advancement in Engineering Technology*, Management and Applied Science, vol. 4, p. 1–31. ISSN 2349-3224. Dostupné na: https://www.researchgate.net/publication/317033462_PRODUCTION_AND_EVALUATION_OF_COOKIES_FROM_WHOLE_WHEAT_AND_DATE_PALM_FRUIT_PULP_AS_SUGAR_SUBSTITUTE

Kuchtová, V., Kohajdová, Z., Karovičová, J., Lauková, M. 2018. Physical, Textural and Sensory Properties of Cookies Incorporated with Grape Skin and Seed Preparations. In *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, vol. 68, p. 1–9. ISSN 2083-6007. Dostupné na: doi: 10.2478/pjfns-2018-0004

Kumar, N., Singh, A., Sharma, D. K., Kishore, K. 2019. Toxicity of Food Additives. In Singh, R. L., Mondal, S. (ed.), *Food Safety and Human Health*. London: Academic Press, p. 67–98. ISBN 978-0-12-816333-7.

Lauková, M., Karovičová, J., Minarovičová, L., Kohajdová, Z. 2019a. Wheat Bran Stabilization and its Effect on Cookies Quality. In *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 13, p. 109–115. ISSN 1337-0960. Dostupné na: doi: 10.5219/1021

Lauková, M., Kohajdová, Z., Karovičová, J. 2016. Effect of Hydrated Apple Powder on Dough Rheology and Cookies Quality.In *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 10, p. 506–511. ISSN 1337-0960. Dostupné na: doi: 10.5219/597

Lauková, M., Minarovičová, L., Karovičová, J., Kohajdová, Z. 2019b. Quality evaluation of sweet potato powder-enriched cereal products. In *Food Science and Technology International*, vol. 25, p. 523-532. ISSN 1532-1738. Dostupné na: doi: 10.1177/1082013219842711

Luo, X., Arcot, J., Gill, T., Louie, J. C., Rangan, A. 2019. A Review of Food Reformulation of Baked Products to Reduce Added Sugar Intake. In *Trends in Food Science & Technology*, vol. 86, p. 412 – 425. ISSN 0924-2244. Dostupné na: doi: 10.1016/j.tifs.2019.02.051

Marcus, J. B. 2013. Carbohydrate Basics: Sugars, Starches and Fibers In Foods and Health: Healthy Carbohydrate Choices, Roles and Applications. In Marcus, J. B. (ed.), *Culinary Nutrition*. Tokyo: Elsevier, p. 149-187. ISBN 978-0-12-391882-6.

Mellado-Mojica, E., López-Pérez, M. G. 2013. Comparative Analysis Between Blue Agave Syrup (Agave Tequilana Weber var. Azul) and Other Natural Syrups. In *Agrociencia*, vol. 47, p. 233–244. Dostupné na: https://www.researchgate.net/publication/259150626_Comparative_analysis_between_blue_agave_syrup_agave_tequilana_weber_var_azul_and_other_natural_syrups

Niroula, A., Pokharel, A., Acharya, J. 2020. Effect of Type of Sugar and Dough Relaxation Time on the Shape Characteristics of Biscuit. In *Journal Food Science and Technology Nepal*, vol. 12, p. 25–30. ISSN 1816-0727. Dostupné na: doi: 10.3126/jfstn.v12i12.27198

Nguyen, T. T. H., Seo, C., Kwak, S. H., Kim, J., Kang, H. K., Kim, S. B., Kim, D. 2019. Enzymatic Production of Steviol Glucosides Using β-glucosidase and Their Applications. In Kuddus, M. (ed.), *Enzymes in Food Biotechnology*. Oxford: Academic Press, p. 405 – 418. ISBN 978-0-12-813280-7.

Ozuna, C., Trueba-Vázquez, E., Moraga, G., Llorca, E., Hernando, I. 2020. Agave Syrup as an Alternative to Sucrose in Muffins: Impacts on Rheological, Microstructural, Physical, and Sensorial Properties. In *Foods*, vol. 9, p. 1–15. ISSN 2304-8158. Dostupné na: doi: 10.3390/foods9070895

Pareyt, B., Delcour, J. A. 2008. The Role of Wheat Flour Constituents, Sugar and Fat in Low Moisture Cereal Based Products: A Review on Sugar-Snap Cookies. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 48, p. 824–839. ISSN 1549-7852. Dostupné na: doi: 10.1080/10408390701719223

Peris, M., Rubio-Arraez, S., Castelló, M. L., Ortolá, M. D. 2019. From the Laboratory to the Kitchen: New alternatives to Healthier Bakery Products. In *Foods*, vol. 8, p. 1–24. ISSN 2304-8158. Dostupné na: doi: 10.3390/foods8120660

Sengev, A. I., Oguche, E. C. 2017. Effect of Sucrose Substitution with Date Syrup on the Proximate, Physical and Sensory Properties of Cookies. In *Journal of Raw Materials Research*, vol. 14, p. 1–15. ISSN 2536-6440. Dostupné na: https://www.researchgate.net/publication/328879703_EFFECT_OF_SUCROSE_SUBSTITUTION_WITH_DATE_SYRUP_ON_THE_PROXIMATE_PHYSICAL_AND_SENSORY_PROPERTIES_OF_COOKIES

Struck, S., Jaros, D., Brennan, C. S., Rohm, H. 2014. Sugar Replacement in Sweetened Bakery Goods. In *International Journal of Food Science & Technology*, vol. 49, p. 1963–1976. ISSN 1365-2621. Dostupné na: doi: 10.1111/ijfs.12617

Turabi, E., Sumnu, G., Sahin, S. 2008. Rheological Properties and Quality of Rice Cakes Formulated with Different Gums and an Emulsifier Blend. In *Food Hydrocolloids*, vol. 22, p. 305–312. ISSN 1873-7137. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodhyd.2006.11.016

Willems, J. L., Low, N. H. 2012. Major Carbohydrate, Polyol, and Oligosaccharide Profiles of Agave Syrup. Application of this Data to Authenticity Analysis. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 60, p. 8745–8754. ISSN 1520-5118. Dostupné na: doi: 10.1021/jf3027342

Zacharová, M., Burešová, I., Gál, R., Walachová, D. 2018. Chicory Syrup as Substitution of Sugar in Fine Pastry. In *Potravinárstvo, Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 12, p. 487–490. ISSN 1337-0960. Dostupné na: doi: 10.5219/890

Zargaraan, A., Kamaliroosta, L., Yaghoubi, A.S., Mirmoghtadaie, L. 2016. Effect of Substitution of Sugar by High Fructose Corn Syrup on the Physicochemical Properties of Bakery and Dairy Products: A Review. In *Nutrition and Food Sciences Research*, vol. 3, p. 3–11. ISSN 2383-3009. Dostupné na: doi: 10.18869/acadpub.nfsr.3.4.3

Poďakovanie: Táto práca vznikla s podporou projektu VEGA 1/0583/20.

Kontaktná adresa: Ing. Lucia Minarovičová, PhD., Slovak University of Technology in Bratislava, Faculty of Chemical and Food Technology, Institute of Food Science and Nutrition, Department of Food Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovakia. E-mail: lucia.minarovicova@stuba.sk

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

POROVNANIE KVALITY VYBRANÝCH VÍN Z MALOKARPATSKEJ A VÝCHODOSLOVENSKEJ VINOHRADNÍCKEJ OBLASTI
COMPARISON OF THE QUALITY OF SELECTED WINES FROM THE LITTLE CARPATHIAN AND EAST SLOVAK VINEYARD REGIONS

Boris Semjon, Martin Bartkovský, Slavomír Marcinčák

Abstract: The aim of this work was to compare sensory quality of selected wine samples of Traminer Red (2019, semi-dry), Sauvignon blanc (2019, dry), Cabernet Franc (2018, dry) and Dunaj (2018, semi-dry) from the Little Carpathian and East Slovak vineyard regions. The sensory evaluation was completed with instrumental colour measurement of wine samples. Sensory evaluation of wine samples according to The International Organisation of Vine and Wine sensory protocol resulted in the higher point score of white wine samples from The Little Carpathian vineyard region than from East Slovak region. However, red wine samples from the East Slovak vineyard were evaluated with higher point score. Colorimetry analysis showed significantly higher intensity of red colour of Cabernet Franc wine sample from the East Slovak vineyard region, when compared to other red wine samples. The brightness of each white wine sample from the Little Carpathian vineyard was intensive opposite the samples from the East Slovak vineyard region. It can be concluded that the quality of wine samples from these two vineyards was in evaluated variables significantly different.
Keywords: wine, quality, sensory evaluation, colorimetry

ÚVOD

Víno je alkoholický nápoj vyrobený kvasením hrozna, najmä *Vitis vinifera* L. (Puckette a Hammack, 2015). V rokoch 2013–2018 patrili medzi prvých päť krajín s najväčšou produkciou vín Taliansko, Francúzsko, Španielsko, Spojené štáty americké a Argentína (OIV, 2019). V poslednej dobe sa zdá, že preferencie spotrebiteľov pre alkoholické nápoje, najmä víno, sú viac ovplyvnené globalizáciou, zmiešanými kultúrami alebo otvoreným obchodným trhom, a nie regionálnou tradíciou (Campbel, Guibert, 2006; Bentzen, Smith, 2010; Holmes et al., 2017). Okrem globalizácie mohli regionálne návyky pitia vína ovplyvniť aj ekonomické zmeny a honba za pôžitkom (Smith, Mitry 2007; Villanueva et al., 2017). Tieto zmeny nastali v dôsledku nekonkretizovania hraníc medzi národmi a kultúrami (Mora, Udaneta, Chaya, 2018).

Senzorické vlastnosti vína, ako je farba, aróma a pocit v ústach, sú úzko spojené s kvalitou vína, ktorú samotnú je veľmi ťažké definovať pre jej komplexnosť a mnohorozmerným aspektom (Charters, Pettigrew, 2007; Hopfer, Heymann, 2014). Okrem toho je ťažké určiť kvalitu vína kvôli jeho kvázi estetickým vlastnostiam a vzťahu k osobnému vkusu (Charters, Pettigrew, 2005). Informovaní spotrebitelia a konzumenti vín, ktorí majú dômyselné chápanie hodnoty produktu a schopnosť rozlišovať kvalitu, očakávajú, že vnútorné aj vonkajšie faktory vyhovujú ich predstavám (Bisson et al., 2002). Hopfer a Heymann (2014) uvádzajú, že hoci kvalita vína má niekoľko rozmerov, ako sú vonkajšie a vnútorné faktory, je tiež táto kvalita veľmi variabilná. Pre pochopenie kvality vína a jeho vlastností sa uskutočnilo niekoľko štúdií založených na senzorickom hodnotení, ako je napríklad deskriptívna analýza. V niektorých prípadoch sa vykonala analýza prchavých látok, aby sa získali ďalšie informácie o vnímaní vína. Typickosť vína umožňuje odlíšenie, identifikáciu a rozpoznanie vín, ktoré sa vyrábajú v odlišných regiónoch (Cadot et al., 2012). Typickosť ako koncept môže predstavovať individualitu vínneho profilu a môže stelesňovať špecifickú triedu vín (Cadot et al., 2010). Pre vinársky sektor je typickosť pojem, ktorý úzko súvisí s terroir a s tým súvisiaci vplyv na

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

vlastnosti vína z vymedzenej geografickej oblasti (Cadot et al., 2012). Mnohé faktory, ktoré ovplyvňujú kvalitu vína a prejav terroir, sú determinované rozhodnutiami vo vinohrade, ako je použitie hnojív, tréningový systém, výnos, režim rezu a závlaha (Robinson, 2015). Niektoré príklady vinohradníckych praktík, ktoré môžu mať vplyv na regionálne profily, uviedli Gutiérrez-Gamboa et al. (2017).

Cieľom tejto práce bolo porovnať senzorickú kvalitu a inštrumentálnym meraním kolorimetrické parametre vybraných vzoriek bielych a červených vín z Malokarpatskej a Východoslovenskej vinohradníckej oblasti.

MATERIÁL A METODIKA

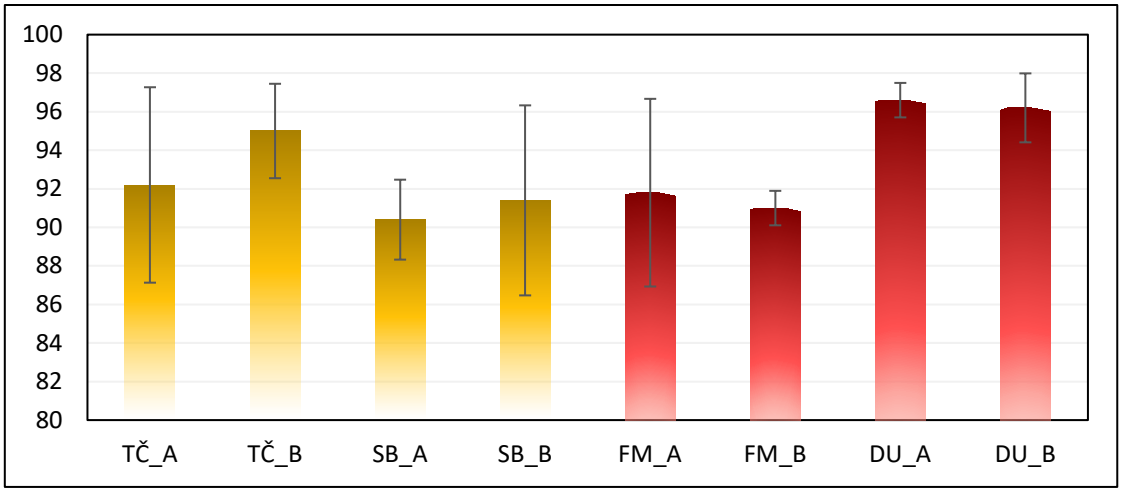
Experimentálne vzorky použité v tejto práci pochádzali z dvoch rozdielnych vinárskych oblastí na Slovensku. Boli to vzorky pochádzajúce z východoslovenskej a Malokarpatskej vinohradníckej oblasti. Hodnotené boli kvalitatívne vzorky z rovnakých ročníkov odrôd Tramín červený (ročník 2019, polosuché), Sauvignon blanc (ročník 2019, suché), Frankovka modrá (ročník 2018, suché) a Dunaj (ročník 2018, polosuché).

Senzorické posúdenie experimentálnych vzoriek vín vykonal panel posudzovateľov zložený zo šiestich hodnotiteľov so skúsenosťami v oblasti hodnotenia vín. Experimentálne vzorky boli posúdené použitím 100-bodového systému hodnotenia tichých vín podľa Medzinárodného úradu pre vinič a víno (OIV) a označenie vzoriek bolo založené na zachovaní princípov anonymity vzoriek. Jednotlivé experimentálne vzorky vín boli vopred zoradené organizátorom degustácie podľa všeobecných zásad platných pre senzorické posudzovanie vína. Hodnotené parametre boli vzhľad, vôňa chuť a celkový dojem. Pri vzhľade sa hodnotila čírosť a farba. U vône sa porovnávala pozitívna intenzita, čistota, a kvalita. Pri chuti sa sledovala intenzita, čistota, kvalita a harmonická perzistencia. Po vykonaní posúdenia vzorky podľa 100-bodového systému sa následne hodnotila predložená vzorka z hľadiska aromatického a chuťového profilu na 5-bodovej intenzitnej škále, pričom hodnota 5 zodpovedala najintenzívnejšiemu vnímaniu daného deskriptora. Hodnotitelia určovali intenzitu nasledujúcich vôní: minerálna, kvetová, citrusová, žlté ovocie, exotické ovocie, sušené ovocie, korenistá, oriešková, medová a iná.

Stanovenie kolorimetrických parametrov experimentálnych vzoriek vín bolo vykonané za použitia prístroja Chroma meter CR-410 s nasledovnými parametrami prístroja: meracia plocha Ø 50 mm, osvetlenie D65, štandardný pozorovací uhol 2°(Konica Minolta, Sensing, Inc., Japonsko). Výsledky boli spracované za použitia softvéru Color Data Software CM-S100w SpectraMagic™ NX (Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japonsko). Kolorimetrické parametre analyzovaných vzoriek boli vyjadrené vo farebnom priestore CIELab. Hodnota L* predstavuje jas, a* červenosť (farbu medzi červenou a zelenou) a b* žltosť (farbu medzi modrou a žltou). Kombinácia a* a b* parametrov vyjadruje uhol farebného odtieňa (h*), ktorý udáva predominantnú vlnovú dĺžku pozostávajúcu z farby a sýtosti (C*), ktorý sa podieľa na farebnosti alebo farebnej živosti. Výsledky boli vyjadrené ako priemerné hodnoty a smerodajné odchýlky troch meraní každej experimentálnej vzorky. Pred vykonaním merania kolorimetrických parametrov bola vykonaná kalibrácia prístroja pomocou príslušenstva, tzv. kalibračnej doštičky (CR-A43, Konica Minolta),

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri posúdení experimentálnych vzoriek vín sa pri vzhľade hodnotila čírosť a farba vzoriek. Pri vôni sa porovnávala pozitívna intenzita vnemov, čistota, a kvalita vzoriek, a pri chuti sa sledovala intenzita, čistota, kvalita a harmonická perzistencia. Výsledky hodnotenia podľa 100-bodového systému hodnotenia tichých vín vyobrazuje obrázok č. 1.



Obrázok 1 Výsledky hodnotenia vzoriek podľa 100-bodového hodnotenia tichých vín podľa OIV

A: Východoslovenská vinohradnícka oblasť; B: Malokarpatská vinohradnícka oblasť; TČ: odroda Tramín červený; SB: odroda Sauvignon blanc; FM: odroda Frankovka modrá; DU: odroda Dunaj; OIV: Medzinárodná organizácia pre vinič a víno.

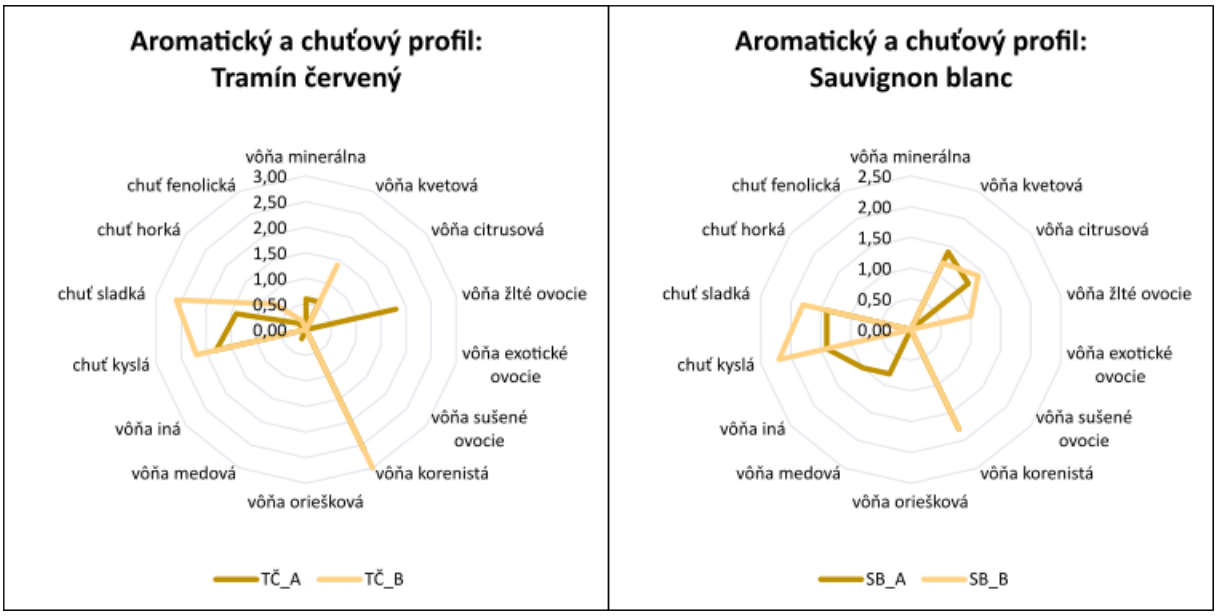
Z obrázka č. 1 vyplýva, že v 100 bodovom hodnotení experimentálnych vzoriek vín prevládalo pri vzorkách bielych vín vyššie bodové hodnotenie vzoriek pochádzajúcich z Malokarpatskej vinohradníckej oblasti (TČ= 95,00 ± 2,45; SB= 91,40 ± 4,93). Naproti tomu, pri vzorkách červených vín prevládalo vyššie bodové hodnotenie pri vzorkách pochádzajúcich z Východoslovenskej vinohradníckej oblasti (FM= 91,80 ± 4,87; DU= 96,60 ± 0,89).

Obrázky č. 2 a 3 poukazujú na rozdiely v aromatickom a chuťovom profile experimentálnych vzoriek vín. Ako vyplýva z obrázku 2, víno odrody Tramín červený pôvodom z Východoslovenskej vinohradníckej oblasti dosiahlo priemerne vyššie hodnotenie intenzity v parametroch minerálna vôňa (0,60), vôňa po žltom ovocí (1,80) a medová vôňa (0,20). Naproti tomu vzorka z Malokarpatskej vinohradníckej oblasti mala priemerne intenzívnejšie ohodnotenú intenzitu kvetovej (1,40) a korenistej vône (3,00). Vo všetkých parametroch chuťového profilu odrody Tramín červený sa vyznačoval pri vzorke pochádzajúcej z Malokarpatskej vinohradníckej oblasti priemerne intenzívnejšou kyslou (2,20), sladkou (2,60), horkou (0,80) a fenolickou chuťou (0,20).

Z dosiahnutých výsledkov hodnotenia aromatického profilu experimentálnej vzorky vína odrody Sauvignon blanc bolo zistené, že vo vzorke pochádzajúcej z Východoslovenskej vinohradníckej oblasti dominovala kvetová (1,40) a medová vôňa (0,80). Vzorka vína z Malokarpatskej vinohradníckej oblasti mala intenzívnejšiu citrusovú vôňu (1,40) a vôňu po žltom ovocí (1,00). Intenzita kyslej (2,20) a sladkej chute (1,80) bola taktiež intenzívnejšia vo vzorke vína z tejto oblasti.

Obrázok č. 3 vyobrazuje výsledky hodnotenia aromatického a chuťového profilu experimentálnych vzoriek vín Frankovka modrá (a) a Dunaj (b). Vzorka vína odrody Frankovka modrá, pochádzajúca z Východoslovenskej vinohradníckej oblasti mala najintenzívnejšiu vôňu po exotickom ovocí (0,60), po sušenom ovocí (2,00) a korenistú vôňu (1,40). V porovnaní so vzorkou z Malokarpatskej oblasti mala táto vzorka intenzívnejšiu fenolickú chuť (1,80). Vzorka vína odrody Dunaj pochádzajúca z Východoslovenskej vinohradníckej oblasti mala intenzívnejšiu minerálnu (0,60), kvetovú (1,20), korenistú (1,80) a medovú vôňu (2,20). v chuťovom profile sladkej, horkej a fenolickej chute boli intenzívnejšie posúdené deskriptory vzorky Dunaj z Malokarpatskej vinohradníckej oblasti (1,80; 1,00; 2,60).

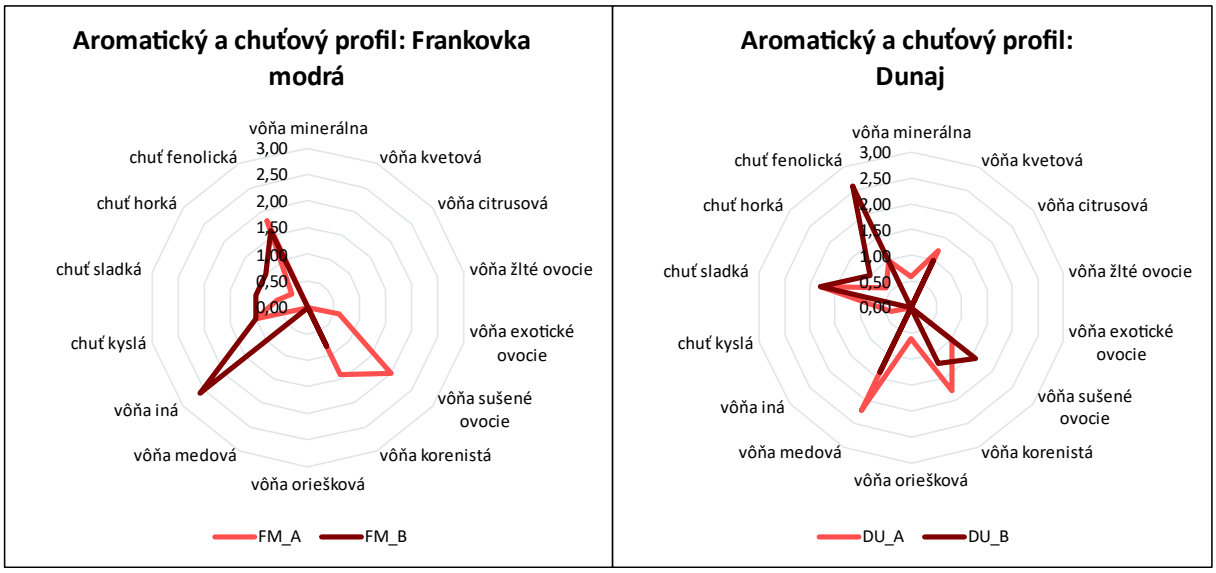
https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp



(a) (b)

Obrázok 2 Výsledky hodnotenia aromatického a chuťového profilu vzoriek

A: Východoslovenská vinohradnícka oblasť; B: Malokarpatská vinohradnícka oblasť; TČ: odroda Tramín červený; SB: odroda Sauvignon blanc



(a) (b)

Obrázok 3 Výsledky hodnotenia aromatického a chuťového profilu vzoriek

A: Východoslovenská vinohradnícka oblasť; B: Malokarpatská vinohradnícka oblasť; TČ: odroda Tramín červený; SB: odroda Sauvignon blanc

Hodnotenie kvality vína je vo všeobecnosti založené na senzorických a chemických analýzach. Pri senzorickom posudzovaní sú ukazovatele kvality vína, ako je farba, pocit v ústach a chuť, do značnej miery, ale nie výlučne, ovplyvnené fenolickým profilom experimentálnych vzoriek. Fenolové zlúčeniny sa teda široko používajú na hodnotenie kvality vína a pravosti (Chira et al., 2011; Heras-Roger et al., 2016; Lukic et al., 2019). Fenolické látky sa rozdeľujú podľa ich štruktúry na dve skupiny: flavonoidy a neflavonoidy, pričom tieto látky sa nachádzajú napríklad v dužine, v šupke bobúľ, ako aj v semenách. Prispievajú k senzorickým

vlastnostiam vína, sú súčasťou farby, chuti a trpkosti, čo sa mohlo prejaviť aj v prípade rozdiel v hodnotení vzoriek experimentálnych vín v tejto práci. Okrem flavonoidov zohrávajú významnú skupinu látok tzv. taníny, ktoré ovplyvňujú chuťovú trpkosť a zvierajúci pocit v ústach pri senzorickom posúdení vín (Llaudy et al., 2004). Okrem toho taníny v červených vínach ovplyvňujú aj stabilitu farby spolu s antokyánmi (Mazza, 1995).

Chuťový profil je v rámci hodnotenia vín zodpovedný za posúdenie aj arómy, ale prevažne za celkovú prijateľnosť spotrebiteľmi (Zhu et al., 2016), ako kritický ukazovateľ kvality nápojov vo všeobecnosti, a najmä alkoholických produktov (Yao et al., 2018).

Tabuľka č. 1 poukazuje na výsledky merania kolorimetrických parametrov experimentálnych vzoriek vín. Vzorky bielych vín (Tramín červený a Sauvignon blanc) pochádzajúce z Východoslovenskej vinohradníckej oblasti mali nižšiu svetlosť (L* parameter) v porovnaní so vzorkami z malokarpatskej vinohradníckej oblasti. Taktiež farba týchto vzoriek bielych vín sa pohybovala v červenom farebnom spektre (+a*), oproti vzorkám z Malokarpatskej oblasti, ktorých farba sa pohybovala viac v zelenom farebnom spektre (-a*).

V kolorimetrickom parametri žltosti vzoriek (b*) boli žltšie vzorky oboch bielych vín z Východoslovenskej vinohradníckej oblasti. Rozdiel v kolorimetrickom parametri svetlosti červených vzoriek vín boli len minimálne. Avšak, priemerne najvyššia intenzita červenej farby vzorky bola nameraná vo vzorka vína odrody Frankovka modrá z Východoslovenskej vinohradníckej oblasti.

Tabuľka 1 Výsledky stanovenia kolorimetrických parametrov experimentálnych vzoriek vín (priemer ± SD)

Vzorky	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	C*(D65)	h(D65)
TČ_A	72,48 ± 0,05	1,21 ± 0,02	30,16 ± 0,02	30,19 ± 0,01	87,71 ± 0,04
TČ_B	74,87 ± 0,08	-1,65 ± 0,03	28,06 ± 0,02	28,10 ± 0,02	93,36 ± 0,05
SB_A	73,71 ± 0,07	0,95 ± 0,00	25,19 ± 0,01	25,21 ± 0,01	87,84 ± 0,01
SB_B	76,01 ± 0,07	-2,97 ± 0,01	24,04 ± 0,03	24,22 ± 0,03	97,04 ± 0,04
FM_A	28,28 ± 0,01	2,33 ± 0,03	-0,87 ± 0,02	2,49 ± 0,04	339,63 ± 0,14
FM_B	28,19 ± 0,01	1,49 ± 0,01	-0,90 ± 0,01	1,74 ± 0,02	329,04 ± 0,14
DU_A	28,27 ± 0,00	1,30 ± 0,01	-0,92 ± 0,01	1,60 ± 0,02	324,73 ± 0,05
DU_B	28,21 ± 0,00	1,28 ± 0,01	-0,90 ± 0,01	1,56 ± 0,01	325,00 ± 0,52

A: Východoslovenská vinohradnícka oblasť; B: Malokarpatská vinohradnícka oblasť; TČ: odroda Tramín červený; SB: odroda Sauvignon blanc; FM: odroda Frankovka modrá; DU: odroda Dunaj.

ZÁVER

Z dosiahnutých výsledkov senzorickej analýzy vzoriek vín a kolorimetrických parametrov sme zistili, že existujú rozdiely medzi rovnakými odrodami vín, ktoré pochádzajú z rôznych vinohradníckych oblastí na území Slovenska. Na vzniku takýchto rozdielov sa však môže podieľať celý rad faktorov ako pestovateľské a vinárske technológie. Vo vzťahu k pôdnemu typu v danom vinohradníckom regióne, senzorické vlastnosti vína ovplyvňuje aj výber podpníka. Medzi ďalšie hlavné faktory ovplyvňujúce kvalitu vína patria environmentálne a technologické faktory. Preto by bolo zaujímavé v budúcnosti preskúmať vzťah a korelácie vybraných parametrov aj vo vzťahu ku senzorickým vlastnostiam bielych a červených vín.

LITERATÚRA

Cadot, Y., Caillé, S., Samson, A., Barbeau, G., Cheynier, V. 2010. Sensory dimension of wine typicality related to a terroir by quantitative descriptive analysis, just about right analysis and typicality assessment. *Analytica Chimica Acta* 660, 53–62.

Cadot, Y., Caillé, S., Thiollet-Scholtus, M., Samson, A., Barbeau, G., Cheynier, V. 2012. Characterisation of typicality for wines related to terroir by conceptual and by perceptual representations. An application to red wines from the Loire Valley. *Food Quality and Preference* 24, 48–58.
Gutiérrez-Gamboa, G., Garde-Cerdán, T., Portu, J., Moreno- Simunovic, Y., Martínez-Gil, A. M. 2017. Foliar nitrogen application in Cabernet Sauvignon vines: effects on wine flavonoid and amino acid content. *Food Research International* 96, 46–53.
Robinson, J. 2015. The Oxford companion to wine, 4th ed. (Oxford University Press: New York, NY, USA).
Chira, K., Pacella, N., Jourdes, M., Teissedre, P. L.2011. Chemical and sensory evaluation of Bordeaux wines (Cabernet-Sauvignon and Merlot) and correlation with wine age. *Food Chemistry*, 126, 1971–1977.
Heras-Roger, J., Díaz-Romero, C., Darias-Martín, J. 2016. A comprehensive study of red wine properties according to variety. *Food Chemistry*, 196, 1224–1231.
Lukic, I., Radek, S., Budic-Leton, I., Bubola, M., Vrhovsek, U. 2019. Targeted UPLC-QqQ-MS/MS profiling of phenolic compounds for di_erentiation of monovarietal wines and corroboration of particular varietal typicity concepts. *Food Chemistry*, 300, 125251.
Zhu, J. C., Chen, F., Wang, L. Y., Niu, Y. W., Chen, H. X., Wang, H. L., Xiao, Z. B. 2016. Characterization of the key aroma volatile compounds in cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) using gas chromatography–olfactometry (GC-O) and odor activity value (OAV). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 24, 4990–4999.
Yao, J. W., Zong, X. Y., Cui, C., Mu, L. X., Zhao, H. F. 2018. Metabonomic analysis of non-volatile small molecules of beers during forced ageing. *International Journal of Food Science and Technology*, 53, 7, 1698–1704.
Llaudy, M., Canals, R., Canals, J. M., Rozéz, N., Arola, L., Zamora, F. 2004. New method for evaluating astringency in red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 742–746.
Puckette, M., Hammack, J. Wine Folly: The Essential Guide to Wine, 1st ed.; Penguin: New York, NY, USA, 2015, s. 4.
The International Organisation of Vine and Wine (OIV). State of the Vitiviniculture World Market, State of the Sector in 2018.
Holmes, A. J., Anderson, K. 2017. Convergence in national alcohol consumption patterns: New global indicators. *Journal of Wine Economics*, 12, 117–148.
Bentzen, J., Smith, V. Developments in the structure of alcohol consumption in OECD countries. In Proceedings of the workshop on The World's Wine Markets by 2030: Terroir, Climate Change, R&D and Globalization, Adelaide Convention Centre, Adelaide, Australia, 7–9 February 2010.
Campbell, G., Guibert, N. 2006. Introduction: Old World strategies against New World competition in a globalising wine industry. *British Food Journal*, 108, 233–242.
Villanueva, E. C., Castillo-Valero, J. S., García-Cortijo, M. C. 2017. Wine consumer profiles from producing and importing countries in Europe are different. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 32, 115–125.
Smith, D. E., Mitry, D. J. 2007. Cultural convergence: Consumer behavioural changes in the European wine market. *Journal of Wine Research*, 18, 107–112.
Mazza G. Anthocyanins in grapes and grape products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1995, 35, 4, 341–71.
Mora, M., Urdaneta, E., Chaya, C. 2018. Emotional response to wine: Sensory properties, age and gender as drivers of consumers' preferences. *Food Quality and Preference*, 66, 19–28.
Charters, S., Pettigrew, S. 2007. The dimensions of wine quality. *Food Quality and Preference*, 18, 997–1007.
Bisson, L. F., Waterhouse, A. L., Ebeler, S. E., Walker, M. A., Lapsley, J. T. 2002. The present and future of the international wine industry. *Nature*, 18, 696.
Hopfer, H., Heymann, H. 2014. Judging wine quality: Do we need experts, consumers or trained panellists? *Food Quality and Preference*, 32, 221–233.
Charters, S., Pettigrew, S. 2005. Is wine consumption an aesthetic experience? *Journal of Wine Research*, 16, 121–136.

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.

Kontaktná adresa: Boris Semjon, MVDr., PhD., Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

ANALYTICKÉ A ANTIOXIDAČNÍ PARAMETRY VODNICE
ANALYTICAL AND ANTIOXIDANT PARAMETERS OF TURNIP

Soňa Škrovánková, Jiří Mlček, Gabriela Velková

Abstract: Turnip (*Brassica rapa* L.), a lesser-known vegetable from cruciferous family, has pleasant sensory properties and good antioxidant parameters. Analytical parameters (dry matter, titratable acidity, and crude fiber) and antioxidant characteristics (total polyphenols by Folin-Ciocalteu method, antioxidant activity by DPPH spectrometric method) were determined. In fresh samples, the dry matter was determined in the range from 4.90 to 5.15 %, total acids content on average 56.6 mg.100 g^{-1}, the crude fiber amount was on average 2.6 %. The total polyphenols values in fresh samples were in the range of 372–654 mg.100 g^{-1} d_w (dry weight). After one month of turnip storage under refrigerated conditions, the value of total polyphenols decreased by an average of 28.6 %, after two months of storage the content decreased to an average of 61.9 % of the original value. The antioxidant activity of fresh turnip ranged from 162 to 232 mg.100 g^{-1} d_w. After a month's storage, its value decreased by an average of 25.6 %, similarly to polyphenols. After 2-months storage, the value dropped to an average of 48.2 % of the value before storage. Turnips therefore belong to the types of vegetables that are best consumed fresh.
Keywords: turnip, analytical parameters, polyphenols, antioxidant activity

ÚVOD

Vodnice, brukev řepák vodnice (ředkev vodnice nebo také okrouhlice, slovensky okrúhlica), *Brassica rapa* L. subsp. *rapa*, var. *esculenta* L., patří do čeledi brukvovité (*Brassicaceae*). Užitkově se řadí do kořenové zeleniny, z čeledi brukvovitých tam patří i ředkvička, ředkev a tuřín. Vodnice může být zaměněna za tuřín, který však patří do jiného botanického druhu rodu *Brassica*. Vodnice má na rozdíl od tuřínu kratší vegetační dobu, rostlina má jemnější stavbu, semena jsou drobnější a listy jsou trávově zelené (Kott And Moravec, 1989).

Vodnice byla pěstována už ve starověkém Řecku a Římě jako zelenina i krmivo, kde se řadila mezi významné plodiny, ve středověku patřila vodnice v Evropě k běžným rostlinám. Je známa svěží chutí, podobající se chuti ředkvičky a kedlubny. Bulvy vodnice mají různé tvary, jsou kulovité, válcovité, zploštělé a vřetenovité. Zbarvení bulvy bývá nejčastěji bílé, žluté, nafialovělé, šedé nebo i dvoubarevné, kdy barva horní části bulvy může být zelená, červená, fialová, spodní část bílá nebo žlutá. Dužnina je běžně bílá nebo žlutá (Biggs et al., 2004; Křesadlová, Vilím, 2005; Kott, Moravec, 1989).

Vodnici je možné, u raných odrůd, konzumovat v syrovém stavu, pozdnější odrůdy je potřeba před úpravou zbavit vnější slupky. Syrové bulvy je možné vařit, dusit, péct, grilovat nebo smažit, může se také nakládat do solných nálevů a konzumovat mléčně kvašená. Kromě bulev je také možno konzumovat i mladé listy jako čerstvé do salátů nebo upravené ve formě špenátu (Křesadlová, Vilím, 2005; Kott, Moravec, 1989).

Bulvy vodnice mají nízkou energetickou hodnotu, ve své bulvě z hlavních živin obsahují hlavně sacharidy (4,7 mg.100 g^{-1}) s vlákninou, bílkoviny a tuky jen minimálně. Dále obsahuje některé vitaminy (nejvyšší množství ve vodnici má vitamin C, 17 mg.100 g^{-1}, a vitamin B_3) a minerální prvky, kdy nejvyšší obsah z minerálních prvků má draslík 280 mg.100 g^{-1}, dále vápník 48 mg.100 g^{-1} a fosfor 41 mg.100 g^{-1}). Z organických kyselin se ve vodnici vyskytuje nejvíce kyselina jablečná, která zastupuje téměř 80 % kyselin v bulvě. Také jsou ve vodnici přítomny kyselina citronová, ketoglutarová a fumarová. Významnými složkami jsou

glukosinoláty, které se běžně vyskytují v zelenině z čeledi brukvovitých. Jde o sekundární metabolity, které se podílí na chuti a vůni zeleniny, a vykazují i významné biologické účinky. Obsah glukosinolátů ve vodnici se pohybuje od 74,2 do 133,6 mg.100 g^{-1} bulvy. Je závislý na pěstebních podmínkách, odrůdě a dešťových srážkách a na teplotě při pěstování. Při malém množství srážek a při vyšších teplotách při pěstování dochází k růstu obsahu glukosinolátů. Nejvyšší obsah v bulvách vodnice má glukonasturtin, aromatický glukosinolát (2-fenyletyl), až 54,4 % ze všech glukosinolátů, dále progoitrin, 11,6 %, glukobrasikanapin, 10,9 % a neoglukobrasicin, 5,5 % ze všech glukosinolátů. Ostatní glukosinoláty představují méně než 20 % z celkového obsahu glukosinolátů ve vodnici. V rostlinách jsou glukosinoláty doprovázeny enzymem myrozinázou. Glukosinoláty jsou poměrně stabilní v neporušených pletivech, ale při mechanickém poškození pletiv (řezání, žvýkání) se hydrolyzují působením endogenního enzymu myrozinázy na různé bioaktivní a rozkladné těkavé produkty, jako jsou izotiokyanáty, které vznikají při fyziologickém pH, a vyznačují se ostrou nebo hořkou chutí, a podílí se tak na organoleptických vlastnostech vodnice. Tepelné zpracování zeleniny je zodpovědně za inaktivaci enzymů, včetně myrozinázy. V závislosti na čase a teplotě, i vlivem louhování, dochází u glukosinolátů k částečnému rozkladu. Některé produkty vznikající z glukosinolátů jsou termolabilní, a těkavé, a po uvaření zeleniny se tedy může významně změnit aroma. Přibližně třetina až polovina původního obsahu glukosinolátů ale zůstává během tepelného opracování nezměněna. Z polyfenolů, významných antioxidantů, se v bulvě vodnice vyskytuje v největším množství kyselina sinapová a její deriváty, flavonoly a chlorogenová kyselina a její deriváty. V listech vodnice je stejný poměr těchto sloučenin, ale oproti bulvě je v listech vyšší obsah kyseliny sinapové a jejich derivátů. Všeobecně listy vodnice obsahují více živin ve srovnání s kořeny (Fernandes et al., 2007; Prugar et al., 2008; Kopec, 1998; Velíšek, Hajšlová, 2009; Baenas et al., 2012; Ciska et al., 2000; Zhang et al., 2008).

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky vodnice: 5 vzorků vodnice, kořenová část, bulva. Vzorky (3 kusy od jednotlivých vzorků) byly skladovány po dobu 2 měsíců v chladničce, za přístupu vzduchu při teplotě 8 ± 2 ˚C. Vzorek 1 (Tokyo‘, domácí produkce, říjen, Hodonínsko), 2 (‚Snowball‘, domácí produkce, říjen, Hodonínsko), 3 (bioprodukce, říjen, Zlínsko), 4 (obchodní síť Billa, prosinec, Itálie), 5 (obchodní síť Kaufland, prosinec, ČR).

Stanovení sušiny: kontrolní metoda (5 g vzorku, předsušení při 55 °C, 24 h; sušení při 105 °C do konstantního úbytku hmotnosti). Měření sušiny i po měsíčním a 2-měsíčním skladování.

Stanovení celkového obsahu kyselin: po rozmixování vzorku bulvy vodnice, filtrace. Potenciometrická titrace pomocí pH metru s odměrným roztokem NaOH (0,1 M). Bod ekvivalence byl stanoven při pH 8,1. Celkový obsah kyselin je vyjádřen jako obsah kyseliny jablečné.

Stanovení hrubé vlákniny: gravimetrická metoda – vážení zbytku vysušeného vzorku (1 g) po hydrolýze v přístroji ANKOM220 Fiber Analyzer (ANKOM Technology, USA). Roztok H_2SO_4 (0,1275 M) za vyšší teploty, výplach horkou vodou, roztok NaOH (0,313 M) za vyšší teploty. Vzorky po extrakci v sáčcích (F57) propláchnuty, vysušeny při 105 °C a zváženy. Následně spáleny při 550 °C a opět zváženy.

Stanovení celkového obsahu polyfenolických látek (PF): modifikovaná fotometrická metoda (Končić, Jug, 2011), reakce extraktu vzorku 0,1 ml (5 g, 50 ml vody, po rozmixování filtrace) a Folin-Ciocalteuova činidla (Penta, ČR), reakční čas 5 min, přídavek Na_2CO_3 (1 ml, 10 %), a po uplynutí 15 min (tma, laboratorní teplota) měření vzniklého barevného komplexu spektrofotometrem (Spekol 11, Zeiss Jena, SRN) při 750 nm. Celkový obsah PF vyhodnocen pomocí standardu kyseliny gallové (KG) a vyjádřen jako ekvivalent kyseliny gallové v mg.

100 g^{-1} sušiny jedlého podílu. Stanovení bylo opakováno v průběhu dvou-měsíčního skladování vzorků.

Stanovení antioxidační aktivity (AA): modifikovaná fotometrická metoda s DPPH (Končić, Jug, 2011). Pokles absorbance (redukce radikálu DPPH•**)** u odbarvené směsi měřen při 515 nm. Reakční směs složena z extraktu vzorku vodnice, 0,1 ml (5 g, 50 ml vody, po rozmixování filtrace), 1 ml acetátového pufru (pH 5,5) a 1,9 ml etanolového roztoku DPPH (0,2 mM, Aldrich, USA). Po uplynutí reakčního času (1 hod, temno, lab. teplota) byla absorbance měřena na spektrofotometru (Spekol 11, Zeiss Jena, SRN) při 515 nm. Antioxidační aktivita byla vyjádřena pomocí standardu kyseliny askorbové (KA) v jednotkách mg ekvivalentu kyseliny askorbové na 100 g sušiny jedlého podílu. Pro zjištění AA v průběhu skladování byly vzorky proměřovány s odstupem měsíce po dobu dvou měsíců od zakoupení, či sklizně vzorků.

Výsledky jsou udávány jako průměr ze tří stanovení se směrodatnou odchylkou (s).

VÝSLEDKY A DISKUZE

V čerstvých vzorcích vodnice byla stanovena sušina, která se pohybovala v úzkém rozmezí od 4,90 do 5,15 % s průměrem 4,77 % a mediánem 4,81 %, přičemž Kopec (1998) udává v tabulkách nutričních hodnot zeleniny vyšší obsah sušiny ve vodnici, 88 $g.kg^{-1}$, 8,8 %. Po měsíčním skladování, v lednici za běžných podmínek, byla sušina v rozpětí 4,90 – 5,09 % s průměrem 4,99 % a mediánem 4,94 %, tedy jen minimální změna obsahu vody. Po 2-měsíčním skladování byla sušina zjištěna v rozmezí 5,03 – 5,28 % s průměrem a mediánem 5,15 %. Obsah sušiny zeleniny je všeobecně ovlivňován odrůdou, klimatickými podmínkami při pěstování a sklizni, a také dobou a podmínkami skladování.

Celkový obsah kyselin (CK) u vzorků vodnice, vyjádřen jako obsah kyseliny jablečné, se pohyboval v rozmezí 50–69 mg.100 g^{-1} vzorku (Tab. 1) s průměrem 56,6 mg.100 g^{-1} a mediánem 52 mg.100 g^{-1}, to jsou hodnoty podobné např. kyselosti červené řepy (39–63 mg.100 g^{-1} vzorku).

Obsah hrubé vlákniny (HV) ve vodnici se pohybuje v rozmezí 2,49 – 2,75 % (Tab. 1) s průměrem a mediánem 2,6 %. Kováčiková et al. (2022) uvádí hrubou vlákninu ve vodnici v průměrném množství 2,5 g.100 g^{-1}, což představuje 2,5 %. Tato hodnota je blízká hodnotě HV červené řepy (2,3 g.100 g^{-1}), tuřínu (2,4 g.100 g^{-1}), nebo zelí bílého hlávkového (2,7 g.100 g^{-1}).

Tabulka 1 Celkový obsah kyselin a obsah hrubé vlákniny ve vzorcích vodnice.

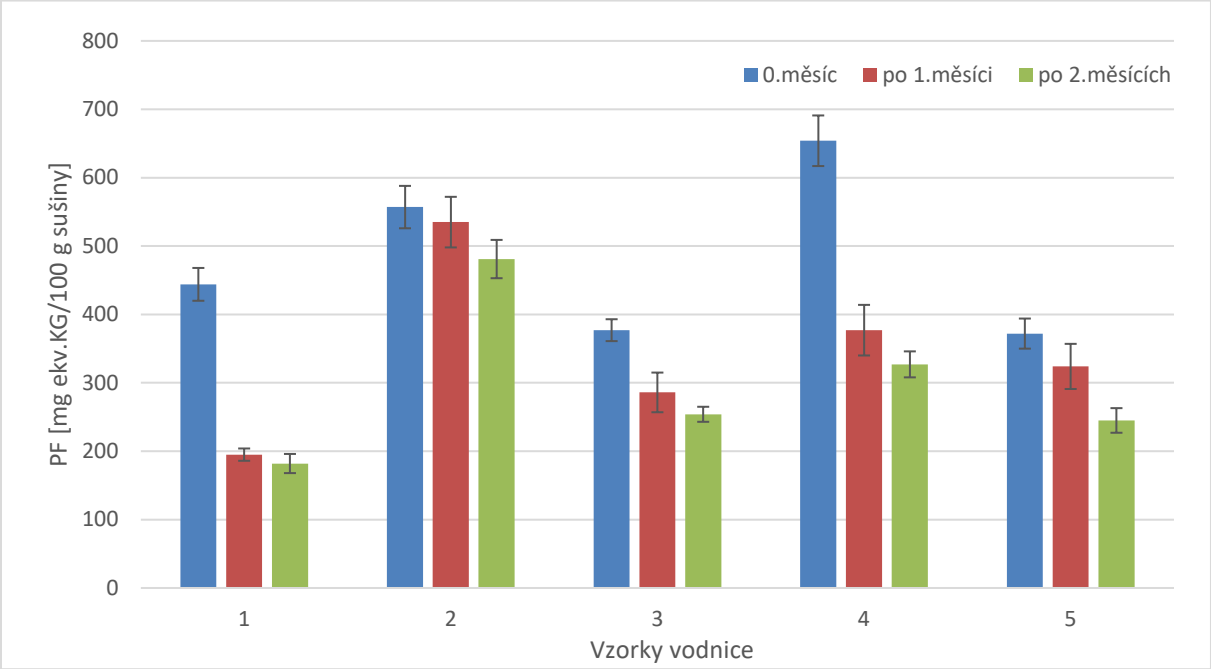
	CK [mg.100 g^{-1}]		HV [%]	
	CK	s	HV	s
1	69	1,2	2,50	0,04
2	62	1,0	2,75	0,06
3	52	0,9	2,62	0,03
4	50	1,1	2,60	0,05
5	50	0,8	2,49	0,04

Hodnoty obsahu celkových polyfenolů (PF) (Obr. 1) se v čerstvé vodnici pohybují v rozmezí 372–654 mg ekv. kyseliny gallové (KG).100 g^{-1} sušiny vzorku s průměrem 480,8 mg.100 g^{-1} a mediánem 444 mg.100 g^{-1}. Nejvyšší obsah polyfenolů byl určen u vzorku původem z Itálie, nejnižší u vzorků s místem původu ČR, jak z bioprodukce, tak i z obchodní sítě.

Po skladování po dobu 1 měsíc došlo k poklesu množství celkových polyfenolů, hodnoty se pohybovaly od 195 do 535 mg ekv. KG.100 g^{-1} s průměrem 343,4 mg.100 g^{-1} a mediánem 324 mg.100 g^{-1}. Po jednoměsíčním skladování vodnice za běžných podmínek

v lednici se hodnota celkových polyfenolů tedy snížila v průměru o 28,6 %. Po skladování vodnice po dobu dvou měsíců byl obsah polyfenolů v rozpětí 182–481 mg ekv. KG.100 g^{-1}, průměr 297,8 mg.100 g^{-1}a medián 254 mg.100 g^{-1}. Po dvouměsíčním skladování se tedy obsah polyfenolů snížil průměrně na 61,9 % původní hodnoty PF v čerstvém stavu před skladováním.

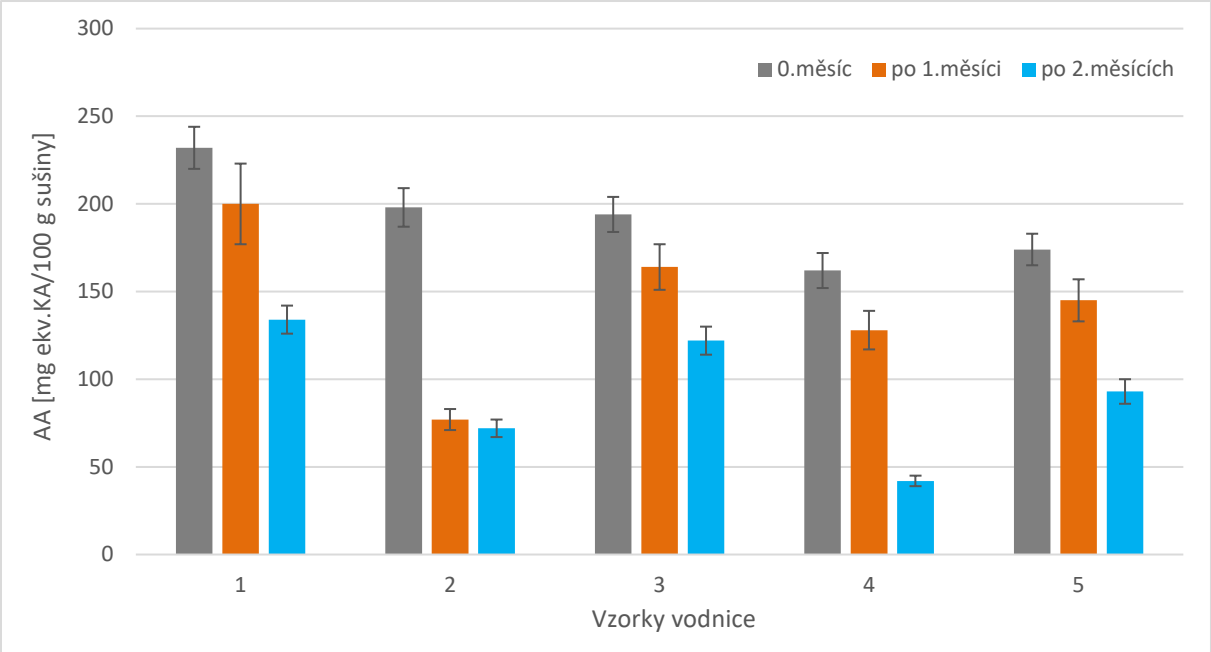
Sengul et al. (2011) zjišťovali obsah celkových polyfenolů v různých odrůdách vodnice z Turecka, přičemž zjistili velkou variabilitu obsahu polyfenolů v závislosti na odrůdě, v rozmezí od 16,59 do 70,22 mg ekv. KG.100 g-1, tedy nižších hodnotách, než byly zjištěno v naši studii. Aires et al. (2011) stanovovali obsah celkových polyfenolů v bulvách vodnice v závislosti na době výsadby a pěstování: jaro-léto, léto-podzim. Zjistili, že v plodech pěstovaných v období jaro-léto byl obsah PF 730–880 mg ekv. KG.100 g^{-1}, a z doby léto-podzim 1050–1180 mg ekv. KG.g^{-1}, tedy pozdnější odrůdy obsahovaly více polyfenolů než odrůdy rané.



Obrázek 1 Obsah celkových polyfenolů (PF) ve vzorcích vodnice v průběhu skladování.

Antioxidační aktivita (AA) (Obr. 2) čerstvé vodnice se pohybovala v rozpětí od 162 do 232 mg ekv. kyseliny askorbové (KA).100 g^{-1} sušiny vzorku s průměrem 192 mg.100 g^{-1} a obdobným mediánem 194 mg.100 g^{-1}. Nejvyšší AA byla stanovena u vzorku odrůdy, Tokyo‘ z domácí produkce, ČR, u kterého byla zjištěna i nejvyšší hodnota AA po skladování.

Po měsíčním skladování bylo zjištěno snížení hodnoty AA na hodnoty 77–200 mg ekv. KA.100 g^{-1} s průměrem 142,8 mg.100 g^{-1} a s podobným mediánem 145 mg.100 g^{-1}. Po skladování vodnice, za běžných podmínek v lednici, se hodnota AA tedy snížila v průměru o 25,6 %, obdobně jako u PF. Po 2-měsíčním skladování vodnice byla hodnota AA v rozmezí od 42 do 134 mg ekv. KA.100 g^{-1}, s průměrem 92,3 mg.100 g^{-1} a téměř totožným mediánem 93 mg.100 g^{-1}. Po skladování poklesla hodnota AA průměrně na 48,2 % původní hodnoty AA v čerstvém stavu před skladováním, jde o výrazný pokles o 51,8 %.



Obrázek 2 Antioxidační aktivita (AA) vzorků vodnice v průběhu skladování.

ZÁVĚR

Vodnice, *Brassica rapa* L., z čeledi brukvovité, patří sice k méně známým zeleninám, ale její vlastnosti, jak senzorické charakteristiky (svěží chuť podobající se chuti ředkvičky a kedlubny), tak i antioxidační parametry, se také řadí k podobně významným jako jiné druhy brukvovité zeleniny. V čerstvých vzorcích vodnice byla stanovena sušina v rozmezí od 4,90 do 5,15 %, po 2-měsíčním skladování byla sušina jen mírně vyšší, 5,03–5,28 %. Celkový obsah kyselin byl v průměru 56,6 mg.100 g^{-1}, hodnoty podobné červené řepě. Obsah hrubé vlákniny se pohybuje v rozmezí 2,49 – 2,75 %, je blízká hodnotě tuřínu, červené řepy nebo zelí bílého hlávkového. Hodnoty obsahu celkových polyfenolů se v čerstvé vodnici pohybují v rozmezí 372–654 mg ekv. kyseliny gallové/100 g^{-1} sušiny vzorku. Po jednoměsíčním skladování vodnice za běžných podmínek v lednici se hodnota celkových polyfenolů snížila v průměru o 28,6 %, po dvouměsíčním skladování obsah polyfenolů klesl průměrně na 61,9 % původní hodnoty v čerstvém stavu před skladováním. Antioxidační aktivita čerstvé vodnice se pohybovala v rozpětí od 162 do 232 mg ekv. kyseliny askorbové/100 g sušiny vzorku. Po měsíčním skladování vodnice za běžných podmínek v lednici se její hodnota snížila v průměru o 25,6 %, obdobně jako u polyfenolů. Po 2-měsíčním skladování poklesla hodnota průměrně na 48,2 % původní hodnoty v čerstvém stavu před skladováním, jde tedy o výrazný pokles o 51,8 %. Vodnice patří tedy k druhům zeleniny, kterou je nejvhodnější konzumovat v čerstvém stavu, ale i po měsíčním skladování si zachovává poměrně vysoké hodnoty antioxidačních parametrů.

LITERATURA

Aires, A., Fernandes, C., Carvalho, R., Bennett, R. N., Saavedra, M. J., Rosa, E. A. 2011. Seasonal Effects on Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of Six Economically Important *Brassica* Vegetables. In *Molecules*, 16, 6816-6832.

Baenas, N., Moreno, D. A., García-Viguera, C. 2012. Selecting Sprouts of *Brassicaceae* for Optimum Phytochemical Composition. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 11409-11420.

Biggs, M., Mcvicar, J., Flowerdew, B. *Velká kniha zeleniny, bylin a ovoce*. 2004. Praha : Volvox Globator. ISBN 80-720-7537-3.

Ciska, E., Martyniak-Przybyszewska, B., Kozlowska, H. 2000. Content of Glucosinolates in Cruciferous Vegetables Grown Same Site for Two Years under Different Climatic Conditions. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2862-2867.
Fernandes, F., Valentaõ, P., Sousa, C., Pereira, J. A., Seabra, R. M., Andrade, P. B. 2007. Chemical and antioxidative assessment of dietary turnip *(Brassica rapa* var. *rapa L.)*. In *Food Chemistry*, 105, 1003-1010.
Končić, Z. M., Jug, M. 2011. Antioxidant and Bioadhesive Properties of Onions (*Allium* L., *Alliaceae*): Processed Under Acidic Conditions. In *International Journal of Food Properties*, 14, 92-101.
Kopec, K. 1998. *Tabulky nutričních hodnot ovoce a zeleniny*. Praha : Ústav zemědělských a potravinářských informací. ISBN 80-86153-64-9.
Kott, L., Moravec, J. 1989. *Pěstování A Použití Méně Známých Zelenin*. Praha : SZN. ISBN 07-035-89.
Kováčiková, E., Vojtaššáková, A., Mosnáčková, J., Pastorová, J., Holčíková, K., Simonová, E., Košická, M. Vláknina v potravinách. In: *Výskumný ústav potravinársky* [online]. Dostupné na: http://www.vup.sk/index.php?mainID=1&navID=43.
Křesadlová, L., Vilím, S. 2005. *Zelenina z vlastní zahrady*. Brno : CP Books. ISBN 80-251-0261-0.
Prugar, J. a kol. 2008. *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí*. Praha : Výzkumný ústav pivovarský a sladařský. ISBN 978-80-86576-28-2.
Sengul, M., Yildiz, H., Ercisli, S., Yildirim, E., Turan, M., Ozdemir, O., Sener, D. 2011. Some Phytochemical Characteristics of Turnip *(Brassica rapa var. rapa L.)* roots. In *Italian Journal of Food Science*, 23, 338-343.
Velíšek, J., Hajšlová, J. 2009. *Chemie potravin II*. Tábor : OSSIS. ISBN 978-80-86659-16-9.
Zhang, H., Schonhof, I., Krumbein, A., Gutezeit, B., Li, H., Stützel, H., Schreiner, M. 2008. Water supply and growing season influence glucosinolate concentration and composition on turnip root *(Brassica rapa* ssp. *rapifera L.)*. In *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 171, 255-265.

Kontaktní adresa: Soňa Škrovánková, Ing. PhD., Ústav analýzy a chemie potravin, Technologická fakulta, Univerzita T. Bati, Vavrečkova 5669, 760 01 Zlín

https://doi.org/10.15414/2023.sqf23-psp

Názov: Bezpečnosť a kvalita potravín - zborník vedeckých prác

Zostavili: prof. Ing. Jozef Golian, Dr., Ing. Jozef Čapla, PhD.

Vydavateľ: Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárske vedy pri SAV

Vydanie: prvé

Rok vydania: 2023

Forma vydania: online

Neprešlo redakčnou úpravou

ISBN 78-80-8266-028-2