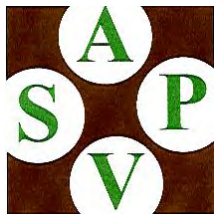




SLOVENSKÁ SPOLOČNOSŤ PRE
POĽNOHOSPODÁRSKE,
LESNÍCKE, POTRAVINÁRSKE A
VETERINÁRSKE VEDY PRI SAV



SLOVENSKÁ AKADÉMIA
PÔDOHOSPODÁRSKYCH VIED

BEZPEČNOSŤ A KVALITA POTRAVÍN

Zborník vedeckých prác



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

BEZPEČNOSŤ A KVALITA POTRAVÍN
Zborník vedeckých prác



Nitra, 2024

Bezpečnosť a kvalita potravín. Zborník vedeckých prác

Zostavovatelia

prof. Ing. Jozef Golian, Dr.,

Ing. Jozef Čapla, PhD.

Recenzenti

prof. Ing. Stanislav Kráčmar, DrSc.

Emeritný profesor Univerzity Tomáše Bati ve Zlíne

prof. Ing. Marcela Capcarová, DrSc.

Ústav aplikovanej biológie FBP SPU v Nitre

doc. Ing. Šárka Nedomová, Ph.D.

Agronomická fakulta Mendelova univerzita v Brne

doc. Ing. Libor Červenka, Ph.D.

Fakulta chemicko-technologická Univerzita Pardubice

doc. Ing. Soňa Škrovánková, Ph.D.

Fakulta technologická Univerzita Tomáše Bati v Zlíne

doc. Ing. Margita Čanigová, PhD.

Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárske vedy pri SAV

doc. MUDr. Peter Minárik, CSc.

Slovenská akadémia pôdohospodárskych vied

Vedecký garant

Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárske vedy pri SAV

Vydavateľ: Garmond Nitra

Miesto a rok vydania: Nitra, 2024



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

ISBN 978-80-8266-056-5

DOI: <https://doi.org/10.15414/2024.sqf24-pp>

OBSAH

Mikrobiologická a mykologická bezpečnosť a kvalita potravín	7
Vplyv skladovania medov na mikrobiálnu populáciu <i>Soňa Felšöciová, Simona Kunová</i>	8
Zastúpenie radu <i>Enterobacterales</i> a rodu <i>Enterococcus</i> v surovom mlieku rôznych druhov zvierat <i>Zuzana Hanzelová, Eva Dudriková, Jana Zahumenská, Viera Lovayová</i>	17
Výskyt deoxynivalenolu v pšenici sietej <i>Michaela Harčárová, Pavel Nad', Andrej Marcin, Tomáš Mihok, Alena Hreško Šamudovská</i>	23
Výskum listových symptómov odumierania botryosphaeria a morfolypovej diverzity mikroskopických húb <i>Martin Janás, Štefan Ailer, Lucia Benešová</i>	28
Vliv porušení teploty skladování na celkový počet mikroorganismů u vzorků chlazené drůbeže (balené v ochranné atmosféře) <i>Lenka Necidová, Šárka Bursová, Danka Haruštiaková, Alena Zouharová, Klára Bartáková</i>	35
Vývoj mykobioty vína počas fermentačného procesu <i>Ivana Regecová, Jana Výrostková, Boris Semjon, Zuzana Megyesy Eftimová, Slavomír Marcinčák</i>	40
Mikrobiální testování raw chleba <i>Ivana Stará, Veronika Bugáňová, Iveta Brožková, Marcela Pejchalová, Libor Červenka</i>	44
Posouzení vlivu země původu a obsahu kapsaicinu na mikrobiální kontaminaci papriky a chilli <i>Karolína Špačková, Olga Cwíková, Alžběta Jarošová, Gabriela Franke</i>	49
Vplyv vybraných rastlinných silíc získaných z rastlín čeľade <i>Rutaceae</i> na <i>Botrytis cinerea</i> <i>Dana Tančinová, Monika Mrvová, Zuzana Mašková, Zuzana Barboráková</i>	57
Čo pre predikcie rastu <i>Listeria monocytogenes</i> vyplynulo z matematickej analýzy dvoch kmeňov vyskytujúcich sa vo výrobe potravín opakovane a sporadicky? <i>Lubomír Valík, Jana Minarovičová, Eva Kačlíková, Tomáš Kuchta</i>	63
Vývoj mikrobioty počas fermentačného procesu vína <i>Jana Výrostková, Ivana Regecová, Boris Semjon, Zuzana Megyesy Eftimová, Slavomír Marcinčák, Martin Bartkovský</i>	67
Chemická bezpečnosť potravín	71
Stanovenie obsahu aflatoxínu M1 vo vzorkách mlieka slovenského pôvodu <i>Lukáš Kolarič, Peter Šimko</i>	72
Hladiny PAU v králičích párkoch zo skupiny V4 <i>Lukasz Migdał, Anna Migdał, Eva Tumova, Darina Chodova, Radoslav Zidek, Istvan Nagy, Sylwia Pałka, Michał Kmiecik, Władysław Migdał</i>	80
Vplyv pôvodu na obsah ťažkých kovov vo výberovej káve <i>Matúš Várady, Monika Pipová, Soňa Pivka, Pavlína Jevinová, Peter Popelka</i>	82
Polyfenoly, kofeín a akrylamid vo výberovej káve rôzneho geografického pôvodu <i>Matúš Várady, Jozef Nagy, Alena Nagyová, Martin Bartkovský, Peter Popelka</i>	87
Zhodnotenie sanitačných opatrení v pekárenskom podniku <i>Mária Vargová, František Zigo, Jana Výrostková, Zuzana Farkašová</i>	92
Výživa a bezpečnosť potravín	96
Larvy muchy čiernej (<i>Hermetia illucens</i>) a ich schopnosť spracovať substráty kontaminované nebezpečnými látkami <i>Zuzana Barboráková, Dana Tančinová, Monika Mrvová, Zuzana Mašková</i>	97
Charakterizácia granulometrie voľných potravín <i>Michaela Bartončíková, Lubomír Lapčík, Barbora Lapčíková</i>	104
Mrazené ovocie a zelenina – význam vo výžive ľudí a jeho kvalita a bezpečnosť – koncept „jedno zdravie“ <i>Eva Dudriková, Jana Zahumenská, Zuzana Hanzelová</i>	111
Vliv kulinární úpravy na nutriční hodnotu hmyzu <i>Lenka Kouřimská, Dora Petříčková, Martin Kulma, Michal Kurečka, Tereza Michlová, Barbora Lampová</i>	117
Kvalita mrazeného špenátového pretlaku z pohľadu spotrebiteľa <i>Mariana Kováčová, Jana Zahumenská, Eva Dudriková, Zuzana Hanzelová</i>	126
Podmienky chovu lariev muchy čiernej potenciálne využiteľnej v biokonverzii kuchynského odpadu <i>Zuzana Mašková, Dana Tančinová, Monika Mrvová, Zuzana Barboráková</i>	132
Mořské řasy v potravinách <i>Martina Pečová, Bohuslava Tremlová</i>	142
Vliv půdního pokryvu na základní parametry medů	147

<i>Matej Pospiech, Simona Ljasovská, Marie Bartlová, Helena Čížková, Vojtěch Kružík, Dalibor Titěra, Barbara Prus, Bohuslava Tremlová</i>	
Vývoj skutočnej a predikcia budúcej spotreby vybraných skupín potravín <i>Roman Récky, Zdenka Kádeková, Ingrida Košičiarová, Ivana Bulanda, Vladimír Vavrečka</i>	152
Holistický pohľad na ekonomiku spotreby potravín na Slovensku <i>Patrik Rovný, Andrea Rovná Panšulovie</i>	159
Kvalita pitnej vody určenej pre hromadné zásobovanie vo vybraných obciach regiónu Orava <i>Lucia Zeleňáková, Martina Fikselová, Anna Kolesárová</i>	167
Bezpečnosť a kvalita mlieka a mliečnych výrobkov	175
Hladiny mastných kyselín v mastitídnom kravskom mlieku <i>Zuzana Farkašová, František Zigo, Mária Vargová, Silvia Ondrašovičová, Ewa Pecka-Kielb</i>	176
Hodnotenie zdravotného stavu vemena kôz na základe počtu somatických buniek a prítomnosti patogénov <i>Barbora Gancárová, Kristína Tvarožková, Vladimír Tančin, Lucia Mačuhová, Michal Uhrinčať, Martina Vršková</i>	182
Vplyv počtu somatických buniek, štádia laktácie a poradia vstupu do dojárne na množstvo a zloženie mlieka <i>Lucia Mačuhová, Vladimír Tančin, Juliana Mačuhová, Barbora Gancárová, Kristína Tvarožková, Martina Vršková, Michal Uhrinčať</i>	187
Hodnotenie kvalitatívnych ukazovateľov ovčieho mlieka s dôrazom na počet somatických buniek <i>Marta Oravcová, Lucia Mačuhová, Martina Vršková, Vladimír Tančin</i>	192
Zhodnotenie počtu somatických buniek v kozom mlieku <i>Vladimír Tančin, Barbora Gancárová, Lucia Mačuhová, Michal Uhrinčať, Martina Vršková, Kristína Tvarožková, Marta Oravcová</i>	196
Hodnotenie zdravotného stavu mliečnej žľazy bahnic prostredníctvom počtu somatických buniek, prítomnosti patogénov a ich rezistencie voči antibiotikám <i>Kristína Tvarožková, Vladimír Tančin, Barbora Gancárová, Lucia Mačuhová, Michal Uhrinčať, Martina Vršková, Lukáš Hleba</i>	200
Produkcia mlieka, tuku, bielkovín a laktózy za laktáciu podľa rôznych úrovni počtu somatických buniek u dojnych kôz <i>Michal Uhrinčať, Vladimír Tančin, Lucia Mačuhová, Martina Vršková, Kristína Tvarožková, Barbora Gancárová, Marta Oravcová, Martin Ptáček</i>	205
Vplyv počtu somatických buniek na mliekovú úžitkovosť kôz na vybranej farme <i>Martina Vršková, Vladimír Tančin, Lucia Mačuhová, Michal Uhrinčať, Marta Oravcová</i>	212
Výskyt a etiológia mastitíd v produkčných chovoch dojnic <i>František Zigo, Zuzana Farkašová, Silvia Ondrašovičová, Mária Vargová, Juliana Arvaiová, Ewa Pecka-Kielb</i>	217
Bezpečnosť a kvalita mäsa a mäsových výrobkov	225
Stanovenie vybraných mikrobiologických parametrov v rybacej surovine <i>Lucia Benešová, Ladislav Ondruš, Silvia Jakobová, Peter Zajác, Jozef Čapla, Jozef Čurlej, Jozef Golian</i>	226
Fyzikálno-chemická a mikrobiologická analýza emulzií tymián-CMC na predĺženie skladovateľnosti kreviet <i>Shweta Gautam, Tereza Hůsková, Lubomír Lapčík, Barbora Lapčíková</i>	230
Mikrobiologická kvalita bravčového mäsa ošetrovaného rastlinnými silicami <i>Simona Kunová, Ivana Timoracká, Viktória Zachar Lovászová, Martina Fikselová, Miroslava Kačániová</i>	236
Zníženie exkrécie dusíkatých látok u moriek po prijme humínových látok a pozitívny vplyv na obsah bielkovín v stehennej svalovine <i>Andrej Marcin, Pavel Naď, Michaela Harčárová, Alena Hreško Šamudovská, Tomáš Mihok, Lukáš Bujňák, Štefánia Molnárová</i>	244
Kvalita mäsových výrobkov z mäsa pôvodných poľských plemien oviec <i>Władysław Migdał, Maria Walczycka, Bartłomiej Faber, Anna Migdał, Lukasz Migdał</i>	248
Nutričné parametre stehennej svaloviny moriek po perorálnom podávaní aditív <i>Tomáš Mihok, Andrej Marcin, Alena Hreško Šamudovská, Michaela Harčárová, Lukáš Bujňák, Pavel Naď, Petra Tímkovičová Lacková</i>	254
Význam skrmovania probiotík a humínových látok na kvalitu mäsa brojlerových kurčiat <i>Anna Reitznerová, Boris Semjon, Martin Bartkovský, Jozef Nagy, Stanislav Lauko, Martin Faldyna, Dagmar Mudroňová, Slavomír Marcinčák</i>	259
Bezpečnosť a kvalita potravín rastlinného pôvodu	264
Hodnotenie vplyvu techník výroby vína na hladiny histamínu vo víne <i>Lucia Benešová, Štefan Ailer, Martin Janás</i>	265
Charakteristika vybraných slovenských odrôd vín rôzneho pôvodu v súvislosti s ich antioxidantnou aktivitou a obsahom	270

polyfenolických látok <i>Martina Fikselová, Silvia Jakobová, Simona Kunová, Lucia Zeleňáková, Jozef Čapla, Jozef Golian, Janka Pokryvková</i>	
Studium faktorů ovlivňujících oxidační stabilitu snídaňových cereálií <i>Miroslav Fišera, Vladimír Bezděk, Daniela Sumczynski, Helena Velichová</i>	277
Aplikácia analýzy textúry na hodnotenie zemlí vyrobených zo slovenských odrôd pšenice <i>Tatiana Holkovičová, Zlatica Kohajdová, Michaela Lauková, Lucia Minarovičová, Ladislav Staruch</i>	286
Inštrumentálna zobrazovacia technika ako nástroj na charakterizáciu farby sous-vide rastlinného produktu <i>Patricia Joanidis, Jana Štefániková, Marek Šnirc, Ivana Mezeyová</i>	291
Nová derivatizační metoda pro stanovení ethylkarbamátu v lihovinách <i>Jitka Klikarová, Michal Kašpar, Milan Sýs</i>	298
Kvasné vlastnosti cesta s prídavkom lyofilizovaného ovocia <i>Anna Kolesárová, Tatiana Bojňanská, Miriam Solgajová, Andrea Mendelová, Lucia Zeleňáková</i>	302
Analýza preferencií spotrebiteľov v oblasti jedlých gélov <i>Melina Korčok, Veronika Vigašová, Katarína Poláková, Vladimír Vietoris</i>	308
Stanovení těkavých látek řepkových olejů <i>Vojtěch Kružík, Anna Zelenková, Helena Čížková, Aleš Rajchl</i>	316
Aplikácia extraktov z liečivých rastlín do ovocných štiav s cieľom zvýšenia ich senzorickej a nutričnej kvality <i>Andrea Mendelová, Lubomír Mendel, Miriam Solgajová, Ján Mareček</i>	322
Aplikace elektrochemických metod při analýzách koření <i>Radovan Metelka, Granit Jashari, Milan Sýs, Monika Bínová</i>	328
Testování procesu izolace a purifikace kyseliny ferulové z pšeničných otrub <i>Jakub Nábělek, Pavel Diviš, Jaromír Pořízka</i>	333
Baktericidná účinnosť strieborných nanočastíc syntetizovaných pomocou extraktu z listov levandule <i>Silvia Ondrašovičová, František Zigo, Zuzana Farkašová, Jana Zahumenská, Oksana Velgosová, Lívia Mačák</i>	337
Zmeny kolorimetrických parametrov vzoriek bielych vín počas skladovania v rôznych teplotných podmienkach <i>Boris Semjon, Lea Jenčová, Martin Bartkovský, Ivana Regecová, Jana Výrostková, Slavomír Marcinčák</i>	343
Hodnotenie inovovaných vegánskych výrobkov na báze hrachu <i>Ladislav Staruch, Zlatica Kohajdová, Tatiana Holkovičová, Magdaléna Takáčová</i>	348
Farebné zmeny sous-vide maslovej tekvice aplikovaním vybraných rastlinných silíc <i>Jana Štefániková, Patricia Joanidis, Lucia Benešová, Petra Borotová, Simona Kunová, Ivana Mezeyová, Miroslava Kačániová</i>	354
Nová screeningová elektrochemická metoda pro terénní monitorování potravinářského aditiva E120 <i>Milan Sýs, Sali Muriqi, Libor Červenka</i>	360
Mikrobiologická kvalita cereálnych výrobkov s prídavkom včelích produktov <i>Viktória Zachar Lovászová, Soňa Felšöciová, Ivana Timoracká, Martina Fikselová, Simona Kunová</i>	366

Mikrobiologická a mykologická bezpečnost' a kvalita potravin

VPLYV SKLADOVANIA MEDOV NA MIKROBIÁLNU POPULÁCIU THE EFFECT OF HONEY STORAGE ON THE MICROBIAL POPULATION

Soňa Felšöciová, Simona Kunová

Abstract: The biodiversity and quantity of microorganisms in honey are variable and unique to the honey sample analysed. They are dependent on honey quality, which is determined by a variety of factors during honey production and treatment. The aim of the work was to determine the quantitative representation of total plate count, yeasts and filamentous microscopic fungi in three types of honey from Slovakia after 3, 6 and 9 months of storage after their production. Quantitative abundances of microorganisms were determined by plate dilution method. From the microbiological analyses, the total plate count after 3 months ranged from $<4.10^1$ KTJ.g⁻¹ to $5,2.10^2$ KTJ.g⁻¹. As storage progressed, their numbers decreased, even in some samples they did not occur at all after 9 months of storage. Similarly, yeast numbers also decreased with storage time. After three months of storage, their counts ranged from $<4.10^1$ KTJ.g⁻¹ to $1,8.10^2$ KTJ.g⁻¹, but from the 6th month of storage, no yeasts were isolated in any of the samples. The highest abundance was recorded for filamentous microscopic fungi ($8,6.10^2$ KTJ.g⁻¹), but their quantitative representation decreased with the length of storage.

Keywords: honey, total plate count, yeasts, microscopic fungi, storage

ÚVOD

V súčasnosti je med jednou z posledných neupravených prírodných potravín, tradične používaný ako sladidlo. Je tvorený najmä z monosacharidov ako je glukóza a fruktóza, vody ale aj iných zložiek, ktoré sú prítomné v menších koncentráciách, ako sú enzýmy, proteíny, aminokyseliny, fenolové zlúčeniny, minerálne látky, organické kyseliny a vitamíny (Bogdanov, 2015). Med sa klasifikuje podľa kvetinového zdroja, z ktorého včely zbierajú nektár. Jednokvetý med sa vyrába predovšetkým z nektáru jedného druhu bežného kvetu (Chaven, 2014). Med vyrábajú včely aj zo sekrétov živých častí rastlín alebo exkrécií hmyzu (Seraglio et al., 2019).

Vo všeobecnosti, je med charakteristický špecifickými vlastnosťami, ktoré pôsobia inhibične na mnohé mikroorganizmy. Vlastností medu, ktoré ho robia účinným proti rastu baktérií, sú: vysoký obsah cukru, nízka aktivita vody, kyselina glukónová, ktorá vytvára kyslé prostredie a peroxid vodíka (Khan et al., 2007). Následne v mede nachádzame nízke počty mikroorganizmov a ich obmedzenú rôznorodosť. Vegetatívne formy ľudských patogénnych baktérií neboli zistené v mede a tiež sa nedokážu množiť v tomto prostredí. Patogénne baktérie schopné sporulácie majú schopnosť udržať sa v mede, ale nemajú reprodukčnú schopnosť ani vegetatívne bunky (Silva et al., 2017). Vysoký počet vegetatívnych baktérií je indikátorom nedávnej sekundárnej kontaminácie (Snowdon et Cliver, 1996; Iurlina et Fritz, 2005). Zrelý med je považovaný za potravinu, ktorá má minimálnu mieru mikrobiálnej kontaminácie. Kvôli bezpečnosti potravín sa očakáva, že väčšina mikroorganizmov je v neaktívnej forme, pretože v mede nedokážu prežiť kvôli jeho vlastnostiam. Len málo mikroorganizmov má schopnosť vyvíjať sa alebo pretrvávajú v mede. Vo všeobecnosti k bežným mikroorganizmom, ktoré sa v mede vyskytujú patria baktérie a kvasinky. Mikroskopické vláknité huby sa vyskytujú prevažne v medoch, v ktorých je nižší obsah vody (Silva et al., 2017). Rast vláknitých húb je sprevádzaný produkciou mykotoxínov a v mede sa najčastejšie vyskytujú zástupcovia rodov *Aspergillus* spp. a *Penicillium* spp. (Foley et al., 2014; Naseer et al., 2015; Sinacori et al., 2014). Prítomnosť húb neznamená automaticky prítomnosť mykotoxínu. Nevyhnutné podmienky pre rast húb nie sú vždy nevyhnutnými podmienkami pre produkciu mykotoxínov (Barkai-Golan et Paster, 2008). Pokiaľ ide o kvasinky, Sinacori et al. (2014) izolovali z medu druhu *Debaryomyces*

hansenii, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Zygosaccharomyces mellis*, *Aureobasidium pullulans* a *Cryptococcus uzbekistanensis*. Z nich len druh *Cryptococcus* bol spojený s ľudskou patogenitou. Podľa Finola et al. (2007) kvasinky môžu spôsobiť kvasenie medu, keď je v ňom vysoký obsah vody (nad 21 %) a existuje priama úmernosť medzi počtom kvasiniek v mede a hodnotou vodnej aktivity.

Množstvo a rozmanitosť mikroorganizmov v mede je ovplyvnené mnohými faktormi. Mikroorganizmy sa môžu do medu dostať primárnou kontamináciou spájanou s tráviacim traktom včiel, v ktorom sa nachádzajú vlastné mikroorganizmy, a so zdrojmi zberu materiálu, ako sú nektár, peľ a propolis, vzduch, kvety a prostredie vo vnútri úľa, zatiaľ čo sekundárnymi zdrojmi sa dostávajú mikroorganizmy do medu po zbere, z prostredia vnútri úľa, pri zbere a úprave medu v spracovateľských prevádzkach a zariadeniach, napr. počas a po extrakcii medu, či už z človeka, vybavenia, použitých nádob alebo vody (Kňazovická et al., 2019; Silva et al., 2017; Snowdon et Cliver, 1996).

MATERIÁL A METODIKA

V rámci štúdie sme celkovo analyzovali 6 vzoriek medu, pričom 3 druhy - agátový, lesný a lipový pochádzali z obce Choča, okres Zlaté Moravce a rovnaké 3 druhy z obce Dunajská Lužná, okres Senec. Nákup medov od rodinných včelárstiev sme uskutočnili v júli 2021.

Mikrobiologické rozbory medu na stanovenie celkového počtu mikroorganizmov, kvasiniek a vláknitých mikroskopických húb sme robili v letnom, jesennom a zimnom období v trojmesačných intervaloch. Prvý rozbor sme realizovali 3 mesiace od produkcie medu. Medy boli skladované na tmavom, suchom mieste v komore.

Na mikrobiologickú analýzu medu sme použili platňovú zried'ovaciu metódu. Zmiešaním 5 g medu so 45 ml fyziologickým roztokom (0,85 % NaCl) a 30 minútovou homogenizáciou sme získali základné riedenie (10^{-1}). Desiatkovým zried'ovacím systémom sme pripravili riedenie 10^{-2} (1 ml riedenia 10^{-1} + 9 ml fyziologického roztoku). Pre každé stanovenie sme použili tieto dve riedenia a očkovali sme v trojnásobnom opakovaní. Charakteristika použitých analýz je uvedená v tabuľke 1. Konečné výsledky počtu mikroorganizmov sme vyjadrili v KTJ.g⁻¹.

Tabuľka 1 Charakteristika použitých metód na stanovenie jednotlivých mikrobiálnych skupín v mede

Skupina mikroorganizmov	Živná pôda	Spôsob očkovania	Stupeň riedenia	Teplota kultivácie (°C)	Doba kultivácie
CPM	GTK	zaliatím	10^{-1} , 10^{-2}	30 ± 1	72 ± 3 h
Kvasinky	DG18	povrchovo	10^{-1} , 10^{-2}	25 ± 1	5 – 7 dní
MVH	DG18	povrchovo	10^{-1} , 10^{-2}	25 ± 1	3 – 5 dní

Legenda: CPM – celkový počet mikroorganizmov, MVH – mikroskopické vláknité huby, GTK – agar s glukózou, tryptónom a kvasničným extraktom, DG18 – agar s dichlóranom a 18 % glycerolom

Po kultivácii sme vyrastené vláknité mikromycéty identifikovali do jednotlivých rodov pomocou identifikačných kľúčov (Pitt et Hocking, 2009; Samson et al., 2002) na základe makroskopických a mikroskopických znakov.

Izoláty rodu *Aspergillus* boli preočkované na CYA (Czapkov agar s kvasničným extraktom, Samson et al., 2010), MEA (agar so sladínovým extraktom, Samson et al., 2010) a

CY20S (Czapkov agar s 20 % sacharózou, Pitt et Hocking, 2009). Po siedmich dňoch inkubácie pri teplote 25 ± 1 °C v tme počas 5 - 7 dní sme pozorovali makroskopické a mikroskopické charakteristiky a druhy identifikovali podľa príslušnej mykologickej literatúry: Klich (2002), Pitt et Hocking (2009).

Pre druhovú identifikáciu zástupcov rodu *Penicillium* boli jednotlivé izoláty preočkované na živné médiá CYA, MEA, CREA (agar s kreatínom a sacharózou, Samson et al., 2002) a YES (agar s kvasničným extraktom a sacharózou, Samson et al., 2002). Taxonomická identifikácia prebiehala za pomoci uznávaných mykologických publikácií: Pitt et Hocking (2009) a Samson et al. (2002, 2010).

Získané výsledky sme vyhodnotili a vyjadrili pomocou frekvencie výskytu (Fr) a relatívnej denzity (RD) na rodovej/druhovej úrovni. Frekvencia výskytu je definovaná ako percentuálny podiel vzoriek, v ktorých sa daný druh alebo rod vyskytol najmenej jedenkrát. Relatívna denzita je definovaná ako percentuálny podiel izolátov daného druhu alebo rodu, vyskytujúcich sa v analyzovanej vzorke (Guatam et al., 2009). Výpočet prebiehal podľa nasledovných vzorcov (González et al., 1996):

$$\text{Fr (\%)} = (\text{ns} / \text{N}) \cdot 100$$

$$\text{RD (\%)} = (\text{ni} / \text{Ni}) \cdot 100$$

kde ns = počet vzoriek, v ktorých bol rod alebo druh detegovaný; N = celkový počet vzoriek; ni = počet izolátov rodu alebo druhu; Ni = celkový počet detegovaných izolátov.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Kvantitatívne zastúpenie celkového počtu mikroorganizmov, kvasiniek a mikroskopických vláknitých húb v závislosti od doby skladovania vzoriek medu z Dunajskej Lužnej je uvedené v tabuľke 2. Najvyššie zastúpenia jednotlivých mikrobiálnych skupín boli zaznamenané po troch mesiacoch od produkcie medov. Pri celkovom počte mikroorganizmov to bolo $5,2 \cdot 10^2$ KTJ.g⁻¹ v lesnom mede a najnižšie v lipovom mede ($3,6 \cdot 10^1$ KTJ.g⁻¹). Po šiestich mesiacoch skladovania medov kvantitatívne zastúpenie nepresiahlo 10^2 KTJ.g⁻¹ a po deviatich mesiacoch skladovania v agátovom mede neboli CPM vyizolované vôbec, v lesnom a lipovom ich počet nepresiahol viac ako 3 na 1 platňu ($<4 \cdot 10^1$ KTJ.g⁻¹). Ešte nižšie mikrobiálne osídlenie bolo zaznamenané pri kvasinkách. Po troch mesiacoch od produkcie medov sa ich počet pohyboval od $<4 \cdot 10^1$ KTJ.g⁻¹ (agátový med) do $1,8 \cdot 10^2$ KTJ.g⁻¹ (lesný med). Vo vzorkách skladovaných šesť a viac mesiacov sa kvasinky nevyskytovali vôbec. Najvyššia kvantitatívna početnosť bola zaznamenaná pri mikroskopických vláknitých hubách. V období troch mesiacov od produkcie v agátovom mede bolo stanovené ich najvyššie množstvo $8,2 \cdot 10^2$ KTJ.g⁻¹ a najnižšie v lesnom mede $<4 \cdot 10^1$ KTJ.g⁻¹. Čím dlhšie boli medy skladované, tým kvantitatívne zastúpenie mikromycét klesalo a v deviatom mesiaci skladovania neprekročilo viac ako $<4 \cdot 10^1$ KTJ.g⁻¹.

Kňazovická et al. (2015) analyzovali 10 repkových medov z východného Slovenska hneď po vytočení a po polročnom skladovaní pri izbovej teplote. Limitná hodnota podľa legislatívne požiadavky Výnosu č. 06267/2006-SL pre CPM je 10^2 KTJ.g⁻¹ ($2,00 \log$ KTJ.g⁻¹). Tá bola prekročená v 9 z 10 (90 %) vzoriek čerstvého medu a v 1 z 10 (10 %) vzoriek skladovaného medu. Prítomnosť mikroskopických vláknitých húb zistili v 9 z 10 (90 %) vzoriek čerstvého medu a len v 1 z 10 (10 %) vzoriek skladovaného medu. Z mikrobiologického hľadiska vykazoval čerstvý repkový med pomerne vysoké počty mikroorganizmov. Priemerné hodnoty CPM, sporulujúcich mikroorganizmov, baktérií mliečneho kvasenia a kvasiniek presahovali 10^2 KTJ.g⁻¹. V porovnaní s čerstvým medom sa v skladovanom mede znížil počet všetkých sledovaných skupín mikroorganizmov, rovnako ako aj v našom prípade.

Tabuľka 2 Kvantitatívne zastúpenie KTJ.g⁻¹ jednotlivých mikrobiálnych skupín v závislosti od doby skladovania medov z Dunajskej Lužnej

Doba skladovania v mesiacoch	Druh medu	CPM (KTJ.g ⁻¹)	Kvasinky (KTJ.g ⁻¹)	Vláknité huby (KTJ.g ⁻¹)
3.	agátový	7,7.10 ¹	<4.10 ¹	8,2.10 ²
	lesný	5,2.10 ²	1,8.10 ²	<4.10 ¹
	lipový	3,6.10 ¹	4,5.10 ¹	1,8.10 ²
6.	agátový	2,7.10 ¹	<1.10 ¹	1,8.10 ²
	lesný	3,2.10 ¹	<1.10 ¹	1,8.10 ²
	lipový	2,3.10 ¹	<1.10 ¹	7,7.10 ²
9.	agátový	<1.10 ¹	<1.10 ¹	<4.10 ¹
	lesný	<4.10 ¹	<1.10 ¹	<4.10 ¹
	lipový	<4.10 ¹	<1.10 ¹	<4.10 ¹

Legenda: CPM – celkový počet mikroorganizmov

Pravdepodobne rôzne mikroorganizmy majú dôležitú úlohu pri tvorbe medu z nektáru rastlín, ale nespoľahlivé mikroorganizmy v zrelom mede hynú. Nízke kvantitatívne zastúpenie mikrobiálnych skupín zistili aj Kňazovická et al. (2016) pri analýze 10 vzoriek slovenského medu pochádzajúceho od prvovýrobcu z lokality Bajč, ktoré boli produkované v rokoch 2012 – 2015. Len v jednej vzorke stanovili CPM nad 2,00 log KTJ.g⁻¹. Vo vzorkách neboli detegované vláknité mikroskopické huby, čo poukazuje na vhodne zvolené postupy v chove včiel a pri získavaní a spracovaní medu. Med po vytočení postupne dozrieva a mnohé mikroorganizmy postupne odumierajú (Bogdanov, 2015, Kňazovická et al., 2015). Preto je potrebné pri mikrobiologickej analýze vziať do úvahy aj vek vzorky. K opačným výsledkom však dospeli Ali et al. (2018). Zistili, že mikrobiálna populácia a frekvencia (%) mikroorganizmov sa zvyšovala so zvyšujúcou sa dobou skladovania vzoriek medu pochádzajúcich z Egypta. Mikromycéty tvorili najmenšiu početnosť mikrobiálnej populácie v porovnaní s baktériami a kvasinkami. Z analýz kvetových portugalských medov vyplynula vyššia početnosť kvasiniek ako vláknitých mikroskopických húb. V 88,8 % vzoriek medu boli vyizolované mikroskopické huby, ale 31,3 % z 88,8 % vzoriek obsahovalo len kvasinky. Vlákňité mikroskopické huby sa vyskytovali v počte 10¹ až 10² KTJ.g⁻¹ (teda: 1,00 až 2,00 log KTJ.g⁻¹), pričom kvasinky boli prítomné vo vyššom počte, a to 10⁴ až 10⁵ KTJ.g⁻¹ (4,00 až 5,00 log KTJ.g⁻¹) (Martins et al., 2003). V porovnaní s ich výsledkami naše vzorky obsahovali nižšiu početnosť kvasiniek. Podľa Chavena (2014) možno z nespracovaného medu získať širokú škálu kvasiniek, pri spracovaní medu sú dôležité najmä osmofilné druhy kvasiniek, ako napríklad *Zygosaccharomyces rouxii* alebo *Z. bailii*.

Z jednotlivých druhov medu z Dunajskej Lužnej sumárne boli vyizolované 4 rody mikromycét, čo na živnom médiu DG18 predstavovalo 56 izolátov (tabuľka 3). Tabuľka poskytuje prehľad izolovaných rodov aj druhového zastúpenia aspergilov a penicílií. Pri rode *Aspergillus* bola zachytená najvyššia frekvencia výskytu 78 %. V rámci vyizolovaného rodu bola vo vyššej frekvencii aj početnosti vyizolovaná skupina *Aspergillus niger* komplex. Rovnakú frekvenciu výskytu mal aj druh *A. ochraceus*, ale početnosťou nepresahoval čiernu skupinu aspergilov. Najvyššia relatívna denzita bola dosiahnutá pri rodoch *Cladosporium* a *Aspergillus*. Peniciliá boli vyizolované po 6. mesiacoch skladovania len z lipového medu (*P. crustosum*) a po 9. mesiacoch skladovania z lesného medu (*P. chrysogenum*).

Tabuľka 3 Počty izolátov, frekvencia výskytu (Fr) a relatívna denzita (RD) mikromycét z jednotlivých vzoriek medu z Dunajskej Lužnej v závislosti od doby skladovania

Doba skladovania	po 3. mesiacoch			po 6. mesiacoch			po 9. mesiacoch			Σ	Fr (%)	RD (%)
	A	Ls	Lp	A	Ls	Lp	A	Ls	Lp			
<i>Alternaria</i>	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2	11	3,6
<i>Aspergillus</i>	1	-	-	4	1	13	2	1	1	23	78	41,1
<i>A. niger</i> komplex	-	-	-	-	1	11	2	1	-	15	44	-
<i>A. ochraceus</i>	1	-	-	4	-	2	-	-	1	8	44	-
<i>Cladosporium</i>	15	3	4	-	3	-	-	-	-	25	44	44,6
<i>Penicillium</i>	-	-	-	-	-	4	-	2	-	6	22	10,7
<i>P. crustosum</i>	-	-	-	-	-	4	-	-	-	4	11	-
<i>P. chrysogenum</i>	-	-	-	-	-	-	-	2	-	2	11	-
Spolu	18	3	4	4	4	17	2	3	1	56		

Legenda: A – agátový med, Ls – lesný med, Lp – lipový med

Kačániová et al. (2007) zistili v slovenských medoch prítomnosť mikroskopických húb v rozmedzí hodnôt od 10^2 KTJ.g⁻¹ (2,00 log KTJ.g⁻¹) do $4,5 \cdot 10^3$ KTJ.g⁻¹ (3,65 log KTJ.g⁻¹), čo bolo viac ako v našich vzorkách. Medzi najfrekvencovanejšie mikroskopické huby patrili *Alternaria* sp., *Mycelia sterilia* a *Aspergillus candidus*. V našich analyzovaných medoch najfrekvencovanejšou mikromycétou bol rod *Aspergillus*. *Aspergillus* je bežná vlákňitá huba vyskytujúca sa v životnom prostredí a je oportúnnym patogénom, ktorý pri infikovaní hostiteľa uvoľňuje mykotoxíny a môže infikovať larvy včely medonosnej a spôsobiť skamenenie včelieho plodu (Jensen et al., 2013; Schwarz et al., 2015).

Kvantitatívne zastúpenie celkového počtu mikroorganizmov, kvasiniek a vlákňitých mikroskopických húb v závislosti od doby skladovania vzoriek medu z Choče je uvedené v tabuľke 4. Aj v medoch z Choče najvyššie zastúpenia jednotlivých mikrobiálnych skupín boli zaznamenané po troch mesiacoch od produkcie medov. Zastúpenia celkových počtov mikroorganizmov boli ešte nižšie ako pri vzorkách z Dunajskej Lužnej a po 3 mesiacoch skladovania neprekročili viac ako $5 \cdot 10^1$ KTJ.g⁻¹. Čím dlhšie boli medy skladované, tým početnosť CPM klesala a v agátovom a lipovom mede po 9. mesiacoch skladovania neboli vyizolované žiadne baktérie. Zmeny boli pozorované aj v počtoch kvasiniek, pričom po 3 mesiacoch od produkcie medov bola zachytená aspoň 1 kolónia kvasiniek, avšak od 6. mesiaca skladovania nevyrástla pri kultivácii žiadna. Mierne poklesy početnosti bolo možné pozorovať aj pri vlákňitých hubách, pričom vo vzorkách lesného a lipového medu po 9. mesiacoch skladovania nevyrástli žiadne mikromycéty.

Kňazovická et al. (2010) vyhodnocovali 14 vzoriek zmiešaných medov slovenského a neslovenského pôvodu. Celkový počet mikroorganizmov vo vzorkách medu slovenského pôvodu sa pohyboval v rozmedzí od $2,4 \cdot 10^1$ KTJ.g⁻¹ (1,38 log KTJ.g⁻¹) do $1,4 \cdot 10^3$ KTJ.g⁻¹ (3,14 log KTJ.g⁻¹). Vo vzorkách medu neslovenského pôvodu zistili širšie rozmedzie hodnôt pre CPM, konkrétne od $3,9 \cdot 10^1$ KTJ.g⁻¹ (1,60 log KTJ.g⁻¹) do $3,6 \cdot 10^3$ KTJ.g⁻¹ (3,55 log KTJ.g⁻¹). Podmienke obchodnej sterility (10^2 KTJ.g⁻¹ - 2,00 log KTJ.g⁻¹) vo Výnose č. 06267/2006-SL nevyhovelo 71,43 % vzoriek medov slovenského pôvodu a 57,14 % vzoriek medov neslovenského pôvodu. Počet kvasiniek bol relatívne nízky. V 28,57 % vzoriek slovenského pôvodu a 57,14 % vzoriek neslovenského pôvodu sa nepotvrdila prítomnosť kvasiniek. Počet kvasiniek bol relatívne vysoký len v lesnom mede z Veľkého Medera $3,05$ log KTJ.g⁻¹. Nepřítomnosť vlákňitých mikroskopických húb zistili v 42,86 % vzoriek slovenského pôvodu a v 14,29 % vzoriek neslovenského pôvodu. Maximálna hodnota vlákňitých mikroskopických

húb bola zistená vo vzorke malinového medu z Bystrej 2,87 log KTJ.g⁻¹, konkrétne išlo o kontamináciu rodom *Penicillium* sp..

Tabuľka 4 Kvantitatívne zastúpenie KTJ.g⁻¹ jednotlivých mikrobiálnych skupín v závislosti od doby skladovania medov z Choče

Doba skladovania v mesiacoch	Druh medu	CPM (KTJ.g ⁻¹)	Kvasinky (KTJ.g ⁻¹)	Vláknité huby (KTJ.g ⁻¹)
3.	agátový	5.10 ¹	<4.10 ¹	6,4.10 ²
	lesný	<4.10 ¹	<4.10 ¹	8,6.10 ²
	lipový	<4.10 ¹	<4.10 ¹	3,6.10 ²
6.	agátový	2,3.10 ¹	<1.10 ¹	4,5.10 ²
	lesný	<4.10 ¹	<1.10 ¹	4,1.10 ²
	lipový	4,5.10 ¹	<1.10 ¹	2,7.10 ²
9.	agátový	<1.10 ¹	<1.10 ¹	3,6.10 ²
	lesný	<1.10 ¹	<1.10 ¹	<1.10 ¹
	lipový	2,3.10 ¹	<1.10 ¹	<1.10 ¹

Legenda: CPM – celkový počet mikroorganizmov

Z jednotlivých druhov medu pochádzajúcich z Choče sumárne boli vyzolované 4 rody so 74 izolátmi mikromycét (tabuľka 5). Izolát, ktorý z dôvodu chýbajúcich identifikačných znakov nebolo možné bližšie identifikovať, je označený ako *Mycelia sterilia*. Najčastejším kolonizátorom vzoriek medu bol rod *Cladosporium* (67 % Fr), nasledoval *Penicillium* (44 % Fr) a *Aspergillus* (33 % Fr). Rovnako aj početnosťou dominoval *Cladosporium* (59,5 % RD), *Penicillium* (20,3 % RD) a *Aspergillus* (16,2 % RD). Druhový záchyt aspergilov aj penicílií bol širší ako zo vzoriek z Dunajskej Lužnej. Z troch druhov aspergilov nadpolovičnú väčšinu predstavoval druh *A. clavatus* a zo 4 druhov penicílií *P. griseofulvum*.

Tabuľka 5 Počty izolátov, frekvencia výskytu (Fr) a relatívna denzita (RD) mikromycét z jednotlivých vzoriek medu z Choče v závislosti od doby skladovania

Doba skladovania	po 3. mesiacoch			po 6. mesiacoch			po 9. mesiacoch			Σ	Fr (%)	RD (%)
	A	Ls	Lp	A	Ls	Lp	A	Ls	Lp			
<i>Alternaria</i>	-	1	1	-	-	-	-	-	-	2	22	2,7
<i>Aspergillus</i>	-	-	-	3	-	2	7	-	-	12	33	16,2
<i>A. clavatus</i>	-	-	-	-	-	-	7	-	-	7	11	-
<i>A. ochraceus</i>	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	11	-
<i>A. niger</i> komplex	-	-	-	2	-	2	-	-	-	4	22	-
<i>Cladosporium</i>	12	18	7	-	4	2	1	-	-	44	67	59,5
<i>Mycelia sterilia</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	11	1,3
<i>Penicillium</i>	1	-	-	7	5	2	-	-	-	15	44	20,3
<i>P. aurantiogriseum</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	11	-
<i>P. crustosum</i>	-	-	-	-	2	1	-	-	-	3	22	-
<i>P. griseofulvum</i>	-	-	-	7	1	1	-	-	-	9	33	-
<i>P. raistrickii</i>	-	-	-	-	2	-	-	-	-	2	11	-
Spolu	14	19	8	10	9	6	8	-	-	74		

Legenda: A – agátový med, Ls – lesný med, Lp – lipový med

Kňazovická et al. (2010) uvádzajú porovnateľnú rôznorodosť vláknitých mikroskopických húb v 14 medoch zo SR a z iných krajín sveta. Išlo o nasledovné mikroskopické huby: *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Mycelia sterilia* a *Penicillium* sp.. Najfrekvencovanejšími mikroskopickými hubami v oboch skupinách medov bol *Penicillium* sp., Tieto výsledky korelujú s našimi výsledkami, aj z našich vzoriek patrilo rod *Penicillium* k najfrekvencovanejšim. V medoch slovenského pôvodu zistili prítomnosť aj rodov *Acremonium* sp. a *Chaetomium* sp. a v medoch z ostatných štátov sveta šlo o *Alternaria* sp. a *Chrysosporium* sp.. *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria* a *Aspergillus* sú rody považované za bežné kontaminanty medu (Nasser, 2004; Kačániová et al., 2009). Pokiaľ ide o rod *Penicillium*, ten je spájaný s produkciou mykotoxínov. Penicilíá sú saprofytické huby schopné rásť pri aktivite vody nižšej ako 0,9, môžu napádať rastliny a živočíchy, ale nie ako obligátni paraziti (de Hoog et al., 2000). Pri štúdiu 38 medov rôzneho botanického a geografického pôvodu Sinacori et al. (2014) zisťovali zastúpenie kultivovateľných mikrobiálnych populácií. Aj oni vyizolovali viaceré druhy penicilíí, ako *Penicillium corylophilum*, *Penicillium decumbens*, *Penicillium italicum*, *Penicillium polonicum* a *Penicillium echinulatum*.

ZÁVER

Bezpečnosť a kvalita potravín sú dve základné požiadavky, ktoré by mali spĺňať potraviny v dnešnom svete. Štúdia bola zameraná na mikrobiologickú početnosť celkového počtu mikroorganizmov, kvasiniek a vláknitých mikroskopických húb v medoch po 3., 6. a 9. mesiacoch skladovania od ich produkcie. Detekcia baktérií a kvasiniek bola nízka a nenaznačovala žiadne hygienické problémy spojené s manipuláciou alebo spracovaním medu. Pri mikroskopických hubách sme zaznamenali maximálnu početnosť $8,6 \cdot 10^2$ KTJ.g⁻¹. Skladovaním medov sa počty jednotlivých mikrobiálnych skupín znižovali. Z medov boli vyizolované rody *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* a *Penicillium*, pričom najvyššiu frekvenciu výskytu a relatívnu denzitu dosahoval rod *Cladosporium*. Nízka mikrobiologická prítomnosť vo vzorkách naznačuje, že medy boli vyrobené, spracované a skladované v súlade s pravidlami správnej hygienickej praxe.

LITERATÚRA

- Ali, M. A. M., Rawdaa, R., Khalil, I., Ramadan, H. M. 2018. Relationship between storage periods and microorganisms (bacteria, fungi and yeasts). In *Honey Egypt. Acad. J. Biolog. Sci.* [online], vol.10, no. 1, pp. 83-90 [cit. 2024-02-17]. Dostupné na: doi: 10.21608/EAJBSG.2018.17855
- Barkai-Golan, R., Paster, N. 2008. *Mycotoxins in fruits and vegetables*. USA: Elsevier. 395 p. ISBN 978-0-12-374126-4
- Bogdanov, S. 2015. Honey as Nutrient and Functional Food. In *Book of Honey* [online]. Dostupné na: <http://www.bee-hexagon.net>
- de Hoog, G. S., Guarro, J., Gené, J., Figueras, M. J. 2000. *Atlas of Clinical Fungi*. Utrecht : Centraalbureau voor Schimmecultures. ISBN 90-70351-43-9.
- Finola, M. S., Lasagno, M. C., Marioli, J. M. 2007. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. In *Food Chemistry* [online], vol. 100, no. 4, pp. 1649-1653 [cit. 2024-02-15]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.046>
- Foley, K., Fazio, G., Jensen, A. B., Hughes, W. O. 2014. The distribution of *Aspergillus* spp. opportunistic parasites in hives and their pathogenicity to honey bees. In *Veterinary Microbiology* [online], vol. 169, no. 3-4, pp. 203-210 [cit. 2024-02-15]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.11.029>
- González, H. H. L., Pacin, A., Resnik, S. L., Martínez, E. J. 1996. Deoxynivalenol and contaminant mycoflora in freshly harvested Argentinian wheat in 1993. In *Mycopathologia* [online], vol. 135, no. 2, pp. 129-134 [cit. 2024-02-17]. ISSN 0301-486X. Dostupné na: doi: 10.1007/BF00436463
- Guatam, A. K., Sharma, S., Bhadauria, R. 2009. Detection of toxigenic fungi and mycotoxins in medicinally important powdered herbal drugs. In *The Internet Journal of Microbiology* [online], vol. 7, no. 2. ISSN 1937-8289. Dostupné na: <https://doi.org/10.5580/104b>

- Chaven, S. 2014. Honey, Confectionery and Bakery Products. In *Food Safety Management: a practical guide for the Food Industry*. Dubai: Academia Press, pp. 283-299. ISBN 978-0-12-381504-0. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381504-0.00011-1>
- Iurlina, M. O., Fritz, R. 2005. Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources. In *International Journal of Food Microbiology* [online], vol. 105, no. 3, pp. 297-304 [cit.2024-02-17]. ISSN 0168-1605. Dostupné na: doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2005.03.017
- Jensen, A. B., Aronstein, K., Flores, J. M., Vojvodic, S., Palacio, M. A., Spivak, M. 2013. Standard methods for fungal brood disease research. In *J. Apic. Res.* [online], vol. 52, pp. 1–20 [cit. 2024-02-17]. Dostupné na: doi: 10.3896/IBRA.1.52.1.13
- Kačániová, M., Pavličová, S., Haščík P., Kociubinski G., Kňazovická, V., Sudzina M., Sudzinová, J., Fikselová, M. 2009. Microbial communities in bees, pollen and honey from Slovakia. In: *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* [online], vol. 56, no. 3, pp. 285 – 295 [cit. 2024-02-15]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1556/amicr.56.2009.3.7>
- Kačániová, M., Sudzina, M., Sudzinová, J., Fikselová, M., Čuboň, J., Haščík, P. 2007. Microbiological and physico-chemical quality of honey collected from different slovak habitats. In *Slovak Journal of Animal Science* [online], vol. 40, no. 1, pp. 38-43 [cit. 2024-02-15], ISSN 1335-3686. Dostupné na: <https://agris.fao.org/search/en/providers/122618/records/64724920e17b74d2224f7a79>
- Khan, F. R., Ubadin, Z. U., Rauf, N. 2007. Honey: nutritional and medicinal value. In *International Journal of Clinical Practice* [online], vol. 61, no. 10, pp. 1705-1707 [cit.2024-02-17]. Dostupné na: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1742-1241.2007.01417.x>
- Klich, M. A. 2002. *Identification of common Aspergillus species*. Wageningen : Ponsen and Looijen, 116 p. ISBN 90-70351-46-3.
- Kňazovická, V., Bačiková, A., Bányiová, R., Tkáčová, J., Čanigová, M., Haščík, P. 2015. Honey characteristics after extraction and half-year storage. In *Potravinárstvo* [online], vol. 9, no. 1, pp. 543-549 1724 [cit. 2024-02-14]. ISSN 1664-302X. Dostupné na: doi.org/10.5219/560_
- Kňazovická, V., Fehérová, B., Mojžišová, J., Čanigová, M., Ducková, V., Kročko, M. 2016. Analýza medu z lokality Bajč a jeho využitie na zmiešanie s materskou kašičkou. In: *Bezpečnosť a kontrola potravín* [elektronický zdroj]. Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita, pp. 115 – 122, DVD-ROM.
- Kňazovická, V., Gábor, M., Miluchová, M., Bobko, M., Medo, J. 2019. Diversity of bacteria in Slovak and foreign honey, with assessment of its physico-chemical quality and counts of cultivable microorganisms. In *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* [online], vol. 9 (special), pp. 414-421 [cit. 2024-02-14]. Dostupné na: https://doi.org/10.15414/jmbfs.2019.9.special.414-421_
- Kňazovická, V., Kačániová, M., Felšöciová, S., Tonková, M., Melich, M., Kádasi-Horáková, M., Haščík, P. 2010. Posúdenie mikrobiologickej kvality vzoriek zmiešaných medov zo SR a iných krajín EU. In *Potravinárstvo* [online], vol. 4, pp. 410-416 [cit.2024-02-17]. Dostupné na: http://www.potravinarstvo.com/dokumenty/mc_februar_2010/pdf/4/Knazovicka.pdf
- Martins, H. A., Martins, M. L., Bernardo, F. M. A. 2003. *Bacillaceae* spores, fungi and aflatoxins determination in honey. In *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias* [online], vol. 98, no. 546, pp. 85-88 [cit. 2024-02-15]. Dostupné na: <https://www.scribd.com/document/337665991/Bacillaceae-Spores-Fungi-and-Aflatoxins-Determination-in-Honey>
- Nasser, L.A. 2004. Isolation and characterization of fungi contaminating packaged honey commonly consumed. In *Saudi Arabia Ass. Univ. Bull. Environ. Res.* [online], vol. 7, no. 1, pp. 1-7 [cit. 2024-02-17]. Dostupné na: doi:10.21608/AUBER.2004.150588
- Naseer, S., Khan, S. A., Azim, M. K. 2015. Identification of cultivable bacteria from natural honey of different botanical origin. In *Pak J Biochem Mol Biol*, vol. 48, pp. 53-56.
- Pitt, J. I., Hocking, A. D. 2009. *Fungi and Food spoilage*. 3. vyd. New York : Springer, 519 p. e-ISBN 978-0-378-92207-2.
- Samson, R.A., Hoekstra, E. S., Frisvad, J. C., Filtenborg, O. 2002. *Introduction to Food - and Airborne Fungi*. 6. Revised ed. Utrecht: Central bureau voor Schimmelcultures. 389 p. ISBN 90-70351-42-0.
- Samson, R. A., Houbaken, J., Thrane, U., Frisvad, J. C., Andersen, B. 2010. *Food and indoor fungi*. Utrecht, the Netherlands: CBS – KNAW Fungal Biodiversity Centre, 390 p. ISBN 978-90-70351-82-3.
- Seraglio, S. K. T. S., Silva, B., Bergamo, G., Brugnerotto, P., Gonzaga, L. V., Costa, R., F., A., C., O. 2019. An overview of physicochemical characteristics and health-promoting properties of honeydew honey. In *Food Research International* [online], vol. 119, pp. 44-46 [cit. 2024-02-15]. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodres.2019.01.028
- Schwarz, R. S., Huang, Q., Evans, J. D. 2015. Hologenome theory and the honey bee pathosphere. In *Curr. Opin. Insect Sci.* [online], vol. 10, pp. 1–7 [cit. 2024-02-15]. Dostupné na: doi: 10.1016/j.cois.2015.04.006

Silva, M. S., Rabadzhiev, Y., Eller, M. R., Iliev, I., Ivanova, I., Santana, W. C. 2017. Microorganisms in honey. In *Honey analysis* [online], vol. 500, pp. 233-257 [cit. 2024-02-15]. ISBN 978-953-51-5477-8. Dostupné na: doi: 10.5772/67262

Sinacori, M., Francesca, N., Alfonzo, A., Cruciatu, M., Sannino, C., Settanni, L., Moschetti, G. 2014. Cultivable microorganisms associated with honeys of different geographical and botanical origin. In *Food microbiology* [online], vol. 38, pp. 284-294 [cit. 2024-02-16]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.07.013>

Snowdon, J. A., Cliver, D. O. 1996. Microorganisms in honey. In *International Journal of Food Microbiology* [online], vol. 31, no. 1-3, pp. 1-26 [cit.2024-02-15]. Dostupné na: [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(96\)00970-1](https://doi.org/10.1016/0168-1605(96)00970-1)
Výnos č. 06267/2006-SL Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky zo 6. februára 2006, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky upravujúca mikrobiologické požiadavky na potraviny a na obaly na ich balenie.

Pod'akovanie: Štúdiu prebiehala s finančnou podporou projektu VEGA No. 1/0517/21.

Kontaktná adresa: Soňa Felšöciová, doc. PhD., Katedra mikrobiológie, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

**ZASTÚPENIE RADU ENTEROBACTERALES A RODU
ENTEROCOCCUS V BAZÉNOVÝCH VZORKÁCH RÔZNYCH
DRUHOV MLIEK**
**REPRESENTATION OF ENTEROBACTERALES
AND ENTEROCOCCUS GENUS IN BULK MILK SAMPLES
OF DIFFERENT ANIMAL SPECIES**

Zuzana Hanzelová, Eva Dudriková, Jana Zahumenská, Viera Lovayová

Abstract: The aim of the presented study was to detect the presence of bacteria in bulk milk samples of various farm animals, the presence of which can cause technological problems in ensuring the quality of milk and final products. Thirteen bulk samples of milk (cow' s n = 4, sheep' s n = 5 and goat' s n = 4) were taken in Slovakia in establishments for the production of artisanal cheese and fermented milk products. The number of bacteria from the *Enterobacteriaceae* family ranged from 2.3 CFU.ml⁻¹ log₁₀ to 6.24 CFU.ml⁻¹ log₁₀ and the number of enterococcus bacteria from 2.3 CFU.ml⁻¹ log₁₀ to 4.81 CFU.ml⁻¹ log₁₀. Using MALDI-TOF MS and PCR methods, the following types of microorganisms were identified in individual types of milk: from the *Enterococcus* genus: *E. faecalis* (65.83 %), *E. hirae* (12.20 %), *E. durans* (9.76%), *E. malodoratus* (4.88 %). From the *Enterobacteriales* order, representatives of the family Enterobacteriaceae (47.91 %), Hafniaceae (43.75 %), Yersiniaceae (6.25%) and Erwiniaceae (2.08 %) were identified in bulk milk samples.

Keywords: milk, *Enterobacteriaceae*, *Enterobacteriales*, *Enterococcus* genus

ÚVOD

Mlieko je nielen významným výživovým faktorom vo výžive ľudí, čo súvisí s jeho zložením, ako je obsah bielkovín a v nich zastúpených vo vhodnom pomere esenciálnych aminokyselín, obsah tuku, minerálnych látok, vitamínov a rôznych bioaktívnych látok, ktoré pozitívne ovplyvňujú zdravie človeka (Butler et al., 2008; Flis et Molik, 2021). Prítomnosť hlavných zložiek mlieka (bielkoviny, tuk, laktóza) a minoritných zložiek mlieka (napr. vitamínov, oligosacharidov, voľných aminokyselín, asimilateľných peptidov, stopových prvkov) môže pozitívne ovplyvňovať rast a prežívanie laktobacilov a bifidobaktérií (Fukuda, 2013; Kailasapathy, 2015). Na druhej strane, pre svoje zloženie mlieko môže predstavovať vhodný substrát pre rast rôznych mikroorganizmov (Feliciano et al., 2023).

Získavanie mlieka, jeho prvotné ošetrovanie ako aj spracovanie podlieha na Slovensku veterinárnemu dozoru a kontrole, takže všetci prevádzkovatelia musia spĺňať nielen hygienické požiadavky, ale aj kvalitatívne parametre kladené na surové mlieko. To znamená, že sa musia orientovať v príslušnej legislatíve a spĺňať požadované kritéria pre kvalitu surového mlieka ako vstupnej suroviny určenej na ďalšie spracovanie pre výživu ľudí. Podľa súčasnej platnej legislatívy (nariadenie EP a Rady (ES) 853/2004), z hľadiska mikrobiologickej kvality surového mlieka, je základným parametrom stanovenie celkového počtu mikroorganizmov (CPM) pri 30 °C v 1 ml mlieka:

- Kravské mlieko: nie viac ako 100 000,
- Ovčie, kozie mlieko: najviac 500 000, ak sa mlieko spracúva bez tepelného ošetrovania mlieka (na obale musí byť uvedené: „vyrobené so surovým mliekom“), resp. najviac 1 500 000, ak sa mlieko tepelne ošetrí, napr. pasterizáciou.

Vo všetkých prípadoch sa výsledok uvádza ako kľzavý geometrický priemer za posledné dva mesiace, pri odbore najmenej dvoch vzoriek za mesiac.

Z uvedených počtov mikroorganizmov v surovom mlieku vyplýva, ako uvádzajú Chege et al. (2016), že v mlieku môžu byť prítomné rôzne skupiny mikroorganizmov, ktoré sa môžu dostať do mlieka v rôznych miestach spracovania prostredníctvom procesov v celom potravinovom reťazci a z rôznych zdrojov (Gwandu et al., 2018).

Nežiaduce mikroorganizmy z hľadiska technológie a kvality mlieka možno rozdeliť do niekoľkých skupín:

- psychrotrofné (produkcia termostabilných enzýmov - proteázy a lipázy),
- termofilné, termorezistentné a sporotvorné baktérie (*Micrococcus* spp., rod *Bacillus* a *Clostridium*),
- indikátorové (*Escherichia coli* a *Enterobacter aerogenes*),
- mikroskopické vláknité huby, kvasinky.

Špecifickú skupinu mikroorganizmov predstavujú enterokoky, ktoré sa do mlieka môžu dostať endogénnou kontamináciou, zo zvierat v prípade systémových infekcií a mastitíd a exogénnou cestou, ktorú predstavuje kontaminácia mlieka po nadojení (voda, personál a pod.).

Čeľad' Enterobacteriaceae sa podieľa až v 50 % pôvodu na vzniku nozokomiálnych nákaz (Wang et al., 2016; Edris et al., 2023; Guo et al., 2024). Rody *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* môžu u dojnic vyvolať aj zápal mliečnej žľazy. Z mlieka a mliečnych výrobkoch možno izolovať rody *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Kluyvera*, *Proteus*, *Yersinia*. Nežiaduce je to, že zástupcovia rodu *Serratia* a *Klebsiella* izolované zo surového mlieka sú schopné vytvárať biofilm (Mladenović et al. 2018; 2021), čím dochádza k zníženiu účinnosti čistiaceho a dezinfekčného prostriedku v prevádzkových priestoroch a technologického zariadenia.

Rod *Enterococcus* je súčasťou intestinálneho traktu, pôdy, vody, rastlín, hmyzu. Jedná sa o typické oportúnne mikroorganizmy schopné vyvolať exogénne a endogénne infekcie a vo veterinárnej medicíne sú aj pôvodcami mastitíd. Na druhej strane, ich výskyt v mlieku a v syroch (*E. faecium*, *E. faecalis*, *E. hirae*, *E. durans*) sa v literatúre označuje ako kontroverzný, pretože niektoré druhy enterokokov vykazujú aj žiaduce vlastnosti (proteolytická aktivita, produkcia aromatických látok, bakteriocínov a bioaktívnych látok), ktoré majú význam z hľadiska kvality finálnych výrobkov a pozitívneho vplyvu na ľudské zdravie. Z nežiaducich vlastností enterokokov nemožno opomenúť produkciu biogénnych amínov, možnú prítomnosť determinantov virulencie (EfaA, AS, esp gén, gel E) a možnosť získania antimikrobiálnej rezistencie.

Vzhľadom na tieto aspekty výskytu tu uvedených mikroorganizmov v surovom mlieku, cieľom tohto pilotného projektu bolo štúdium výskytu baktérií čeľade Enterobacteriaceae (rad Enterobacterales) a rodu *Enterococcus* v bazénových vzorkách surového mlieka (kravské, ovčie a kozie) metódou MALDI-TOF MS a PCR.

MATERIÁL A METODIKA

Trináť bazénových vzoriek surového mlieka (ovčie – n = 5, kravské – n = 4 a kozie – n = 4) pochádzalo z prevádzok na Slovensku, ktoré sa zaoberajú remeselnou výrobou syrov a kyslomliečnych výrobkov. Odber a spracovanie vzoriek do sterilných vzorkovníc prebiehal podľa špecifických pokynov na odber a prípravu výrobkov na mikrobiologické skúšanie (STN EN ISO 6887-1 a STN EN ISO 6887-5).

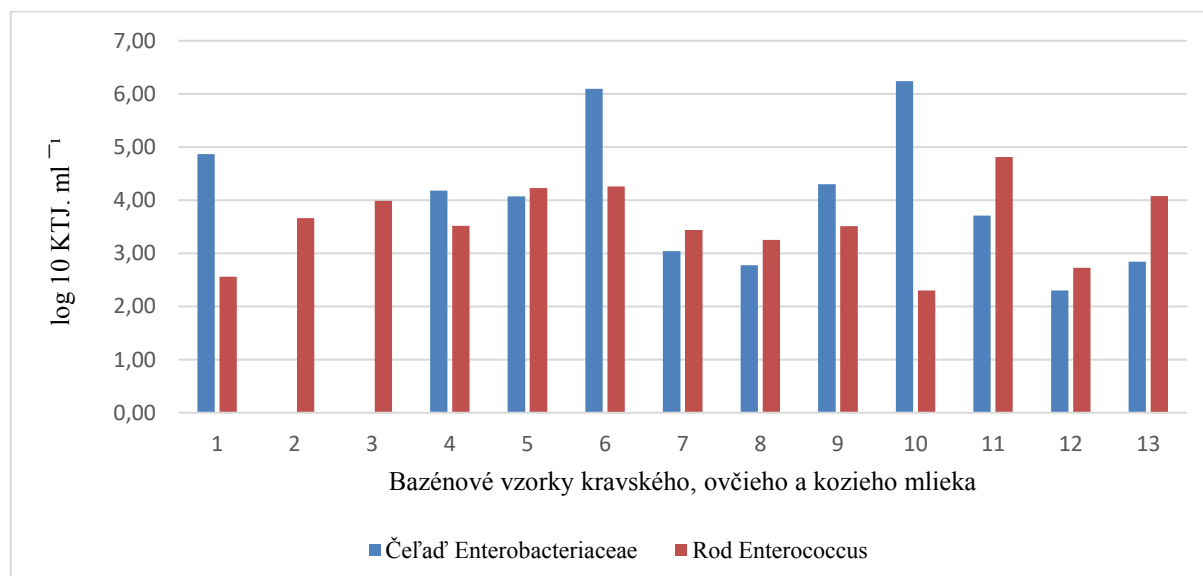
Na stanovenie počtu baktérií čeľade *Enterobacteriaceae* sa použilo arbitrážne selektívno-diagnostické médium - VČŽG agar (Oxoid, United Kingdom) metódou zalieváním a inkubáciou pri teplote 37 ± 1 °C po dobu 24 - 48 hod. (STN ISO 21528-2).

Počet a izolácia baktérií rodu *Enterococcus* bol stanovený podľa Koreňová et al. (2008) použitím Slanetz-Bartleyho agaru (Merck, Darmstadt, Germany). Kultivácia platní prebiehala pri teplote $37 \pm 1^\circ\text{C}$ po dobu 24 hod.

Typické kolónie v oboch skupinách baktérií z platní obsahujúcich 15 až 150 kolónií boli preočkované na povrch Columbia blood agaru (Merck Darmstadt, Germany), inkubované 24 hod. pri teplote $37 \pm 1^\circ\text{C}$ a podrobené ďalšej fenotypovej a genotypovej identifikácii pomocou metódy MALDI-TOF MS. Súčasne bola prevedená aj genotypová identifikácia na úrovni rodu *Enterococcus*. DNA bola izolovaná z enterokokových kmeňov podľa Hein et al. (2005) a PCR metóda na identifikáciu rodu *Enterococcus* bola použitá podľa Ke et al. (1999).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky mikrobiologického vyšetrenia bazénových vzoriek mlieka na počet baktérií z čeľade *Enterobacteriaceae* a rodu *Enterococcus* sú znázornené na Obrázku 1. Počet sledovaných baktérií sa pohyboval od $2,3 \text{ KTJ.ml}^{-1} \log_{10}$ do $6,24 \text{ KTJ.ml}^{-1} \log_{10}$ pri zástupcoch čeľade *Enterobacteriaceae* s najvyšším počtom baktérií v bazénovej vzorke kozieho mlieka. Počet baktérií z rodu *Enterococcus* bol v rozsahu od $2,3 \text{ KTJ.ml}^{-1} \log_{10}$ do $4,81 \text{ KTJ.ml}^{-1} \log_{10}$. Najvyšší počet baktérií rodu *Enterococcus* sme zaznamenali v bazénovej vzorke kozieho mlieka.



Obrázok 1 Počet mikroorganizmov v bazénových vzorkách surového mlieka (kravské mlieko:1-4; ovčie mlieko: 5-9; kozie mlieko: 10-13)

Metódou MALDI-TOF MS bolo vyšetrených 56 suspektných kolónií enterobaktérií a z nich 48 izolátov bolo zaradených do radu *Enterobacterales*. Zastúpené boli baktérie čeľade *Hafniaceae* v 43,75 % prípadov (21 izolátov v ovčom a kozom mlieku), *Enterobacteriaceae* v 47,91 % (23 izolátov vo všetkých druhoch mlieka), *Yersiniaceae* v 6,25 % (3 izoláty v ovčom mlieku). Len jeden izolát pochádzajúci z kozieho mlieka (2,08 %) bol zaradený do čeľade *Erwiniaceae*.

V rámci čeľade *Enterobacteriaceae* bolo identifikovaných 23 izolátov patriacich do šiestich druhov tejto čeľade, a to v najväčšom zastúpení 34,78 % *Klebsiella oxytoca* (8 izolátov v kravskom, ovčom mlieku), rod *Enterobacter* v 26,09 % (6 izolátov v kravskom a ovčom mlieku v druhovom zastúpení *E. cloacea*, *E. bugandii*, *E. cobei*), *Citrobacter gillenii* v 17,39 % (4 izoláty iba v kravskom mlieku), *Lelliottia amnigena* v 13,04 % (3 izoláty

v kravskom a kozom mlieku). Najmenej boli zastúpené *Raoultella ornitolytica* (1 izolát) a *Buttiauxella gavinae* (1 izolát). Obidva izoláty baktérií pochádzali z ovčieho mlieka.

Ako je uvedené v Tabuľke 1, najväčšia rôznorodosť zástupcov radu *Enterobacterales* bola v dvoch bazénových vzorkách ovčieho mlieka a prítomnosť enterokokov najviac variovala v dvoch bazénových vzorkách ovčieho mlieka a jednej bazénovej vzorke kozieho mlieka.

Tabuľka 1 Variabilita prítomnosti baktérií radu *Enterobacterales* a rodu *Enterococcus* vo vybraných bazénových vzorkách mlieka identifikované metódou MALDI-TOF MS

Bazénová vzorka	Zástupcovia radu <i>Enterobacterales</i>	Bazénová vzorka	Zástupcovia rodu <i>Enterococcus</i>
Ovčie mlieko 1	<i>Hafnia alvei</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Buttiauxella gavinae</i> <i>Serratia liquefaciens</i>	Kozie mlieko 1	<i>E. faecalis</i> <i>E. faecium</i> <i>E. hirae</i>
Ovčie mlieko 2	<i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Serratia liquefaciens</i> <i>Citrobacter gillenii</i> <i>Enterobacter cobei</i>	Ovčie mlieko 3	<i>E. faecalis</i> <i>E. hirae</i> <i>E. durans</i>
		Ovčie mlieko 4	<i>E. faecalis</i> <i>E. malodoratus</i> <i>E. durans</i>

Zo 65 suspektných kolónií enterokokov bolo identifikáciou pomocou PCR metódy potvrdených 43 izolátov patriacich do rodu *Enterococcus* (Tabuľka 1). Metódou MALDI-TOF MS bolo 41 izolátov zaradených do siedmich druhov enterokokov. Najviac bol zastúpený v 65,83 % *E. faecalis* (27 izolátov vo všetkých druhoch mlieka), v 12,20 % *E. hirae* (5 izolátov v ovčom a kozom mlieku), v 9,76 % *E. durans* (4 izoláty v ovčom mlieku), v 4,88 % *E. malodoratus* (2 izoláty v kravskom a ovčom mlieku). Najmenej zastúpený bol *E. faecium* (1 izolát v kozom mlieku). Po jednom izoláte zo vzoriek kravského mlieka boli identifikovaní *E. casseliflavus* a *E. devriesei*.

Význam sledovania uvedených skupín baktérií vo vzorkách surového mlieka spočíva v tom, že prítomnosť niektorých zástupcov v surovom mlieku, najmä pri dlhodobom skladovaní mlieka pri nízkych teplotách pred spracovaním, môže svojou metabolickou činnosťou ovplyvniť kvalitatívne parametre surového mlieka, aj napriek tomu, že bude následne tepelne ošetrené. Ďalším problémom, ktorý môže vzniknúť pri spracovaní mlieka je prítomnosť týchto baktérií ako súčasti biofilmu. Preto je otázka čistenia a dezinfekcie povrchu zariadení, ktoré prichádzajú do kontaktu so surovým mliekom a následne so surovinou, ktorá sa ďalej spracúva (najmä malé prevádzky) tiež na mieste. Všeobecne sa v surovom mlieku vyskytuje vysoký počet baktérií mliečného kvasenia. Najviac zastúpené sú druhy rodov *Lactococcus*, *Streptococcus* a *Leuconostoc*, ďalej je to niekoľko ďalších Gram-pozitívnych rodov, ako sú napríklad *Bacillus*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*. Gram-negatívne baktérie sú zastúpené rodmi *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas* a *Chryseobacterium* (Tančinová et al., 2017). Z mlieka a mliečných výrobkoch sa najčastejšie izolujú z čeľade *Enterobacteriaceae* nasledujúce rody: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Proteus*, *Yersinia* a *Serratia*, z ktorých prevláda rod *Enterobacter*, a to tak v surovom mlieku ako aj v pasterizovanom mlieku.

Koliformné baktérie majú v mliekarstve významné postavenie ako hygienický ukazovateľ, označujú sa ako indikátory mikrobiálneho znečistenia (Kim et al., 2021). Yohan et al. (2016) opísali, že prirodzená mikrobiocenóza surového mlieka bola vytvorená z mnohých bakteriálnych rodov, ale najdominantnejšie boli baktérie mliečného kvasenia a zástupcovia čeľade *Enterobacteriaceae*.

Počas chladenia a skladovania mlieka pri nízkyh teplotách (počas dlhšej doby) sa mení mikrobiálna populácia. Dominantné Gram-pozitívne baktérie sú nahrádzané Gram-negatívnymi baktériami a Gram-pozitívnymi psychrotrofnými baktériami (Quigley et al., 2013). V surovom mlieku (kravské, ovčie, kozie) je možné zaznamenať aj prítomnosť enterokokových baktérií. Najčastejšie detegované druhy enterokokov v kravskom, ovčom a kozom mlieku sú *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. hirae* a/alebo *E. durans* (Lauková et al., 2021). Po procese výroby by malo byť všetko dobre vyčistené a vydezinfikované, pretože aj malé množstvo mlieka môže byť zdrojom živín pre baktérie čeľade *Enterobacteriaceae* (Freitas et al., 2013) a ako ukázal aj tento experiment aj zástupcov rodu *Enterococcus*.

ZÁVER

Z našich výsledkov vyplýva, že zástupcovia baktérií čeľade *Enterobacteriaceae*, radu *Enterobacterales* a aj rodu *Enterococcus*, sú stále bežnou súčasťou mikrobiocenózy surového mlieka nezávisle od jeho druhu a v prípade svojho výskytu môžu vyvolať svojou metabolickou činnosťou nežiaduce zníženie kvality mlieka, chyby mliečnych výrobkov. V neposlednom rade sa môžu tieto baktérie stať súčasťou biofilmu v prevádzke na spracovanie mlieka a rezervoárom virulencie a génov antimikrobiálnej rezistencie. To predstavuje riziko pre bezpečnosť mlieka a mliečnych výrobkov z hľadiska zabezpečenia zdravia ľudí.

LITERATÚRA

- Butler, G., Nielsen, J. H., Slots, T., Seal, Ch., Eyre, M. D., Sanderson, R., Leifert, C. 2008. Fatty Acid and Fat-Soluble Antioxidant Concentrations in Milk From High- and Low-Input Conventional and Organic Systems: Seasonal Variation. In *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88, 1431-1441, doi: <http://doi.org/10.1002/jsfa.3235>.
- Edris, S. N., Hamad, A., Awad, D. A., Sabeq, I. I. 2023. Prevalence, antibiotic resistance patterns, and biofilm formation ability of Enterobacterales recovered from food of animal origin in Egypt. In *Veterinary World*, 16(2), 403. doi: 10.14202/vetworld.2023.403-413.
- Feliciano, R. J., Boué, G., Mohsin, F., Hussaini, M. M., Membré, J. M. 2023. Raw Milk Quality In Large-Scale Farms Under Hot Weather Conditions: Learnings From One-Year Quality Control Data. In *Journal Food Composition Analysis* 117, 105-127. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105127>.
- Flis, Z., Molik, E. 2021. Importance of bioactive substances in sheep's milk in human health. In *International Journal of Molecular Sciences*, 22 (9), 4364. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms22094364>.
- Freitas, R., Brito, M. P. V. P., Nero, L. A., de Carvalho, A. F. 2013. Microbiological safety of minas frescal cheese (MFC) and tracking the contamination of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in MFC processing. In *Foodborne Pathogens Diseases*. Nov; 10 (11), 951–955. doi: 10.1089/fpd.2013.1525.
- Fukuda, K. 2013. Camel milk. Milk and dairy products in human nutrition: In *Production, composition and health*, 578-593. doi: <https://doi.org/10.1002/9781118534168.ch26>.
- Guo, B., Li, P., Qin, B., Wang, S., Zhang, W., Shi, Y., Shao, H. 2024. An analysis of differences in carbapenem-resistant *Enterobacterales* in different regions: a multicentre cross-sectional study. In *BMC Infectious Diseases*, 24(1), 116. doi: <https://doi.org/10.1186/s12879-024-09005-9>.
- Gwandu, S. H., Nonga, R. H., Mdegela, R. H., Katakweba, A. S., Suleiman, T. S., Ryoba, R. H. 2018. Assessment of raw cow milk quality in smallholder dairy farms in Pemba Island Zanzibar, Tanzania. In *Veterinary Medicine International*. Mar 12;2018: 1031726. doi: 10.1155/2018/1031726.
- Hein, I., Jørgensen, H. J., Loncarevic, S., Wagner, M. 2005. Quantification of *Staphylococcus aureus* in unpasteurised bovine and caprine milk by real-time PCR. In *Research in Microbiology*, 156(4), 554-563. doi: <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2005.01.003>.
- Chege, P., Ndungu, Z. 2016. Analysis of contamination points of milk through the whole value chain process and the quality of milk products in the dairy industry. In *Avid Science*. Dostupné na: www.avidscience.com [zobrazené: 25. 01. 2024].
- Kailasapathy, K. 2015. Chemical composition, physical, and functional properties of milk and milk ingredients. In *Dairy Processing and Quality Assurance*, 77-105. doi:10.1002/9781118810279.ch04.
- Ke, D., Picard, F. J., Martineau, F., Ménard, C., Roy, P. H., Ouellette, M., Bergeron, M. G. 1999. Development of a PCR assay for rapid detection of enterococci. In *Journal of Clinical Microbiology*, 37(11), 3497-3503. doi: 10.1128/JCM.37.11.3497-3503.1999.

- Kim, J. M., Park, J. S., Yoon, T. H., Park, J., Park, K. S. 2021. Nucleic acid lateral flow assay for simultaneous detection of hygiene indicator bacteria. In *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 413(20), 5003-5011. doi: 10.1007/s00216-021-03462-w.
- Koreňová, J., Lopašovská, J., Kuchta, T. 2008. Comparison of three microtitre plate-based methods for quantification of biofilm formation ability of bacteria contaminating food technologies. In *Journal of Food & Nutrition Research*, 47(2). 100-104
- Lauková, A., Tomáška, M., Kmeť, V., Strompfová, V., Pogány Simonová, M., Dvorožňáková, E. 2021. Slovak local ewe's milk lump cheese, a source of beneficial *Enterococcus durans* strain. In *Foods*, 10(12), 3091. doi:10.3390/foods10123091.
- Mladenović, K. G., Muruzović, M. Ž., Čomić, L. R. 2018. The effects of environmental factors on planktonic growth and biofilm formation of *Serratia odorifera* and *Serratia marcescens* isolated from traditionally made cheese. In *Acta Alimentaria*, 47(3), 370-378. doi: <https://doi.org/10.1556/066.2018.47.3.13>.
- Mladenović, K. G., Grujović, M. Ž., Kiš, M., Furmeg, S., Tkalec, V. J., Stefanović, O. D., Kocić-Tanackov, S. D. 2021. *Enterobacteriaceae* in food safety with an emphasis on raw milk and meat. In *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105, 8615-8627. doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11655-7>.
- Quigley, L., O'Sullivan, O., Stanton, C., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., Cotter, P. D. 2013. The complex microbiota of raw milk. In *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5), 664-698. doi: 10.1111/1574-6976.12030
- Tančinová, D. Kačániová Miroslava, Felšociová Soňa, Mašková Zuzana. 2017. *Mikrobiológia potravín*. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 239 s. ISBN 978-80-552-1642-3.
- Yohan, Y., Lee, S., Choi, K-H. 2016. Microbial Benefits and Risks of Raw Milk Cheese. In *Food Control*, 63, 201-215. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.11.013>.
- Wang, Q., Zhang, Y., Yao, X., Xian, H., Liu, Y., Li, H., Wang, H. 2016. Risk factors and clinical outcomes for carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* nosocomial infections. In *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 35, 1679-1689. doi: 10.1007/s10096-016-2710-0.
- Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 z 29. apríla 2004, ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu.
- STN EN ISO 6887-1: Mikrobiológia potravín a krmív. Úprava analytických vzoriek, príprava základnej suspenzie a desaťnásobných riedení na mikrobiologické skúšanie. Časť 1: Všeobecné pokyny na prípravu základnej suspenzie a desaťnásobných riedení (ISO 6887-1:1997).
- STN EN ISO 6887-5 Mikrobiológia potravín a krmív. Úprava analytických vzoriek, príprava základnej suspenzie a desaťnásobných riedení na mikrobiologické skúšanie. Časť 5: Špecifické pokyny na úpravu mlieka a mliečnych výrobkov (ISO 6887-5:2010).
- STN ISO 21528-2 Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálne metódy na dôkaz a stanovenie počtu baktérií čeľade *Enterobacteriaceae*. Časť 2: Metóda počítania kolónii (ISO 21528-2:2004).

Pod'akovanie: Štúdia prebiehala s finančnou podporou projektu KEGA 001UVLF-4/2024.

Kontaktná adresa: Zuzana Hanzelová MVDr., Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice
Viera Lovayová Ing., PhD., Ústav lekárskej a klinickej mikrobiológie, LF, UPJŠ, Trieda SNP 1, 040 11 Košice

VÝSKYT DEOXYNIVALENOLU V PŠENICI SIATEJ OCCURRENCE OF DEOXYNIVALENOL IN WHEAT

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

Abstract: Wheat as a strategic cereal is an important agricultural commodity worldwide. Several negative impacts can occur during the cultivation, harvesting, storage and processing of wheat. A hidden threat is the occurrence of mycotoxins, which are the product of micromycetes. In our work, we focused on the quantitative determination of the mycotoxin deoxynivalenol in 34 wheat samples by ELISA analysis. The occurrence of deoxynivalenol was confirmed in 9 samples (26.5%) with an average concentration of $0.114 \pm 0,041 \text{ mg.kg}^{-1}$. The recorded results did not exceed the maximum limits according to the legislation in force in the European Union.

Keywords: cereals, deoxynivalenol, ELISA assay, mycotoxins, wheat

ÚVOD

Pšenica (*Triticum aestivum* L.) patrí do čeľade lipnicovité (Poaceae) a po ryži je druhou najpestovanejšou obilninou na svete. V mnohých krajinách sa konzumuje ako základná potraviná. Pšenica a jej produkty sú základom ľudskej výživy (Bianchi et al., 2023). Je bohatá na škrob (až 70 %), minerály (fosfor, draslík, horčík, mangán), vitamíny (najmä skupiny B), vlákninu, obsahuje prospešné bioaktívne zlúčeniny a esenciálne aminokyseliny. Na potravinárske účely sa uvádza spotreba pšenice okolo 30 až 37 % a 60 % pšenice sa používa na krmivárske účely ako súčasť kompletných kŕmnych zmesí alebo vo forme pšeničných šrotov a otrúb.

Kvalita produktov po spracovaní pšenice priamo súvisí s kvalitou vypestovaných zŕn, preto je rozhodujúca správna poľnohospodárska prax pestovania, zber a skladovanie tejto obilniny (Machado et al., 2017). Počas pestovania na poli, zberu, uskladnenia a spracovania pšenice býva rizikom výskyt sekundárnych metabolitov mikroskopických vláknitých húb. Obilniny predstavujú vhodný substrát pre mikroskopické huby, ktoré sú schopné pri vhodných environmentálnych a klimatických podmienkach syntetizovať mykotoxíny, pričom vysoká prevalencia mykotoxínov v obilninách môže byť príčinou ekonomických strát. Ako najčastejší mykotoxín v miernom klimatickom pásme sa uvádza trichotecén deoxynivalenol (Yu and Pedroso, 2023).

Deoxynivalenol je produkovaný predovšetkým druhmi *Fusarium graminearum*, *F. sporotrichioides*, *Fusarium poae* a *Fusarium acuminatum* (Nogueira et al., 2018). Je tiež známy ako vomitoxín vďaka svojim silným emetickým účinkom po konzumácii, pretože je transportovaný do mozgu, kde spúšťa dopaminergné receptory. Emetické účinky tohto mykotoxínu boli prvýkrát opísané v roku 1972 u japonských mužov konzumujúcich jačmeň, ktorý bol kontaminovaný hubami rodu *Fusarium* (Sobrova et al., 2010). U zvierat sa otrava deoxynivalenolom prejavuje gastrointestinálnymi problémami, najmä hnačkami, vomitusom a následnou malnutríciou. Pri chronickej otrave sa znižuje úžitkovosť zvierat a zvyšuje sa vnímavosť postihnutých jedincov k iným chorobám (Awuchi et al., 2021).

Dôležitou chemicko-fyzikálnou vlastnosťou deoxynivalenolu je odolnosť voči vysokým teplotám, čo zvyšuje riziko jeho výskytu v potravinách (Kamle et al., 2022). Skutočnosť, že prítomnosti deoxynivalenolu v obilninách/potravinách sa nedá úplne zabrániť je základom právnych noriem, ktoré pojednávajú o maximálnych hladinách deoxynivalenolu v pšenici a výrobkoch z nej a to: Nariadenie Komisie (ES) č. 1881/2006, ktorým sa stanovujú

maximálne limity niektorých kontaminujúcich látok v potravinách a Odporúčanie Komisie č. 576/2006/ES, ktoré obsahuje smerodajné hodnoty mykotoxínov v kŕmnych surovinách a krmivách pre zvieratá (Tabuľka 1). V systéme kontroly prítomnosti mykotoxínov v obilninách je preto potrebný neustály monitoring počas všetkých spracovateľských postupov v rámci pestovania, zberu a uskladňovania poľnohospodárskych plodín (Fumagalli et al., 2021).

Cieľom tejto práce bolo kvantitatívne stanovenie prítomnosti deoxynivalenolu vo vzorkách pšenice siatej prostredníctvom imunoenzymatickej ELISA analýzy.

Tabuľka č. 1 Maximálne hodnoty deoxynivalenolu v potravinách (mg.kg⁻¹) a odporúčané hladiny deoxynivalenolu v krmivách pre zvieratá (mg.kg⁻¹)

Potraviny	Maximálne hodnoty (mg.kg ⁻¹)
Nespracovaná pšenica tvrdá a ovos	1,750
Obilniny určené k priamej ľudskej spotrebe, obilná múka, otruby, klíčky vo forme konečného výrobku	0,750
Cestoviny v suchom stave	0,750
Pečivo (vrátane malého bežného pečiva), jemné trvanlivé pečivo, sušienky a raňajkové cereálie	0,500
Obilné príkrmy a ostatné príkrmy pre dojčatá a malé deti	0,500
Kŕmne suroviny	
Obilniny a ich produkty okrem vedľajších produktov kukurice	8
Kompletné a doplnkové krmivá s výnimkou	5
- kompletných a doplnkových krmív pre prasatá	0,9
- kompletných a doplnkových krmív pre teľatá, jahňatá a kozľatá	2

Vlastná tabuľka: spracované a upravené podľa Nariadenia Komisie (ES) č. 1881/2006 a Odporúčania Komisie č. 576/2006/ES

MATERIÁL A METODIKA

Celkovo bolo vyšetrených 34 vzoriek pšenice, ktoré boli získané z predajných skladov na východnom Slovensku. Reprezentatívne vzorky boli odobraté v množstve á 500 g a spracované podľa protokolu Veratox for deoxynivalenol 5/5 (Neogen Corporation, Lansing, USA) nasledovným spôsobom: z každej vzorky bolo odobratých 10 g, ktoré boli následne pomleté. Ku vzorkám bolo pridaných 100 ml destilovanej vody a po premiešaní vzoriek pomocou orbitálnej trepačky (Orbital Shaker-Biosan) boli prefiltrované cez filtračný papier Whatman 1 (Cytiva, Kent, UK). Získané filtráty boli použité na kvantitatívne stanovenie deoxynivalenolu prostredníctvom ELISA analýzy. Princípom ELISA testu je kompetícia neznačeného deoxynivalenolu zo vzoriek a štandardov (0; 0,25; 0,5; 1; a 2 ppm) o väzobné miesta protilátok, s enzýmom značeným deoxynivalenolom (konjugátom).

Výsledné hodnoty koncentrácií (mg.kg⁻¹; ppm) boli odčítané pomocou kalibračnej krivky pomocou ELISA readera (Dynex Technologies, Inc., Chantilly, USA) pri vlnovej dĺžke 650 nm.

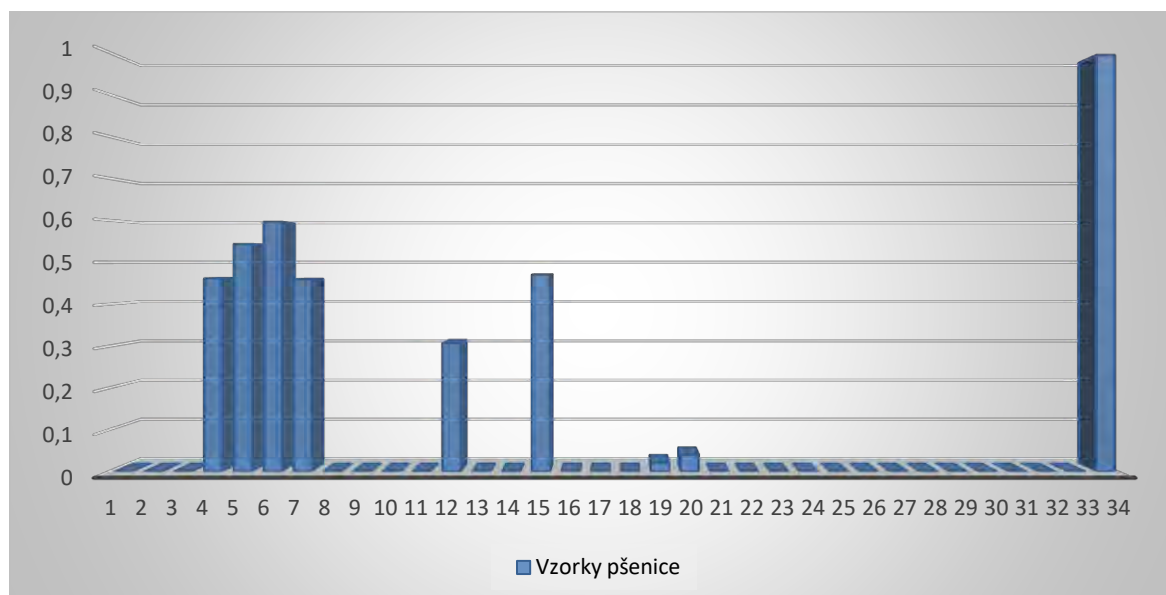
VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tabuľke č. 2 sú uvedené výsledky kvantitatívneho stanovenia deoxynivalenolu vo vzorkách pšenice. Prítomnosť bola potvrdená v 9 vzorkách z celového počtu 34 vzoriek (26,5 %) s minimálnou koncentráciou deoxynivalenolu $0,021 \text{ mg.kg}^{-1}$ a maximálnou koncentráciou deoxynivalenolu $0,993 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Obrázok 1). Priemerná koncentrácia deoxynivalenolu vo vzorkách pšenice predstavovala hodnotu $0,114 \pm 0,041 \text{ mg.kg}^{-1}$. Stanovené koncentrácie deoxynivalenolu sú v súlade s platnou legislatívou a nepresahujú maximálne hodnoty v potravinách a smerodajné hladiny deoxynivalenolu v kŕmnych surovinách a krmivách pre zvieratá.

Tabuľka 2 Prítomnosť deoxynivalenolu v pšenici

Druh obilniny	Deoxynivalenol			
	n/n*	I (%)	Rozsah koncentrácií (mg.kg^{-1})	$\bar{x} \pm \text{SEM}$ (mg.kg^{-1})
Pšenica	34/9	26,5	0,021-0,993	$0,114 \pm 0,041$

n – celkový počet vzoriek, n* – počet vzoriek s výskytom deoxynivalenolu, I – incidencia deoxynivalenolu, \bar{x} – priemerná hodnota, SEM – štandardná chyba priemeru



Obrázok 1 Koncentrácie deoxynivalenolu vo vzorkách pšenice (mg.kg^{-1})

Mykotoxíny sú prírodné toxické látky produkované potenciálne toxigénnymi mikromycétami, ktoré sa môžu vyskytovať v potravinách a krmivách a ohrozujú zdravie ľudí a zvierat (Kamle et al., 2022). V miernom klimatickom pásme je najčastejším mykotoxínom deoxynivalenol, ktorý spôsobuje predovšetkým poruchy gastrointestinálneho traktu, ale môže mať aj hepatotoxický a imunosupresívny účinok (Omotayo et al., 2019). Deoxynivalenol sa vyskytuje v pšenici, jačmeni, kukurici, ryži, ciroku a v prose a bol zaznamenaný aj v potravinách z obilnín (chlieb, pečivo a cestoviny) (Gab-Allah et al., 2023).

Výsledné koncentrácie v nami vyšetrených vzorkách pšenice dosahovali priemernú hodnotu $0,114 \pm 0,041 \text{ mg.kg}^{-1}$ a incidencia deoxynivalenolu bola 26,5 %. Podobnú incidenciu deoxynivalenolu 26 % zaznamenali v pšenici Turecku s priemernou koncentráciou $0,433 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Golge and Kabak, 2020). Alkadri et al. (2014) potvrdili 22,5 % výskyt

deoxynivalenolu v pšenici a priemerná hodnota koncentrácií bola 0,172 mg.kg⁻¹. Nižšia incidencia deoxynivalenolu 16 % bola stanovená v pšenici v Taliansku, kde vzorky pšenice obsahovali deoxynivalenol v priemere 0,011 mg.kg⁻¹ (Juan et al., 2013). Na rozdiel od našich výsledkov až 100 % výskyt deoxynivalenolu v pšenici bol potvrdený vo vzorkách z Rakúska (Berthiller et al., 2009), Argentíny (Palacios et al., 2017) a Číny (Xu et al., 2019). Sedemdesiat percentný výskyt deoxynivalenolu bol zaznamenaný vo vzorkách pšenice v Poľsku (Bryła et al., 2018). V podobnej incidencii (65 %) sa vyskytoval deoxynivalenol vo vzorkách pšenice v Chorvátsku (Pleadin et al., 2013). Vysoká variabilita výskytu a koncentrácií deoxynivalenolu v pšenici v jednotlivých štátoch môže súvisieť predovšetkým s podnebím a klimatickými podmienkami v akých sa pšenica pestuje, taktiež závisí od poľnohospodárskej praxe, od spôsobu zberu plodín a uskladnenia (teplota a vlhkosť vzduchu) a spracovania. Je potrebné poznamenať, že koncentrácie deoxynivalenolu v nami vyšetrených vzorkách pšenice neprekročili maximálne hodnoty stanovené vo vyššie spomínaných predpisoch a vykazovali príliš nízke koncentrácie na to, aby spôsobili vážne zdravotné problémy.

ZÁVER

Sekundárne metabolity mikroskopických vláknitých húb predstavujú pre ľudí a zvieratá skrytú hrozbu. Na minimalizáciu negatívnych dopadov pôsobenia mykotoxínov je dôležité pravidelné sledovanie ich výskytu v poľnohospodárskych plodinách, ktoré slúžia na výrobu potravín pre ľudí a krmív pre zvieratá. Dôležitou súčasťou prevencie je dodržiavanie správnej poľnohospodárskej praxe, podmienok zberu, skladovania a sledovanie aktuálne platnej legislatívy, ktorá stanovuje maximálne hladiny mykotoxínov v potravinách a odporúča smerodajné koncentrácie mykotoxínov v krmných surovinách a v krmivách pre zvieratá.

LITERATÚRA

- Alkadri, D., Rubert, J., Prodi, A., Pisi, A., Mañes, J., Soler, C. 2014. Natural co-occurrence of mycotoxins in wheat grains from Italy and Syria. In *Food Chemistry* [online], vol. 157, pp 111-118 [cit. 2024-07-02]. ISSN 0308-8146 Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodchem.2014.01.052
- Awuchi, C. G., Ondari, E. N., Ogbonna, C. U., Upadhyay, A. K., Baran, K., Okpala, C. O. R., Korzeniowska, M., Guiné, R. P. F. 2021. Mycotoxins Affecting Animals, Foods, Humans, and Plants: Types, Occurrence, Toxicities, Action Mechanisms, Prevention, and Detoxification Strategies-A Revisit. In *Foods* [online], vol. 10, 6, pp. 1279 [cit. 2024-15-01]. ISSN 2304-8158. Dostupné na: doi: 10.3390/foods10061279
- Berthiller, F., Dall'Asta, C., Corradini, R., Marchelli, R., Sulyok, M., Krska, R., Adam, G., Schuhmacher, R. 2009. Occurrence of deoxynivalenol and its 3-β-D-glucoside in wheat and maize. In *Food Additives and Contaminants: Part A*. [online], vol. 26, no. 4, pp. 507-511 [cit. 2024-16-01]. ISSN 1944-0057. Dostupné na: doi: 10.1080/02652030802555668
- Bianchi, A., Venturi, F., Zinnai, A., Taglieri, I., Najar, B., Macaluso, M., Merlani, G., Angelini, L. G., Tavarini, S., Clemente, C. 2023. Valorization of an Old Variety of *Triticum aestivum*: A Study of Its Suitability for Breadmaking Focusing on Sensory and Nutritional Quality. In *Foods* [online], vol. 12, no. 6, pp. 1351 [cit. 2024-15-01]. ISSN 2304-8158. Dostupné na: doi: 10.3390/foods12061351
- Bryła, M., Ksieniewicz-Woźniak, E., Waśkiewicz, A., Szymczyk, K., Jędrzejczak, R. 2018. Natural occurrence of nivalenol, deoxynivalenol, and deoxynivalenol-3-glucoside in Polish winter wheat. In *Toxins* [online], vol. 10, no. 2, pp 81. [cit. 2024-16-01]. ISSN 2072-6651. Dostupné na: doi: 10.3390/toxins10020081
- 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. Dostupné na: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:229:0007:0009:EN:PDF>
- Fumagalli, F., Ottoboni, M., Pinotti, L., Cheli, F. 2021. Integrated Mycotoxin Management System in the Feed Supply Chain: Innovative Approaches. In *Toxins* [online], vol. 13, no. 8, pp. 572 [cit. 2024-15-01]. ISSN 2072-6651. Dostupné na: doi: 10.3390/toxins13080572
- Gab-Allah, MA, Choi, K, Kim, B. 2023. Type B *Trichothecenes* in Cereal Grains and Their Products: Recent Advances on Occurrence, Toxicology, Analysis and Post-Harvest Decontamination Strategies. In *Toxins* [online], vol. 15, no. 2, pp. 85 [cit. 2024-18-01]. ISSN 2072-6651. Dostupné na: doi: 10.3390/toxins15020085

- Golge, O., Kabak, B. 2020 Occurrence of deoxynivalenol and zearalenone in cereals and cereal products from Turkey. In *Food Control* [online], vol, 110, 106982 [cit. 2024-23-01]. ISSN 0956-7135. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodcont.2019.106982
- Juan, C., Ritieni, A., Mañes, J. 2013. Occurrence of *Fusarium* mycotoxins in Italian cereal and cereal products from organic farming. In *Food Chemistry* [online], vol. 141, pp. 1747-1755 [cit. 2024-13-02]. ISSN 0308-8146 Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodchem.2013.04.061
- Kamle, M., Mahato, D. K., Gupta, A., Pandhi, S., Sharma, B., Dhawan, K., Vasundhara, Mishra S., Kumar, M., Tripathi, A. D. 2022. Deoxynivalenol: An Overview on Occurrence, Chemistry, Biosynthesis, Health Effects and Its Detection, Management, and Control Strategies in Food and Feed. In *Microbiology Research* [online], vol. 13, no. 2, pp. 292-314 [cit. 2024-15-01]. ISSN 2036-7481. Dostupné na: doi: 10.3390/microbiolres13020023
- Machado, L. V., Mallmann, C.A., Mallmann, A. O., Coelho R. D., Copetti, M. V. 2017. Deoxynivalenol in wheat and wheat products from a harvest affected by fusarium head blight. In *Food Science and Technology* [online], vol. 37, no. 1, pp. 8-12 [cit. 2024-15-01]. ISSN 1590-1678-457X. Dostupné na: doi: 10.1590/1678-457X.05915
- Nariadenie Komisie (ES) č. 1881/2006 z 19. decembra 2006, ktorým sa ustanovujú maximálne hodnoty obsahu niektorých kontaminantov v potravinách. Dostupné na: <https://op.europa.eu/sk/publication-detail/-/publication/d19ee06a-947d-49ee-983f-5bb600886a5a/language-sk>
- Nogueira, M. S., Decundo, J., Martinez, M., Dieguez, S. N., Moreyra, F., Moreno, M. V., Stenglein, S. A. 2018. Natural Contamination with Mycotoxins Produced by *Fusarium graminearum* and *Fusarium poae* in Malting Barley in Argentina. In *Toxins* [online], vol. 10, no. 2, pp. 78 [cit. 2024-16-01]. ISSN 2072-6651. Dostupné na: doi: 10.3390/toxins10020078
- Omotayo, O. P., Omotayo, A. O., Mwanza, M., Babalola, O. O. 2019. Prevalence of Mycotoxins and Their Consequences on Human Health. In *Toxicology Research* [online], vol. 35, no. 1, pp. 1-7 [cit. 2024-13-02]. ISSN 2234-2753. Dostupné na: doi: 10.5487/TR.2019.35.1.001
- Palacios, S. A., Erazo, J. G., Ciasca, B., Lattanzio, V. M., Reynoso, M. M., Farnochi, M. C., Torres, A. M. 2017. Occurrence of deoxynivalenol and deoxynivalenol-3-glucoside in durum wheat from Argentina. In *Food Chemistry* [online], vol. 230, pp. 728-734 [cit. 2024-07-02]. ISSN 0308-8146. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodchem.2017.03.085
- Pleadin, J., Vahčić, N., Perši, N., Ševelj, D., Markov, K., Frece, J. 2013. *Fusarium mycotoxins'* occurrence in cereals harvested from Croatian fields. In *Food Control* [online], vol. 32, no. 1, pp. 49-54 [cit. 2024-15-01]. ISSN 0956-7135. Dostupné na: doi:10.1016/j.foodcont.2012.12.002
- Sobrova, P., Adam, V., Vasatkova, A., Beklova, M., Zeman, L., Kizek, R. 2010. Deoxynivalenol and its toxicity. In *Interdisciplinary Toxicology* [online], vol. 3, no. 3, pp. 94-9 [cit. 2024-15-01]. ISSN 1337-6853. Dostupné na: doi: 10.2478/v10102-010-0019-x.
- Xu, W., Han, X., Li, F. 2019. Co-occurrence of multi-mycotoxins in wheat grains harvested in Anhui province, China. In *Food Control* [online], vol. 96, pp. 180-185 [cit. 2024-23-01]. ISSN 0956-7135. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodcont.2018.09.006
- Yu, J., Pedroso, I. R. 2023. Mycotoxins in Cereal-Based Products and Their Impacts on the Health of Humans, Livestock Animals and Pets. In *Toxins* [online], vol. 15, no. 8, pp. 480 [cit. 2024-15-01]. ISSN 2072-6651. Dostupné na: doi: 10.3390/toxins15080480

PodĎakovanie: Táto práca bola podporená prostredníctvom grantu VEGA č. 1/0698/24 a KEGA 006UVLF-4/2022.

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.

RESEARCH OF BOTRYOSPHAERIA DIEBACK FOLIAR SYMPTOMS AND MORPHOTYPE DIVERSITY OF MICROSCOPIC FUNGI IN TERMS OF IMPACT ON GRAPE AND WINE QUALITY

Martin Janás, Štefan Ailer, Lucia Benešová

Abstract: The research solves the issue of grapevine trunk diseases that cause premature grapevine dieback. The work aimed to monitor the occurrence of trunk diseases at six Slovak vineyards located in the Nitra and Lesser Carpathian wine-growing regions. Within the monitoring, we used visual observations to determine the degree of grapevine damage concerning the age structure of the vineyards, varietal composition, and rootstock used. For monitoring purposes, we used a rating scale from 1 to 5. The highest damage was found in the location 'Nitra area II', 7-9 %. For microbial analyses of the amputated parts of the grapevines, we drilled wood sawdust and spread it on the surface of malt extract agar in Petri dishes. We cultured them at 21-24 °C without access to light. We obtained 57 different isolates of microscopic fungi from symptomatic grapevines from the site "Nitra area II", which we classified into 40 different morphotype groups based on macromorphological characteristics. From the same site, we obtained 30 different isolates of microscopic fungi from asymptomatic grapevines and classified them into 24 different morphotype groups based on macromorphological characteristics. The hypothesis was confirmed that symptomatic and asymptomatic grapevines differ in microscopic fungi morphotype diversity.

Keywords: Botryosphaeria dieback, grapevine trunk diseases, microscopic fungi, morphotypes

INTRODUCTION

Grapevine trunk diseases (GTD) are one of the greatest threats to world viticulture today (Fontaine et al., 2016). In recent decades, as a result of changing climatic conditions, there has been a massive proliferation of pathogens causing GTD. GTD causes a significant reduction in grape and wine production in all wine-producing countries (Andreini et al., 2009).

Botryosphaeria dieback (BD) was first described in 1974 in Tokaj, Hungary. In the past, the disease was referred to as the Black Dead arm (Pearson et al., 1988). The name is based on the black coloration of the phloem and xylem tissues of infected grapevines (Cristinzio et al., 1978). Botryosphaeria dieback was considered to be called slow apoplexy since the appearance of symptoms of the disease usually occurs only several years after infection with wood-destroying fungi (Pearson et al., 1988).

Botryosphaeria dieback is also included in the GTD complex (Smart, 2015). Wood-destroying fungi are microorganisms that can spread throughout the year, including in the winter. The fungi responsible for BD overwinter on the affected parts of the grapevine. During winter rainfall, spores infect the pruning wounds. Species of the genus Botryosphaeria produce spores between 6 and 30 °C, with maximum sporulation at 18 to 24 °C (Copes and Hendrix, 2004). Rainy weather contributes to the dispersal of Botryosphaeria spores, especially during warm winter periods. In water droplets, spores are easily transported to the pruning wounds, which are the gateway for the pathogen to enter the trunk, and the infection spreads further to different parts of the vineyard.

Currently, more than 20 species of wood-destroying fungi of the family Botryosphaeriaceae are known, the most important being Botryosphaeria dothidea. Other important wood-destroying fungi of the family are *B. parva*, *B. australis*, *B. obtusa*, *Neofusicoccum parvum*, *Diplodia seriata*, *Lasiodiplodia theobromae*, and others (Díaz and LaTorre, 2013; Úrbez-Torres, 2011; van Niekerk et al., 2006). In addition to grapevines, they

have a wide range of host plants, including fruit trees. They are the causal agents of leaf spot, fruit rot, stem and root dieback, and canker in woody plants (Díaz-Urbano et al., 2023).

Disease symptoms

Distinguishing BD from other GTD is very complicated for growers based on observation and without the use of laboratory tests. In a single grapevine, we can detect different species of wood-destroying fungi responsible for several GTD. Species of fungi in the family *Botryosphaeriaceae* are among the most common and widespread species of wood-destroying fungi.

Symptoms include stunted grapevine growth, bud dieback, leaf distortion, and localized chlorosis. Sectorial necrosis is evident on the grapevine wood. Internal wood symptoms most commonly included black streaks, wedge-shaped necrosis, and brown internal necrosis (Úrbez-Torres, 2011; Díaz and LaTorre, 2013; Larignon, 2012; van Niekerk, 2006). Symptoms develop slowly and lead to a gradual decline in grapevine vigor and yield (Phillips, 2008). This aspect is the reason why the most serious losses due to the disease occur in grapevines eight years old and older (Larignon and Dubos, 2001). Bud dieback is frequent, leading to reduced yields. Bud dieback is the result of a fungal attack on young shoots at the beginning of the season. The infection develops into elongated, black lesions on the internode. The infected shoots are thickened at the base and the blackened bark cracks. The shoots are subsequently very brittle and can easily break off under their own weight. If a shoot doesn't break, it might die. At the end of the growing season, the black lesions turn grey or white with black fruiting structures that are embedded in the host tissue (Phillips, 2008). The quantity of harvested grapes decreases. The grapes have a lower sugar content and contain more acids (Jourdes, 2016).

The most reliable way to identify the disease is to cross-cut the trunk of the affected grapevine. After making the cross-section, we observe colour changes in the wood (Figure 1). The colour changes appear as grey, brown, or black necrosis. Just below the bark, we can observe an area of orange-brown coloration. Dark, necrotic formations, most often wedge-shaped, circular, or elongated, form in the infected wood. Vascular bundles infected by BD lose their function, causing a subsequent interruption in the flow of nutrients to the above-ground organs and eventually leading to the death of the grapevine (Fontaine et al., 2015).



Figure 1 Transverse section through the trunk of an amputated part of a symptomatic grapevine (authors)

MATERIAL AND METODOLOGY

Characteristics of the locality "Nitra area II"

The wine-growing village of Nitra is located in the Nitra wine-growing district, which is part of the Nitra wine-growing region. The cultivation pattern in the vineyard is the Rhine-Hessian line. The grapevines are planted on rootstocks SO-4 and Kober 5BB. The year of planting of the vineyard is 2007. Geographical coordinates of the vineyard are: 48.301220° N, 18.100772° E. Heavy soil (clay soil) is the dominant soil granularity at the site.

Damage assessment of the vineyards

In Slovakia, we monitored the incidence of BD in selected vineyards in Nitra and Lesser-Carpathian wine-growing regions. For vineyard damage assessment, we developed a rating scale of 1 to 5 (Table 1). It determines the percentage of symptomatic grapevines by all six groups of wood-destroying fungi, visually, twice, in July and August, according to authors. We took into account the age structure of the vineyards, varietal composition, and rootstock used.

Table 1 Method for assessing the level of GTD symptoms in vineyards

Symptomatic grapevines up to 3 % of the area – damage degree 1
Symptomatic grapevines up to 5 % of the area – damage degree 2
Symptomatic grapevines up to 7 % of the area – damage degree 3
Symptomatic grapevines up to 9 % of the area – damage degree 4
Symptomatic grapevines up to 10 % of the area – damage degree 5

Note: authors

Method for determining the fungal morphotypes of the site „Nitriansky rajón II“

After collecting biological material, we sawed the amputated trunk samples of symptomatic and asymptomatic grapevines to a size of 6-8 cm. After sawing, we disinfected the trunk samples and working tools. We collected material for fungal isolation in a laminar flow cabinet (ESCO) by drilling into the woody material of the trunk samples to obtain sawdust. Wood sawdust from each borehole we collected on sterile glass Petri dishes without agar medium (Ø 90 mm). We obtained wood sawdust we spread on the surface of malt extract agar (ROTH) in Petri dishes (Ø 90 mm), and we cultured them at 21-24 °C in an incubator for 14 days without access to light. To obtain pure cultures of microscopic fungi and to differentiate morphotypes, we inoculated individual fungal colonies growing from sawdust onto the surface of fresh malt agar in plastic Petri plates (Ø 60 mm) in a laminar box. To determine the macromorphological features, we observed the culture diameter (7th and 14th days after inoculation), colony shape, mycelial coloration, lateral view on mycelium, mycelial margin, surface texture, medium pigmentation, and mycelial type.

RESULTS AND DISCUSSION

Monitoring the incidence of *Botryosphaeria dieback*

We monitored 3 sites in the Nitra wine-growing district. In these locations, we found the highest incidence of the disease, which ranged from 7 to 9 %, representing a vineyard damage level of 3-4. In the wine-growing village of Ivanka pri Nitre, the Chardonnay variety is grown on rootstock SO₄. The vineyard area is 4 ha. The age of this vineyard is 6 years. The degree of damage to the vineyard is 4. The grower solves the BD by amputating the infected part into healthy wood and growing a new trunk. In the wine-growing village of Veľký Kýr, we monitored the varieties of Riesling Italico, Cabernet Sauvignon, and Lemberger. The grapevines are grafted on the SO₄ rootstock. The age of this vineyard is 8 years, and the damage

degree is 3. The growers are solving the problem by treating the pruning wounds with latex and fungicides. In the wine-growing village of Nitra, we observed the Cabernet Sauvignon variety on the rootstock K 5 BB. The monitored area is 0.3 ha. The age of the vineyard is 15 years. The degree of vineyard damage is 4. Infected parts of the grapevines were amputated 20 cm above the asymptomatic shoot growing from the trunk.

In the wine-growing village Pezinok we found an incidence of BD of 5%, which represents a damage degree of 2. In the monitored vineyard is planted the variety Grüner Veltliner grafted on rootstock SO₄. The age of the vineyard is 40 years. The growers at this site burn infected parts of the grapevines. In the Radošínský and Želiezovský wine-growing districts, we found an identical incidence of BD of 3 %, which represents a degree of damage of 1. In the wine-growing village of Radošina, we observed the varieties Pinot Grigio, Gewürztraminer, and Sauvignon Blanc grafted on rootstock SO₄. The area of the vineyard is 13.6 ha. The age of the vineyard is 12 years.

In the wine-growing village of Želiezovce, we observed the varieties Feteasca regala, Grüner Veltliner, and Cabernet Sauvignon grafted on rootstock K 5 BB. The area of the vineyard is 36 ha. The age of the vineyard is 10 years. We found a vineyard damage degree of 1.

The incidence of GTD in France has been increasing since 2000. The average annual incidence of GTD is 13% (Claverie, 2020; Bruez et al., 2013). The incidence of GTD in Italy varies from 8 to 19%. Based on our monitoring of selected vineyards in the Slovak Republic, we found an average GTD incidence of less than 10%. We found a lower incidence of GTD in the monitored vineyards in Slovakia compared to France and Italy (De La Fuente et al., 2016). In Spain, the incidence of GTD ranges from 1.8 to 10.5%, which is similar to the incidence rate we found in the Slovak Republic. The incidence of GTD has reached 60 to 80% in some old vineyards in Tuscany, Puglia, and Sicily. In Argentina, 30% of old vineyards are affected, and significant economic losses due to GTD have also been recorded in the United States, Australia, and New Zealand (De La Fuente et al., 2016).

Table 2 Visual damage assessment - 6 vineyard sites (districts)

District	Nitriansky I.	Nitriansky II.	Nitriansky III.	Radošínský	Želiezovský	Pezinský
Variety	Pinot blanc, Chardonnay, Cabernet Sauvignon	Cabernet Sauvignon	Cabernet Sauvignon, Riesling Italico, Lemberger	Pinot Grigio, Gewürztraminer, Sauvignon blanc	Feteasca regala, Grüner Veltliner, Cabernet Sauvignon	Grüner Veltliner
Origin of grafted young plants	The grower has not indicated the origin	Czechia – distribution	The grower has not indicated the origin	The grower has not indicated the origin	The grower has not indicated the origin	The grower has not indicated the origin
Rootstock	SO ₄	K 5 BB	SO ₄	SO ₄	SO ₄ , K 5 BB	SO ₄
Age of vineyard	6 y	15 y	8 y	12 y	10 y	40 y
Evaluated area	4 ha	0.3 ha	10 ha	13.6 ha	36 ha	8 ha
Damage degree	4	4	3	1	1	2

Results of sorting isolates into morphotypes

We obtained 57 different isolates of microscopic fungi from symptomatic grapevines from the site "Nitra area II", which we classified into 40 different morphotype groups based on macromorphological characteristics. The diversity of the studied population of microscopic fungi according to Simpson's index was 0.0188. We obtained 30 different isolates of microscopic fungi from asymptomatic grapevines, which we classified into 24 different morphotype groups based on macromorphological characteristics.

Simpson's diversity index of the study population for the diversity of microscopic fungi from asymptomatic grapevines is 0.0533. The hypothesis that symptomatic and asymptomatic grapevines differ in the morphotypic diversity of microscopic fungi isolated from their trunks was confirmed. The fungal diversity of symptomatic and asymptomatic grapevines sampled within a single site in Switzerland was compared by Hofstetter et al. (2012). The authors found a high diversity of fungi, up to 158 species. The diversity of fungi associated with grapevine trunk diseases was similar on both symptomatic (35.8%) and asymptomatic (31.9%) grapevines. Authors concluded that the wood of both symptomatic and asymptomatic grapevines is colonized by almost identical fungi. Based on the results of our experiment, the fungal diversity of symptomatic and asymptomatic grapevines is not identical.

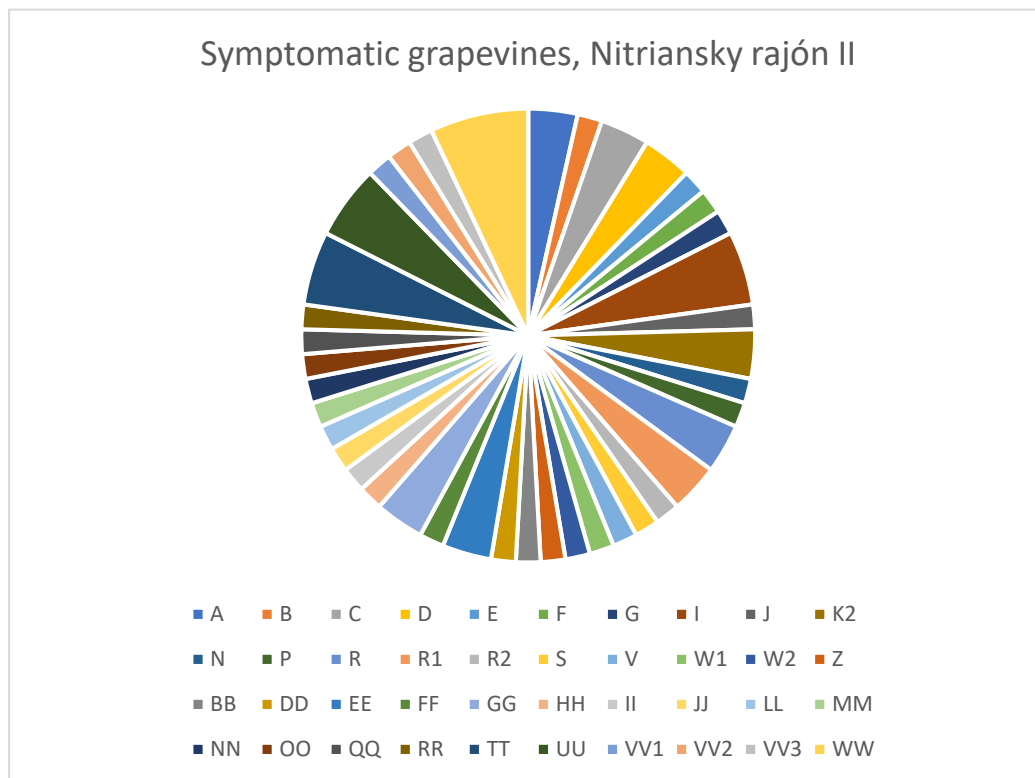


Figure 2 Graphical representation of the abundance of microscopic fungal isolates in morphotype groups – symptomatic grapevines. Note: A, B, C...WW represent the designations of the individual morphotype groups.

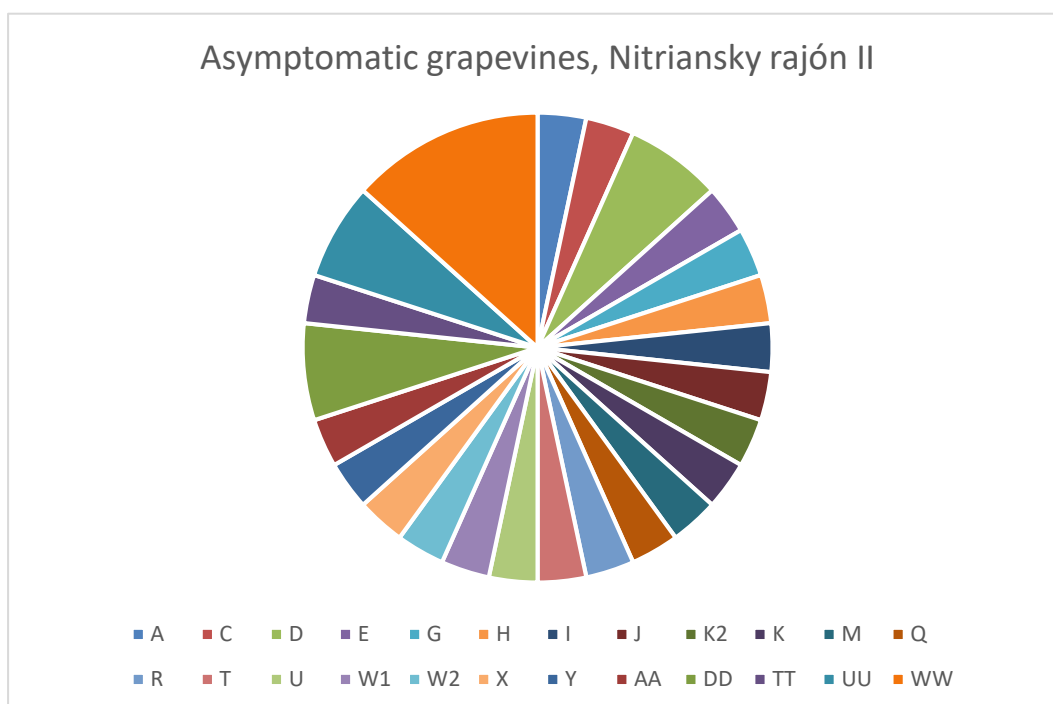


Figure 3 Graphical representation of the abundance of microscopic fungal isolates in morphotype groups – asymptomatic grapevines. Note: A, B, C..WW represent the designations of the individual morphotype groups.

ZÁVER

Prevention, proper agrotechnics, and elimination of cultivation stress play a major role in the control of wood-destroying fungi. The key to the control of grapevine trunk diseases is strict transnational monitoring of biological propagation material. The natural defence of grapevines is the flow of sap, when drops of exudate can be observed on the surface of the resulting cut wounds. If pruning is carried out in early spring, the grapevine has a higher resistance to infection thanks to tearing, which limits the entry of the pathogen into the cut wound. Tools used for pruning and green work should be disinfected regularly. As an additional procedure, we can choose to disinfect the cutting wounds. Spraying fungicides and materials like waxes or balms that work well as wound treatment are two ways to carry out disinfection. In the case of larger wounds, the application of acrylic paint to the surface of the pruning wound has proved successful. During the growing season, we try to minimise the occurrence of wounds caused by mechanisation, which are a gateway for infection. The fight against *Botryosphaeria* dieback in vineyards is very difficult, not very effective, and costly. If we observe symptoms of grapevine infection in a fruiting vineyard, a possible solution is to remove the infected part of the grapevine and grow a new, healthy trunk.

LITERATÚRA

- Andreini, L., Caruso, G., Bertolla, C., Scalabrelli, G., Viti, R., Gucci R. 2009. Gas exchange, stem water potential and xylem flux on some grapevine cultivars affected by Esca disease. In *South African Journal of Enology and Viticulture* [online], vol. 30, p. 142-147 [cit. 2024-02-20]. ISSN 0253-939X. Dostupné na: doi: 10.21548/30-2-1434
- Bruetz, E., Lecomte, P., Grosman, J., Doublet, B., Bertsch, C., Rey, P. 2013. Overview of grapevine trunk diseases in France in the 2000s. In *Phytopathologia Mediterranea* [online], vol. 52, p. 262-275 [cit. 2024-02-20]. ISSN 0031-9465. Dostupné na: doi: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-11578

- Claverie, M., Notaro, M., Fontaine, F., Wery, J. 2020. Current knowledge on Grapevine Trunk Diseases with complex aetiology: a systemic approach. In *Phytopathologia Mediterranea* [online], vol. 59, p. 29-53 [cit. 2024-02-20]. ISSN 0031-9465. Dostupné na: doi: 10.14601/Phyto-11150
- Copes, W. E., Hendrix, F. F. 2004. Effect of Temperature on Sporulation of *Botryosphaeria dothidea*, *B. obtusa*, and *B. rhodina*. In *Plant Disease* [online], vol. 88, p. 292-296. 53 [cit. 2024-02-20]. ISSN 0191-2917. Dostupné na: doi: 10.1094/PDIS.2004.88.3.292
- Cristinzio, G. 1978. Gravi attacchi di *Botryosphaeria obtusa* su vite v provincii di Isernia. In *Inf. Fitopatol.* [online], vol. 6, p. 23-25 [cit. 2024-02-20]. ISSN 0020-0735.
- De La Fuente, M., Fontaine, F., Gramaje, D., Armengol, J., Smart, R., Corio-Costet, M.-F. 2016. Grapevine trunk diseases. A review. In *OIV* (Ed.), 1st edition (p. 24). Paris, France: International Organisation of Vine and Wine (OIV).
- Díaz, G. A., Latorre, B. A. 2013. "Efficacy of paste and liquid fungicide formulations to protect pruning wounds against pathogens associated with grapevine trunk diseases in Chile". In *Crop Protection* [online], vol. 46, p. 106-112 [cit. 2024-02-20]. ISSN 0261-2194. Dostupné na: doi: 10.1016/j.cropro.2013.01.001
- Díaz-Urbano, M., Velasco, P., Rodríguez, V. M., Poveda, J. 2023. Chapter 4 - Endophytic fungi in postharvest disease management in fresh produce. In *Postharvest Management of Fresh Produce* [online], p. 81-112 [cit. 2024-02-20]. ISBN 9780323984881. Dostupné na: doi: 10.1016/B978-0-323-91132-0.00004-6
- Fontaine, F., Gramaje, D., Armengol, J., Smart, R., Nagy, Z. A., Morgo, M., Rego, C., Corio-Costet, M. F. 2016. Grapevine trunk diseases. A review. In *OIV Publications* [online], 24 p.
- Fontaine, F., Pinto, C., Vallet, J., Clément, C., Gomes, A., Spagnolo, A. 2015. The effects of grapevine trunk diseases (GTDs) on vine physiology. In *Eur. J. Plant. Pathol.* [online], vol. 104, p. 707-721 [cit. 2024-02-20]. ISSN 1573-8469. Dostupné na: doi: 10.1007/s10658-015-0770-0
- Hofstetter, V., Buyck, B., Croll, D., Viret, O., Couloux, A., Gindro, K. 2012. What if esca disease of grapevine were not a fungal disease? In *Fungal Diversity* [online], vol. 54, p. 51-67 [cit. 2024-02-20]. ISSN 1560-2745. Dostupné na: doi: 10.1007/s13225-012-0171-z
- Jourdes, M. 2016. Impact de l'esca sur la qualité du raisin et du vin. VITI, de la vigne au vin. 2016. Dostupné na: <https://www.mon-viti.com/node/21452/activer>
- Larignon P. 2012. "Maladies cryptogamiques du bois de la vigne : symptomatologie et agents pathogènes". Dostupné na: <http://www.vignevin.com>.
- Larignon, P., Dubos, B. 2001. The villainy of Black Dead Arm. In *Wines & Vines* [online], vol. 82, p. 86-89 [cit. 2024-02-20]. ISSN 0043-583X.
- Pearson, R. C., Goheen, A. C. 1988. Compendium of Grape Diseases; APS Press: St. Paul, MN, USA.
- Phillips A. J. L. 2008. *Botryosphaeria dothidea* and other fungi associated with Excoriose and dieback of grapevines in Portugal. In *Journal of Phytopathology* [online], vol. 146, p. 327-332 [cit. 2024-02-20]. ISSN 1439-0434. Dostupné na: doi: 10.1111/j.1439-0434.1998.tb04700.x
- Smart, R. 2015. Trunk diseases: Timely trunk renewal to overcome trunk disease. In *Wine & Viticulture Journal* [online], vol. 30, p. 44 [cit. 2024-02-20]. ISSN 1838-6547.
- Úrbez-Torres, J. R. 2011. The status of *Botryosphaeriaceae* species infecting grapevines". In *Phytopathologia Mediterranea* [online], vol. 50, p. 5-45 [cit. 2024-02-20]. ISSN 0031-9465. Dostupné na: doi: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-9316
- Van Niekerk, J. M., Fourie, P. H., Halleen, F., Crous, P. W. 2006. *Botryosphaeria* spp. as grapevine trunk disease pathogens. In *Phytopathologia Mediterranea* [online], vol. 45, p. 43-54 [cit. 2024-02-20]. ISSN 0031-9465.

Acknowledgments: The analyses and contributions were created with the financial support of the project of the Agency for the Support of Research and Development - project no. APVV-22-0402, VEGA project no. 1/0239/21. Thanks to the project Demand-driven research for the sustainable and innovative food, Drive-4SIFood 313011V336, co-financed by the European Union.

Contact address: Ing. Martin Janás, Institute of Horticulture, Faculty of Horticulture and Landscape Engineering, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, +421 37 641 5800, xjanas@uniag.sk

VLIV PORUŠENÍ TEPLoty SKLADOVÁNÍ NA CELKOVÝ POČET MIKROORGANISMŮ U VZORKŮ CHLAZENÉ DRŮBEŽE BALENÉ V OCHRANNÉ ATMOSFÉŘE

EFFECT OF STORAGE TEMPERATURE DISRUPTION ON TOTAL PLATE COUNT IN CHILLED POULTRY SAMPLES PACKAGED IN A MODIFIED ATMOSPHERE

Lenka Necidová, Šárka Bursová, Danka Haruštiaková, Alena Zouharová, Klára Bartáková

Abstract: The aim of the study was to assess the effect of inadequate transport on the result of microbiological analyses of chilled poultry. During transport chilled poultry meat products must be kept at a temperature below 4 °C (Regulation (EC) No 853/2004). Chilled poultry meat (chicken legs and breast) was packaged in modified atmosphere (MAP) for the purposes of the experiment. The model experiments simulated an increase of temperature during the transport to 8, 11, 14, 17, 20 and 25 °C. The exposure time was 1, 2, 3, and 4 h. The aerobic plate count (APC) in the samples were determined immediately after exposure to higher temperature (0 h), 3 h and 24 h after returning to the adequate temperature (4 °C). The APC values were influenced by temperature and by duration of exposure to higher temperature in samples in MAP. It is necessary to analyse the samples immediately after receiving them in the laboratory. The results of this sub-study enabled the creation of software that recommends or does not recommend to laboratories the microbiological analysis of a food sample of animal origin due to disruption of the cold chain during its transport

Keywords: packaging, transport, microbiological quality, temperature and cooling time, analysis time

ÚVOD

Maso drůbeže musí být po jatečném opracování, po prohlídce, porcování a popřípadě zabalení (pokud se maso porcuje za tepla) co nejdříve zchlazeno na teplotu 4 °C a nižší. Legislativní požadavek na teplotu skladování včetně transportu chlazeného drůbežního masa uvádí nařízení (ES) č. 853/2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu ve znění pozdějších předpisů (Oddíl II, Kapitola IV). Syrové maso včetně drůbežního je velmi rychle se kazící komoditou a podporuje mikrobiální růst i v případě, že je skladováno chlazené (Šáde et al., 2013). Údržnost chlazeného drůbežního masa se výrazně prodlužuje při použití balení s modifikovanou atmosférou (Jongberg et al., 2014; Demirhan a Candogan, 2017; Zouharova et al., 2023). V případě transportu vzorků chlazených potravin do laboratoře je velmi důležité dodržet odpovídající teplotní řetězec. Při zvýšení teploty potravin může dojít k nárůstu kontaminující mikroflóry. Modelové studie byly zaměřeny na chlazenou drůbež (kuřecí stehna a prsa) v balení s modifikovanou atmosférou (MAP) a simulují porušení chladírenského řetězce při odběru a transportu vzorků.

Cílem studie bylo posoudit vliv neadekvátního transportu na výsledek mikrobiologických analýz chlazeného drůbežního masa. Výsledky studie slouží k nastavení maximální délky přerušování teplotního řetězce, která nebude mít negativní dopad na výsledný mikrobiologický profil chlazené drůbeže. Tyto výsledky umožňují definovat přijatelný postup při odběru a transportu vzorků chlazené drůbeže, především s ohledem na minimalizaci případného znehodnocení vzorku či zpochybnění výsledků analýz. Statistické hodnocení výsledků dále posuzuje, jakým způsobem se na počtu mikroorganismů projeví doba zahájení vyšetření vzorku, která uplyne od skončení působení teploty porušení.

MATERIÁL A METODIKA

Jako materiál byla v tržní síti zakoupena chlazená drůbeží stehna a prsa balená v MAP. Vzorky byly dopraveny do laboratoře při teplotě maximálně 4 °C a při této teplotě byly skladovány až do zahájení pokusu. Balení v MAP představovala kuřecí stehna a prsa v polypropylenových miskách zatavených polyetylenovou folií naplněných směsí plynů používaných v tržní síti pro tvorbu ochranné atmosféry.

Modelové pokusy simulovaly zvýšení teploty při transportu vzorků na 8, 11, 14, 17, 20 a 25 °C. Doba expozice teplot byla 1, 2, 3 a 4 h. Analýzy byly provedeny ihned po expozici zvýšené teplotě (0 h), za 3 h a za 24 h po návratu do adekvátní teploty. V rámci jedné šarže byly prováděny 3 paralelní stanovení. Jako kontrolní vzorky byly použity vzorky chlazených kuřecích stehen a prsou skladovaných při teplotě 4 ± 1 °C (teplota požadovaná legislativou).

U analytických vzorků byly sledovány celkové počty mikroorganismů (CPM) plotnovou metodou dle ČSN EN ISO 4833-1 Mikrobiologie potravinového řetězce – Horizontální metoda pro stanovení počtu mikroorganismů – Část 1: Technika přelivem a počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C (2013) s využitím agaru s glukózou, tryptonem a kvasničným extraktem (HiMedia, India).

Původní hodnoty počtu KTJ.g^{-1} byly logaritmicky transformovány s použitím dekadického logaritmu a vyjádřeny pomocí průměru a střední chyby průměru. Celkový počet mikroorganismů zaznamenaný ve vzorcích, které nebyly vystaveny zvýšené teplotě, byl použit pro výpočet mezních hodnot dle normy ČSN EN ISO 7218 (2008). Tyto mezní hodnoty (horní mez) určují hranici počtu mikroorganismů, která by neměla být překročena. Jelikož byl experiment rozdělen do několika časových období a porušení chlazení různými teplotami nebylo provedeno na vzorcích stejné šarže, byl CPM u vzorků po porušení chlazení vyjádřen jako násobek výchozí hodnoty (hodnota počtu mikroorganismů u vzorků bez porušení chlazení stejné šarže). Takto upravené hodnoty vzorků po porušení chlazení, které neodrážejí různý výchozí počet mikroorganismů různých šarží drůbežích stehen a prsou, byly statisticky analyzovány. K vyhodnocení vlivu teploty, délky porušení chlazení a doby vyšetření vzorku na upravené (poměrové) hodnoty CPM byl použit obecný lineární model (GLM) – ANCOVA. Doba vyšetření vzorku byla použita jako kategoriální proměnná, teplota a délka porušení chlazení jako spojité proměnné. Analýza byla provedena samostatně pro vzorky drůbežích stehen a prsou v prostém balení a pro vzorky v balení MAP. Všechny testy byly vyhodnoceny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Ke zpracování dat byl využit software Statistica, verze 14.0.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výchozí **celkový počet mikroorganismů** ve vzorcích kuřecích prsou byl 4,26-4,91 log KTJ/g a po narušení chlazení se CPM pohyboval od 3,50 do 5,48 log KTJ.g^{-1} (tabulka 1). Mezní hodnoty byly překročeny v jednom případě u vzorků vyšetřených ihned po porušení chlazení a 3 hodiny po porušení chlazení a ve 4 případech u vzorků vyšetřených 24 hodin po porušení chlazení. Hodnoty CPM byly statisticky významně ovlivněny dobou expozice vzorku zvýšené teplotě ($P < 0,05$), čas vyšetření vzorku významný vliv nevykazoval ($P > 0,05$). Teplota skladování nebyla do modelu zahrnuta z důvodu negativního a statisticky nevýznamného efektu na CPM. Model pro pravděpodobnost překročení mezní hodnoty taky zahrnoval pouze dvě proměnné – dobu expozice zvýšené teplotě a dobu vyšetření vzorku; ani jedna z nich ovšem nevykazovala statisticky významný koeficient ($P > 0,05$).

Výchozí **celkový počet mikroorganismů** ve vzorcích kuřecích stehen byl 3,78-4,10 log KTJ.g^{-1} a po narušení chlazení se CPM pohyboval od 3,35 do 5,63 log KTJ.g^{-1} (tabulka 2). Mezní hodnoty byly překročeny ve 12 případech: v 3 případech u vzorků vyšetřených ihned po porušení chlazení, v 5 případech u vzorků vyšetřených 3 hodiny po porušení chlazení a u 4

vzorků vyšetřených 24 hodin po porušení chlazení. Do modelu pro CPM nebyla zahrnuta délka expozice vzorku zvýšené teplotě. Z ostatních dvou možných prediktorů měla statisticky významný vliv na CPM teplota skladování ($P < 0,001$). V modelu pro překročení mezní hodnoty CPM byly zahrnuty všechny tři proměnné, statisticky významný koeficient byl zjištěn pouze u teploty skladování ($P < 0,001$), doba expozice zvýšené teplotě a čas vyšetření vzorku statisticky významný efekt nevykazovaly ($P > 0,05$).

Tabulka 1 Změny celkového počtu mikroorganismů ($\log \text{KTJ.g}^{-1}$) u vzorků kuřecích prsou balených v modifikované atmosféře (MAP) v závislosti na skladovací teplotě, době expozice zvýšené teplotě a době vyšetření vzorků. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr \pm střední chyba průměru ($N = 3$). Hodnota před expozicí vyjadřuje výchozí celkový počet mikroorganismů ($N = 6$ nebo 9). Hodnoty zvýrazněny tučně a kurzívou překročily mezní hodnotu pro danou teplotu. V0 – vyšetření ihned po ukončení expozice zvýšené teplotě, V3 – vyšetření 3 hodiny po ukončení expozice zvýšené teplotě, V24 – vyšetření 24 hodin po ukončení expozice zvýšené teplotě.

Čas vyšetření	Teplota	Celkový počet mikroorganismů ($\log \text{KTJ.g}^{-1}$)					
		Před expozicí	Horní mez	Doba vystavení vzorků zvýšené skladovací teplotě			
				1 hodina	2 hodiny	3 hodiny	4 hodiny
V0	4 °C	4,26 \pm 0,24	4,63			4,26 \pm 0,06	
	8 °C	4,91 \pm 0,21	5,44	5,13 \pm 0,12	4,89 \pm 0,22	4,75 \pm 0,03	5,23 \pm 0,09
	11 °C	4,91 \pm 0,21	5,44	5,01 \pm 0,06	4,73 \pm 0,03	4,95 \pm 0,13	5,12 \pm 0,03
	14 °C	4,32 \pm 0,13	4,68	4,01 \pm 0,05	4,28 \pm 0,15	3,97 \pm 0,18	4,77 \pm 0,00
	17 °C	4,32 \pm 0,13	4,68	4,24 \pm 0,12	4,35 \pm 0,09	4,23 \pm 0,14	4,37 \pm 0,04
	20 °C	4,40 \pm 0,19	4,87	4,22 \pm 0,55	3,94 \pm 0,24	3,94 \pm 0,13	3,86 \pm 0,24
	25 °C	4,40 \pm 0,19	4,87	4,16 \pm 0,33	4,11 \pm 0,17	4,01 \pm 0,10	4,05 \pm 0,20
V3	4 °C		4,63			4,52 \pm 0,34	4,48 \pm 0,22
	8 °C		5,44	5,04 \pm 0,08	4,88 \pm 0,15	4,84 \pm 0,10	4,72 \pm 0,12
	11 °C		5,44	5,15 \pm 0,13	4,97 \pm 0,14	4,90 \pm 0,03	5,48 \pm 0,07
	14 °C		4,68	4,01 \pm 0,05	4,38 \pm 0,29	4,44 \pm 0,21	3,99 \pm 0,22
	17 °C		4,68	4,67 \pm 0,15	4,40 \pm 0,11	3,93 \pm 0,04	4,53 \pm 0,23
	20 °C		4,87	3,74 \pm 0,15	3,61 \pm 0,15	4,09 \pm 0,09	3,93 \pm 0,12
	25 °C		4,87	3,96 \pm 0,20	3,89 \pm 0,08	4,16 \pm 0,45	4,05 \pm 0,10
V24	4 °C		4,63	3,50 \pm 0,10	4,46 \pm 0,06		4,37 \pm 0,34
	8 °C		5,44	4,42 \pm 0,06	4,69 \pm 0,55	4,58 \pm 0,37	4,40 \pm 0,10
	11 °C		5,44	5,01 \pm 0,27	4,55 \pm 0,29	5,18 \pm 0,06	4,97 \pm 0,04
	14 °C		4,68	4,17 \pm 0,19	3,80 \pm 0,07	4,86 \pm 0,11	4,14 \pm 0,03
	17 °C		4,68	4,18 \pm 0,02	5,10 \pm 0,26	4,71 \pm 0,13	4,68 \pm 0,13
	20 °C		4,87	4,13 \pm 0,14	4,06 \pm 0,20	4,00 \pm 0,23	4,16 \pm 0,12
	25 °C		4,87	4,12 \pm 0,17	4,50 \pm 0,19	4,12 \pm 0,13	4,53 \pm 0,13

Hauge et al. (2023) uvádí hodnoty CPM u jatečně upravených těl brojlerů po chlazení na dvou sledovaných porážkách $4,93 \pm 0,31$ a $4,70 \pm 0,76 \log \text{KTJ/g}$, což koresponduje s hodnotami stanovenými na počátku modelových pokusů této studie. Vliv zvýšené teploty na CPM potvrdili Yimenu et al. (2019), kteří stanovili výchozí CPM ve vzorcích chlazeného drůbežního masa $4,45 \log \text{KTJ.g}^{-1}$, hodnoty vzrostly na 7,3, 8,0, 8,1 a $8,7 \log \text{KTJ.g}^{-1}$, což překročilo horní hranice mikrobiologické přijatelnosti (Tuncer a Sireli, 2008) po přibližně 9, 6, 3 a 2 dnech při 0, 5, 10 a 15 °C během skladování.

Tabulka 2 Změny celkového počtu mikroorganismů (log KTJ.g⁻¹) u vzorků kuřecích stehien balených v modifikované atmosféře (MAP) v závislosti na skladovací teplotě, době expozice zvýšené teplotě a době vyšetření vzorků. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr ± střední chyba průměru (N = 3). Hodnota před expozicí vyjadřuje výchozí celkový počet mikroorganismů (N = 6 nebo 9). Hodnoty zvýrazněny tučně překročily mezní hodnotu pro danou teplotu. V0 – vyšetření ihned po ukončení expozice zvýšené teplotě, V3 – vyšetření 3 hodiny po ukončení expozice zvýšené teplotě, V24 – vyšetření 24 hodin po ukončení expozice zvýšené teplotě.

Čas vyšetření	Teplota	Celkový počet mikroorganismů (log KTJ.g ⁻¹)					
		Před expozicí	Horní mez	Doba vystavení vzorků zvýšené skladovací teplotě			
				1 hodina	2 hodiny	3 hodiny	4 hodiny
V0	4 °C	4,10 ± 0,15	4,66			4,23 ± 0,18	
	8 °C	3,84 ± 0,13	4,40	4,15 ± 0,22	3,86 ± 0,09	3,79 ± 0,08	3,94 ± 0,05
	11 °C	3,84 ± 0,13	4,40	4,14 ± 0,11	4,10 ± 0,15	4,03 ± 0,03	3,46 ± 0,18
	14 °C	4,10 ± 0,15	4,66	4,29 ± 0,05	3,79 ± 0,21	3,83 ± 0,13	3,80 ± 0,18
	17 °C	4,10 ± 0,15	4,66	3,87 ± 0,07	4,09 ± 0,10	4,04 ± 0,13	3,96 ± 0,05
	20 °C	3,78 ± 0,13	4,34	4,42 ± 0,05	4,28 ± 0,07	4,33 ± 0,02	5,11 ± 0,16
	25 °C	3,78 ± 0,13	4,34	4,04 ± 0,21	4,21 ± 0,07	4,17 ± 0,03	5,63 ± 0,22
V3	4 °C		4,66			3,73 ± 0,10	3,84 ± 0,10
	8 °C		4,40	3,80 ± 0,16	3,61 ± 0,10	4,03 ± 0,08	3,78 ± 0,15
	11 °C		4,40	3,82 ± 0,14	3,85 ± 0,15	3,58 ± 0,12	3,66 ± 0,04
	14 °C		4,66	4,16 ± 0,08	4,01 ± 0,12	4,37 ± 0,15	3,67 ± 0,08
	17 °C		4,66	3,78 ± 0,18	3,96 ± 0,13	3,91 ± 0,09	4,01 ± 0,16
	20 °C		4,34	4,26 ± 0,22	5,07 ± 0,17	4,14 ± 0,30	4,75 ± 0,33
	25 °C		4,34	4,70 ± 0,12	4,30 ± 0,01	4,60 ± 0,22	4,54 ± 0,25
V24	4 °C		4,66	3,71 ± 0,02	3,75 ± 0,35		3,78 ± 0,13
	8 °C		4,40	3,67 ± 0,19	3,49 ± 0,10	3,35 ± 0,13	3,83 ± 0,08
	11 °C		4,40	4,11 ± 0,32	3,97 ± 0,24	3,45 ± 0,09	3,44 ± 0,23
	14 °C		4,66	3,92 ± 0,14	4,28 ± 0,36	3,90 ± 0,17	3,98 ± 0,11
	17 °C		4,66	3,94 ± 0,18	4,08 ± 0,03	4,26 ± 0,15	4,23 ± 0,01
	20 °C		4,34	5,06 ± 0,08	4,34 ± 0,24	3,57 ± 0,12	3,35 ± 0,14
	25 °C		4,34	4,23 ± 0,12	5,48 ± 0,24	4,46 ± 0,33	4,36 ± 0,10

ZÁVĚR

Celkový počet mikroorganismů vzorků drůbežního masa baleného v MAP může být ovlivněn jak teplotou uchovávání, tak dobou expozice zvýšené teplotě. Významný vliv má v určitých situacích i doba vyšetření vzorku po předchozím porušení chlazení. Zejména v případech, kdy dochází k vystavení vzorku vyšší teplotě delší dobu, je nevyhnutné vzorky analyzovat bezprostředně po příjmu do laboratoře.

Výsledky této dílčí studie umožnily vznik softwaru, který kvantifikuje riziko mikrobiální kontaminace potravin živočišného původu v důsledku narušení chladírenského řetězce, a to včetně vizualizace rizika. Uživatel zvolí typ potraviny a typ jejího balení, teplotu v transportním boxu (možnost nastavení od 5 do 25 °C, po 0,5 °C), které byl vzorek vystaven, délku expozice této zvýšené teplotě (od 0,5 hodiny do 4 hodin, možnost nastavení po 0,5 hod) a dobu setrvání vzorku ve vyhovující teplotě v ledničce/svozové lince do mikrobiologického vyšetření (od 0 do 24 hodin, možnost nastavení po 1 hod). Simuluje tak porušení chlazení při transportu vzorku. Software je volně přístupný na webové stránce <https://webstudio.shinyapps.io/transportvzorku/>. Jako výsledek je zobrazen předpokládaný

počet mikroorganismů (uveden v násobcích výchozí hodnoty) a riziko narušení vzorku při transportu ve formě doporučení nebo nedoporučení vzorku k mikrobiologické analýze.

LITERATURA

- ČSN EN ISO 4833-1 (2013). Mikrobiologie potravinového řetězce – Horizontální metoda pro stanovení počtu mikroorganismů – Část 1: Technika přelivem a počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C.
- ČSN EN ISO 7218 (2008). Mikrobiologie potravin a krmiv – Všeobecné požadavky a doporučení pro mikrobiologické zkoušení.
- Demirhan, B., Candogan, K. 2017. Active packing of chicken meats with modified atmosphere including oxygen scavengers. *Poultry Science*, vol. 96, pp. 1394-1401.
- Hauge, S. J., Johannessen, G. S., Haverkamp, T. H. A., Bjørkøy, S., Llarena, A. K., Spilsberg, B., Leithaug, M., Økland, M., Holthe, J., Røtterud, O.-J., Alvseike, O., Nagel, Alne, G. E. 2023. Assessment of poultry process hygiene and bacterial dynamics along two broiler slaughter lines in Norway. *Food Control*, vol. 146, p. 109526.
- Jongberg, S., Wen, J., Torngren, M. A., Lund, M. N. 2014. Effect of high-oxygen atmosphere packaging on oxidative stability and sensory quality of two chicken muscles during chill storage. *Food Packaging and Shelf Life*, vol. 1, pp. 38-48.
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienické předpisy pro potraviny živočišného původu. *Úřední věstník Evropské unie*, 2004, L. 139, 30. 4. 2004, p. 14-74. (ve znění pozdějších předpisů)
- Säde, E., Muros, A., Björkroth, J. 2013. Predominant enterobacteria on modified-atmosphere packaged meat and poultry. *Food Microbiology*, vol. 34, pp. 252-258.
- Tuncer, B., Sireli, U. T. 2008. Microbial growth on Broiler Carcasses Stored at Different Temperatures After Air- or Water- Chilling. *Poultry Science*, vol. 87, pp.793-799.
- Yimenu, S. M., Koo, J., Kim, B. S., Kim, J. H., Kim, J. Y. 2019. Freshness-based real-time shelf-life estimation of packaged chicken meat under dynamic storage conditions. *Poultry Science*, vol. 98, pp. 6921-6930.
- Zouharová, A., Bartáková, K., Bursová, Š., Necidová, L., Haruštiaková, D., Klimešová, M., Vorlová, L. 2023. Packaging of meat and fish and its impact on the shelf life – a review. *Acta Veterinaria Brno*, vol. 92, pp. 63-76.

Poděkování: Práce byla finančně podpořena projektem Ministerstva zemědělství České republiky NAZV QK21020245.

Kontaktní adresa: doc. MVDr. Šárka Bursová, Ph.D., Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, ČR; E-mail: bursovas@vfu.cz

VÝVOJ MYKOBIOTY VÍNA POČAS FERMENTAČNÉHO PROCESU DEVELOPMENT OF WINE MYCOBIOTA DURING THE FERMENTATION PROCESS

Ivana Regecová, Jana Výrostková, Boris Semjon, Zuzana Megyesy Eftimová, Slavomír Marcinčák

Abstract: Study focuses on the detection the diversity of mycobiota in samples of different types of fermenting must and young wine (the variety Lipovina) during the fermentation process. In the examined samples, the number of yeasts and moulds was determined by culture examination from 5.0 to 7.6 cfu.ml⁻¹. When examining must samples with native mycobiota, the numbers of yeasts and molds ranged from 5.2 log cfu.ml⁻¹ to 7.6 log cfu.ml⁻¹. In the samples with the addition of yeast culture, the numbers of yeasts and molds were detected from 5.2 log cfu.ml⁻¹ to 7.8 log cfu.ml⁻¹. In must samples from commercial wineries, the numbers of yeasts and moulds ranged from 5.8 log cfu.ml⁻¹ to 6.9 log cfu.ml⁻¹. Molds were also present in low percentages in all samples (9.5%, 1.5% and 0.5%) in the samples of fermenting must on the 3rd day. During the next fermentation process, there was a reduction of moulds and a decrease in biodiversity in the grape must and young wine.

Keywords: fermentation, moulds, must, native mycobiota, yeast culture

ÚVOD

Najvýznamnejšie zo všetkých mikroorganizmov prítomných na povrchu hrozna sú kvasinky (Nedomová et al., 2016). Populácie kvasiniek na nezrelých bobuliach sú nízke. V tomto štádiu sa vyskytujú najmä druhy ako *Rhodotorula*, *Cryptococcus* a *Candida*. V štádiu zrelosti prevládajú zástupcovia rodov *Saccharomyces*, *Hanseniaspora*, *Metschnikowia* a *Zygosaccharomyces* (Albergaria a Arneborg, 2016). Prítomnosť kvasiniek závisí od miestnych a klimatických vplyvov, nadmorskej výšky, odrody hrozna, choroby a stupňa poškodenia hrozna. Vo všeobecnosti platí, že dozrievanie hrozna zvyšuje aj počet kvasiniek jeden až dvakrát bližšie k stonke viniča (Felšöciová, 2016). Počas fermentácie sa vyskytujú aj iné rody a druhy mikroorganizmov, ktoré v konečnom dôsledku pozitívne ovplyvňujú chuť, vôňu vína, ale môžu mať aj negatívny vplyv (Fugelsang a Edwards 2007; Píknová et al., 2017).

Priemyselné procesy výroby vína využívajú hlavne jeden kmeň *Saccharomyces cerevisiae*, pretože dokáže tolerovať špecifické podmienky fermentácie vrátane nízkeho pH, vysokého obsahu cukru, etanolu a síry a nízkej hladiny kyslíka (Gonzalez a Morales, 2022). Okrem toho, niektoré kmene *Saccharomyces cerevisiae* sa vyberajú lokálne pre ich vynikajúce vlastnosti a osobitný vplyv na arómu vína (Gao et al., 2022). Použitie komerčného kmeňa *Saccharomyces cerevisiae* vo veľkovýrobe však môže viesť k vážnej homogenizácii, pri ktorej sa rozdiely medzi odrodami hrozna a regionálnou typickosťou vyhladia, čím sa zníži komplexnosť voní vína a v konečnom dôsledku sa získajú relatívne jednoduché arómy a chute.

Kvasinky non-*Saccharomyces* zahŕňajú všetky kmene kvasiniek iné ako *Saccharomyces cerevisiae*, ktoré sa nachádzajú pri výrobe vína. Bežne sa vyskytujú vo vinohradoch na povrchu šupiek bobúľ a v menšej miere aj vo fermentačnom prostredí, kde sa dostávajú do zariadenia po drvení bobúľ a zostávajú účastníkmi fermentačného procesu. Donedávna sa tieto kvasinky považovali za nežiaduce kontaminanty pri výrobe vína a vo všeobecnosti sa izolovali z plesnivej hroznovej šťavy, takže ich prospešné vlastnosti zostali nepoznané. Avšak vďaka neustálemu výskumu kvasiniek non-*Saccharomyces* a rastúcej popularite prírodných fermentačných techník vinári zistili, že určité pôvodné divoké kvasinky možno efektívne využiť na zdôraznenie charakteristických vlastností miestnych odrôd viniča a pestovateľských oblastí. Okrem toho mnohé štúdie ukázali, že zmiešaná alebo postupná fermentácia s kvasinkami, ktoré nie sú *Saccharomyces* a *Saccharomyces cerevisiae*, môže produkovať väčšiu rozmanitosť a

obsah prchavých látok a lepšiu koordináciu chutí, čím sa ďalej zlepšuje kvalita vína s väčším terroiom a charakteristickými vlastnosťami (Wang et al., 2023). Práve preto cieľom štúdie bolo sledovať vývoj mykobioty v mušte a mladom víne s natívnou a pridanou kvasinkovou kultúrou v porovnaní so vzorkami muštu a mladého vína z komerčného vinárstva.

MATERIÁL A METODIKA

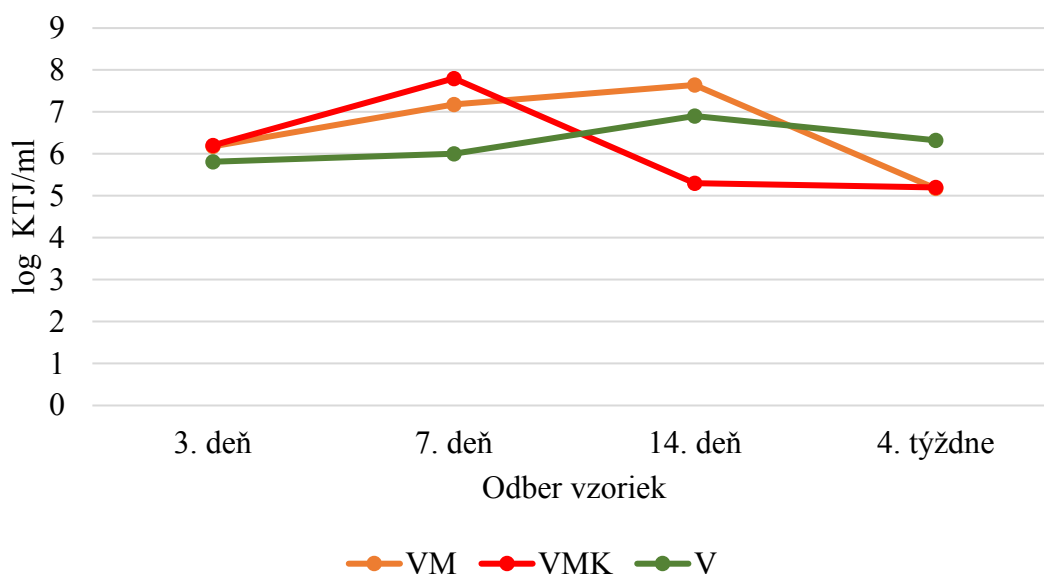
Skúmané vzorky boli odobraté z muštu odrody hrozna Lipovina pochádzajúce z Tokajskej vinohradníckej oblasti. Vzorky boli odobrané v októbri až novembri 2023. Mušt bol naplnený do dvoch 100 litrových nerezových nádob na Katedre hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín na Univerzite veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach. Následne došlo v jednej nádobe k spontánnej fermentácii muštu a v druhej nádobe prebehla fermentácia za prítomnosti kvasinkovej kultúry. V dňoch 3., 7., 14. a po 4 týždňoch fermentácie boli z kvasiaceho muštu odobraté vzorky na analýzu mykobioty kvasiaceho muštu a mladého vína. Súbežne boli vyšetrované vzorky muštu a mladého vína odrody Lipovina odoberané priamo z komerčného vinárstva nachádzajúceho v Tokajskej vinohradníckej oblasti.

Zásobná suspenzia a ďalšie 10-násobné riedenia sa pripravili zo sterilných 1 ml vzoriek podľa pokynov normy ISO 6887-1 (2017). Z pripravených riedení sa následne vykonalo mikrobiologické kultivačné vyšetrenie vzoriek. Kvantitatívne stanovenie sa uskutočnilo podľa normy ISO 21527-1 (2010) na agare Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol (DRBC) (Hi-Media, India). Po inkubácii sa na kvantifikáciu vybrali len inokulované Petriho misky obsahujúce počet kolónií nižší ako 150.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Kvantifikácia kvasiniek bola sledovaná pri mikrobiologickom vyšetrení vzoriek muštu a mladého vína. Počet kvasiniek vo všetkých vzorkách sa pohyboval od $5,0 \pm 0,1$ do $7,6 \pm 0,1$ log KTJ.ml⁻¹.

Pri vyšetrovaní vzoriek muštu s natívnou mykobiotou sa počty kvasiniek a plesní pohybovali od 5,2 log KTJ.ml⁻¹ do 7,6 log KTJ.ml⁻¹. Najvyššie počty boli zaznamenané v 14. dni fermentačného procesu, po ktorom nastala redukcia. U vzoriek s prídavkom kvasinkovej kultúry sa počty kvasiniek a plesní v procese včasnej fermentácie pohybovali od 5,2 log KTJ.ml⁻¹ do 7,8 log KTJ.ml⁻¹, kde najvyššie počty boli dosiahnuté v 7. dni fermentácie. Následne došlo k výraznému poklesu počtu kvasiniek a plesní ktorý bol ustálený až do 4 týždňa fermentácie. Vo vzorkách muštu z komerčného vinárstva sa počty kvasiniek a plesní pohybovali od 5,8 log KTJ.ml⁻¹ do 6,9 log KTJ.ml⁻¹, kde najvyššie počty boli zistené vo vzorkách po 14. dňoch fermentácie. Následne došlo k miernemu poklesu počtu kvasiniek a plesní v 4. týždni fermentácie.



Obrázok 1 Počty kvasiniek a plesní v jednotlivých odberoch počas fermentačného procesu muštu s natívnou mykobiotou (VM), muštu s prídavkom kvasinkovej kultúry (VMK) a muštu z komerčného vinárstva (V) (sd: ± 0.1).

Súčasťou mykobioty boli nielen kvasinky, ale aj plesne, ktoré sa na začiatku fermentačného procesu vyskytovali v menšej miere. Vo vzorkách kvásiaceho muštu na 3. deň boli prítomné plesne vo všetkých vzorkách a to nasledovne: vo vzorkách s natívnou mykobiotou sa jednalo o 0,2 % z celkového počtu kvasiniek a plesní, vo vzorkách s prídavkom kvasinkovej kultúry bol podiel prítomných plesní 0,3 % a vzorkách z komerčného vinárstva bol podiel plesní 0,2 %. K ich úplnej redukcii došlo na 14. deň fermentácie. V týchto vzorkách sa potvrdila už len prítomnosť kvasiniek. Podobné výsledky sú prezentované v štúdiu Wang et al. (2015), kde došlo k masívnemu poklesu plesní a k zníženiu biodiverzity v hroznovom mušte počas fermentácie muštu. Dynamika prítomnosti plesní počas fermentácie vína zahŕňa ich pokles počas prvých dní a súčasný nárast rôznych kvasiniek ako sú *Hanseniaspora* sp., *Candida* sp., *Pichia* sp., *Metschnikowia* sp., ktoré môžu prežiť dlhšie a spoločne dominovať počas fermentačného procesu, kým *Saccharomyces cerevisiae* neprevezme alkoholovú fermentáciu. Práve rody *Hanseniaspora*, *Candida*, *Kluyveromyces*, *Cryptococcus*, *Kloeckera*, *Pichia*, *Metschnikowia*, *Rhodotorula*, *Torulaspora* a *Zygosaccharomyces*, *Saccharomyces cerevisiae* sa významnou mierou podieľajú na tvorbe vône vína (Ribéreau-Gayon et al., 2006; Lambrechts and Pretorius, 2020).

ZÁVER

Štúdia potvrdila biodiverzitu mykobioty v odrode Lipovina pochádzajúcej z Tokajskej vinohradníckej oblasti. Potvrdila sa diferenciácia v zmenách mykobioty počas fermentácie u jednotlivých druhov muštov a mladého vína, ktorá v konečnom dôsledku modifikuje vôňu a chuť vína ako finálneho produktu.

LITERATÚRA

- 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
- Fugelsang, C. K., Edwards, G. C. 2007. *Wine microbiology*. New York, USA: Springer publishing media, 393 p. ISBN 978-0-387-33341-0.
- 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/285097576_Production_of_biogenic_amines_by_wine_microorganisms/links/565ff7e008aeafc2aaca9b16/Production-of-biogenic-amines-by-wine-microorganisms.pdf

Gao, P., Peng, S., Sam, F. E., Zhu, Y., Liang, L., Li, M., Wang, J. 2022. Indigenous non-*Saccharomyces* yeasts with β -glucosidase activity in sequential fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*: A strategy to improve the volatile composition and sensory characteristics of wines. In *Frontiers in Microbiology* [online], vol. 13, 845837pp. [cit. 2024-02-02]. ISSN 1664-302X. Available at: doi: 10.3389/fmicb.2022.845837.

Gonzalez, R., Morales, P., 2022. Truth in wine yeast. In *Microbial Biotechnology* [online], vol.15, no. 5, pp. 1339–1356. [cit. 2024-01-28]. ISSN 1751-7915. Available at: doi: 10.1111/1751-7915.13848.

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 Oenology 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

Nedomová, Š., Kumbár, V., Pavloušek, P., Pytel, R., Začal, J., Buchar, J. 2016. Influence of harvest day on changes in mechanical properties of grape. In *Potravinárstvo 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, L., 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.

Wang, C., García-Fernández, D., Mas, A., Esteve-Zarzoso, B. 2015. Fungal diversity in grape must and wine fermentation assessed by massive sequencing, quantitative PCR and DGGE. In *Frontiers in microbiology* [online], vol. 6, 1156 pp. cit. [2024-01-16 ISSN 1664-302X. Available at: doi: 10.3389/fmicb.2015.01156.

Wang, X., Fan, G., Peng, Y., Xu, N., Xie, Y., Zhou, H., Liang, H., Zhan, J., Huang, W., You, Y. 2023. Mechanisms and effects of non-*Saccharomyces* yeast fermentation on the aromatic profile of wine. In *Journal of Food Composition and Analysis* [online], vol. 124, 105660 pp. cit. [2024-02-05]. ISSN 1096-0481. Available at: doi: 10.1016/j.jfca.2023.105660.

Pod'akovanie: Táto práca vznikla za podpory vedeckej grantovej agentúry Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky a Slovenskej akadémie vied v rámci projektu VEGA 1/0156/21.

Kontaktná adresa: Ivana Regecová, doc. MVDr., PhD., Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 04181 Košice

MIKROBIÁLNÍ TESTOVÁNÍ RAW CHLEBA

MICROBIAL TESTING OF RAW BREAD

*Ivana Stará, Veronika Bugáňová, Iveta Brožková,
Marcela Pejchalová, Libor Červenka*

Abstract: Raw food diet, raw foodism (rawism) or vitarianism is a diet based on consuming mainly or even exclusively uncooked food up to a temperature of 42 °C. Raw food is rich in fibre, minerals, antioxidants and vitamins. Mixing, juicing, soaking, sprouting and fermenting are integral in raw diets. The only heating allowed is with a dehydrator. However, uncooked food is at risk of bacterial contamination or even food poisoning.

Microbial representation was determined for raw bread prepared according to a recipe for alternative ways of eating. Mold was visible on the bread surface after three days of storage at room temperature. We also investigated the influence of the microbial representation and the amount of antioxidants in the prepared raw bread depending on the presence of *Lactobacillus acidophilus* and *Fusarium*. The effect of *Lactobacillus acidophilus* on the growth and multiplication of *Fusarium langsethiae* in raw bread was not confirmed. But the effect of *Lactobacillus acidophilus* on the production of mycotoxins was established (T-2, HT-2, neosolaniol, diacetoxyscirpenol). According to our results, this bread should therefore be consumed immediately and not stored.

Keywords: foodborne illness, foodborne intoxication, alternative diet, raw bread

ÚVOD

Raw veganství, vitariánství nebo syrová strava, znamenají způsob stravování či stravu, při které se konzumují převážně nebo výhradně nezpracované a tepelně neupravené potraviny (Awuchi et al., 2020). Dle Ferratové et al. (2019) nesmí teplota úpravy stravy přesáhnout 42-45 °C. Mezi povolené potraviny patří ovoce, zelenina, semínka a ořechy, vejce, maso, ryby, mořské řasy, med, mléko a mléčné výrobky. Strava může obsahovat jednoduše zpracované potraviny, jako jsou fermentované potraviny (zelí, kimchi), sýr, jogurt či kefir, dále nakládané, dehydratované, mražené potraviny a oleje lisované za studena. Povolené však nejsou úpravy jako homogenizace, pasterace či použití pesticidů, hnojiv nebo potravinářských aditiv (Ferrarová et al., 2019; Raba et al., 2019; Awuchi et al., 2020).

MATERIÁL A METODIKA

Raw chléb byl připraven podle zásad raw stravování (vitariánství). V prvotní fázi výzkumu byl proveden mikrobiologický rozbor použitých surovin (Tabulka 1). Po sterilním otevření byly odebrány reprezentativní vzorky surovin o hmotnosti 10 g do homogenizačního sáčku. Jednotlivé navážky surovin byly zhomogenizovány s 90 ml fyziologického roztoku s peptonem. Výjimkou byla chia semínka, provensálské koření a *psyllium*, jejichž navážka byla 2 g. Pro homogenizaci těchto surovin bylo použito 98 ml fyziologického roztoku s peptonem. Homogenizací jsme získali první ředění (10^{-1}). Poté byl odebrán 1 ml výchozí suspenze do zkumavky s 9 ml fyziologického roztoku s peptonem (popř. peptonové vody u datlí), čímž vzniklo druhé ředění (10^{-2}). Opakováním tohoto kroku, tedy odebráním 1 ml z ředění druhého do 9 ml fyziologického roztoku s peptonem (popř. peptonové vody) jsme získali třetí ředění (10^{-3}). Ředění čtvrté (10^{-4}) vzniklo následným odebráním 1 ml z třetího ředění do 9 ml fyziologického roztoku s peptonem (popř. peptonové vody). Vždy byla zočkována dvě ředění ve dvou opakováních (ČSN EN ISO 6887-1).

Tabulka 1 Použité suroviny

Výrobek	Hmotnost [g]	Výrobce	Země původu
Datle bez jader	250	Provita	Česká republika
Dýňová mouka	250	Ingredience	Česká republika
Dýňová mouka	300	Zdraví z přírody	Česká republika
Dýňová mouka	500	Natural	Česká republika
Chia semena	500	Provita	Česká republika
Provensálské koření	25	Sonnentor	Česká republika
Psyllium	100	Valdemar Grešík – Natura	Česká republika
Sezam loupáný	100	Country life	Česká republika
Slunečnicová mouka	300	Zdraví z přírody	Česká republika
Sůl mořská jemná	1000	Country life	Česká republika

Stanovení celkového počtu mikroorganismů N [CFU] v 1 g vzorku bylo vypočítáno podle následující rovnice:

$$N = \frac{\sum c}{V \cdot (n_1 + 0,1 \cdot n_2) \cdot d} \quad (1)$$

kde $\sum c$ = součet spočítaných kolonií z ploten použitých k výpočtu ze dvou po sobě následujících ředění; V = objem inokula očkovaného vzorku do každé plotny [ml]; n_1 = počet ploten použitých k výpočtu z nižšího ředění; n_2 = počet ploten použitých k výpočtu z vyššího ředění; d = ředící faktor odpovídající nižšímu ředění (ČSN EN ISO 7218 změna A1; Kroutilová, 2017).

Pro stanovení celkového počtu mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů bylo použito III. a IV. ředění jak pro metodu zálivu 1 ml inokula rozehrátou půdou GTK (Plate Count Agar), tak pro metodu roztěru 0,1 ml inokula L-hokejkou na GTK agar. Plotny byly inkubovány při 30 °C 24-48 hodin (ČSN EN ISO 4833-2). Podle výše zmíněné rovnice (1) byl následně stanoven celkový počet mikroorganismů.

I. a II. ředění bylo použito pro stanovení počtu koliformních bakterií metodou zálivu 1 ml inokula půdou VČŽL (Violet Red Bile Agar). Půdy byly inkubovány při 30 °C 24-48 hodin (ČSN ISO 4832 s modifikací). Následně byly spočítány narostlé červenofialové kolonie a byl stanoven počet mikroorganismů v 1 g vzorku dle rovnice (1).

Pro zjištění počtu kvasinek a plísní bylo na půdu DRBC (Dichloran Medium Base with Rose Bengal) inokulováno a L-hokejkou rozetřeno 0,1 ml II. a III. ředění. Po inkubaci probíhající při 25 °C 5 dní byly dle rovnice (1) stanoveny počty (ČSN ISO 21527-1).

Ke stanovení xerofilních plísní bylo metodou roztěru inokulováno 0,1 ml I. a II. ředění na půdy DG18 (Dichloran Glycerol Medium Base). Po 30 dnech při 25 °C byly stanoveny počty s využitím rovnice (1) (ČSN ISO 21527-2 s modifikací).

Stanovení počtu bakterií rodu *Bacillus cereus* bylo provedeno metodou roztěru. Půdy MYP (Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar Base) byly naočkovány inokulem 0,1 ml II. a III. ředění. Po inkubaci při 37 °C po dobu 24-48 hodin byly spočítány počty podle rovnice (1) (ČSN EN ISO 7932 s modifikací).

Druhá část výzkumu byla zaměřena na přípravu raw chleba, jeho mikrobiologickou a chemickou analýzu. Raw chléb byl připraven podle receptu na webových stránkách RAWMANIA (s částečnou úpravou) v souladu se zásadami aseptické práce. V mixéru byly rozmixovány datle (4 kusy) společně s nabobtnaným *psylliem* (4 lžičky ve 150 ml sterilní destilované vody) a chia semínky (3 lžičky v 75 ml sterilní destilované vody). Hmoty z mixéru byla zapracována do sypké směsi obsahující slunečnicovou (225 g) a dýňovou mouku (100 g), sezam (3 lžičky), provensálské koření (1 lžička), lahůdkové droždí (4 lžičky) a sůl (1 lžička) (Raw slunečnicový chléb, 2014). Vytvořený bochánek byl následně nakrájen na čtvrtiny. ¼ chleba nebyla

zaočkována a byla ponechána jako negativní kontrola (NK). Další ¼ chleba byla zaočkována 1 ml *Lactobacillus acidophilus* (LA) odpovídající 4 jednotkám McFarlandovy zákalové stupnice, tedy $7,8 \times 10^5$ CFU.g⁻¹. Třetí ¼ chleba byla zaočkována 1 ml plísní *Fusarium langsethiae* (FU). Poslední ¼ chleba byla zaočkována 1 ml *Lactobacillus acidophilus* ($8,4 \times 10^5$ CFU.g⁻¹) a 1 ml *Fusarium langsethiae* (orientačně $1,4 \times 10^4$ CFU.g⁻¹) (LA + FU). Jednotlivé čtvrtiny chleba byly nakrájeny na 0,5 mm plátky oválného tvaru. Po rozložení na mřížku byly sušeny v termostatu při 41,5 °C po dobu 5 hodin.

Byla provedena mikrobiologická analýza těsta před sušením a následně i samotného raw chleba, tedy těsta po pěti hodinách sušení. Ze vzorku těsta nebo usušeného chleba bylo naváženo 10 g vzorku, k němuž bylo přidáno 90 ml fyziologického roztoku s peptonem. Očkováno bylo I. a II. ředění. Stanovení probíhalo obdobným způsobem jako při rozboru jednotlivých surovin popsáným výše. Navíc byl v těstě i raw chlebu stanovován počet bakterií rodu *Lactobacillus*, kdy byly půdy MRS (*Lactobacillus* MRS agar) zaočkovány 0,1 ml inokula příslušného ředění. Inokulum bylo rozetřeno pomocí L-hokejky. Plotny byly inkubovány v mikroaerofilním prostředí 3 dny při 37 °C, poté byly spočítány počty bakterií rodu *Lactobacillus* podle rovnice (1) (ČSN 56 0094).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Identifikace plísní proběhla na základě makroskopických a mikroskopických znaků. Kvasinky a bakterie byly identifikovány pomocí vzhledu kolonií na jednotlivých agarech, dále pomocí Gramova barvení a biochemických testů. V některých případech bylo k určení mikroorganismů použito MALDI-TOF MS ve spolupráci s firmou MeDiLa spol. s.r.o., Pardubice. Celkové počty mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů byly stanoveny na půdách GTK. Pro detekci presumptivního *Bacillus cereus* byla použita půda MYP. Půda VČŽL sloužila k detekci koliformních mikroorganismů. Ke stanovení počtu kvasinek a plísní s aktivitou vody vyšší než 0,95 byl rozbor proveden na půdách DG18 a půda DRBC byla pro detekci osmofilních kvasinek a plísní (Tabulka 2 a Tabulka 3).

Tabulka 2 Mikrobiologický rozbor surovin použitých k výrobě raw chleba

Surovina	Počet mikroorganismů [CFU.g ⁻¹] na jednotlivých půdách				
	GTK	MYP	VČŽL	DRBC	DG18
Dýňová mouka	< 1,0 x 10 ³	1,1 x 10 ⁴	< 1,0 x 10 ¹	1,0 x 10 ³	1,4 x 10 ³
Dýňová mouka 2	< 1,0 x 10 ³	< 1,0 x 10 ³	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ²	< 1,0 x 10 ²
Dýňová mouka 3	< 1,0 x 10 ³	< 1,0 x 10 ³	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ²	< 1,0 x 10 ²
Slunečnicová mouka	< 1,0 x 10 ³	< 1,0 x 10 ³	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ²	< 1,0 x 10 ²
Sezam	< 1,0 x 10 ³	< 1,0 x 10 ³	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ²	< 1,0 x 10 ²
Sušené droždí	< 1,0 x 10 ³	< 1,0 x 10 ³	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ²	< 1,0 x 10 ²
Chia semena	< 5,0 x 10 ³	< 5,0 x 10 ³	< 5,0 x 10 ¹	< 5,0 x 10 ²	2,5 x 10 ³
Datle	< 1,0 x 10 ³	< 1,0 x 10 ³	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ²	< 1,0 x 10 ²
<i>Psyllium</i>	přerostlé	< 5,0 x 10 ³	3,3 x 10 ³	< 5,0 x 10 ²	< 5,0 x 10 ²
Provensálské koření	< 5,0 x 10 ³	< 5,0 x 10 ³	7,5 x 10 ²	< 5,0 x 10 ²	< 5,0 x 10 ²

GTK (Plate Count Agar) = agar s glukózou, tryptonem a kvasničným extraktem ke stanovení celkového počtu mikroorganismů; MYP (Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar Base) = agar pro počítání a izolaci *Bacillus cereus* v potravinách; VČŽL (Violet Red Bile Agar) = agar s laktózou, krystalovou violetí, neutrální červení a žlučovými solemi ke stanovení koliformních bakterií; DRBC (Dichloran Medium Base with Rose Bengal) = chloramfenikolový agar s dichloranem a bengálskou červení, DG18 (Dichloran Glycerol Medium Base) = dichloran glycerolový agar pro stanovení počtu kvasinek a plísní.

Z mikrobiologického rozboru jednotlivých surovin použitých k přípravě raw chleba byla zjištěna vysoká kontaminace dýňové mouky plísněmi *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp.

a rodu *Mucor*. Dále byla potvrzena přítomnost *Bacillus* spp. a kvasinek. Z tohoto důvodu byla tato surovina vyřazena a nahrazena dýňovou moukou jiných výrobců. Dýňové mouka 2 a 3 vykazovaly celkově nižší nárůst na půdách MYP, DRBC a DG18 a zároveň byly tyto nárůsty nižší než limit metody. Také slunečnicová mouka, sezam a sušené droždí vykazovaly nižší hodnoty, než jsou limity metody. Ve studii Fay et al. (2021) byl identifikován toxinogenní *Bacillus cereus* na povrchu i vně sezamových semen. Chia semena obsahovala xerofilní plísně v hodnotě $2,5 \times 10^3$ CFU/g. Při mikrobiologickém rozboru datlí byla prokázána přítomnost plísně *Aspergillus brasiliensis*. Kolonie *Bacillus licheniformis*, *Cronobacter sakazakii*, plísně rodu *Penicillium* a kvasinky byly detekovány v psyliiu. Provensálské bio koření vykazovalo přítomnost koliformních bakterií ($7,5 \times 10^2$ CFU/g). Oproti experimentální části v práci autorky Procházkové (2016) bylo námi testované koření významně méně kontaminované.

Mikrobiologický rozbor těsta i chleba ukázal přítomnost *Bacillus licheniformis*, *Cronobacter sakazakii*, kvasinky, *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. a *Mucor* spp., které se do raw chleba dostaly již surovinami. Kromě výše zmíněných půd byl pro mikrobiologický rozbor těsta a raw chleba použit navíc MRS agar (Tabulka 3). MRS agar sloužil ke stanovení zaočkovaného *Lactobacillus acidophilus* a výsledky ukazují o jeden řád nižší nárůst. Pro hodnocení vlivu *Lactobacillus acidophilus* na růst plísní rodu *Fusarium langsethiae* bylo zapotřebí delší inkubace, ačkoli se již po 3 dnech objevila viditelná plíseň. Důvodem byly neuspokojivé výsledky mikrobiologického rozboru těsta a chleba ihned po usušení. Vliv *Lactobacillus acidophilus* na růst plísní rodu *Fusarium langsethiae* byl tedy hodnocen po 7 dnech při pokojové teplotě a následně byl proveden mikrobiologický rozbor pro stanovení plísní. Řádově byly hodnoty FU a LA + FU stejné (Tabulka 3, půda DRBC), což naznačuje, že *Lactobacillus acidophilus* neinhiboval růst *Fusarium langsethiae*. Ve spolupráci s Výzkumným ústavem pivovarským a sladařským v Brně byl však prokázán vliv *Lactobacillus acidophilus* na produkci mykotoxinů, kdy došlo k potlačení produkce mykotoxinů (T-2, HT-2, neosolaniol, diacetoxyscirpenol). V rozporu s našimi výsledky je ovšem zjištění Salah-Abbès et al. (2021), kdy bakterie *Lactobacillus plantarum* inhibovala růst *Fusarium graminearum*. Počty koliformních bakterií na půdách VČŽL se pohybovaly od $2,9 \times 10^2$ CFU/g do $4,2 \times 10^2$ CFU/g.

Tabulka 3 Počty mikroorganismů stanovené v těstě a usušeném raw chlebu

Typ chleba		Počet mikroorganismů [CFU.g ⁻¹] na jednotlivých půdách				
		GTK	MYP	VČŽL	MRS	DRBC
NK	Těsto	$1,9 \times 10^3$	$< 1,0 \times 10^2$	$3,1 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$
	Po sušení	$1,3 \times 10^3$	$< 1,0 \times 10^2$	$3,7 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$
LA	Těsto	$1,2 \times 10^3$	$< 1,0 \times 10^2$	$4,1 \times 10^2$	$6,0 \times 10^4$	$< 1,0 \times 10^2$
	Po sušení	$1,7 \times 10^3$	$< 1,0 \times 10^2$	$2,9 \times 10^2$	$6,3 \times 10^4$	$< 1,0 \times 10^2$
FU	Těsto	$1,3 \times 10^3$	$< 1,0 \times 10^2$	$3,8 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$7,8 \times 10^5$
	Po sušení	$2,0 \times 10^3$	$< 1,0 \times 10^2$	$4,2 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$3,0 \times 10^7$
LA + FU	Těsto	$1,4 \times 10^3$	$< 1,0 \times 10^2$	$4,1 \times 10^2$	$6,3 \times 10^4$	$7,8 \times 10^5$
	Po sušení	$1,1 \times 10^3$	$< 1,0 \times 10^2$	$4,0 \times 10^2$	$6,5 \times 10^4$	$2,8 \times 10^7$

NK = negativní kontrola; LA = těsto zaočkované *Lactobacillus acidophilus*; FU = těsto zaočkované *Fusarium langsethiae*; LA + FU = těsto zaočkované *Lactobacillus acidophilus* a *Fusarium langsethiae*; GTK (Plate Count Agar); MYP (Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar Base); VČŽL (Violet Red Bile Agar); MRS (*Lactobacillus* Agar, De Man, Rogosa and Sharpe); DRBC (Dichloran Medium Base with Rose Bengal).

ZÁVĚR

Vitariánství je založeno na tepelné úpravě potravin do maximální teploty 42 °C. Díky tomu je raw strava bohatá na vitamíny, minerální látky a antioxidanty. Nevýhodou je však riziko alimentárních onemocnění a intoxikací. Naše výsledky ukazují, že sušením při 41,5 °C nedošlo ke změně počtu mikroorganismů a v těstě i po usušení raw chleba bylo jejich množství stejné.

Mikrobiologickým testováním bylo prokázáno, že mikroorganismy stanovené v raw chlebu pocházely ze surovin použitých k jeho výrobě. Ačkoli mnohé studie naznačují vliv laktobacilů na inhibici růstu plísní, v naší studii nebylo toto tvrzení potvrzeno. Po zaočkování raw chleba bakteriemi *Lactobacillus acidophilus* a plísněmi rodu *Fusarium* byl prokázán pouze vliv *Lactobacillus acidophilus* na produkci mykotoxinů. Chléb je dle našich výsledků určený k okamžité spotřebě. Důkazem byla viditelná plíseň na povrchu chleba již po třech dnech skladování při pokojové teplotě.

LITERATURA

- Awuchi, C. G., Echeta, C. K., Igwe, V. S. 2020. Diabetes and the nutrition and diets for its prevention and treatment: A systematic review and dietetic perspective. In *Health Sciences Research* [online], vol. 6(1), pp. 5-19. ISSN 2375379X. Dostupné na: www.aascit.org/journal/archive2?journalId=908&paperId=7753
- ČSN 56 0094: 1988. Potravinářské výrobky. Stanovení počtu bakterií rodu *Lactobacillus*. Praha: Český normalizační institut.
- ČSN ISO 4832: 2010. Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda stanovení počtu koliformních bakterií – Technika počítání kolonií. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví.
- ČSN EN ISO 4833-2: 2014. Mikrobiologie potravinového řetězce – Horizontální metoda pro stanovení počtu mikroorganismů – Část 2: Technika roztěrem a počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví.
- ČSN EN ISO 6887-1: 2018. Mikrobiologie potravinového řetězce – Příprava analytických vzorků, výchozí suspenze a desetinásobných ředění pro mikrobiologické zkoušení – Část 1: Obecná pravidla pro přípravu výchozí suspenze a desetinásobných ředění. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví.
- ČSN EN ISO 7218 změna A1: 2014. Mikrobiologie potravin a krmiv – Všeobecné požadavky a doporučení pro mikrobiologické zkoušení. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví.
- ČSN EN ISO 7932: 2005. Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda stanovení počtu presumptivního *Bacillus cereus* – Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C. Praha: Český normalizační institut.
- ČSN ISO 21527-1: 2009. Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda stanovení počtu kvasinek a plísní – Část 1: Technika počítání kolonií u výrobků s aktivitou vody vyšší než 0,95. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví.
- ČSN ISO 21527-2: 2009. Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda stanovení počtu kvasinek a plísní – Část 2: Technika počítání kolonií u výrobků s aktivitou vody nižší než nebo rovnou 0,95. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví.
- Fay, M., Salazar, J. K., Ramachandran, P., Stewart, D. 2021. Microbiomes of commercially-available pine nuts and sesame seeds. *PLoS ONE*, vol. 16(6). ISSN 19326203. Dostupné na: [doi:10.1371/journal.pone.0252605](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0252605)
- Ferrarová, E., Faltusová, K., Goerjová, K., Kašparová, M., Matějčková, P., Moravcová, A., Poullová, V., Vlčková, E. 2019. Krize kulturních vzorců a nové trendy ve stravování z hlediska Antropologie jídla. In *Anthropologia Integra* [online], vol 10(2), pp. 7-16. ISSN 18046665. Dostupné na: [doi: 10.5817/AI2019-2-7](https://doi.org/10.5817/AI2019-2-7)
- Kroutilová, L. 2017. *Mikroorganismy v biopotravinách a sledování různých vlivů při výrobě "raw" potravin*. Pardubice: Diplomová práce Univerzity Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Katedra analytické chemie. Vedoucí práce Ing. Iveta Brožková, Ph.D.
- Procházková, M. 2016. *Mikroflóra vybraných druhů koření*. Brno: Bakalářská práce Mendelovy univerzity, Agronomická fakulta, Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin. Vedoucí práce Ing. Libor Kalhotka, Ph.D.
- Raba, D. N., Iancu, T., Bordean, D. M., Adamov, T., Popa, V. M., Pîrvulescu, L. C. 2019. Pros and cons of raw vegan diet. In *Adv. Res. Life Sci* [online], vol. 3(1), pp. 46-51. ISSN 25438050. Dostupné na: [doi:10.2478/arls-2019-0010](https://doi.org/10.2478/arls-2019-0010)
- Raw slunečnicový chléb. In: *Rawmania* [online]. © 2014 - 2022 RAWMANIA.cz [cit. 2024-02-8]. Dostupné na: www.rawmania.cz/recepty/chleby-a-krekry/item/203-raw-chleb-s-bylinkovym-maslem
- Salah-Abbès, J. B., Mannai, M., Belgacem, H., Zinedine, A., Abbès, S. 2021. Efficacy of lactic acid bacteria supplementation against *Fusarium graminearum* growth in vitro and inhibition of *Zearalenone* causing inflammation and oxidative stress in vivo. In *Toxicon* [online], vol. 202, pp. 115-122. ISSN 00410101. Dostupné na: [doi:10.1016/j.toxicon.2021.09.010](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2021.09.010)

Poděkování: Příspěvek byl podpořen z projektu Univerzity Pardubice (SGFCHT 002/2024)

Kontaktní adresa: Ivana Stará Mgr., Katedra biologických a biochemických věd, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, Studentská 573, 532 10 Pardubice, Česká republika

POSOUZENÍ VLIVU ZEMĚ PŮVODU A OBSAHU KAPSAICINU NA MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACI PAPRIKY A CHILLI EFFECT OF COUNTRY OF ORIGIN AND CAPSAICIN CONTENT ON MICROBIAL CONTAMINATION OF PEPPER AND CHILLI SPICES

Karolína Špačková, Olga Cwíková, Alžbeta Jarošová, Gabriela Franke

Abstract: The work deals with microbial contamination of pepper and chilli. We tested 13 types of spices, which differed in country of origin and capsaicin content. The total count of microorganisms (TAC), coliform bacteria, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, moulds and yeasts were determined. It has been confirmed that both country of origin and capsaicin content can affect the microbial contamination of spices. Higher ($P < 0.05$) numbers of coliform bacteria and *E. coli* were found in peppers with minimal capsaicin content compared to chili peppers. Higher ($P < 0.05$) numbers of moulds and yeasts and *Cl. perfringens* were found in peppers from the Czech Republic compared to other pepper samples from Hungary, Spain and Slovakia. The highest ($P < 0.05$) TAC were detected in spices originating from Slovakia.

Keywords: microorganisms, quality of spices, pepper and chilli, capsaicin

ÚVOD

Zpracování a produkce koření může přinášet řadu hygienických problémů, které představují potenciální riziko pro zemědělce, výrobce i spotřebitele. Některé druhy koření jsou dováženy ze zemí, kde může být koření pěstováno, skladováno a baleno v nepříznivých hygienických podmínkách (Schweiggert, Carle, Schieber, 2007).

Přestože bylinky a koření mají antimikrobiální vlastnosti a jsou tak přirozenými inhibitory růstu mikrobů a zabraňují kažení potravin, mohou představovat nebezpečí pro zdraví konzumenta (Yuliani, Bhandari, 2011). Ke kontaminaci koření běžně dochází během produkce, sklizně, zpracování a distribuce (Su et al., 2021). K mikrobiálnímu znečištění koření by mohlo docházet i při hnojení rostlin fekáliemi nebo nechráněném sušení volně na vzduchu. Významnými kontaminanty koření jsou půdní bakterie (Goméz et al., 2022).

Rod *Capsicum* L. (*Solanaceae*) je jedním z nejpoužívanějších koření na světě (Surh 2002; Su et al., 2021). Ostrost (palčivost) paprik je závislá na obsahu alkaloidu kapsaicin v plodech. Velmi pálivé druhy paprik jsou známé jako tzv. chilli, které obsahuje výrazně větší množství kapsaicinu oproti paprice. Pálivost paprik se vyjadřuje ve Scovilleho jednotkách pálivosti (SHU). Hodnotu 0 SHU určuje paprika mletá sladká, naopak za nejpálivější papričku je současně považováno chilli Carolina Reaper, která dosahuje až 2 200 000 SHU (Havlíková, Wittenberg Gašparová, 2019). Rod *Capsicum* vykazuje antimikrobiální účinnost proti grampozitivním i gramnegativním bakteriím a houbám. Kapsaicin je účinným přírodním antibiotikem devitalizující viry, má protizánětlivou, a antioxidační aktivitu (Culver et al., 2021).

Cílem práce bylo posoudit, zda země původu nebo obsah kapsaicinu mohou mít vliv na mikrobiální kontaminaci koření, konkrétně papriky a chilli.

MATERIÁL A METODIKA

Analyzováno bylo 13 vzorků koření, konkrétně paprika a chilli (Tabulka 1), které pocházely z tržní sítě v ČR. Od každého druhu koření byly zakoupeny 3 kusy balení daného výrobku stejné šarže. Vzorky papriky a chilli byly před rozbořem uchovány v původních neporušených obalech, při pokojové teplotě, na temném místě a testovány v době trvanlivosti.

Stanovovány byly tyto skupiny mikroorganismů: celkový počet mikroorganismů (dále jen „CPM“), koliformní bakterie a *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, plísně a kvasinky.

Tabulka 1 Sledované vzorky koření papriky a chilli

Číslo vzorku	Název a druh sledovaného koření	Kolorimetrický index (ASTA)	Země původu
1	Paprika sladká maďarská	150	Maďarsko
2	Paprika sladká španělská	130	Španělsko
3	Paprika pálivá maďarská	96	Maďarsko
4	Paprika pálivá španělská	120	Španělsko
5	Paprika mletá gulášová	56	ČR
6	Paprika sladká kouřová	88	ČR
7	Paprika pálivá	90	Slovensko
8	Paprika uzená	88	Slovensko
9	Paprika slovenská lahůdková	160	Slovensko
10	Chilli mleté	120	Čína
11	Chilli drcené	85	Slovensko
12	Chilli vločky	100	Čína
13	Chilli vlákna	120	Čína

ASTA: American Spice Trade Association

Odběr vzorků a zpracování bylo provedeno v souladu s ČSN EN ISO 7218 (2008) a ČSN EN ISO 6887-1 (2018).

U všech vzorků byly stanoveny následující mikrobiologické parametry:

- celkový počet mikroorganismů (CPM) – inkubace 72 hod při 30 °C, Plate count agar (HiMedia, ČR), podle ČSN EN ISO 4833-1, (2014);
- *E. coli* a koliformní bakterie – inkubace 24 hod při 37 °C, CHROMagar™ ECC (Noack, Francie);
- kvasinky a plísně – inkubace 5 dnů při 25 °C, chloramfenikolový agar s dichloranem a bengálskou červení (DRBC agar), (Noack, Francie), podle ČSN EN ISO 21527-2, (2009);
- *Cl. perfringens* – inkubace anaerobně při teplotě 37 °C po dobu 24-48 hod, Perfingens Agar Base s přídatkem selektivního suplementu T.S.C., (HiMedia, ČR), podle ČSN EN ISO 7937 (2006).

Pro statistické vyhodnocení byly použity následující metody: výpočet základních statistických parametrů (průměr, směrodatná odchylka, směrodatná odchylka průměru) a metoda jednoduchého třídění analýzy rozptylu (ANOVA, Duncan *Post-hoc* test). Vyhodnocení bylo provedeno pomocí programu STATISTICA CZ, verze 12.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Analyzované vzorky koření byly rozděleny do skupin podle země původu a analyzovány bez ohledu na obsah kapsaicinu (Tabulka 2).

Tabulka 2 Seznam analyzovaných vzorků papriky rozdělených dle země původu

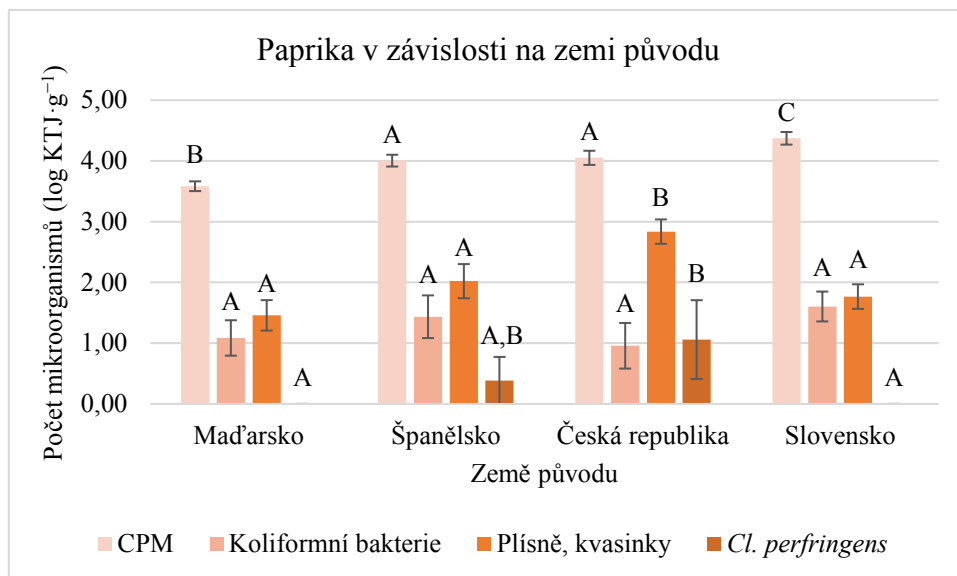
Země původu	Název koření papriky	Číslo vzorku
Maďarsko	Paprika sladká maďarská	1
	Paprika pálivá maďarská	3
Španělsko	Paprika sladká španělská	2
	Paprika pálivá španělská	4
Česká republika	Paprika mletá gulášová	5
	Paprika mletá kouřová	6
Slovensko	Paprika pálivá	7
	Paprika uzená	8
	Paprika slovenská lahůdková	9

Celkové počty mikroorganismů ve vzorcích papriky (Obrázek 1) se pohybovaly od 3,58 log KTJ·g⁻¹ do 4,37 log KTJ·g⁻¹. Nejvyšší (P < 0,05) CPM (4,37 log KTJ·g⁻¹) byl zjištěn u koření ze Slovenska. Podle Mezinárodní komise pro mikrobiologické specifikace pro potraviny (ICMSF) by měly být maximální povolené hladiny CPM v paprice v rozmezí 4-8 log KTJ·g⁻¹. González et al. (2017) sledovali rovněž CPM u vzorků papriky původem z Argentiny. Výsledné hodnoty CPM se pohybovaly v rozmezí 5,43-7,57 log KTJ·g⁻¹. Námi analyzované vzorky papriky dosahovaly ve srovnání s výše uvedenou studií hodnoty mikroorganismů nižší, a to ve všech uvedených zemích původu koření.

Počty koliformních bakterií a *E. coli* byly detekovány v rozmezí 0,96-1,60 log KTJ·g⁻¹. Výsledné počty koliformních bakterií a *E. coli* v závislosti na zemi původu byly srovnatelné (P > 0,05). Cabicarová et al. (2017) v rámci mikrobiologické analýzy papriky z Německa nezjistili přítomnost *E. coli* a koliformních bakterií. Nepřítomnost koliformních bakterií a *E. coli* je dobrým ukazatelem mikrobiologické bezpečnosti, kvality dané komodity a čistoty prostředí, kde se koření zpracovává (Su et al., 2021).

Hodnoty plísní a kvasinek u testovaných vzorků byly zaznamenány v rozmezí 1,35-2,84 log KTJ·g⁻¹. Nejvyšší počty plísní a kvasinek byly zjištěny u papriky z České republiky (2,84 log KTJ·g⁻¹) oproti vzorkům koření pocházející z Maďarska, Slovenska i Španělska. Schweiggert, Carle, Schieber (2007) dále sledovali výskyt plísní u koření papriky z Německa, kdy vzorky papriky dosahovaly hodnot 2,30-2,69 log KTJ·g⁻¹. V porovnání s námi to byly hodnoty nižší, s výjimkou vzorků z České republiky. K růstu plísní v koření dochází obvykle v průběhu jeho sušení a skladování při nevhodné teplotě a vlhkosti. Negativní význam výskytu plísní v koření je z hlediska jejich schopnosti tvorby nebezpečných mykotoxinů (Erkmen, Bozoglu, 2016).

Při stanovení bakterie *Cl. perfringens* se výsledky pohybovaly v rozmezí hodnot 0-1,06 log KTJ·g⁻¹. U papriky z Maďarska a Slovenska nebyla detekována bakterie *Cl. perfringens* vůbec. Vyšší počty *Cl. perfringens* byly zaznamenány u vzorků papriky z České republiky (P < 0,05). Görner a Valík (2004) za doporučenou hodnotu výskytu *Clostridium* spp. koření označují 4 log KTJ·g⁻¹. Všechny námi analyzované vzorky dosáhly hodnot nižších, než uvádějí výše zmiňovaní autoři.



Obrázek 1 Porovnání počtu jednotlivých mikroorganismů ($\log \text{KTJ}\cdot\text{g}^{-1}$) v koření (1 – paprika sladká maďarská, 2 – paprika sladká španělská, 3 – paprika pálivá maďarská, 4 – paprika pálivá španělská, 5 – paprika mletá gulášová, 6 – paprika sladká kouřová, 7 – paprika pálivá, 8 – paprika uzená, 9 – paprika slovenská lahůdková). Průměry označené různými písmeny se v rámci daného faktoru (země původu) liší ($P < 0,05$). Soubory byly hodnoceny bez ohledu na obsah kapsaicinu v koření; $n = 6$ (Maďarsko, Španělsko); $n = 6$ (Česká republika); $n = 9$ (Slovensko).

Analyzované vzorky chilli byly rozděleny do skupin v závislosti na zemi původu, bez ohledu na fyzikální úpravu (Tabulka 3).

Tabulka 3 Sledované vzorky chilli rozdělené do skupin podle země původu

Země původu	Název koření chilli	Číslo vzorku
Čína	Chilli mleté	10
	Chilli vločky	12
	Chilli vlákna	13
Slovensko	Chilli drcené	11

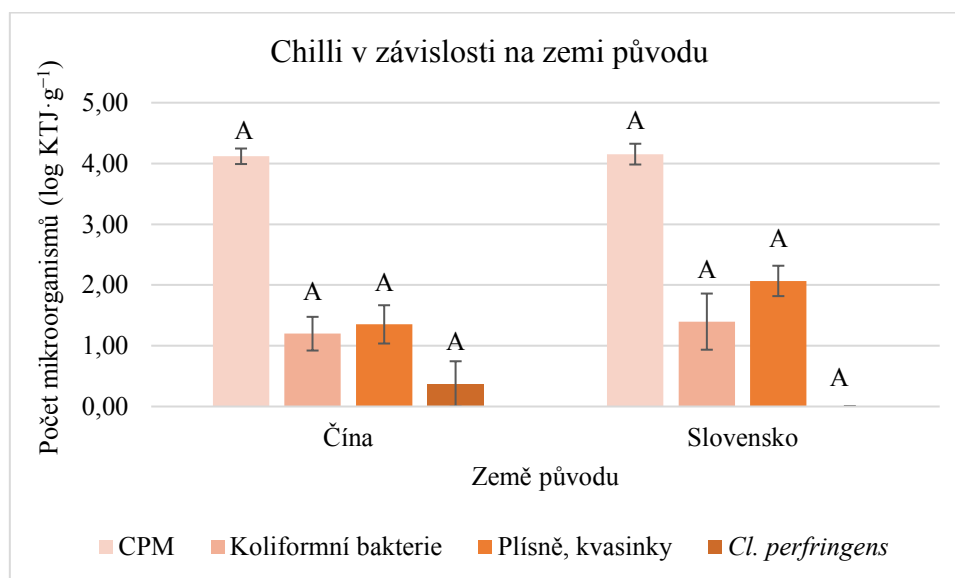
Mezi vzorky chilli (Obrázek 2) nebyly zaznamenány významné rozdíly v počtech sledovaných mikroorganismů v závislosti na zemi původu ($P > 0,05$). Hodnoty CPM se pohybovaly od $4,12 \log \text{KTJ}\cdot\text{g}^{-1}$ (Čína) do $4,15 \log \text{KTJ}\cdot\text{g}^{-1}$ (Slovensko).

Počty *E. coli* a koliformních bakterií byly detekovány v rozpětí hodnot $1,20$ - $1,40 \log \text{KTJ}\cdot\text{g}^{-1}$.

Počty plísní a kvasinek dosáhly hodnot od $1,35 \log \text{KTJ}\cdot\text{g}^{-1}$ do $2,07 \log \text{KTJ}\cdot\text{g}^{-1}$. Erkmén a Bozoglú (2016) uvádí, že chilli bývá silně kontaminované plísněmi rodu *Penicillium* nebo plísní *Aspergillus niger*. Přestože byl počet plísní a kvasinek u chilli ze Slovenska vyšší ($2,07 \log \text{KTJ}\cdot\text{g}^{-1}$) oproti chilli z Číny ($1,35 \log \text{KTJ}\cdot\text{g}^{-1}$), rozdíl v počtech těchto mikroorganismů nebyl statisticky průkazný ($P > 0,05$). Havlíková, Wittenberg Gašparová (2019) uvádějí, že chilli, které bylo sušeno na vozovce (rozpáleném asfaltu) nebo volně na zemi a skladováno bylo při nevhodné teplotě a vlhkosti, obsahuje více plísní, potažmo i aflatoxinů.

Na souvislost mezi mikrobiální bezpečností a zemí původu chilli upozorňuje i Goméz et al. (2022).

Výskyt *Cl. perfringens* nebyl zjištěn u chilli ze Slovenska vůbec. U chilli pocházejícího z Číny byla stanovena přítomnost tohoto mikroorganismu na 0,37 log KTJ·g⁻¹. Erkmén a Bozoglu (2016) upozorňují na poměrně vysoký výskyt *Cl. perfringens* v kořeni, jehož spory odolávají i vyšším teplotám vaření. Počet sporotvorných bakterií je v kořeni velmi důležitým parametrem hygienické kvality, zvláště pokud je koření používáno jako přísada do tepelně zpracovaných potravin, protože spory tohoto mikroorganismu přežívají teploty sušení a mohly by následně vyklíčit a představovat riziko pro zdraví spotřebitele (ICMSF, 2011). Vyšší mikrobiální kontaminace by naznačovala, že plody papriky pocházejí ze znečištěné půdy nebo životního prostředí. Také trus ptáků a jiných zvířat může způsobovat kontaminaci plodů červené papriky během jejich pěstování nebo sušení na slunci (Gallardo-Guerrero et al., 2010).



Obrázek 21 Porovnání počtu jednotlivých mikroorganismů (log KTJ·g⁻¹) v kořeni (10 – chilli mleté, 11 – chilli drcené, 12 – chilli vločky, 13 – chilli vlákna). Soubory byly hodnoceny bez ohledu na technologii zpracování, fyzikální úpravu a obsah kapsaicinu v kořeni; n = 9 (Čína); n = 3 (Slovensko).

Vzorky koření papriky a chilli byly rozděleny do 3 skupin podle deklarované pálivosti na obalu, bez ohledu na zemi původu (Tabulka 4).

Tabulka 4 Sledované vzorky koření papriky a chilli v rámci faktoru obsah kapsaicinu

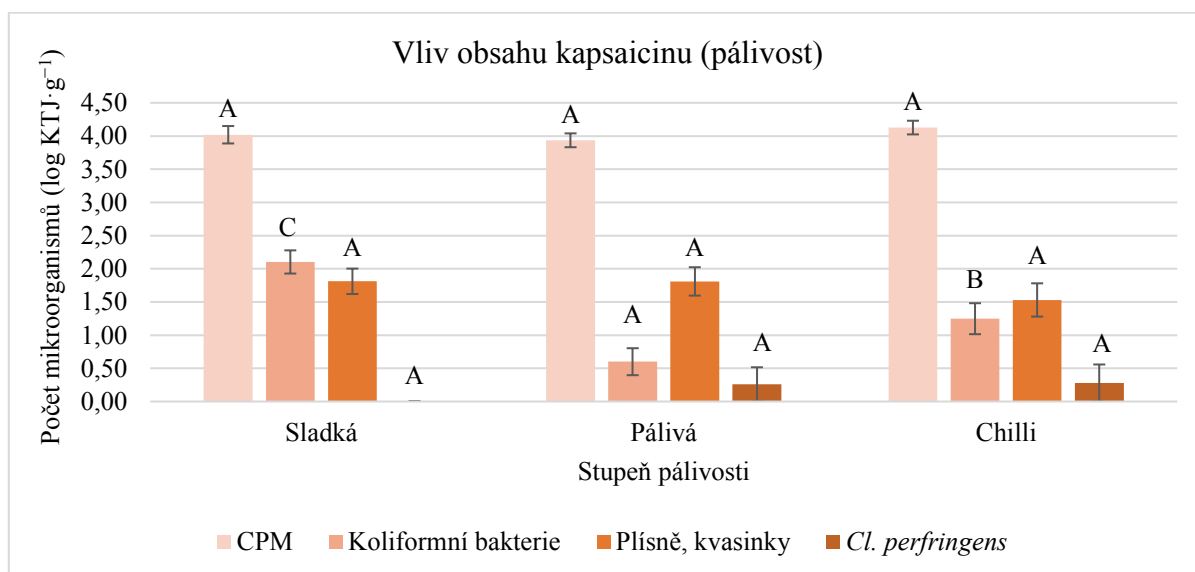
Obsah kapsaicinu (pálivost)	Název koření papriky a chilli	Číslo vzorku
Sladká	Paprika sladká maďarská	1
	Paprika sladká španělská	2
	Paprika slovenská lahůdková	9
Pálivá	Paprika pálivá maďarská	3
	Paprika pálivá španělská	4
	Paprika pálivá	7
Chilli	Chilli mleté	10
	Chilli drcené	11
	Chilli vločky	12
	Chilli vlákna	13

Sladká paprika je ve Scovilleho stupnici pálivosti označena hodnotou 0 SHU (vzorky 1, 2 a 9). Pálivé papriky rodu *Capsicum* nepřesahují hodnotu 500 SHU (vzorky 3, 4 a 7). Mezi chilli papričky se řadí plody paprik s pálivostí nad 500 SHU. Skupinu chilli papriček reprezentovaly vzorky 10, 11, 12 a 13, jejichž jednotky pálivosti se pohybovaly od 500 SHU do 60 000 SHU.

CPM se v rámci sledovaného faktoru (Obrázek 3) pohyboval v rozmezí 3,94-4,13 log KTJ·g⁻¹. Při statistickém porovnání dat byl CPM u všech 3 skupin koření seřazených dle pálivosti srovnatelný (P > 0,05).

Nejnižší hodnota koliformních bakterií a *E. coli* byla zjištěna u vzorků pálivých paprik (0,60 log KTJ·g⁻¹). Až dvojnásobný počet těchto mikroorganismů (2,10 log KTJ·g⁻¹) byl detekován u skupiny sladkých paprik (P < 0,05). Meghvansi et al. (2010) zmiňuje, že vysoké koncentrace kapsaicinu zpomalují růst bakterie *E. coli*. Na základě zmíněné studie lze potvrdit, že nejvyšší mikrobiální kontaminace *E. coli* a koliformních bakterií byla u námi sledovaných koření zaznamenána u vzorků sladké papriky s hodnotou pálivosti 0 SHU.

V případě plísní a kvasinek, resp. bakterie *Cl. perfringens*, se v detekovaných počtech mikroorganismů vzorky koření mezi sebou statisticky nelišily (P > 0,05). Počet plísní a kvasinek dosahoval hodnot v rozpětí 1,53-1,81 log KTJ·g⁻¹. Alkaloid kapsaicin má antimikrobiální účinky, mikroby zcela usmrtí nebo zpomalí jejich množení, a proto se hojně využívá ke konzervaci potravin (Havlíková, Wittenberg Gašparová, 2019). Tato zjištění se potvrdila v našem pokusu jen v případě *E. coli* a koliformních bakterií. Počty bakterie *Cl. perfringens* se pohybovaly v rozmezí hodnot 0-1,12 log KTJ·g⁻¹.



Obrázek 3 Porovnání počtu jednotlivých mikroorganismů (log KTJ·g⁻¹) v koření (1 – paprika sladká maďarská, 2 – paprika sladká španělská, 3 – paprika pálivá maďarská, 4 – paprika pálivá španělská, 7 – paprika pálivá, 9 – paprika slovenská lahůdková, 10 – chilli mleté, 11 – chilli drcené, 12 – chilli vločky, 13 – chilli vlákna). Průměry označené různými písmeny se v rámci daného faktoru (obsah kapsaicinu – pálivost) liší (P < 0,05). Soubory byly hodnoceny bez ohledu na zemi původu, technologii zpracování a fyzikální úpravu koření; n = 9 (sladká, pálivá); n = 12 (chilli).

ZÁVĚR

Zaznamenány byly vyšší (P < 0,05) počty plísní a kvasinek a bakterie *Cl. perfringens* u papriky z České republiky oproti ostatním vzorkům papriky z Maďarska, Španělska a Slovenska. U vzorků chilli koření byly zjištěny srovnatelné počty všech sledovaných

mikroorganismů ($P > 0,05$) ve všech zemích původu. Dále bylo potvrzeno, že obsah kapsaicinu má vliv na četnost mikrobiální kontaminace koření rodu *Capsicum*. U papriky sladké, s minimálním obsahem kapsaicinu, byly zjištěny vyšší počty ($P < 0,05$) koliformních bakterií a *E. coli* oproti paprice pálivé a chilli. Námi analyzované vzorky papriky a chilli vykazovaly dobrou mikrobiální kvalitu a vyhovovaly doporučeným limitům.

Koření je náchylné k mikrobiální kontaminaci, takže je důležité, aby podmínky pěstování, metody sklizně a zpracování, podmínky skladování a posklizňové úpravy byly pečlivě kontrolovány a aby se zabránilo možnému zkažení potravin a nemocem přenášeným potravinami v důsledku kontaminovaného koření. Jednoduchým mechanickým prostředkem používaným pro snížení počtu vyskytujících se mikrobů na potravinách se používá omytí a čištění. Účinnou legislativně povolenou fyzikální metodou pro dekontaminaci koření je použití ionizujícího záření, včetně aplikace gama paprsků, elektronového paprsku a rentgenového záření.

LITERATURA

- Cabicarová, T. et al. 2017. Sledovanie inhibičného vplyvu korenín a byliniek na rast *Staphylococcus aureus* v kultivačnom médiu. In: *Trendy v potravinárstve*. 22 (1). p. 2-15. ISSN 1336-085X.
- ČSN EN ISO 7937. Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda stanovení počtu *Clostridium perfringens*: Technika počítání kolonií. Praha: Český normalizační institut, 2006, 20 s.
- ČSN EN ISO 7218 (560103). Mikrobiologie potravin a krmiv—Všeobecné požadavky a doporučení pro mikrobiologické zkoušení. Český normalizační institut, 2008, 20 s.
- ČSN ISO 21527-2 (560650). Mikrobiologie potravin a krmiv—Horizontální metoda stanovení počtu kvasinek a plísní— Část 2: Technika počítání kolonií u výrobků s aktivitou vody nižší než nebo rovnou 0,95. Praha: Český normalizační institut, 2009, 16 s.
- ČSN EN ISO 4833-1 (560083). Mikrobiologie potravinového řetězce—Horizontální metoda pro stanovení počtu mikroorganismů: Část 1: Technika přelivem a počítání kolonií vykultivovaných při 30°C. Praha: Český normalizační institut, 2014, 22 s.
- ČSN EN ISO 6887-1 (560102). Mikrobiologie potravinového řetězce - Příprava analytických vzorků, výchozí suspenze a desetinasobných ředění pro mikrobiologické zkoušení—Část 1: Obecná pravidla pro přípravu výchozí suspenze a desetinasobných ředění. Praha: Český normalizační institut, 2018, 20 s.
- CULVER, K. et al. 2021: Too Hot to Handle: Antibacterial Peptides Identified in Ghost Pepper. In: *Journal of Natural Products* [online]. 84 (8), p. 2200-2208. [cit. 2024-01-20]. Available at: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.1c00281>
- Erkmen, o.; Bozoglu, T. F. 2016. Food Microbiology: Principles into Practice. New Jersey: John Wiley & Sons. ISBN 978-11-1923-786-0.
- Forsythe, S. J., 2000. The Microbiology of Safe Food. London: Blackwell Science. ISBN 0-632-05487-5.
- Gallardo-Guerrero L. et al. 2010. Physicochemical and microbiological characterization of the dehydration processing of red pepper fruits for paprika production. In: *LWT - Food Science and Technology* [online]. 43 (9). p. 1359-1367. [cit. 2022-03-30]. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.04.015>
- González, M. G. M. et al. 2017. Microbiological quality of Argentinian paprika. In: *Revista Argentina de Microbiología*. [online]. 49 (4). p. 339-346. [cit. 2024-01-13]. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.02.006>
- Gómez, Y. F. H. et al. 2022. Insights into the Bacterial Diversity and Detection of Opportunistic Pathogens in Mexican Chili Powder. In: *Microorganisms – MDPI* [online]. [cit. 2024-02-09]. Available at: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10081677>
- Görner, F.; Valík, L'. 2004. Aplikovaná mikrobiológia požívatin. Bratislava: Malé Centrum. ISBN 80-967064-9-7.
- Havlíková, M.; Wittenber Gašparová, D. 2019. Chilli: průvodce světem pálivého jídla. Zlín: KNIHA ZLÍN. ISBN 978-80-7473-906-4.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 2011. Microorganisms in Foods 8 – Use of Data for Assessing Process Control and Product Acceptance. New York: Springer. p. 197-208. ISBN 978-14-4199-374-8.
- Meghvansi, M. et al. 2010. Naga chilli: A potential source of capsaicinoids with broad-spectrum ethnopharmacological applications. In: *Journal of Ethnopharmacology* [online]. 132 (1). p. 1-14. [cit. 2022-03-06]. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.08.034>
- Ramesh, K. V. 2019. Food Microbiology. India, Chennai: MJP Publisher. p. 179-198. ISBN 978-81-809-4019-4.
- Schweiggert, U.; Carle, R.; Schieber, A. 2007. Conventional and alternative processes for spice production. In: *Trends in Food Science & Technology* [online]. 18 (5). p. 260-268. [cit. 2024-01-29]. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.01.005>

Surh, Y.J. 2002. More than spice: Capsaicin in hot chili peppers makes tumour cells commit suicide. *J. Natl. Cancer Inst.* 94, 1263–1265. <https://doi.org/10.1093/jnci/94.17.1263>
SU, Y. et al., 2021. Evaluation of the Microbiological Quality of Fresh Cilantro, Green Onions, and Hot Peppers from Different Types of Markets in Three U.S. States. In: *Horticulturae – MDPI* [online]. [cit. 2024-02-09]. Available at: <https://doi.org/10.3390/horticulturae7060122>
Yuliani, S.; Bhandari, B., 2011. Vegetable Parts, Herbs and Essential Oils. In: Sinha, K. N. *Handbook of Vegetables and Vegetable Processing*. Blackwell Publishing. p. 369-385. ISBN 978-04-7095-844-5.

Kontakní adresa: Olga Cwiková, doc, MVDr., Ph.D., Mendel University in Brno, Faculty of AgriSciences, Department of Food Technology, Zemědělská 1, 61300 Brno, Czech Republic, cwikova@mendelu.cz

VPLYV VYBRANÝCH RASTLINNÝCH SILÍC ZÍSKANÝCH Z RASTLÍN ČEĽADE RUTACEAE NA *BOTRYTIS CINEREA* EFFECT OF SELECTED ESSENTIAL OILS FROM PLANTS OF THE FAMILY RUTACEAE ON *BOTRYTIS CINEREA*

Dana Tančinová, Monika Mrvová, Zuzana Mašková, Zuzana Barboráková

Abstract: The effect of essential oils from plants of the Rutaceae family was investigated in an experiment: bergamot (*Citrus bergamia*), neroli (*Citrus aurantium*), petitgrain (*Petitgrain aetheroleum*, syn. *Citrus x aurantium*) and grapefruit (*Citrus paradisi*). EOs were used in the vapor phase. All EOs influenced the growth of *Botrytis cinerea* strains. However, at a concentration of 625 μl essential oil. dm^{-3} , only neroli and petitgrain EOs completely inhibited the growth of all strains for seven days. For the other EOs, the inhibitory effect was only partial. The strains tested reacted differently to the presence of EOs. For example, the growth of *Botrytis cinerea* strain KMi-393 was also completely inhibited by bergamot EO. Neroli and petitgrain EOs were also included in the second part of the experiment to determine the minimum inhibitory doses. In the case of neroli EO, the minimum inhibitory dose was 500 μl essential oil. dm^{-3} for all *Botrytis cinerea* strains on the 7th and 14th day of cultivation. For petitgrain EO, the minimum inhibitory dose was 500 μl essential oil. dm^{-3} and for two >500 μl EO. dm^{-3} on the 7th and 14th day.

Keywords: *Botrytis cinerea*, essential oils, Rutaceae, antifungal activity, vapor phase

ÚVOD

Ovocie a zelenina sú bohatým zdrojom dôležitých vitamínov, minerálnych látok, vlákniny a zdraviu prospešných látok. Ich spotreba má v posledných rokoch stúpajúcu tendenciu. Spotrebitelia právom očakávajú vysokokvalitné produkty, ktoré sú nielen bezpečné na konzumáciu, ale spĺňajú aj ich preferencie týkajúce sa výživovej hodnoty a chuti. Keď spotrebitelia hovoria o "kvalite", zvyčajne majú na mysli ovocie, ktoré má dokonalý tvar, veľkosť, farbu, arómu a je bez chýb, ako sú rezy, otlaky alebo známky kazení. Prítomnosť ukazovateľov kazení naznačuje, že výrobok nemusí byť bezpečný na konzumáciu (Sivakumar & Bautista-Baños, 2014). V celosvetovom meradle sa každoročne znehodnotí približne 20–25 % z celkového množstva zozbieraného ovocia a zeleniny, a to na poli aj počas pozberového dodávateľského reťazca, predovšetkým v dôsledku hniloby spôsobenej hubovými patogénmi. Väčšina týchto pozberových patogénov sú nekrotrofné alebo saprotrofné huby, čo vedie k rozpadu hostiteľských pletív a následným stratám obchodovateľných komodít (Petrasch et al., 2019). *B. cinerea* je pôvodcom sivej hniloby a považuje sa za najdôležitejší patogén spôsobujúci pozberovú hnilobu čerstvého ovocia a zeleniny, pričom má široké spektrum hostiteľov. Infekcie spôsobené *B. cinerea* sa zvyčajne vyskytujú na poli a môžu zostať latentné až do uskladnenia, keď sa *B. cinerea* môže rozšíriť zo zhnitého ovocia nachádzajúce sa vedľa zdravého, čo spôsobí rozsiahly rozklad komodity a niekedy aj znehodnotenie dodávok (Romanazzi & Feliziani, 2014). *Botrytis cinerea* je významný nekrotrofný rastlinný patogén, ktorý spôsobuje ničivé choroby na viac ako 500 druhoch rastlín, najmä na čerstvom ovocí a zelenine, čo má za následok ekonomické straty vo výške 10 až 100 miliárd \$ v celosvetovom meradle. Tento hubový patogén napáda takmer všetky časti rastlín vrátane stoniek, listov, kvetov, plodov a semien vo fáze pred zberom aj po zbere (Hua et al., 2018). Hlavnou stratégiou po zbere ovocia a zeleniny je používanie chemických fungicídov. Dôsledná aplikácia fungicídov však naráža na dva významné problémy: rastúce obavy verejnosti z možnej kontaminácie rýchlo sa kaziacich produktov rezíduami týchto fungicídov a vznik rezistencie v populáciách patogénov (Tripathi & Dubey, 2004). Spotrebitelia však dnes pri predĺžovaní trvanlivosti potravín uprednostňujú prírodné látky. Esenciálne oleje sú vhodnou náhradou

chemických konzervačných látok (Adeyinka & Richard, 2015; Aguilar-González et al., 2015; Calo et al., 2015; Anupama et al., 2019; Herman et al., 2019; Bora et al., 2020; Chen et al., 2021). Rastlinné silice sa tiež zdajú byť účinné proti kmeňom mikroorganizmov, ktoré sú rezistentné voči iným konzervačným látkam (Tariq et al., 2019).

MATERIÁL A METODIKA

Kmene *Botrytis cinerea*

Kmene použité pri výskume boli získané zo Zbierky mikroorganizmov Ústavu biotechnológie – Katedry mikrobiológie, FBP SPU v Nitre. Kmene boli pôvodne získané zo zaplesnivených surovín: KMi-393 – hrozno, KMi-409 – kiwi, KMi-435 – cherry rajčiaky, KMi-460 – zeler, KMi-507 – jahoda.

Rastlinné silice

V pokuse boli použité rastlinné silice (RS) pripravené z rastlín čeľade Rutaceae: bergamotová RS z *Citrus bergamia*, neroli z *Citrus aurantium*, petitgrain z *Petitgrain aetheroleum* (syn. *Citrus x aurantium*) a grepová z *Citrus paradisi*. Použité rastlinné silice boli zakúpené od dodávateľa Hanus (www.Hanus.sk).

Testovanie vplyvu parnej fázy rastlinných silíc na rast kmeňov *Botrytis cinerea*

Antifungálna aktivita rastlinných silíc bola hodnotená pomocou modifikovanej metodiky, ktorú predtým popísali Guynot et al. (2003). Na hodnotenie inhibičného účinku rastlinných silíc (RS) na rast kmeňov *B. cinerea* bola použitá plynná difúzna metóda. Petriho misky s priemerom 9 cm sa naplnili 15 ml média zemiakovo-dextrózový agar (PDA, HIMEDIA India). Do stredu média sa naočkovalo 5 μ l suspenzie spór. Spórová suspenzia bola pripravená opláchnutím povrchu kolónie na 7 deň kultivácie. Na oplach bol použitý sterilný fyziologický roztok s Tween 80 (0,5 %). Na stanovenie počtu spór 10^4 v 1 ml bol použitý prístroj EVE™ (NanoEnTek, Korea). Do stredu viečka Petriho misky sa umiestnil filtračný papier Whatman č. 1 s rozmermi 1,5 cm \times 1,5 cm, na ktorý bolo aplikované 50 μ l koncentrovanej RS. Na utesnenie Petriho misiek bol použitý parafilm. Petriho misky boli kultivované v obrátenej polohe. Koncentrácia silice v 1 dm³ vzduchu bola 625 μ l. Pri kontrolnom ošetrení bola namiesto RS použitá sterilná destilovaná voda (50 μ l). Pokus bol realizovaný v troch opakovaníach. Kmene sa kultivovali na PDA počas 7 dní pri teplote 22 \pm 1 °C a rast kolónií sa pozoroval na 2., 3., 4. a 7. deň. Veľkosť kolónie sa merala na zadnej strane kolónií pomocou digitálneho meradla a priemer kolónie sa vypočítal z dvoch kolmých meraní na troch kolóniách (šesť meraní pre každý kmeň a ošetrenie). Antifungálna aktivita RS bola kvantifikovaná ako relatívna inhibícia (RI) v percentách, určená podľa rovnice $RI = [(c - t) / c] \times 100$, kde RI je relatívna inhibícia, c je priemer kolónie v kontrole a t je priemerný priemer kolónie ošetrenej RS.

Stanovenie minimálnych inhibičných dávok rastlinných silíc na kmene *Botrytis cinerea*

Minimálne inhibičné dávky boli stanovené plynnou difúznou metódou pre tie silice, ktoré v predošlých meraniach s koncentráciou 625 μ l silice.dm⁻³ vzduchu inhibovali rast kmeňov *B. cinerea* so 100 % -nou účinnosťou. Použité boli trojsektorové Petriho misky, do ktorých bolo naliate 15 ml PDA (na každý diel Petriho misky 5 ml). Následne bolo do každého sektoru aplikované 5 μ l spórovej suspenzie *B. cinerea* (10^4 spór v 1 ml). Pri zbere spór a príprave suspenzie spór sa postupovalo identicky ako je uvedené vyššie. Do viečka Petriho misky bol vložený vysterilizovaný filtračný papier (Whatman č. 1), a do stredu na jeho povrch boli aplikované rastlinné silice. Silice boli riedené roztokom DMSO podľa princípu klesajúcej koncentrácie silíc. Vychádzalo sa z najvyššej koncentrácie 500 μ l silice.dm⁻³ vzduchu, ktorá bola postupne riedená na polovičné koncentrácie: 250; 125; 62,5; 31,25 a 15,625 μ l silice.dm⁻³ vzduchu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Používanie chemických alebo syntetických látok s antimikrobiálnou aktivitou (ako inhibítorov, reduktorov rastu alebo dokonca inaktívatorov) je jednou z najstarších techník kontroly mikroorganizmov. Použitie konzervačných látok na potraviny má zásadný význam, ak sa má zachovať ich bezpečnosť (Viuda-Martos et al., 2008). Spotrebiteľské preferencie konzumácie čerstvých ekologických produktov sa stávajú čoraz populárnejšími v rozvinutých krajinách Sivakumar & Bautista-Baños (2014). Využitie rastlinných silíc pri ochrane takýchto produktov je spotrebiteľmi akceptovateľnejšie ako využitie klasických fungicídov. V našom pokuse bol overovaný vplyv štyroch rastlinných silíc vyrobených z rastlín čeľade Rutaceae (tabuľka 1). Dve silice – neroli (*Citrus aurantium*) a petitgrain (*Citrus x aurantium*), pri koncentrácii $625 \mu\text{l silice.dm}^{-3}$ vzduchu, inhibovali rast všetkých piatich kmeňov *B. cinerea* počas siedmich dní.

Bergamotová (*Citrus bergamia*) silica úplne inhibovala rast kmeňa KMi-393. Rast ostatných kmeňov bol zaznamenaný 3. (KMi-460), 4. (KMi-409), resp. 7. deň (KMi-435, KMi-507). Táto RS mala výrazný inhibičný vplyv (RI) na kmene KMi-409, KMi-435 a KMi-507, pri ktorých bola aj na 7. deň zaznamenaná RI od 95,67 do 97,24 %. Pri kmeni KMi-460 bola na štvrtý deň zaznamenaná RI 98,13 %, ale 7. deň kmeň vyplnil celé Petriho misky vo všetkých opakovaniach. Kmene rozdielne reagovali na prítomnosť bergamotovej silice.

Najslabší inhibičný vplyv bol zaznamenaný pri grepovej silici (*Citrus paradisi*). Najcitlivejší na túto RS bol kmeň KMi-398, pri ktorom bol zaznamenaný rast na 7. deň (RI 94,71 %), kedy už pri ostatných kmeňoch bola RI 0 %.

Podobne aj Viuda-Martos et al. (2008) testovali vplyv citrusových RS a ich vplyv na rast mikroskopických vláknitých húb bežne spôsobujúcich kazenie potravín agarovou dilučnou metódou. Všetky nimi testované RS vykazovali antifungálnu aktivitu voči všetkým vláknitým mikromycétam. Pomarančová RS (*Citrus sinensis* L.) bola najúčinnějšía proti *Aspergillus niger*, mandarínková RS (*Citrus reticulata* L.), bola najúčinnějšía pri znižovaní rastu *Aspergillus flavus*, zatiaľ čo grapefruitová RS (*Citrus paradisi* L.) bola najlepším inhibítorom druhov *Penicillium chrysogenum* a *P. verrucosum*. Podľa citovaných autorov by citrusové RS by sa mohli považovať za vhodné alternatívy k chemickým prísadám na použitie v potravinárskom priemysle. Schopnosť bergamotovej RS redukovať rast kolónií a klíčenie konídií *Aspergillus niger* uvádzajú aj Ribez et al. (2017).

Do druhej časti pokusu (tabuľka 2) zameranej na stanovenie minimálnych inhibičných dávok boli zaradené silice neroli a petitgrain, ktoré v predchádzajúcej časti inhibovali rast všetkých kmeňov. Pri RS neroli bola stanovená minimálna inhibičná dávka $500 \mu\text{l silice.dm}^{-3}$ a to pre všetky kmene a to na 7. aj 14. deň kultivácie. Pri RS petitgrain sa minimálne inhibičné dávky líšili. Pri troch kmeňoch bola minimálna inhibičná dávka $500 \mu\text{l silice.dm}^{-3}$ na 7. aj 14. deň a pri dvoch $>500 \mu\text{l silice.dm}^{-3}$. Chen et Hsieh (2005) testovali vplyv desiatich RS na klíčenie spór *B. cinerea*. Spomedzi testovaných RS najlepšie potláčali klíčenie spór gerániová, neroli, ylang ylang a silica z ružového dreva. Aj v našom pokuse sa ako najúčinnějšía RS prejavila silica neroli pri ktorej sme stanovili najnižšie minimálne inhibičné dávky pre všetky testované kmene.

Tabuľka Vplyv rastlinných silíc v plynnej fáze ($625 \mu\text{l.dm}^{-3}$ vzduchu) na rast kmeňov *Botrytis cinerea* (priemer v mm, n=3, m=6; RI v %) na PDA pri 22 ± 1 °C

Deň kultivácie	Kontrola	Rastlinné silice							
		Bergamotová		Neroli		Petitgrain		Grep	
		Priemer \pm sd	RI	Priemer \pm sd	RI	Priemer \pm sd	RI	Priemer \pm sd	RI
<i>Botrytis cinerea</i> KMi-393									
2.	2,18 \pm 0,09	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100
3.	4,28 \pm 0,11	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100
4.	90,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100
7.	90,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	4,76 \pm 0,12	94,71
<i>Botrytis cinerea</i> KMi-409									
2.	2,40 \pm 0,14	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,83 \pm 0,10	99,08
3.	5,00 \pm 0,15	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	1,92 \pm 0,10	97,87
4.	90,00 \pm 0,00	0,50 \pm 0,06	99,44	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	5,05 \pm 0,08	94,39
7.	90,00 \pm 0,00	3,32 \pm 0,15	96,31	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	90,00 \pm 0,00	0
<i>Botrytis cinerea</i> KMi-435									
2.	3,70 \pm 0,41	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100
3.	5,93,00 \pm 0,10	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100
4.	90,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100
7.	90,00 \pm 0,00	2,48 \pm 1,93	97,24	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	90,00 \pm 0,00	0
<i>Botrytis cinerea</i> KMi-460									
2.	2,50 \pm 0,14	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100
3.	5,52 \pm 0,17	0,37 \pm 0,14	99,59	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100
4.	90,00 \pm 0,00	1,68 \pm 0,63	98,13	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	3,18 \pm 0,17	96,47
7.	90,00 \pm 0,00	90,00 \pm 0,00	0	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	90,00 \pm 0,00	0
<i>Botrytis cinerea</i> KMi-507									
2.	3,62 \pm 0,19	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100
3.	5,68 \pm 0,16	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	3,00 \pm 0,18	96,67
4.	90,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	5,1 \pm 0,14	64,33
7.	90,00 \pm 0,00	3,9 \pm 0,14	95,67	0,00 \pm 0,00	100	0,00 \pm 0,00	100	90,00 \pm 0,00	0

Legenda: n = počet opakovaní, m = počet meraní; RI = relatívna inhibícia; PDA = zemiakovo-dextrózový agar

Tabuľka Minimálne inhibičné dávky rastlinných silíc v parnej fáze na kolónie *Botrytis cinerea* (n=6) na PDA na 7 a 14 deň kultivácie pri 25±1 °C

Rastlinné silice	Koncentrácia silice	Kmene <i>Botrytis cinerea</i>										
		KMi-393		KMi-409		KMi-435		KMi-507		KMi-409		
		Deň kultivácie										
		7	14	7	14	7	14	7	14	7	14	
Neroli	500	0**/6*	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
	250	4/6	4/6	4/6	4/6	6/6	6/6	2/6	3/6	6/6	6/6	
Petitgrain	500	3/6	6/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	1/6	4/6	
	250	6/6	6/6	3/6	3/6	5/6	5/6	5/6	6/6	4/6	4/6	

Legenda: PDA = zemiakovo – dextrózový agar, n = počet opakovaní, * počet naočkovaných, ** počet rastúcich

ZÁVER

V našom výskume sme testovali účinok štyroch vybraných RS pochádzajúcich z rastlín čeľade Rutaceae na rast piatich kmeňov *Botrytis cinerea*. Všetky RS mali vplyv na rast kmeňov. Pri najvyššej použitej koncentrácii (625 µl RS.dm⁻³ vzduchu) RS neroli a petitgrain inhibovali rast všetkých testovaných kmeňov *B. cinerea* počas celej doby kultivácie. Kmene rozdielne reagovali na silice. Napríklad kmeň *B. cinerea* KMi-393 bol úplne inhibovaný aj bergamotovou RS. Najúčinnější RS bola RS neroli, pri ktorej bola stanovená minimálna inhibičná dávka 500 µl RS.dm⁻³ vzduchu.

LITERATÚRA

- Adeyinka, A., Richard, F. 2015. Application of phytochemical extracts and essential oils in food products: A review. In *Int. J. Biotechnol. Food Sci.*, [online], vol. 3, pp. 31–35. Dostupné na: <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=0e064fb0a3e60d9ad7e209bad0086e6f9924f0cb>
- Aguilar-González, A.E., Palou, E., López-Malo, A. 2015. Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against gray mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries. In *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, [online], vol. 32, pp. 181–185. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.09.003>
- Anupama, G., Netravathi, D., Avinash, M. 2019. Essential oils: A novel source for food preservation. In *J. Pharmacogn. Phytochem.*, [online], vol. 8, pp. 2098–2101 Dostupné na: <https://www.phytojournal.com/archives/2019/vol8issue1/PartA1/8-1-411-884.pdf>
- Bora, H., Kamle, M., Mahato, D. K., Tiwari, P., Kumar, P. 2020. Citrus essential oils (CEOs) and their applications in food: An overview. In *Plants*, [online], vol. 9, no. 3, pp. 357. Dostupné na: doi: <https://doi.org/10.3390/plants9030357>
- Calo, J. R., Crandall, P. G., O'Bryan, C. A., Ricke, S. C. Essential oils as antimicrobials in food systems—A review. In *Food Control*, [online], vol. 54, pp. 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.12.040>
- Chen, C. H., Hsieh, T. F. 2005. Effects of plant essential oils on *Botrytis cinerea* spore germination and grey mould incidence in Phalaenopsis. In *Plant Pathology Bulletin*, [online], vol. 14, no. 4, pp. 257-264. Dostupné na: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20063123441>
- Chen, K., Zhang, M., Bhandari, B., Mujumdar, A.S. 2021. Edible flower essential oils: A review of chemical compositions, bioactivities, safety and applications in food preservation. In *Food Res. Int.* [online], vol. 139, pp. 109809. Dostupné na: doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109809>
- Guynot, M. E., Ramos, A. J., Seto, L., Purroy, P., Sanchis, V., Marin, S. 2003. Antifungal activity of volatile compounds generated by essential oils against fungi commonly causing deterioration of bakery products. In *Journal of Applied Microbiology*, [online], vol. 94, no. 5, pp. 893-899. Dostupné na: doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01927.x>
- Herman, R. A., Ayepa, E., Shittu, S., Fometu, S. S., Wang, J. 2019. Essential oils and their applications - A mini review. In *Adv. Nutr. Food Sci.*, [online], vol. 4, no. 1–13. Dostupné na: https://www.researchgate.net/profile/Richard-Herman-5/publication/336305801_Essential_Oils_and_their_applications-A_mini_review/links/5e92a663299bf1307991511f/Essential-Oils-and-their-applications-A-mini-review.pdf
- Hua, L., Yong, C., Zhanquan, Z., Boqiang, L., Guozheng, Q., Shiping, T. 2018. Pathogenic mechanisms and control strategies of *Botrytis cinerea* causing post-harvest decay in fruits and vegetables. In *Food Quality and Safety*, [online], vol. 2, no. 3, pp.111-119. Dostupné na: doi: <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyy016>

- Petrasch, S., Silva, C. J., Mesquida-Pesci, S. D., Gallegos, K., van den Abeele, C., Papin, V., Fernandez-Acero, F. J., Knapp, S. J., Blanco-Ulate, B. 2019. Infection Strategies Deployed by *Botrytis cinerea*, *Fusarium acuminatum*, and *Rhizopus stolonifer* as a Function of Tomato Fruit Ripening Stage. In *Frontiers in Plant Science*, [online], vol. 10. Dostupné na: doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00223>
- Ribes, S., Fuentes, A., Talens, P., Barat, J. M., Ferrari, G., Donsi, F. 2017. Influence of emulsifier type on the antifungal activity of cinnamon leaf, lemon and bergamot oil nanoemulsions against *Aspergillus niger*. In *Food Control*, [online], vol. 73, pp. 784-795. Dostupné na: doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.09.044>
- Romanazzi, G., Feliziani, E. 2014. *Botrytis cinerea* (Gray Mold). In *Postharvest Decay*, [online], pp. 131–146. Dostupné na: doi: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-411552-1.00004-1>
- Tariq, S., Wani, S., Rasool, W., Shafi, K., Bhat, M. A., Prabhakar, A., Shalla, A. H., Rather, M. A. 2019. A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. In *Microb. Pathog.* [online], vol. 134, pp. 103580. Dostupné na: doi: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103580>
- Tripathi, P., Dubey, N. K. 2004. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. In *Postharvest biology and Technology*, [online], vol. 32, no. 3, pp. 235-245. Dostupné na: doi: [https://doi.org/10.1016/s0925-5214\(03\)00235-7](https://doi.org/10.1016/s0925-5214(03)00235-7)
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. 2008. Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. In *Food control*, [online], vol. 19, no. 12, pp. 1130-1138. Dostupné na: doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.12.003>

Pod'akovanie: Tento výskum bol financovaný projektom VEGA 1/0517/21.

Kontaktná adresa: Dana Tančinová, prof. Ing. PhD., Katedra mikrobiológie Ústav potravinárstva, FBP SPU v Nitre.

**ČO PRE PREDIKCIE RASTU *LISTERIA MONOCYTOGENES*
VYPLYNULO Z MATEMATICKEJ ANALÝZY DVOCH KMEŇOV
VYSKYTUJÚCICH SA VO VÝROBE POTRAVÍN OPAKOVANE A
SPORADICKY?**

**WHAT GROWTH PREDICTIONS FOR *LISTERIA MONOCYTOGENES*
RESULTED FROM THE MATHEMATICAL ANALYSIS OF TWO
STRAINS THAT OCCURRED REPEATEDLY AND SPORADICALLY
IN FOOD PROCESSING?**

Jana Minarovičová, Eva Kaclíková, Ksenia Bohach, Lubomír Valík

Abstract: Better growth is a candidate phenotypic trait responsible or contributing to persistence of *Listeria monocytogenes* in food processing environments. In order to be able to objectively compare strains and test the hypothesis, a methodology is needed that would provide reliable quantitative growth characteristics. In this study, the effect of temperature in the range from 6 °C to 43 °C on the planktonic growth of two genotypically and phenotypically different *L. monocytogenes* strains LM9611-19 (LM-P, persistent) and LM120/5 (LM-S, sporadic - potentially non-persistent) in Tryptone Soy Broth (TSB) and in semi-synthetic cheese medium (SCM) was investigated. Growth was quantified by plating and Baranyi and cardinal temperature models were applied to primary growth data and growth parameters, respectively. No statistically significant differences were found between the growth rates of the strains within the temperature range of 6 °C – 37 °C in both media. However, average growth rates were significantly higher ($p < 0.05$) for LM-P than for LM-S at 40 °C and 43 °C in both media. Regardless of whether calculated on μ_{\max} or λ basis, in TSB or SCM, T_{\min} for LM-P ranged from -1.2 to 1.7 °C with an average of 0.5 ± 1.2 °C (mean \pm SD). Other following cardinal values were in TSB ($a_w = 0.995$; pH 7) $T_{\text{opt}} = 37.0$ °C, $T_{\max} = 44.4$ °C and $\mu_{\text{opt}} = 1.3$ h⁻¹. In SCM ($a_w = 0.970$, pH 7), T_{opt} , T_{\max} and μ_{opt} were 37.7 °C, 50.8 °C and 0.94 h⁻¹, respectively. In cheese medium, the sporadic strain was characterized with all cardinal parameters lower than in the case of persistent strain, including μ_{opt} , which reflected its lower experimental growth rates in the temperature range from T_{opt} to T_{\max} . The growth description of *L. monocytogenes* strains was accompanied not only by low errors of the model parameters but also with acceptable external validation indices, e.g., $B_f = 1.19$ and $A_f = 1.11$ compared with Combase data. The methodology has been shown to be suitable for testing a panel of strains of *L. monocytogenes* with respect to a possible correlation of their growth characteristics with persistence in food processing environments.

Keywords: *L. monocytogenes*, growth modelling, cardinal parameters

ÚVOD

Listeria monocytogenes prvýkrát opísal Murray v súvislosti s náhlymi úmrtiami mladých králikov v dôsledku mononukleárnej leukocytózy v roku 1926 (Faber a Peterkin, 2000). S potravinami, ako pôvodcami ochorenia charakterizovaného vysokou úmrtnosťou, sa začala spájať až začiatkom 80-tych rokov minulého storočia. *L. monocytogenes* spôsobuje infekčné ochorenie listeriózu vyznačujúcu sa úmrtnosťou približne na úrovni 20 až 30 %, čo ju v tomto parametre postavilo do pozície lídra, pred rod *Salmonella* a toxigénny spórotvorný druh *Clostridium botulinum* (Martin a Fischer, 2000). *L. monocytogenes* spôsobuje v Európskej únii v súčasnosti viac ako 1 500 listerióz ročne, pričom údaje z r. 2020 potvrdili 167 úmrtí (EFSA,

2021). Po prepočte to znamená, že úmrtnosť v EÚ bola do 9 %, teda nižšia, ako naznačili predchádzajúce celosvetové epidemiologické odhady.

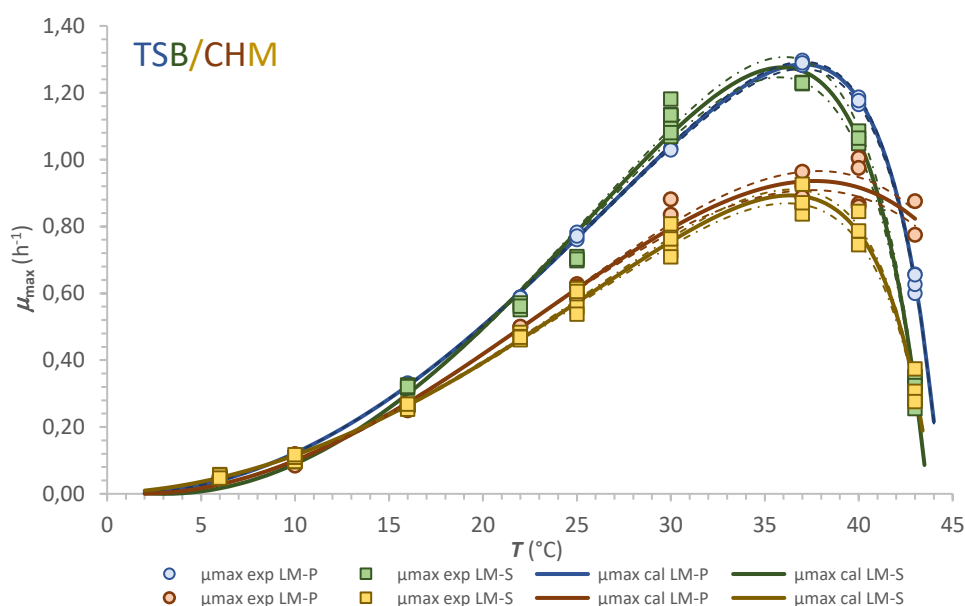
Všetky kmene *L. monocytogenes* rastú pri hodnotách $a_v \geq 0,92$ (≤ 12 % NaCl) a niektoré kmene aj pri $a_v = 0,89$ (cca 15 % NaCl; Notermans a van Hoesijová, 2008). *L. monocytogenes* rastie v pomerne širokom intervale hodnôt pH 5,0 až 9,0. V kyslejšom prostredí (pH < 3,5) rýchlo odumiera (Valík a Prachar, 2009). Bell a Kyriakides (2002) uviedli, minimálnu hodnotu pH pre rast 4.4.

MATERIÁL A METODIKA

V práci sme sledovali rast dvoch genotypovo a fenotypovo odlišných kmeňov *L. monocytogenes*, LM9611-19, ktorý bol perzistentný (LM-P) a izolovaný z ovčieho mlieka skladovaného v chladiacej nádrži na farme a LM120/5, ktorý bol izolovaný z filtra dojacieho zariadenia raz. Bol označený ako sporadický. Ich rast v závislosti od času sa sledoval kultivačne v tryptónovom sójovom bujóne (TSB) a syntetickom syrovom médiu (CHM) v rozmedzí teplôt od 6 °C do 43 °C. Rastové čiary boli analyzované Baranyiho modelom, s výstupnými parametrami lag fáz a rastových rýchlostí, ktoré sa podrobili sekundárnemu modelovaniu využívajúc kardinálny teplotný model CTMI. Výsledky boli validované údajmi z databázy Combase.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Matematickým modelovaním rastu sme primárne získali rastové parametre pri kultivačných teplotách 6 až 43 °C (Valík a Ačai, 2016). Tie sa vyhodnotili sekundárnym teplotným modelom CTMI (Obr. 1), ktorého parametre boli vypočítané nelineárnou regresiou a sú uvedené v Tab. 1.



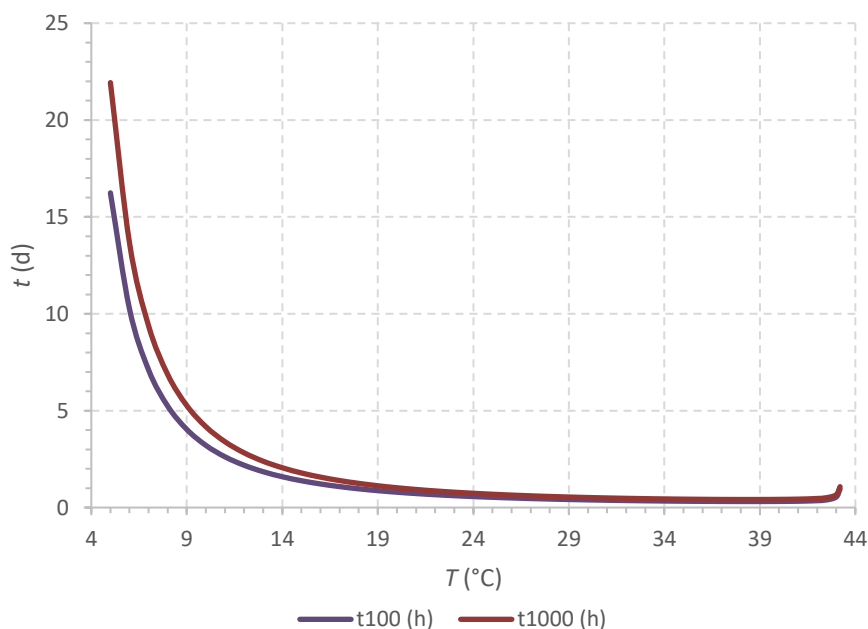
Obrázok 1 Grafické znázornenie závislosti špecifickej rýchlosti rastu od kultivačnej teploty opísanej CTMI modelom s parametrami uvedenými v Tab. 1.

CTMI model je jeden z najpoužívanejších sekundárných modelov, nakoľko poskytuje 4 kardinálne parametre dôležité pre opis rastu mikroorganizmov, μ_{opt} , T_{min} , T_{opt} a T_{max} (Rosso et al., 1993).

Tabuľka 1 Parametre CTMI modelu pre *L. monocytogenes* syrovom médiu

Parametre	CTMI	
	LM-P	LM-S
T_{\min} (°C)	1,66	-1,20
T_{opt} (°C)	37,7	36,4
T_{\max} (°C)	50,8	43,9
μ_{opt} (h ⁻¹)	0,94	0,89
RMSE	0,04	0,03
R ²	0,986	0,989

Pre hodnotenie rastu *L. monocytogenes* v praxi by mohli byť učitočné predikcie s vyplývajúce z kombinácie modelov pre lag fázu a rastovú rýchlosť znázornené na Obr. 2. Z nich napríklad vyplýva, že na zvýšenie počtu *L. monocytogenes* o dva alebo tri logaritmické poriadky potrebuje táto baktéria pri 9 °C, teda pri porušení chladiaceho reťazca, v poradí približne 4 alebo 5 dní. Pri teplote 5 °C by to malo byť viac ako 16 d a 22 d.



Obrázok 2 Časové predikcie nárastu *L. monocytogenes* o 2 a 3 log pri rôznych teplotách vyplývajúce z modelovania rastu CTMI modelom.

ZÁVER

Z hľadiska výstupov kardinálneho modelu pre rastovú rýchlosť v syrovom médiu sa sporadický kmeň sa vyznačoval nižšími hodnotami teplotných parametrov, vrátane μ_{opt} , čo vyplynulo predovšetkým z jeho nižších rýchlosti rastu v rozmedzí od T_{opt} až T_{\max} . Opis rastu kmeňov *L. monocytogenes* bol sprevádzaný nielen nízkymi chybami modelových parametrov, ale aj prijateľnými externými validačnými indexmi, napr. bias faktora $B_f = 1,08$ a faktora presnosti $A_f = 1,09$, ktoré naznačujú dobrú vyváženosť rozdielov medzi našimi údajmi a údajmi databázy Combase ako aj presnosť predikcií rastových rýchlostí na úrovni 9 %. Použitý postup môže byť vhodný na vyhodnotenie ďalších kmeňov *L. monocytogenes*, pokiaľ by išlo o možnú koreláciu ich rastových charakteristík s perzistenciou v prostredí potravinárskych prevádzok.

LITERATÚRA

- EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). 2021. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2020. *EFSA Journal*, 228 pp.
- Farber, J. M., Peterkin, P. I. 2000. *Listeria monocytogenes*. In B. M. Lund., T. C. Baird-Parker, G. W. Gould (Eds.), *The Microbiological Safety and Quality of Food* (Vol. III, pp. 1178-1217). Gaithersburg: Aspen Publishers, Inc.
- Martin, S. E., & Fischer, C. W. 2000. *Listeria monocytogenes*. In R. K. Robinson, C. A. Batt, P. D. Patel (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (Vol. 3, pp. 1228-1237). San Diego: Academic Press.
- Notermans, S., & van Hoeij, K. 2008. *The Food Safety File*. Woerden, Netherlands.
- Rosso, L., Lobry, J. R., Flandrois, J. P. 1993. An Unexpected Correlation between Cardinal Temperatures of Microbial Growth Highlighted by a New Model. *Journal of Theoretical Biology*, 162, 447-463.
- Valík, L., Ačai, P. (2016). *Prediktívna mikrobiológia a mikrobiologické hodnotenie rizika*. Bratislava: Vydavateľstvo STU.
- Valík, L., Prachar, V. 2009. *Pôvodcovia ochorení z požívatín a minimalizácia ich rizika*. Bratislava: Vydavateľstvo STU.

Pod'akovanie: Práca bola realizovaná s podporou projektov APVV-19-0031 a VEGA 1/0132/23.

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

Eva Kaclíková, Jana Minarovičová: Výskumný ústav potravinársky v Bratislave, NPPC Nitra

VÝVOJ MIKROBIOTY POČAS FERMENTAČNÉHO PROCESU VÍNA DEVELOPMENT OF MICROBIOTA DURING THE FERMENTATION PROCESS OF WINE

*Jana Výrostková, Ivana Regecová, Boris Semjon, Zuzana Megyesy Eftimová,
Marcinčák Slavomír, Martin Bartkovský*

Abstract: The study aims to detect the development of the microbiota during the 3rd, 7th, 14th, and 30th days of the fermentation process of a must with natural microbiota, with the addition of yeast culture and a must from an active winery in the Tokaj vineyard region. During fermentation, the fermenting must was sampled for any microbiota. In the investigated samples, the total number of microorganisms was determined by culture examination (from 4.5 log KTJ/ml to 5.8 log CFU.ml⁻¹). The highest values were recorded on the 14th day of the fermentation process, where the value of 5.8 log CFU.ml⁻¹ was due to lactic acid bacteria were captured at 3rd, 7th, and 14th day of the fermentation process, which represented 3.2 to 7.5 log CFU.ml⁻¹. The highest proportion of lactic acid bacteria was in a must sample from a large winery (7.5 log CFU.ml⁻¹). On the 30th day of fermentation, lactic acid bacteria represented zero values in all tested samples.

Keywords: LAB, fermentation, microbiota, wine

ÚVOD

Mikrobiota je neoddeliteľnou súčasťou vinohradníctva a vinárstva, kde rôzne mikroorganizmy môžu mať pozitívne a negatívne účinky na zdravie hrozna a kvalitu vína. Spoločenstvá mikroorganizmov spojených s viničom zohrávajú dôležitú úlohu v úrodnosti pôdy, ako aj v odolnosti viniča voči chorobám. Víno je fermentovaný prírodný produkt a vinič slúži ako kľúčový vstupný bod pre mikrobiotu modulujúcu kvalitu, najmä pri fermentácii vína, ktoré prebiehajú bez pridania exogénnych kvasiniek (Wei et al. 2023). Rôzne fyzikálne a chemické parametre prostredia určujú rast rastlín vo vybraných geografických oblastiach (napr. teplota, vlhkosť, zrážky, obsah živín v pôde a slnečné žiarenie). Tieto prírodné faktory majú významný vplyv na výskyt mikroorganizmov v ekosystéme. Zo všetkých mikroorganizmov prítomných na povrchu hrozna sú najvýznamnejšie kvasinky (Nedomová et al., 2016). Populácie kvasiniek na nezrelých bobuliach sú nízke. V tomto štádiu sa vyskytujú najmä druhy ako *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Candida*. V štádiu zrelosti prevládajú zástupcovia rodov *Saccharomyces*, *Hanseniaspora*, *Metschnikowia* a *Zygosaccharomyces* (Albergaria et al., 2016). Prítomnosť kvasiniek závisí od miestnych a klimatických vplyvov, nadmorskej výšky, odrody hrozna, choroby a stupňa poškodenia hrozna. Vo všeobecnosti platí, že dozrievanie hrozna tiež zvyšuje počet kvasiniek jeden až dvakrát bližšie k stonke viniča (Felšöciová et al., 2016). Hrozno, mušty a vína obsahujú okrem kvasiniek množstvo baktérií, ktoré sú v porovnaní s kvasinkami náročnejšie na vplyvy prostredia. Vo vinohradníctve sa najčastejšie zisťujú baktérie mliečneho kvasenia (BMK) (Godáková et al., 2016). Ukázalo sa, že rôzne kmene baktérií mliečneho kvasenia spôsobujú kazenie vína, vrátane tvorby látok nežiaducich pre zdravie konzumentov vína (Kántor et al., 2016).

Cieľom tohto výskumu bolo sledovať vývoj mikrobioty počas fermentačného procesu muštu s natívnou mikrobiotou, s prídavkom kvasinkovej kultúry a muštu z komerčného vinárstva.

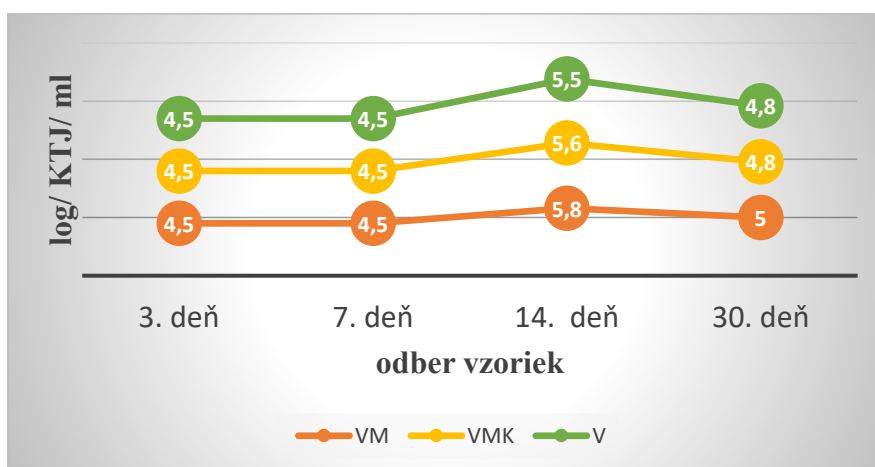
MATERIÁL A METODIKA

Vzorky muštu odrody hrozna Lipovina boli v období október a november 2023 použité na mikrobiologické vyšetrenie a pochádzali z Tokajskej vinohradníckej oblasti. Mušt bol naplnený do dvoch 100 litrových nerezových nádob na Katedre hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín na Univerzite veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach. Prvá nádoba predstavovala – spontánnu fermentáciu muštu (VM), druhá nádoba bola fermentácia za prítomnosti kvasinkovej kultúry (VMK). V 3., 7., 14., a 30 deň fermentácie boli z kvasiaceho muštu odobraté vzorky na analýzu mikrobioty jednak kvasiaceho muštu ale aj mladého vína. Súbežne boli vyšetrované vzorky muštu a mladého vína odrody Lipovina, ktoré bolo priamo odobraté vo vinohradníctve v Tokajskej oblasti.

Z každého príslušného riedenia sa odoberala vzorka o 1,0 ml a paralelne sa naočkovať do sterilných Petriho misiek metódou zalievania tekutým PCA agarovým bujónom (Hi-Media, India) ochladeného na 44-47 °C. Po stuhnutí boli naočkované bujóny inkubované v termostate pri 30 ± 1 °C počas 72 hodín. Výsledky sa potom previedli na množstvo v 1 ml vzorky podľa normy ISO 4833-1 (2014). Pri stanovení baktérií mliečneho kvasenia (BMK) z odobratých a vyšetrených vzoriek boli izolované baktérie podľa normy ISO 6887-1 (2017). Z troch po sebe nasledujúcich riedení sa naočkovať 0,1 ml skúmanej vzorky na MRS selektívno diagnostického média (Hi-Media, India) rozterom. Tieto vzorky boli pripravené a vyhodnocované paralelne. Následne boli vzorky inkubované v anaeróbných podmienkach. Naočkované platne sa inkubovali pri 37 °C počas 48 hodín s použitím - AnaeroGen (Oxoid, UK).

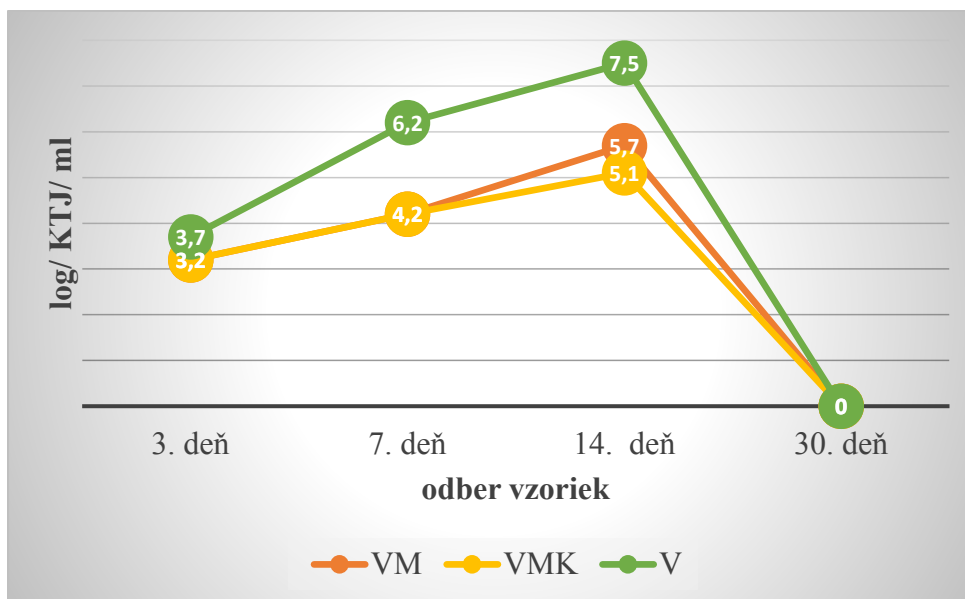
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri mikrobiologickom vyšetrení vzoriek boli sledované parametre celkového počtu mikroorganizmov (CPM) a baktérií mliečneho kvasenia (BMK). Z muštu boli odobraté vzorky v 3; 7; 14 a 30 deň čo predstavovalo fermentačný proces v priebehu 4 týždňov. Regionálne odlišné vlastnosti vína sú dôležitým aspektom jeho výroby. Mikrobiota hrozna a vína predstavuje regionálne definované vzorce spojené s vinohradmi ako aj klimatickými podmienkami (Bokulich et al., 2016). Jednotlivé mikrobiologické parametre sa počas fermentácie menia a v konečnom dôsledku ovplyvňujú konečnú kvalitu vína. V tejto štúdii (obrázok 1) bol na PCA agare stanovený celkový počet mikroorganizmov, ktorý sa pohyboval od 4,5 log KTJ.ml⁻¹ do 5,8 log KTJ.ml⁻¹. Najvyššie hodnoty pre CPM boli zaznamenané v 14 deň procesu fermentácie kde hodnota 5,8 log KTJ.ml⁻¹ bola pre mušt z komerčného vinárstva.



Obrázok 1 Grafické znázornenie celkového počtu mikroorganizmov (CPM) vyjadrených v log KTJ.ml⁻¹ v jednotlivých odberoch počas fermentačného procesu. (VM – mušt s natívnou mikrobiotou; VMK – mušt s prídavkom kvasinkovej kultúry; V – mušt z komerčného vinárstva)

Baktérie mliečneho kvasenia (BMK) boli v sledovaných vzorkách muštu zachytené v 3; 7; a 14 deň fermentačného procesu čo predstavovalo 3,2 až 7,5 log KTJ.ml⁻¹. Najvyšší podiel BMK bol vo vzorke muštu z komerčného vinárstva (7,5 log KTJ.ml⁻¹). V 30 deň boli hodnoty BMK u všetkých testovaných vzorkách (VM, VMK, V) <1.



Obrázok 2 Grafické znázornenie baktérií mliečneho kvasenia (BMK) vyjadrených v log/ KTJ.ml⁻¹ v jednotlivých odberoch počas fermentačného procesu. (VM – mušt s natívnou mikrobiotou; VMK – mušt s prídavkom kvasinkovej kultúry; V – mušt z komerčného vinárstva)

Baktérie mliečneho kvasenia izolované z vína sú rody *Lactiplantibacillus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus* a *Pediococcus*, ktoré pozitívne ovplyvňujú víno pri jablčno-mliečnej fermentácii (Virdis et al., 2021; Capozzi et al., 2021). Tento proces môže zvýšiť arómu vína, zlepšujú mikrobiálnu stabilitu a znižujú kyslosť vína. Dokážu premieňať kyselinu L-jablčnú na kyselinu L-mliečnu a CO₂ a podporujú odkyslenie vína, zvýšenie pH, čo je žiaduce pre vína s vysokou kyslosťou (Miotto et al., 2023). Rastúce množstvo štúdií podporuje, že BMK môžu pozitívne ale aj negatívne prispievať k senzorickému profilu vína prostredníctvom mnohých enzymatických procesov. A to na základe syntézy zlúčenín, ako je diacetyl alebo uvoľnením viazaných aromatických zlúčenín, ktoré sú primárne naviazané na glykozidy a prchavé tioly, ktoré sú vo viazanej forme bez zápachu. BMK môžu ovplyvňovať farbu vína, tiež produkovať enzýmy s potenciálom pomôcť v procese výroby vína a prispieť k finálnej stabilizácii produktu (Coton et al., 2010; Virdis et al., 2021).

ZÁVER

Štúdia potvrdila biodiverzitu mikrobioty pre odrodu Lipovina, ktorá pochádzala z Tokajskej vinohradníckej oblasti. V procese fermentácie sa potvrdili rozdiely v zmene mikrobioty vo vyšetrovaných druhov muštu a mladého vína, ktorá ma vplyv jednak na chuť ale aj vôňu finálneho produktu.

LITERATÚRA

- 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>
- Godálová, Z., Kraková, L., Puškárová, A., Bučková, M., Kuchta, T., Píknová, E., Pangallo, D. 2016. Bakteriálne konzorciá v rôznych fázach kvasenia vína dvoch typických stredoeurópskych odrôd viniča: Frankovka modrá a Veltlínske zelené. In *International Journal of Food Microbiology*, 217, 110-116. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.10.015>
- Felšöciová, S. Mikrobiológia vína, 1st ed.; Slovak University of Agriculture: Nitra, Slovakia, 2016; pp. 11–57.
- ISO 6887-1: 2017. Mikrobiológia potravinového reťazca – Príprava skúšobných vzoriek, počiatočnej suspenzie a desatinných riedení na mikrobiologické vyšetrenie – Časť 1: Všeobecné pravidlá na prípravu počiatočnej suspenzie a desatinných riedení; Slovenský normalizačný inštitút: Bratislava, Slovensko.
- ISO 4833-1: 2014. Mikrobiológia potravinového reťazca. Horizontálna metóda na stanovenie počtu mikroorganizmov. Časť 1: Počet kolónií pri 30 stupňoch C technikou nalievanej platne; Slovenský normalizačný inštitút: Bratislava, Slovensko.
- Kántor, A., Kluz, M., Puchalski, C., Terentjeva, M., Kačániová, M. 2016. Identification of lactic acid bacteria isolated from wine using real-time PCR. In *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 51(1), 52-56.
- Miotto, S. P. S., Fensterseifer, L. C., de Souza Hassemer, G., Martins, G., Ficagna, E., Steffens, J., Cansian, R. L. 2023. Malolactic fermentation of lactic acid bacteria isolated from southern Brazilian red wine. In *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(8), 201.
- Nedomová, Š., Kumbár, V., Pavloušek, P., Pytel, R., Začal, J., Buchar, J. Influence of harvest day on changes in mechanical properties of grape. In *Potravin. Slovak J. Food Sci.* 2016, 10, 181–187.
- 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. Ohlasy vtákov na opúšťanie viníc na Slovensku. In *Global Ecology and Conservation*, 37, e02178. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2022.e02178>
- Wei, R., Wang, L., Ding, Y., Zhang, L., Gao, F., Chen, N., Wang, H. 2023. Natural and sustainable wine: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(26), 8249-8260.

Pod'akovanie: Táto práca bola podporená projektom VEGA 1/0156/21.

Kontaktná adresa: Jana Výrostková, doc. 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

Mikrobiologická a mykologická bezpečnost' a kvalita potravin

STANOVENIE OBSAHU AFLATOXÍNU M₁ VO VZORKÁCH MLIEKA SLOVENSKEHO PÔVODU

DETERMINATION OF AFLATOXIN M₁ CONTENT IN SLOVAKIAN MILK SAMPLES

Lukáš Kolarič, Peter Šimko

Abstract: The aim of the presented study was to determine the aflatoxin M₁ (AFM₁) level in milk samples obtained in Slovakia. A total of 20 samples of milk were analysed, while 11 samples were purchased from local farmers and 9 from markets. The analysis of AFM₁ in milk was performed by validated HPLC method with fluorescence detection. Optimal chromatographic separation of AFM₁ was achieved using a water/acetonitrile mixture (80/20, v/v) as a mobile phase, column with C₁₈ stationary phase, and fluorescence detection at excitation wavelengths of 360 nm and emission of 440 nm. Validation parameters of the proposed method met the criteria set by the European legislation with the limits of detection and quantification at 0.004 and 0.01 µg.kg⁻¹, respectively. The suitability of the method was confirmed by its application for AFM₁ determination in certified reference material. The AFM₁ content in all milk samples was below the limit of quantification. It was concluded that the method is suitable for the determination of AFM₁ content in milk.

Keywords: aflatoxin M₁, milk, analysis, HPLC, immunoaffinity extraction

ÚVOD

Aflatoxíny sú sekundárne metabolity s nízkou molekulovou hmotnosťou produkované hlavne vláknitými hubami *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* alebo *A. nomius*. Tieto huby produkujú viac ako 20 toxických metabolitov, z hľadiska bezpečnosti potravín sú však najdôležitejšie aflatoxíny B₁ a B₂, aflatoxíny G₁ a G₂ a aflatoxín M₁ (AFM₁) (Buzás et al., 2023). Aflatoxíny sú chemické látky bez zápachu alebo chuti, sú fluorescenčné v ultrafialovom svetle a odolávajú teplotám nad 320 °C bez rozkladu (Maggira et al., 2021).

Podľa organizácie FDA (Food and Drug Administration) je aflatoxín B₁ jedným z najnebezpečnejších potravinových kontaminantov s vážnymi nepriaznivými účinkami, ako sú akútne ochorenia a smrť, rakovina pečene, nutričné interferencie alebo imunologické defekty. AFM₁ sa metabolizuje v pečeni z aflatoxínu B₁ po konzumácii kontaminovaných potravín/krmív a následne sa vylučuje do mlieka dojčiacich zvierat (Murphy et al., 2006; Šimko and Kolarič, 2022). V mlieku sa AFM₁ silne viaže na kazeíny a preto, vyššie hladiny AFM₁ možno očakávať v mliečnych výrobkoch s vysokým obsahom bielkovín, ako je syr. Okrem toho, tradičné tepelné spracovanie mlieka, ako je pasterizácia alebo sterilizácia, neničia jeho molekuly (Silva et al., 2023).

Aflatoxíny zaradila Medzinárodná agentúra pre výskum rakoviny (IARC) do skupiny 1 (Ľudské karcinogény) (Silva et al., 2023). Niektoré krajiny preto stanovili maximálne prijateľné limity AFM₁ v mlieku: 0,5 µg.kg⁻¹ v USA a 0,05 µg/kg v EÚ pre potraviny pre dospelých a 0,025 µg.kg⁻¹ pre dojčenskú výživu (Šimko and Kolarič, 2022).

Na stanovenie obsahu aflatoxínov v potravinách a krmivách bola vyvinutá široká škála analytických metód, pričom najpoužívanějšími metódami sú kvapalinová chromatografia (LC) kombinovaná s fluorescenčnou detekciou (FLD) alebo hmotnostnou spektrometriou (MS). Na stanovenie obsahu AFM₁ v mlieku patria medzi najbežnejšie metódy enzýmové imunosorbentné testy (ELISA) alebo LC s detekciou FLD alebo MS (EFSA CONTAM Panel, 2020). Vo všeobecnosti sa chromatografické metódy používajú hlavne na potvrdenie výsledkov získaných z rýchlych skriningových testov, alebo na presné kvantitatívne stanovenie obsahu

aflatoxínov. Imunochemické metódy sa používajú na rýchly skrining aflatoxínov v rôznych potravinových maticiach (Bellio et al., 2016). Vysokoúčinná kvapalinová chromatografia (HPLC) s detekciou FLD je referenčnou metódou a v súčasnosti najčastejšie používanou metódou kvalitatívneho aj kvantitatívneho stanovenia obsahu AFM₁ v mlieku (Maggira et al., 2021). Postup analýzy AFM₁ v mlieku bol vylepšený aplikáciou imunoafinitných kolón (IAC), ktoré poskytujú kombináciu extrakčných a čistiacich krokov prípravy vzoriek. Predtým sa používala extrakcia kvapalina-kvapalina alebo extrakcia na tuhej fáze (SPE), po ktorej nasledoval iný krok čistenia (Dragacci a kol., 2001). Okrem toho porovnanie SPE a IAC ukázalo, že obe metódy čistenia poskytli konzistentné výsledky.

Vzhľadom na dopady globálneho otepľovania sa predpokladá, že podmienky pre rast vláknitých húb, ktoré produkujú aflatoxíny, budú priaznivé aj v centrálnejších resp. severnejších častiach Európy. Preto je veľmi dôležité vyvíjať a validovať nové metódy pre ich stanovenie v potravinách. Cieľom tejto práce bol monitoring AFM₁ vo vzorkách mlieka, ktoré boli získané na území Slovenska za roky 2021-2022, a to pomocou validovanej HPLC-FLD metódy s imunoafinitnou extrakciou analytu.

MATERIÁL A METODIKA

Na stanovenie obsahu AFM₁ bolo testovaných 20 vzoriek mlieka: 11 vzoriek surového mlieka bolo získaných od spoločnosti RAJO s.r.o. (Bratislava, Slovensko) a odobratých z piatich rôznych fariem na Slovensku (Bukovec, Búč, Sevita, Prašník a Uhrec) v priebehu apríla 2023. Ďalšie 4 vzorky surového mlieka boli v lete 2022 zakúpené v miestnych obchodoch. Okrem toho sa testovalo aj 5 vzoriek UHT mlieka s rôznym obsahom tuku: 0,5 % (1 vzorka), 1,5 % (1 vzorka) a 3,5 % (3 vzorky). Certifikovaný referenčný materiál (ERM-BD284, sušené plnotučné mlieko) bol získaný European Commission Joint Research Centre (Belgicko). Analytický roztok štandardu AFM₁ v acetonitrile (0,5 µg/ml) s čistotou ≥ 99,9 % sa získal zo Sigma-Aldrich (USA). Acetonitril a metanol boli triedy HPLC a boli zakúpené od spoločností Fisher Chemical (Spojené kráľovstvo) a Lab-Scan Analytical Sciences (Poľsko).

Príprava vzorky pred HPLC stanovením sa skladala z SPE resp. IAC extrakcie, podmienky sú uvedené v Tab. 1. Pred extrakciou sa vzorky odtučnili pomocou odstredovania (1800 g, 15 min). Systém HPLC (Agilent Technologies 1260 Infinity, Santa Clara, CA, USA) bol vybavený vákuovým odplyňovačom, kvartérnou pumpou, automatickým podávačom vzoriek a detektorom FLD. Ako stacionárna fáza bola použitá kolóna Zorbax Eclipse Plus C₁₈ (2,1 × 150 mm, veľkosť častíc 5 µm, Agilent, Santa Clara, CA, USA) s predkolónou Zorbax SB-C₁₈ (4,6 × 12,5 mm, veľkosť častíc 5 µm, Agilent, Santa Clara, CA, USA). Optimálna mobilná fáza bola testovaná na tri rozpúšťadlá (acetonitril, metanol, voda) v rôznych pomeroch. FLD detekcia prebiehala pri excitačnej vlnovej dĺžke 360 nm a emisnej 440 nm. Separácia prebiehala v teplotnom rozmedzí 5 – 40 °C. Optimalizácia detekcie FLD bola vykonaná pomocou rôznych excitačných vlnových dĺžok (260 - 360 nm) a emisných vlnových dĺžok (400 - 460 nm). Vstrekovací objem bol 50 µl. Prietok mobilnej fázy bol nastavený na 0,5 ml/min. Výsledky boli zaznamenané pomocou softvéru OpenLab CDS, ChemStation Edition pre LC a LC/MS systémov (verzia produktu A.01.08.108).

Optimalizovaná metóda bola validovaná podľa Kolariča a Šimka (2020) a príručky Eurachem pre vhodnosť analytických metód (Magnusson and Örnemark, 2014) s použitím certifikovaného referenčného materiálu (ERM-BD284, sušené plnotučné mlieko). Referenčná vzorka mlieka bola pripravená podľa postupu uvedeného výrobcom: 10 g vzorky sa odvážilo v kadičke, pridalo sa 50 ml predhriatej vody pri teplote 50 °C a zmes sa miešala, až kým sa nezískala homogénna zmes. Roztok sa ochladil na 20 °C a kvantitatívne sa preniesol do 100 ml odmernej banky. Referenčná hodnota AFM₁ bola uvedená na 0,44 µg.kg⁻¹. Kalibračná priamka sa vypočítala ako závislosť množstva štandardu AFM₁ (0,005 – 0,5 ng) od plochy píku.

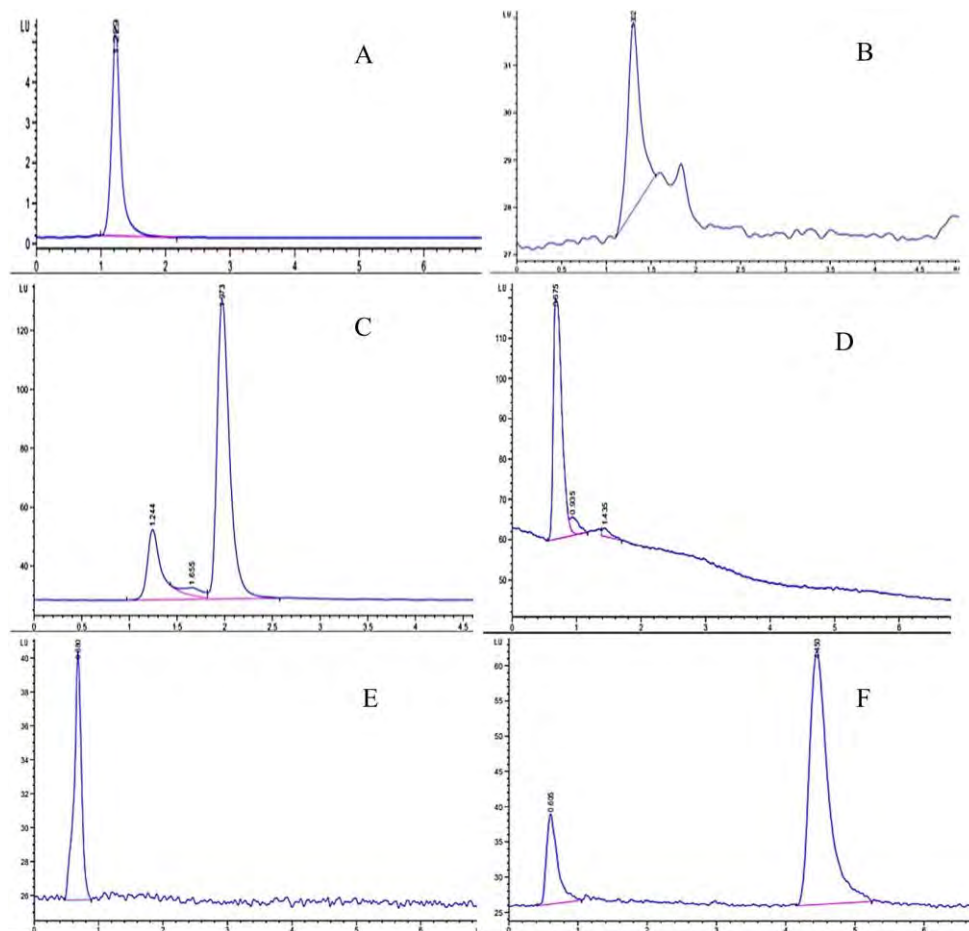
Štatistické vyhodnotenie bolo vykonané pomocou programu Microsoft Excel 365 (verzia 2012). Všetky výsledky sú vyjadrené ako priemerná hodnota \pm smerodajná odchýlka alebo v percentách a zopakovali sa najmenej dvakrát. Údaje podrobené jednosmernej analýze rozptylu (ANOVA) sa považovali za významne odlišné pri $p < 0,05$.

Tab. 1 Podmienky extrakcie AFM₁ z mlieka použitím rôznych typov kolón

Typ kolóny	Kondičiácia	Premývanie	Elúcia
IAC	-	20 ml H ₂ O	1,25 ml acetonitril/metanol (3/2) + 1,25 ml H ₂ O
IAC	-	20 ml H ₂ O	1,25 ml voda/metanol (17/3, v/v) + 1,25 ml H ₂ O
HLB	5 ml acetonitril+5 ml H ₂ O	20 ml acetonitril (20 % vodný roztok)	1,25 ml acetonitril/metanol (3/2) + 1,25 ml H ₂ O
HLB	5 ml acetonitril+5 ml H ₂ O	20 ml H ₂ O	1,25 ml acetonitril/metanol (3/2) + 1,25 ml H ₂ O
HLB	5 ml acetonitril+5 ml H ₂ O	10 ml acetonitril (20 % vodný roztok)	1,25 ml acetonitril + 1,25 ml voda
C ₁₈	5 ml acetonitril+5 ml H ₂ O	20 ml H ₂ O	1,25 ml acetonitril/metanol (3/2) + 1,25 ml H ₂ O

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vo všeobecnosti je HPLC najpoužívanejšou metódou na stanovenie obsahu AFM₁ v mlieku. Vzhľadom na vlastnosti molekuly AFM₁, mobilná fáza je väčšinou polárna, zatiaľ čo stacionárna fáza je oxid kremičitý, oxid hlinitý alebo polysiloxány s najbežnejšou hydrofóbnou oktadecylovou (C₁₈) skupinou (Pisoschi et al., 2023). Porovnanie rôznych metód detekcie AFM₁ ukázalo, že ELISA, HPLC-FLD a súčasné použitie testov ELISA a HPLC-FLD sa použili v 55 štúdiách (76,4 %), 10 (13,9 %), 3 (4,2 %) a 4 (5,5 %) (Massahi et al., 2023). V tejto práci boli testované tri typy rozpúšťadiel ako komponenty mobilnej fázy (acetonitril, metanol a voda). Niektoré záznamy merania sú vyobrazené na Obr. 1. Z výsledkov bolo evidentné, že optimálna separácia a elúcia molekuly AFM₁ sa dosiahla použitím vody a acetonitrilu v objemovom pomere 80:20. Manetta et al. (2005) použili mobilnú fázu zloženú zo štyroch rôznych rozpúšťadiel: kyselina octová/acetonitril/2-propanol/voda (2/10/10/78, v/v/v/v). Väčšina súčasných metód však používa zmesi metanolu, vody a acetonitrilu (Vaz et al., 2020). Chavarría et al. (2015) použili mobilnú fázu zloženú z vody/metanolu/acetonitrilu (65/25/10, v/v/v) a dosiahli uspokojivú elúciu AFM₁ vo vzorkách mlieka, syra a kyslej smotany, podobne ako Bellio et al. (2016), ktorí použili vodu/metanol/acetonitril (65/20/15, v/v/v). Podľa Dragacciho et al. (2001) však väčšina účastníkov štúdie použila odporúčanú mobilnú fázu (voda/acetonitril 75/25 (v/v)) a iba dvaja účastníci si vybrali terciárnu mobilnú fázu. Rovnaké vhodné zloženie mobilnej fázy ako v našej práci použili Jakšić et al. (2021) pri optimalizácii metódy HPLC na detekciu AFM₁ v syre. Pomer 75/25 (v/v) týchto rozpúšťadiel bol použitý v štúdiu Masrouri et al. (2021). Podľa Shepharda (2009) binárne systémy vody a metanolu viedli k širokým píkom s dlhým chromatografickým časom, čo sa potvrdilo aj v tejto práci.



Obr. 1. Vybrané chromatogramy HPLC-FLD analýzy štandardného roztoku AFM₁ (0,5 µg.kg⁻¹) s použitím rôznych zložení mobilnej fázy: A – voda/acetonitril/metanol (67/25/8, v/v/v); B – voda/acetonitril/metanol (80/15/5, v/v/v); C – voda/acetonitril (50/50, v/v); D – acetonitril/metanol (50/50, v/v); E – voda/metanol (80/20, v/v); F – voda/acetonitril (80/20, obj. diely). Zdroj: Kolarič a Šimko (2023)

Metódy extrakcie mykotoxínov z mlieka zahŕňajú techniky, ako je extrakcia kvapalina-kvapalina (LLE), SPE alebo LLE, po ktorej nasleduje čistiaci krok na SPE (Aguilera-Luiz et al., 2011). Bežne používané postupy na extrakciu AFM₁ z mliečnej matrice sú IAC alebo multifunkčné jednostupňové čistiace kolóny, ktoré sú veľmi účinné a ľahko použiteľné a poskytujú vysokú selektivitu. Sú však určené len na jednorazové použitie z dôvodu denaturácie protilátok počas elučného kroku a ich náklady sú vysoké (Vaz et al., 2020). Princíp IAC je imobilizácia analytu v protilátke (polyklonálnej alebo monoklonálnej) na géli zabalenom do malej plastovej kolóny. Kolóna sa spočiatku kondicionuje tlmivým roztokom, väčšinou fosfátovým tlmivým fyziologickým roztokom, a extrakt surovej vzorky sa na kolónu aplikuje pomaly. Po naplnení extraktu sa gél premyje a nakoniec sa analyzovaná látka eluuje zo stĺpca IAC porušením väzby protilátkového antigénu. Kvapalné matrice sa často odtučňujú a/alebo filtrujú pred priamym prechodom cez IAC, pretože extrakcia a čistenie v IAC prebiehajú súčasne. V prípade tuhých matíc (napr. syra) sa vyžaduje extrakcia rozpúšťadlom, ktorá sa

zvyčajne vykonáva v mixéri alebo trepaním. Elučné rozpúšťadlá musia byť vodné, aby boli kompatibilné s IAC, preto sa väčšinou používajú kombinácie metanolu/vody a acetonitrilu/vody (Šenyuva, Gilbert, 2010). V tejto práci sa použili tri typy extrakčných sorbentov: IAC, HLB a C₁₈. Z testovaných podmienok vyplynulo, že správna elúcia AFM₁ z mlieka sa docielila iba použitím IAC pri použití 1,25 ml acetonitrilu a metanolu (3:2) a 1,25 ml vody. V predošlej práci (Kolarič and Šimko, 2023) bolo potvrdené, že typ elučného rozpúšťadla významne ovplyvňuje výťažnosť AFM₁ z mliečnej matrice. Okrem toho sa zistilo, že dôležitú úlohu zohrával aj objem rozpúšťadiel, rôzne objemy spôsobili pokles výťažnosti na 35,2 % resp. 60,2 %. Khalil et al. (2013) testovali rôzne množstvá acetonitrilu a metanolu a navrhli, že všetky rozpúšťadlá vykazujú výťažnosť nad 70 %, ale najlepšie výťažnosti sa získali zo zmesi acetonitrilu/metanolu (3/2, v/v). Oficiálna metóda AOAC 2000.08 stanovenia obsahu AFM₁ v tekutom mlieku používa elúciu samotným acetonitriľom (4 ml) s výťažnosťou najmenej 80 % (Dragacci et al., 2001). Niektoré štúdie tiež ukázali použitie iných metód. Napríklad Aguilera-Luiz et al. (2011) hodnotili účinnosť metód SPE alebo QuEChERS a zistili, že druhý postup nebol vhodný na extrakciu AFM₁ pri veľmi nízkych úrovniach. Wang et al. (2012) študovali účinnosť OASIS HLB a IAC na elúciu AFM₁ z tekutého mlieka a sušeného mlieka. Optimálne výsledky boli pozorované pri 5 ml metanolu a 5 ml acetonitrilu. S použitím OASIS HLB sa dosiahla výťažnosť 92,6 %, eluovali sa však aj iné interferujúce látky a to znevýhodňuje túto metódu oproti IAC. Toto sa potvrdilo aj našimi meraniami.

Výsledky internej validácie metódy sú zhrnuté v Tab. 2. Validačné kritériá pre stanovenie obsahu AFM₁ v mlieku sú stanovené v nariadení Komisie (ES) č. 401/2006. Linearita metódy bola vyjadrená z kalibračnej krivky pomocou korelačného faktora R², ktorý dosiahol hodnotu 0,99. Pokiaľ ide o stanovenie obsahu AFM₁ vo vzorkách mlieka v EÚ, je dôležité dosiahnuť LOQ aspoň 0,05 µg.kg⁻¹, keďže ide o maximálnu prijateľnú úroveň AFM₁ v mlieku podľa nariadenia Komisie (ES) č. 1881/2006. V tejto práci boli hodnoty LOD a LOQ výrazne pod týmto limitom, 0,004 a 0,01 µg/kg. Tieto výsledky sú tiež podobné iným štúdiám, ktoré používali metódu HPLC-FLD na stanovenie obsahu AFM₁ v mlieku. Podľa EFSA CONTAM panelu (2020) sú hlásené medze stanoviteľnosti pre AFM₁ zvyčajne medzi 0,0007 a 0,014 µg.kg⁻¹. Porovnaním metód ELISA, HPLC-FLD a HPLC-MS/MS sa ukázalo, že všetky metódy sú vhodné na stanovenie AFM₁ vo vzorkách mlieka s takmer rovnakou medzou stanoviteľnosti v rozmedzí od 0,004 do 0,008 µg.kg⁻¹ (Kos et al., 2016). Výťažnosť metódy sa pohybovala okolo 87 %, čo bolo vypočítané porovnaním hodnoty množstva AFM₁, ktoré bolo uvedené dodávateľom referenčného materiálu. Podľa nariadenia Komisie (ES) č. 401/2006 by výťažnosť AFM₁ v koncentráciách nad 0,05 µg.kg⁻¹ mala dosiahnuť hodnoty medzi 70 a 110 %. Maggira et al. (2021) uverejnili, že metóda HPLC-FLD na stanovenie obsahu AFM₁ v surovom mlieku vykazovala výťažnosť medzi 90 – 109 %. Zistilo sa, že priemerná výťažnosť metódy HPLC na stanovenie AFM₁ je 90 % v prípade mlieka a 76 % v prípade syra (Manetta et al., 2005). Shuib et al. (2017) uviedli, že sa hodnoty výťažnosti AFM₁ z mlieka a mliečnych výrobkov pohybovali od 85,2 do 107,0 %. Presnosť navrhovanej metódy bola skúmaná ako RSD hodnôt získaných za jeden deň (opakovateľnosť) a v troch rôznych dňoch (reprodukovateľnosť). RSD sa pohybovala od 3,1 do 4,7 % pri opakovateľnosti, zatiaľ čo RSD reprodukovateľnosti bola 4,2 %. Relatívne rovnaké hodnoty opakovateľnosti uviedli Maggira et al. (2021) (RSD < 3,6 %) pri stanovení AFM₁ v surovom mlieku pomocou metódy HPLC-FLD. Naproti tomu vyššie hodnoty uviedli Kos et al. (2016) v rozmedzí od 9,5 do 11,3 %.

Podľa celosvetového systematického prehľadu a metaanalýzy (Mollayusefian et al., 2021) sa zistilo, že celkový obsah AFM₁ v surovom a pasterizovanom mlieku bol 0,06 µg.kg⁻¹ a 0,09 µg.kg⁻¹. Okrem toho bol najvyšší obsah zistený v surovom byvolom mlieku a pasterizovanom kravskom mlieku, čo naznačuje, že proces pasterizácie nemôže znížiť koncentráciu aflatoxínu na prijateľnú úroveň (Mollayusefian et al., 2021). Podľa nedávneho

hodnotenia rizika aflatoxínov v potravinách (EFSA CONTAM Panel, 2020) vyplynulo, že hlavnými prispievateľmi k celkovej priemernej expozícii AFM₁ sú tekuté mlieko a fermentované mliečne výrobky vo všetkých vekových skupinách. V tejto štúdii bolo na koncentráciu AFM₁ testovaných 20 vzoriek surového a spracovaného mlieka získaných na Slovensku, pričom u všetkých vzorkách boli hodnoty AFM₁ pod LOQ. V jednoročnom prieskume (september 2021 až november 2022) o výskyte AFM₁ v surovom a konzumnom mlieku v Maďarsku (Buzás et al., 2023), obsahovalo AFM₁ nad limitom EÚ (0,05 µg.kg⁻¹) 11,9 % vzoriek surového mlieka a 0,5 % vzoriek konzumného mlieka. Okrem toho bola najvyššia priemerná hladina AFM₁ nameraná na jeseň a nižšia na jar a v lete. Podľa Bellia et al. (2016) sa zistilo, že iba 0,5 % celkových vzoriek mlieka odobratých v severnom Taliansku počas trojročného obdobia (2012 – 2014) nie je v súlade s nariadením EÚ ohľadne prípustného limitu pre AFM₁. Analýza 109 vzoriek odobratých z gréckeho trhu (52 vzoriek dojčenského/batoľacieho mlieka a dojčenskej výživy, 32 pasterizovaného mlieka a 25 vzoriek syra feta) odhalila, že AFM₁ bol prítomný v 60 % dojčenskej výživy, 69 % vzoriek pasterizovaného mlieka a 28 % vzoriek syra; u žiadnej vzorke sa však neprekročil maximálny tolerovateľný limit (Malissiova et al., 2022).

Tab. 2 Validačné parametre navrhovanej metódy HPLC-FLD na stanovenie obsahu AFM₁ v mlieku (Kolarič, Šimko, 2023).

Linearita metódy			
Úsek	3949,6		
Smernica	8,48		
Korelačný koeficient (R^2)	0,99		
LOD [µg.kg ⁻¹]	0,004		
LOQ [µg.kg ⁻¹]	0,01		
Výt'aznosť metódy ^a			
Certifikovaný referenčný materiál	Referenčná hodnota [µg.kg ⁻¹]	Stanovená hodnota [µg.kg ⁻¹]	Výt'aznosť [%]
ERM-BD 284	0,44 ±0,06	0,38 ±0,01	87,3 ±0,6
Presnosť metódy ^b			
Certifikovaný referenčný materiál	Opakovateľnosť	RSD [%]	Reprodukovateľnosť [RSD%]
ERM-BD 284	Deň 1	3,1	4,2
	Deň 2	4,7	
	Deň 3	3,8	

Hodnoty sú vyjadrené ako priemer ±štandardná odchýlka, ^an = 3; ^bn = 4; LOD – limit detekcie; LOQ – limit kvantifikácie

ZÁVER

Keďže problematika výskytu AFM₁ v mlieku a v mliečnych výrobkoch sa z dôvodu globálneho otepľovania stáva stále viac aktuálnejšou aj v krajinách strednej Európy, tak cieľom tejto práce bolo poukázať na účinnú analytickú metódu pre stanovenie obsahu AFM₁ v mlieku za použitia HPLC-FLD detekcie. Metóda sa najskôr optimalizovala na chromatografické parametre, pričom najlepšie výsledky sa pozorovali pri použití mobilnej fázy voda/acetónitril (80/20, v/v). Pred chromatografickým stanovením je veľmi dôležitá príprava vzorky, pričom extrakcia AFM₁ z mlieka sa vykonávala na troch typoch extrakčných kolón. Avšak žiaduca výťažnosť sa dosiahla iba použitím IAC s elúciou pomocou roztoku acetónitrilu a metanolu (3/2, v/v) a vody. Validačné parametre metódy splnili hodnoty udávané oficiálnym nariadením s LOQ 0,01 µg.kg⁻¹. Pri všetkých testovaných vzoriek mlieka sa obsah AFM₁ pohyboval pod touto hodnotou.

LITERATÚRA

- Aguilera-Luiz, M. M., Plaza-Bolaños, P., Romero-González, R., Vidal, J. L.M., Frenich, A. G. 2011. Comparison of the efficiency of different extraction methods for the simultaneous determination of mycotoxins and pesticides in milk samples by ultra high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. In *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 399, pp. 2863-2875. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-4670-7>
- Bellio, A., Bianchi, D.M., Gramaglia, M., Loria, A., Nucera, D., Gallina, S., Gili, M., Decastelli, L. 2016. Aflatoxin M1 in Cow's milk: Method validation for milk sampled in northern Italy. In *Toxins*, vol. 8, Article 57. <https://doi.org/10.3390/toxins8030057>
- Buzás, H., Szabó-Sárvári, L. C., Szabó, K., Nagy-Kovács, K., Bukovics, S., Süle, J., Szafner, G., Hucker, A., Kocsis, R., Kovács, A. J. 2023. Aflatoxin M1 detection in raw milk and drinking milk in Hungary by ELISA – A one-year survey. In *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 121, Article 105368. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105368>
- Commission Regulation (EC) No 401/2006 of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. Available on <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=celex%3A32006R0401>.
- Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Available on <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=celex%3A32006R1881>.
- Dragacci, S., Grosso, F., Gilbert, J. 2001. Immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography for determination of aflatoxin M1 in liquid milk: Collaborative study. In *Journal of AOAC International*, vol. 84, pp. 437-443.
- EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain), Schrenk, D., Bignami, M., Bodin, L., Chipman, J. K., del Mazo, J., Grasl-Kraupp, B., Hogstrand, C., Hoogenboom, L. R., Leblanc, J. C., Nebbia, C. S., Nielsen, E., Ntzani, E., Petersen, A., Sand, S., Schwerdtle, T., Vleminckx, C., Marko, D., Oswald, I. P., Piersma, A., Routledge, M., Schlatter, J., Baert, K., Gergelova, P., Wallace, H. 2020. Risk assessment of aflatoxins in food. In *EFSA Journal*, vol. 18, Article 6040, 112 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6040>
- Chavarría, G., Granados-Chinchilla, F., Alfaro-Cascante, M., Molina, A. 2015. Detection of aflatoxin M1 in milk, cheese and sour cream samples from Costa Rica using enzyme-assisted extraction and HPLC. In *Food Additives & Contaminants: Part B: Surveillance*, vol. 8, pp. 128-135. <http://dx.doi.org/10.1080/19393210.2015.1015176>
- Jakšić, S., Baloš, M. Ž., Popov, N., Torović, L., Krstović, S. 2021. Optimisation, validation and comparison of methods for aflatoxin M1 determination in cheese. In *International Journal of Dairy Technology*, vol. 74, 681-688. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12784>
- Khalil, M. M. H., Gomaa, A. M., Sebaei, A. S. 2013. Reliable HPLC determination of aflatoxin M1 in eggs. In *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, vol. 2013, Article 817091. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/817091>
- 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, Article 1378. <https://doi.org/10.3390/foods9101378>
- Kolarič, L., Šimko, P. 2023. Development and validation of HPLC-FLD method for aflatoxin M1 determination in milk and dairy products. In *Acta Chimica Slovaca*, vol. 16, pp. 99-108. <https://doi.org/10.2478/acs-2023-0010>
- Kos, J., Hajnal, E.J., Jajić, I., Krstović, S., Mastilović, J., Šarić, B., Jovanov, P. 2016. Comparison of ELISA, HPLC-FLD and HPLC-MS/MS methods for determination of aflatoxin M1 in natural contaminated milk samples. In *Acta Chimica Slovenica*, vol. 63, pp. 747-756. <https://doi.org/10.17344/acsi.2016.2451>

- Maggira, M., Ioannidou, M., Sakaridis, I., Samouris, G. 2021. Determination of aflatoxin M1 in raw milk using an HPLC-FL method in comparison with commercial ELISA kits – Application in raw milk samples from various regions of Greece. In *Veterinary Sciences*, vol. 8, Article 46. <https://doi.org/10.3390/vetsci8030046>
- 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.). ISBN 978-91-87461-59-0. Available from www.eurachem.org.
- Malissiova, E., Sultani, G., Tsokana, K., Alexandraki, M., Manouras, A. 2022. Exposure assessment on aflatoxin M1 from milk and dairy products – relation to public health. In *Clinical Nutrition ESPEN*, vol. 47, pp. 189-193. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2021.12.017>
- Manetta, A.C., Di Giuseppe, L., Giammarco, M., Fusaro, I., Simonella, A., Gramenzi, A., Formigoni, A. 2005. High-performance liquid chromatography with post-column derivatisation and fluorescence detection for sensitive determination of aflatoxin M1 in milk and cheese. In *Journal of Chromatography A*, vol. 1083, pp. 219-222. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.06.039>
- Masrouri, M., Mogaddam, M. R. A., Farajzadeh, M. A., Nemati, M., Lotfipour, F. 2021. Combination of solvent extraction with deep eutectic solvent based dispersive liquid-liquid microextraction for the analysis of aflatoxin M1 in cheese samples using response surface methodology optimization. In *Journal of Separation Science*, vol. 44, pp. 1501-1059. <https://doi.org/10.1002/jssc.202001183>
- Massahi, T., Kiani, A., Sharafi, K., Matin, B. K., Omer, A. K., Ebrahimzadeh, G., Jaafari, J., Fattahi, N. 2023. A systematic literature review for aflatoxin M1 of various milk types in Iran: Human health risk assessment, uncertainty, and sensitivity analysis. In *Food Control*, vol. 150, Article 109733. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109733>
- Mollayusefian, I., Ranaei, V., Pilevar, Z., Cabral-Pinto, M. M. S., Rostami, A., Nematollahi, A., Khedher, K. M., Thai, V.N., Fakhri, Y., Khaneghah, A.M. 2021. The concentration of aflatoxin M1 in raw and pasteurized milk: A worldwide systematic review and meta-analysis. In *Trends in Food Science & Technology*, vol. 115, pp. 22-30. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.033>
- Murphy, P. A., Hendrich, S., Landgren, C., Bryant, C. M. 2006. Food Mycotoxins: An update. In *Journal of Food Science*, vol. 71, pp. 51-65. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00052.x>
- Pisoschi, A. M., Iordache, F., Stanca, L., Petcu, A. I., Purdoi, L., Geicu, O. I., Bilteanu, L., Serban, A. I. 2023. Comprehensive overview and critical perspective on the analytical techniques applied to aflatoxin determination – A review paper. In *Microchemical Journal*, vol. 191, Article 108770. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2023.108770>
- Şenyuva, H. Z., Gilbert, J. 2010. Immunoaffinity column clean-up techniques in food analysis: A review. In *Journal of Chromatography B*, vol. 878, pp. 115-132. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2009.05.042>
- Shephard, G. S. 2009. Aflatoxin analysis at the beginning of the twenty-first century. In *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 395, pp. 1215-1224. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-2857-y>
- Shuib, N. S., Makahleh, A., Salhimi, S. M., Saad, B. 2017. Determination of aflatoxin M1 in milk and dairy products using high performance liquid chromatography-fluorescence with post column photochemical derivatization. In *Journal of Chromatography A*, vol. 1510, pp. 51-56. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2017.06.054>
- Silva, I. M. M., da Cruz, A. G., Ali, S., Freire, L. G. D., Fonseca, L. M., Rosim, R. E., Corassin, C. H., de Oliveira, R. B. A., de Oliveira, C. A. F. 2023. Incidence and levels of aflatoxin M1 in Artisanal and manufactured cheese in Pernambuco State, Brazil. In *Toxins*, vol. 15, Article 182. <https://doi.org/10.3390/toxins15030182>
- Šimko, P., Kolarič, L. 2022. Decrease in aflatoxin M1 concentration in milk during cholesterol removal by application of β -cyclodextrin. In *Toxins*, vol. 14, Article 379. <https://doi.org/10.3390/toxins14060379>
- Vaz, A., Silva, A. C. C., Rodrigues, P., Venâncio, A. 2020. Detection methods for aflatoxin M1 in Dairy Products. In *Microorganisms*, vol. 8, Article 246. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020246>
- Wang, Y., Liu, X., Xiao, C., Wang, Z., Wang, J., Xiao, H., Cui, L., Xiang, Q., Yue, T. 2012. HPLC determination of aflatoxin M1 in liquid milk and milk powder using solid phase extraction on OASIS HLB. In *Food Control*, vol. 28, pp. 131-134. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.04.037>

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

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

PAHs LEVEL IN RABBITS'S SAUSAGES FROM V4 GROUP

Łukasz Migdał, Anna Migdał, Eva Tumova, Darina Chodova, Radoslav Zidek, Istvan Nagy, Sylwia Pałka, Michał Kmiecik, Władysław Migdał

Abstract: Smoking is a well known process of conservation of food. Here we analysed content of polycyclic aromatic hydrocarbons in sausages from native rabbits breeds from V4 countries. Our results showed that using traditional smoking method it may be hard to achieve values recommended by EU directives.

Keywords: Rabbits, PAHs, sausages, traditional smoking

INTRODUCTION

Native breeds are prove of hard work of generations of breeders. Animal genetic resources are defined as a species which are or may be used in food production (Krupiński et al. 2017).

The Regulations of UE restrict (imposed limits) the levels of PAHs in food. Content of benzo(a) pyrene is defined in Commission Regulation (EC) No 835/2011 is set on level 5.0 ug/kg until 31.08.2014 and from 01.09.2014 on level of 2.0 ug/kg. Similar regulation were suggested for sum of four PAHs: Benzo(a)pyrene, Benzo(a)anthracene, Chrysen and Benzo(b)fluoranthene which were set on level 30 ug/kg until 31.08.2014 and from 01.09.2014 on level of 12.0 ug/kg. Here we analysed content of PAHs in sausages made from local rabbit's meat from V4 group countries.

MATERIAL AND METODOLOGY

Meat were collected from Moravian Blue (MB), Pannon White (PAW), Popielno White (PW), Blue of Holic (BH) and Slovak Rex (SR) rabbits slaughtered at 12th week of age. From carcasses we removed bones and cut meat (about 4kg of meat from each breed) into small 3-5 cm pieces. Mix with pickling mixture (salt, saltpeter, sugar) and leave for 48h in cold place. Pickled meat was minced in 5 mm strainer. Spices were added to minced meat: salt (0.04 – 0.05 kg), sugar (0.01 kg), grinded black pepper (0.01 kg). Meat were paiped into natural hog casings and store in room temparture for about 2 - 3h. Sausages were smoked traditionally in traditional smokehouse and logs from fruit trees. Smoking time was about 1 – 1.5 h (till internal temperature of sausage – 72°C). After smoking sausage were cooled to temperature below 15°C. Samples were collected from different part of smoked sausages and PAHs were determinted using tandem mass spectrometry HH-MA-M 03-058, GC-MS/MS:2019-09 method.

RESULTS AND DISCUSSION

In Table 1 we presented results PAHs content of sausages from rabbits representing local breeds within V4 countries – form Czech Republic (Moravian Blue - MB), Hungary (Pannon White - PAW), Poland (Popielno White – PW) and Slovakia (Blue of Holic – BH and Slovak Rex - SR).

Here in presented experiment even if we smoked sausages only for about 80 minutes level of benzo(a)pyrene and sum of 4 PAHs were exceeded. Especially for Slovak rabbits content of bezno(a)pyrene were high: 24.9 and 50.6 ug/kg. Sum of 4 PAHs were the highest again in Slovak rabbits then Popielno White and the lowest in Moravian Blue (20.3 ug/kg – closest value to set by EC No 835/2011). The Regulations of UE restrict (imposed limits) the levels of PAHs in food. Content of benzo(a)pyrene is defined in Commission Regulation (EC)

No 835/2011 is set on level 5.0 ug/kg until 31.08.2014 and from 01.09.2014 on level of 2.0 ug/kg. Our results showed that sausages prepared from local rabbits meat were higher compared to regulation limits especially in Slovak rabbits

Table 1 Polycyclic aromatic hydrocarbons content in sausages made from meat from rabbit ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)	Moravian Blue	Termond White	Pannon White	Popielno White	Slovak Rex	Blue of Holic
Benzo(a)anthracene	7.2	11.5	9.9	18.3	56.52	71.5
Chrysen	6.5	10	8.8	16.4	35.9	69.2
Benzo(b)fluoranthene	3	5	3.9	7.1	24.4	41.4
Benzo(a)pyrene	4.1	6.5	5	8.5	24.9	50.6
Σ PAH (Benzo(a)pyrene, Benzo(a)anthracene, Chrysen, Benzo(b)fluoranthene)	20.8	33	27.6	50.3	150	233

CONCLUSION

Here we presented results of analysis of PAHs content from V4 local rabbits breeds. This results show that using traditional smoking technique is possible to obtain level close to recommended by EU. Some modifications should be made especially for Slovak's rabbit meat to decrease PAHs content like shorter smoking time.

REFERENCES

Krupiński, J., Martyniuk, E., Krawczyk, J., Baran, L., Bielański, P., Bobak, L., Calik, J., Chełmińska, A., COMMISSION REGULATION, (EU) No 835/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs

Pod'akovanie/Acknowledgments: This work was supported by Visegrad Fund ID 21910116 „Local rabbits breeds - cultural heritage within "functional food" idea“

Kontaktná adresa/Contact address: dr inż. Łukasz Migdał, prof. URK, Department of Genetics, Animal Breeding and Ethology, University of Agriculture in Krakow, al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków, Poland ; lukasz.migdal@urk.edu.pl

VPLYV PÔVODU NA OBSAH ŤAŽKÝCH KOVŮ VO VÝBEROVEJ KÁVE

INFLUENCE OF ORIGIN ON THE CONTENT OF HEAVY METALS IN SPECIALTY COFFEE

Matúš Várady, Monika Pipová, Soňa Pivka, Pavlina Jevinová, Peter Popelka

Abstract: The aim of this study was to determine the influence of the origin of coffee on the contents of heavy metals in specialty coffee beans from different countries (Ethiopia, Kenya, Rwanda, Burundi, Guatemala, Nicaragua, and Peru). The origin of the coffee affected the contents of the heavy metals mercury (Hg), aluminium (Al), nickel (Ni), chromium (Cr), cadmium (Cd), copper (Cu), and lead (Pb) ($p < 0.001$). Hg content differed between the coffees and was highest in the green and roasted Guatemalan coffees (0.0146 and 0.0132 mg/kg, respectively). Al content was high in the coffees from Kenya, Rwanda, and Guatemala, and Ni content was high in roasted coffees from Rwanda. Pb contents (0.216 – 0.252 mg/kg) were highest in roasted Ethiopian coffee. Our results indicated the importance of monitoring heavy metals as part of entry controls when coffees enter the market, even though further processing, such as roasting, can in some cases greatly reduce their contents.

Keywords: specialty coffee, heavy metals, coffee origin, green coffee, roasted coffee

ÚVOD

Ťažké kovy sú prvky, ktoré sú extrémne škodlivé pre ľudské zdravie aj vo veľmi nízkych koncentráciách, pretože sa hromadia v potravinovom reťazci (Silva et al., 2017, Ismail et al., 2019). Niektoré kovy vrátane medi (Cu), chrómu (Cr), kobaltu, niklu (Ni) a zinku sú pre organizmy v nízkych koncentráciách biologicky nevyhnutné, avšak arzén (As), kadmium (Cd), olovo (Pb), ortuť (Hg), titán a urán sú škodlivé. Všetky kovy sú vo vysokých koncentráciách toxické a ich nadmerné množstvo môže poškodiť organizmus (Sing et al., 2011). Biologická dostupnosť a výskyt ťažkých kovov sú však ovplyvnené inými faktormi, ako je pH a štruktúra pôdy, obsah organickej hmoty a interakcie medzi prvkami (Jung, 2008). Orálna cesta je bežným prostriedkom prijímania ťažkých kovov a nadmerné hladiny môžu spôsobiť značné poškodenie každého orgánu v tele ako aj ďalšie problémy, ako sú neurologické defekty, respiračné poruchy, karcinogenita, gastrointestinálna obštrukcia a osteoporóza (Mitra et al., 2022). Ťažké kovy sa spájajú s niektorými chorobami, napr. zlyhanie obličiek, rakovina krvi a pľúc, deformácie kostry a osteoporóza. Káva je jedným z najobľúbenejších nápojov na svete vďaka svojim senzorickým vlastnostiam a stimulačnému účinku kofeínu (Hall et al., 2022). Výberová káva je termín používaný pre kávu, ktorá má štandardizovaný proces výroby, od výberu kritérií pre kávové plantáže až po prípravu kávy, ktorá pred podávaním klientovi prejde predbežnými testami triedenia a cuppingu a jedným z najdôležitejších kritérií je dosiahnutie skóre 80 bodov alebo viac na 100-bodovej škále. Prítomnosť potenciálne škodlivých látok v káve súvisí aj s geografickým regiónom jej pôvodu. Najväčšími producentmi kávy sú krajiny zo strednej a južnej Ameriky, Afriky a juhovýchodnej Ázie. Vzhľadom ku menej striktným právnym predpisom, environmentálnej záťaži v týchto krajinách a používaniu prostriedkov na ochranu kávovníkov, potenciálny problém predstavuje predovšetkým kontaminácia kávy ťažkými kovmi. Z ťažkých kovov najväčší problém predstavujú olovo, chróm, kadmium, nikel, meď a arzén (Pigozzi et al., 2018). Nedávna štúdia poukazuje na kávy zo strednej Ameriky nadmerne kontaminované kadmiumom (Várady et al., 2021). Predpokladali sme, že pôvod kávy a praženie môže výrazne ovplyvniť množstvo ťažkých kovov v kávových zrnách, preto našim cieľom bolo zistiť obsah

ťažkých kovov (meď, olovo, chróm, kadmium, nikel, hliník a ortuť) vo vzorkách zelenej a praženej kávy z rôznych geografických regiónov.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky zín 100% - nej *Coffea Arabica* boli získané z Nikaraguy (2), Guatemaly (4), Peru (2), Etiópie (4), Kene (2), Rwandy (3) a Burundi (2) boli spracované rôznymi pozberovými metódami. Vzorky kávy boli analyzované v zelenej a praženej káve (teplota 204°C počas 5 min). Vzorky kávy sme jemne pomleli a homogenizovali, odvážili (0,3 g) a preniesli do teflónových kadičiek (Merck KGaA, Darmstadt, Nemecko) na mineralizáciu. Pridali sme 5 mililitrov 65 % kyseliny dusičnej a 1 ml peroxidu vodíka. Teflónové kadičky sme uzavreli a mineralizovali 45 minút. Roztoky vzoriek sa potom kvantitatívne preniesli do 25 ml odmerných baniek, kde sa pridala deionizovaná voda, aby sa objem na analýzu zvýšil na 25 ml. Vzorky boli štiepené v mikrovlnnom zariadení Berghof MWS-2 (Berghof Automation GmbH, Eningen unter Achalm, Nemecko) počas 45 minút pri teplotách v rozmedzí od 100 do 190 °C. Ťažké kovy meď (Cu), olovo (Pb), chróm (Cr), kadmium (Cd), nikel (Ni), hliník (Al) a ortuť (Hg) boli identifikované pomocou viacprvkovej techniky hmotnostnej spektrometrie s indukčne viazanou plazmou (Agilent ICP-MS 7900, Santa Clara, CA, USA). Podmienky ICP-MS boli: RF výkon, 1370 W; RF prispôsobenie, 1,58 V; prietok plazmového plynu (Ar), 15 l/min; hĺbka odberu vzoriek, 7,9 mm; prietok nosného plynu (Ar), 1,22 l/min; čerpadlo rozprašovača, 0,1 ot./s; a teplota rozprašovacej komory 2 °C. Ortuť bola analyzovaná atómovou absorpčnou spektrometriou s použitím jednéhoúčelového atómového absorpčného spektrometra AMA-254 (Altec, Praha, Česká republika).

Na posúdenie rozdielov v obsahu ťažkých kovov medzi africkými a americkými zelenými kávami sa použili nepárové *t*-testy (Tabuľka 1). Údaje sme analyzovali dvojcestnou Anovou pomocou softvéru GraphPad Prism 8.3.0 (538) 2019 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA) (Tabuľka 2).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tabuľke č. 1 vidíme, že medzi africkými a americkými zelenými kávami bola okrem obsahu niklu ($p < 0.002$) pozorovaná silná podobnosť v obsahu ťažkých kovov.

Tabuľka 1 Priemerný obsah (mg.kg⁻¹) analyzovaných ťažkých kovov v zelených kávach

	Pôvod kávy								<i>p</i>
	Afrika				Amerika				
	Etiópia, Keňa, Burundi, Rwanda (n=11)				Guatemala, Nikaragua, Peru (n=8)				
	min	max	mean	SD	min	max	mean	SD	
Hg	0.0009	0.0090	0.002	0.0023	0.0010	0.0146	0.006	0.0052	0.094
Al	0.103	15.52	3.23	6.032	0.039	2.45	0.821	0.8397	0.248
Ni	0.351	0.968	0.619	0.1908	0.111	0.660	0.293	0.2008	0.002
Cr	0.060	0.454	0.182	0.1251	0.060	0.279	0.138	0.0768	0.396
Cd	0.000	0.014	0.006	0.0041	0.000	0.062	0.017	0.0207	0.087
Cu	2.940	11.9	9.25	2.679	10.01	11.33	10.8	0.55	0.125
Pb	0.019	0.205	0.079	0.0643	0.026	0.093	0.058	0.0273	0.409

Kávovníky absorbujú a dlhodobo uchovávajú ťažké kovy a ich obsah je zvyčajne oveľa vyšší vo vegetatívnych zložkách ako v zrnách (Hecimovic et al., 2011). Napriek tomu je hodnotenie obsahu ťažkých kovov v kávových zrnách veľmi dôležité, pretože existujú významné rozdiely medzi rôznymi geografickými regiónmi. Obsah niektorých kovov v zelených zrnách sa po upražení zmenil (Tabuľka 2), avšak hladiny ťažkých kovov boli v zelených kávových zrnách a aj po upražení v rámci odporúčaných limitov (Adler et al.,

2019). Obsah ortuti bol najvyšší v zelenej káve z Guatemaly ($0,0146 \text{ mg.kg}^{-1}$) a najnižší v pražených kávhach z Rwandy ($0,0002 \text{ mg/kg}$). Zároveň bol obsah ortuti o niečo vyšší v porovnaní s našou predchádzajúcou štúdiou zelených káv z Nikaraguy a Kolumbie ($0,0007 \text{ mg.kg}^{-1}$) (Várady et al., 2021). Kowalska (2021) uvádza vyšší obsah ortuti ($0,006 \text{ mg.kg}^{-1}$) v zrnách kávy *C. arabica*, avšak nedefinovaného pôvodu. Obsah hliníka bol vysoký v pražených kávhach z Keni, Rwandy a Guatemaly pravdepodobne preto, že časť hmoty surových zŕn sa stratila počas praženia, vrátane vodnej pary, CO_2 a iných prchavých zlúčenín. Je zrejmé, že obsah niektorých prvkov sa môže úmerne zvýšiť počas praženia na základe ich hmotnosti (Cruz et al., 2015). V literatúre bol tiež zaznamenaný silný vplyv techniky varenia na vysoko variabilné obsahy Al ($1,5\text{--}15,5 \text{ mg.kg}^{-1}$) v desiatich vzorkách testovaných, balených káv (Windisch et al., 2020). Obsah niklu sa pohyboval od $0,111$ do $1,490 \text{ mg.kg}^{-1}$, s tendenciou k vyšším obsahom Ni pre pražené kávy. Najvyšší obsah Ni bol v pražených kávhach z Keni, Rwandy a Etiópie, čo bolo o niečo vyššie ako bolo popísané v iných štúdiách (Silva et al., 2017, Várady et al., 2021). Adler et al. (2019) tiež uviedli vyššie priemerné obsahy niklu v praženej káve ($0,88 \text{ mg.kg}^{-1}$) v porovnaní so zelenou kávou ($0,42 \text{ mg.kg}^{-1}$), avšak u kávy neznámeho pôvodu. V súlade s našimi výsledkami De Carvalho Neto et al. (2017) nezistili nikel vo vzorkách praženej brazílskej kávy, čo je aj v súlade s nižšími obsahmi niklu v amerických zelených kávhach. V súčasnosti obsah niklu ako aj chrómu nie je pre kávu a kávové produkty legislatívne upravený. Obsah kadmia bol najvyšší v zelenej káve z Guatemaly ($0,062 \text{ mg.kg}^{-1}$) a bol vyšší ako vo väčšine ostatných štúdií ($0,013$, $0,006$ a $0,03 \text{ mg.kg}^{-1}$) popísaných v literatúre (Jeszka-Skowron et al., 2016, Šemen et al., 2017, Endaye et al., 2020). Obsah kadmia bol však porovnateľný so zelenou kolumbijskou kávou ($0,15 \text{ mg.kg}^{-1}$, Várady et al., 2021). Kadmium sme v pražených kávhach z Guatemaly nezistili. Albals et al., (2021) zistili vyššie hladiny kadmia ($0,450 \text{ mg.kg}^{-1}$) a chrómu ($1,540 \text{ mg.kg}^{-1}$) v jemne praženej káve, čo potvrdzuje predpoklad, že praženie môže zvýšiť obsah niektorých prvkov. Maximálna povolená hladina kadmia v kávových výrobkoch stanovená Európskou úniou je $100 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Kadmium je napriek tomu kontaminant, ktorý sa môže hromadiť v životnom prostredí, s dobrou koreláciou medzi pôdou a rastlinami, ale odhadovaný príjem Cd z nápojov na rastlinnej báze je nízky. Je zaujímavé, že v súčasnosti sa podporuje používanie použitej kávovej usadeniny ako efektívneho a ekonomického adsorbenta pre odstránenie kadmia, olova a pravdepodobne aj iných druhov kovov z priemyselnej aj pitnej vody. Obsah medi sa u všetkých káv líšil (od $2,940$ do $12,25 \text{ mg.kg}^{-1}$) a bol signifikantne vyšší v pražených ako v zelených kávhach. Obsah olova ($0,216\text{--}0,252 \text{ mg/kg}$) bol najvyšší v pražených Etiópskych kávhach. Technologické procesy a geografický región pôvodu kávy môžu ovplyvniť obsah ťažkých kovov v kávových zrnách (Silva et al., 2017, Lee et al., 2020) čo je aj v súlade s našimi výsledkami. Z našich výsledkov ďalej vyplýva, že obsah ťažkých kovov sa môže niekedy počas spracovania (praženia) meniť a môže poklesnúť pod úroveň zelenej kávy, avšak v rámci odporúčaných limitov. Tieto zistenia sú v súlade s našimi výsledkami pre všetky kávy, ktoré boli jemne pražené.

ZÁVER

Výsledky našej štúdie vedú k záveru, že geografický pôvod kávy mal významný vplyv na obsah ťažkých kovov vo vybraných vzorkách káv. Keďže farmári používajú na hodnotenie kvality výberovej kávy iba senzorické analýzy, je veľmi dôležité kontrolovať aj prítomnosť ťažkých kovov, hlavne v nových výberových kávhach, ktoré prichádzajú na náš trh. Výberová káva, ktorá má najvyššiu kvalitu na trhu, by mala spĺňať aj najvyššie kritériá bezpečnosti, ako je obsah ťažkých kovov. Spracovanie kávy môže ovplyvniť obsah ťažkých kovov a túto informáciu často nemajú ani farmári, ktorí túto kávu spracúvajú, pražiarne, ktoré ju pražia a dokonca ani zákazníci, ktorí ju pijú.

Tabuľka 2 Vplyv pôvodu na obsah ťažkých kovov v zelených a pražených kávu (n=3)

Pôvod kávy		Ťažké kovy (mg.kg ⁻¹)						
		Hg	Al	Ni	Cr	Cd	Cu	Pb
Etiópia	Zel	0.0018	15.52	0.717	0.454	0.007	6.801	0.205
	Praž	0.0011	9.201	0.494	0.075	0.012	7.462	0.252
Etiópia	Zel	0.0018	0.260	0.530	0.083	0.000	11.03	0.034
	Praž	0.0012	0.710	0.543	0.091	0.005	10.98	0.057
Etiópia	Zel	0.0014	1.160	0.500	0.095	0.006	6.601	0.066
	Praž	0.0011	4.310	0.415	0.056	0.000	8.330	0.038
Etiópia	Zel	0.0009	0.108	0.532	0.216	0.014	10.48	0.198
	Praž	0.0010	19.83	1.176	0.291	0.017	11.77	0.216
Keňa	Zel	0.0027	0.103	0.351	0.167	0.011	11.90	0.087
	Praž	0.0012	29.39	1.160	0.199	0.008	12.25	0.118
Keňa	Zel	0.0015	15.28	0.968	0.360	0.000	2.940	0.080
	Praž	0.0007	13.49	0.571	0.327	0.005	9.791	0.119
Burundi	Zel	0.0012	0.182	0.414	0.149	0.006	10.14	0.061
	Praž	0.0010	12.39	0.303	0.124	0.005	11.27	0.104
Burundi	Zel	0.0011	0.176	0.483	0.218	0.005	10.14	0.050
	Praž	0.0008	0.732	0.353	0.108	0.007	11.27	0.085
Rwanda	Zel	0.0018	0.787	0.792	0.060	0.005	10.80	0.019
	Praž	0.0016	0.031	0.615	0.064	0.005	11.95	0.033
Rwanda	Zel	0.0032	1.490	0.759	0.076	0.004	10.90	0.026
	Praž	0.0002	34.60	1.490	0.451	0.009	11.02	0.083
Rwanda	Zel	0.0090	0.509	0.764	0.122	0.004	9.990	0.040
	Praž	0.0032	19.59	0.924	0.132	0.005	10.59	0.178
Guatemala	Zel	0.0067	0.039	0.226	0.103	0.004	11.29	0.039
	Praž	0.0050	6.580	0.142	0.108	0.000	11.76	0.051
Guatemala	Zel	0.0097	0.200	0.111	0.060	0.005	11.20	0.026
	Praž	0.0059	42.10	1.060	0.190	0.000	12.10	0.123
Guatemala	Zel	0.0146	0.203	0.172	0.097	0.062	11.20	0.093
	Praž	0.0132	16.35	0.437	0.129	0.000	11.51	0.063
Guatemala	Zel	0.0087	2.450	0.135	0.101	0.000	11.33	0.033
	Praž	0.0021	3.600	0.208	0.104	0.000	11.80	0.049
Nikaragua	Zel	0.0010	1.600	0.435	0.122	0.022	10.30	0.052
	Praž	0.0011	0.597	0.344	0.162	0.020	11.96	0.076
Nikaragua	Zel	0.0011	0.621	0.660	0.279	0.029	10.20	0.091
	Praž	0.0012	0.238	0.400	0.115	0.029	10.64	0.108
Peru	Zel	0.0011	0.381	0.144	0.106	0.005	10.97	0.046
	Praž	0.0008	2.770	0.179	0.062	0.006	12.22	0.065
Peru	Zel	0.0012	1.070	0.460	0.237	0.010	10.01	0.085
	Praž	0.0008	18.24	0.539	0.053	0.006	11.42	0.180
SD		0.0004	9.303	0.032	0.046	0.001	2.440	0.023
Pôvod		0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002	0.001
Spracovanie		0.001	0.001	0.001	0.064	0.001	0.008	0.001
Pôvod × Spracov.		0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.847	0.001

LITERATÚRA

- Adler, G., Nedzarek, A., Tórz, A. 2019. Concentrations of selected metals (Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Al, Ni, Pb, Cd) in coffee. In *Zdravstveno varstvo*, vol. 58, pp. 187–193. <https://doi.org/10.2478/sjph-2019-0024>
- Cruz, N., Peng, Y., Wightman, E., Xu, N. 2015. The interaction of clay minerals with gypsum and its effects on copper–gold flotation. In *Minerals Engineering*, vol. 77, pp. 121–130. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2015.03.010>
- De Carvalho Neto, D. P., De Melo Pereira, G. V., Tanobe, V. O. A., Thomaz Soccol, V.G., da Silva, B. J., et al. 2017. Yeast Diversity and Physicochemical Characteristics Associated with Coffee Bean Fermentation from the Brazilian Cerrado Mineiro Region. In *Fermentation*, vol. 3, p. 11. <https://doi.org/10.3390/fermentation3010011>
- Endaye, M., Atlabachew, M., Mehari, B., Alemayehu, M., Mengistu, D. A., Kerisew, B. 2020. Combining multi-element analysis with statistical modeling for tracing the origin of green coffee beans from Amhara Region, Ethiopia. In *Biological Trace Element Research*, vol. 195, no. 2, pp. 669–678. <https://doi.org/10.1007/s12011-019-01866-5>
- Hall, D. R., Trevisan, F., Brillouet, J. M., de Vos, R. C. H. 2020. Coffee berry and green bean chemistry - Opportunities for improving cup quality and crop circularity. In *Food Research International*, vol. 151, 110825. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110825>
- Hecimovic, I., Belscak-Cvitanovic, A., Horzic, D., Komes, D. 2011. Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. In *Food Chemistry*, vol. 129, pp. 991–1000. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.059>
- Ismail, A., Riaz, M., Akhtar, S., Goodwill, J. E., Sun, J. 2019. Heavy metals in milk: global prevalence and health risk assessment. In *Toxin Reviews*, vol. 38, no. 1, pp. 1–12. <https://doi.org/10.1080/15569543.2017.1399276>
- Jeszka-Skowron, M., Stanisiz, E., De Peña, M. P. 2016. Relationship between antioxidant capacity, chlorogenic acids and elemental composition of green coffee. In *LWT*, vol. 73, pp. 243–250. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.018>
- Jung, M. C. 2008. Heavy metal concentrations in soils and factors affecting metal uptake by plants in the vicinity of a Korean Cu-W Mine. In *Sensors*, vol. 8, pp. 2413–2423. <https://doi.org/10.3390/s8042413>
- Kowalska, G. 2021. The safety assessment of toxic metals in commonly used herbs, spices, tea, and coffee in Poland. In *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 18, no. 11, p. 5779. <https://doi.org/10.3390/ijerph18115779>
- Lee, J. G., Hwang, J. Y., Lee, H. E., Choi, J. D., Kang, G. J. 2020. Comparative analysis of lead content during food processing. In *Food Science and Biotechnology*, vol. 29, no. 8, pp. 1063–1069. <https://doi.org/10.1007/s10068-020-00756-0>
- Mitra, S., Chakraborty, A. J., Tareq, A. M., Emran, T. B., Nainu, F., Khusro, A., Idris, A. M., et al. 2022. Impact of heavy metals on the environment and human health: Novel therapeutic insights to counter the toxicity. In *Journal of King Saud University Science*, vol. 34, no. 3, 101865. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.101865>
- Pigozzi, M.T., Passos, F.R., Mendes, F.Q. 2018. Quality of Commercial Coffees: Heavy Metal and Ash Contents. In *Journal of Food Quality*, vol. 2018, Article ID 5908463. <https://doi.org/10.1155/2018/5908463>
- Şemen, S., Mercan, S., Yayla, M., Açikkol, M. 2017. Elemental composition of green coffee and its contribution to dietary intake. In *Food Chemistry*, vol. 215, pp. 92–100. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.176>
- Silva, S. A., Mendes, F. Q., Reis, M. R., Passos, F. R., de Carvalho, A. M. X., et al. 2017. Determination of heavy metals in the roasted and ground coffee beans and brew. In *African Journal of Agricultural Research*, vol. 12, no. 4, pp. 221–228. <https://doi.org/10.5897/AJAR2016.11832>
- Singh, R., Gautam, N., Mishra, A., Gupta, R. 2011. Heavy metals and living systems: An overview. In *Indian Journal of Pharmacology*, vol. 43, no. 3, pp. 246–253. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.81505>
- Várady, M., Slusarczyk, S., Boržíková, J., Hanková, K., Vieriková, M., Marcinčák, S., Popelka, P. 2021. Heavy-metal contents and the impact of roasting on polyphenols, caffeine, and acrylamide in specialty coffee beans. In *Foods*, vol. 10, 1310. <https://doi.org/10.3390/foods10061310>
- Windisch, J., Keppler, B. K., Jirsa, F. 2020. Aluminum in Coffee. In *ACS Omega*, vol. 5, no. 25, pp. 15335–15343. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01410>

Pod'akovanie: Táto práca bola podporená vedeckou grantovou agentúrou Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu SR a Slovenskej akadémie vied (VEGA č. 1/0073/22).

Kontaktná adresa: Várady Matúš, Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika. E-mail: matus.varady@uvlf.sk

POLYFENOLY, KOFEÍN A AKRYLAMID VO VÝBEROVEJ KÁVE RÔZNEHO GEOGRAFICKÉHO PÔVODU

POLYPHENOLS, CAFFEINE AND ACRYLAMIDE IN SPECIALTY COFFEE OF DIFFERENT GEOGRAPHICAL ORIGIN

Matúš Várady, Jozef Nagy, Alena Nagyová, Martin Bartkovský, Peter Popelka

Abstract: The aim of this study was to determine the contents of polyphenols, acrylamide, and caffeine in specialty coffee beans from Colombia (COL) and Nicaragua (NIC). Samples of NIC coffee were naturally processed and COL coffee was fermented anaerobically. Green beans were roasted at two levels, light roasting of 210°C (10 min) and darker roasting of 215°C (12 min). Quantitative analyses of polyphenols identified caffeoylquinic acids (CQA) and feruloylquinic acids. Isomer 5-CQA was present at the highest levels and reached 60.8 and 57.7% in COL and NIC green beans, 23.4 and 29.3% in COL and NIC light roasting, and 18 and 24.2% in COL and NIC dark roasting of the total polyphenols, respectively. The total polyphenol contents were highest in COL green (59.76 mg/g DM). Roasting affected the contents of polyphenols, caffeine, and acrylamide ($p < 0.001$, $p < 0.011$ and $p < 0.001$, respectively). Darker roasting decreased acrylamide content, but light roasting maintained similar amounts of caffeine and total polyphenols. Drinking healthy and traceable high-quality specialty coffees should be goals in the future.

Keywords: specialty coffee, bioactive compounds, coffee origin, green coffee, roasted coffee

ÚVOD

Káva je jedným z najčastejšie konzumovaných nápojov na svete a jej spotreba sa každým rokom zvyšuje (Vegro et Almeida, 2020). Spotrebu kávy stále ovplyvňuje cena, ale spotrebiteľia majú záujem o nákup kvalitnejšej kávy s pridruženými zdravotnými benefitmi (Sammogia et al., 2019). Produkcia a spotreba kávy sa v poslednom desaťročí zvýšila s príchodom výberových káv na trh. Výberová káva je vyrobená z najkvalitnejších zelených kávových zŕn, má známy geografický pôvod, používa najlepšiu metódu pozberovej úpravy. Má štandardizovaný proces výroby, od výberu kritérií pre kávové plantáže až po prípravu kávy, ktorá pred podávaním klientovi prejde predbežnými testami triedenia a cuppingu (Lingle et al., 2017; Zarebska et al., 2022). Jedným z najdôležitejších kritérií je dosiahnutie skóre 80 bodov alebo viac na 100-bodovej škále. Farmári, ktorí spracovávajú výberové kávy, používajú nové metódy spracovania na udržanie kvality a antioxidačnej aktivity. Základné spôsoby spracovania (suché, premyté, honey) v poslednom čase dopĺňajú nové inovatívne spôsoby spracovania, napr. anaeróbna fermentácia a karbonická macerácia (Poltronieri a Rossi, 2016; Junior et al., 2021). Anaeróbna fermentácia a/alebo karbonická macerácia rýchlo menia kávové ovocie, výsledkom čoho je chuť výrazne odlišná od tradičných metód fermentácie. Zrná zbavené dužiny obsahujú mnoho mikrobiálnych skupín, ako sú baktérie mliečneho kvasenia, baktérie kyseliny octovej, enterobaktérie a kvasinky, ktoré interagujú počas fermentácie a endogénny metabolizmus zŕn vedie k špecifickému profilu prekursorov chuti zelených kávových zŕn (Zhang et al., 2019). Antioxidačná aktivita kávových zŕn závisí od vlastností fenolových zlúčenín, najmä chlorogenových kyselín (CGA) a kofeínu (CAF). CGA aj CAF sú dôležité pre tvorbu chuti a zdravý účinok kávy a jej extraktov, pretože znižujú oxidačný stres a chránia antioxidačný systém (Jeszka-Skowron et al., 2016). CGA má širokú škálu potenciálnych zdravotných výhod, ktoré sa pripisujú kyselinám acyl-chinovým a sú spojené s konzumáciou kávy, vrátane zníženého výskytu niekoľkých chronických a degeneratívnych ochorení, ako je rakovina, kardiovaskulárne poruchy, cukrovka a Parkinsonova choroba (Tajik et al., 2017).

Predpokladali sme, že nové metódy spracovania kávy ako je anaeróbna fermentácia alebo karbonická macerácia zvýšia kvalitu a zdravotné benefity kávy, preto našimi cieľmi bolo (1) identifikovať hlavné bioaktívne zlúčeniny vo výberových kávových zrnách kolumbijskej a nikaragujskej kávy a (2) určiť účinky typu kávy a praženia na obsah celkových polyfenolov, kofeínu a akrylamidu.

MATERIÁL A METODIKA

V našom experimente boli použité vzorky zrn druhu 100 % *Coffea arabica* z Kolumbie (COL) a Nikaraguy (NIC). Káva z Kolumbie bola z farmy Finca La Cabaña a bola spracovaná anaeróbnou fermentáciou. Kávové zrná boli fermentované v plastových sudoch utesnených jednosmernými ventilmi, aby sa zabránilo vstupu kyslíka, ale aby mohol uniknúť, keď káva fermentuje. Káva sa fermentovala anaeróbnou 200 hodín a potom sa sušili na slnku. Po spracovaní sa káva skladovala 2–3 mesiace, aby sa stabilizovala aktivita vody a vlhkosť. Káva Nikaragua bola z farmy Finca Buena Vista a bola spracovaná suchou metódou. Ide o unikátnu novú odrodu Sarchimor, čo je kávový hybrid. Praženie zelených zrn COL-LIGHT a NIC-LIGHT bolo pri konečnej teplote 210 °C počas 10-tich minút a doba po 1. prasknutí bola 30 sekúnd. Tmavšie praženie COL-DARK a NIC-DARK bolo pri konečnej teplote 215 °C počas 12-tich minút a doba po 1. prasknutí bola 2 minúty a 30 sekúnd. Káva bola pražená v 0,25 kg várkach v plynovej pražiarni Probatone 5 (Probat, Emmerich am Rhein, Nemecko). Vzorky kávy sa rozomleli na jemný prášok s použitím FW 177 Herbal Medicine Disintegrator (Chincan, Tianjin, Čína) pri 24 000 ot/min. a každých 100 mg sa trikrát extrahovalo 80 % MeOH pri 40°C počas 35 minút v ultrazvukovom kúpeli. Časticové extrakty sa spojili a odparili do sucha a potom sa rozpustili v 2 ml vody Milli-Q (okyslenej 0,2 % kyselinou mravčou (FA) a purifikovali extrakciu tuhú fázou (SPE) s použitím 60 mg Oasis HLB 3 cc Vac Cartridge (Waters Corp., Milford, CT, USA). Náplne sa premyli 0,5 % metanolom, aby sa odstránili sacharidy, a potom sa premyli 80 % metanolom, aby sa eluovala polyfenolová frakcia. Polyfenolová frakcia bola znovu odparená do sucha a rozpustená v 1 ml 80 % metanolu (okysleného 0,2 % FA). Vzorka sa potom centrifugovala pri 23 000 × g počas 5 minút a pred spektrometrickou analýzou sa päťkrát zriedila vodou Milli-Q. Všetky analýzy sa uskutočňovali trojmo pre dve nezávislé vzorky a pred analýzou sa uchovávali pri -20° C. Kofeín (CAF) bol v káve stanovený pridaním roztokov Carez I ($K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$) a Carez II ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) a extrahovaný pri vysokej teplote. Vysokovýkonná kvapalinová chromatografia HPLC analýzy sa uskutočňovala na chromatografe AGILENT 1200 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) vybavenom DAD detektorom (212 nm). Vzorky boli chromatograficky separované pomocou kolóny LC 18 (4×125 mm, 5 μ M) (Merck KGaA, Darmstadt, Nemecko) s mobilnou fázou A pozostávajúcou z acetátového tlmivého roztoku a mobilnou fázou B pozostávajúcou z acetonitrilu, s izokratickou elúciou. Vrchol CAF bol detegovaný pri vlnovej dĺžke 212 nm. Akrylamid (AA) bol v káve stanovený pridaním roztokov Carez I a Carez II. Vzorky sa extrahovali pomocou acetonitrilu a hexánu a odparili sa na rotačnej odparke. Obsah AA v pražených vzorkách bol stanovený pomocou chromatografu Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Zlúčeniny boli separované pomocou C18 Waters Acquity UPLC BEH chromatografickej kolóny (2,1 x 100 mm, 1,7 μ M). Mobilnou fázou bol acetonitril a voda. AA bola detegovaná pomocou systému ABSCIEX QTRAP 5500 (Sciex, Framingham, MA, USA). Údaje sa analyzovali pomocou GraphPad Prism 8.3.0 (538) 2019 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA). Výsledky meraní celkové polyfenoly, CAF a AA sa analyzovali pomocou dvojcestnej analýzy rozptylu. Model zahŕňal vplyv typu kávy, praženie a interakciu typ kávy × praženie. Jednotlivé rozdiely sa určili pomocou Tukeyho post-testu s viacnásobným porovnaním a považovali sa za významné pri $p < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Účinky typu kávy a praženia na obsah CGA sú uvedené v tabuľke č. 1. Praženie ovplyvnilo všetky CGA ($p < 0,001$). Typ kávy výrazne ovplyvnil všetky CGA, okrem 3-O-CQA a 3-O-FQA. Typ kávy a praženie interagovali medzi väčšinou CGA ($p < 0,001$).

Tabuľka 1 Vplyv typu kávy a praženia na obsah chlorogenových kyselín (mg/g sušiny)

Káva	Praženie	CQA (<i>cis</i> a <i>trans</i>)			FQA (<i>cis</i> a <i>trans</i>)		
		3-O-CQA	5-O-CQA	4-O-CQA	3-O-FQA	5-O-FQA	4-O-FQA
COL	Zelená	2.4±0.08 ^a	36.3±2.04 ^b	3.9±0.06 ^b	0.2±0.02 ^a	3.9±0.09 ^d	0.0±0.00 ^a
	Svetlé	5.1±0.74 ^b	14.0±1.02 ^a	6.6±0.21 ^c	0.6±0.02 ^b	0.7±0.01 ^a	0.1±0.02 ^b
	Tmavé	2.9±0.41 ^b	10.8±0.86 ^a	5.0±0.09 ^c	0.5±0.02 ^b	1.5±0.02 ^b	0.7±0.02 ^c
NIC	Zelená	2.2±0.60 ^a	24.2±2.11 ^b	2.9±0.08 ^a	0.3±0.01 ^a	2.6±0.04 ^c	0.1±0.01 ^a
	Svetlé	4.4±0.21 ^b	12.3±1.22 ^a	5.9±0.65 ^d	0.5±0.04 ^b	1.5±0.07 ^b	0.7±0.01 ^c
	Tmavé	3.8±0.07 ^b	10.1±1.01 ^a	4.7±0.08 ^c	0.4±0.02 ^b	1.4±0.06 ^a	0.6±0.02 ^d
Typ kávy		0.148	0.001	0.001	0.492	0.001	0.001
Praženie		0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
Typ × Praženie		0.001	0.001	0.053	0.068	0.001	0.001

Obsah chlorogénových kyselín v kávach z Kolumbie a Nikaraguy (COL a NIC) bol rozdielny, pravdepodobne preto, že obsah polyfenolov kávových zrnách sa môže líšiť medzi kávovými odrodami, aj v rámci geografického regiónu a môže ho ovplyvniť aj pozberové spracovanie kávových zrn pred pražením. Klimatické podmienky môžu tiež zvýšiť expozíciu a odolnosť kávy voči škodcom a chorobám, a tak ovplyvniť obsah polyfenolov (Pham et al., 2019). Analýza bioaktívnych zlúčenín vzoriek kávy COL a NIC ukázala prítomnosť fenolových kyselín z troch hlavných skupín CGA: CQA, FQA a diCQA. V našich výsledkoch obsah CGA v zelených kávach súhlasil s publikovanými výsledkami iných autorov, ktorí popisujú obsah CGA 4 – 9,2 % pre *C. arabica* a 7 – 14,4 % pre *C. robusta* (Farah et Donangelo, 2006, Mussatto et al., 2011). Izomér 5-O-CQA je vo všeobecnosti najrozšírenejšou CGA a tvorí prospešné bioaktívne zlúčeniny v zelených a pražených kávach. Obsah izomérov 5-O-CQA a 4-O-CQA v našej štúdii bol najvyšší v oboch zelených kávach, avšak obsah izoméru 5-O-CQA bol oveľa vyšší v zelenej káve COL ako v káve NIC. Je známe, že počas praženia kávy dochádza k veľkým zmenám v chemickom zložení kávových zrn, ktoré ovplyvňujú antioxidačnú kapacitu melanoidínov ako aj obsah CGA v káve (Smrke et al., 2016). Podmienky praženia v našej štúdii znížili obsah izoméru 5-O-CQA o 61 – 70 % pre kávy COL a o 49 – 58 % pre kávy NIC. Tieto výsledky sú v súlade s popísaným poklesom obsahu tohto izoméru aj v praženej káve *C. robusta* (47 – 72 %) (Budryn et al., 2015). Na druhej strane obsah izomérov 3-O-CQA a 4-O-CQA u oboch káv sa po svetlom a tmavšom pražení zvýšil približne dvojnásobne v súlade s predchádzajúcimi publikovanými výsledkami (Budryn et al., 2015).

Praženie aj typ kávy ovplyvnili obsahy celkových polyfenolov ($p < 0,001$, Tabuľka 2). Obsah bol najvyšší v zelenej COL. Praženie ovplyvnilo obsah CAF ($p < 0,011$), ale obsah sa medzi typmi kávy nelíšil. Obsah akrylamidu bol ovplyvnený pražením ($p < 0,001$) a bol nižší v tmavej COL a NIC ako svetlejšie praženej ($p < 0,01$).

Tabuľka 2 Vplyv typu kávy a praženia na obsah polyfenolov, kofeínu a akrylamidu.

Káva	Praženie	TPC (mg.g ⁻¹ sušiny)	Kofeín (mg.g ⁻¹)	Akrylamid (µg.kg ⁻¹)
COL	Zelená	59.8 ± 8.94 ^b	11.104 ± 777	Nd
	Svetlé	35.5 ± 3.64 ^a	12.660 ± 886	457 ± 82.3 ^b
	Tmavé	30.1 ± 4.56 ^a	12.329 ± 863	192 ± 34.6 ^a
NIC	Zelená	41.9 ± 6.44 ^a	11.127 ± 779	Nd
	Svetlé	32.8 ± 4.15 ^a	12.822 ± 898	413 ± 74.3 ^b
	Tmavé	30.0 ± 2.56 ^a	12.868 ± 901	277 ± 49.9 ^a
Typ kávy		0.002	0.559	0.590
Praženie		0.001	0.011	0.001
Typ × Praženie		0.054	0.865	0.115

Obsah kofeínu bol podobný v COL aj NIC kávach, ale zvyšoval sa s časom praženia. Svetlo pražené kávy obsahujú viac kofeínu, ktorý sa znižuje s intenzívnejším pražením v dôsledku uvoľňovania kofeínu z bunkových stien pražených zŕn a/alebo ak zrná strácajú hmotnosť v dôsledku degradácie iných organických látok (Hecimovic et al., 2011, Budryn et al., 2015). Podobne sa obsah kofeínu podstatne mení v závislosti od pôvodu kávy a spôsobu praženia a prípravy nápoja. Obsah kofeínu v zelených zrnách *C. arabica* sa pohybuje od 0,8 do 1,4 % (Farah et Donangelo, 2006) a môže sa výrazne líšiť aj v pražených zrnách rôznych kultivarov (Kitzberger et al., 2014).

Obsah akrylamidu bol 192 a 277 µg.kg⁻¹ v zrnách COL a NIC tmavo praženej a 457 a 413 µg.kg⁻¹ v zrnách COL a NIC svetlo praženej. Obsahy akrylamidu podľa autorov Endeshaw et Belay (2020), sú vo všeobecnosti nižšie ako v priemyselne spracovaných instantných kávach (346 ± 19 až 701 ± 38 µg.kg⁻¹ a 442 ± 14 až 906 ± 7 µg.kg⁻¹). Obsah akrylamidu svetlo pražených káv COL a NIC bol o niečo vyšší ako normy EÚ, ale tmavšie pražené zrná mali nižší obsah akrylamidu, pravdepodobne v dôsledku „doby vývoja“ počas praženia, keď obsah akrylamidu vyvrcholí po prvom prasknutí a potom začne klesať. Minimalizácia tvorby akrylamidu počas spracovania kávy je veľmi žiaduca, preto by sa malo zväziť viac aspektov, ako je teplota praženia, čas praženia, typ praženia, rýchlosť vzduchu pri pražení, vlhkosť a degradácia polyfenolov. Zrná *C. robusta* pražené za optimálnych podmienok (napr. 203°C, suchý vzduch, nízka rýchlosť vzduchu) majú relatívne nízky obsah akrylamidu (31,9–85,8 µg.kg⁻¹) a miernu úroveň degradácie polyfenolov (Budryn et al., 2015). Rôzne typy pražiacich prístrojov (napr. bubnové, fluidné alebo tradičné) produkujú rôzne úrovne akrylamidu, ale bubnové pražiacie prístroje dosahujú najlepšie výsledky pri strednom stupni praženia (175°C). Pri hodnotení kvality šálky kávy však treba brať do úvahy aj druh kávy a pôvod pražených kávových zŕn (Samoggia et Riedel, 2019, Bolka et Emire, 2020).

ZÁVER

Celkový obsah polyfenolov bol vyšší v Kolumbijskej zelenej káve ako v zelenej káve z Nikaraguy. Tmavšie praženia oboch druhov káv malo nižší obsah akrylamidu a podobný obsah kofeínu a celkových polyfenolov ako svetlé praženia. Naša štúdia dokazuje, že výberové kávy a spôsob ich praženia dokážu zachovať obsah bioaktívnych zlúčenín, ale aj minimalizovať škodlivé kontaminanty, ako akrylamid, čo môže byť prospešné pre zdravie spotrebiteľov.

LITERATÚRA

Bolka, M., Emire, S. 2020. Effects of coffee roasting technologies on cup quality and bioactive compounds of specialty coffee beans. In *Food Science & Nutrition*, vol. 8, pp. 6120–6130. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1904>

- Budryn, G., Nebesny, E., Oracz, J. 2015. Correlation between the stability of chlorogenic acids, antioxidant activity and acrylamide content in coffee beans roasted in different conditions. In *International Journal of Food Properties*, vol. 18, pp. 290–302 <https://doi.org/10.1080/10942912.2013.805769>
- Endeshaw, H., Belay, A. 2020. Optimization of the roasting conditions to lower acrylamide content and improve the nutrient composition and antioxidant properties of *Coffea arabica*. In *PLoS ONE*, vol. 15, e0237265. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237265>
- Farah, A., Donangelo, C. M. 2006. Phenolic compounds in coffee. In *Brazilian Journal of Plant Physiology*, vol. 18, pp. 23–36. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202006000100003>
- Hecimovic, I., Belscak-Cvitanovic, A., Horzic, D., Komes, D. 2011. Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. In *Food Chemistry*, vol. 129, pp. 991–1000. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.059>
- Jeszka-Skowron, M., Stanis, E., De Peña, M. P. 2016. Relationship between antioxidant capacity, chlorogenic acids and elemental composition of green coffee. In *LWT*, vol. 73, pp. 243–250, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.018>.
- Junior, D. B., Guarçoni, R. C., Silva, M. C. S., Veloso, T. G. R., Kasuya, M.C.M., Oliveira, E. C. S. 2020. Microbial fermentation affects sensorial, chemical, and microbial profile of coffee under carbonic maceration. In *Food Chemistry*, vol. 342, Article 128296. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128296>
- Kitzberger, C., Scholz, M., Benassi, M. 2014. Bioactive compounds content in roasted coffee from traditional and modern *Coffea arabica* cultivars grown under the same edapho-climatic conditions. In *Food Research International*, vol. 61, p. 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.04.031>
- Lingle, T. R., Menon, S. N. 2017. Chapter 8—Cupping and Grading—Discovering Character and Quality. In *The Craft and Science of Coffee*; Folmer, B., Ed.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, pp. 181–203. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803520-7.00008-6>
- Mussatto, S. I., Machado, E. M. S., Martins, S. Teixeira, J. A. 2011. Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. In *Food and Bioprocess Technology*, vol. 4, p. 661–672. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0565-z>
- Pham, Y., Reardon-Smith, K., Mushtaq, S., Cockfield, G. 2019. The impact of climate change and variability on coffee production: A systematic review. In *Climatic Change*, vol. 156, pp. 609–630. <https://doi.org/10.1007/s10584-019-02538-y>
- Poltronieri, P., Rossi, F. 2016. Challenges in specialty coffee processing and quality assurance. In *Challenges* vol. 7, 19. <https://doi.org/10.3390/challe7020019>
- Samoggia, A., Riedel, B. 2019. Consumers' perceptions of coffee health benefits and motives for coffee consumption and purchasing. In *Nutrients*, vol. 11, 653. <https://doi.org/10.3390/nu11030653>
- Smrke, S., Opitz, S. E., Vovk, I., Yeretzyan, C. 2013. How does roasting affect the antioxidants of a coffee brew? Exploring the antioxidant capacity of coffee via on-line antioxidant assays coupled with size exclusion chromatography. In *Food & Function*, vol. 4, 1082–1092. <https://doi.org/10.1039/C3FO30377B>
- Tajik, N., Tajik, M., Mack, I., Enck, P. 2017. The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: A comprehensive review of the literature. In *European Journal of Nutrition*, vol. 56, pp. 2215–2244. <https://doi.org/10.1007/s00394-017-1379-1>
- Vegro, C. L. R., de Almeida, L. F. 2020. Global coffee market: Socio-economic and cultural dynamics. In *Consumer Sci & Strat Market, Coffee Consumption and Industry Strategies in Brazil*; de Almeida, L. F., Spers, E. E., Eds.; Woodhead Publishing: Cambridge, UK, pp. 3–19. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814721-4.00001-9>
- Zarebska, M., Stanek, N., Barabosz, K., Jaskiewicz, A., Kulesza, R., Matejuk, R., Andrzejewski, D., Biłos, Ł., Porada, A. 2022. Comparison of chemical compounds and their influence on the taste of coffee depending on green beans storage conditions. In *Scientific Report*, vol. 12, 2674. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06676-9>
- Zhang, F. De Bruyn, V. Pothakos, G. F. Contreras, Z. Cai, C. Moccand. 2019. Influence of various processing parameters on the microbial community dynamics, metabolomics profiles, and cup quality during wet coffee processing. In *Frontiers in Microbiology*, vol. 10, p. 2621. <https://doi.org/10.1128/AEM.02635-18>

Pod'akovanie: Táto práca bola podporená vedeckou grantovou agentúrou Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu SR a Slovenskej akadémie vied (VEGA č. 1/0073/22).

Kontaktná adresa: Várady Matúš, Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika. E-mail: matus.varady@uvlf.sk

ZHODNOTENIE SANITAČNÝCH OPATRENÍ V PEKÁRENSKOM PODNIKU EVALUATION OF SANITATION MEASURES IN A BAKERY

Mária Vargová, František Zigo, Jana Výrostková, Zuzana Farkašová

Abstract: This study was focused on investigation of effectiveness of disinfection, using microbiological swabs from different surfaces in the production hall of the bakery operation, from the bread making section and the pastry section, before the production and after disinfection. Disinfectant Savo Original in 3 % concentration during exposure time 30 minutes was used. Savo Original was effective on evaluated surfaces – door, floor, wall, where was detected 0 CFU.10⁻¹ cm² after disinfection. In the bread making section, on the surface of table were recorded < 1 x 10¹ KTJ.10⁻¹ cm² of TCB after disinfection. Based on the results, disinfectant was effective on monitored surfaces for elimination of the monitored microorganisms. In the acquisition and production of health and hygienically safe food, the main prerequisite is the application of hygiene principles and thorough sanitation in operation, associated with cleaning and disinfection. In the case of non-respect and violation of this assumption, primary or secondary contamination of food may occur and consequently endanger the health of the consumer.

Keywords: sanitation, disinfection, Savo Original, bakery

ÚVOD

Určujúcim faktorom výroby hygienicky bezchybných výrobkov je dodržiavanie hygieny a čistoty povrchov; výrobných zariadení a priestorov; personálnej hygieny; hygieny odevov a nástrojov (Laciaková, 2004). Za účelom minimalizácie hygienického rizika musia byť v potravinárskych prevádzkach realizované opatrenia, ktoré zabráňujú šíreniu nežiaducich mikroorganizmov, čím predchádzajú sekundárnej kontaminácii v priebehu výroby, skladovania a expedície finálnych výrobkov (Steinhauser, 1995).

Dezinfekcia je súčasťou sanitácie, predstavuje súbor opatrení cielených na odstránenie technologicky a hygienicky nežiaducich mikroorganizmov a sanitácia je komplex činností zabezpečujúcich hygienickú a protiepidemiologickú starostlivosť o potraviny ako aj hygienu pri ich spracovaní. Totálna eliminácia mikroorganizmov zo surovín a z prostredia spracovania surovín je problematická (Tompkin, 2002) z dôvodu, že mnohé patogény sa dokážu prichytiť na povrch (Fonnesbech-Vogel et al., 2001; Jessen a Lammert, 2003; Deza et al., 2005), kde zostávajú životaschopné aj po mechanickej očiste a dezinfekcii (Frank a Koffi, 1990). Správne vykonaná dezinfekcia predchádza vzniku a šíreniu infekčných ochorení (Melicherčíková, 2007). Pomocou klasickej mikrobiologickej sterovej metódy možno stanoviť druh a počet patogénnych, prípadne podmienne patogénnych mikroorganizmov na vyšetrovaných povrchoch (Štefkovičová, 2005). Účinnosť dezinfekčného prostriedku je ovplyvňovaná faktormi ako odolnosť mikroorganizmu voči dezinfekčnému prostriedku; spôsob aplikácie, koncentrácia a expozičná doba pôsobenia biocídu, ako aj podmienky prostredia, kde je vykonávaná dezinfekcia (Vargová et al., 2020).

Cieľom tejto štúdie bolo zhodnotiť prostredníctvom mikrobiologických sterov účinnosť dezinfekčného prostriedku Savo Original použitého v 3 % koncentrácii, počas expozičnej doby 30 minút, a na základe získaných výsledkov zhodnotiť úroveň hygieny v pekárskom podniku.

MATERIÁL A METODIKA

Mikrobiologické stery (n = 60) boli odoberané v pekárenskom podniku, z povrchov a zo zariadení na úseku výroby chleba a výroby pečiva pred výrobou a po dezinfekcii. Vyšetrovanými povrchmi boli pracovný stôl (Obr. 1), dvere, podlaha a stena; stery zo zariadení boli odoberané z povrchu zásobníka a posuvného pásu (Obr. 1).

Odber mikrobiologických sterov bol vykonávaný pred výrobou a po dezinfekcii pomocou sterilných tampónov z plochy 10 cm² prenesených do 10 ml sterilného fyziologického roztoku. Následne bola suspenzia naočkovaná na živné agary v množstve 0,1 ml. Platne boli inkubované v termostate, po inkubácii boli vyhodnotené narastené kolónie. Na stanovenie celkového počtu mikroorganizmov (CPM) bol použitý mäsopeptónový agar (MPA) počas 24 hodinovej kultivácie pri teplote 37±1 °C. Endo agar (EA) bol použitý na stanovenie počtu koliformných baktérií (KB) počas 24 hodinovej kultivácie pri teplote 37±1 °C. Na stanovenie počtu mikroskopických húb (MH) bol použitý Sabouraudov agar (SA) počas 3 – 5 dňovej inkubácie pri izbovej teplote. Postupy boli použité podľa platných ISO noriem. Zistené druhy mikroorganizmov sú vyjadrené v počtoch KTJ (kolónie tvoriace jednotky).

Na dezinfekciu monitorovaných plôch a zariadení bol použitý dezinfekčný prostriedok Savo Original v 3 % koncentrácii, v tekutej forme, aplikovaný postrekom, bez zahrievania s dobou pôsobenia 30 minút. Savo Original predstavuje čistiaci a dezinfekčný prostriedok, ktorý obsahuje účinnú látku chlórnan sodný $\geq 1 < 5 \%$; hydroxid sodný $\geq 0,5 < 2 \%$ a $< 5 \%$ aniónovú povrchovo aktívnu látku. Dezinfekčný prostriedok je účinný proti širokospektrálnym vegetatívnym baktériám, ako aj proti plesniam, *Mycobacterium*, *Poliovirus*, *Adenoviruses*, ale aj proti *Bacillus subtilis*.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Čapla et al., (2009) popisujú, že mikroorganizmy nachádzajúce sa v prostredí na jednotlivých povrchoch ako aj na povrchoch výrobných zariadení tvoria súčasť mikrobiálnej kontaminácie hotového výrobku. Príčinou ich výskytu môže byť nedostatočná mechanická očista a dezinfekcia, tvorba biofilmu a perzistencia mikroorganizmov v prostredí. Biofilm predstavuje ochrannú vrstvu mikroorganizmov odolnú voči sanitačným a dezinfekčným prostriedkom (Vargová et al., 2022). Hlavnými zdrojmi prvej kontaminácie suroviny je nevhodná hygiena prostredia, výrobného procesu, nástrojov a zariadení; nedostatočná osobná hygiena zamestnancov; sekundárna kontaminácia a nevyhovujúce podmienky skladovania (Hennekinne et al., 2012).

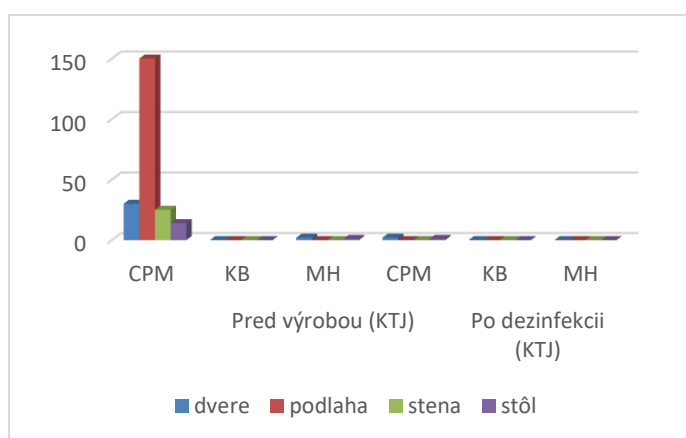
Predkladaná štúdia sa zaoberala zhodnotením hygieny prostredia pekárne na základe mikrobiologických sterov z jednotlivých povrchov. Predmetom záujmu bola detekcia prítomnosti CPM, KB, MH pred výrobou a po dezinfekcii. V rámci štúdie bolo celkovo analyzovaných 60 sterov (z každej vyšetrovanej plochy bolo zobraťých 10 sterov – 5 sterov pred výrobou, 5 sterov po dezinfekcii). Priemerné počty mikroorganizmov zo sterov zo sledovaných povrchov sú zaznamenané v grafe 1, 2.



Obrázok 1 Pracovný stôl a posuvný pás – sekcia výroby chleba a sladkého pečiva

Na základe výsledkov grafu 1, možno konštatovať, že počty $\text{KTJ} \cdot 10^{-1} \text{ cm}^2$ po vykonanej dezinfekcii na sledovaných povrchoch, vyhovujú hygienickým požiadavkám a získané výsledky poukazujú na dostatočnú účinnosť použitého prípravku. Dezinfekčný prostriedok Savo Original bol účinný na podlahe, dverách a stene, kde stav po dezinfekcii bol $0 \text{ KTJ} \cdot 10^{-1} \text{ cm}^2 \text{ CPM}$. Na pracovnom stole bolo po dezinfekcii detegované $< 1 \times 10^1 \text{ KTJ} \cdot 10^{-1} \text{ cm}^2 \text{ CPM}$. Nedostatočne vyčistený pracovný stôl poukazuje na možné nebezpečenstvo krížovej kontaminácie. Ak čistenie a dezinfekcia nie sú dostatočne účinné, je potrebné venovať pozornosť vhodnosti použitého prostriedku, ale aj postupu pri vykonávaní tejto činnosti (Golian, 2003). Dobré hygienické riešenie prevádzky a zariadení pekárne zabraňuje kontaminácii produktu a zjednodušuje čistenie zariadení.

Graf 1 Dezinfekčný účinok prípravku Savo Original na sledovaných povrchoch pred výrobou a po dezinfekcii

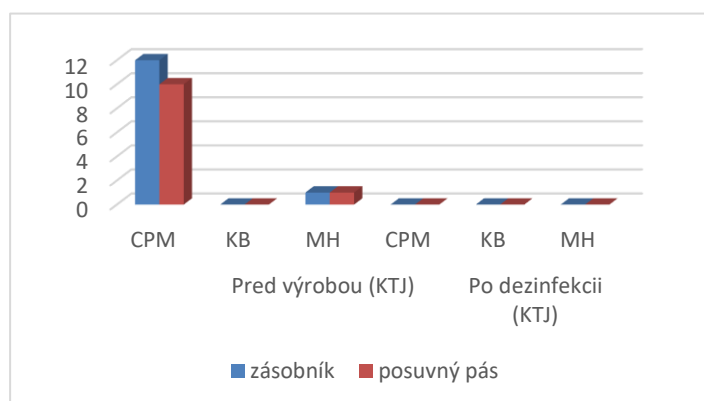


KTJ – kolónie tvoriace jednotky, CPM – celkové počty mikroorganizmov, KB – koliformné baktérie, MH – mikroskopické huby

Pri hodnotení účinnosti použitého dezinfekčného prostriedku na povrchoch zariadení sme zaznamenali pokles pôvodnej kontaminácie povrchu zásobníka ($1,2 \times 10^1 \text{ KTJ} \cdot 10^{-1} \text{ cm}^2 \text{ CPM}$) a povrchu posuvného pásu ($1,0 \times 10^1 \text{ KTJ} \cdot 10^{-1} \text{ cm}^2 \text{ CPM}$) na hodnotu $0 \text{ KTJ} \cdot 10^{-1} \text{ cm}^2$ (graf

2), čo poukazuje na dostatočnú účinnosť prípravku Savo Original.

Graf 2 Dezinfekčný účinok prípravku Savo Original na povrchoch zariadení pred výrobou a po dezinfekcii



KTJ – kolónie tvoriace jednotky, CPM – celkové počty mikroorganizmov, KB – koliformné baktérie, MH – mikroskopické huby

Hygienický dizajn technologických zariadení významným spôsobom prispieva k zníženiu rizík kontaminácie potravín pri výrobe, nakoľko u týchto zariadení je mechanická očista veľmi náročná

(Wirtanen, Salo, 2009). Mikroorganizmy nachádzajúce sa na povrchoch zariadení môžu preniknúť do suroviny, preto včasná identifikácia potenciálnych zdrojov kontaminácie zabezpečuje efektívnu sanitáciu prostredia, čím minimalizuje riziko kontaminácie suroviny, resp. finálneho produktu.

ZÁVER

Sanitácia v potravinárskom priemysle má výrazný vplyv na kvalitu potravinárskych výrobkov ako aj na ich trvanlivosť. Mikroorganizmy nachádzajúce sa vo výrobných priestoroch, na jednotlivých povrchoch tvoria súčasť mikrobiálnej kontaminácie hotového výrobku. Na základe analyzovaných výsledkov môžeme konštatovať, že dezinfekčný prostriedok Savo Original, použitý v 3 % koncentrácii, bol účinný na monitorovaných povrchoch, kde došlo k požadovanému poklesu počtu sledovaných mikroorganizmov po dezinfekcii.

LITERATÚRA

- Čapla, J., Zajac, P., Golian, J., Vietoris, V. 2009. Tvorba biofilmov na povrchoch z nerezovej ocele v potravinárskom priemysle. In *Potravinárstvo*, vol. 3, 1, ISSN 1337-0960.
- Deza, M. A., Araujo, M., Garrido, M. J. 2005. Inactivation of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* on stainless steel and glass surfaces by neutral electrolysed water Lett. In *Journal of Applied Microbiology*, vol. 40, p. 341-346.
- Fonnesbech-Vogel, B., Jørgensen, L. V., Ojeniyi, B., Huss, H. H., Gram, L. 2001. Diversity of *Listeria monocytogenes* isolates from cold-smoked salmon produced in different smokehouses as assessed by random amplified polymorphic DNA analyses. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 65, p. 83-92.
- Frank, J. F., Koffi, R. A. 1990. Surface-adherent growth of *Listeria monocytogenes* is associated with increased resistance to surface sanitizers and heat. In *Journal of Food Protection*, vol. 53, p. 550-554.
- Golian J. Sanitácia v poravinarstve. SPU Nitra, Nitra, 2003.
- Hennekinne, J. A., Buysier, M. L., Dragacci, S. 2012. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterisation and outbreak investigation. In *FEMS Microbiology Reviews*, p. 819-836.
- ISO Standard 18593-2004: Microbiology of food and animal feeding stuffs: Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates.
- ISO Standard 21527-2008: Microbiology of food and animal feeding stuffs: Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds.
- ISO Standard 4832-2006: Microbiology of food and animal feeding stuffs: Horizontal method or the enumeration of coliforms.
- Jessen, B., Lammert, L. 2003. Biofilm and disinfection in meat processing plants. In *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 51, p. 265-269.
- Laciaková, A. 2004. Čistenie a dezinfekcia v potravinárskych prevádzkach. In: *Slovenský veterinársky časopis*, vol. 29, 4, p. 17-18.
- Melicherčíková, V. 2007. Sterilizace a dezinfekce ve zdravotnictví. Praha, Grada Publishing, p. 45-70. ISBN 80-7169-442-8.
- Steinhauser, L. a kol.: Hygiena a technológia mäsa, Brno: Spektrum, 1995, 109- 120, ISBN 80- 900260- 4- 4.
- Štefkovičová, M. a kol. *Dezinfekcia a sterilizácia, teória a prax II*, Žilina, 2007. s. 88-90, ISBN 978-80-968243-3-0.
- Tompkin, R. B. 2002. Control of *Listeria monocytogenes* in the food processing environment. In *Journal of Food Protection*, vol. 65, p. 709-725.
- Vargová, M., Veszelits Laktičová, K., Hromada, R., Cimboláková, I., Uher, I., Papajová, I. 2020. Sanitation and the environment. In *Intechopen*. pp. 190. ISBN 978-1-78985-528-9.
- Vargová, M., Veszelits Laktičová, K., Sasáková, N., Gregová, G., Hromada, R., Szabóová, T. 2022. *Hygiena zdravotníckych a farmaceutických zariadení*. Košice, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach. pp. 193. ISBN 978-80-8077-754-8.
- Wirtanen G, Salo S. 2009. Risk management by hygienic design and efficient sanitation programs 3rd seminar arranged by safoodnet – Food safety and hygiene networking within new member states and associated candidate countries; FP6-022808-2006 Tallinn, Estonia, May 4. – 6. 2009; ISBN 978-951-38-7587-9.

Pod'akovanie: Práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-22-0457 a projektom VEGA č. 1/0162/23.

Kontaktná adresa: Mária Vargová MVDr. PhD., Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, Košice, 041 81, Košice, email: maria.vargova@uvlf.sk

Výživa a bezpečnost' potravin

**LARVY MUCHY ČIERNEJ (*HERMETIA ILLUCENS*) A ICH
SCHOPNOSŤ SPRACOVAŤ SUBSTRÁTY KONTAMINOVANÉ
NEBEZPEČNÝMI LÁTKAMI**
**BLACK SOLDIER FLY LARVAE (*HERMETIA ILLUCENS*) AND THEIR
ABILITY TO PROCESS SUBSTRATES CONTAMINATED
WITH HAZARDOUS SUBSTANCES**

Zuzana Barboráková, Dana Tančinová, Monika Mrvová, Zuzana Mašková

Abstract: The aim of the contribution is to summarize information on the ability of black soldier fly larvae (BSFL, *Hermetia illucens*) to process substrates containing hazardous substances such as pesticides, heavy metals, and mycotoxins. BSFL represent an exceptional biological resource with various potential applications. These larvae have a high protein and fat content, making them an attractive source of nutritional elements. They can process various organic materials, including food and agricultural waste. Their nutritional value and rapid growth capabilities enable the efficient conversion of organic waste into valuable feed. Current research is focused on optimizing breeding conditions to maximize the nutritional value of larvae and minimize environmental impacts. BSFL demonstrate the ability to effectively process substrates contaminated with pesticides, risk heavy metals, and mycotoxins. Importantly, these contaminants in the feed do not impact the viability of the larvae, as evidenced by multiple studies. BSFL have significant potential in the biological cleansing and processing of contaminated substrates containing pesticides, risk heavy metals, and mycotoxins. However, further in-depth research is needed to address this issue comprehensively.

Keywords: larvae, black soldier fly, mycotoxins, pesticides, risk heavy metals

PREHĽAD LITERATÚRY

Dopyt po bielkovinách a tukoch stále stúpa a nedokáže byť pokrytý ani intenzívnym využívaním dostupnej poľnohospodárskej pôdy. Práve rastúci dopyt po bielkovinách a tukoch vedie k ničeniu hodnotných ekosystémov po celom svete, napr. k odlesňovaniu tropických lesov kvôli produkcii palmového oleja a pod. (Müller et al., 2017). Je preto potrebné hľadať alternatívy v produkcii bielkovín a tukov.

Využitie hmyzu ako zdroja bielkovín a tukov sa stáva predmetom záujmu. Tieto živočíchy môžu byť kŕmené organickým odpadom z rôznych zdrojov. Hmyz je veľmi efektívnym konvertorom krmiva (Van Huis, 2013), produkuje menej skleníkových plynov škodlivých pre klímu v porovnaní s ošípanými a dobytkom, potrebuje menej vody a riziko zoonóz je malé (Oonincx et al., 2010). Vysokokvalitné bielkoviny hmyzu sa môžu extrahovať a používať aj ako potenciálna zložka potravín. Okrem toho môžu hmyzie bielkoviny zohrávať dôležitú úlohu pri nahradení bežne používaných sójových a rybích múčok vo výžive zvierat. Rovnako aj tuky z hmyzu môžu nahradiť palmový olej a tak prispieť k ochrane tropických lesov (Müller et al., 2017).

Niektoré druhy hmyzu majú dlhú históriu ich využívania ako potraviny pre ľudí v rôznych krajinách sveta (Müller et al., 2017). Podľa FAO sa na svete ako potravinu používa viac než 1 900 druhov hmyzu. Súčasná európska legislatíva o nových potravinách - Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EU) 2015/2283 obsahuje pravidlá pre schvaľovanie nových potravín a ich uvádzanie na trh, a poskytuje ustanovenia, ktoré by mali byť zohľadnené pri žiadostiach o povolenie nových potravín na európskom trhu. Podľa tohto nariadenia sú nové potraviny definované ako potraviny, ktoré pred 15. májom 1997 na európskom trhu neboli primerane konzumované významným množstvom ľudí v EÚ, a to buď vôbec alebo v danom

formáte. Hmyz a jeho produkty sú považované za nové potraviny a podliehajú procesu schvaľovania podľa tohto nariadenia (Liguori et al., 2022). V roku 2021 členské štáty EÚ schválili návrh Európskej komisie, ktorý umožňuje použitie žltých múčnych červov (larvy múčiara obyčajného, *Tenebrio molitor*) ako bezpečného druhu novej potraviny. Podobne ako v prípade múčnych červov, obdržala EFSA viaceré žiadosti o povolenie aj iných druhov hmyzu podľa nariadenia o nových potravinách, nap. druhov *Alphitobius diaperinus larvae* (larvy poterníka stajňového), *Grylloides sigillatus* (svrček krátkokrídly), *Acheta domesticus* (svrček domový), *Locusta migratoria* (kobyľka sťahovavá) a tiež *Hermetia illucens larvae* (larvy muchy čiernej). EFSA vykonáva pre každú z týchto žiadostí hodnotenie bezpečnosti. Hneď ako úrad EFSA vydá kladné stanovisko, pristúpi Európska komisia k povoľovaciemu procesu (URL1).

Mucha čierna (bránivka) *Hermetia illucens* (rad Diptera, čeľaď *Stratiomyidae*), známa ako „black soldier fly“ (BSF), je hmyz s mnohými pozitívnymi vlastnosťami a perspektívnym využitím. Pochádza z tropických a teplejších miernych pásiem Ameriky, ale je rozšírená v mnohých regiónoch sveta (Makkar et al., 2014). Druh je endemický v tropických a subtropických oblastiach a vyskytuje sa aj v južnej Európe a časti Balkánskeho polostrova (Müller et al., 2017). Tento hmyz je jedným z mála bezstavovcov schopných vyvíjať sa po celý rok v uzavretom priestore v umelých podmienkach, čo umožňuje jeho využitie pre biotechnologické účely (Siddiqui et al., 2022a). Muchy dosahujú dĺžku až 20 mm, pre kladenie vajíčok obľubujú teploty okolo 28 °C a dajú sa ľahko chovať na takmer všetkom hniúcom organickom materiáli. Larvy muchy čiernej (BSFL) obsahujú približne 42 % bielkovín a 29 % tuku a obsahujú vyšší podiel nasýtených mastných kyselín v porovnaní s väčšinou iných druhov hmyzu (Wang et Shelomi, 2017). Larvy sú schopné konzumovať i živočíšny trus a približne 50 % tohoto chudobného substrátu sa premení na hodnotnú hmotu lariev (Sheppard et al., 1994). Larvy tejto muchy sú schopné konvertovať potravinový odpad na cennú biomasu, teda majú veľký potenciál pri riešení celosvetových problémov s veľkým množstvom organického odpadu. Ide o cenovo dostupný a environmentálne prospešný spôsob (Siddiqui et al., 2022b). Tento hmyz je schopný stráviť množstvo organických substrátov, vrátane potravinového odpadu s heterogénnym zložením (rastlinný, živočíšny), splaškového kalu a hnoja (Siddiqui et al., 2023). Pri spracovaní odpadu prostredníctvom BSFL sa produkuje menej skleníkových plynov ako pri kompostovaní (Mertenat et al., 2019). Uvedení autori uvádzajú, že emisie skleníkových plynov sú až 47-násobne nižšie v porovnaní s kompostovaním. Okrem toho, je tento hmyz schopný produkovať bakteriostatické, baktericídne a fungicídne zlúčeniny, ktorými ovplyvňuje kontaminujúce mikroorganizmy. Lalander et al. (2013) preukázali, že BSFL zohrali významnú úlohu pri redukcii baktérií rodu *Salmonella* vo výkaloch. BSFL sú zároveň extrémne odolné voči rôznym podmienkam prostredia (Choi et al., 2012). Kŕmna aktivita BSF je obmedzená na larválnu fázu, dospelá mucha neprijíma žiadnu potravu, iba vodu. Imága žijú z tukových zásob, ktoré si vytvorili počas larválneho štádia. Vysoký počet vajíčok (500 až 1 000), krátky životný cyklus a jednoduché podmienky chovu, urobili larvy populárnymi medzi akvaristami a majiteľmi terárií, ktorí ich využívajú ako vynikajúce krmivo pre plazy alebo ryby (Müller et al., 2017). Existuje tiež niekoľko štúdií o využívaní BSFL na výrobu biopaliva (Kim et al., 2021).

Zatiaľ čo výživové vlastnosti jedlého hmyzu sú zdokumentované vo viacerých štúdiách, ich bezpečnosť nie je zatiaľ dostatočne preskúmaná (EFSA, 2015). Konzumácia hmyzu môže predstavovať mikrobiálnu, parazitickú a chemickú hrozbu, pretože hmyz je spájaný s rôznymi mikroorganizmami (baktérie, huby a vírusy), alebo môže obsahovať toxické a iné látky (Belluco et al., 2013). BSFL sú chované predovšetkým na organických odpadoch a ďalších nevyužívaných doplnkových substrátoch. Avšak, BSFL môžu hromadiť nežiaduce látky v ich

tele (Proc et al., 2021). Kontaminácia nežiaducimi látkami, napríklad rizikovými ťažkými kovmi, mykotoxínmi a pesticídmi pri BSF sa väčšinou vyskytuje počas kŕmenia v larválnej fáze. Hromadenie kontaminantov v tele BSFL sa výrazne líši v závislosti od krmiva, ako aj od typov a koncentrácií kontaminantov (Siddiqui et al., 2023), a od doby expozície (Van Der Fels-Klerx et al., 2018). Preto môže byť používanie BSFL ako krmiva a potenciálnej potravy zložitejšie a môže mať škodlivý dopad na životné prostredie (Siddiqui et al., 2022a).

Rizikové ťažké kovy

Likvidácia priemyselného odpadu a intenzifikácia poľnohospodárskej činnosti prispievajú k nárastu ťažkých kovov v pôde (Yang et al., 2018). Ťažké kovy sú prvky v periodickom systéme, ktoré majú väčšiu hustotu ako 5 g.cm^{-3} . Mnohé z nich vykazujú toxické vlastnosti pre živé organizmy a môžu mať negatívny vplyv na životné prostredie a ľudské zdravie v prípade nadmernej expozície. Rastliny pestované v znečistenej pôde absorbujú ťažké kovy vo veľkom množstve a hromadia ich vo svojich pletivách, čo predstavuje riziko pre bylinožravce a organizmy na vyšších trofických úrovniach (Raskin et al., 1994). Mnoho štúdií sa zameriava na hodnotenie environmentálnych vplyvov ťažkých kovov na rôzne organizmy, vrátane hmyzu. Je všeobecne známe, že hmyz absorbuje kovy, preto sa využíva ako bioindikátor pre environmentálne znečistenie a kontamináciu ťažkými kovmi (Biancarosa et al., 2018).

Štúdie ukázali, že BSFL bioakumulujú určité ťažké kovy z krmiva, pričom rizikové ťažké kovy ako kadmium, meď, olovo a ortuť sú obzvlášť nebezpečné kvôli závažným zdravotným rizikám spojených s možnou konzumáciou tohto hmyzu. Zhang et al. (2021) uvádzajú, že medzi rizikové ťažké kovy, ktoré sa potenciálne môžu nahromadiť v BSFL, patria najmä kadmium, meď a olovo, čo sa potvrdilo v štúdiu Siddiqui et al. (2023). Rovnako aj v štúdiu Biancarosa et al. (2018) larvy akumulovali tieto rizikové ťažké kovy. Vo väčšine prípadov koncentrácia kadmia a olova v BSFL presiahla odporúčané normy pre ťažké kovy v krmivách a potravinách. Na základe výsledkov týkajúcich sa hromadenia nežiaducich látok v tele BSFL, ťažké kovy neovplyvňujú biologické parametre BSFL, pokiaľ množstvo ťažkých kovov v ich krmive výrazne neprekračuje prahové hodnoty. Rovnako aj Diener et al. (2015) uvádzajú, že prídavok kadmia, olova a zinku do krmiva pre BSFL nemal významný vplyv na životný cyklus lariev (hmotnosť, doba vývinu, pomer pohlaví). V štúdiu Wu et al. (2020) sa však preukázal vplyv kadmia a medi na zloženie črevného mikrobiómu BSFL. Wu et al. (2020) uvádzajú, že neexistuje signifikantný rozdiel v telesnej hmotnosti medzi BSFL chovanými krmivom kontaminovaným kadmium v množstvách 10 až 80 mg.kg^{-1} a kontrolou. Podobne nebol ovplyvnený ani hmotnostný prírastok, keď boli BSFL kŕmené krmivom kontaminovaným meďou v množstve 200 až 800 mg.kg^{-1} . Kŕmenie BSFL týmito krmivami neovplyvnilo ani ich prežitie (Wu et al., 2020). Diener et al. (2015) uvádzajú, že vysoké dávky kadmia (50 mg.kg^{-1}), olova (125 mg.kg^{-1}) a medi (2 000 mg.kg^{-1}) predlžujú vývoj BSF (eklória od vajíčka po predkuklu).

Pesticídy

Pesticídy sa používajú v poľnohospodárstve na zamedzenie strát úrody plodín, ktoré sú spôsobené hmyzom a na udržiavanie kvality produktov (Lee et al., 2019). Účinok rôznych pesticídov na rast a prežitie BSFL skúmali viacerí autori (Müller, 2018; Purschke et al., 2017; Meijer et al., 2021). Predchádzajúce štúdie preukázali nepriaznivý vplyv, keď je hmyz vystavený pesticídom v subletálnych koncentráciách, čo sa prejavilo pomalším rastom a vývojovou rýchlosťou, nižším prežitím a zníženou plodnosťou nasledujúcich generácií (Müller, 2018). V štúdiu Purschke et al. (2017) BSFL chované na kukuričnej múke zmiešanej s chlorpyrifosom, chlorpyrifos-metylom a pirimifos-metylom (koncentrácia každého pesticídu bola 0,4 mg.kg^{-1}) nevykazovali zníženie rastu a prežitia. Rovnako aj v štúdiu Meijer et al. (2021) kŕmenie BSFL s pridaným chlorpyrifosom, propoxurom a tebufenozidom v koncentráciách

0,05 mg.kg⁻¹ neovplyvňovalo negatívne hmotnosť a prežitie lariev. Podobné výsledky boli pozorované aj v prípade tých istých pesticídov v desaťnásobne vyššej koncentrácii. Naopak, prítomnosť spinosadu v množstve 2 mg.kg⁻¹ a cypermethrinu v množstve 0,3 mg.kg⁻¹ signifikantne znížila hmotnosť lariev a ich prežitie, ale nie pri znížených dávkach 0,2 a 0,1 mg.kg⁻¹. Zaujímavé je, že larvy, ktoré boli kŕmené s pridaným imidaclopridom, mali vyššiu hmotnosť ako larvy v kontrolnej vzorke, a to nielen pri dávke 0,1 mg.kg⁻¹, ale aj pri 1 mg.kg⁻¹ (Meijer et al., 2021). Je teda zrejmé, že BSFL preukázali variabilitu v citlivosti voči druhu a koncentrácii pesticídov. Vystavenie pesticídov v subletálnych koncentráciách môže tiež indukovať hormézu u hmyzu. Horméza je fenomén, pri ktorom subletálne koncentrácie pesticídu pozitívne ovplyvňujú metabolizmus a správanie hmyzu, čo vedie k lepšiemu výkonu a kondícii hmyzu (Müller, 2018).

Mykotoxíny

Sekundárne metabolity produkované rôznymi druhmi húb, ktoré sú toxické pre zvieratá, ľudí, ale i pre rastliny a iné mikroorganizmy, sú definované ako mykotoxíny (Bryden, 2012). Významnými toxinogénnymi hubami sú najmä druhy rodov *Aspergillus*, *Penicillium* a *Fusarium*, ktoré často kontaminujú potraviny i krmivá. Produkujú široké spektrum mykotoxínov, no najnebezpečnejšími sú aflatoxíny, najmä aflatoxín B₁ (produkované *Aspergillus* spp.), ochratoxín A (*Aspergillus* spp., *Penicillium* spp.), deoxynivalenol a zearalenón (*Fusarium* spp.) (Leni et al., 2019). Mykotoxíny sú považované za najrizikovejší kontaminant potravín v rámci potravinovej bezpečnosti. Expozícia a príjem mykotoxínov sú škodlivé pre niektoré druhy hmyzu (de Zutter et al., 2016). De Zutter et al. (2016) uvádzajú, že *Sitobion avenae* a *Helicoverpa zea* mali spomalený vývoj a zvýšenú mortalitu po expozícii mykotoxínmi. Ďalšie štúdie však preukázali, že iné druhy hmyzu, ako napríklad *Drosophila melanogaster* a BSF, si vyvinuli stratégie na kompenzáciu prítomnosti mykotoxínov v krmive metabolizáciou mykotoxínov na neškodné zlúčeniny (Camenzuli et al., 2018). Aj iní autori sledovali vplyv mykotoxínov na BSFL. Siddiqui et al. (2023) a Purschke et al. (2017) uvádzajú, že pri mykotoxínoch nebol zaznamenaný bioakumulačný efekt v BSFL. BSFL majú vysokú toleranciu voči mykotoxínom. Bosch et al. (2017) a Camenzuli et al. (2018) preukázali vysokú toleranciu BSFL voči aflatoxínu B₁ i to, že tento mykotoxín neakumulujú. Podľa Bosch et al. (2017) a Meijer et al. (2019) krmivo pre BSFL obohatené o aflatoxín B₁ v množstvách 0,01 až 0,5 mg.kg⁻¹ neovplyvnilo hmotnosť a prežitie BSFL. Podobne súčasný príjem aflatoxínu B₂ a aflatoxínu G₂ neovplyvnil rast a prežitie BSFL (Purschke et al., 2017). Camenzuli et al. (2018) uvádzajú, že ani pridanie deoxynivalenolu, zearalenónu a ochratoxínu A do krmiva pre BSFL v koncentrácii 0,1; 0,5 a 5 mg.kg⁻¹, neovplyvnilo rast, prežitie a vývoj BSFL. Avšak na úplné pochopenie bezpečných limitov mykotoxínov v krmive pre hmyz, a tým aj bezpečnosti hmyzu, je potrebný ďalší analytický a toxikologický výskum (Camenzuli et al., 2018).

ZÁVER

V závere môžeme konštatovať, že využitie lariev muchy čiernej (BSFL) ako zdroja krmiva pre zvieratá a potenciálnej potraviny pre ľudí je perspektívne, no vyžaduje dôkladnú pozornosť kvôli rôznym faktorom, ktoré ovplyvňujú bezpečnosť a kvalitu výsledných produktov. BSFL môžu efektívne konvertovať organické substráty, vrátane potenciálne nebezpečných látok, na hodnotné krmivo s vysokým obsahom bielkovín. Vzhľadom na skutočnosť, že substráty môžu obsahovať nebezpečné látky, ako sú rizikové ťažké kovy, mykotoxíny a pesticídy, je dôležité monitorovať ich koncentráciu v substrátoch i v konečných produktoch. Štúdie ukázali, že BSFL majú schopnosť akumulovať niektoré rizikové ťažké kovy, hoci pri pesticídoch a mykotoxínoch akumulácia nebola preukázaná. Využívanie BSFL môže prispieť k riešeniu problémov s potravinovým odpadom a zároveň ponúka nízko nákladový a udržateľný spôsob produkcie krmiva a potravín. Avšak, aby sa zabezpečila

bezpečnosť a kvalita výsledných produktov, je nevyhnutné presné monitorovanie zloženia substrátov a primeraná regulácia postupov chovu lariev a ich následného spracovania. Celkovo je výskum v tejto oblasti nevyhnutný na porozumenie komplexných interakcií medzi BSFL, substrátmi a nebezpečnými látkami, aby sa mohli vyvinúť optimálne a bezpečné postupy pre ich potenciálne využitie v potravinárstve.

LITERATÚRA

- Biancarosa, I., Liland, N. S., Biemans, D., Araujo, P., Bruckner, Ch. G., Waagbo, R., Torstensen, B. E., Lock, E. J., Amlund, H. 2018. Uptake of heavy metals and rsenic in black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae grown on seaweed-enriched media. In *Journal of Science of Food and Agriculture* [online], vol. 98, pp. 2176-2183 [cit. 2024-02-02]. Dostupné na: doi: 10.1002/jsfa.8702
- Belluco, S., Losasso, C., Maggioletti, M., Alonzi, C. C., Paoletti, M. G., Ricci, A. 2013. Edible insects in a food safety and nutritional perspective: a critical review. In *Comprehensive Reviews in Food Scienced and Food Safety* [online], vol. 12, pp. 296-313 [cit. 2024-02-01]. Dostupné na: doi: 10.1111/1541-4337.12014
- Bosch, G., Fels-Klerx, H., Rijk, T., Oonincx, D. 2017. Aflatoxin B₁ tolerance and accumulation in black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) and yellow mealworms (*Tenebrio molitor*). In *Toxins* [online], vol. 9, no. 6, pp.1-10 [cit. 2024-02-01] Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/toxins9060185>
- Bryden, W. L. 2012. Mycotoxin contamination of the feedsupply chain: Implications for animal productivity andfeed security. In *Animal Feed Science and Technology* [online], vol. 173 , no. 1-2, pp. 134-158 [cit. 2024-02-01]. Dostupné na: doi: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.12.014>
- Camenzuli, L., Van Dam, R., de Rijk, T., Andriessen, R., Van Schelt, J., Van der Fels-Klerx, H. 2018. Tolerance and excretion of the mycotoxins aflatoxin B₁, zearalenone, deoxynivalenol, and ochratoxin A by *Alphitobius diaperinus* and *Hermetia illucens* from contaminated substrates. In *Toxins* [online], vol. 10, no. 91, pp. 1-15 [cit. 2024-02-13]. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/toxins10020091>
- De Zutter, N., Audenaert, K., Ameye, M., Haesaert, G., Smagge, G. 2016. Effect of the mycotoxin deoxynivalenol on grain aphid *Sitobion avenae* and its parasitic wasp *Aphidius ervi* through food chain contamination. In *Arthropod-Plant Interactions* [online], vol. 10, no. 4, pp. 323-329 [cit. 2024-02-13]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1007/s11829-016-9432-1>
- Diener, S., Zurbrüg, C., Tockner, K. 2015. Bioaccumulation of heavy metals in the black soldier fly, *Hermetia illucens* and effects on its life cycle. In *Journal of Insects as Food and Feed* [online], vol. 1, no. 4, pp. 261-270 [cit. 2024-02-01]. Dostupné na: doi: 10.3920/JIFF2015.0030
- Choi, W. H., Yun, J. H., Chu, J. P., Chu, K. B. 2012. Antibacterial effect of extracts of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larvae against Gram-negative bacteria. In *Entomological Research* [online], vol. 42, pp. 219-226 [cit. 2024-01-24]. Dostupné na: doi: 10.1111/j.1748-5967.2012.00465.x
- EFSA, European Food Safety Authority Scientific Committee. 2015. Risk Profile Related to Production and Consumption of Insects as Food and Feed. In *EFSA Journal* [online], vol. 13, no. 10, pp. 1-60 [cit. 2024-01-24]. Dostupné na: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4257>
- Kim, C. H., Ryu, J., Lee, J., Ko, K., Lee, J., Park, K. Y., Chung, H. 2021. Use of black soldier fly larvae for food waste treatment and energy production in Asian countries: a review. In *Processes* [online], vol. 9, no. 1, pp. 1-17 [cit. 2024-02-01]. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/pr9010161>
- Lalander, C., Diener, S., Magri, M. E., Zurbrugg, C., Lindstrom, A., Vinneras, B. 2013. Faecal sludge management with the larvae of the black soldier fly (*Hermetia illucens*) - From a hygiene aspect. In *Science of the Total Environment* [online], vol. 458-460, pp. 312-318 [cit. 2024-01-25]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.033>
- Lee, R., den Uyl, R., Runhaar, H. 2019. Assessment of policy instruments for pesticide use reduction in Europe; Learning from a systematic literature review. In *Crop Protection* [online], vol. 126, pp. 1-10 [cit. 2024-02-02]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104929>
- Liguori, B., Sancho, A. I., Poulsen, M., Bøgh, K. L. 2022. Novel foods: allergenicity assessment of insect proteins. In *EFSA Journal* [online], vol. 20, no. 52, pp. 1-9 [cit. 2024-02-02]. Dostupné na: doi: 10.2903/j.efsa.2022.e200910
- Leni, G., Cirlini, M., Jacobs, J., Depraetere, S., Gianotten, N., Sforza, S., Dall'Asta, C. 2019. Impact of Naturally Contaminated Substrates on *Alphitobius diaperinus* and *Hermetia illucens*: Uptake and Excretion of Mycotoxins. In *Toxins* [online], vol. 11, no. 476, 1-11 [cit. 2024-02-13]. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/toxins11080476>
- Makkar, H. P. S., Tran, G., Heuzé, V., Ankers, P. 2014. State-of-the-art on use of insects as animal feed. In *Animal Feed Science and Technology* [online], vol. 197, pp. 1-33 [cit. 2024-01-24]. Dostupné na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008>

Meijer, N., Stoop, G., van der Fels-Klerx, H. J., van Loon, J. J. A., Carney, J., Bosch, G. 2019. Aflatoxin B₁ conversion by black soldier fly (*Hermetia illucens*) larval enzyme extracts. In *Toxins* [online], vol. 11, no. 9, no. 532, pp. 1-11 [cit. 2024-02-15]. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/toxins11090532>

Meijer, N., de Rijk, T., van Loon, J. J. A., Zoet, L., van der Fels-Klerx, H. J. 2021. Effects of insecticides on mortality, growth and bioaccumulation in black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. In *PLoS One* [online], vol. 16, no. 4 [cit. 2024-01-24]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249362>

Mertenat, A., Diener, S., Zurbrugg, C. 2019. Black Soldier Fly biowaste treatment – Assessment of global warming potential. In *Waste Management* [online], vol. 84, pp. 173–181 [cit. 2024-01-24]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.11.040>

Müller, A., Wolf, D., Gutzeit, H. O. 2017. The black soldier fly, *Hermetia illucens* – a promising source for sustainable production of proteins, lipids and bioactive substances. In *Zeitschrift für Naturforschung* [online], vol. 72, no. 9-10, pp. 351-363 [cit. 2024-01-24]. Dostupné na: doi: 10.1515/znc-2017-0030

Müller, C. 2018. Impacts of sublethal insecticide exposure on insects – facts and knowledge gaps. In *Basic and Applied Ecology* [online], vol. 30, pp. 1-10 [cit. 2024-02-02]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.baae.2018.05.001>

Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2015/2283 z 25. novembra 2015 o nových potravinách

Oonincx, D. G., van Itterbeeck, J., Heetkamp, M. J., van den Brand, H., van Loon, J. J., van Huis, A. 2010. An exploration on greenhouse gas and ammonia production by insect species suitable for animal or human consumption. In *PLoS One* [online], vol. 5, pp. 1-7 [cit. 2024-01-24]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014445>

Proc, K., Bulak, P., Kaczor, M., Bieganski, A. 2021. A New approach to quantifying bioaccumulation of elements in biological processes. In *Biology* [online], vol. 10, no. 4, pp. 1-9 [cit. 2024-02-01]. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/biology10040345>

Purschke, B., Scheibelberger, R., Axmann, S., Adler, A., Jager, H. 2017. Impact of substrate contamination with mycotoxins, heavy metals and pesticides on the growth performance and composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) for use in the feed and food value chain. In *Food Additives and Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment* [online], vol. 34, pp. 1410-1420 [cit. 2024-02-01]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1299946>

Raskin, I., Kumar, P. N., Dushenkov, S., Salt, D. E. 1994. Bioconcentration of heavy metals by plants. In *Current Opinion in Biotechnology* [online], vol. 5, no. 3, pp. 285-290 [cit. 2024-02-01]. Dostupné na: [https://doi.org/10.1016/0958-1669\(94\)90030-2](https://doi.org/10.1016/0958-1669(94)90030-2)

Sheppard, D. C., Newton, G. L., Thompson, S. A., Savage, S. 1994. A value added manure management system using the black soldier fly. In *Bioresource Technology* [online], vol. 50, pp. 275-279 [cit. 2024-01-24].

Siddiqui, S. A., Snoeck, E. R., Tello, A., Alles, M. C., Fernando, I., Saraswati, Y. R., Rahayu, T., Grover, R., Ullah, M. I., Ristow, B., Nagdalian, A. A. 2022a. Manipulation of the black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*; Diptera: Stratiomyidae) fatty acid profile through the substrate. In *Journal of Insects as Food and Feed* [online], vol. 8, no. 8, pp. 837-855 [cit. 2024-02-01]. Dostupné na: <https://doi.org/10.3920/JIFF2021.0162>

Siddiqui, S. A., Ristow, B., Rahayu, T., Putra, N. S., Yuwono, N. W., Nisa, K., Mategeko, B., Smetana, S., Saki, M., Nawaz, A., Nagdalian, A. 2022b. Black soldier fly larvae (BSFL) and their affinity for organic waste processing. In *Waste Management* [online], vol. 140, pp. 1-13 [cit. 2024-01-25]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2021.12.044>

Siddiqui, S. A., Fernando, I., Nisa, K., Shah, M. A., Rahayu, T., Rasool, A., Aidoo, O. F. 2023. Effects of undesired substances and their bioaccumulation on the black soldier fly larvae, *Hermetia illucens* (Dipter: Stratiomyidae)- a literature review. In *Environmental Monitoring and Assessment* [online], vol. 195, no. 823, pp. 563-583 [cit. 2024-01-24]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1007/s10661-023-11186-w>

URL1: HEALTH AND FOOD SAFETY - Malý hmyz s veľkým dosahom EÚ povoľuje hmyz ako potravu (europa.eu). Dostupné na: <https://ec.europa.eu/newsroom/sante/items/7212990/sk>

Van der Fels-Klerx, H. J., Camenzuli, L., Belluco, S., Meijer, N., Ricci, A. 2018. Food Safety Issues Related to Uses of Insects for Feeds and Foods. In *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online], vol. 17, no. 5, pp. 1172-1183 [cit. 2024-01-25]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12385>

Van Huis, A. 2013. Potential of insects as food and feed in assuring food security. In *Annual Reviews Entomology* [online], vol. 58, pp. 563-83 [cit. 2024-01-24]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153704>

Wang, Y. S., Shelomi, M. 2017. Review of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as Animal Feed and Human Food. In *Foods* [online], vol. 6, no. 91, pp. 1-23 [cit. 2024-01-24]. Dostupné na: <http://dx.doi.org/10.3390/foods6100091>

Wu, N., Wang, X., Xu, X., Cai, R., Xie, S. 2020. Effect of heavy metals on the bioaccumulation, excretion and gut microbiome of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*). In *Ecotoxicology and Environmental Safety* [online], vol. 192, pp. 1-9 [cit. 2024-02-02]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110323>

Yang, Q., Li, Z., Lu, X., Duan, Q., Huang, L., Bi, J. 2018. A review of soil heavy metal pollution from industrial and agricultural regions in China: Pollution and risk assessment. In *Science of the Total Environment* [online], vol. 642, pp. 690-700 [cit. 2024-02-01]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.068>

Zhang, J., Shi, Z., Gao, Z., Wen, Y., Wang, W., Liu, W., Wang, X., Zhu, F. 2021. Identification of three metallothioneins in the black soldier fly and their functions in Cd accumulation and detoxification. In *Environmental Pollution* [online], vol. 286, pp. 1-10 [cit. 2024-02-01]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117146>

Pod'akovanie: Príspevok vznikol s podporou projektu VEGA 1/0512/22 - Biokonverzia kuchynského odpadu na vysoko hodnotné krmivo využitím lariev muchy čiernej.

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

CHARACTERIZATION OF GRANULOMETRY OF BULK FOODS

Michaela Bartončíková, Lubomír Lapčík, Barbora Lapčíková

Abstract: Particle size significantly influences material properties in diverse industries, including food and metallurgy. Essential for quality assurance and efficient processing, particle characterization is crucial. This study focuses on cocoa powder, milk powder, and instant beverages, emphasizing suspension stability. Accurate measurement of particle size and shape is vital to control reactions during product use. Optimal suspension stability, dependent on particle size and shape, is critical for maintaining industrial product consistency and quality. The study highlights the importance of selecting appropriate analytical methods for particle characterization and outlines the potential consequences of instability on food product perception and quality, impacting customer satisfaction.

Keywords: particle size, characterization, suspension stability, food industry, metallurgy.

INTRODUCTION

The particle size is considered a dimensional property of a given particle and is characterized by a certain unit of length. In the ideal case, a uniform particle size distribution is necessary for the powder material, where only particles of the same size should be present. Conversely, within a tangible material, the presence of particles spanning varied size intervals may be observed. Based on these data, the concept of particle size distribution is used in practice to describe the size of certain particles (Šimek et al., 2014). The particle size distribution (PSD) thus expresses the percentage distribution of certain particles with respect to their size - this is further characterised by the volume distribution. If the difference in particle size distribution of the individual sample components increases during the analysis, there is an increased risk of conflicting homogenisation processes occurring - segregation of the powder mixture may occur. A second and equally important factor associated with particle characterisation is particle shape. The shape of the particles, together with their size, are inseparable parameters which then influence the behaviour of the solids and their subsequent processing (Komárek, 2006; Hickey et al., 2003).

For the correct determination of parameters, a representative sample of the material in question is required, which must then be properly prepared and analysed with sufficient reproducibility of the measurements depending on the analytical method used (Brittain, 2001; Keenen Taylor and Cihon, 2004). The particle size and shape influence both the flow properties of certain powders and the milling, homogenisation, granulation or tableting processes (Hickey et al., 2003). Powders used in the food industry are particulate solid materials that contain particles ranging in size from nanometres to millimetres. One gram of powder with an average particle size of 20 microns will contain approximately 108 particles. Products used in the food industry that are in solid or liquid form tend to be converted to powder form mainly for ease of use, processing and quality maintenance (Bhandari et al., 2013). The stability and functionality of food powders further depends on their structure. Therefore, to change any of the desired properties, the particle structure of the material can be altered (Bhandari et al., 2013).

Using granulometry, the proportion of each group of particles of a certain size is determined, which is related to the total amount of the sample (Zoubková, 2014). In particle analysis, the material is dislocated into individual particles. In the course of this process, particles that were not present in the sample prior to the analysis should not be generated. Thus, the process should not be very invasive and destructive; on the other hand, it should be efficient enough to separate aggregates into individual grains (Pansu and Gautheyrou, 2006). The

particle size of bulk food ingredients has a significant effect on the properties of the final product. In chocolate production, we can encounter a phenomenon where the particle size of the cocoa powder and sugar used in the production, affects the crystallisation of fat in the final product. A suspension of solid particles, sugar and cocoa powder is first prepared in the presence of a fat matrix. The recognition of the influence of particle size on the physical properties of the desired final products allows for the modification of their ultimate properties and the avoidance of potential undesirable phenomena, such as bloom, alternations in taste or change in appearance (Fernandes, Müller and Sandoval, 2013).

The solid particles mentioned above are usually found in the fat matrix in sizes larger than one micrometre. This property allows them to sediment relatively well. This phenomenon is due to the higher density of solid particles compared to particles in the continuous phase (Kalic et al., 2018). The main challenge in the influence of the solid particles on product properties is that the individual solid particles represent a "core" around which the fat crystals then concentrate. Samples with smaller radius particles contain more 'cores', which promote nucleation (packing of fat crystals) at higher temperatures compared to samples containing larger radius particles (Svanberg et al., 2011). The uneven distribution of fat cores in the powder ultimately affects the texture of the cocoa powder and its products. The texture of products such as firmness, which is one of the main parameters in assessing the consistency or spreadability of confectionery products is affected. This undesirable texture hinders the consumer perception during consumption. Therefore, controlling the particle size is necessary to obtain the optimal texture characteristics required for specific products (Afoakwa et al., 2008).

MATERIAL AND METHODOLOGY

Samples of cocoa powder, milk powder and dried vegetable beverages were selected from the local market for this study. A total of 11 products were selected, of which 4 were classified as cocoa powders, 2 as dried milk powder and 5 as dried plant drinks. In total, the products were produced by 6 different manufacturers (Table 1).

Table 1 Overview of used materials

Sample name	Type of sample
Marila Cocoa	Cocoa powders
Dr. Oetker cocoa	
Coffee products cocoa	
Manner cocoa	
Bohemilk semi-skimmed	Dried milk powders
Bohemilk full-fat	
Buckwheat drink	Dried plant drinks
Nestlé Caro	
Coconut drink	
Soy drink	
Rice drink	

Methods

Network analysis

For the measurements, the Fritsch Vibratory sieve shaker Analysette 3 (Idar-Oberstein, Germany) was used. The sieve shaker has the possibility of manual adjustment of sieving time and amplitude. For the purpose of this work, 9 sieves with mesh sizes of 0.028 mm, 0.045 mm, 0.125 mm, 0.16 mm, 0.22 mm, 0.32 mm, 0.45 mm, 0.56 mm and 0.71 mm were used. The individual fractions were then weighed on a KERN ABS analytical balance. First, sieve analysis of all samples was performed using a sieve screening machine, with mesh diameters ranging from 0.71 mm to 0.028 mm. A 200 g sample with a shaking time of 15 minutes was used for the measurements, with the exception of a sample of Dutch Cocoa from the brand Coffee, for which only 100 g was used due to insufficient quantity. Each sample was measured three times at normal laboratory temperature and humidity (25 °C).

The result of the analysis was the weight of each fraction, according to the mesh sizes of the sieves. The values obtained from the measurements were then used to calculate the radius of particle size on each sieve, the differential partition function, which is defined by

$$F_w(r) = \frac{dm_r}{m \cdot dr}$$

where, m_r is mass of a group of particles with radius r , m is the total mass of all particles (dispersion fraction), and $F_w(r) \cdot dr$ is the ratio of the mass of the fraction of particles with dimension r and $(r+dr)$ to the total mass of particles in the system – the mass fraction of the respective fraction (Burešová et al., 2023).

A complementary representation is provided, indicating the weight fraction of the total mass in the dispersion fraction. This fraction comprises particles with a radius greater than or equal to a selected value of r_c . Additionally, an integral partition function is utilized to identify the fraction of the total mass of particles within the dispersion fraction, encompassing particles with a radius less than or equal to a chosen value of r_c (Burešová et al., 2023).

$$I(r) = \int_0^{r_c} F(r) dr$$

$$Q(r) = \int_{r_c}^{\infty} F(r) dr$$

After obtaining the above values, the integral function plots for the classical radius and the differential partition function plots for the classical radius were then created.

Laser diffraction

Fritsch Analysette 28 ImageSizer (Idar-Oberstein, Germany) particle sorter was used for laser diffraction. This is a suitable alternative to sieve analysis. This instrument allows the measurement of both dry powders and bulk solids in the range of 20 µm to 20 mm and wet measurements of suspensions and emulsions in the range of 5 µm to 3 mm. For the purpose of this work, only the measurement of dry powders was used. When evaluating data obtained by laser diffraction, the Fraunhofer approximation was referred to. When analysing a polydisperse

powder, the evaluation in the deconvolution of the diffraction image according to the integral equation was used:

$$I \propto I_0 \int_0^{\infty} \left(\frac{J_1(\alpha \sin \theta)}{\alpha \sin \theta} \right)^2 f(D) dD$$

where, the function $f(D)$ is the corresponding particle size distribution of interest, the so-called probability density.

Statistical 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 in at least three replicates.

RESULTS AND DISCUSSION

Network analysis

During the sieving, the sample was subjected to horizontal movement. The probability of the sample to be analysed passing through the sieve is given by the ratio of the particle size to the sieve apertures, the orientation of the particle concerned and the number of interactions between the particle and the sieve apertures (Sieving methods of sieve analysis, 2022).

These results indicated that for sample No 1, the largest volume of particles was detected on a mesh with a diameter of 0.22 mm. For sample No 5, the largest capture was on the first mesh with a diameter of 0.71 mm, this sample was already visually quite coarse grained. In the measurement of sample No 6, the largest part of the particles was captured on the mesh with a diameter of about 0.32 mm. And for the last sample No 9, the largest proportion of particles was captured on the mesh with a diameter of about 0.16 mm. The values of the mean particle size values for all samples measured by the sieve analysis method together with their standard deviations are mentioned in Table 2.

Table 2 Mean particle size values for all measured samples including standard deviation

Sample name	Mean value of particle size
Marila Cocoa	0.26 ± 0.02
Dr. Oetker cocoa	0.18 ± 1.80
Coffee products cocoa	0.09 ± 0.18
Manner cocoa	0.15 ± 0.06
Bohemilk semi-skimmed	0.20 ± 0.07
Bohemilk full-fat	0.31 ± 0.10
Buckwheat drink	0.15 ± 0.06
Nestlé Caro	0.19 ± 0.03
Coconut drink	0.17 ± 0.20
Soy drink	0.11 ± 0.12
Rice drink	0.15 ± 0.05

On the basis of the results obtained, it was established that the particles with the largest diameter were found in the samples of Dutch Marila cocoa and also in Bohemilk whole milk powder. This is probably due to the fact that the whole milk powder sample was declared to have the highest fat content, which could have influenced the possible aggregation of particles into larger diameter formations. However, the Marila sample was not declared to have the highest fat content, so it is possible that the relatively high mean particle size may have been influenced by improper storage of the product, e.g. exposure to humidity, which caused the particles to agglomerate into larger formations.

Laser diffraction

The measurements were carried out in a stream of air with a duration of approximately 10-40 seconds, the mass was dispensed automatically by the instrument from a tray included in the instrument. As a result, the percentage of particle size in the whole volume of the tested samples was obtained.

Table 3 Mean particle size values - laser diffraction

Sample name	Mean value of particle size
Marila Cocoa	0.54 ± 0.38
Dr. Oetker cocoa	0.42 ± 0.96
Coffee products cocoa	0.61 ± 0.51
Manner cocoa	0.41 ± 0.17
Bohemilk semi-skimmed	0.62 ± 0.18
Bohemilk full-fat	1.30 ± 0.37
Buckwheat drink	0.39 ± 0.11
Nestlé Caro	0.38 ± 0.17
Coconut drink	0.36 ± 0.24
Soy drink	0.49 ± 0.16
Rice drink	0.39 ± 0.10

Table 3 shows the mean particle size values measured by laser diffraction. The largest particle size was observed for the sample of Bohemilk whole milk powder, probably because this sample declared up to 24% fat content, and therefore the particles may have agglomerated both in the consumer package itself and during the analysis as the sample passed through the measuring cell.

In scrutinizing the particle size values obtained through the aforementioned methods, considerable distinctions are evident. For a sample of Dutch Marila cocoa with a 10-12% fat content, the mean particle size measured by sieve analysis was 0.26 ± 0.02 mm, and by laser diffraction 0.54 ± 0.38 mm. For a sample of Dr. Oetker cocoa with a 10% fat content, the mean particle size measured by sieve analysis was 0.18 ± 1.80 mm, and by laser diffraction 0.42 ± 0.96 mm. For a sample of Coffee products cocoa with a 20-22% fat content, the mean particle size measured by sieve analysis was 0.09 ± 0.18 mm, and by laser diffraction 0.61 ± 0.51 mm. For a sample of Manner cocoa with 25% fat content, the mean particle size measured by sieve analysis was 0.15 ± 0.06 mm and by laser diffraction 0.41 ± 0.17 mm. For a sample of Bohemilk semi-skimmed milk powder with 14% fat content, the mean particle size measured by sieve analysis was 0.20 ± 0.07 mm and by laser diffraction 0.62 ± 0.18 mm. For a sample of Bohemilk full-fat milk powder with 26% fat content, the mean particle size measured by sieve analysis

was 0.31 ± 0.10 mm and by laser diffraction 1.30 ± 0.37 mm. For a sample of instant buckwheat drink, the mean particle size measured by sieve analysis was 0.15 ± 0.06 mm and by laser diffraction 0.39 ± 0.11 mm. For a sample of instant coconut drink, the mean particle size measured by sieve analysis was 0.17 ± 0.20 mm, 0.36 ± 0.24 mm by laser diffraction. For a sample of instant soy drink, the mean particle size measured by sieve analysis was 0.11 ± 0.12 mm, 0.49 ± 0.16 mm by laser diffraction. For the last sample of instant rice drink, the mean particle size measured by sieve analysis was 0.15 ± 0.05 mm, 0.39 ± 0.10 mm by laser diffraction.

CONCLUSION

The findings indicate significant differences in particle size measurements obtained using sieve analysis and laser diffraction across various food samples. Sieve analysis yielded smaller particle size values compared to laser diffraction, with notable variations observed based on the fat content and type of food product. Agglomeration was evident during sieve analysis, particularly for cocoa and milk powders, attributed to prolonged vibrational movements. In contrast, laser diffraction, characterized by rapid analysis and minimal vibration, produced higher particle size values, especially for fat-rich samples. Despite the occurrence of agglomeration in instant vegetable drinks, the presence of anti-caking agents mitigated its impact. Overall, based on the obtained data, sieve analysis emerges as the more suitable method for particle size analysis of bulk foods.

REFERENCES

- Šimek, M., Grunwaldová, V., Kratochvíl, B. 2014. Current methods of particle size measurement of pharmaceutical substances and their limitations. 53.
- Komárek, P. Drug Technology. 2006. ISBN 9788072624232. Also available from: <https://is.muni.cz/publication/1665526/cs/Technologie-leku>
- Hickey A. J., Crowder T. M., Louey M. D., Orr N. 2003. A Guide to Pharmaceutical Particulate Science. 1. Informa Healthcare,
- Brittain, H. 2001. Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients. 1st. Academic Press, ISBN 9780080861234.
- Keenen T., Cihon J., Cihon Ch. 2004. Statistical techniques for data analysis. 2nd ed. London: Chapman & Hall/CRC, ISBN 1584883855 9781584883852 9780203492390 0203492390.
- Bhesh, B., Bansal, N., Zhang, M., Schuck, P. 2013. 1.1 Introduction. Handbook of Food Powders – Processes and Properties. Woodhead Publishing, pp. 2-3. ISBN 978-0-85709-513-8. Also available from: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00C5B5B3/handbook-food-powders/introduction>
- Bhesh, B., Nidhi Bansal, N., Min Zhang, M., Schuck, P. 2013. 1.2 Crystalline and Amorphous Microstructure of Powders. Handbook of Food Powders – Processes and Properties. Woodhead Publishing, pp. 3-4. ISBN 978-0-85709-513-8. Also available from: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00C5B5B3/handbook-food-powders/introduction>
- Zoubková, L. 2014. Instructions for laboratory exercises in paedology. Ústí nad Labem, Textbook. University of J. E. Purkyně in Ústí nad Labem.
- Pansu, M., Gautheyrou, J. 2006. Handbook of Soil Analysis – Mineralogical, Organic and Inorganic Methods. New York: Springer, ISBN 978-3-540-31210-9.
- Fernandes, V., Muller, A., Sandoval, A. Thermal, structural and rheological characteristics of dark chocolate with different compositions. *Journal of Food Engineering* [online]. 2013, 116(1), 97-108 [cited 2022-05-05]. ISSN 02608774. Available from: doi: 10.1016/j.jfoodeng.2012.12.002
- Kalic, M., V. Krstonosic, M. Hadnadev, S. Gregersen, N. Jovanovic Ljeskovic and L. Wiking. 2013 Impact of different sugar and cocoa powder particle sizes on crystallization of fat used for the production of confectionery products. *Journal of Food Processing and Preservation* [online]. 2018, 42(12) [cited 2022-05-05]. ISSN 0145-8892. Available from: doi:10.1111/jfpp.13848
- Svanberg, L., L. Ahrné, N. Lorén and E. Windhab. 2011. Effect of pre-crystallization process and solid particle addition on microstructure in chocolate model systems. *Food Research International* [online]. 44(5), 1339-1350 [cited 2022-05-05]. ISSN 09639969. Available from: doi: 10.1016/j.foodres.2011.01.018

Afoakwa, E., A. Paterson, M. Fowler, and J. Viera. 2008. Characterization of melting properties in dark chocolates from varying particle size distribution and composition using differential scanning calorimetry. *Food Research International* [online]. 41(7), 751-757 [cited 2022-05-05]. ISSN 09639969. Available from: doi: 10.1016/j.foodres.2008.05.009

Sieving methods of sieve analysis. 2022. In: Retsch [online]. [cited 2022-05-05]. Available from: <https://www.retsch.com/applications/knowledge-base/sieve-analysis/>

Burešová I, Lullien-Pellerin V, Červenka L, Mlček J, Šebestíková R, Masaříková L. 2023. The Comparison of the Effect of Flour Particle Size and Content of Damaged Starch on Rice and Buckwheat Slurry, Dough, and Bread Characteristics. *Foods*. Jul 5;12(13):2604. doi: 10.3390/foods12132604. PMID: 37444342; PMCID: PMC10341041.

Acknowledgements. This research was financed by Tomas Bata University in Zlín internal grant agency project no. IGA/FT/2024/005.

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

Michaela Bartončíková, Department of Food Technology, Faculty of Technology, Tomas Bata University in Zlín, Vavrečkova 275, 762 72 Zlín, Czech Republic, E-mail: m_bartoncikova@ft.utb.cz, ORCID: 0009-0005-5360-4742

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

MRAZENÉ OVOCIE A ZELENINA – VÝZNAM VO VÝŽIVE ĽUDÍ A JEHO KVALITA A BEZPEČNOSŤ – KONCEPT „JEDNO ZDRAVIE“ FROZEN FRUITS AND VEGETABLES – IMPORTANCE IN HUMAN NUTRITION AND ITS QUALITY AND SAFETY – CONCEPT „ONE HEALTH“

Eva Dudriková, Jana Zahumenská, Zuzana Hanzelová

Abstract: Considering the importance of including frozen fruits and vegetables in the menu, the aim of this initial study was to determine the frequency of consumption of frozen fruits and vegetables among UVMP students in Košice, who in the summer semester of the academic year 2023/2024 are attending subjects related to hygiene, technology and plant food safety (n = 27). The results of our work show that only one student (3,70 %) consumes frozen fruit daily, in the form of “mixture of forest fruits”. Two students (7,40 %) consume frozen bananas 3-4 times per week. These are bananas bought in supermarkets, which are frozen at home and used as an ingredient in the production of “smoothies”. Due to the fact that the frozen fruit is not further heat treated, the drink may pose a danger to the consumer, from the point of view of the presence of undesirable pathogenic microbiota. The results also shown that students consume little frozen vegetables. Only occasionally students consume spinach (84,00 %), green beans (59,20 %) and broccoli (55,50 %). Up to 33,30 % of students do not consume frozen carrots (33.30%). In the protocol, only one student (3,70 %) stated that he consumes carrots every day.

Keywords: frozen fruits and vegetables, questionnaire, consumption, safety

ÚVOD

Súčasnosť predstavuje obdobie, v ktorom sa do popredia stále viac a viac dostáva pojem „zdravá výživa“. Nie je to len propagácia zdravého životného štýlu, ale aj kult krásy a mladosti a snaha zlepšenia svojho zdravia a jeho udržania do vysokého veku, resp. čo možno najdlhšie. Preto správna výživa zahŕňa tri významné kľúčové slová: pestrosť, striedmosť a vyváženosť. To všetko súvisí nielen s vykonávaním výchovnej a poradenskej činnosti so zreteľom na ovplyvňovanie stravovacích návykov aj na základe nových vedeckých výskumov aj o ustanovenie správneho pomeru výživných látok pri ich zastúpení vo výžive jednotlivých skupín obyvateľstva, optimálneho režimu výživy, počtu a frekvencie príjmu denných jedál, biologickej hodnoty potravín a nakoniec aj zdravotnej bezpečnosti podávanej stravy, či potravín. Práve zdravotná bezpečnosť potravín je súčasťou európskej stratégie s názvom „z farmy na stôl“ a jej cieľom nie je len zlepšenie podmienok pre farmárov, ochrana životného prostredia, ale aj zabezpečenie kvalitných a bezpečných potravín pre všetkých (Golian et al., 2021, Perchec, 2023, Santos et al., 2023).

Do tejto stratégie možno zaradiť aj poľnohospodárstvo, jeho rastlinnú výrobu a spracovanie rastlinných potravín. V stratégii pre „zdravú výživu“ nemožno opomenúť produkciu, spracovanie a nakoniec aj spotrebu ovocia a zeleniny, vrátane ich mrazených foriem. Jednou z priorít je zabezpečenie kvality ovocia a zeleniny, ktorá sa dostáva na trh vo forme čerstvej zeleniny a ovocia, ktoré sa na trhu objavujú bezprostredne po zbere alebo po určitom období skladovania v surovom stave a vyznačujú sa podobnými výživovými funkciami. Zelenina a jej druhy, ktoré sú všeobecne známe, sa môžu pre svoj vysoký obsah vody zaradiť medzi nízkoenergetické zložky, ktoré sú bohaté na vlákninu, minerálne látky a ďalšie zložky s bioaktívnymi účinkami pre organizmus človeka. Tie pri dostatočnom príjme vedia zaistiť ochranu organizmu. Rastlinné potraviny, ovocie, zelenina a bylinky sa vyznačujú nesmiernou rozmanitosťou v obsahu biologicky aktívnych látok prospešných v boji proti rôznym chorobám (Jongen, 2002, Li et al., 2017). Z nich niektoré, ako napr. polyfenoly,

pigment (karotenoidy) a glukozinoláty majú aj nutričnú hodnotu. Aj keď sa väčšina ovocia a zeleniny konzumuje v čerstvom stave, mnohé z nich sa dajú spracovať a konzumovať po ich spracovaní. Príkladom môže byť mrazené ovocie a zelenina.

Technológia mrazenia je jednou z osvedčených techník dlhodobého zachovania potravín na výrobu vysoko kvalitných, výživných potravín s predĺženou trvanlivosťou. V poslednom období mrazené potraviny predstavujú významnú časť globálneho trhu s potravinami, ktorý zažíva vzostup. Na druhej strane sú nespravodlivo mrazené potraviny často vnímané ako menej kvalitné oproti čerstvým produktom, hoci štúdie ukázali, že niektoré mrazené potraviny majú vyššie nutričné hodnoty ako čerstvé produkty (Ahlgren a Gustafsson, 2004, 2005). Mrazené potraviny tvoria dôležitú časť globálneho trhu s potravinami. Odhaduje sa miera rastu 6,5 % a podiel na trhu bude 224,2 miliardy USD do roku 2025 (FFVGM Report, 2021).

Nárast populácie, osobné bohatstvo, relatívne náklady na iné druhy potravín, zmeny chutí a preferencií a technologické objavy v mraziacich technológiách sú všetky prvky, ktoré ovplyvnia budúcnosť mraziacej techniky. Dopyt po výrobkoch na priamu spotrebu, polotovaroach a výrobkoch mrazených potravín sa zvýšil, pretože ľudia majú menej voľného času na varenie, pribúda stále väčší počet zamestnaných žien (Skrupskis et al., 2015, Maureen a Anderson, 2018). Dnes je mrazenie jediným rozsiahlym procesom, ktorý spája ročné obdobia a variácie v dostupnosti a dopyte po surovinách, akými sú mäso, ryby, maslo, ovocie a zelenina (Vanhonacker et al., 2013).

Proces mrazenia kombinuje výhody nízkych teplôt, pri ktorých mikroorganizmy nemôžu rásť, chemické reakcie sú spomalené a bunkové metabolické reakcie oneskorené (James a James, 2011). Podobne mnohé štúdie ukazujú, že straty v ovocí a zelenine v obsahu kyseliny askorbovej a vitamínov skupiny B pri mrazení sú nižšie (Favell, 1998). Napríklad, porovnávacie štúdie ukázali, že straty vitamínu C v brokolici, mrkve, strukovinách, hrášku a špenáte skladovaných pri teplotách v chladničke po dobu 7 dní a pri hlbokom zmrazení počas 12 mesiacov boli menšie skôr zmrazením ako konzumáciou rovnakých čerstvých produktov (Yiu a Evranuz, 2015). Ukázalo sa, že spotrebitelia mrazeného ovocia a zeleniny celkovo skonzumovali podstatne viac ovocia a zeleniny ako jej nekonzumenti, čím získali vyšší príjem živín, ako je vláknina, draslík, vápnik, a vitamín D (Storey et al., 2018). Zistil sa výrazne nižší priemerný energetický príjem u detí vo veku 1–18 rokov, ktoré konzumovali mrazené ovocie a zeleninu, pričom konzumácia mrazeného ovocia a zeleniny neovplyvnila príjem energie u dospelých. Salvadori a Mascheroni (2002).

Donedávna sa mrazené produkty nepovažovali za rizikové potraviny. Avšak výskyt alimentárnych ochorení z mrazených potravín ukazuje, že to tak nie je. Práve použitie mrazenej zeleniny a ovocia v kulinárstve, napr. pri narastajúcej obľube „smoothies” a podobných nápojov a jedál, ktoré sa ďalej tepelne neošetrujú možno považovať za rizikové. Neexistuje dostatok informácií o konkrétnych rizikách pre bezpečnosť potravín spojených s mrazenými výrobkami. Dostupné informácie naznačujú, že napr. mrazené bobule sú kontaminované vírusmi, ale aj širokou škálou patogénov prítomných v pôde, vo vode a/alebo v ľudských a zvieracích exkrementoch. Niektoré z nich môžu byť tiež priamo prenášané symptomatickými alebo asymptomatickými pracovníkmi počas pestovania, zberu a spracovania po zbere úrody. Medzi patogénne mikroorganizmy v tomto ohľade možno zaradiť baktérie (napr. *Salmonella* spp., shiga-toxín *E. coli* (STEC), *Listeria* spp., *Yersinia* spp.), vírusy (napr. norovírus, vírus hepatitídy A) a parazity (*Cryptosporidium* spp., *Toxoplasma gondii*) (King et al., 2020). Väčšina bakteriálnych a vírusových patogénov, ktoré môžu kontaminovať čerstvé produkty, prežije proces mrazenia, a preto sa môžu nachádzať aj v mrazených produktoch. Práve to, môže predstavovať značné riziko, keď sa mrazené produkty konzumujú priamo bez akýchkoľvek následných inaktivačných krokov. Umývanie a dezinfekcia čerstvých produktov predstavuje bežné technologické operácie pred zmrazením. Aj keď tieto postupy môžu znížiť mikrobiálnu

záťaž na povrchu produktu, účinok je zvyčajne obmedzený na 1 alebo 2 logaritmicke rady (ICMSF, 2011).

Zníženie úrovne mikrobiálneho zaťaženia závisí od mnohých faktorov: typ produktu a jeho vlastnosti (napríklad povrchová štruktúra, prítomnosť antimikrobiálnych zlúčenín), druhy mikroorganizmov a úroveň kontaminácie produktu, používanie biocídov, typ biocídu (napr. chlór, chlórnan sodný), podmienky prania (napr. koncentrácia biocídu, teplota vody, trvanie kontaktu). Niektoré čerstvé produkty tiež prechádzajú prípravnými krokmi pred zmrazením, ako je šúpanie, rezanie a odstraňovanie semien. Tieto kroky zahŕňajú viac manuálnej alebo mechanickej manipulácie a môžu vystaviť produkty ďalšej kontaminácii, ak nie sú dostatočne kontrolované hygienické podmienky.

Veľa zeleniny sa pred mrazením blanšíruje, aby sa minimalizovalo zhoršenie kvality a zvyčajne pozostáva z krátko tepelného spracovania nad 80 °C. Blanširovanie tiež znižuje mikrobiálnu záťaž produktu, pričom úroveň mikrobiálneho zníženia závisí od druhu produktu, teploty a času blanširovania a prítomnosti druhu a počtu mikroorganizmov v produkte. Blanširovanie inaktivuje vegetatívne bakteriálne bunky od 1 do 5 log (ICMSF, 2005).

Napríklad EFSA (2020) uvádza, že blanširovaním sa dosiahne 5-násobné zníženie počtu *Listeria monocytogenes* v zelenine za predpokladu, že sa použijú primerané kombinácie času a teploty.

Blanširovanie však možno považovať aj za rizikový faktor, ktorý na druhej strane môže podporiť rast patogénov (EFSA, 2020). Existuje tiež možnosť krížovej kontaminácie počas chladenia produktov. Príkladom môže byť ochorenie vyvolané *Listeria monocytogenes* spojené s blanširovanou mrazenou zeleninou v Európe. Blanširovanie alebo tepelná úprava sa pri plodoch určených na mrazenie aplikuje len zriedka. Bobuľové ovocie sa môže pred mrazením umývať, ale zvyčajne sa neblanšíruje, ani tepelne neupravuje, pokiaľ nie je určené na spracovanie na džemy a podobne (Palumbo et al., 2014).

Vzhľadom na význam zaradenia mrazeného ovocia a zeleniny do jedálneho lístka, cieľom tejto úvodnej štúdie bolo zistiť frekvenciu konzumácie mrazeného ovocia a zeleniny u študentov UVLF v Košiciach, ktorí v letnom semestri akademického roku 2023/2024 navštevujú predmety týkajúce sa hygieny, technológie a bezpečnosti rastlinných potravín.

MATERIÁL A METODIKA

Úvodnej štúdie sa zúčastnilo 27 študentov zo študijného programu hygiena potravín (n = 7), bezpečnosť krmív a potravín (n = 10) a všeobecné veterinárske lekárstvo (n = 11), ktorí na praktickom cvičení vyplnili dotazník, týkajúci sa (a) frekvencie konzumácie mrazeného ovocia a zeleniny a (b) miesta nákupu (supermarket, lokálny obchod v mieste bydliska, farmársky obchod, domáca produkcia). Študenti mohli dopísať preferencie v značke príslušného ovocia a zeleniny, resp. názov obchodu, kde chodia nakupovať. Vzhľadom na malý súbor respondentov sú výsledky uvedené v percentách.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Štúdie sa zúčastnilo 27 študentov UVLF v Košiciach. Výsledky sú uvedené v Tabuľke 1 a 2.

Z tabuľky 1 vyplýva, že iba jeden študent (3,70 %) konzumuje mrazené ovocie denne, a to vo forme „zmes lesné plody“. Dvaja študenti (7,40 %) konzumujú mrazené banány vo frekvencii 3-4x/týždeň. Jedná sa o zakúpené banány v supermarketoch, ktoré si doma mrazia a používajú ich ako zložku pri výrobe „smoothies“. Vzhľadom k tomu, že sa mrazené ovocie už ďalej tepelne neošetruje, nápoj môže predstavovať nebezpečenstvo pre konzumenta, a to z pohľadu prítomnosti nežiaducej patogénnej mikrobioty. Perchec (2023) vo svojej štúdii uvádza, že až 50 % iného ovocia ako je bobuľové ovocie (82 %) sa na Novom Zélande používa práve na prípravu tohto typu nápoja. Zelenina predstavuje len 13-percentný podiel. Z našich

výsledkov vyplýva, že až 85,18 % študentov mrazené banány na prípravu „smoothies“ a iných potravín (napr. „slushies“, pudinky, zmrzliny, sorbety, jogurty a pod.) nevyužíva.

Tabuľka 1 Konzumácia mrazeného ovocia študentami UVLF v Košiciach (% , n = 27)

	bobuľové ovocie				tropické ovocie			
	čučoriedky	maliny	jahody	zmes ¹	mango	banán	zmes ²	
Konzumujem:								
denne	0,00	0,00	0,00	3,70	0,00	0,00	0,00	
3-4x/týždeň	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	7,40	7,40	
1x/týždeň	7,40	3,70	7,40	3,70	0,00	7,40	3,70	
občas	59,20	48,14	59,20	55,60	22,22	7,40	44,40	
nekonzumujem	29,60	44,40	33,30	33,30	66,66	85,18	44,40	
Kúpené v:								
supermarket	40,70	29,60	40,70	48,10	33,30	22,22	55,60	0,00
lokálny obchod	7,40	7,40	22,22	7,40	0,00	0,00	0,00	0,00
farmársky obchod	0,00	7,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
domáca produkcia	25,90	18,50	33,30	3,70	0,00	0,00	0,00	0,00

¹lesné plody, ²tropické ovocie

Občas konzumujú mrazené ovocie vysokoškolskí študenti UVLF v Košiciach najmä čučoriedky, jahody a „zmes lesné plody“ (viac ako 50 % respondentov). Mrazené ovocie nakupujú v supermarketoch, v lokálnych obchodoch mrazené jahody. Bobuľové ovocie pochádza aj z domácej produkcie (3,70 – 33,33 %: jahody). To je potešiteľné, pretože to poukazuje na lokálne zdroje a pestovanie drobného ovocia v rodinách respondentov. To môže ale niekedy predstavovať riziko, ako napr. uvádza WHO vo svojej správe z roku 2014, že niektoré vajíčka parazitov, ako *Ascaris* spp. alebo *Echinococcus granulosus* môžu prežiť teploty pod bodom mrazu. Oocysty *Cryptosporidium* sú odolné voči mrazu, pokiaľ sa kontaminovaný produkt neskladuje pri teplote -20 °C dlhšie ako 24 hodín alebo pri teplote -15 °C najmenej jeden týždeň (WHO, 2014). Hoci ohniská spôsobené potravinovými parazitmi sú vo všeobecnosti spojené s čerstvými produktami, bol hlásený aj výskyt *Cyclospora cayetanensis* v doma mrazených malinách. Teplota, pri ktorej boli plody zamrazené, nie je známa, ale pravdepodobne nebola dostatočne nízka na to, aby zničila cyklosporové oocysty (Ho et al., 2002).

Tabuľka 2 Konzumácia mrazenej zeleniny študentami UVLF v Košiciach (% , n = 27)

	špenát	mrkva	polievková zmes	zelená fazuľka	karfiol	brokolica	kukurica
Konzumujem:							
denne	0,00	3,70	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3-4x/týždeň	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,70	3,70
1x/týždeň	3,70	22,20	14,80	11,10	44,40	7,40	7,40
občas	84,00	29,60	37,00	59,20	48,10	55,50	22,20
nekonzumujem	25,90	33,30	25,90	0,00	44,40	22,20	62,90
Kúpené v:							
supermarket	66,60	14,80	59,20	40,70	48,10	55,50	14,80
lokálny obchod	14,80	7,40	18,50	11,10	3,70	7,40	3,70
farmársky obchod	0,00	0,00	3,70	0,00	0,00	0,00	0,00
domáca produkcia	11,10	25,90	7,40	7,40	11,10	3,70	7,40

Z výsledkov uvedených v Tabuľke 2 vyplýva, že študenti málo konzumujú mrazenú zeleninu. Len občas študenti konzumujú občas špenát (84,00 %), zelenú fazuľku (59,20 %) a brokolicu (55,50 %). Až 33,30 % študentov nekonzumuje mrazenú mrkvu (33,30 %). V protokole uviedol len jeden študent (3,70 %), že konzumuje mrkvu každý deň.

Spotreba ovocia a zeleniny celosvetovo vzrástla vďaka odporúčaniam pre zdravšie stravovanie. Všeobecne sa odporúča dospelým konzumácia piatich porcií zeleniny a dve porcie ovocia denne (Golian et al., 2021). Práve preto, sa „smoothies“ a podobné miešané nápoje stávajú veľmi populárnymi. Môžu sa konzumovať nielen doma, ale aj v zariadeniach verejného stravovania. Možno to považovať za vhodný spôsob dodržiavania odporúčaného príjmu ovocia a zeleniny denne. S tým ale, prichádza možnosť kontaminácie patogénnymi a toxinogénnymi mikroorganizmami. Dokladujú to aj štúdie, v ktorých sa uvádza výskyt napr. salmonelózy v spojení s konzumáciou vodného melónu, norovírusovej infekcie po konzumácii čerstvého ovocného šalátu, či yersinióza (mrkva a/alebo šaláty), patogénnej *E. coli* v šaláte, špenáte a „inej listovej zelenine“ a *Salmonella* spp. (šalát, „iná listová zelenina“, paradajky, melóny a „iné tekvicovité rastliny“, ako napr. uhorky a tekvice). Podceňovať nemožno ani údaje o výskyte vírusov. Prehľadová štúdia Bozkurta et al. (2021a) ukázala, že podiel ohnísk vírusovej hepatitídy typu A a norovírusov je vo všeobecnosti vyšší v prípade mrazeného bobuľového ovocia ako čerstvých plodov s výnimkou jahôd. V rokoch 1983 až 2018 sa mrazené bobuľové ovocie podieľalo na 77 % prípadov vírusovej hepatitídy typu A a 68 % prípadov vyvolaných norovírusom.

Literatúra

- Ahlgren, M., Gustafsson, I. B., Hall, G. 2004. Attitudes and beliefs directed towards ready-meal consumption. In *Food Service Technology*, 4, 159–169.
- Ahlgren, M. K., Gustafsson, I. B., Hall, G. 2005. The impact of the meal situation on the consumption of ready meals. In *International Journal of Consumer Studies*, 29, 485–492. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1470-6431.2005.00416.x>
- Bozkurt, H., Phan-Thien, K. Y., van Ogtrop, F., Bell, T., McConchie, R. (2021). Outbreaks, occurrence, and control of norovirus and hepatitis A virus contamination in berries: A review. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(1), 116-138.
- Delgado, A., Sun, D. W. 2001. Heat and mass transfer models for predicting freezing processes-A review. In *Journal Food Engineering*, 47, 157–174.
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), Koutsoumanis, K., Alvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., Chemaly, M., Allende, A. 2020. The public health risk posed by *Listeria monocytogenes* in frozen fruit and vegetables including herbs, blanched during processing. In *EFSA Journal*, 18(4), e06092.
- Favell, D. A. 1998. Comparison of the vitamin C content of fresh and frozen vegetables. In *Food Chemistry*, 62, 59–64.
- Frozen and Fruit & Veg Global Markets Report 2021: Frozen Fruit, Juice, and Vegetable, Frozen Specialty Food, Fruit and Vegetable Canning, Specialty Canning, Dried and Dehydrated Food-Research and Markets. Com |Business Wire. Available online: <https://www.businesswire.com/news/home/20210812005658/en/Frozen-and-Fruit-Veg-Global-Markets-Report-2021-Frozen-Fruit-Juice-And-Vegetable-Frozen-Specialty-Food-Fruit-And-Vegetable-Canning-Specialty-Canning-Dried-AndDehydrated-Food---ResearchAndMarkets.com> (accessed on 28 March 2022).
- Golian, J., Minárik, P., Mináriková, D. 2021. *Potravinová a nutričná gramotnosť. I.* Dr. Jozef Raabe Slovensko, s.r.o. ISBN 978-80-8140-621-8.
- Hasani, A., Kokthi, E., Zoto, O., Berisha, K., Miftari, I. 2022. Analysing Consumer Perception on Quality and Safety of Frozen Foods in Emerging Economies: Evidence from Albania and Kosovo. In *Foods*, 11, 1247. <https://doi.org/10.3390/foods11091247>
- Ho, A. Y., Lopez, A. S., Eberhart, M. G., Levenson, R., Finkel, B. S., da Silva, A. J., Herwaldt, B. L. 2002. Outbreak of cyclosporiasis associated with imported raspberries, Philadelphia, Pennsylvania, 2000. In *Emerging Infectious Diseases*, 8(8), 783.
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 2005. Vegetables and vegetable products. In: ICMSF, *Microorganisms in foods 6: microbial ecology of food commodities*, 2nd edn. Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 2011. *Microorganisms in foods 8: use of data for assessing process control and product acceptance*. Springer.

- James, S.S., James, C. Quality and Safety of Frozen Meat and Meat Products. 2011. Volume 18. Available online: <https://www.routledge.com/Handbook-of-Frozen-Food-Processing-and-Packaging/Sun/p/book/9781439836040>
- Jongen, W. 2002. *Fruit and vegetable processing: improving quality*. Elsevier. ISBN 0-8493-1541-7.
- King, N., Hewitt, J., Cressey, P., Percec-Merien, A.M., D'Sa, E. 2020. Discussion document update: pathogens in fresh fruit and vegetables in New Zealand. New Zealand Food Safety Technical report No: 2020/18. <https://www.mpi.govt.nz/dmsdocument/40956/direct>.
- Li, L., Pegg, R. B., Eitenmiller, R. R., Chun, J. Y., Kerrihard, A. L. 2017. Selected nutrient analyses of fresh, stored, and frozen fruits and vegetables. In *Journal of Food Composition and Analysis*, 59, 8-17. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2017.02.002>
- Maureen, S. M., Anderson, P. 2018. Total fruit and vegetable consumption increases among consumers of frozen fruit and vegetables. In *Nutrition*, 46, 115-121. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2017.08.013>
- Palumbo, M., Harris, L. J., Danyluk, M. D. 2014. Survival of Foodborne Pathogens on Berries: FSHN13-12/FS236, 11/2013. EDIS, 2014(7).
- Santos, M. I., Grácio, M., Silva, M. C., Pedroso, L., Lima, A. 2023. One health perspectives on food safety in minimally processed vegetables and fruits: from farm to fork. In *Microorganisms*, 11, 2990. doi: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11122990>
- Percec, A. M. 2023. Microbial risks associated with frozen raw produce used in uncooked food preparations. In New Zealand Food Safety Technical Paper No. 2023/14. ISSN No: 2624-022X (online).
- Salvadori, V., Mascheroni, R. H. 2002. Analysis of impingement freezers performance. In *Journal Food Engineering*, 54, 133–140.
- Skrupskis, I., Melgalve, I., Kozule, V., Boca, S. 2015. “High Quality Frozen Food” in High Quality Frozen Food. May 2015, pp. 155–158. Available online: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=LV2005000494>
- Storey, M., Anderson, P. 2018. Total fruit and vegetable consumption increases among consumers of frozen fruit and vegetables. In *Nutrition*, 46, 115–121
- Yiu, H., Evranuz, E. O. Handbook of Vegetable Preservation and Processing, CRR Press: Boca Raton, FL, USA, 2015. Available online: <https://www.routledge.com/Handbook-of-Vegetable-Preservation-and-Processing/Hui-Evranuz/p/book/9781482212280>
- Vanhonacker, F., Pieniak, Z., Verbeke, W. 2013. European consumer perceptions and barriers for fresh, frozen, preserved and ready-meal fish products. In *British Food Journal*, 115, 508–525.
- World Health Organization. 2014. Multi criteria-based ranking for risk management of food-borne parasites: Microbiological risk assessment series 2014. No. 23. World Health Organization, Rome, Italy, 302 pp.

Pod'akovanie: Štúdiá prebiehala s finančnou podporou projektu KEGA 007UVLF-4/2024.

Kontaktná adresa: Eva Dudriková, doc. MVDr., PhD. Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice

VLIV KULINÁRNÍ ÚPRAVY NA NUTRIČNÍ HODNOTU HMYZU THE EFFECT OF CULINARY TREATMENT ON THE NUTRITIONAL VALUES OF INSECTS

Lenka Kouřimská, Dora Petříčková, Martin Kulma, Michal Kurečka, Tereza Michlová, Barbora Lampová

Abstract: Although the nutritional value of edible insects has been studied extensively, adequate data regarding the effects exerted by processing methods on their chemical composition are scant. In this study, our objective was to assess the effects of boiling, roasting, oven drying, and microwave heating on the nutritional value of insects euthanised via blanching or freezing. Our results indicated that both the methods of killing and culinary treatment significantly influenced the nutritional value of mealworms (*Tenebrio molitor*) and Jamaican field crickets (*Gryllus assimilis*). Blanched and boiled mealworm larvae contained the lowest level of protein (54.76 g.100 g⁻¹ DM), and the highest content of fat (35.28 g.100 g⁻¹ DM), while blanched, oven-dried crickets yielded the highest levels of protein (72.95 g.100 g⁻¹ DM) and the lowest levels of fat (13.31 g.100 g⁻¹ DM). Culinary treatments uniformly resulted in increased proportions of polyunsaturated fats (PUFAs), while the percentage of saturated fatty acids (SFAs) exhibited a decrease. In contrast to lipids, the protein amino acid composition and quality, assessed via the essential amino acid index remained almost unchanged regardless of culinary treatment type. Given the rarity of raw insect consumption, gaining insights into the nutritional content of prepared insect-based dishes is of paramount importance.

Keywords: edible insects, nutritional content, method of killing, culinary treatment

INTRODUCTION

The global population is projected to exceed 9 billion by 2050 (Melgar-Lalanne and Hernandez Alvarez, 2019). Although such an increase in population may require a roughly 100% increase in food production (Lange and Nakamura, 2021), the land available for food production remains limited. Thus, alternative food sources that impose lesser demands on agricultural land and drinking water are urgently needed. Entomophagy has recently been suggested as a possible solution for the global protein shortage by many authors as e.g. Queiroz et al., (2023). Compared with conventional farm animals, edible insects produce less greenhouse gases and ammonia, require minimal farmland, and consume less water (Moruzzo et al., 2021; Oonincx et al., 2010). Edible insects are consumed by more than 2 billion people in several countries worldwide. Totally, over 2,100 insect species are known to be used as food for humans (Jongema, 2017). Even though entomophagy is not common in western society, edible insects have been included among novel foods via Regulation (EU) 2015/2283.

The nutritional value of edible insects, which depends on species, sex, diet, developmental stage, and environment, is highly variable (Lange and Nakamura, 2021; Kulma et al., 2019). In general, insects may be considered as a rich source of proteins and fats. The protein content in insects ranges from 40 to 75 g.100 g⁻¹ of dry matter (DM), which is comparable to that of other animal sources, such as pork or beef (Lange and Nakamura, 2021; Tang et al., 2019). For edible insects, the essential amino acid score (AAS), which determines the quality of these proteins, ranges from 46 % to 96 %. Moreover, most edible insects contain enough essential amino acids, such as tryptophan, methionine, or lysine, which are often lacking in some plant proteins (Sun-Waterhouse et al., 2016). The fat content of insects ranges from 7 to 77 g.100 g⁻¹ DM (Belluco et al., 2013). Like protein quality, the quality of lipids expressed

in atherogenicity and thrombogenicity indices is comparable to that for conventional sources, such as fish oil, palm oil or pork lard (Kulma et al., 2019).

Of the tested species, mealworms (*Tenebrio molitor*) reportedly provide good nutritional value with a crude protein content of 44.83-65.60 g.100 g⁻¹ in DM, a fat content of 19.10-43.08 g.100 g⁻¹ in DM, a chitin content of 4.73-7.20 g/100 g and an ash content of 2.36-4.90 g.100 g⁻¹ in DM (Gkinali et al., 2022). The Jamaican field cricket (*Gryllus assimilis*), which is approved as feed for farm animals according to Commission Regulation (EU) 2017/893, is also suitable for human consumption. Unlike mealworms, the Jamaican field cricket is representative of a lower-fat species with higher protein content, containing 55.60-71.04 g.100 g⁻¹ crude protein in DM, 7.00-34.00 g.100 g⁻¹ fat in DM, 7.00-8.00 g.100 g⁻¹ fibre in DM, and approximately 4 g.100 g⁻¹ ash in DM (Magara et al., 2020).

Although scientific publications dedicated to the nutritional profiles of edible insects are on the rise, data on the effects exerted by the processing of insects for consumption on their chemical composition remain scant. Since consumption of raw insects is not so recommended (perishable animal material with uncertain microbial safety), edible insects are typically eaten after being culinary processed via boiling, frying, roasting, or drying. However, culinary treatment may change sensory quality and nutritional composition. Boiling may cause the loss of some nutrients, such as proteins and certain vitamins, via leaching as well as an increase in water content (Caparros Megido et al., 2018; Lesage et al., 2021; Madibela et al., 2007). Drying and roasting may lead to water and nutrient losses. Heat treatment may denature proteins and destroy or modify amino acids. With due consideration given to the above, we aimed to determine the nutritional composition of culinary treated edible insects, with reference to the quality and quantity of proteins and lipids. Furthermore, these findings may help enrich nutritional databases wherein such insect-related data are currently unavailable.

MATERIAL AND METODOLOGY

Insect samples

The insects (larvae of yellow mealworm, and adults of Jamaican field cricket) used in this study were obtained from the Insectarium of the Department of Zoology and Fisheries at the Czech University of Life Sciences Prague, where they were kept at 27±2°C and 40-50 % relative humidity. Both species were fed ad libitum; meal worms were fed a mixture of oat brans and chicken feed (4:1) while the crickets were fed chicken feed. The feed mixtures, which were produced in the university experimental facility, consisted of soybean meal extract (Prowena s.r.o.), vitamin and mineral premix, calcium, monocalcium phosphate (Trow Nutrition Biofactory s.r.o.), rapeseed oil (Fabio s.r.o.), and wheat (from Czech University of Life Sciences fields). Prior to harvesting, the insects were starved for 24 h. Next, they were euthanised either by blanching (300 g of edible insects placed for 20 s in 3 l of boiling water) or freezing (edible insects were placed in a freezer at -80°C). The euthanised insects were subsequently culinary treated using boiling, roasting, drying and microwave heating. Parameters of the culinary treatment of edible insects were as follows: boiling via 300 g of sample being placed in 3 l of boiling water for 30 min; roasting via 150–200 g of insects being roasted for 5 min in a pre-heated pan without oil; and drying via 60–80 g of sample being dried using hot air at 80°C for 15 h in the oven (Memmert, Schwabach, Germany). Microwave heating was achieved by heating 240 g of Jamaican field crickets in a kitchen microwave (Samsung GE83X, 800 W) for a total of 8 min. The samples were always heated for 1 min followed by a 4-minute break. In the case of mealworms, 280 g of sample was heated for a total of 10 min; they were also heated for 1 min followed by a 4-minute break. Each treatment was replicated thrice, and samples were pooled together to cover possible variability associated with cooking. Following culinary treatment, the samples were lyophilised (Trigon Plus lyophiliser,

Čestlice, Czech Republic), homogenised using a laboratory mill (MultiDrive basic, IKA, Königswinter, Germany) and stored at -80°C until needed for analysis.

Nutritional analysis

Dry matter (DM) was obtained by drying in an oven (Memmert, Schwabach, Germany) at $103\pm 2^{\circ}\text{C}$ overnight. The ash content was determined via mineralisation of the dried samples in a muffle furnace LAC (Verkon, Praha, Czech Republic) at 550°C . The total fat content was determined via the Soxhlet method using petroleum ether p.a. (Lach:ner, $40\text{--}65^{\circ}\text{C}$) as the extraction solvent for 120 min at 70°C via a Soxtherm SOX414 apparatus (C. Gerhardt GmbH and Co. KG, Königswinter, Germany). The nitrogen content was determined via the Kjeldahl method ISO 5983-1:2005 using a Kjeltac 2400 analyser (FOSS, Hillerød, Denmark). The crude protein content was calculated using the nitrogen-to-protein conversion factor of 6.25. The AAS score was calculated using whole egg as a reference protein. The essential amino acid index (EAAI) was estimated as the geometric mean of the AASs of all essential amino acids.

The amino acid profile was determined by Eurofins Food & Feed Testing, Czech Republic s.r.o. which is accredited by the Czech Institute for Accreditation (accredited number 1546). Tryptophan was determined via liquid chromatography with a fluorescent detector, while all other amino acids were determined via ion chromatography with a UV detection.

The analysis of fatty acid composition involved the conversion of triacylglycerols into their methyl esters, followed by GC-FID analysis, using the method previously described by Kulma et al. (2021). The obtained results were evaluated using the area normalisation method and subsequently expressed as relative percentages of all identified fatty acid methyl esters.

Statistical analysis

Data were statistically evaluated via multi-way analysis of variance (ANOVA), followed by Scheffe's post-hoc analyses at a significance level of $\alpha=0.05$, using the Statistica 13.2 software package (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA). F-values were computed to assess differences between groups. The results were expressed as arithmetical means (\bar{x}) \pm standard deviations of three independent samples.

RESULTS AND DISCUSSION

The dry matter content (**Figure 1**) was mostly influenced by culinary treatment ($p < 0.0001$; $F = 458\text{E}2$), followed by insect species ($p < 0.0001$; $F = 4010$), and by way of killing ($p < 0.0001$; $F = 66$). The water content of samples subjected to microwave heating and roasting was lower than that of thermally untreated samples. By contrast, the water content of cooked samples was higher than that of thermally untreated insects. Mealworms contained higher levels of dry matter than crickets.

The crude protein content (**Figure 2**) in mealworms ranged from 54.76 to 60.01 g/100 g, with the lowest values being recorded for cooked samples. The crude protein content in cricket samples, which ranged 64.36 to 72.95 g/100, was significantly higher than that in mealworm samples. 'Insect species' factor showed the highest calculated F value ($F = 6564$; $p < 0.0001$) and were thus confirmed as exerting the highest effect on crude protein content, followed by the 'killing method' ($F = 160$; $p < 0.0001$) and 'culinary treatment' ($F = 50$; $p < 0.0001$).

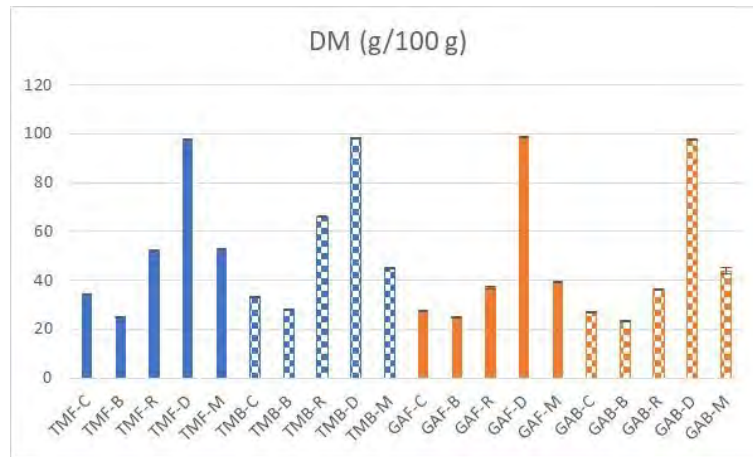


Figure 1 Dry matter content of culinary treated insects (DM – dry matter, TM – *Tenebrio molitor*, GA – *Gryllus assimilis*; way of killing: F – freezing, B – blanching; culinary treatment: C – control, B – boiled, R – roasted, D – dried, M – microwaved)

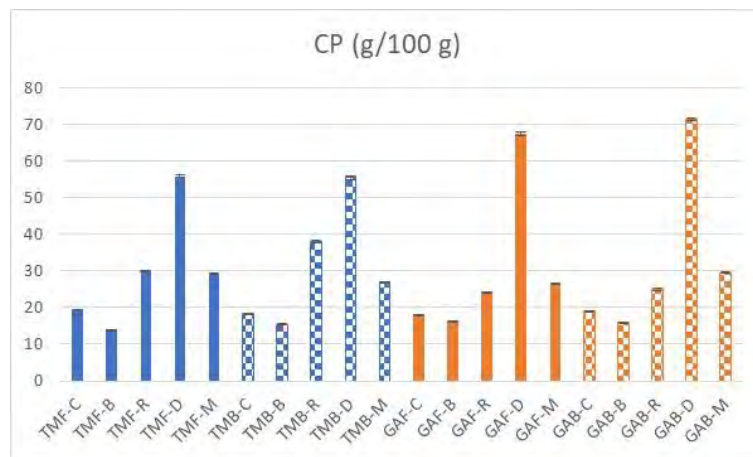


Figure 2 Crude protein content of culinary treated insects (CP – crude protein, TM – *Tenebrio molitor*, GA – *Gryllus assimilis*; way of killing: F – freezing, B – blanching; culinary treatment: C – control, B – boiled, R – roasted, D – dried, M – microwaved)

Mealworms were proven to be a richer source of fat (24.80–35.28 g.100 g⁻¹) than crickets (13.31–23.77 g.100 g⁻¹). The total fat content was mostly influenced by ‘insect species’ (F = 3700; p < 0.0001), whereas the ‘killing method’ (F = 1654; p < 0.0001) and culinary treatment (F = 1281; p < 0.0001) exerted smaller effects (**Figure 3**).

Concerning the amino acid concentrations in the DM no statistically significant differences were observed between the different culinary preparations except for ornithine. Glutamic acid was the most abundant amino acid, whereas hydroxyproline and ornithine, were either minimally present or absent. The sum of cysteine and cystine levels was the lowest among the basic amino acids. Leucine was the most abundant essential amino acid, while methionine and tryptophan were the least abundant. The essential amino acid index (EAAI) for *T. molitor* ranged from 66.1% to 71.5% while that for *G. assimilis* ranged from 63.6% to 68.2% (**Figure 4**). Methionine was identified as the limiting amino acid with the lowest AAS value.

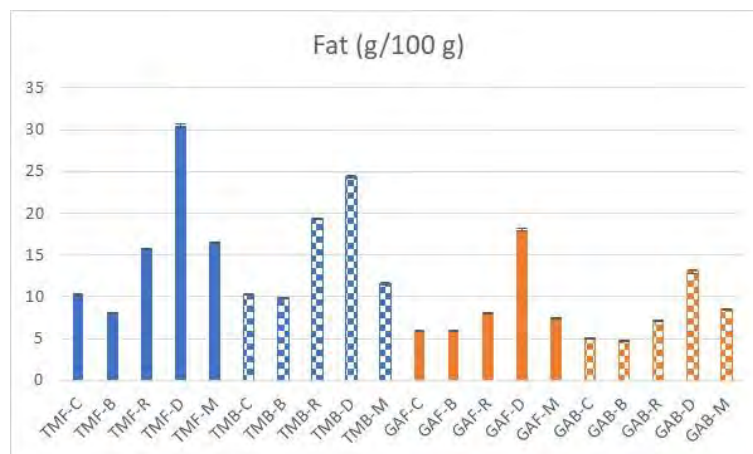


Figure 3 Fat content of culinary treated insects (TM – *Tenebrio molitor*, GA – *Gryllus assimilis*; way of killing: F – freezing, B – blanching; culinary treatment: C – control, B – boiled, R – roasted, D – dried, M – microwaved)

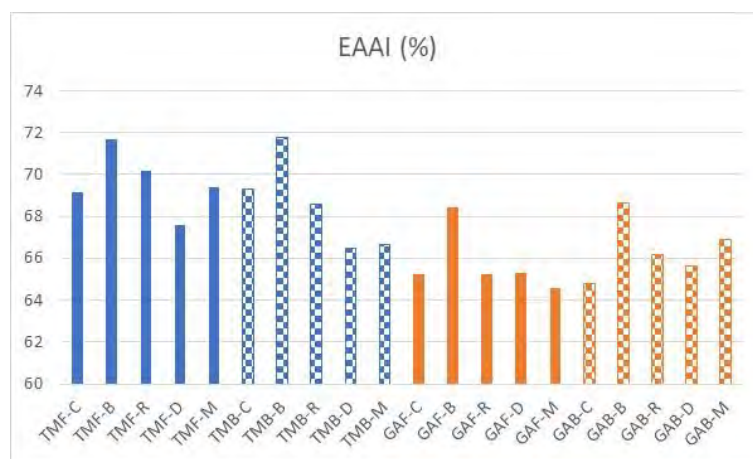


Figure 4 Essential amino acid index of culinary treated insects (EAAI – essential amino acid index, TM – *Tenebrio molitor*, GA – *Gryllus assimilis*; way of killing: F – freezing, B – blanching; culinary treatment: C – control, B – boiled, R – roasted, D – dried, M – microwaved)

Results from the lipid composition showed that in the case of mealworms, oleic acid (C18:1) with 44.74–56.45% was the most abundant FA, with the highest levels being recorded in culinary untreated samples. Furthermore, quite high levels of linoleic acid (C18:2) and palmitic acid (C16:0), ranging from 9.00–28.31 % and 17.07–23.57 %, respectively, were detected. In mealworms, other major FAs with contents higher than 1% included myristic (C14:0), palmitoleic (C16:1), stearic (C18:0), and linolenic acids (C18:3). The major FAs in Jamaican field crickets were the same as those in mealworms. Oleic acid was the dominant fatty acid with 29.42–35.26 %, followed by linoleic with 24.72–30.96 % and palmitic acids with 24.74–28.93 %. Other fatty acids, the contents of which exceeded 1% of the total FA content, included palmitoleic, stearic, linolenic, and eicosadienoic acids. The relative proportion of PUFAs in all culinary treatments increased, whereas that of SFA decreased (Figure 5). This tendency was especially evident in *T. molitor* culinary-treated samples compared to the raw control, regardless of the killing method. In all cases, insect species was the strongest influencing factor, followed by culinary treatment.

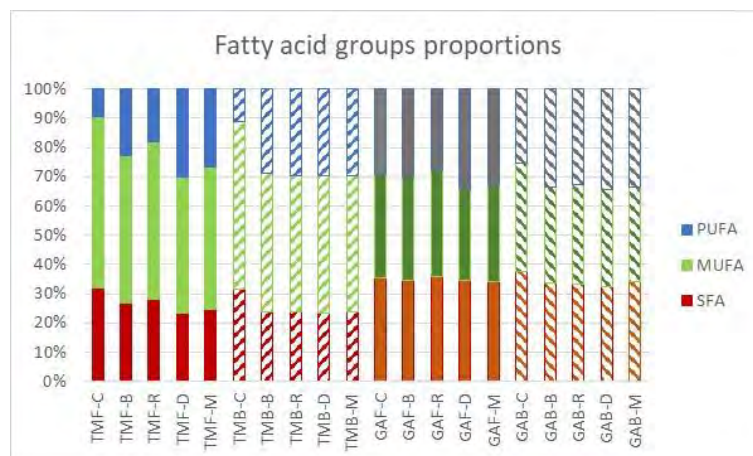


Figure 5 Fatty acid groups proportions (TM – *Tenebrio molitor*, GA – *Gryllus assimilis*; way of killing: F – freezing, B – blanching; culinary treatment: C – control, B – boiled, R – roasted, D – dried, M – microwaved)

In this study, we aimed to enhance existing knowledge regarding the nutritional value of insects. Our results substantiated those of previously published studies (Sánchez-Muros et al., 2014; Toti et al., 2020), indicating that the nutritional value of insects was species-dependent, and that crickets were a better source of protein than the fatter mealworms. As reported by Melgar-Lalanne et al. (2019), raw insects are rarely eaten, whereas dried, pickled, cooked, fried, or roasted insects are commonly consumed. As a result, processing has come to be considered as an important factor in maintaining the quality and safety of insect-based foods in addition to extending their shelf life. Finally, processing also affects taste, aroma, and consequently, acceptance (Liceaga, 2021). However, both the quality and quantity of nutrients are associated with the type of processing. Hence, we also focused on the changes caused by various types of processing.

Among treatments, the DM content in boiled and raw crickets was higher than that in the roasted and microwaved samples. Highest DM was detected in dried mealworms. This indicates that DM content was related to water loss caused by processing. Similar results have been reported for other culinary insects (e.g., Caparros Megido et al., 2018; Nyangena et al., 2020). The effect of processing on the profile of macronutrients were studied by Nyangena et al. (2020) who reported that the differences between crude protein and crude fat contents of four processed insect species depended on their processing. However, minor differences in protein and lipid levels were observed between insects subjected to different treatments by Caparros Megido et al. (2018). This finding was consistent with that of ours, thereby indicating the absence of a clear decreasing trend in macronutrients in the DM of crickets or mealworms. Interestingly, although not always significant, the boiled insects analysed in our study contained the lowest protein and lipid levels of both studied insects and all treatments. The observed differences between proteins may be explained by the loss of small hydrophilic fractions of soluble proteins from the exudate (Caparros Megido et al., 2018; Ursu et al., 2016). The loss of such proteins and other easily extractable compounds, together with the decrease in total dry matter, may also explain the high level of lipids in boiled samples. A high increase in lipids has been reported, mainly in pan-fried insects, largely due to lipids from the oil used for treatment being included (Acosta-Estrada et al., 2021).

Protein quality, based on amino acid composition and calculated parameters (AAS and EAAI), indicated that the quality of insect proteins ranged from moderate to high. Except for that of microwaved mealworms euthanised by blanching, the EAAI of mealworms was higher

than that of Jamaican field crickets. A comparison between the quality indicators of these proteins of mealworms and Jamaican field crickets is unavailable due to the limited nature of knowledge regarding the nutritional value of *G. assimilis*. According to Khatun et al. (2021) the amino acid score of this species is like that of the house cricket, the chemical composition of which has been extensively investigated. Yi et al. (2013) reported that the protein quality of mealworms, as indicated by the EAAI, was significantly higher than that of house crickets, whereas Pasini et al. (2022) found the levels of essential amino acids in house crickets to be higher. Because it is difficult to manipulate essential amino acid content via feeding or rearing (Ooninx and Finke, 2020), it appears that these variations may be due to differences between the various strains of edible insects. With reference to the effects of processing on amino acids, our results calculated per DM content of both insect species showed that insect species exerted the strongest effect, compared with killing method and culinary treatment. This is partly in line with the findings of Khatun et al. (2021), which indicated that the amino acid composition of freeze-dried, oven-dried, and blanched *Acheta domesticus* was slightly affected, whereas it was not changed in *G. assimilis*.

Oleic acid was the dominant fatty acid in both insect species. Interestingly, the levels of oleic acid in raw mealworms detected by our study were higher than those reported by other studies, such as those conducted by Wu et al. (2020) or Caparros Megido et al. (2018). The fatty acid profiles of Jamaican field crickets were consistent with those found in the literature, where minor differences could be attributed to different feeds, which are known to influence fatty acid composition (Kulma et al., 2021; Soares Araújo et al., 2019). Similar to that conducted by Caparros Megido et al. (2018), our study indicated that the highest FA levels shown by raw insects, when compared to culinarily processed insects, were those of two SFAs (C16:0 and C18:0) while the lowest level was that of linoleic acid. The authors attributed this phenomenon to drip loss from adipose tissues containing mainly neutral lipids, such as triglycerides with relatively high SFA levels, which are more prone to migration. The increase in the PUFA content in culinarily processed samples of *T. molitor* may have been caused by the breakdown of complex lipids, such as lipoproteins and glycoproteins.

CONCLUSION

Our research revealed that the killing method and culinary processing may affect the chemical composition of insects, leading to changes in the quantity of nutrients and fatty acid profiles. The differences between fatty acid saturation in raw and treated samples were more significant in *T. molitor* than they were in *G. assimilis*. Unlike lipids, protein quality was not so affected by processing. The EAAI was highest in samples treated by boiling. Methionine was calculated to be a limiting amino acid.

Culinary treatment significantly influenced DM content, resulting in larger differences in nutrients per 100 g of culinarily-treated samples. Insect species and the way of killing were stronger factors than treatment. Our data on the nutritional changes in insects during culinary processing may be helpful to nutritionists engaged in calculating the composition and energy value of foods, which information has not yet been added to food composition databases.

REFERENCES

- Acosta-Estrada, B. A., Reyes, A., Rosell, C. M., Rodrigo, D. and Ibarra-Herrera, C. C., 2021. Benefits and challenges in the incorporation of insects in food products. *Frontiers in Nutrition* 8: 687712. doi:10.3389/fnut.2021.687712.
- Belluco, S., Losasso, C., Maggioletti, M., Alonzi, C. C., Paoletti, M. G. and Ricci, A., 2013. Edible insects in a food safety and nutritional perspective: A critical review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 12: 296–313. doi:10.1111/1541-4337.12014.

- Caparros Megido, R., Poelaert, C., Ernens, M., Liotta, M., Blecker, C., Danthine, S., Tyteca, E., Haubruge, É., Alabi, T., Bindelle, J. and Francis, F., 2018. Effect of household cooking techniques on the microbiological load and the nutritional quality of mealworms (*Tenebrio molitor* L. 1758). *Food Research International* 106: 503–508. doi: 10.1016/j.foodres.2018.01.002.
- Gkinali, A. A., Matsakidou, A., Vasileiou, E. Paraskevopoulou, A., 2022. Potentiality of *Tenebrio molitor* larva-based ingredients for the food industry: A review. *Trends in Food Science and Technology* 119: 495–507. doi: 10.1016/j.tifs.2021.11.024.
- Jongema, Y., 2017. List of edible insects of the world. Retrieved from <https://www.wur.nl/en/research-results/chair-groups/plant-sciences/laboratory-of-entomology/edible-insects/worldwide-species-list.htm>.
- Khatun, H., Claes, J., Smets, R., De Winne, A., Akhtaruzzaman, M. Van Der Borght, M., 2021. Characterization of freeze-dried, oven-dried and blanched house crickets (*Acheta domesticus*) and Jamaican field crickets (*Gryllus assimilis*) by means of their physicochemical properties and volatile compounds. *European Food Research and Technology* 247: 1291–1305. doi:10.1007/s00217-021-03709-x.
- Kulma, M., Kouřimská, L., Plachý, V., Božik, M., Adámková, A. and Vrabec, V., 2019. Effect of sex on the nutritional value of house cricket, *Acheta domestica* L. *Food Chemistry* 272: 267–272. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.08.049.
- Kulma, M., Petříčková, D., Kurečka, M., Kotíková, Z., Táborský, J., Michlová, T. and Kouřimská, L., 2021. Effect of carrot supplementation on nutritional value of insects: A case study with Jamaican field cricket (*Gryllus assimilis*). *Journal of Insects as Food and Feed* 8: 621–629. doi:10.3920/JIFF2021.0138.
- Lange, K.W., Nakamura, Y., 2021. Edible insects as future food: Chances and challenges. *Journal of Future Foods* 1: 38–46. doi: 10.1016/j.jfutfo.2021.10.001.
- Lesage, D. K. M., Clément, S., Bouba Adj, Mohammadou, and Ahmed, A., 2021. Effect of culinary treatments on the nutritional and microbiological properties of *Macrotermes subhyalinus* and *Imbrasia obscura*: Two insects consumed in the Adamawa and Est regions of Cameroon. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology* 15.
- Liceaga, A. M., 2021. Processing insects for use in the food and feed industry. *Current Opinion in Insect Science* 48: 32–36. doi: 10.1016/j.cois.2021.08.002.
- Madibela, O. R., Seitiso, T. K., Thema, T. F., Letso, M., 2007. Effect of traditional processing methods on chemical composition and in vitro true dry matter digestibility of the Mophane worm (*Imbrasia belina*). *Journal of Arid Environments* 68: 492–500. doi: 10.1016/j.jaridenv.2006.06.002.
- Magara, H. J. O., Niassy, S., Ayieko, M. A., Mukundamago, M., Egonyu, J. P., Tanga, C. M., Kimathi, E. K., Ongere, J. O., Fiaboe, K. K. M., Hugel, S., Orinda, M. A., Roos, N., Ekesi, S., 2020. Edible crickets (*Orthoptera*) around the world: Distribution, nutritional value, and other benefits-A review. *Frontiers in Nutrition* 7: 537915. doi:10.3389/finut.2020.537915.
- Melgar-Lalanne, G., Hernández-Álvarez, A. J., Salinas-Castro, A., 2019. Edible Insects Processing: Traditional and Innovative Technologies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 18: 1166–1191.
- Moruzzo, R., Mancini, S., Guidi, A., 2021. Edible insects and sustainable development goals. *Insects* 12. doi:10.3390/insects12060557.
- Mutungi, C., Irungu, F. G., Nduko, J., Mutua, F., Affognon, H., Nakimbugwe, D., Ekesi, S., Fiaboe, K. K. M., 2019. Postharvest processes of edible insects in Africa: A review of processing methods, and the implications for nutrition, safety and new products development. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 59: 276–298. doi:10.1080/10408398.2017.1365330.
- Nyangena, D. N., Mutungi, C., Imathiu, S., Kinyuru, J., Affognon, H., Ekesi, S., Nakimbugwe, D., Fiaboe, K. K. M., 2020. Effects of traditional processing techniques on the nutritional and microbiological quality of four edible insect species used for food and feed in East Africa. *Foods* 9. doi:10.3390/foods9050574.
- Oonincx, D. G., van Itterbeeck, J., Heetkamp, M. J., van den Brand, H., van Loon, J. J., 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. doi: 10.1371/journal.pone.0014445.
- Oonincx, D. G. A. B., Finke, M. D., 2020. Nutritional value of insects and ways to manipulate their composition. *Journal of Insects as Food and Feed* 7: 639–659. doi:10.3920/JIFF2020.0050.
- Pasini, G., Cullere, M., Vegro, M., Simonato, B., Dalle Zotte, A., 2022. Potentiality of protein fractions from the house cricket (*Acheta domesticus*) and yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) for pasta formulation. *LWT* 164: 113638. doi: 10.1016/j.lwt.2022.113638.
- Queiroz, L. S., Nogueira Silva, N. F., Jessen, F., Mohammadifar, M. A., Stephani, R., Fernandes de Carvalho, A., Perrone, Í. T., Casanova, F., 2023. Edible insect as an alternative protein source: A review on the chemistry and functionalities of proteins under different processing methods. *Heliyon* 9, e14831. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e14831.

Sánchez-Muros, M., Barroso, F. G., Manzano-Agugliaro, F., 2014. Insect meal as renewable source of food for animal feeding: A review. *Journal of Cleaner Production* 65: 16–27. doi: 10.1016/j.jclepro.2013.11.068.

Soares Araújo, R. R., dos Santos Benfca, T. A. R., Ferraz, V. P., Moreira Santos, E., 2019. Nutritional composition of insects *Gryllus assimilis* and *Zophobas morio*: Potential foods harvested in Brazil. *Journal of Food Composition and Analysis* 76: 22–26. doi: 10.1016/j.jfca.2018.11.005.

Sun-Waterhouse, D., Waterhouse, G. I. N., You, L., Zhang, J., Liu, Y., Ma, L., Gao, J., Dong, Y., 2016. Transforming insect biomass into consumer wellness foods: A review. *Food Research International* 89: 129–151. doi: 10.1016/j.foodres.2016.10.001.

Tang, C., Yang, D., Liao, H., Sun, H., Liu, C., Wei, L. and Li, F., 2019. Edible insects as a food source: A review. *Food Production, Processing and Nutrition* 1. doi:10.1186/s43014-019-0008-1.

Toti, E., Massaro, L., Kais, A., Aiello, P., Palmery, M., Peluso, I., 2020. Entomophagy: A narrative review on nutritional value, safety, cultural acceptance and a focus on the role of food neophobia in Italy. *European Journal of Investigation in Health, Psychology and Education* 10: 628–643. doi: 10.3390/ejihpe10020046.

Ursu, A. V., Marcati, A., Michaud, P., Djelveh, G., 2016. Valorisation of industrial cooked ham by-products as functional ingredients. *Journal of Food Engineering* 190: 54–60. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2016.06.013.

Yi, L., Lakemond, C. M. M., Sagis, L. M. C., Eisner-Schadler, V., van Huis, A. and van Boekel, M. A. J. S., 2013. Extraction and characterisation of protein fractions from five insect species. *Food Chemistry* 141: 3341–3348. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.05.115.

Acknowledgments: This study was supported by the METROFOOD-CZ research infrastructure project (MEYS grant number: LM2023064), 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 by the Ministry of Agriculture NAZV, QK23020101.

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

KVALITA MRAZENÉHO ŠPENÁTOVÉHO PRETLAKU Z POHLĀDU SPOTREBITEĽA

QUALITY EVALUATION OF FROZEN SPINACH PUREE FROM THE CONSUMER'S POINT OF VIEW

Mariana Kováčová, Jana Zahumenská, Eva Dudriková, Zuzana Hanzelová

Abstract: This work was aimed at determining the quality of deep-frozen spinach puree purchased in retail chains in Slovakia. Samples of spinach puree (ŠP1, ŠP2, ŠP3, ŠP4 and ŠP5) were subjected to sensory analysis using a point test and a profile test. The results of the sensory analysis were strengthened by determining the colour, dry matter, and pH of the tested samples. The results of this work confirmed statistically significant differences in sensory quality ($p < 0.001$), colour ($p < 0.001$), dry matter ($p < 0.001$) and pH ($p < 0.001$) between the tested samples. Based on the results, the ŠP5 sample was rated the best, and the ŠP3 sample was ranked the worst in the quality test.

Keywords: spinach puree, sensory evaluation, frozen storage, colour, food quality

VOD

Udržiavanie kvality a ˇerstvosti zeleniny je dôležitou vlastnosou z pohľadu spotrebiteľa. Kvalita je zložit komplex zahŕňajúci mnoho charakteristík pozostávajúci zo sensorických vlastnosti (vzhľad, textra, chuť a vôňa), nutričnej hodnoty, prtomenosti alebo neprtomenosti špecifických chemických zložíek a funkčných vlastností potravín. Hlavným záujmom výrobcov pri spracovan zeleniny je zachovanie maximálnej sensorickej a nutričnej kvality. Ovplynť ich môže mierny tepeln proces, ktorý môže spôsobiť vznamn stratu farby a zmeny textúry, chuti a celkovej nutričnej hodnoty potravín alebo mikrobiálna kontaminácia (Dermesonluoglu et al., 2015).

Špenát (*Spinacia oleracea* L.) je reprezenttvna zelen listov zelenina, ktor sa bežne konzumuje v ˇerstvom stave alebo ako mrazen výrobok pripraven na varenie, ktorého spotreba sa v súčasnej dobe zvyšuje kvôli jeho pozitívami vlastnostiam súvisiacim so zdravm (Flamminii et al., 2023). Zelen špenát pat medzi zelen zeleninu s vysokým obsahom vitamínov a vlákniny. Obsahuje taktiež flavonoidy, ktoré pôsobia ako antioxidanty. Vitamíny, minerálie a vláknina, ktoré sa nachádzajú v 100 g zeleného špent sú vitamín C (28,1 mg), vitamín A (9377 IU), vitamín E (2,03 mg), kyselina listov (194 μ g), vpnk (99 mg), železo (2,71 mg) a vláknina (2,2 mg). Zelen špenát sa ˇasto spracováva na rôzne potraviny, ako je špentov pretlak, gado gado, špentov koláče a špentov lupienky. Je to preto, že zelen špenát mžno nájsť vo veľkom množstve v Ázii, najmä v Indonézii (Kalengkongan et al., 2020).

Proces zmrazovania a skladovania m vznamn vplyv na kvalitu potravín. Hlavnými fyzikálnymi zmenami, ktoré sa vyskytujú počas mraziarenského reťazca sú strata vlhkosti a rekrytalizcia ľadu (Van Buggenhout et al., 2006). Oba javy súvisia so stabilitou zamrznutej vody produktov, ktor ovplyvňuje štruktúru zeleniny a stratu živín a hmotnosti (Pukszta et Palich, 2007). Okrem toho chemické zmeny v mrazenej zelenine spôsobujú vývoj pachut, degradáciu pigmentu a farby, oxidan poškodenie a stratu vitamínov (napr. vitamínu C). Trvanlivost mrazenej zeleniny sa bežne stanovuje sensorikm hodnotením. Analytick merania farby a textúry a obsahu nutričných zluenn sa paralelne používajú na posilnenie sensorikho hodnotenia (Dermesonluoglu et al., 2015).

Zelenina pri spracovan a skladovan ľahko stráca zelen farbu. Chlorofyl, zdroj zelenej rastlinnej farby, je krehk a môže byť ľahko zmenen alebo znien. Zelenina s vysokým

obsahom chlorofylu počas spracovania a skladovania ľahko vybledne, čo výrazne ovplyvňuje jej kvalitu a atraktivitu zo strany spotrebiteľa. Zmena farby zo svetlozelenej na olivovohnedú počas spracovania a skladovania je spôsobená hlavne degradáciou chlorofylu na feofytín nahradením horčíka v chlorofyle vodíkom a ďalšou tvorbou produktov degradácie (Nisha et al., 2004). Farebné parametre špenátového pretlaku L^* (z bielej na čiernu alebo zo svetlej na tmavú), a^* (zo zelenej na červenú) a b^* (od modrej po žltú) možno merať pomocou digitálnych kolorimetrov (Sánchez et al., 2018). Mnoho faktorov, ako je: pH, teplota, ióny kovov a prítomnosť aktívnych enzýmov môže pôsobiť na degradáciu chlorofylu. (Ryan-Stoneham et Tong, 2000). Ochrana vizuálnej zelenej farby alebo minimalizácia degradácie chlorofylu je výzvou pre spracovateľov potravín, aby vyrábali kvalitnejšie rastlinné produkty (King et al., 2001, Yongguang et al., 2007).

Cieľom tejto práce bolo hodnotiť chuť, vôňu, farbu a konzistenciu špenátu pomocou sensorických hodnotiacich testov z pohľadu spotrebiteľa s paralelným stanovením farby, sušiny a kyslosti na zabezpečenie posilnenia výsledkov senzorickej analýzy testovaných vzoriek hlbokozmrazeného špenátového pretlaku.

MATERIÁL A METODIKA

V rámci tejto práce boli vyšetrené vzorky hlbokozmrazeného špenátového pretlaku zakúpeného v obchodných sieťach na území Slovenskej republiky. Vzorky boli analyzované v januári 2024. Vyšetrované vzorky: ŠP1 – špenátový pretlak (Česká republika); ŠP2 – hlbokozmrazený špenátový pretlak (Slovenská republika); ŠP3 – Český špenát (Česká republika); ŠP4 - Špenátový protlak (Česká republika) a ŠP5 – jemný špenátový pretlak (Rakúsko) boli až do doby analýzy uskladnené pri teplote $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. U troch vzoriek (ŠP1, ŠP2 a ŠP3) bol použitý obal z polyvinylchloridového materiálu. Vzorky (ŠP4 a ŠP5) boli balené v kartónovom bloku. Rozmrazenie vyšetrovaných vzoriek sa uskutočnilo pri izbovej teplote $21 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 2 hodín. Vzorky boli následne podrobené senzorickej analýze, stanoveniu farby a stanoveniu sušiny na Katedre hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach.

Senzorická analýza podľa Maľa (2012) a Lawlessa a Heymanna (2010) spočívala v hodnotení balenia, chuti, vône, konzistencie a farby vzoriek vybranou skupinou desaťčlenného hodnotiteľského panelu. Panel posudzovateľov bol vybraný a vyškolený podľa noriem ISO (ISO, 1993) v senzorickej laboratóriu zriadenom podľa noriem ISO (ISO, 1988) na Inštitúte vzdelávania veterinárnych lekárov v Košiciach, Slovensko. Po zaškolení panelu sa vzorky špenátového pretlaku podávali v náhodnom poradí každému účastníkovi panelu, ktorý následne vykonal bodový a profilový test. Vzorky boli predkladané pri $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (teplota spotreby $20 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$). Na vyplachovanie úst bola poskytnutá minerálna voda.

Bodový test hodnotenia znakov kvality špenátového pretlaku bol vykonaný použitím hedonickej stupnice od 1 - zlá; 2 - vyhovujúca; 3 - dobrá; 4 - veľmi dobrá; 5 - výborná. Celkovo bolo hodnotených desať parametrov (50 bodov).

Následne bol hodnotený profilový test deskriptorov chuti a vône intenzitnou škálou od 0 - 6, kde 0 - nevnímateľná, 1 - veľmi slabo vnímateľná, 2 - slabo vnímateľná, 3 - vnímateľná, 4 - zreteľne vnímateľná, 5 - silno vnímateľná, 6 - veľmi silno vnímateľná. Každý posudzovaný produkt bol hodnotený anonymne.

Farba analyzovaných vzoriek špenátových pretlakov (ŠP1, ŠP2, ŠP3, ŠP4, ŠP5) bola kvantitatívne meraná prístrojom Minolta Chroma meter CR-410 (Minolta, Osaka, Japonsko) (McLaren, 1976) pomocou hodnôt Medzinárodnej komisie pre osvetlenie za použitia softvéru farebných údajov CM-S100w SpectraMagic NX (Konica Minolta Sensing Inc.). Pre všetky vzorky boli stanovené tri farebné parametre, L^* (svetlosť), a^* (zeleno-červená) hodnota a b^*

(modro-žltá) hodnota. Merania farieb boli stanovené podľa systému farieb CIELAB (Commission Internationale de l'Éclairage, 1986) (CIE, 1986).

Obsah sušiny bol stanovený pomocou medzinárodných štandardných metód (IDF, 1982) použitím štandardného analyzátora vlhkosti (RADWAG MA.R).

Stanovenie pH disperzie bolo vykonané potenciometricky pomocou digitálneho inoLab® pH 340i metra (Wissenschaftlich-Technische Werkstätten, Weilheim, Nemecko) (IDF, 1989).

Výsledky tejto práce boli vyhodnotené štatistickým programom jednosmernej analýzy rozptylu (ANOVA). Test ANOVA a Tukey pre viacnásobné porovnanie priemerov s intervalom spoľahlivosti nastaveným na 95 % sa uskutočnil so štatistickým softvérom GraphPad Prism 8.3.0.538 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Číselné údaje prezentované v tejto štúdií sú vyjadrené ako priemerná hodnota pre každý parameter \pm štandardnej odchýlky (SD).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Najbežnejším produktom konzervovania špenátu je mrazený špenátový pretlak. Kľúčovými meradlami kvality tohto produktu sú okrem hygieny a bezpečnosti vysoká nutričná hodnota a dobré senzorické vlastnosti. Na senzorické vlastnosti je kladený dôraz predovšetkým na požadovanú intenzívnu tmavozelenú farbu (Mendelová et al., 2013).

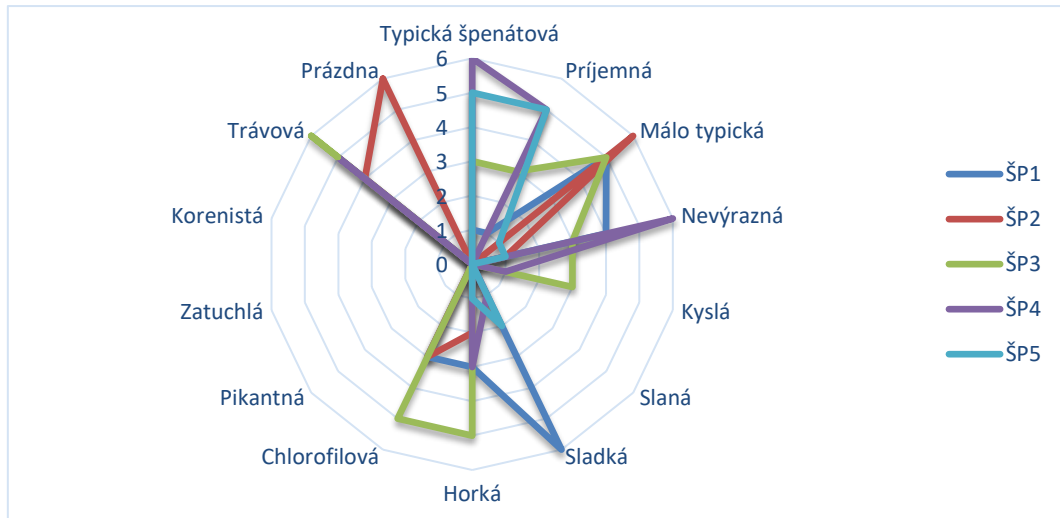
Výsledky stanovenia senzorickej kvality testovaných vzoriek hlbokozmrazeného špenátu zamerané na hodnotenia znakov kvality (homogénna konzistencia, jemná konzistencia, tekutá konzistencia, pevná konzistencia, prítomnosť vláknien, gélová konzistencia, vyrovnaná tmavozelená farba, príjemná vôňa, neporušenosť obalu a celkový vzhľad) v bodovom teste poukázali na štatisticky významné rozdiely ($p < 0,001$) vo vybraných sledovaných parametroch medzi jednotlivými vzorkami. Najlepšia senzorická kvalita bola stanovená u vzorky ŠP5 ($36,17 \pm 0,41$ bodov), za ktorou nasledovala vzorka ŠP4 ($33,50 \pm 0,55$ bodov); ŠP2 ($29,67 \pm 1,03$ bodov); ŠP1 ($28,67 \pm 1,3$ bodov); ŠP3 ($25,00 \pm 0,1,26$ bodov). Štatistický významný rozdiel ($p < 0.001$) bol stanovený použitím analýzy rozptylu a Tukey testu medzi všetkými vzorkami s výnimkou ŠP1 vs. ŠP2 ($p > 0.05$).

Zmrazovanie je v porovnaní s inými technikami najlepšia metóda konzervácie, pokiaľ ide o zachovanie živín a zachovanie senzorických vlastností. Avšak niekoľko zmien fyzikálnej a štruktúrnej kvality spojených so zmrazovaním a rozmrazovaním predstavuje vážny problém pre kvalitu mrazených produktov (Grover a Negi 2023).

Bodové hodnotenie homogénnej konzistencie, jemnej konzistencie, príjemnej vône a celkového vzhľadu bolo výborne hodnotené u vzorky ŠP5, ktorá získala navýši počet bodov. Najmenej bodov bolo priradených vzorke ŠP3 kde bol zaznamenaný problém s homogénnou konzistenciou, jemnou konzistenciou a pevnosťou. V tejto vzorke boli negatívne hodnotené parametre prítomnosti veľkých vláknien, gélovej konzistencie a taktiež nevyrovnanosť farby. Obal testovaných vzoriek (ŠP1, ŠP2, ŠP3, ŠP4 a ŠP5) nebol poškodený v žiadnom prípade.

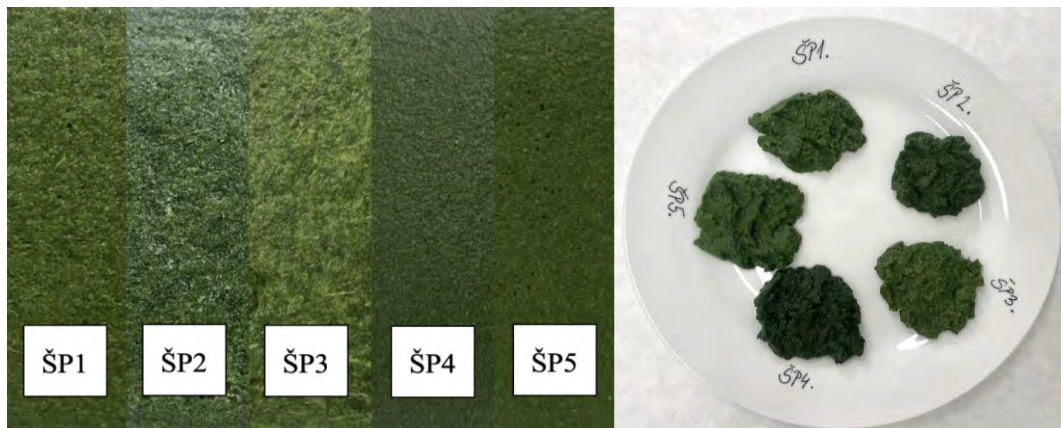
V celkovom hodnotení profilového testu deskriptorov chuti a vône bola skupinou hodnotiteľského panelu najlepšie hodnotená vzorka ŠP5, ktorá mala typickú špenátovú, príjemnú, jemne sladkú, veľmi slabo vnímateľnú horkú chuť bez prítomnosti chýb (Obrázok 1). Druhou najlepšie hodnotenou vzorkou bola ŠP4, ktorá bola typickej špenátovej chuti a vône, bola vyrovnaná vo všetkých sledovaných parametroch až na parameter trávovej chuti a vône, ktorá bola v tomto bode silno vnímateľná. Sladká chuť bola prítomná len v jednej vzorke t. j. ŠP1, táto vzorka sa v ostatných parametroch výrazne neodlišovala od ostatných vzoriek na základe čoho bola hodnotená ako tretia najlepšia v profilovom teste. Deskriptor prázdnej chuti bol prítomný len v jednej z testovaných vzoriek a to v ŠP2, ktorá bola taktiež

negatívne hodnotená v deskriptore málo typickej špenátovej chuti a vône. Profilový test vzorky mrazeného špenátu ŠP3 bol výrazne negatívne hodnotený v deskriptoroch kyslej, horkej, chlorofilovej a trávovej chuti a vône. Prítomnosť slanej, pikantnej, zatuchlej korenistej chuti a vône nebola stanovená v žiadnej z analyzovaných vzoriek hlbokozmrazeného špenátového pretlaku.



Obrázok 1. Grafické znázornenie profilu chuti a vône

Farba je dôležitým kvalitatívnym znakom a hlavným ukazovateľom ovplyvňujúcim zmyslové vnímanie a prijímanie potravín spotrebiteľmi, najmä v prípade čerstvej alebo spracovanej listovej zeleniny (Wang et al., 2013). Farebný rozdiel v hodnotách L^* (svetlosť), a^* (zeleno-červená) hodnota a b^* (modro-žltá), ktorý bol stanovený v bodovom hodnotení sensorickej kvality vzoriek mrazeného špenátu bol následne potvrdený analýzou použitím prístroja Chromameter CR-410. Výsledky stanovenie farebných parametrov sa od seba výrazne líšili (Obrázok 2).



Obrázok 2, Farebný profil vzoriek špenátových pretlakov (ŠP1, ŠP2, ŠP3, ŠP4, ŠP5)

Vzorka ŠP4 vykazovala výrazne rozdielne parametre hodnôt L^* (svetlosť), a^* (zeleno-červená) a b^* (modro-žltá). L^* hodnota vzorky ŠP4 bola $27,38 \pm 0,33$, z čoho vyplýva, že bola najtmavšia spomedzi všetkých vzoriek. Najsvetlejšou vzorkou bola stanovená vzorka ŠP1 ($32,40 \pm 0,26 L^*$). Najvýraznejší farebný rozdiel hodnôt a^* a b^* bol detekovaný medzi ŠP1 a ŠP3 (Tabuľka 1). Bahceci et al. (2005) uvádzajú, že spracovanie blanšírovanej zeleniny môže deaktivovať určité enzýmy, ktoré rozkladajú fytochemikálie v závislosti od trvania a použitej teploty. Počas blanšírovania však môže dôjsť aj k nežiaducemu zafarbeniu, zmene chuti, textúry

a zníženiu nutričnej kvality. Aamir et al. (2014) stanovili farebné parametre čerstvého špenátu L^* : $43,9 \pm 0,7$ (leto), $39,2 \pm 0,3$ (jeseň), $35,9 \pm 1,0$ (zima), $39,4 \pm 0,6$ (jar); a^* : $-10,4 \pm 0,5$ (leto), $-9,3 \pm 0,3$ (jeseň), $-8,6 \pm 0,2$ (zima), $-9,0 \pm 0,2$ (jar); b^* : $25,1 \pm 1,8$ (leto), $21,2 \pm 0,8$ (jeseň), $20,2 \pm 0,6$ (zima), $20,7 \pm 0,2$ (jar). Ich výsledky v porovnaní s našimi nameranými hodnotami potvrdzujú výraznú zmenu parametrov L^* a b^* špenátu pred jeho spracovaním a mrazením a po jeho zmrazení.

Tabuľka 1, Výsledky merania farby (L^* , a^* , b^*) vzoriek špenátových pretlakov

	ŠP1	ŠP2	ŠP3	ŠP4	ŠP5	<i>p</i> Hodnota
L^*	$32,40 \pm 0,26^a$	$29,37 \pm 0,67^d$	$32,22 \pm 0,27^a$	$27,38 \pm 0,33^c$	$31,24 \pm 0,38^b$	<0,001
a^*	$-11,97 \pm 0,25^e$	$-9,32 \pm 0,23^b$	$-10,61 \pm 0,13^c$	$-7,18 \pm 0,12^a$	$-10,96 \pm 0,05^d$	<0,001
b^*	$13,34 \pm 0,41^a$	$9,06 \pm 0,41^d$	$12,32 \pm 0,22^b$	$6,12 \pm 0,09^e$	$11,50 \pm 0,07^c$	<0,001

a, b, c, d, e – priemerné hodnoty s odlišným horným indexom v riadku ($p < 0,05$); SD - smerodajná odchýlka

Výsledky stanovenia obsahu sušiny v analyzovaných vzorkách poukázali na najvyšší obsah vo vzorke ŠP1 ($8,77 \pm 0,02$ %). Najnižší obsah sušiny bol stanovený vo vzorke ŠP3 ($6,48 \pm 0,02$ %). Vo vzorke ŠP2 bol stanovený obsah sušiny $8,31 \pm 0,01$ %; vo vzorke ŠP4 ($7,72 \pm 0,03$ %) a vo vzorke ŠP5 ($6,84 \pm 0,03$ %). Obsah sušiny v testovaných vzorkách bol rozdielny na hladine štatistickej významnosti ($p < 0,001$).

V rámci stanovenia pH sa kyslosť testovaných vzoriek (Tabuľka 2) pohybovala v rozmedzí od $7,25 \pm 0,03$ (ŠP1) do $6,83 \pm 0,09$ pH (ŠP3); $p < 0,001$.

Tabuľka 2, Výsledky stanovenia obsahu sušiny a pH vzoriek špenátových pretlakov

	ŠP1	ŠP2	ŠP3	ŠP4	ŠP5	<i>p</i> Hodnota
Sušina %	$8,77 \pm 0,02^a$	$8,31 \pm 0,01^b$	$6,48 \pm 0,02^e$	$7,72 \pm 0,03^c$	$6,84 \pm 0,03^d$	<0,001
pH	$7,25 \pm 0,03^a$	$7,24 \pm 0,03^a$	$6,83 \pm 0,09^c$	$7,18 \pm 0,02^{b,a}$	$6,85 \pm 0,03^c$	<0,001

a, b, c, d, e – priemerné hodnoty s odlišným horným indexom v riadku ($p < 0,05$); SD - smerodajná odchýlka

Dermesonluoglu et al. (2015) stanovovali v mrazenom listovom špenáte obsah vitamínu C, chlorofyl (*a*, *b* a celkový), farbu, textúru a senzorické vlastnosti. Na základe získaných výsledkov konštatovali použitie týchto parametrov ako spoľahlivé ukazovatele kvality korelujúce s koncom trvanlivosti produktu.

ZÁVER

Špenát patrí medzi nutrične najvýznamnejšie druhy listovej zeleniny. Prevažná časť produkcie špenátových listov sa spracováva mrazením na špenátový pretlak. Každá zo skúmaných vzoriek síce vyhovovala požiadavkám spotrebiteľa, napriek tomu boli stanovené významné rozdiely vo farbe, konzistencii, chuti a vôni. Keďže by sme nemali brať do úvahy len ich chuťové vlastnosti alebo ich stráviteľnosť, pri hodnotení kvality sme vychádzali aj z výsledkov fyzikálno-chemických vlastností. Bola potvrdená štatistická významnosť medzi obsahom sušiny a pH, nakoľko vzorka ŠP5 balená vo forme mrazeného bloku bola celkovo najlepšie hodnotená. Obalový materiál (kartónový obal) použitý vo vzorkách ŠP4 a ŠP5 s najlepšou kvalitou mohol ovplyvniť ich kvalitu. Neznamená to však zhoršenie kvality, iba možné

rozdiely v technologickom postupe spracovania. Táto práca prispela k objasneniu senzorických zmien spojených s procesom zmrazovania listovej zeleniny

LITERATÚRA

- Aamir, M., Ovissipour, M., Rasco, B., Tang, J., Sablani, S. 2014. Seasonality of the Thermal Kinetics of Color Changes in Whole Spinach (*Spinacia Oleracea*) Leaves Under Pasteurization Conditions. In *International Journal of Food Properties*, vol. 17, no. 9, pp 2012–2024.
- Bahceci, K. S., Serpen, A., Gokmen, V., Acar, J. 2005. Study of lipoxygenase and peroxidase as indicator enzymes in green beans: Change of enzyme activity, ascorbic acid and chlorophylls during frozen storage. In *Journal of Food Engineering*, vol. 66, no. 2, pp. 187–192.
- Commission Internationale de l'Eclairage (CIE). Colorimetry, 2nd ed.; Publication CIE No. 15.2.; Commission Internationale de l'Eclairage: Vienna, Austria, 1986.
- Dermesonluoglu, E., Katsaros, G., Tsevdou, M., Giannakourou, M., Taoukis, P. 2015. Kinetic study of quality indices and shelf life modelling of frozen spinach under dynamic conditions of the cold chain. In *Journal of Food Engineering*, vol. 148, pp 13–23.
- Flamminii, F.; Minetti, S.; Mollica, A.; Cichelli, A.; Cerretani, L. 2023. The Effect of Washing, Blanching and Frozen Storage on Pesticide Residue in Spinach. In *Foods*, vol. 12, pp. 2806.
- Grover, Y., Negi, P. S. 2023. Recent developments in freezing of fruits and vegetables: Striving for controlled ice nucleation and crystallization with enhanced freezing rates. In *Journal of Food Science*, vol. 884, pp 799–4826.
- IDF. Determination of pH; Standard FIL-IDF, 115A; International Dairy Federation: Brussels, Belgium, 1989.
- IDF. Determination of the Dry Matter (Cheese and Processed Cheese); IDF Standard 4A; International Dairy Federation: Brussels, Belgium, 1982, p. 33.
- ISO (1993). ISO 8586-1: Sensory Analysis: Methodology - General guidance for the selection, training and monitoring of assessors. International Organisation for Standardisation, Geneva.
- ISO (1988). ISO 8589: Sensory Analysis: General guidance for the design of test rooms: International Organisation for Standardisation, Geneva.
- Kalengkongan, A. W. P., Sihombing, M., Wahyu, F. D. 2020. Green spinach leather as a Fe source to increase nutritional intake. In *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, vol. 443, pp 012043.
- Lawless, H. T., Heymann, H. 2010. Sensory evaluation of food: principles and practices. Springer: New York, 2nd edition, 573 p. ISBN 978-1-4419-6487-8.
- Maľa, P. 2012. Sensory analysis of food. Košice, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, 158 p. ISBN 978-80-8077-297-0.
- McLaren, K. 1976. The development of the CIE 1976 (L*a*b*) uniform colour-space and colour-difference formula. In *Journal of the Society of Dyers and Colourists*, vol. 92, pp 338–341.
- Nisha, P., Singhal, R. S., Pandit, A. B. 2004. A study on the degradation kinetics of visual green colour in spinach (*Spinacea oleracea* L.) and the effect of salt therein. In *Journal of Food Engineering*, vol. 64, pp 135142.
- Pukszta, T., Palich, P. 2007. The effect of freezing conditions of strawberry storage on the level of thawing drip loss. In *Acta Agrophysica*, vol. 9, pp. 203–208.
- Ryan-Stoneham, T. and Tong, C. H. 2000, Degradation Kinetics of Chlorophyll in Peas as a Function of pH. *Journal of Food Science*, 65: 1296-1302. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10600.x>
- Sánchez, M. T., Entrenas, J. A., Torres, I., Vega, M., Pérez-Marín, D. 2018. Monitoring texture and other quality parameters in spinach plants using NIR spectroscopy. In *Computers and Electronics in Agriculture*, vol. 155, pp 446–452.
- Van Buggenhout, S., Lille, M. Messagie, I., Van Loey, A., Autio, K., Hendrickx, M. 2006. Impact of pretreatment and freezing conditions on the microstructure of frozen carrots: qualification and relation to texture loss. In *European Food Research and Technology*, vol. 222, pp. 543–553.
- Wang, R., Xu, Q., Yao, J., Zhang, Y., Liao, X., Hu, X., Wu, J., Zhang, Y. 2013. Post-effects of high hydrostatic pressure on green color retention and related properties of spinach puree during storage. In *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol.17, pp 63–71.
- Yongguang Y., Han, Y., J. Liu, J. 2007. A novel protecting method for visual green colour in spinach puree treated by high intensity pulsed electric fields. In *Journal of Food Engineering*, vol. 79, pp 1256–1260.

Pod'akovanie: Práca bola podporená projektom 007UVLF-4/2024.

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

PODMIENKY CHOVU LARIEV MUCHY ČIERNEJ POTENCIÁLNE VYUŽITEĽNEJ V BIOKONVERZII KUCHYNSKÉHO ODPADU / BREEDING CONDITIONS OF BLACK SOLDIER FLY LARVAE POTENTIALLY USEFUL IN THE BIOCONVERSION OF KITCHEN WASTE

Zuzana Mašková, Dana Tančinová, Monika Mrvová, Zuzana Barboráková

Abstract: The issue of waste management is one of the biggest environmental challenges worldwide. The amount of continuously produced municipal waste is very serious and is constantly increasing. In effort to look for sustainable ways of food waste managing, we are increasingly turning to biological processes and ecological solutions. One of the promising approaches in the field of waste management is the use of black soldier fly (BSF, *Hermetia illucens*) larvae as a tool for the bioconversion of kitchen waste. The process of bioconversion offers several advantages - efficient waste processing, production of valuable products (a source of nutrients for feed or food purposes, fertilizer with a high nutrient content) and ecological sustainability (the bioconversion process reduces the amount of waste in landfills and contributes to the renewable use of organic resources). Optimal conditions for BSF larvae are key to achieve an effective process. Breeding of black fly and its larvae is ideal in countries with tropical and subtropical climates, but it is possible to achieve the desired results in European countries as well, in the case of creating a closed controlled breeding system. Optimal environmental conditions for all life stages range from 27 to 33 °C and a minimum of 60% relative humidity. A convenient and constant feed source is required, but this can easily be solved by locating insect farms near waste streams such as food processing factories, breweries, or alternatively near food industry quality control centres where large amounts of food are wasted because they are not considered suitable for sale and consumption.

Keywords: biodegradation, BSF, food waste, *Hermetia illucens*, larvae

ÚVOD

Problematika odpadového hospodárstva patrí celosvetovo k najväčším výzvam životného prostredia. Recyklačná úroveň komunálneho odpadu na Slovensku patrí medzi najnižšie v Európskej únii a skládkovanie predstavuje hlavný spôsob jeho likvidácie. Tento spôsob nakladania s odpadom však negatívne ovplyvňuje životné prostredie dvojnásobne. Primárne ohrozenie vyplýva zo skladovania odpadu a možného rizika kontaminácie životného prostredia, zatiaľ čo sekundárna záťaž sa prejavuje tlakom na vyčerpávanie nových zdrojov, pričom mnohé z nich sú neobnoviteľné. V kontajneroch na zmiešaný komunálny odpad často končí aj biologicky rozložiteľný odpad z kuchýň a záhrad. Bioodpad z domácností sa často mieša s iným odpadom a ukladá na skládky, čo výrazne prispieva k zhoršovaniu zmeny klímy. V snahe zvládnuť narastajúce environmentálne výzvy a hľadať udržateľné spôsoby nakladania s odpadom sa čoraz viac obraciame k biologickým procesom a ekologickým riešeniam. Jedným z perspektívnych prístupov v oblasti odpadového hospodárstva je využitie lariev muchy čiernej (*Hermetia illucens*) ako nástroja pre biokonverziu kuchynského odpadu. Tento druh muchy je schopný efektívne premeniť organický materiál na užitočné produkty, ako sú bielkoviny a tuky, čím ponúka atraktívnu alternatívu k tradičným metódam nakladania s odpadom.

ODPADY

Množstvo kontinuálne produkovaného komunálneho odpadu je veľmi závažné a neustále narastá (MŽP SR, 2020). Súčasný metódy jeho likvidácie môžu spôsobiť vážne

zdravotné a environmentálne problémy (Paritosh et al., 2017). Organická hmota, ktorá predstavuje významný podiel odpadov, sa anaeróbne rozkladá na skládkach, produkuje metán, skleníkový plyn spojený s globálnym otepľovaním a výluh zo skládok, ktorý môže dlhodobo znečisťovať spodné vody (Goudie, 2000; Read et al., 2001; Jenčová, 2020). Dôležitým zdrojom organickej hmoty je práve potravinový odpad, ktorý môže obsahovať zvyšky jedla, prebytočné potraviny, znehodnotenú potraviny alebo nepoužitú surovinu. Zahŕňa teda akékoľvek jedlo a nejedlé časti jedla odstránené z potravinového reťazca (z domácností, reštaurácií, obchodov s potravinami a iných zdrojov), ktoré sa majú zhodnotiť alebo zlikvidovať (Blakeney, 2019). V potravinovom reťazci existuje niekoľko faktorov, ktoré spôsobujú plytvanie potravinami, počnúc stratami vo výrobe, stratami pri skladovaní a distribúcii a končiac plytvaním spotrebiteľmi (FAO, 2013). Odhady Organizácie spojených národov (OSN) uvádzajú, že celosvetovo sa ročne vyprodukuje 1,3 miliardy ton potravinového odpadu, čo predstavuje zhruba jednu tretinu potravín vyrobených na ľudskú spotrebu (Gustavsson et al., 2011). Spolu so stále sa zvyšujúcou kvalitou života rastie aj veľkosť populácie, a preto sa nakladanie s potravinovým odpadom stáva veľkou záťažou pre spoločnosť a životné prostredie (Czajczyńska et al., 2017; Paritosh et al., 2017).

Na Slovensku tvorí biologicky rozložiteľný odpad až 45 % zmesového komunálneho odpadu. Ročne sa ho vyprodukuje viac než 500-tisíc ton, teda okolo 100 kg na hlavu (Jenčová, 2020). Podľa MŽP SR (2020) je do roku 2025 cieľom znížiť podiel biologicky rozložiteľného komunálneho odpadu v zmesnom komunálnom odpade na 25 %. Zároveň je našim cieľom odkloniť biologicky rozložiteľné odpady od skládkovania, ktoré má výrazne negatívny environmentálny vplyv. Je potrebné zamerať sa na triedený zber biologicky rozložiteľných kuchynských odpadov z domácností, ktorý je špecifickým druhom odpadu z pohľadu zberu, ale aj z pohľadu spracovania. Vo všeobecnosti je aktuálne jediným primeraným spracovaním biologického odpadu kompostovanie alebo anaeróbna digestia (MŽP SR, 2020). Kompostovanie sa síce považuje za udržateľnú alternatívu skládkovania pri zvažovaní izolovaného potravinového odpadu, ale tento proces je časovo náročný, namáhavý a vyžaduje neustále sledovanie parametrov, ako napr. teplota, okysličenie, pomer uhlíka k dusíku a obsah vlhkosti (de Bertoldi et al., 1983). Vo väčšine prípadov pre túto metódu nie sú vhodné mäsové výrobky a odpady z nich. Preto je problematické komercializovať tradičné spôsoby kompostovania v priemyselnom meradle (Sam et al., 2017). Súčasnú kapacitnú možnosť existujúcich kompostární a bioplynových staníc sú obmedzené ich rozličným technologickým a prevádzkovým vybavením, na čo má hlavný vplyv nedostatočná právna úprava pre oblasť zhodnocovania biologicky rozložiteľných odpadov. Väčšina existujúcich bioplynových staníc je vybudovaná pre spracovanie poľnohospodárskych produktov a existujúce kompostárne sú prevádzkované bez náležitých štandardov a noriem, a to tak pre vstupné odpady, ako aj noriem pre výstupné produkty, t. j. najmä pre kompost. V SR je v súčasnosti prevádzkovaných približne 120 kompostární rozličnej kapacity a technologického vybavenia. Len približne 30 kompostární je povolených na zhodnocovanie kuchynského a reštauračného odpadu, ale mnohé z nich túto činnosť z rôznych dôvodov nevykonávajú (MŽP SR, 2020).

Istou možnosťou, poskytujúcou prostriedok na recykláciu potravinového odpadu, ktorý sa spracováva konvenčným spôsobom, by mohlo byť využitie lariev hmyzu (Agarwal et al., 2005). Za posledné desaťročie prudko vzrástol záujem o masový chov mnohých druhov detritivorného hmyzu (van Huis et Tomberlin, 2017). Hlavným dôvodom tohto záujmu je, že tieto druhy môžu byť chované na nízkokvalitnom biologickom odpade a premieňať ho na vysokokvalitné bielkoviny, lipidy a iné užitočné produkty (Barragán-Fonseca, 2018). Tieto druhy hmyzu sú preto vynikajúcimi kandidátmi na nízko nákladovú produkciu živočíšnych bielkovín ako udržateľného vysoko kvalitného krmiva pre úžitkové zvieratá vrátane hydiny, ošípaných a rýb (deFoliart, 1989; Veldkamp et al., 2012; Wang et Shelomi, 2017).

Jednotlivé druhy hmyzu sa môžu líšiť svojou schopnosťou rásť v rôznych typoch organického odpadu a účinnosťou, akou tento odpad asimilujú na látky vyššej hodnoty. Jedným z najvhodnejších druhov hmyzu na tento účel je mucha čierna (lat. *Hermetia illucens*, angl. Black Soldier Fly – BSF) a jej larválne štádium. Za hlavné výhody jej využitia sa považuje jej schopnosť premieňať organický odpad, znižovať počet určitých škodlivých baktérií a hmyzích škodcov, poskytovať potenciálne chemické prekursorzy na výrobu bionafty a poskytovať vysokokvalitné bielkoviny, ktoré je možné použiť ako krmivo pre rôzne druhy zvierat (Barragán-Fonseca, 2018; Veldkamp et al., 2012). Larvy *Hermetia illucens* sú nenásytnými konzumentmi organickej hmoty a údaje naznačujú, že hodnoty zníženia suchého odpadu sa pohybujú okolo 50 % v závislosti od charakteru odpadu (Alvarez, 2012). Tento druh je polyfágný a jeho črevné extrakty majú vysokú amylázovú, lipázovú a proteázovú aktivitu (Kim et al., 2011). Digestovaný odpad z lariev je následne možné použiť ako náhradu za kompost a má dostatočné množstvo živín na použitie ako hnojivo do pôdy (Alvarez, 2012).

MUCHA ČIERN A JEJ LARVY

Hermetia illucens patrí medzi dvojkrídlovce z čeľade Stratiomyidae (Nguyen et al., 2015). V Európe bol tento druh prvýkrát identifikovaný v roku 1926, ale predpokladá sa, že pôvodne pochádza z neotropických oblastí sveta (Gladun, 2019). Sheppard et al. (1994) uvádzajú jeho pôvodný výskyt v Amerike. V súčasnosti sú BSF prirodzene distribuované v tropických a subtropických oblastiach od Argentíny po stredné USA (Nyakeri et al., 2016), v Austrálii, Indii, Afrike i Európe (Martínez-Sánchez et al., 2011; Gujarathi et Pejaver, 2013).

Napriek ich vzhľadu podobnému osiam sú BSF neškodným hmyzom a absencia ústnych ústrojov im v dospelosti bráni stať sa prenášačom chorôb (Gujarathi et Pejaver, 2013). Muchy počas dospeljej fázy svojho životného cyklu nepotrebujú konzumovať potravu (Sheppard et al., 2002; Furman et al., 1959), čo výrazne znižuje možnosť šírenia chorôb. Namiesto toho sú dospelí jedinci zaneprázdnení párením, znášaním vajec a ak je to potrebné, získavaním vody (Alvarez, 2012). Vo všeobecnosti sa tieto druhy ani nezaujímajú o ľudské obydľia a obydľia v blízkosti iných bežných druhov múch, a preto ich nemožno považovať za škodcov (Newton et al., 2005).

Hlavným cieľom záujmu sú larvy muchy čiernej. Sú bohatým zdrojom bielkovín a tukov, a preto majú potenciál byť v budúcnosti udržateľným zdrojom týchto živín pre zvieratá, prípadne ľudí (van Huis, 2013; Spranghers et al., 2017; Papadoyianis, 2007). Výskumy ukázali, že sušená masa lariev obsahuje približne 40 % surového proteínu a 30 % surového lipidového extraktu, hoci tieto čísla kolíšu (Newton a kol., 2005; Li et al., 2011a; Li et al., 2011b) v závislosti od odpadovej suroviny poskytnutej ako krmivo (O'Doherty, 2022). Získaný proteín má ďalej potenciál využitia ako krmivo pre zvieratá s odhadovanými hodnotami porovnateľnými s rybou múčkou (Tomberlin et al., 2002). Ak sa použije ako živé krmivo, hodnota krmiva je vyššia o ďalšie esenciálne mastné kyseliny a chitín (Sheppard et al., 1994).

VÝVOJOVÉ ŠTÁDIÁ

BSF má vo svojom životnom cykle päť štádií: vajíčko, larva, predkukla, kukla a dospelý jedinec (Alvarez, 2012). Larválne štádium sa ďalej delí na fázy nazývané instary. Instar je definovaný ako obdobie medzi každým prelínaním ich exoskeletu (Myers et al., 2014). Priemerná dĺžka životného cyklu, od vajíčka po dospelého jedinca, je 40 dní. Táto dĺžka však závisí od podmienok prostredia a od dostupných živín (Diener et al., 2009).

Dospelá mucha môže merať až 20 mm na dĺžku, má pozdĺžne valcovité telo prevažne čiernej farby, ale môže mať aj hnedé alebo kovové odlesky. Krídla sú pomerne veľké v porovnaní s telom a majú široký tvar. Sú priesvitné s tmavými žilami (Jackman et Drees 1998). Dospelí jedinci sa zapájajú do vzdušného procesu párenia a samice kladú vajcia (Sheppard et

al., 1994) do vlhkého organického odpadu alebo okolo neho, kde budú larvy schopné ľahko získať zdroj potravy. Samičky BSF môžu po kopulácii naklásať až približne 500 vajíčok naraz, pričom vajíčka sa vyliahnu o 4 dni neskôr (Dortmans et al., 2017).

Ihneď po vyliahnutí si nové nymfy hľadajú zdroj potravy a začínajú sa kŕmiť (Myers et al., 2014). Majú bledú farbu (Obr. 1) a ich veľkosť sa pohybuje medzi 3 – 6 mm na dĺžku a 1,5 – 2,2 mm na šírku. Ich veľkosť je ovplyvnená stravou (O'Doherty, 2022). Ak sú podmienky ideálne, larvy môžu vyzrieť za dva týždne. Nedostatok potravy však môže toto obdobie predĺžiť aj na štyri (Sheppard et al., 1994), prípadne šesť mesiacov (Newton et al., 2005). Zdá, že larvy BSF vylučujú zlúčeniny, ktoré bránia iným druhom múch klásť vajíčka na zdroj potravy kolonizovaný BSF, čo vedie k účinnému zníženiu výskytu bežnej muchy domácej (Bradley et Sheppard, 1984).



Obrázok 1: Larvy muchy čiernej (*Hermetia illucens*) v rôznych štádiách. Zľava: mladé larvy, larvy v procese kŕmenia, larvy v štádiu pred kuklením (zdroj: Mašková)

Po dosiahnutí zrelosti larvy podstupujú ďalšiu metamorfózu – zakuklenie (Gullan a Cranston, 2014). Pre miesto zakuklenia uprednostňujú suchšie a tmavšie podmienky, a preto opúšťajú miesto kŕmenia a migrujú (Sheppard et al., 2002; Alvarez, 2012). Migrujúce larvy zanechávajú chemické stopy, ktoré sledujú iné larvy a vytvárajú migračnú cestu. Zakuklenie môže trvať päť až sedem dní v závislosti od teploty a vlhkosti prostredia (Alvarez, 2012). Pri metamorfóze nedochádza k žiadnemu gastrointestinálnemu vývoju a dospelí jedinci prežívajú iba z vody a uložených živín (Sheppard et al., 2002; Li et al., 2011b; Dortmans et al., 2017).

Dospelá mucha žije iba niekoľko dní alebo týždňov. Nehryzie a ani sa nechová ako škodca. Nesnaží sa vstúpiť do domovov alebo reštaurácií, ale žije svoj krátky dospelý život ďaleko od ľudí. Dospieva a pári sa predovšetkým v zalesnených oblastiach (Sheppard et al., 1994). K páreniu zvyčajne dochádza dva dni po vzídení zo štádia kukly do štádia dospelosti a znášanie vajíčok obyčajne nastáva dva dni po párení (Sheppard et al., 2002). Dospelé muchy prežívajú zo svojich tukových zásob získaných ako larvy. Keď sa táto zásoba tuku vyčerpá, dospelý jedinec zomiera (Myers et al., 2014).

PODMIENKY CHOVU

Vo všetkých štádiách rastu a vývoja je veľmi dôležitá teplota (Liu et al., 2008). *H. illucens* sú, rovnako ako väčšina hmyzu, poikilothermné organizmy, majú premenlivú telesnú teplotu, ktorá je ovplyvnená teplotou prostredia (Gullan et Cranston, 2014; Oonincx et al., 2010). I napriek dostupným zdrojom živín môže teplota spomaliť alebo eskalovať rast a vývoj.

Optimálne teploty na chov *H. illucens* sa pohybujú od 27 do 33 °C (Sheppard et al., 2002). Štúdie naznačujú, že nižšie alebo vyššie teploty ovplyvňujú mieru spotreby krmiva larvami (Alvarez, 2012), i keď nižšie teploty sú s najväčšou pravdepodobnosťou tolerovateľné, pretože larvy vytvárajú teplo svojimi zvičajúcimi sa pohybmi (Fatchurochim et al., 1989).

BSF je možné využívať na účely odpadového hospodárstva predovšetkým v nižších zemepisných šírkach, kde sú teploty a snečné svetlo vhodné na celoročné množenie. V týchto oblastiach sa BSF javí ako vhodný druh na spracovanie organických materiálov. V chladnejších klimatických podmienkach nie sú požiadavky na teplotu celoročne dosiahnuteľné. Hoci sa BSF darí v lete, zimné teploty ich usmrť, takže musia odísť, nájsť si úkryt počas zimných mesiacov alebo sa každú jar znovu kolonizovať. Udržiavanie kolónie v takýchto nehostinných podmienkach by si vyžadovalo infraštruktúru, ktorá by zabezpečila, že premenné prostredia zostanú v rámci tolerovateľných úrovní. *H. illucens* sa teda v takýchto zemepisných šírkach môže úspešne kontinuálne množiť len v umelo vytvorenom kontrolovanom prostredí (Alvarez, 2012).

Na účely návrhu kontrolovaného systému chovu muchy čiernej nie je nevyhnutne potrebné definovať životný cyklus v striktnom biologickom zmysle. Na tento účel môžeme životný cyklus rozdeliť do nasledujúcich piatich etáp: štádium kŕmenia lariev, migrácie, zakuklenia, štádium dospelých jedincov a znášania vajec (Alvarez, 2012).

Štádium kŕmenia lariev

Pri biokonverzii spotreba potravinového odpadu a zdravý vývoj lariev závisia od mnohých faktorov. Teplota, obsah vlhkosti, hustota lariev v substráte, kŕmna dávka, fyzikálne a chemické vlastnosti krmiva a konkurencia sú dôležité premenné. Relatívny vplyv každého faktora sa môže meniť v závislosti od určitých kontextov a situácií (Barragán-Fonseca, 2018) a mnohé z faktorov sú stále nedostatočne preskúmané. Miera spotreby odpadu tiež závisí od veľkosti lariev (Diener et al., 2009). Za najlepšie štádium lariev na použitie ako krmivo pre zvieratá sa považuje predkukla. Predkukly sa ľahko zbierajú, majú vysoký obsah bielkovín a majú nižší obsah chitínu ako kukly (Makkar et al., 2014).

Larvy sú známe širokou škálou prijímaných substrátov: môžu konzumovať výkaly, čerstvé i zhnité mäso, ovocie, reštauračný odpad, kuchynský odpad, celulózu a možno aj celý rad iných organických odpadov (Nguyen, 2010; Sheppard et al., 2002; Tomberlin et al., 2002). Zdroj výživy používaný v štádiu lariev môže ovplyvniť i vlastnosti dospelých múch (Tomberlin et al., 2002). Diener et al. (2009) vypočítali optimálny tok krmiva pre larvy BSF pre daný typ odpadu. Tok definovali ako množstvo odpadu aplikovaného na danú oblasť obsahujúcu pevný počet aktívne sa živiacich červov za deň (kg/m²/deň). Autormi navrhnuté odhady pre rôzne zdroje krmiva sú uvedené v Tab. 1. Tabuľka predpokladá hustotu 5 lariev na 1 cm², ale neuvádza vek lariev. Podľa Alvarez (2012) môže byť dôležitým faktorom i homogenita zdroja živín. Autor v prípade potreby odporúča rozomletie podávaného krmiva. Efektívnejšiu prevádzku systému môže umožniť tiež prevzdušňovanie hromady krmiva, ktoré je možné zabezpečiť buď mechanickým miešaním alebo pomocou vhodného prevzdušňovacieho zariadenia.

Tab. 1: Optimálny tok krmív pre larvy muchy čiernej (*Hermetia illucens*) – upravené podľa Diener et al. (2009)

Typ odpadu	Denné množstvo krmiva	
	mg/larva/deň	kg/m ² /deň*
Krmivo pre kurčatá	100	5,00
Kuchynský odpad	61	3,05

Rastlinný odpad	98	4,90
Zelený banánový odpad	103	5,15
Prasací hnoj	158	7,90
Hydinový hnoj	175	8,75
Ľudské výkaly	130	6,50

*na m² sa predpokladá cca 50 000 lariev (5 lariev na 1 cm²)

Rovnako ako vyššie spomínaná teplota, i nepriaznivá vlhkosť ovplyvňuje rast lariev (Bradley et Sheppard, 1984; Booth et Sheppard, 1984; Furman et al., 1959; Tingle et al., 1975). Vlhkosť vzduchu môže potenciálne ovplyvniť fyziológiu a následne aj vývoj, dlhovekosť a kladenie vajíčok tohto hmyzu (Gullan a Cranston, 2014). Optimálny obsah vlhkosti v krmive sa pohybuje od 60 % do 90 % (Myers et al., 2014). Príliš veľa vlhkosti núti larvy opúšťať substrát, ktorým sa živia a naopak nedostatok zas bráni efektívnej spotrebe krmiva (Fatchurochim et al., 1989). Kalová et Borkovcová (2013) zistili, že larvy BSF kŕmené organickým odpadom s vysokým obsahom vlhkosti (> 90 %) prežili, ale mali nižšiu úžitkovosť. V prípade vysokej vlhkosti substrátu sa stráviteľné látky môžu stať anaeróbnymi a substrát vyžaduje určitú formu prevzdušňovania. Navyše môže nastať problém so zadržaním lariev v substráte. Mokrú larvu sa prilepia na takmer akýkoľvek povrch vrátane plastov, dreva a kovov. Tieto materiály dokážu ľahko prechádzať bez ohľadu na uhol sklonu (Alvarez, 2012).

Ak je vrstva krmivového substrátu príliš hrubá, znižuje to príjem potravy lariev, čo vedie k nižšiemu prežívaniu a dlhšiemu vývoju (Nguyen et al., 2013). Larvy uprednostňujú kŕmenie v takej polohe, že hlava larvy je zahrabaná v potravinovom odpade a opačný koniec je len mierne odkrytý. Táto kŕmna poloha je možná, ak je odpad dostatočne viskóznym, aby zabránil potopeniu alebo prevráteniu lariev (Alvarez, 2012). Hustota lariev v substráte je pre dvojkrídlovce, ako je BSF, tiež dôležitým biotickým faktorom. Pre biológiu týchto druhov je charakteristická agregácia (zhlukovanie) lariev (Rivers et Dahlem, 2022; Jannat et Roitberg, 2013). Má význam v súvislosti s akumuláciou tepla, čo vedie k úplnejšiemu využitiu živín (Alvarez, 2012).

Štádiá migrácie a kuklenia

Štúdie ukázali, že ak putujúce larvy nenájdu vhodné médium, nedôjde k správne zakukleniu. Dôležitou charakteristikou ideálneho miesta zakuklenia je ochrana pred predátormi a nepriaznivými podmienkami prostredia, ako sú napr. záplavy. Samotné zakuklovacie médium by malo byť porézne a voľné, aby umožňovalo ľahké zahrabávanie sa túlavých lariev. Médium s týmito vlastnosťami by tiež malo poskytovať primeranú hladinu kyslíka, aby mohli kukly dýchať. Ak je médium pre zakuklenie príliš jemné, spirakuly alebo dýchacie štruktúry sa môžu upchať, čo môže viesť k smrti (Alvarez, 2012).

Dôležitá je aj hĺbka zakuklenia. Ak je substrát príliš hlboký, vznikajúce muchy nedosiahnu povrch. Ak je príliš plytký, larva nemusí považovať miesto za primerané a bude pokračovať v túlaní sa, plytvá svojimi zásobami tuku, čím znižuje šancu na úspešné párenie. Štúdie ukázali, že ideálna hĺbka pre zakuklenie je 15 až 20 cm (Alvarez, 2012).

Štádiá dospelých jedincov a znášania vajec

Z technického hľadiska sú požiadavky na štádium dospelých jedincov zložitejšie ako na štádium lariev. Požiadavky dospelých zahŕňajú poskytovanie pitnej vody, objem priestoru na hľadanie partnera, vystavenie svetlu a vhodné miesto na uloženie vajec. Úlohu môže zohrávať aj hustota dospelých jedincov v priestore párenia. Na riešenie potrieb vody je možné nainštalovať systém rozprašovania, ktorý ju nastrieka na okenné sieťky. To zabezpečí pitnú

vodu s vhodnými veľkosťami častíc a zároveň ovplyvní okolitú vlhkosť jej odparovaním. Väčšinu objemu miestnosti pre dospelý hmyz by mal tvoriť prázdny priestor, ktorý umožňuje vzdušné pátranie a párenie. Na zabezpečenie požiadaviek na svetlo je ideálne steny a strop miestnosti vyrobiť z priesvitného plastu. Na začatie párenia u dospelých je potrebná minimálna intenzita svetla 100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$. Všetky skúmané štúdie ukázali, že úrovne párenia dospelých jedincov boli najvyššie pri prirodzenom slnečnom svetle. Používanie umelého osvetlenia by sa preto malo považovať za doplnkové, keď prirodzené slnečné žiarenie nie je dostatočné (Alvarez, 2012).

Vhodný priestor znášky vaječ musí chrániť vajcia pred vyschnutím (Alvarez, 2012). Ideálne miesto by sa malo udržiavať pri teplote 27 °C s relatívnou vlhkosťou okolia 60 % alebo viac. Za týchto podmienok bola pozorovaná miera vyliahnutia vaječ 80 % alebo viac (Sheppard et al., 2002). Vzhľadom na to, že kladené vajcia sú veľmi krehké, malé a náchylné na zmeny premenných prostredia, v zariadení na nakladanie s odpadmi by bolo vhodnejšie automatizovať alebo odstrániť potrebu manipulácie s nimi (Alvarez, 2012).

ZÁVER

Problém komunálneho odpadu – inak známeho ako domový odpad – je náročnou otázkou, ktorej ľudstvo čelí na celom svete. Významný podiel celkových odpadov predstavuje potravinový odpad, pričom dôležitou výzvou je jeho likvidácia. Na prvom mieste je samozrejme potrebné presadzovať dodržiavanie hierarchie odpadového hospodárstva s dôrazom na predchádzanie vzniku odpadov, ale významnú pozornosť si v súčasnej dobe získavajú aj rôzne alternatívne spôsoby ich spracovania. Alternatívnym prístupom k pracovaniu potravinových odpadov je využitie lariev muchy čiernej (*Hermetia illucens*) a proces biokonverzie. Biokonverzia je proces, pri ktorom sú larvy múch kŕmené organickým odpadom, čo vedie k jeho rozkladu a transformácii na hodnotné zložky. Ako ukazuje dostupná literatúra, tento proces ponúka hneď niekoľko výhod – účinné spracovanie odpadu, výroba hodnotných produktov (zdroj živín pre kŕmne, resp. potravinárske účely, hnojivo s vysokým obsahom nutričov) a ekologická udržateľnosť (proces biokonverzie znižuje množstvo odpadu na skládkach a prispieva k obnoviteľnému využitiu organických zdrojov). Z týchto dôvodov uvedená alternatívna metóda spracovania organického odpadu môže prispieť k dosiahnutiu cieľov udržateľného rozvoja a k lepšiemu zachovaniu životného prostredia.

Je dôležité konštatovať, že optimálne podmienky pre chov lariev BSF sú kľúčové pre dosiahnutie efektívneho procesu biokonverzie kuchynského odpadu. Keďže muche čiernej a jej larvám sa darí pri teplotách nad 25 °C, chov je najvhodnejší pre krajiny s tropickejším podnebí. V európskych krajinách je potrebné vytvoriť uzavretý kontrolovaný systém, aby sa úspešne rozmnožovali. Aby sa zachoval nepretržitý charakter životného cyklu BSF, musia byť subsystemy infraštruktúry prepojené s prebiehajúcimi a predchádzajúcimi etapami životnosti pri zachovaní optimálnych okolitých podmienok. Optimálne podmienky prostredia pre všetky životné štádiá sa pohybujú od 27 do 33 °C a minimálne 60 % relatívnej vlhkosti. Vlhkosť substrátu je z dôvodu premenlivého zloženia organického odpadu ťažko kontrolovateľná a je potrebné ju v takých podmienkach monitorovať a upravovať. Vyžaduje sa pohodlný a stály zdroj krmiva, ktorý sa však dá ľahko vyriešiť umiestnením hmyzích fariem blízko tokov odpadu, ako sú továrne na spracovanie potravín, pivovary, alebo alternatívne v blízkosti prevádzok na kontrolu kvality potravinárskeho priemyslu, kde dochádza k plytvaniu veľkým množstvom potravín tým, že nie sú považované za vhodné na predaj a konzum.

Existuje reálna možnosť, že v blízkej budúcnosti bude najmä v sektore krmív pre zvieratá hmyzí proteín stále viac žiadaný. Otázne je taktiež jeho využitie vo výžive ľudí, i keď larvy BSF v súčasnej dobe ešte nie sú na zozname povolených druhov. Možné riziká môžu vyplývať najmä z požitia tepelne nespracovaných lariev hmyzu. Tu do popredia vystupujú

otázky bezpečnosti v súvislosti s mikrobiálnou kontamináciou, ale tiež možné alergické reakcie, prenos parazitov, zdroj rôznych chemických látok a toxínov.

LITERATÚRA

- Agarwal, A., Singhmar, A., Kulshrestha, M., Mittal, A. K. 2005. Municipal solid waste recycling and associated markets in Delhi, India. In *Resources, Conservation and Recycling*, vol. 44, no. 1, pp. 73-90 [cit. 2024-02-26]. ISSN 09213449. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2004.09.007>.
- Alvarez, L. 2012. *The role of black soldier fly, Hermetia illucens (L.) (Diptera: Stratiomyidae) in sustainable waste management in Northern Climates* : electronic dissertation. University of Windsor : Ontario, 158 p. Dostupné na: <https://scholar.uwindsor.ca/etd/402>.
- Barragán-Fonseca, K. B. 2018. *Flies are what they eat: Tailoring nutrition of Black Soldier Fly (Hermetia illucens L.) for larval biomass production and fitness*: electronic dissertation. Wageningen University and Research : Wageningen, 160 p. ISBN: 978-94-6343-293-1. Dostupné na: <https://doi.org/10.18174/449739>.
- Barry, T. 2004. *Evaluation of the economic, social, and biological feasibility of bio converting food wastes with the black soldier fly (Hermetia illucens)* : electronic dissertation. ProQuest Dissertations Publishing : North Texas, 176 p. Dostupné na: <https://www.proquest.com/openview/063ad4586c6e5083c69301c47ad271e6/1?pq-origsite=gscholar&cbl=18750&diss=y>.
- de Bertoldi, M. D., Vallini, G., Pera, A. 1983. The biology of composting: a review. In *Waste Management & Research*, vol. 1, no. 1, pp. 157-176. Dostupné na: [https://doi.org/10.1016/0734-242x\(83\)90055-1](https://doi.org/10.1016/0734-242x(83)90055-1).
- Booth, D. C., Sheppard, C. 1984. Oviposition of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae): eggs, masses, timing, and site characteristics. In *Environmental entomology*, vol. 13, no. 2, pp. 421-423. Dostupné na: <https://doi.org/10.1093/ee/13.2.421>.
- Bradley, S. W., Sheppard, D. C. 1984. House fly oviposition inhibition by larvae of *Hermetia illucens*, the black soldier fly. In *Journal of chemical ecology*, vol. 10, pp. 853-859. Dostupné na: <https://doi.org/10.1007/bf00987968>.
- Czajczyńska, D., Nannou, T., Anguilano, L., Krzyżyńska, R., Ghazal, H., Spencer, N., Jouhara, H. 2017. Potentials of pyrolysis processes in the waste management sector. In *Energy Procedia*, vol. 123, pp. 387-394. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.07.275>.
- Diener, S., Zurbrugg, C., Tockner, K. 2009. Conversion of organic material by black soldier fly larvae: establishing optimal feeding rates. In *Waste Management & Research*, vol. 27, no. 6, pp. 603-610. Dostupné na: <https://doi.org/10.1177/0734242x09103838>.
- Dortmans, B. M. A., Diener, S., Verstappen, B., Zurbrugg, C. 2017. *Black soldier fly biowaste processing - a step-by-step guide*. Eawag - Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology: Dübendorf, Switzerland, 100 p. ISBN 978-3-906484-66-2.
- FAO. 2013. *Food Wastage Footprint: Impacts on Natural Resources*. Rome.
- Fatchurochim, S., Geden, C. J., Axtell, R. C. 1989. Filth fly (Diptera) oviposition and larval development in poultry manure of various moisture levels. In *Journal of Entomological Science*, vol. 24, no. 2, pp. 224-231. Dostupné na: <https://doi.org/10.18474/0749-8004-24.2.224>.
- deFoliart, G. R. 1989. The human use of insects as food and as animal feed. In *Bulletin of the Entomological Society of America*, vol. 35, no. 1, pp. 22-36. Dostupné na: <https://doi.org/10.1093/besa/35.1.22>.
- Furman, D. P., Young, R. D., Catts, P. E. 1959. *Hermetia illucens* (Linnaeus) as a factor in the natural control of *Musca domestica* Linnaeus. In *Journal of Economic Entomology*, vol. 52, no. 5, pp. 917-921. Dostupné na: <https://doi.org/10.1093/jee/52.5.917>.
- Gladun, V. V. 2019. The first record of *Hermetia illucens* (Diptera, Stratiomyidae) from Russia. In *Nature Conservation Research*, vol. 4, no. 4, pp. 111-113. Dostupné na: <https://doi.org/10.24189/ncr.2019.063>.
- Goudie A. S. 2000. *The human impact on the natural environment*. The MIT Press: Cambridge, United Kingdom, 466 p. ISBN-13 978-0262571388.
- Gujarathi, G. R., Pejaver, M. K. 2013. Occurrence of black soldier fly *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) in biocompost. In *Research Journal of Recent Sciences*, vol. 2, no. 4, pp. 65-66. ISSN 2277-2502. Dostupné na: www.isca.in.
- Gullan, P. J., Cranston, P. S. 2014. *The insects: an outline of entomology*. Wiley & Sons: Chichester, West Sussex, 624 p. ISBN: 978-1-118-84615-5.
- Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonesson, U. 2011. Global food losses and food waste - Extent, causes and prevention. Swedish Institute for Food and Biotechnology: Gothenburg, Sweden, 38 p. ISBN 978-92-5-107205-9.
- van Huis, A. 2013. Potential of insects as food and feed in assuring food security. In *Annual review of entomology*, vol 58, no. 1, pp. 563-583. Dostupné na: <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153704>.

- van Huis, A., Tomberlin, J. K. 2017. *Insects as food and feed: from production to consumption*. Wageningen Academic Publishers: Wageningen, 448 p. ISBN 978-90-8686-296-2. Dostupné na: <https://doi.org/10.3920/978-90-8686-849-0>.
- Jackman, J. A., Drees, B. M. 1998. *A field guide to common Texas insects*. Gulf Publishing: Houston, Texas, 352 p. ISBN 9781461622918.
- Jannat, K. N. E., Roitberg, B. D. 2013. Effects of larval density and feeding rates on larval life history traits in *Anopheles gambiae* ss (Diptera: Culicidae). In *Journal of Vector Ecology*, vol. 38, no. 1, pp. 120-126. Dostupné na: <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2013.12017.x>.
- Jenčová, I. 2020. Slováci produkujú čoraz viac odpadu, polovica končí na skládkach. In *Euractiv Newsletter*, 29. 12. 2020. Dostupné na: <https://euractiv.sk/section/obehova-ekonomika/news/slovaci-produkuju-coraz-viac-odpadu-polovica-konci-na-skladkach/>
- Kalová, M., Borkovcová, M. 2013. Voracious larvae *Hermetia illucens* and treatment of selected types of biodegradable waste. In *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, vol. 61, no. 1, pp. 77–83. Dostupné na: <https://doi.org/10.1118/actaun201361010077>.
- Kim, W. T., Bae, S. W., Kim, A. Y., Park, K. H., Lee, S. B., Choi, Y. C., Han, S. M., Park, Y. H., Koh, Y. H. 2011. Characterization of the molecular features and expression patterns of two serine proteases in *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larvae. In *BMB reports*, vol. 44, no. 6, pp. 387-392. Dostupné na: <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2011.44.6.387>.
- Li, Q., Zheng, L., Cai, H., Garza, E., Yu, Z., Zhou, S. 2011a. From organic waste to biodiesel: Black soldier fly, *Hermetia illucens*, makes it feasible. In *Fuel*, vol. 90, no. 4, pp. 1545-1548. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2010.11.016>.
- Li, Q., Zheng, L., Qiu, N., Cai, H., Tomberlin, J. K., Yu, Z. 2011b. Bioconversion of dairy manure by black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) for biodiesel and sugar production. In *Waste management*, vol. 31, no. 6, pp. 1316-1320. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.01.005>.
- Liu, Q., Tomberlin, J. K., Brady, J. A., Sanford, M. R., Yu, Z. 2008. Black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae reduce *Escherichia coli* in dairy manure. In *Environmental entomology*, vol. 37, no. 6, pp. 1525-1530. Dostupné na: <https://doi.org/10.1603/0046-225x-37.6.1525>.
- Makkar, H. P., Tran, G., Heuzé, V., Ankers, P. 2014. State-of-the-art on use of insects as animal feed. In *Animal feed science and technology*, vol. 197, pp. 1-33. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008>.
- Martínez-Sánchez, A., Magana, C., Salona, M., Rojo, S. 2011. First record of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) on human corpses in Iberian Peninsula. In *Forensic Science International*, vol. 206, no. 1-3, pp. e76-e78. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.10.021>.
- Ministerstvo životného prostredia Slovenskej republiky. 2020. *Program odpadového hospodárstva SR na roky 2021–2025*. Dostupné na: https://www.google.sk/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwjBIMys_sCEAxWO-QIHHVuFBlg4FBAWegQIBBAB&url=https%3A%2F%2Fwww.enviroportal.sk%2Ffea%2Fdokument%2F319112%3Fuid%3D7928a4a5c95cda1bactf9de9b09b647e55327af4d&usq=AOvVaw2kcRlnKC0hmiJYASCP48AU&opi=89978449.
- Myers, H. M., Tomberlin, J. K., Lambert, B. D., Kattes, D. 2014. Development of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae fed dairy manure. In *Environmental entomology*, vol. 37, no. 1, pp. 11-15. Dostupné na: [https://doi.org/10.1603/0046-225x\(2008\)37\[11:dobsfd\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0046-225x(2008)37[11:dobsfd]2.0.co;2).
- Newton, G. L., Sheppard, D. C., Watson, D. W., Burtle, G. J., Dove, C. R., Tomberlin, J. K., Thelen, E. E. 2005. The black soldier fly, *Hermetia illucens*, as a manure management/resource recovery tool. In *Symposium on the state of the science of Animal Manure and Waste Management*, vol. 1, pp. 0-5. Dostupné na: <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=5aa581bf66145ee15551c0a86df6436b9183fd05>.
- Nguyen, T. 2010. Influence of diet on black soldier fly (*Hermetia illucens linnaeus*)(diptera: stratiomyidae) life history traits : electronic dissertation. University of Windsor: Ontario, Canada, 85 p. Dostupné na: <https://scholar.uwindsor.ca/etd/8287>.
- Nguyen, T. T., Tomberlin, J. K., Vanlaerhoven, S. 2013. Influence of resources on *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larval development. In *Journal of Medical Entomology*, vol. 50, no. 4, pp. 898-906. Dostupné na: <https://doi.org/10.1603/me12260>.
- Nguyen, T. T., Tomberlin, J. K., Vanlaerhoven, S. 2015. Ability of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae to recycle food waste. In *Environmental entomology*, vol. 44, no. 2, pp. 406-410. Dostupné na: <https://doi.org/10.1093/ee/nvv002>.
- Nyakeri, E. M., Ogola, H. J., Ayieko, M. A., Amimo, F. A. 2017. An open system for farming black soldier fly larvae as a source of proteins for smallscale poultry and fish production. In *Journal of Insects as Food and Feed*, vol. 3, no. 1, pp. 51-56. Dostupné na: <https://doi.org/10.3920/jiff2016.0030>.

- O'Doherty, E. 2022. *Application of Black Soldier Fly Larvae to Convert Municipal Organic Waste to Value-Added Chemicals*: doctoral dissertation. University of Sheffield: Sheffield, 215 p. Dostupné na: <https://etheses.whiterose.ac.uk/32617/2/%5BRedacted%5D%20O%27Doherty%2CEleanor%2C170239974%20PhDThesis%20-%20Eleanor%20L%20O%27Doherty.pdf>.
- Oonincx, D. G., van Itterbeek, J., Heetkamp, M. J., van Den Brand, H., van Loon, J. J., van Huis, A. 2010. An exploration on greenhouse gas and ammonia production by insect species suitable for animal or human consumption. In *PLOS ONE*, vol. 5, no. 12, p. e14445. Dostupné na: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.014445>.
- Papadoyianis, E. D. 2007. Insects offer a promising solution to the protein bottleneck. In *Feed Technology Update*, vol. 2, no. 6, p. 158.
- Paritosh, K., Kushwaha, S. K., Yadav, M., Pareek, N., Chawade, A., Vivekanand, V. 2017. Food waste to energy: an overview of sustainable approaches for food waste management and nutrient recycling. In *BioMed research international*, vol. 2017, pp. 1-19. Dostupné na: <https://doi.org/10.1155/2017/2370927>.
- Read, A. D., Hudgins, M., Phillips, P. 2001. Perpetual landfilling through aeration of the waste mass; lessons from test cells in Georgia (USA). In *Waste Management*, vol. 21, no. 7, pp. 617-629. Dostupné na: [https://doi.org/10.1016/s0956-053x\(00\)00124-0](https://doi.org/10.1016/s0956-053x(00)00124-0).
- Rivers, D. B., Dahlem, G. A. 2022. *The science of forensic entomology*. John Wiley & Sons: Chichester, West Sussex, 560 p. ISBN 9781119640660.
- Sam, A., Bi, X., Farnsworth, D. 2017. How incentives affect the adoption of anaerobic digesters in the United States. In *Sustainability*, vol. 9, no. 7, pp. 1221. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/su9071221>.
- Sheppard, D. C., Newton, G. L., Thompson, S. A., Savage, S. 1994. A value added manure management system using the black soldier fly. In *Bioresource technology*, vol. 50, no. 3, pp. 275-279. Dostupné na: [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(94\)90102-3](https://doi.org/10.1016/0960-8524(94)90102-3).
- Sheppard, D. C., Tomberlin, J. K., Joyce, J. A., Kiser, B. C., Sumner, S. M. 2002. Rearing methods for the black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae). In *Journal of Medical Entomology*, vol. 39, no. 4, pp. 695-698. Dostupné na: <https://doi.org/10.1603/0022-2585-39.4.695>.
- Sprangers, T., Ottoboni, M., Klootwijk, C., Ovyne, A., Deboosere, S., De Meulenaer, B., Michiels, J., Eeckhout, M., De Clercq, P., De Smet, S. 2017. Nutritional composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae reared on different organic waste substrates. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 97, no. 8, pp. 2594-2600. Dostupné na: <https://doi.org/10.1002/jsfa.8081>.
- Tingle, F. C., Mitchell, E. R., Copeland, W. W. 1975. The soldier fly, *Hermetia illucens*, in poultry houses in North Central Florida. In *Journal of the Georgia Entomological Society*, vol. 10, no. 2, pp. 179-183. Dostupné na: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19750530523>.
- Tomberlin, J. K., Sheppard, D. C., Joyce, J. A. 2002. Selected life-history traits of black soldier flies (Diptera: Stratiomyidae) reared on three artificial diets. In *Annals of the Entomological Society of America*, vol. 95, no. 3, pp. 379-386. Dostupné na: [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2002\)095\[0379:slhtob\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2002)095[0379:slhtob]2.0.co;2).
- Veldkamp, T., Van Duinkerken, G., van Huis, A., Lakemond, C. M. M., Ottevanger, E., Bosch, G., Van Boekel, T. 2012. *Report 638: Insects as a sustainable feed ingredient in pig and poultry diets: a feasibility study*. Wageningen UR. Livestock Research: Lelystad, 48 p. ISSN 1570 – 8616.
- Wang, Y. S., Shelomi, M. 2017. Review of black soldier fly (*Hermetia illucens*) as animal feed and human food. In *Foods*, vol. 6, no. 10, p. 91. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/foods6100091>.

Pod'akovanie: Štúdiá prebiehala s finančnou podporou projektu VEGA 1/0512/22 - Biokonverzia kuchynského odpadu na vysoko hodnotné krmivo využitím lariev muchy čiernej.

Kontaktná adresa: Zuzana Mašková Ing. PhD., Ústav biotechnológie – Katedra mikrobiológie, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

MOŘSKÉ ŘASY V POTRAVINÁCH SEAWEED IN FOOD

Martina Pečová, Bohuslava Tremlová

Abstract: Seaweed is a suitable food for the menu due to its rich nutritional profile. In general, it is possible to say that seaweed contains a large amount of protein and carbohydrates. The content of iodine and some other microelements and vitamins is also significant. Carrageenan, which is obtained from *Euchema* spp., is widely used in the food industry.

Keywords: seaweed application, legislation, carrageenan

ÚVOD

Mořské řasy zahrnují různorodou skupinu eukaryotických organismů. Lze je rozdělit do třech kmenů, a to na zelené řasy (*Chlorophyta*), červené řasy (*Rhodophyta*) a hnědé řasy (*Ochrophyta*). Jak už název napovídá, rozděleny jsou mimo jiné podle fotosyntetizujícího barviva. Podle FAO (Cai et al., 2021) dosáhla celková světová produkce mořských řas v roce 2019 35,8 milionů tun, z toho velká většina pocházela z akvakultury. Z toho hnědé řasy 47,3 %, červené řasy 52,6 % a zbytek zaujímají řasy zelené. Největším producentem jsou Asijské země z toho nejvýznamnějším je Čína. Produkce mořských řas má stále rostoucí trend. Potenciál této komodity by mohl být ještě rozšířen, a to v případě, že by byly jednotlivé druhy identifikovány a lépe zařazeny do konkrétních taxonů (Moreira et al., 2022), další bariéry souvisí s bezpečností, kvalitou a neofobií (Blikra et al., 2021). Mořské řasy se tradičně používaly jako potravina. Řasy tedy nejsou novou potravinou podle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2015/2283 a byly běžně konzumovány před 15. květnem 1997. Objevují se však výjimky, jako například jednobuněčná řasa *Euglena gracilis*, jinak zvaná jako krásnoočko štíhlé. V tomto případě konkrétní společnost požádala o uvedení sušených buněk této řasy na trh jako nové potraviny v řadě kategorií potravin. Povolení vyšlo prováděcím nařízením Komise (EU) /2020/1820. Na chaluhy a jiné řasy se dále vztahuje společná organizace trh dle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1379/2013.

Problém s uváděním mořských řas na trh nastává v okamžiku jejich přesného taxonomického zařazení. Taxonomii a chybnému značení, včetně chybnému označení od FAO, se věnuje publikace Bolton (2020). Známé označení „kelpa“ v podstatě znamená řasa a je to příkladem tzv. netaxonomického názvu. Může být zavádějící, protože nedefinuje přesný druh řasy. Velká většina řas se používá k lidské spotřebě ve formě čerstvé a sušené formě nebo se dále zpracovává do podoby potravinářských přísad (alginát, agar, karagenan a pod.) (Blikra et al. 2021). Další využití nacházejí ve farmacii, biotechnologiích, výživě zvířat nebo například jako inovativní zdroj pro výrobu bionafty (El-Shenody et al., 2023).

OBECNÉ NUTRIČNÍ VLASTNOSTI

Všechny nutrienty jsou v různé míře ovlivněny druhem, podmínkami růstu (prostředí, období), činností člověka (antropogenní) (Anbazhagan et al., 2021). Změny jsou zaznamenány dokonce i mezi populacemi (McDermid & Stuercke, 2003). Tomuto tvrzení odporuje studie Soares et al (2021), která při stanovení celkového obsahu lipidů neobjevil žádný statisticky významný rozdíl mezi řasami červenými, hnědými a zelenými. Potvrdila však rozdílnost ($p < 0,05$) mezi divokými a konvenčními druhy. Mořské řasy jsou cenným zdrojem bioaktivních látek a nutrientů. Mohou tvořit část stravy veganů a vegetariánů (Peñalver et al., 2020). Kromě toho mořské řasy mohou nahradit některé konvenční zdroje bílkovin a přispívat k udržitelnosti.

Minerální látky a vitamíny

Řasy jsou skrze své dietetické a funkční vlastnosti vysoce ceněny. Obsahují totiž velké množství minerálních látek, který je mnohonásobně převyšován v porovnání s běžnými

suchozemskými rostlinami (Pilar Rupérez & Saura-Calixto, 2001). Řasy jsou bohaté na draslík, hořčík, železo a zinek (Rohani-Ghadikolaei et al., 2012). Další studie přidávají i významný obsah vápníků, manganu, fosforu, jodu dalších stopových prvků (Circuncisão et al., 2018; Rupérez, 2002). Zdá se, že zejména významný je obsah jódu, ten je totiž v řasách tak významně zastoupen, že by mohl pomoci nahradit deficienci a omezit například jodizaci solí (Yeh et al., 2014). Problémem zůstává schopnost řas akumulovat těžké kovy. Jde o kadmium, měď, olovo a zinek. Tyto kovy podléhají limitům, které stanovují různé mezinárodní agentury a je třeba jim věnovat zvýšenou pozornost (Anbazhagan et al., 2021). Mezi vitamíny obecně zastoupené v řasách patří vit. B komplexu, vit. C, provitamín A a vit. E (Škrovánková, 2011).

Bílkoviny

Pro zdravého člověka s minimální fyzickou aktivitou je doporučenou denní dávkou alespoň 0,8 g.kg⁻¹ bílkovin (Wu, 2016). Kromě toho je důležitý i zdroj a kvalita těchto bílkovin. Tedy složení jednotlivých aminokyselin a stravitelnost. Obsah bílkovin v mořských řasách se pohybuje od 2,3-44 % v sušině. Obsah je značně proměnlivý a ve velké míře se odvíjí i na druhu. Obecně se obsah bílkovin snižuje v pořadí skupiny mořských řas: červené>zelené>hnědé (Černá, 2011). Zdá se, že mořské řasy obsahují ve značné míře i všechny esenciální aminokyseliny s výrazným zastoupením fenylalaninu (Matanjan et al., 2009).

Lipidy

Množství lipidů v různých druzích mořských řas popisuje studie Soares et al. (2021). Z výsledků vyplývá, že řasy obsahují nízký podíl lipidů, a to do maximálně 3,8 ± 0,6 % (druh *Ulva* spp.) Mastné kyseliny mají pozitivní zastoupení a zajímavé je, že u červených a hnědých mořských řas byla prokázána přítomnost kyseliny arachidonové a kyseliny eikosapentaenové, tedy „rybích“ mastných kyselin, jak uvádí van Ginneken et al. (2011). Obsahují i další PUFA mezi kterými jsou i esenciální kyselina linolová a linolenová (Sánchez-Machado et al., 2004). Zdá se, že mořské řasy vykazují dobrý poměr n-6:n-3 a mohou být vhodným zdrojem mastných kyselin. Studie Nunes et al. (2017) navíc předpokládá, že i antioxidační aktivita je spojena s lipofilními složkami mořských řas.

Polysacharidy

Polysacharidy jsou jednou z komerčně nejcennějších složek. Hodnoty sice kolísají ale zastupují významnou část sušiny mořských řas. Agar, alginát, karagenan, fukoidan, laminarin a ulvan jsou sacharidové produkty získávané z řas (Tanna & Mishra, 2019). Celkový obsah polysacharidů se například u hnědé mořské řasy *Sargassum wightii* pohybuje v rozmezí od 48,9 % do 57,2 % v sušině (Kumar et al., 2015). Pro další hnědé druhy řas uvádí publikace Rohani-Ghadikolaei et al. (2012) odlišné hodnoty (32,9% pro *Sargassum ilicifolium* a 32,1 % pro *Colpomenia sinuosa*). Polysacharidy řas mohou být hodnotným zdrojem dietetické vlákniny. Mezi rozpustné zdroje vlákniny je možné zařadit karagenany a agar. Mezi nerozpustné pak především celulózu, která je například u nori řas složená z nerozpustných mananů (Pilar Rupérez & Saura-Calixto, 2001).

Další složky

Mezi další složky obsažené v mořských řasách patří například barviva, třísloviny, polyfenoly. Vědecké studie potvrdily přítomnost specifických fenolických sloučenin, které mají funkční vlastnosti. Hnědé mořské řasy obsahují třísloviny-florotaniny, které jsou ceněné pro své antioxidační účinky (Bogolitsyn et al., 2019). Karotenoidu fukoxanthinu, který se také vyskytuje v hnědých mořských řasách, se přisuzují léčivé účinky zejména v oblasti prevence proti obezitě a cukrovce (Maeda et al., 2008).

PĚSTOVÁNÍ

Mořské řasy lze úspěšně pěstovat ve slané i sladké vodě bez použití pesticidů a antibiotik, a kromě toho jsou schopné produkovat větší množství biomasy než suchozemské rostliny. Zdroje řas jsou dvojí: přirozený sběr a jejich pěstování. Díky rostoucí poptávce je velké množství

pěstováno. Pěstují se jako akvakultura v pobřežních oblastech nebo jako součást integrovaného systému, kde mohou snižovat dopady eutrofizace vod (Zhang et al., 2022).

MOŘSKÉ ŘASY V POTRAVINÁŘSTVÍ

Mořské řasy, respektive známé a ověřené druhy, se dnes již běžně nacházejí v tržní síti. V Norsku bylo provedena studie, v rámci které byly sesbírány produkty s obsahem řas (kromě sushi) z tržní sítě. Celkem 96 potravin z různých kategorií, z toho 43 z nich jako celé mořské řasy. Bylo identifikováno celkem 17 různých druhů, z toho nejčastěji *Saccharina latissima*, *Alaria esculenta*, *Undaria pinnatifida* (wakame) (Aakre et al., 2021). Ve Španělsku také sbírali mořské řasy dostupné v tržní síti za účelem výzkumu. Analyzovali přitom, že nejčastějším druhem je *Undaria pinnatifida* (wakame), *Laminaria ochroleuca* a *Himantalia elongata* (Paz et al., 2019). Kromě toho, že se mořské řasy konzumují jako takové, tak existuje i celá řada výrobků, kam byly úspěšně zakomponovány. Nova et al. (2020) sesbíral data a prezentuje jejich použití v několika kategoriích potravin, mezi které patří například těstoviny, cereální tyčinky, sušenky, jogurt, chléb, dehydratované polévky etc.

Podle FAO (2012) patřily mezi nejčastěji pěstované mořské řasy v roce 2010 následující druhy: *Saccharina/Laminaria japonica*, *Kappaphycus alvarezii* a *Euchema* spp. *Euchema* spp. je skupina červených mořských řas, ze kterých je možné získávat hydrokoloidy. Jedním z nich je i karagenan (Diharmi et al., 2017). Produkt karagenan měl již dříve vysokou tržní hodnotu. Ze získaných dat byla tato tržní hodnota okolo 527 milionů US\$, což bylo největším ziskem ze všech produktů mořských řas (Nayar & Bott, 2014). Karagenan je vysoce ceněn pro své emulgační, gelotvorné a stabilizační vlastnosti navíc se schopností vázat vodu. V potravinářství je využíván v mléčných i masných výrobcích, pekařských produktech, džemech ale například i v inovativních aplikacích jako jsou jedlé obaly a filmy (Udo et al., 2023). Karagenan (E 407) je přídatnou látkou podle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008. Dalším získávaným produktem z mořských řas je agar, označován jako přídatná látka (E 406). Agar je povolenou látkou v několika desítkách kategorií potravin a podle EFSA neexistuje žádné bezpečnostní riziko při jeho konzumaci pro obecnou populaci (Mortensen et al., 2016).

Undaria pinnatifida (wakame), *Laminaria digitata japonica* (kombu) a *Porphyra purpurea* (nori) jsou jedny ze známých mořských řas dostupných na trhu. Kombu obsahuje značné množství kyseliny glutamové a asparagové (Hou et al., 2015). Kyselina glutamová je neesenciální aminokyselina ale považuje se za funkční i díky tomu, že dává vzniknout chuti umami při interakci se specifickými chuťovými buňkami (Brosnan & Brosnan, 2013). Nori řasa je zase známá pro své využití při výrobě sushi.

ZÁVĚR

Produkce mořských řas je rozvinutým odvětvím potravinářského průmyslu zejména díky produkci karagenanů. Vybízí se však jejich větší využití skrze jejich bohaté dietetické, bioaktivní a antioxidační vlastnosti. Nehledě na to, že mořské řasy mohou zmírnit dopad nedostatku potravinových zdrojů s nárůstem světové populace.

Literatura

- Aakre, I., Solli, D. D., Markhus, M. W., Mæhre, H. K., Dahl, L., Henjum, S., Alexander, J., Korneliussen, P. A., Madsen, L., & Kjelleve, M. 2021. Commercially available kelp and seaweed products – valuable iodine source or risk of excess intake? *Food and Nutrition Research*, 65. <https://doi.org/10.29219/FNR.V65.7584>
- Anbazzhagan, V., Partheeban, E. C., Arumugam, G., Arumugam, A., Rajendran, R., Paray, B. A., Al-Sadoon, M. K., & Al-Mfarij, A. R. 2021. Health risk assessment and bioaccumulation of metals in brown and red seaweeds collected from a tropical marine biosphere reserve. *Marine Pollution Bulletin*, 164, 112029. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112029>
- Blikra, M. J., Altintzoglou, T., Løvdal, T., Rognså, G., Skipnes, D., Skåra, T., Sivertsvik, M., & Noriega Fernández, E. 2021. Seaweed products for the future: Using current tools to develop a sustainable food industry. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 118, pp. 765–776). Elsevier.

<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.002>

- Bogolitsyn, K., Dobrodeeva, L., Druzhinina, A., Ovchinnikov, D., Parshina, A., & Shulgina, E. 2019. Biological activity of a polyphenolic complex of Arctic brown algae. *Journal of Applied Phycology*, 31(5), 3341–3348. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01840-7>
- Bolton, J. J. 2020. The problem of naming commercial seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, 32(2), 751–758. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01928-0>
- Brosnan, J. T., & Brosnan, M. E. 2013. Glutamate: A truly functional amino acid. *Amino Acids*, 45(3), 413–418. <https://doi.org/10.1007/s00726-012-1280-4>
- Cai, J., Lovatelli, A., Aguilar-Manjarrez, J., Cornish, L., Dabbadie, L., Desrochers, A., Diffey, S., Garrido Gamarro, E., Geehan, J., Hurtado, A., Lucente, D., Mair, G., Miao, W., Potin, P., Przybyla, C., Reantaso, M., Roubach, R., Tauati, M., & Yuan, X. 2021. Seaweeds and microalgae: an overview for unlocking their potential in global aquaculture development. In *Seaweeds and microalgae: an overview for unlocking their potential in global aquaculture development* (Vol. 1229). <https://doi.org/10.4060/cb5670en>
- Černá, M. 2011. Seaweed proteins and amino acids as nutraceuticals. In *Advances in Food and Nutrition Research* (Vol. 64, pp. 297–312). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387669-0.00024-7>
- Circuncisão, A. R., Catarino, M. D., Cardoso, S. M., & Silva, A. M. S. 2018. Minerals from macroalgae origin: Health benefits and risks for consumers. In *Marine Drugs* (Vol. 16, Issue 11). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/md16110400>
- Diharmi, A., Fardiaz, D., Andarwulan, N., & Heruwati, E. S. 2017. Chemical and physical characteristics of carrageenan extracted from *Eucheuma spinosum* harvested from three different Indonesian coastal sea regions. *Phycological Research*, 65(3), 256–261. <https://doi.org/10.1111/pre.12178>
- El-Shenody, R. A., Elshobary, M. E., Ragab, G. A., Huo, S., & Essa, D. 2023. Towards biorefinery: Exploring the potential of seaweed-derived biodiesel and its residual biomass in improving the traits of *Eruca vesicaria* (L.) cav. *South African Journal of Botany*, 155, 361–371. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.02.029>
- FAO. Part 1. 2012. World review of fisheries and aquaculture. The State of World Fisheries and Aquaculture. 3–104.
- Hou, X., Hansen, J. H., & Bjerre, A. B. 2015. Integrated bioethanol and protein production from brown seaweed *Laminaria digitata*. *Bioresource Technology*, 197, 310–317. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.091>
- Kumar, S., Sahoo, D., & Levine, I. 2015. Assessment of nutritional value in a brown seaweed *Sargassum wightii* and their seasonal variations. *Algal Research*, 9, 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.02.024>
- Maeda, H., Tsukui, T., Sashima Phd, T., Hosokawa, M., & Miyashita, K. 2008. Seaweed carotenoid, fucoxanthin, as a multi-functional nutrient. In *Asia Pac J Clin Nutr* (Vol. 17, Issue S1).
- Matanjun, P., Mohamed, S., Mustapha, N. M., & Muhammad, K. 2009. Nutrient content of tropical edible seaweeds, *Eucheuma cottonii*, *Caulerpa lentillifera* and *Sargassum polycystum*. *Journal of Applied Phycology*, 21(1), 75–80. <https://doi.org/10.1007/s10811-008-9326-4>
- McDermid, K. J., & Stuercke, B. (2003). Nutritional composition of edible Hawaiian seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, 15(6), 513–524. <https://doi.org/10.1023/B:JAPH.0000004345.31686.7f>
- Moreira, A., Cruz, S., Marques, R., & Cartaxana, P. 2022. The underexplored potential of green macroalgae in aquaculture. In *Reviews in Aquaculture* (Vol. 14, Issue 1, pp. 5–26). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/raq.12580>
- Mortensen, A., Aguilar, F., Crebelli, R., Di Domenico, A., Frutos, M. J., Galtier, P., Gott, D., Gundert-Remy, U., Lambrée, C., Leblanc, J. C., Lindtner, O., Moldeus, P., Mosesso, P., Oskarsson, A., Parent-Massin, D., Stankovic, I., Waalkens-Berendsen, I., Woutersen, R. A., Wright, M., Dusemund, B. 2016. Re-evaluation of agar (E 406) as a food additive. *EFSA Journal*, 14(12). <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2016.4645>
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2015/2283 ze dne 25. listopadu 2015 o nových potravinách, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 a o zrušení nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 258/97 a nařízení Komise (ES) č. 1852/2001.
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1379/2013 ze dne 11. prosince 2013 o společné organizaci trhů s produkty rybolovu a akvakultury a o změně nařízení Rady (ES) č. 1184/2006 a (ES) č. 1224/2009 a o zrušení nařízení Rady (ES) č. 104/2000.
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1333/2008 ze dne ze dne 16. prosince 2008 o potravinářských přídatných látkách.
- Nayar, S., & Bott, K. 2014. Current status of global cultivated seaweed production and markets. *World Aquaculture*, 45(2), 32–37. <https://www.researchgate.net/publication/265518689>
- Nova, P., Martins, A. P., Teixeira, C., Abreu, H., Silva, J. G., Silva, A. M., Freitas, A. C., & Gomes, A. M. 2020. Foods with microalgae and seaweeds fostering consumers health: a review on scientific and market innovations. In *Journal of Applied Phycology* (Vol. 32, Issue 3, pp. 1789–1802). <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02129-w>
- Nunes, N., Ferraz, S., Valente, S., Barreto, M. C., & Pinheiro de Carvalho, M. A. A. 2017. Biochemical composition, nutritional value, and antioxidant properties of seven seaweed species from the Madeira Archipelago. *Journal of Applied Phycology*, 29(5), 2427–2437. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1074-x>

- Paz, S., Rubio, C., Frías, I., Luis-González, G., Gutiérrez, Á. J., González-Weller, D., & Hardisson, A. 2019. Human exposure assessment to macro- and trace elements in the most consumed edible seaweeds in Europe. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(36), 36478–36485. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06713-7>
- Peñalver, R., Lorenzo, J. M., Ros, G., Amarowicz, R., Pateiro, M., & Nieto, G. 2020. Seaweeds as a functional ingredient for a healthy diet. In *Marine Drugs* (Vol. 18, Issue 6). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/md18060301>
- Rohani-Ghadikolaie, K., Abdulalian, E., & Ng, W. K. (2012). Evaluation of the proximate, fatty acid and mineral composition of representative green, brown and red seaweeds from the Persian Gulf of Iran as potential food and feed resources. *Journal of Food Science and Technology*, 49(6), 774–780. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0220-0>
- Prováděcí nařízení Komise (EU) 2020/1820 ze dne 2. prosince 2020, kterým se povoluje uvedení sušené řasy *Euglena gracilis* na trh jako nové potravině podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2015/2283 a kterým se mění prováděcí nařízení Komise (EU) 2017/2470.
- Rupérez, P. 2002. Mineral content of edible marine seaweeds. *Food Chemistry*, 79(1), 23–26. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00171-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00171-1)
- Rupérez, Pilar, & Saura-Calixto, F. 2001. Dietary fibre and physicochemical properties of edible Spanish seaweeds. *European Food Research and Technology*, 212(3), 349–354. <https://doi.org/10.1007/s002170000264>
- Sánchez-Machado, D. I., López-Cervantes, J., López-Hernández, J., & Paseiro-Losada, P. (2004). Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chemistry*, 85(3), 439–444. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.001>
- Škrovánková, S. 2011. Seaweed vitamins as nutraceuticals. In *Advances in Food and Nutrition Research* (Vol. 64, pp. 357–369). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387669-0.00028-4>
- Soares, C., Sousa, S., Machado, S., Vieira, E., Carvalho, A. P., Ramalhosa, M. J., Morais, S., Correia, M., Oliveira-Teles, T., Domingues, V. F., & Delerue-Matos, C. 2021. Bioactive lipids of seaweeds from the portuguese north coast: Health benefits versus potential contamination. *Foods*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/foods10061366>
- Tanna, B., & Mishra, A. 2019. Nutraceutical Potential of Seaweed Polysaccharides: Structure, Bioactivity, Safety, and Toxicity. In *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* (Vol. 18, Issue 3, pp. 817–831). Blackwell Publishing Inc. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12441>
- Udo, T., Mummaleti, G., Mohan, A., Singh, R. K., & Kong, F. 2023. Current and emerging applications of carrageenan in the food industry. In *Food Research International* (Vol. 173, p. 113369). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113369>
- Van Ginneken, V. J. T., Helsper, J. P. F. G., De Visser, W., Van Keulen, H., & Brandenburg, W. A. 2011. Polyunsaturated fatty acids in various macroalgal species from north Atlantic and tropical seas. *Lipids in Health and Disease*, 10. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-10-104>
- Wu, G. 2016. Dietary protein intake and human health. In *Food and Function* (Vol. 7, Issue 3, pp. 1251–1265). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/c5fo01530h>
- Yeh, T. S., Hung, N. H., & Lin, T. C. 2014. Analysis of iodine content in seaweed by GC-ECD and estimation of iodine intake. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(2), 189–196. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.01.014>
- Zhang, L., Liao, W., Huang, Y., Wen, Y., Chu, Y., & Zhao, C. 2022. Global seaweed farming and processing in the past 20 years. In *Food Production, Processing and Nutrition* (Vol. 4, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s43014-022-00103-2>

Kontaktní adresa: prof. MVDr. Bohuslava Tremlová, Ph.D., Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika

VLIV PŮDNÍHO POKRYVU NA ZÁKLADNÍ PARAMETRY MEDŮ INFLUENCE OF LAND COVER ON THE HONEY PARAMETERS

*Matej Pospiech, Simona Ljasovská, Marie Bartlová, Helena Čížková, Vojtěch Kružík,
Dalibor Titěra, Barbara Prus, Bohuslava Tremlová*

Abstract: The geographical origin of honey can be identified through physico-chemical composition or pollen analysis. This is based on the assumption that the natural resources are unique to the region. The aim of this research was to investigate the potential correlation between physicochemical parameters, pollen profile, and land cover identified through remote sensing. Moisture, acidity, HMF, diastase, conductivity, carbohydrates, and the presence of pollen taxa were analysed using melissopalynology. Statistical significance ($p < 0.05$) was observed in the differences between the measured parameters and land cover. The variability was higher for pollen taxa compared to physicochemical parameters. The findings indicate that no single variable could accurately distinguish all types of land cover. Utilizing a combination of multiple variables and advanced statistical methods will be necessary for differentiation.

Keywords: melissopalynology, CORINE Land Cover, geographic information system, prediction

ÚVOD

Med je oblíbeným sladidlem s dlouhou tradicí mezi konzumenty. Tradice konzumace medu sahá hloubko do minulosti a představuje první z dostupných zdrojů cukrů. Tradice, obliba a vyšší cena medu vede často k falšování tohoto produktu. Falšování může být prováděno různými způsoby. Jedním z nich je záměna geografického původu medu. Pro průkaz geografického původu medu existuje více metod, které jsou založeny na určení botanického původu (Kaškonienė et al., 2010), izotopového profilu (Kawashima et al., 2018), magnetické rezonance (Zheng et al., 2016) nebo obsahu látek, jako jsou např. minerální látky, polyfenoly nebo pyl (Ohmenhaeuser et al., 2013; Karabagias et al., 2014; Pasquini et al., 2014). Důvodem velkého spektra metod využívaných pro geografickou identifikaci medu je komplikovanost tohoto průkazu. Definovat geografický původ je sice snadné, protože je dána stanovištěm, ale definovat charakteristiku medu specifickou pro konkrétní lokality je obtížné. Na charakteristiku medu, která je daná složením medu má vliv mnoho faktorů, zejména zdroj snůšky, klimatické podmínky, botanické zastoupení a pro izotopové metody a magnetickou rezonanci také množství srážek (Kawashima et al., 2018). Na všechny tyto činitele má vliv využití půdy v daných lokalitách, které je významně ovlivněno antropogenními faktory. Za klíčové lze považovat zavlažování, selekci konkrétních botanických druhů, výstavbu budov a podobně. Lidmi upravená krajina poskytuje tudíž specifický zdroj pastvy, ale i na samotnou pastvu má antropogenní činnost vliv. Cílem práce je určit vliv půdního pokryvu (využití půdy) na základní složení medu.

MATERIÁL A METODIKA

Ve studii bylo analyzováno 32 vzorků medu, které byly získány od hobby včelařů z různých lokalit České republiky. Medy byly analyzovány podle doporučených postupů mezinárodní medové komise (Bogdanov, 2009). Analyzovány byly parametry: obsah vody (%), kyselost (meq.kg^{-1}), hydroxymethyl furfural (HMF, mg.kg^{-1}), aktivita diastázy (DN), vodivost (mS.m^{-1}), barva medu (mm pfund), sacharóza, fruktóza, glukóza, turanóza, maltóza, trehalóza, melezitóza (%). Pylová analýza byla provedena podle standardního postupu

(Pospiech et al., 2021). Navážka vzorků medu byla 5 gramů. Vzorky byly filtrovány (velikost pórů 5 μ m) (MERK, CZE) a po vysušení byly vzorky zality syntetickou pryskyřicí Solakryl (VWR, CZE). Snímání náhodných zorných polí bylo při dvě stě násobném zvětšení. Byl použit in-home zobrazovací systém zahrnující mikroskop Eclipse (Nikon, JPN), kameru (Imagine source, GER) a snímací software (Laboratory imagine, CZE).

Data dálkového průzkumu země byla získána ze systému CORINE Land Cover (CLC) v rámci volné licence. Zpracování dat proběhlo za pomoci mapového softwaru QGIS (A Free and Open Source Geographic Information System, 3.28.15 LTR). Pro každé včelí stanoviště, od kterého byl odebrán vzorek medu, byla vypočtena plocha krajinného pokryvu stanovena dle metodiky CLC. Analyzovaná plocha byla 3 km v poloměru. Tři kilometry byly zvoleny jako průměrná letová vzdálenost včel.

Data byla srovnána pomocí statistického software XLSTAT (Addinsoft, USA). Byl použit test ANOVA s mnohonásobným porovnáním Tukey HSD na hladině významnosti $p < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSE

V této práci bylo zastoupeno 14 typů půdního pokryvu. Ne všechny byly ve stejném procentuálním zastoupení, z toho důvodu byla u všech statistických testů použita váhová korekce, která byla definována jako celková plocha půdního pokryvu pro dané stanoviště. Konkrétně byly hodnoceny typy půdního pokryvu, které jsou uvedeny s použitou zkratkou a procentuálním podílem v hodnocené rozloze. Listnaté lesy (Lis, 5,22 %), komplexní systémy kultur a parcel (Kom, 3,35 %), jehličnaté lesy (Jeh, 4,34 %), městská nesouvislá zástavba (Měs, 14,93), ovocné sady a keře (Ovo, 0,86 %), průmyslové nebo obchodní zóny (Prů, 4,38), převážně zemědělská území s příměsí přirozené vegetace (Pře, 14,2 %), těžba hornin (Tež, 0,41), smíšené lesy (Smí, 10,52 %), orná půda mimo zavlažovaných ploch (Orn, 29,98), pastviny (Pas, 8,03), silniční a železniční síť a přilehlé prostory (Sil, 0,93), zařízení pro sport a rekreaci (0,83) a vinice (Vin, 0,86).

Půdní typy byly srovnány s fyzikálně-chemickými parametry (**Tabulka 1**) a pylovým profilem medu (**Tabulka 2**) s hodnocených stanovišť.

Z uvedených výsledků je zřejmé, že obsah vody, kyselost, HMF, aktivita diastázy neměli souvislost s typem půdního pokryvu. Tento výsledek není překvapivý, protože jsou to parametry, které souvisí zejména manipulací s medem. Aktivita diastázy může být také nízká u některých jednodruhových medů (Persano Oddo & Piro, 2004) a naopak obsah HMF může být vysoký zejména u medů z tropických oblastí (Juan-Borrás et al., 2014). Ze sacharidů sacharóza, fruktóza, turanóza, maltóza, melecitóza byla bez zřetelné souvislosti k půdnímu pokryvu. V případě sacharózy, turanózy, maltózy a melecitózy to bylo očekávané zejména z důvodu, že obsah těchto sacharidů je nízký a neliší se ani v průběhu let (Čížková et al., 2022). Naopak zajímavým zjištěním jsou rozdíly mezi jednotlivými typy půdního pokryvu u glukózy a trehalózy. Nejvyšší hodnota glukózy byla zaznamenána u lokalit s výskytem porostů jehličnanů (36,01 %) a tato hodnota se statisticky lišila od ostatních typů půdního pokryvu ($p < 0,05$). U trehalózy byla statisticky nejvyšší hodnota u lokalit s těžební činností (1,11 %) a nejnižší u jehličnanů (0,18 %). Toto zjištění je v rozporu se španělskou studií (Bentabol Manzanares et al., 2011), kde byl obsah trehalózy vyšší u medovicových medů (1,89 %) ve srovnání s květovými (1,67 %). V našem případě byl obsah trehalózy nižší (1,11 %) než by odpovídalo medovicovému medu (**Tabulka 1**). Trehalóza však může být také v květových medech, kdy se její obsah pohybuje od 1,5 do 2 % (Bentabol Manzanares et al., 2014).

Tabulka 1 Srovnání fyzikálně chemických parametrů medu

Půdní pokryv	Obsah vody (%) Fl _{max} 0,1	Kyselost [meq/kg]	HMF [mg/kg]	DN [stupňů]	Vodivost [mS/m]	Sacharóza (%)	Fruktóza (%)	Glukóza (%)	Turanóza (%)	Maltóza (%)	Trehalóza (%)	Melezitóza a (%) medu	[mm]
Orn	17,29 ^a	20,83 ^a	3,03 ^a	24,38 ^a	45,48 ^{abcd}	0,93 ^a	37,32 ^a	32,27 ^{ab}	1,96 ^a	3,73 ^a	0,55 ^{abc}	0,42 ^a	44,08 ^a
Měs	16,97 ^a	19,75 ^a	2,2 ^a	26,12 ^a	57,37 ^{abcd}	0,78 ^a	37,6 ^a	31,88 ^{ab}	2,15 ^a	4,02 ^a	0,68 ^{abc}	0,34 ^a	46,64 ^a
Pře	16,48 ^a	22,16 ^a	3,11 ^a	23,12 ^a	68,34 ^{abc}	0,69 ^a	36,615 ^a	30,86 ^b	2,27 ^a	3,96 ^a	0,89 ^{ab}	0,65 ^a	39,84 ^a
Smí	16,71 ^a	22,18 ^a	1,85 ^a	23,25 ^a	67,5 ^{abcd}	0,41 ^a	36,75 ^a	30,84 ^b	2,29 ^a	4,01 ^a	0,85 ^{abc}	0,71 ^a	43,99 ^a
Lis	16,38 ^a	28,5^a	4,55 ^a	23,56 ^a	60,28 ^{cd}	0,31 ^a	36,96 ^a	30,44 ^b	2,54^a	4,06 ^a	0,77 ^{abc}	0,80^a	56,83^a
Pas	15,89 ^a	20,94 ^a	10,19^a	19,49 ^a	67,75 ^{abcd}	0,45 ^a	36,4 ^a	31,67 ^{ab}	2,35 ^a	3,44 ^a	0,923^{ab}	0,72 ^a	38,15 ^a
Kom	17,69^a	22,61 ^a	1,36 ^a	24,93 ^a	42,411 ^{bcd}	1,12 ^a	37,92 ^a	31,18 ^b	1,73 ^a	3,47 ^a	0,56 ^{abc}	0,63 ^a	40,24 ^a
Vin	17,72 ^a	26,97 ^a	1,21 ^a	25,95 ^a	33,48 ^d	2,22^a	37,91 ^a	30,54 ^b	1,49 ^a	3,21 ^a	0,43 ^{bc}	0,55 ^a	39,53 ^a
Prů	17,0 ^a	21,21 ^a	1,16 ^a	26,36 ^a	67,36 ^{abcd}	0,49 ^a	37,92 ^a	32,00 ^{ab}	1,99 ^a	3,96 ^a	0,77 ^{abc}	0,19 ^a	41,12 ^a
Ovo	16,65 ^a	27,71 ^a	2,46 ^a	23,56 ^a	58,04 ^{abcd}	0,79 ^a	37,36 ^a	31,16 ^b	1,80 ^a	3,61 ^a	0,69 ^{abc}	0,40 ^a	36,74 ^a
Sil	16,73 ^a	22,43 ^a	0,83 ^a	27,00^a	73,97 ^{ab}	0,42 ^a	38,05 ^a	31,74 ^{ab}	2,06 ^a	4,10 ^a	0,78 ^{abc}	0,17 ^a	43,33 ^a
Jeh	17,1 ^a	13,63 ^a	5,15 ^a	14,7 ^a	35,26 ^{cd}	0,16 ^a	38,13^a	36,01^a	1,77 ^a	3,9 ^a	0,18^c	0,26 ^a	46,83 ^a
Zař	16,04 ^a	17,86 ^a	2,12 ^a	21,07 ^a	69,00 ^{abc}	0,22 ^a	36,53 ^a	30,95 ^b	2,53 ^a	4,78^a	0,88 ^{ab}	1,11 ^a	36,74 ^a
Těž	15,83 ^a	19,08 ^a	1,44 ^a	22,80 ^a	82,20^a	0,21 ^a	36,1 ^a	30,44 ^b	2,42 ^a	4,47 ^a	1,11^a	1,15 ^a	33,17 ^a

Rozdílný horní index indikuje statisticky významné rozdíly ve sloupcích.

Tabulka 2 Srovnání pylového profilu medu s typem půdního pokryvu

Půdní pokryv	Brasica sp	Robinia sp	Salix, Salicacea e	Bellis sp.	Helianthu s sp.	Umbellife rae sp.	Amaryllid aceae	Campanul a sp	Echium sp.	Thymus sp.	Hypericu m sp.
Orn	29,12 ^{ab}	2,23 ^b	1,38 ^{abc}	0,13 ^b	0,49 ^{bc}	6,25 ^{ab}	0,2 ^b	0,32 ^{ab}	0,17 ^{bc}	0,64 ^{ab}	0,52 ^b
Měs	30,08 ^{ab}	0,25 ^b	0,85 ^{bc}	0,12 ^b	0,4 ^c	5,69 ^{ab}	0,06 ^b	0,35 ^{ab}	0,13 ^{bcd}	0,34 ^{ab}	0,46 ^b
Pře	9,99 ^b	2,59 ^b	0,81 ^{bc}	0,40 ^a	0,09 ^c	4,89 ^{ab}	0,3 ^b	0,59 ^{ab}	0,16 ^{bc}	0,65 ^{ab}	0,06 ^b
Smí	8,92 ^b	2,72 ^b	0,68 ^{bc}	0,33 ^a	0,00 ^c	5,24 ^{ab}	0,31 ^b	0,46 ^{ab}	0,14 ^{bcd}	0,48 ^{ab}	0,11 ^b
Lis	5,19 ^b	0,28 ^b	0,13 ^c	0,05 ^b	0,00 ^c	4,57 ^{ab}	0,02 ^b	0,17 ^b	0,09 ^{bcd}	0,01 ^b	0,45 ^b
Pas	7,12 ^b	2,43 ^b	0,54 ^{bc}	0,35 ^a	0,00 ^c	4,23 ^{ab}	0,15 ^b	0,74 ^{ab}	0,14 ^{bcd}	0,7 ^{ab}	0,35 ^b
Kom	23,92 ^{ab}	0,00 ^b	3,32 ^{abc}	0,03 ^b	2,22 ^{ab}	4,06 ^{ab}	0,00 ^b	0,00 ^b	0,53 ^a	1,29 ^{ab}	3,16^a
Vin	24,91 ^{ab}	0,00 ^b	4,83^a	0,00 ^b	3,12^a	4,99 ^{ab}	0,00 ^b	0,00 ^b	0,74^a	1,95^a	4,0 ^a
Prů	32,07 ^{ab}	0,00 ^b	0,62 ^{bc}	0,01 ^b	0,05 ^c	4,4 ^{ab}	0,00 ^b	1,02 ^{ab}	0,05 ^{cd}	0,05 ^{ab}	0,00 ^b
Ovo	21,14 ^{ab}	11,36^a	4,07 ^{ab}	0,71^a	0,14 ^c	9,14^a	1,43^a	1,86^a	0,07 ^{bcd}	1,5 ^{ab}	0,00 ^b
Sil	33,33 ^{ab}	0,00 ^b	0,67 ^{bc}	0,00 ^b	0,00 ^c	4,67 ^{ab}	0,00 ^b	1,33 ^{ab}	0,00 ^{cd}	0,00 ^b	0,00 ^b
Jeh	56,71^a	0,00 ^b	0,11 ^c	0,11 ^b	0,00 ^c	4,79 ^{ab}	0,06 ^b	0,11 ^b	0,00 ^d	0,06 ^{ab}	0,11 ^b
Zař	7,53 ^b	0,00 ^b	0,00 ^c	0,15 ^{ab}	0,00 ^c	1,99 ^{ab}	0,00 ^b	0,00 ^b	0,35 ^{abc}	0,00 ^b	0,00 ^b
Těž	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^c	0,22 ^{ab}	0,00 ^c	0,72^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,50 ^{ab}	0,00 ^b	0,00 ^b

Rozdílný horní index indikuje statisticky významné rozdíly ve sloupcích.

Kromě základních fyzikálně-chemických parametrů medu byly srovnány také rozdíly procentuálního zastoupení botanických taxonů v oblastech s různým zastoupením půdního pokryvu. Kromě taxonů uvedených v tabulce 2 byly potvrzeny taktéž taxony rodů Artemisia, Alnus, Rubus, Betula, Acer, Castanea, Trifolium, Tilia, Phacelia, Rhamnus, Vicia,

Taraxacum, Aesculus, Lythrum, Phagopyrum, Lotus, Aruncus a zástupci blíže neurčených čeledí *Balsaminaceae*, *Apiaceae*, *Rosaceae*. Mezi těmito taxony však nebyl potvrzen statisticky významný rozdíl ($p > 0,05$). Mezi taxony uvedenými v tabulce 2 byly zaznamenány statistické rozdíly ($p < 0,05$) což vypovídá o vlivu půdního pokryvu k zastoupeným taxonům na daných lokalitách. Ne vždy je ale vztah předvídatelný. Příkladem je vysoký výskyt řepky (56 %) v oblastech s vysokým zastoupením jehličnatých lesů. Na druhou stranu výskyt květin a suchomilných rostlin (rody: Helianthus, Echium, Thymus) v oblastech s výskytem vinic je očekávaný. Výskyt akátu (11,36 %) v oblastech s podílem ovocných sadů lze vysvětlit sběrem akátu po vyčerpání rezerv včelstev, které vznikly spotřebováním zásob z ovocných stromů. Určitou roli nejspíše hraje také daná oblast, kdy ovocné sady jsou v oblastech s menším podílem intenzivního zemědělství, a tedy menším podílem pylu řepky, která předchází akátu. Pyl vrby je typický pro jarní medy a spíše jihovýchodní oblasti Evropy, tedy oblasti s teplým klimatem (Persano Oddo et al., 2004). Vysoký podíl vrby (3,12 %) v oblastech s vinicemi lze zdůvodnit specifitou daných regionů, kdy vinice jsou spíše v teplejších oblastech, a tedy včely jsou schopny využít také tento poměrně raný zdroj potravy.

U pylů s větší frekvencí výskytu byly potvrzeny statistické rozdíly mezi některými skupinami půdního pokryvu. Toto zjištění je v souladu s naším dřívějším výzkumem, kdy byly potvrzeny korelace mezi jednotlivými pylovými taxony a plochou půdního pokryvu na jednotlivých stanovištích (Pospiech et al., 2023). Závislost mezi pylovými taxony a fyzikálně-chemickými parametry medu potvrdili také další autoři (Bertoncelj et al., 2011; Karabagias et al., 2014; Bodó et al., 2020). Na vyhodnocení více faktorů podobně jako je prezentováno v této studii je vhodné použít metody vyšší statistiky. Pro med byly úspěšně aplikovány metody váženého k-nejbližšího souseda, penalizovaná diskriminační analýza, mnohodimenzionální diskriminační analýza, smršťovací diskriminační analýza, metoda nejbližších centroidů, metoda nejmenších čtverců a také metody náhodných lineárních stromů (Mateo et al., 2021).

ZÁVĚR

Vliv půdního pokryvu se projevuje na fyzikálně-chemických vlastnostech medu a na jeho pylovém profilu. Z výsledků analýzy však nevyplýval specifický fyzikálně-chemický parametr nebo botanický taxon, který by byl typický pro půdní pokryv. Avšak toto zjištění je však v souladu s očekávanými a pro lepší klasifikaci je vhodnější použít některé z modelů vyšší statistiky. Nalezení konkrétního modelu pro klasifikaci bude předmětem dalšího výzkumu.

LITERATURA

- Bentabol Manzanares, A., García, Z. H., Galdón, B. R., Rodríguez, E. R., Romero, C. D. 2011. Differentiation of blossom and honeydew honeys using multivariate analysis on the physicochemical parameters and sugar composition. *Food Chemistry*, 126(2), 664–672. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.003>
- Bertoncelj, J., Golob, T., Kropf, U., Korošec, M. 2011. Characterisation of Slovenian honeys on the basis of sensory and physicochemical analysis with a chemometric approach. *International Journal of Food Science and Technology*, 46(8), 1661–1671. Dostupné na: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02664.x>
- Bodó, A., Radványi, L., Kőszegi, T., Csepregi, R., Nagy, D. U., Farkas, Á., Kocsis, M. 2020. Melissopalynology, antioxidant activity and multielement analysis of two types of early spring honeys from Hungary. *Food Bioscience*, 35(May 2019), 100587. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100587>
- Bogdanov, S. 2009. *Harmonised methods of the international honey commission*.
- Čížková, H., Titěra, D., Hrabec, P., Pospiech, M. 2022. Nine-year statistics of Czech honey carbohydrate profiles in the Czech Republic. *Czech Journal of Food Sciences*, 40(No. 2), 85–92. Dostupné na: <https://doi.org/10.17221/213/2021-CJFS>

- Juan-Borrás, M., Domenech, E., Hellebrandova, M., Escriche, I. 2014. Effect of country origin on physicochemical, sugar and volatile composition of acacia, sunflower and tilia honeys. *Food Research International*, 60, 86–94. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.045>
- Karabagias, I. K., Badeka, A. V., Kontakos, S., Karabournioti, S., & Kontominas, M. G. 2014. Botanical discrimination of Greek unifloral honeys with physico-chemical and chemometric analyses. *Food Chemistry*, 165, 181–190. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.033>
- Kaškonienė, V., Venskutonis, P. R., Kaškonienė, V., Venskutonis, P. R., Kaškonienė, V., Venskutonis, P. R. 2010. Floral Markers in Honey of Various Botanical and Geographic Origins: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(6), 620–634. Dostupné na: <https://doi.org/10.1111/J.1541-4337.2010.00130.X>
- Kawashima, H., Suto, M., & Suto, N. 2018. Determination of carbon isotope ratios for honey samples by means of a liquid chromatography/isotope ratio mass spectrometry system coupled with a post-column pump. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 32(15), 1271–1279. Dostupné na: <https://doi.org/10.1002/RCM.8170>
- Bentabol Manzanares, A., Hernández García, Z., Rodríguez Galdón, B., Rodríguez Rodríguez, E., & Díaz Romero, C. 2014. Physicochemical characteristics of minor monofloral honeys from Tenerife, Spain. *LWT - Food Science and Technology*, 55(2), 572–578. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.09.024>
- Mateo, F., Tarazona, A., Mateo, E. M. 2021. Comparative study of several machine learning algorithms for classification of unifloral honeys. *Foods*, 10(7), 1543. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/FOODS10071543/S1>
- Ohmenhaeuser, M., Monakhova, Y. B., Kuballa, T., Lachenmeier, D. W. 2013. Qualitative and Quantitative Control of Honeys Using NMR Spectroscopy and Chemometrics. *ISRN Analytical Chemistry*, 2013, 1–9. Dostupné na: <https://doi.org/10.1155/2013/825318>
- Pasquini, B., Goodarzi, M., Orlandini, S., Beretta, G., Furlanetto, S., Dejaegher, B. 2014. Geographical characterisation of honeys according to their mineral content and antioxidant activity using a chemometric approach. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(5), 1351–1359. Dostupné na: <https://doi.org/10.1111/IJFS.12436>
- Persano Oddo, L., Piana, L., Bogdanov, S., Bentabol, A., Gotsiou, P., Kerkvliet, J., Martin, P., Morlot, M., Ortiz Valbuena, A., Ruoff, K., & von der Ohe, K. 2004. Botanical species giving unifloral honey in Europe. *Apidologie*, 35(Suppl. 1), S82--S93. Dostupné na: <https://doi.org/10.1051/apido:2004045>
- Persano Oddo, L., Piro, R. 2004. Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie*, 35(Suppl. 1), S38--S81. Dostupné na: <https://doi.org/10.1051/apido:2004049>
- Pospiech, M., Bartlová, M., Javůrková, Z., Tremlová, B., Čížková, H., Prus, B., Marcincák, S., Bodor, Zsanett. 2023. *Vztah pokryvu krajiny k pylovému profilu medu*. 59–66.
- Pospiech, M., Štarha, P., Bednář, J., Čížková, H., Hrabec, P., Kružík, V., Javůrková, Z., Titěra, D. 2021. *Metodika semiautomatického stanovení pylového profilu – melissopalynologická analýza medu*. VETUNI Brno.: <https://agronavigator.cz/sites/default/files/users/user291/Metodiky/Potravin%C3%A11%C5%99stv%C3%AD%20semiautomatick%C3%A9ho%20stanoven%C3%AD%20pylov%C3%A9ho%20profilu.pdf>
- Zheng, X., Zhao, Y., Wu, H., Dong, J., Feng, J. 2016. Origin Identification and Quantitative Analysis of Honeys by Nuclear Magnetic Resonance and Chemometric Techniques. *Food Analytical Methods*, 9(6), 1470–1479. Dostupné na: <https://doi.org/10.1007/S12161-015-0325-1/TABLES/2>

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



Kontaktní adresa: Matej Pospiech, doc., MVDr., Ph.D., Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární universita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika. tel. 541 562 704, e-mail: mpospiech@vfu.cz

VÝVOJ SKUTOČNEJ A PREDIKCIA BUDÚCEJ SPOTREBY VYBRANÝCH SKUPÍN POTRAVÍN DEVELOPMENT OF ACTUAL AND PREDICTION OF FUTURE CONSUMPTION OF SELECTED FOOD GROUPS

Roman Récky, Zdenka Kádeková, Ingrida Košičiarová, Ivana Bulanda, Vladimír Vavrečka

Abstract: Food and nutrition policy is important to economic policy in all developed countries. These policies also include the definition of recommended dietary allowances (RDA), which are transformed into recommended consumption allowances (RCA) of food for practical use. RCA of food represent a basic criterion for evaluating the level of consumption of individual food groups and should determine the direction in which the consumption of the given group should develop. The presented contribution analyses the level of consumption and compares it with the recommended dose of selected types of food of plant origin. It also predicts the level of their consumption until 2028 with an emphasis on the rationality and irrationality of the consumers in their decision-making. We focused on the food group's vegetables, fruits, potatoes and legumes. Information on actual food consumption in 2016-2022 was drawn from the Statistical Office of the Slovak Republic. The Microsoft Excel program used the FORECAST. ETS function to predict the future level of food consumption in 2023 - 2028. Predicted values are a continuation of historical values at the specified target date.

Furthermore, the analysis, synthesis, comparison and trend function methods were used. When comparing the actual consumption with the RCA for all food groups, we found an insufficient level of consumption. In 2022, the actual consumption of vegetables was only at 79% of the RCA, for fruits 73% of the RCA, for potatoes 67% of the RCA and for legumes 69% of the RCA. Increasing the consumption of the mentioned food groups is inevitable to improve the health status of the population. To do this, use different forms of education, whether in preschools or schools, but also with adults. Today, we often buy cheap, industrially processed foods with low nutritional value. Only for an educated consumer, rational reasons prevail over irrational ones when buying not only the evaluated food groups.

Keywords: food groups, prediction, consumer behaviour, consumption, rationality, irrationality.

ÚVOD

Jednou zo základných úloh každej vyspelej krajiny je zabezpečenie výživy pre svojich obyvateľov. Výživová politika vychádza z agrárnej a potravinovej politiky a jej hlavnou úlohou je zabezpečenie potravinových potrieb a zdravej výživy spoločnosti. Súčasťou týchto úloh je zabezpečenie potravinovej bezpečnosti, sebestačnosti a na základe zdravotníckych zdôvodnení vymedziť odporúčané dávky spotreby potravín (ODP) na obyvateľa. Následne navrhnuť ciele a realizovať programy, ktoré smerujú k požadovaným zmenám úrovne spotreby jednotlivých skupín potravín. Základný model ODP v kilogramoch na obyvateľa za rok na Slovensku platí od roku 2000. Odporúčané dávky potravín vychádzajú z odporúčaných výživových dávok (OVD) a pre priemerného spotrebiteľa sú jednoduchou pomôckou, ako naplniť OVD konkrétnou skupinou potravín. OVD vytvárajú základný predpoklad na zabezpečenie zdravej výživy pre jednotlivé fyziologické skupiny populácie a zohľadňujú ich energetické a výživové požiadavky podľa veku, pohlavia, fyzického zaťaženia organizmu a fyziologického stavu organizmu tehotných a dojčiacich žien. OVD udávajú množstvo energie, bielkovín, tukov, sacharidov, vitamínov, minerálnych látok i stopových prvkov, ktoré sú odporúčané pre jednotlivé skupiny obyvateľstva na 1 deň.

Nesprávna výživa a nedostatok pohybovej aktivity predstavujú najdôležitejšie rizikové faktory životného štýlu, ktoré sa podieľajú na rozvoji chronických neinfekčných ochorení. Pôsobia po dobu niekoľkých rokov až desaťročí, než dospejú k príznakom choroby. Podľa WHO je možné správnou výživou, primeranou fyzickou aktivitou a nefajčením zabrániť vzniku ischemickej choroby srdca o 80 %, cukrovky 2. typu o 90 % a nádorov o 30 %. SR patrí k európskym krajinám s vysokou prevalenciou obezity dospelých, najvyššou incidenciou zhubných novotvarov, s takmer dvojnásobnou úmrtnosťou na srdcovo – cievne ochorenia proti európskym krajinám s najnižšou úmrtnosťou (Golian, 2017).

Správanie spotrebiteľov determinuje veľké množstvo faktorov, či už z kategórie osobných, spoločenských, psychologických, ekonomických alebo situačných faktorov. K najdôležitejším faktorom pri nákupe potravín patrí čerstvosť výrobkov, kvalita, skúsenosti s výrobkom a cena (Nagyová et al. 2012).

Uskutočnilo sa niekoľko štúdií o vnímaní, spotrebe a nákupnom správaní spotrebiteľov v súvislosti s produktmi rastlinného pôvodu (Ruby et al., 2016; Miguel et al., 2021; Kilian a Hamm, 2021; Hungara et al., 2022; Paslakis et al., 2020), ktoré skúmali rôzne faktory, ako sú postoje spotrebiteľov k tomuto typu stravy, názory na zdravie a výživu, etické obavy, preferencie chuti a dostupnosť rastlinných produktov na trhu; teraz sa otvára medzera, ktorá vytvára nový fenomén, kde je potrebné zistiť, ako sa spotrebiteľia rozhodnú zmeniť svoj životný štýl a prístup k životu, a čo je najdôležitejšie, prečo.

Štúdie spotrebiteľskej psychológie ukázali (Kahneman a Tversky, 1979; Bagozzi, Gopinath a Nyer, 1999; Krishna a Raghubir, 1999; Clegg, 2000; Clark, 2008; Barsalou, 2008; Krishna, Lwin, 2010; D Morrin; Kahneman, 2012; Krishna, Morrin a Sayin, 2014; Krishna a Schwarz, 2014; Thaler, 2016; Serenčes a Lazorčáková, 2017 a ďalší), že spotrebiteľ zakladá svoje nákupné rozhodnutia na pocitoch a emóciách, nie na logike. Až potom svoje rozhodnutia racionalizuje alebo sa snaží racionálne zdôvodniť. To znamená, že čím lepšie dokážeme osloviť potenciálnych zákazníkov na emocionálnej úrovni, tým väčšia je šanca ovplyvniť ich správanie k udržateľnej spotrebe (Rybanská et al., 2020).

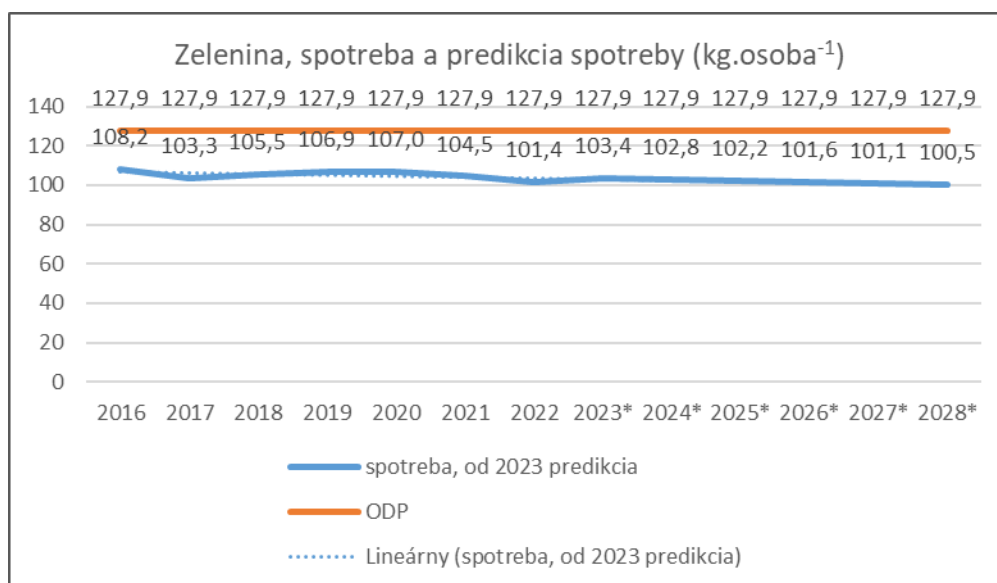
MATERIÁL A METODIKA

Cieľom príspevku bolo zhodnotenie úrovne spotreby a porovnanie s odporúčanou dávkou spotreby vybraných druhov potravín rastlinného pôvodu a predikcia úrovne spotreby do roku 2028 s akcentom na racionalitu a iracionalitu spotrebiteľov pri kreovaní preferencií v ich nákupnom a spotrebiteľskom správaní. Vybrané boli skupiny potravín zelenina, ovocie, zemiaky a strukoviny. Informácie o skutočnej spotrebe potravín v rokoch 2016 – 2022 boli čerpané zo Štatistického úradu SR. Predikcia budúcej úrovne spotreby potravín v rokoch 2023 - 2028 bola uskutočnená programom Microsoft excel pomocou funkcie FORECAST. ETS. Táto funkcia na základe existujúcich (historických) hodnôt vypočíta budúcu hodnotu, a to pomocou AAA verzie algoritmu exponenciálneho vyrovnávania (ETS). Predpovedané hodnoty sú pokračovaním historických hodnôt v zadanom cieľovom dátume. Ďalej boli použité metódy analýzy, syntézy, komparácie a trendová funkcia.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vývoj spotreby zeleniny a zeleninových výrobkov v hodnote čerstvej (roky 2016 - 2022) a predikcia spotreby v kg na obyvateľa SR v rokoch 2023 - 2028 je zobrazená na obrázku 1. Ako vidíme z obrázku, spotreba zeleniny dlhodobo nedosahuje odporúčanú dávku spotreby (127,9 kg). Najvyššiu spotrebu pozorujeme v roku 2016 (108,2 kg). Potom spotreba kolíše, až sa dostane na najnižšiu úroveň v roku 2022 (101,4 kg). V roku 2022 bola spotreba nižšia o 26,5 kg ako je ODP (79 % z ODP). Z jednotlivých druhov zeleniny najviac spotrebujeme rajčín

(15,7 kg), nasleduje cibuľa (13,8 kg) a mrkva (12,4 kg). Predikcia spotreby naznačuje, že spotreba bude mierne klesať a ustáli sa mierne nad úrovňou 100 kg.



Obrázok 1 Zelenina, spotreba, ODP a predikcia spotreby
Zdroj: ŠÚ SR, vlastné spracovanie

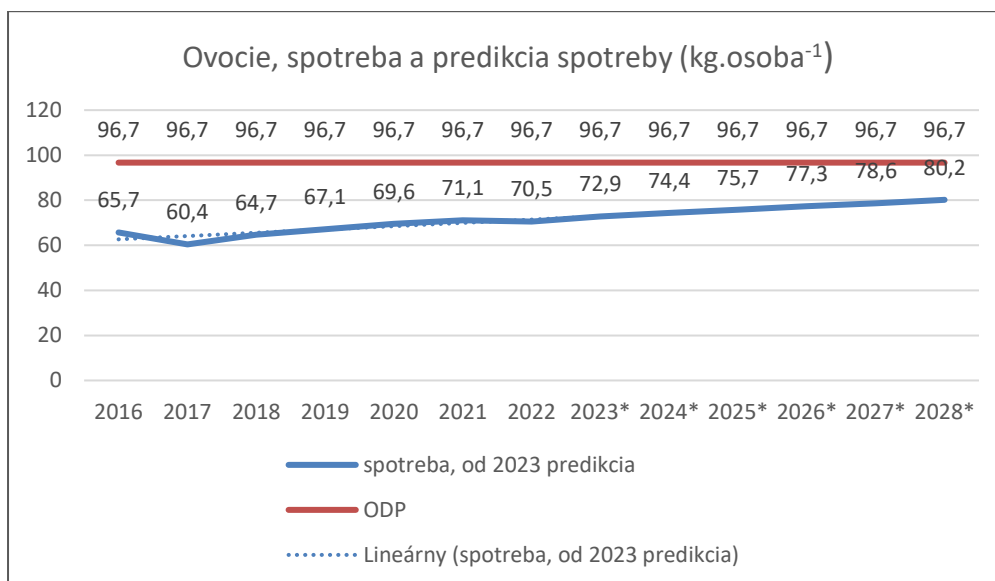
Vývoj spotreby ovocia a ovocných výrobkov v hodnote čerstvej (2016 - 2022) a predikcia spotreby v kg na obyvateľa SR v rokoch 2023 - 2028 je zobrazená na obrázku 2. Najnižšia úroveň spotreby bola v roku 2017 (60,4 kg). Od roku 2017 spotreba ovocia rastie, mierny pokles pozorujeme medzi rokmi 2022 a 2021 (-0,6 kg). Spotreba ovocia dlhodobo zaostáva za ODP (96,7 kg). V roku 2022 bola úroveň spotreby nižšia o 26,2 kg (73 % z ODP). Priemerný občan SR preferuje južné ovocie, v roku 2022 mali najvyššiu spotrebu pomaranče (16,1 kg), jablká (13,3 kg) a banány (11,4 kg). Predikcia spotreby poukazuje na pozitívny smer vývoja a v roku 2028 predpokladá nárast spotreby až nad úroveň 80 kg. Na nízku spotrebu ovocia a zeleniny upozorňujú dlhodobo viacerí autori. Pri porovnaní spotreby základných druhov potravín s úrovňou spotreby v EÚ, má SR nízku spotrebu ovocia a zeleniny (Horská, 2008). Popredné miesto SR zaujíma v nízkej spotrebe ovocia a zeleniny (Golian, 2017).

Spotreba zeleniny a zeleninových výrobkov v kg na obyvateľa v SR sa od roku 2017 – začiatku hodnotiaceho obdobia Školského programu do roku 2021 zvýšila o 1.16 %, avšak spotreba čerstvej zeleniny v tomto období poklesla o 3.13 %. Tento vývoj sme pozorovali aj v zmene nepriamej spotreby zeleniny deťmi v cieľovej skupine Školského programu. Pozitívnym trendom je však rastúca priama spotreba zeleniny deťmi zapojenými do programu (Bartová et al., 2023).

Celková spotreba jabĺk na obyvateľa Slovenska za vlašajšok vzrástla v priemere o 12,7 percenta. Kým v roku 2021 sme zjedli takmer 12 kilogramov jabĺk, v roku 2022 to bolo 13,3 kilogramu. Najvyššia spotreba za posledných päť rokov bola v roku 2020, keď sme spotrebovali o kilo viac, 14,3 kilogramu jabĺk (Trend, 2023).

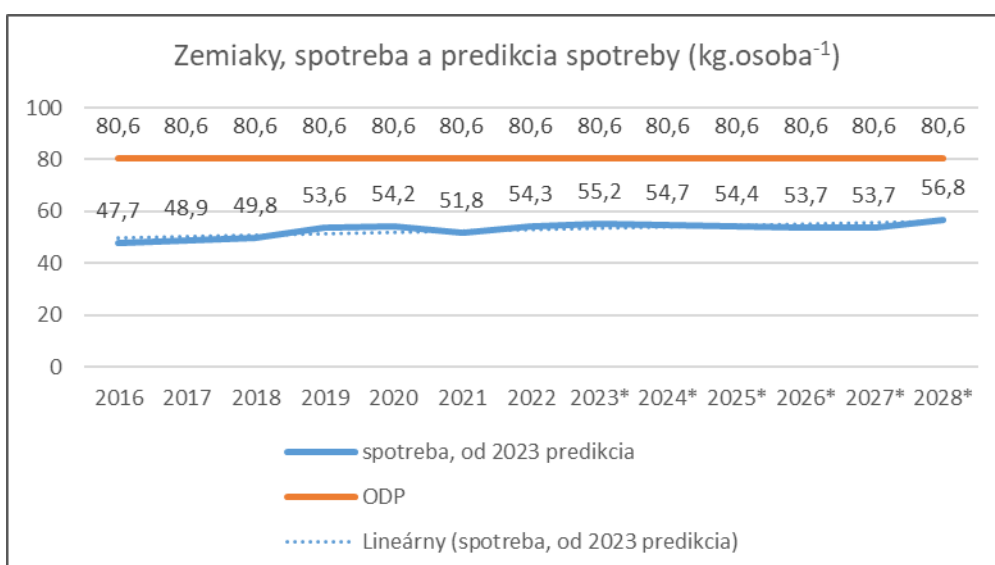
Zelenina a ovocie sú základom nášho každodenného stravovania. Majú tvoriť minimálne tretinu z celodennej stravy. Ješť treba pestrú a rôznofarebnú zeleninu a ovocie. Každý deň treba konzumovať najmenej 5 porcií neškrobovej zeleniny a 2 porcie ovocia. Denná konzumácia zeleniny je 400 g a ovocia 300 g. Konzumovať predovšetkým čerstvú zeleninu

a ovocie, teda v surovom stave, bez tepelnej úpravy alebo iného spracovania. Uprednostniť sezónne a lokálne dostupné druhy zeleniny a ovocia (Minárik et al. 2023).



Obrázok 2 Ovocie, spotreba, ODP a predikcia spotreby
Zdroj: ŠÚ SR, vlastné spracovanie

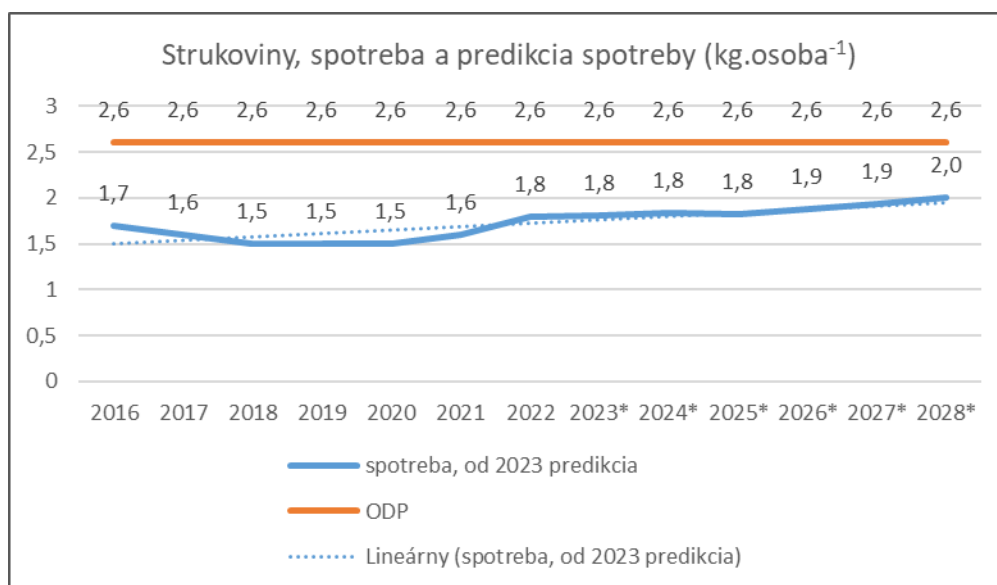
Vývoj spotreby zemiakov (2016 - 2022) a predikcia spotreby v kg na obyvateľa SR v rokoch 2023 - 2028 je zobrazená na obrázku 3. Priemerná ročná spotreba zemiakov sa pohybuje na úrovni okolo 50 kg na osobu a predikcia spotreby predpokladá nárast na úroveň 56,8 kg. V roku 2022 bola skutočná spotreba zemiakov nižšia o 26,3 kg ako ODP (80,6 kg), čo predstavuje 67 % z ODP. Z celkovej spotreby tvorili skoré zemiaky 6,2 kg a ostatné zemiaky 48,1 kg.



Obrázok 3 Zemiaky, spotreba, ODP a predikcia spotreby
Zdroj: ŠÚ SR, vlastné spracovanie

Vývoj spotreby strukovín (2016 - 2022) a predikcia spotreby v kg na obyvateľa SR v rokoch 2023 - 2028 je zobrazená na obrázku 4. Spotreba strukovín sa pohybuje na úrovni od 1,5 kg do 1,8 kg. Najvyššia úroveň spotreby bola v roku 2022. Napriek tomu spotreba strukovín bola nižšia o 0,8 kg ako ODP (2,6 kg). V roku 2022 z celkovej spotreby strukovín najvyššiu úroveň spotreby mal hrach (1,0 kg), úroveň spotreby fazule a šošovici bola 0,4 kg. Predikcia spotreby predkladá nárast spotreby na úroveň 2 kg.

Z hľadiska výživy ľudí majú strukoviny výnimočné postavenie, predovšetkým ako výborné zdroje bielkovín a ďalších významných zložiek. Nízka spotreba strukovín u nás súvisí do určitej miery aj s neochotou ľudí skúsiť nové strukovinové jedlá, avšak strukoviny sú surovinou veľmi vhodnou na prípravu rôznych jedál, ktoré sa vyznačujú vysokou nutričnou hodnotou a ďalšími pozitívnymi vplyvmi na organizmus (Chlebo et al. 2020).



Obrázok 4 Strukoviny, spotreba, ODP a predikcia spotreby
Zdroj: ŠÚ SR, vlastné spracovanie

Usmernenia o stravovaní týkajúce sa potravinových skupín (*Food-based Dietary Guidelines, FBDGs*) sú vedecky podložené špecifické rady a zásady o správnom stravovaní a vhodnej výžive s cieľom predchádzať všetkým formám podvýživy, udržiavať dobrý stav výživy a zdravie ľudí.(FAO, 2021). Zo sledovania národných databáz FBDGs, ktoré sa uskutočnili v 90 krajinách sveta vyplývajú určité odporúčania, ktoré sú jednotné pre všetky krajiny: konzumácia rôznorodých potravín, vo väčšej miere konzumovať zeleninu, ovocie a strukoviny, v menšom rozsahu konzumovať cukor, tuk a soľ (WHO, 2015).

Publikované analýzy o spotrebe potravín na Slovensku dlhodobo ukazujú, že stravovacie návyky obyvateľov nie sú v súlade so zdravým stravovaním (Kubicová et al., 2019). V porovnaní s ODP, na Slovensku je nedostatočná spotreba zeleniny, ovocia, strukovín i zemiakov. Vzniká malnutícia z nedostatku živín (Chlebo et al. 2020).

Racionalita pri spotrebiteľskom správaní a kreovaní spotrebiteľských preferencií by mala vychádzať zo zásad zdravého stravovania. Na druhej strane, iracionalita spotrebiteľov sa prejavuje aj v tejto oblasti, nakoľko na nákupné rozhodovanie vplyvajú emócie, momentálny stav spotrebiteľa alebo iné subjektívne faktory. Výsledné rozhodnutie je výsledkom racionality aj iracionality, ktoré majú významný vplyv pri kreovaní nákupného správania a rozhodovania spotrebiteľov na prahu 3. tisícročia.

ZÁVER

Potravinová a výživová politika je dôležitou súčasťou hospodárskej politiky vo všetkých vyspelých krajinách. Súčasťou týchto politík je aj vymedzenie odporúčaných výživových dávok (OVD), ktoré sú pre praktické využitie pretransformované do odporúčaných dávok spotreby (ODS) potravín. ODS potravín predstavujú základné kritérium hodnotenia úrovne spotreby jednotlivých potravinových skupín a mali by určovať smer, ktorým sa má spotreba danej skupiny uberať. V príspevku analyzujeme úroveň spotreby, porovnávame ju s ODS a vypočítali sme predikciu budúcej spotreby ovocia, zeleniny, zemiakov a strukovín. Pri porovnaní skutočnej spotreby s ODS u všetkých skupinách potravín sme zistili nedostatočnú úroveň spotreby. V roku 2022 bola skutočná spotreba zeleniny len na úrovni 79 % z ODP, u ovocia 73 % z ODP, u zemiakov 67 % z ODP a u strukovín 69 % z ODP. Na zlepšenie zdravotného stavu obyvateľstva je nevyhnuté zvýšiť spotrebu uvedených skupín potravín. Využívať na to rôzne formy vzdelávania, či v predškolských zariadeniach, školách, ale aj u dospelých. Dnes veľmi často nakupujeme potraviny lacné, priemyselne spracované s nízkou výživovou hodnotou. Spotrebiteľia sú ovplyvnení racionalitou aj iracionalitou, avšak len u vzdelaného spotrebiteľa pri nákupe prevažujú racionálne dôvody. Implementácia výživovej politiky by mala spočívať práve v úspešnom zavádzaní vedeckých poznatkov o výžive do praktických opatrení smerujúcich k zlepšeniu zdravotného stavu obyvateľstva.

LITERATÚRA

- Bagozzi, R. P., Gopinath, M., Nyer, P. U. 1999. The role of emotions in marketing. In *Journal of the Academy of Marketing Science*. Vol. 27, No. 2. pp. 184-206. DOI: <https://doi.org/10.1177/0092070399272005>.
- Barsalou, L. W. 2008. Grounded cognition. In *Annual Review of Psychology*. Vol. 59. s. 617-645. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.59.103006.093639>.
- Bartová, Ľ et al. 2023. *Hodnotenie implementácie Školského programu ovocie, zelenina, mlieko a mliečne výrobky v SR*. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 215 s.
- FAO, 2021. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food-based dietary guidelines. On-line [2021-07-05]. Dostupné na: www.fao.org/nutrition/education/food-dietary-guidelines/home/en/.
- Clark, N. 2008. *70 % of Purchasing Decisions are Made In-Store*. [online]. Dostupné na: http://articles.economictimes.indiatimes.com/2008-12-10/news/27720328_1_brands-retailers-ogilvyaction.
- Clegg, B. 2000. *Capturing Customers' Hearts: Leave Your Competition to Chase Their Pockets*. New York: Financial Times/Prentice Hall, 2000. ISBN 978-02-7364-931-1
- Golian, J. 2017. *Potraviny a spotrebiteľ*. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 104 s. ISBN 978-80-552-1767-3.
- Hungara, A., Nobre, H. 2022. The Life of Consumption Communities: A Study on Vegan Communities. In *Journal of Creative Communications*, 17 (2), 231–240. doi: 10.1177/09732586221084377
- Horská, E. et al. 2008. *Internacionalizácia agropotravinárskych podnikov v SR*. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 234 s. ISBN 978-80-552-0136-8.
- Chlebo, P., Kerestész, J. et al. 2020. *Zdravie a výživa ľudí 1*. Bratislava: CAD PRESS. 734.s. ISBN 978-80-88969-88-4.
- Chlebo, P., Kerestész, J. et al. 2020. *Zdravie a výživa ľudí 2*. Bratislava: CAD PRESS. 1422.s. ISBN 978-80-88969-89-1.
- Kahneman, D., Tversky, A. 1979. Prospect Theory: An Analysis of Decision Under Risk. In *Econometrica*. Vol. 47, No.2. s. 263-292. [online]. <http://www.hss.caltech.edu/~camerer/Ec101/ProspectTheory.pdf>.
- Kilian, D., Hamm, U. 2021. Perceptions of Vegan Food among Organic Food Consumers Following Different Diets. In *Sustainability*, 13, 17, 9794; doi: 10.3390/su13179794
- Krishna, A., Raghubir, P. 1999. Vital Dimensions in Volume Perceptions: Can the Eye Fool the Stomach? In *Journal of Marketing Research*. Vol. 36, No. 3. s. 313-326. DOI: 10.2307/3152079.
- Krishna, A., Lwin, M. O., Morrin, M. 2010. Product Scent and Memory. In *Journal of Consumer Research*. Vol. 37, No. 1. s. 57-67. DOI: 10.1086/649909.
- Krishna, A., Schwarz, N. 2014. Sensory Marketing, Embodiment, and Grounded Cognition: A Review and Introduction. In *Journal of Consumer Psychology*. Vol. 24, No. 2. s. 159-168. DOI: 10.1016/j.jcps.2013.12.006.
- Kubicová, E. et al., 2019. Consumption of food in relation to income and saturation limit of Slovak households. *Agricultural Economics—Czech* 2019; 65, (12): 560-568. On-line [2021-04-15]. Dostupné na <https://doi.org/10.17221/94/2019-AGRICECON>.

Minárik, P. et al. 2023. *Odporúčania pre stravovanie a výživu u dospelých*. Bratislava: Dr. Josef Raabe Slovensko, s.r.o. 216 s. ISBN:978-80-8140-800-7.

Miguel, I., Coelho, A., Bairrada, C. M. 2021. Modelling Attitude towards Consumption of Vegan Products. In *Sustainability*, 13 (1), 9. doi: 10.3390/su13010009

Nagyová, E. et al. 2012. *Trendy v spotrebiteľskom správaní na trhu potravinárskych produktov v SR*. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 83 s. ISBN 978-80-552-0899-2.

Paslakis, G., Richardson, C., Nöhre, M., Brähler, E., Holzapfel, Ch., Hilbert, A., de Zwaan, M. 2020. *Prevalence and psychopathology of vegetarians and vegans – Results from a representative survey in Germany*. Scientific Reports, 10, 6840. doi: 10.1038/s41598-020-63910-y

Ruby, M. B., Alvarenga, M. S., Rozin, P., Kirby, T. A., Richer, E. 2016. Attitudes toward beef and vegetarians in Argentina, Brazil, France, and the USA. In *Appetite*, 96, 546-554. doi: 10.1016/j.appet.2015.11.018

Rybanská, J., Poláček, M., Košičiarová, I., Kádeková, Z. 2020. The relationship between health-related quality of life and responsible consumption. In: *Current Development of Society: Integration of Analytic and Synthetic Approaches*. Mainz: Logophon Verlag 2020, 2020, s. 76-83. ISBN 978-3-936172-57-7.

Serenčes, R., Lazorčáková, E. 2017. *Spotrebiteľské teórie a teórie obchodu: Časť 1 Spotrebiteľské teórie*. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2017. ISBN 978-80-552-1744-4.

Thaler, R. H. 2016. *Misbehaving: The Making of Behavioral Economics*. New York: W. W. Norton & Company, 2016. ISBN 978-0-393352-79-5.

Trend. 2023. *Jablká sú najobľúbenejším ovocím Slovákov, vlni bola vyššia ich spotreba i produkcia*. News and Media Holding, a.s. On-line [2024-01-29]. Dostupné na <https://www.trend.sk/spravy/jablka-su-najoblubenejsim-ovocim-slovakov-vlni-bola-vyssia-ich-spotreba-aj-produkcia>

WHO, 2015. *World Health Organisation. Healthy Diet. Fact Sheet No. 394* WHO 2015, On-line [2021-06-15]. Dostupné na: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs394/en>.

Pod'akovanie: Príspevok je výstupom výskumného projektu VEGA 1/0404/22 „Racionalita a iracionalita pri kreovaní preferencií v nákupnom správaní spotrebiteľov na prahu 3. tisícročia“, riešenom na Ústave marketingu, obchodu a sociálnych štúdií, Fakulty ekonomiky a manažmentu, Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre, projektu KEGA 030SPU-4/2022 Implementácia vybraných cieľov Agendy 2030 do výučby spotrebiteľskej psychológie – tvorba multimediálnych e-učebníc a vzdelávacej webovej platformy pre vysokoškolské štúdium“, riešenom na Univerzitnom poradenskom a podpornom centre Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre a vedecko-výskumného grantu GAAA/2023/17 „Racionalita a iracionalita v spotrebiteľskom chovaní“, riešenom na Katedre marketingu, Fakulty podnikání a práva, Panevropské vysoké školy v Prahe.

Kontaktná adresa: Roman Récky, Ing., PhD., Ústav Marketingu, obchodu a sociálnych štúdií, Fakulta ekonomiky a manažmentu, Slovenská Poľnohospodárska Univerzita v Nitre, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, roman.recky@uniag.sk

Zdenka Kádeková, doc., Ing., PhD. Ústav Marketingu, obchodu a sociálnych štúdií, Fakulta ekonomiky a manažmentu, Slovenská Poľnohospodárska Univerzita v Nitre, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, zdenka.kadekova@uniag.sk

Ingrida Košičiarová, doc., Ing., PhD. Ústav Marketingu, obchodu a sociálnych štúdií, Fakulta ekonomiky a manažmentu, Slovenská Poľnohospodárska Univerzita v Nitre, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, ingrida.kosiciarova@uniag.sk

Ivana Bulanda, PhDr., PhD. Katedra marketingu, Fakulta podnikání a práva, Panevropská vysoká škola, Spálená 76/14, 11000, Praha 1, Česká republika. ivana.bulanda@peuni.cz

Vladimír Vavrečka, Ing., CSc. Katedra marketingu, Fakulta podnikání a práva, Panevropská vysoká škola, Spálená 76/14, 11000, Praha 1, Česká republika, vladimir.vavrecka@peuni.cz

HOLISTICKÝ POHĽAD NA EKONOMIKU SPOTREBY POTRAVÍN NA SLOVENSKU

HOLISTIC VIEW ON THE ECONOMY OF FOOD CONSUMPTION IN SLOVAKIA

Patrik Rovný, Andrea Rovná Panšulovic

Abstract: Food and its consumption play a very important role in human life. In the last 100 years, there have been fundamental changes in food consumption in Slovakia. The aim of the paper is to evaluate the development of food consumption in Slovakia for the period from 1922 to 2022 and thus to point out trends in consumption today and in the past. Another goal is the economic evaluation of household expenses on conventional food compared to alternative food (food from regenerative or ecological agriculture). The article used secondary sources of information from the Czech Statistical Office and Statistical Office of the Slovak Republic. Mathematical-statistical methods, the method of observation, the method of comparison, the method of analysis, deduction and synthesis were used in the paper. Before the World War II and immediately after it, there was a period when the inhabitants had a shortage of food and at one time they received food on rationing. Subsequently, in the 1970s and 1980s, there was a development of agriculture and a gradual increase in the food consumption. In 1990s there were changes in the political system and there was a liberalization of trade but also a decrease in the purchasing power of the population. The consumption of meat and dairy products was significantly affected by the bovine spongiform encephalopathy (BSE), and subsequently at the turn of the millennium there was preparation for joining the European Union. Gradually, with the growth of the economy, customers preferred healthier and home-made food, but after the global financial crisis, the situation returned and continues to this day. The main factor in the purchasing behaviour of Slovak customers is price. Expenditure on food in 2022 represented a value of 1,132 Euros per person per year. If consumers eat healthy foods (e.g. organic food), household expenditure per person would rise to the level of 1,699 Euro, assuming that healthy food contains about 50% more minerals, fibre and vitamins compared to conventional food. This follows from many international scientific researches, where the results for individual foods and commodities range from 8 to 80%. The goal was to point out that if consumers consumed healthy foods, they would spend more money on them, but on the other hand, they would not consume nutritional supplements and would not have to spend so much on medical treatments and medicines.

Keywords: food consumption, household expenses, historical development, healthy food

ÚVOD

Správna výživa u človeka pozitívne vplýva na kvalitu života, nakoľko pôsobí preventívne voči viacerým chronickým ochoreniam. Dnešné potraviny sú podľa viacerých vedeckých štúdií menej výživné (obsahujú nižšie množstvo minerálnych látok, vitamínov, vláknin a iných dôležitých látok) ako tomu bolo v minulosti. Dôvodov takéhoto stavu je niekoľko a sú nižšie popísané. Je preto dôležité sa zaoberať otázkami zdravej výživy. V minulosti ľudia konzumovali potraviny, ktoré boli prirodzene dopestované bez moderných technológií a bez rôznych chemických zásahov (umelých hnojív a ochranných prostriedkov). Dnes je situácia iná. Potraviny možno rozdeliť do dvoch skupín konvenčné ako výsledok konvenčného poľnohospodárstva, ktoré predstavujú významný podiel na celosvetovom trhu s potravinami. Druhú skupinu tvoria produkty, ktoré sú výsledkom ekologického, organického

alebo iného alternatívneho poľnohospodárstva. Dané produkty sú však oproti konvenčným drahšie.

Z hľadiska porovnania stravovacích návykov človeka v minulosti a dnes je významný rozdiel. Kedysi výber potravín sa spoliehal na inštinkty a neexistovalo nič také ako sledovanie denného príjmu kalórií, sacharidov alebo tukov. Rozdiely v spotrebe potravín boli aj pred 100 rokmi, kedy neexistovali veľkochovy a ľudia vo vidieckych oblastiach zvyčajne chovali svoje vlastné hospodárske zvieratá, v mestských zónach boli miestni mäsiari, kde mäso bolo čerstvé a osobne nakupované samotnými mäsiarmi. Rastové hormóny, antibiotiká a geneticky modifikované krmivo sa zvieratám nikdy nepodávali; kvalita mäsa bola vyššia ako dnes (Nourishment Vitality, 2023).

Zmeny v stravovaní boli spôsobené v dôsledku rôznych poľnohospodárskych postupov, metód varenia a techník skladovania potravín. V súčasnosti sa metódy výroby potravín značne prispôbili potrebe udržateľných a účinných mechanizmov na poskytovanie primeraných potravín pre rastúcu populáciu. Výsledkom je, že poľnohospodárske podniky teraz využívajú nové poľnohospodárske technológie na zvýšenie výnosov kukurice, pšenice a ryže. Takéto postupy sa spoliehajú na vysoký vstup hnojív, agrochemikálií a pesticídov. Podobne mnohí poľnohospodári vo svete používajú geneticky modifikované (GM) plodiny, ktoré sú odolnejšie voči škodcom a suchu. Používanie chemikálií v poľnohospodárskych postupoch môže spôsobiť škodlivé zdravotné následky, pretože spotrebiteľia môžu prehltnúť chemické zvyšky a spôsobiť zdravotné problémy. Konzumácia geneticky modifikovaných produktov bola identifikovaná ako príčina alergií a môže tiež prenášať toxicitu na spotrebiteľov. Súčasný potravinový produkt sú preto menej zdravé ako tie ekologické, ktoré sa pestovali v minulosti, pretože poľnohospodárske postupy využívajú pri pestovaní plodín veľa chemikálií (Rush et al., 2019)

Zdravie a zdravé potraviny boli v posledných rokoch jednou z určujúcich trendových tém potravinárskeho a nápojového priemyslu. Časť spotrebiteľov sa zaujímajú o to, ako to, čo jedia a pijú, ovplyvňuje ich pohodu. V Európskej únii sa asi 60 % spotrebiteľov snaží aktívne zdravo stravovať. Pre niekoho to znamená obmedziť mäso, pre iného znížiť umelé arómy a konzervačné látky. Od spôsobu stravovania závisí zdravotný stav. Hlavnými príkladmi sú potravinové alergie a intolerancie. Mladší spotrebiteľia majú väčšiu pravdepodobnosť potravinovej intolerancie ako starší spotrebiteľia. Najpravdepodobnejšie, že budú mať jednu alebo viacero potravinových intolerancií, majú ľudia vo veku 20 rokov. Dve bežné potravinové intolerancie sú intolerancia laktózy a lepku. Čiastočne títo spotrebiteľia prispôbili svoje stravovanie z dôvodu ich osobného zdravotného stavu. Iní spotrebiteľia prispôbujú svoju stravu tak, aby zabránili rozvoju zdravotných stavov a zachovali si svoje zdravie čo najlepšie (Wunsch, 2024).

Existuje široký vedecký konsenzus, že náš súčasný potravinový systém je neudržateľný a je hlavnou hnacou silou klimatických zmien, straty biodiverzity a zhoršovania životného prostredia. Na nápravu sú naliehavo potrebné radikálne systémové zmeny. Je to však skľučujúca úloha, ak vezmeme do úvahy zložitú potravinových systémov; veľmi veľký počet rôznych aktérov, ktorí zohrávajú úlohu pri výrobe, distribúcii a spotrebe potravín (European Commission, 2023).

Čoraz viac sa uznáva, že je nutná zmena v spotrebiteľských vzorcoch a životnom štýle čo by malo byť kritickou a neoddeliteľnou súčasťou riešenia zmeny klímy a širšej udržateľnosti vrátane jej sociálnych výziev. Platí to najmä v súvislosti so spotrebou potravín v Európe. Už roky je známe, že stravovacie návyky a nákup potravín predstavujú najmenej 25 % už aj tak nadmernej priemernej uhlíkovej stopy Európana. Rastú tiež obavy, že súčasné bežné modely spotreby prispievajú k nečestným obchodným praktikám v potravinových hodnotových reťazcoch v európskych krajinách, čo je problém, ktorý je v súčasnosti v EÚ

stredobodom pozornosti. Ostatné vplyvy súvisiace so spotrebou potravín sú rovnako dôležité, ako napríklad dôsledky pre ľudské zdravie alebo pracovné podmienky pri výrobe potravín mimo Európy (Nicolau et al., 2021).

Ako jedna z ciest ku zmene a riešeniu problému sa začali presadzovať myšlienky ekologického pestovania a chovu.

V celosvetovom meradle majú krajiny EÚ najvyšší podiel predaja biopotravín. V roku 2021 sa trh EÚ s biopotravinami zvýšil o 12 % a dosiahol 58,6 miliardy USD. Nemecko a Francúzsko zostávajú najväčšími ekologickými trhmi v EÚ a predstavujú viac ako 60 % jej biotruhu. Rastúci dopyt po organických látkach v EÚ v kombinácii s dohodou o rovnocennosti vytvára obchodné príležitosti pre vývozcov z USA. EÚ ponúka trhový potenciál pre americké organické sladké zemiaky, čerstvé produkty, sušené ovocie a orechy, špeciálne obilniny a spracované produkty. Americkí exportéri si budú konkurovať predovšetkým kvalitou a cenou, no existujú aj dobré príležitosti pre inovatívne a prémiové produkty. Pandémia COVID-19 bola dôležitým motorom, ktorý zvýšil organický predaj. Od roku 2020 spotrebitelia zmenili svoje návyky pri nákupe a spotrebe potravín počas obdobia „uzavretia“, keď boli reštaurácie zatvorené, a domáca kuchyňa sa stala základom. Situácia sa zmenila v roku 2022 s dominovými efektmi ruskej invázie na Ukrajinu, ktorá výrazne ovplyvnila ekonomiky členských štátov EÚ. Prerušenia obchodu a prudko rastúca inflácia spôsobená nákladmi na energiu a cenami potravín postihli každého spotrebiteľa. Aby ušetrili peniaze, mnohí spotrebitelia sa rozhodli kupovať lacnejšie potraviny (Rehder, 2023).

Súčasná spotreba potravín má určité spoločné ale aj rozdielne charakteristiky. Potraviny a poľnohospodárske komodity v minulosti boli viac výživové ako je tomu dnes. Hlavnými dôvodmi nižšej kvality ako bolo vyššie uvedené boli a sú rozdielne systémy obhospodarovania pôdy a požiadavky na vysoké úrody aj počas klimatických zmien. Cieľom príspevku je zhodnotenie vývoja spotreby potravín na Slovensku za obdobie rokov 1922 až po súčasnosť a tým poukázať na tendencie v spotrebe dnes a v minulosti. Ďalším cieľom je ekonomické zhodnotenie výdavkov domácnosti na konvenčné potraviny v porovnaní s alternatívnym potravinami (potraviny z regeneratívneho resp. ekologického poľnohospodárstva), kde podstatou je poukázať na to, že spotrebitelia by nemali preferovať cenu ako hlavný faktor ovplyvňujúci spotrebiteľské správanie, nakoľko zdravšie potraviny nemusia zvýšiť výdavky domácností celkovo.

MATERIÁL A METODIKA

V článku boli použité sekundárne zdroje informácií. Údaje o vývoji spotreby základných komodít a potravín za obdobie rokov 1922 až 1992 boli prevzaté z Českého štatistického úradu. Údaje o spotrebe za roky 1993-2022 boli použité zo Štatistického úradu SR. Údaje o spotrebe potravín a nápojov sú počítané bilančnou metódou a hlavné údajové vstupy využívané na výpočet sú údaje o domácej produkcii, dovozoch a vývozoch a počiatočných a konečných zásobách. Uvedené údajové vstupy sú získavané aj zo zdrojov Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR.

V príspevku boli použité nasledovné metódy:

- matematicko-štatistické metódy – na spracovanie a popísanie vývoja spotreby potravín a jej štruktúry a determinantov bola využitá analýza časových radov,
- metóda pozorovania – pozorovanie riešeného javu spotreby s právania sa spotrebiteľov,
- metóda porovnávania – v rámci porovnávania úrovne spotreby jednotlivých potravín (nárast alebo pokles spotreby),
- metóda analýzy – umožňuje podrobnejšie vysvetlenie skúmanej problematiky,
- dedukcia – postupné odvodzovanie myšlienkových výstupov,
- syntéza – spájanie jednotlivých výsledkov do jedného uceleného celku.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Podľa zdrojov Regionálneho úradu verejného zdravotníctva: „Pokiaľ sa oboznámime so stravovaním v minulosti a s prípravou dobových jedál dospejeme k prekvapujúcemu zisteniu, že zodpovedalo dnešnej zdravej výžive.“ Z uvedeného dôvodu predmetom príspevku je aj zhodnotenie vývoja spotreby potravín na Slovensku od roku 1922 až po súčasnosť (konkrétne po rok 2022).

Tabuľka 1 Spotreba potravín a nealkoholických nápojov v rokoch 1922 až 2022 (v kg na 1 obyvateľa za rok)

	Merná jednotka	1922	1932	1948	1952	1962	1972	1982	1992	2002	2012	2022	Rozdiel 2022-1922	Rozdiel 2022-1932
ryža	kg	3,0	3,3	0,4	1,1	5,7	5,4	4,1	5,6	5,3	5,1	5,3	2,3	2,0
obilniny v hodnote múky	kg	-	102,6	120,4	132,2	134,9	114,0	108,1	108,5	80,3	84,4	98,0		-4,6
pšeničná múka	kg	58,0	54,6	75,4	105,7	106,3	93,3	87,2	87,2	68,4	73,4	65,4	7,4	10,8
ražná múka	kg	-	41,3	43,0	23,5	20,1	13,3	14,5	12,6	4,9	4,1	2,3		-39,0
chlieb	kg	72,0	78,5	85,2	99,2	77,9	75,6	67,9	48,8	34,9	38,1	33,6	-38,4	-44,9
cestoviny	kg	-	-	1,1	1,8	2,2	2,3	3,3	4,7	7,6	7,5	7,1		
mäso v hodnote kostí	kg	22,1	28,2	17,8	29,5	48,0	64,6	70,5	69,3	59,7	52,5	71,0	48,9	42,8
bravčové mäso	kg	6,9	12,3	7,9	15,8	27,8	35,0	35,6	39,9	31,3	30,0	39,0	32,1	26,7
hovädzie mäso	kg	11,6	12,5	5,5	7,8	12,4	18,1	19,4	14,5	6,2	3,2	5,1	-6,5	-7,4
teľacie mäso	kg	-	1,8	1,3	1,1	0,7	0,9	0,3	0,1	0,7	0,6	0,9		-0,9
hydina	kg	-	3,6	1,9	3,5	5,4	9,9	13,2	13,3	20,1	17,7	24,5		20,9
ryby	kg	1,1	1,3	-	1,1	3,4	3,6	4,0	4,0	4,4	4,8	5,7	4,6	4,4
mlieko a mliečne výrobky	kg	-	191,7	134,2	174,9	155,8	197,8	227,4	193,8	166,2	158,6	184,8		-6,9
kravské mlieko	kg	-	168,9	114,3	143,5	111,0	144,3	136,7	92,5	73,6	53,7	94,8		-74,1
	litry	-	164,0	111,0	139,3	107,8	140,1	132,7	89,8			94,9		-69,1
syry celkom	kg	-	0,6	0,7	1,4	1,8	3,4	4,8	5,0	5,4	6,9	8,5		7,9
tvaroh	kg	-	1,9	1,3	1,5	2,2	1,4	2,1	3,5	3,6	3,2	5,9		4,0
vajcia	ks	-	64,0	81	117	143	275	329	323	214	218	214		150,0
tuky v hodnote čistého tuku	kg	-	9,3	10,5	14,5	20,8	20,3	22,7	23,5	25,2	22,2	22,2		12,9
masť bravčová	kg	5,1	4,8	2,2	3,7	8,4	6,9	7,4	6,4	3,2	3,2	2,6	-2,5	-2,2
JRTO	kg	-	4,0	4,1	3,7	6,0	6,8	9,9	12,9	18,9	15,7	15,2		11,2
ovocie v hodnote čerstvého ovocia	kg	-	32,7	46,8	27,8	30,2	33,2	50,9	62,5	49,7	52,1	70,5		37,8
zelenina v hodnote čerstvej zeleniny	kg	-	65,5	85,0	71,5	73,8	94,9	78,9	105,0	77,3	69,4	68,6		3,1
strukoviny	kg	-	4,0	2,6	2,1	1,4	0,7	0,9	1,8	1,9	1,6	1,8		-2,2
zemiaky	kg	117,0	112,0	107,0	95,0	84,4	98,0	73,3	77,7	74,8	48,0	54,3	-62,7	-57,7
cukor	kg	23,4	24,8	18,7	24,7	36,2	36,2	37,0	36,6	27,6	29,5	31,8	8,4	7,0
čaj	kg	0,03	0,06	0,01	0,02	0,05	0,08	0,08	0,10	0,20	0,10	0,20	0,2	0,1
káva (zrnková)	kg	0,67	0,88	0,08	0,04	0,17	0,49	1,07	1,50	2,90	3,00	2,70	2,0	1,8
minerálne vody a nealko nápoje	litry	2,5	5,6	4,5	6,3	22,3	79,1	98,3	105,5	211,2	207,6	202,0	199,5	196,4

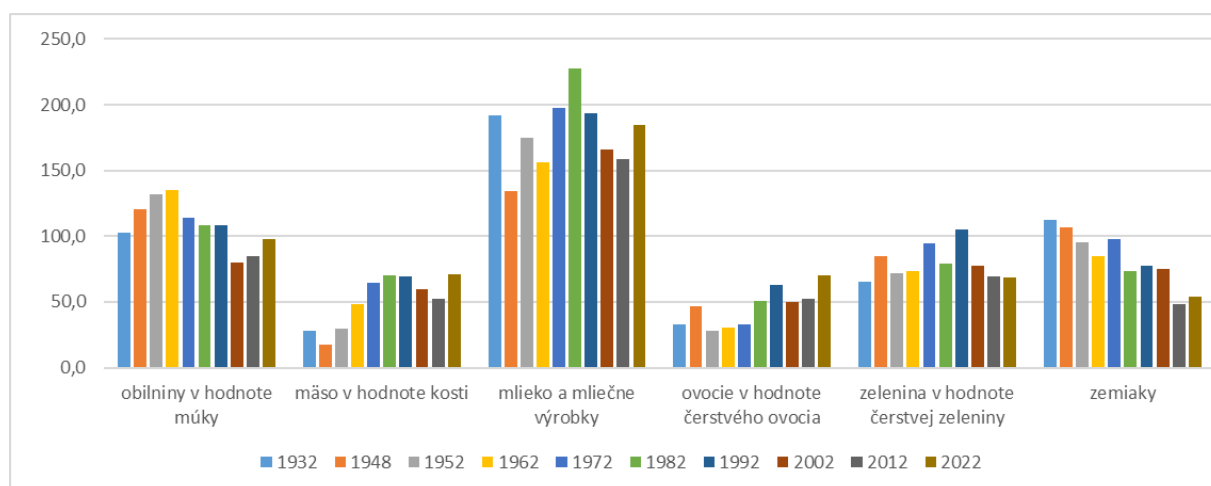
Zdroj: Český štatistický úrad, Štatistický úrad Slovenskej republiky, 2023

Tabuľka 1 poukazuje na vývoj spotreby vybraných základných druhov potravín a poľnohospodárskych komodít. V období rokov 1920–1942 najviac sa konzumovali zemiaky ako základná surovina, z ktorej bolo možné uvariť nespočetné množstvo jedál, z ktorých recepty poznáme aj v súčasnosti. Významným spôsobom vývoj hospodárstva ale aj poľnohospodárstva v 20. a 30. rokoch 20. storočia bol ovplyvnený svetovou hospodárskou krízou. Rovnako významnou mierou bolo obyvateľstvo ovplyvnené obrovskými neúrodami, ktoré postihli väčšinu regiónov sveta. V danom období obyvatelia Slovenska konzumovali veľmi málo ryže, mäsa, vajec, tuku, ovocia a cukru. Menšia spotreba ovocia bola podľa nás spôsobená aj tým, že sa štatisticky presne nevykazovala, nakoľko ľudia voľne oberali ovocné stromy a drobné ovocie v prírode. Štatisticky veľmi nízku hodnotu predstavovali nealkoholické nápoje nakoľko obyvatelia konzumovali vodu, čaj a domácky vyrobené šťavy.

V 90.tých rokoch veľmi poklesla spotreba takmer všetkých sledovaných komodít a potravín nakoľko sa menilo spotrebiteľské správanie obyvateľov. Na jednej strane 90.te roky boli ovplyvnené zmenou direktívnej ekonomiky na trhového prostredie, ktoré prinieslo aj negatívne ekonomické javy, ako zvyšovanie nezamestnanosti, liberalizáciu obchodu a tým prílev zahraničných potravín rôznej kvality a likvidácia a ukončenie výroby slovenských významných producentov potravín. Spotreba bola však ovplyvnená aj pozitívne, kde spotrebiteľia začali sa čiastočne zaoberať sa otázkami výživy, kde sa diskutovalo o konzumácii tukov, cukrov a iných druhoch potravín, ktoré majú negatívny dopad na zdravie človeka.

Veľmi významný z hľadiska zmien spotreby je aj rok 1996 kedy sa aj na území Slovenska šírilo ochorenie šialených kráv (BSE), čo malo za následok výrazné zmeny v konzumácii hovädzieho mäsa a kravských mliečnych výrobkov. Od daného obdobia, kedy došlo k rapidnému poklesu spotreby hovädzieho mäsa a mliečnych výrobkov, už nikdy nevzrástla ich spotreba na úroveň pred rokov 1996.

Na prelome tisícročia a v súčasnom období sa pri spotrebe potravín prejavujú rôzne životné štýly, podľa ktorých spotrebiteľia si vyberajú potraviny podľa viacerých faktorov. Do roku 2008 (svetová finančná kríza) spotrebiteľia ako hlavný faktor nákupu potravín uvádzali krajina pôvodu tovaru a kvalita, dnes je situácia iná. Hlavným faktorom ovplyvňujúcim spotrebiteľské správanie spotrebiteľov pri nákupe potravín je cena. Za dané obdobie (prelom tisícročia až po súčasnosť) najvýznamnejší nárast spotreby dosiahli takmer všetky sledované potraviny a komodity s výnimkou zemiakov a hovädzieho mäsa.



Obrázok 1 Vývoj spotreby vybraných druhov potravín v rokoch 1932 až 2022 (v kg na 1 obyvateľa za rok)

Z porovnania vývoja spotreby potravín za obdobie rokov 1922-2022 vyplýva, že spotreba obilnín v hodnote múky, pšeničnej múky, spotreba mlieka a mliečnych výrobkov, spotreba zeleniny v hodnote čerstvej zeleniny a spotreba cukor je rovnaká resp. podobná, čo sa týka množstva spotreby na jednu osobu za rok.

Spotreba potravín a odporúčaná hodnota spotreba potravín je uvedená v tabuľke 2. Z údajov vyplýva, že slovenskí konzumenti majú ešte veľmi nízku spotrebu zemiakov, ovocia, zeleniny, mlieka a mliečnych výrobkov, hovädzieho mäsa a cestovín. Na druhej strane majú vysokú spotrebu bravčového mäsa, vajec a cukru, čo negatívne vplýva na zdravie obyvateľstva.

Výška výdavkov na potraviny v roku 2022 podľa Štatistického úradu SR bola 1132 Euro za rok na 1 osobu. Domácnosti však okrem výdavkov na potraviny zaznamenali aj výdavky na stravovanie vo výške 252,70, Euro za rok na 1 osobu, čo spolu predstavuje sumu 1 384,70 Euro. Okrem uvedených výdavkov obyvateľa Slovenska vo veľkej miere spotrebávajú aj doplnky výživy. Je to spôsobené tým, že náš systém stravovania je spojený s rôznymi ochoreniami a pre nedostatok určitých minerálov, vitamínov a iných potrebných látok je potrebné siahnuť po doplnkoch výživy.

Tabuľka 2 Súčasná spotreba a odporúčaná hodnota spotreby potravín na Slovensku (v kg na 1 obyvateľa za rok)

	2022	ODP dnes	ODP-2022		2022	ODP dnes	ODP-2022
obilniny v hodnote múky	98,0	98,5	0,5	tvaroh	5,9	4,0	-1,9
chlieb	33,6	54,0	20,4	vajcia	214	201	-13,0
cestoviny	7,1	18,3	11,2	masť bravčová	2,6	3,0	0,4
bravčové mäso	39,0	22,2	-16,8	JRTO	15,2	16,2	1,0
hovädzie mäso	5,1	17,4	12,3	ovocie v hodnote čerstvého	70,5	96,7	26,2
hydina	24,5	15,0	-9,5	zelenina v hodnote čerstvej	68,6	127,9	59,3
ryby	5,7	6,0	0,3	strukoviny	1,8	2,6	0,8
mlieko a mliečne výrobky	184,8	220,0	35,2	zemiaky	54,3	80,6	26,3
syry celkom	8,5	6,0	-2,5	cukor	31,8	30,9	-0,9

Zdroj: Štatistický úrad Slovenskej republiky, 2023 a vlastné výpočty

Ak by sa obyvatelia Slovenska stravovali ideálne, že by sa konzumovali len zdravé potraviny v hodnote odporúčaných hodnôt spotreby potravín, nemalo by byť potrebné konzumovať doplnky výživy. Sú rôzne názory, či sa oplatí užívať doplnky. Každý organizmus môže mať svoje individuálne potreby. Samozrejme ako je vyššie uvedené najideálnejšie je získavať živiny z kvalitnej a pestrej stravy. Pre mnohých je to však nemožné nakoľko siahame po produktoch z veľkých obchodných reťazcov, kde ovocie a zelenina častokrát nie sú vypěstované lokálne, ale musia sa dovážať zo zahraničia, kde je obráté omnoho skôr, keď je ešte nedozreté, a tak automaticky prichádza o množstvo vitamínov, ktoré by dostalo, ak by malo ešte čas rásť. Z uvedeného vyplýva, že ak by ľudia mali na Slovensku ideálnu stravu nemuseli by vynakladať výdavky na doplnky výživy. Na Slovensku neexistuje evidencia spotreby doplnkov výživy. K hodnote prepočtu na jedného obyvateľa sme dospeli na základe celoeurópskeho objemu obchodu s takýmito produktami prepočítanú na jedného obyvateľa Európskej únie, čo v roku 2022 predstavovalo hodnotu 84,21 Euro. Spolu pri započítaní uvedených výdavkov celkové výdavky na potraviny, stravovanie a doplnky výživy predstavujú hodnotu 1 468,91 Euro.

Tabuľka 3 poukazuje na výpočet výdavkov podľa hlavných resp. základných spotrebovaných druhov potravín na Slovensku. V tabuľke sú vypočítané hodnoty za súčasný stav spotreby potravín vo výške 1288,35 Euro, čo sa približuje hodnote podľa Štatistického úradu SR, ktorá je však vypočítaná úplne odlišnou metodikou. Rovnako je vypočítaná aj hodnota výdavkov za potraviny podľa odporúčanej hodnoty spotreby potravín, čo predstavuje výšku až 1 497,43 Euro na 1 osobu za 1 rok. Predpokladá sa, že v obchodoch ako bolo už vyššie uvedené nie sú pre ľudí k dispozícii kvalitné potraviny a je potrebné okrem nich počítať aj s výdavkami na doplnky výživy. Ak by sa konzumovali iba zdravé potraviny neboli by potrebné doplnky a na druhej strane je možné aj hypoteticky konštatovať, že ľudia by nemuseli utrácať toľko financií aj na lieky a lekársku starostlivosť, čo na druhej strane by bolo prospešné aj pre ekonomiku štátu, na čo mnohí politici zabúdajú. V tabuľke je pri výpočte výdavkov za zdravé potraviny

použitý prepočet na bio potraviny ku ktorým sú k dispozícii priemerné ceny podľa údajov z vybraných špecializovaných obchodov. Pri výpočtoch sa vychádza z nasledovných predpokladov z iných medzinárodných vedeckých výskumov.

Prehľad viacerých štúdií však ukazujú, že organické odrody poskytujú výrazne vyššie hladiny vitamínu C, železa, horčička a fosforu ako neekologické odrody tých istých potravín. Hoci majú vyšší obsah týchto živín, majú tiež výrazne nižší obsah dusičnanov a zvyškov pesticídov. Okrem toho, s výnimkou pšenice, ovsu a vína, organické potraviny zvyčajne poskytujú vyššie hladiny mnohých dôležitých antioxidantných fytochemikálií (anthokyanínov, flavonoidov a karotenoidov) (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20359265/>).

Tabuľka 3 Výpočet výdavkov podľa hlavných resp. základných spotrebovaných druhov potravín na Slovensku (rok 2022)

	Súčasná spotreba	ODP spotreba	Cena za 1 kg	Výdavky za potraviny	Výdavky za potraviny ODP	Cena BIO za 1 kg	Výdavky za potraviny BIO REGE výroby	Výdavky za potraviny ODP BIO REGE výroby
	v kg	v kg	v Euro	v Euro	v Euro	v Euro	v Euro koeficient 0,5	v Euro (50%)
obilniny v hodnote múky	98,0	98,5	0,60	58,80	59,10	2,50	122,50	123,13
chlieb	33,6	54,0	2,06	69,08	111,02	4,90	82,32	132,30
cestoviny	7,1	18,3	1,20	8,52	21,96	7,80	27,69	71,37
bravčové mäso	39,0	22,2	6,13	239,15	136,13	8,45	164,78	93,80
hovädzie mäso	5,1	17,4	11,94	60,89	207,76	20,50	52,28	178,35
hydina	24,5	15,0	3,63	88,81	54,38	10,25	125,56	76,88
ryby	5,7	6,0	7,50	42,75	45,00	10,00	28,50	30,00
mlieko a mliečne výrobky	184,8	220,0	1,29	238,17	283,54	4,10	378,84	451,00
syry celkom	8,5	6,0	7,50	63,75	45,00	39,50	167,88	118,50
tvoroh	5,9	4,0	5,16	30,44	20,64	11,85	34,96	23,70
vajcia	214	201	0,27	57,31	53,83	0,62	66,34	62,31
masť bravčová	2,6	3,0	4,70	12,22	14,10	7,55	9,82	11,33
JRTO	15,2	16,2	3,67	55,74	59,41	8,50	64,60	68,85
ovocie v hodnote čerstvého	70,5	96,7	1,25	88,34	121,17	3,50	123,38	169,23
zelenina v hodnote čerstvej	68,6	127,9	1,09	74,77	139,41	3,20	109,76	204,64
strukoviny	1,8	2,6	1,00	1,80	2,60	5,40	4,86	7,02
zemiaky	54,3	80,6	0,98	53,38	79,23	3,10	84,17	124,93
cukor	31,8	30,9	1,40	44,42	43,17	3,20	50,88	49,44
Výdavky za potraviny spolu				1288,35	1497,43		1699,09	1996,76

Zdroj: Štatistický úrad Slovenskej republiky, 2023 a vlastné výpočty

Neexistuje však podľa aj ďalších štúdií jednotný koeficient, ktorý by bol možný pre prepočet výživných hodnôt. Vo výpočtoch ako príklad prepočtu je stanovený koeficient 0,5. To znamená, že biologické resp. produkty alternatívnych poľnohospodárskych systémov napr. regeneratívneho poľnohospodárstva obsahujú raz toľko výživných hodnôt ako aj vitamínov, minerálnych látok a vlákniny.

Ak by teda spotrebitelia na Slovensku konzumovali zdravé potraviny, tak predpokladá sa, že spotreba výdavkov za potraviny by bola na úrovni 1 699 Euro (čo je o 410 Euro viac ako pri spotrebe konvenčných potravín), ale na druhej strane by konzumenti nepotrebovali ďalšie výdavky na doplnky výživy a nemuseli by míňať toľko výdavkov na lekárske ošetrenia a lieky. Ak by nastala situácia, že by spotrebitelia konzumovali zdravé potraviny v rozsahu odporúčaných hodnôt ich výška by bola až 1 996,76 Euro (čo je o 499 Euro viac ako pri ODP konvenčných potravín). Z uvedených výpočtov vyplýva, že pri zmene spôsobu stravovania k prechodu na zdravé potraviny nedochádza k rapidnému nárastu výdavkov na potraviny ako to deklarujú mnohí respondenti vo výskumoch spotrebiteľského správania riešených na Slovensku. Negatívnu úlohu v dostupnosti produktov ekologického poľnohospodárstva hrá aj aktuálna vysoká inflácia. Zákazník sa stále primárne orientuje podľa ceny.

ZÁVER

Potraviny a ich spotreba hrajú veľmi významnú úlohu v živote človeka. V spotrebe potravín na Slovensku došlo za posledných 100 rokov k zásadným zmenám. Pred druhou svetovou vojnou a následne tesne po nej bolo obdobie, kedy obyvatelia mali nedostatok potravín a v istom čase dostávali potraviny na prídel. Následne v 70.tých a 80.tých rokoch došlo k rozvoju poľnohospodárstva a postupne nárastu spotreby základných potravín. 90.te roky ovplyvnila zmena politického systému a došlo k liberalizácii obchodu ale aj k zníženiu kúpyschopnosti obyvateľstva. Spotreba mäsa, mliečnych produktov bola výrazne ovplyvnená chorobou šialených kráv BSE a následne na prelome tisícročia bola príprava na vstup do Európskej únie. Zákazníci postupne s rastom ekonomiky preferovali zdravšie a domáce potraviny avšak po svetovej finančnej kríze sa situácia vrátila späť a trvá doposiaľ. Hlavným faktorom nákupného správania sa slovenských zákazníkov je teda cena. Výdavky na potraviny v roku 2022 predstavovali hodnotu 1 132 Euro na jednu osobu za rok. Ak by spotrebiteľia konzumovali zdravé potraviny za ktoré sa v príspevku považujú napr. biopotraviny by výdavky domácností na osobu vzrástli na úroveň 1 699 Euro za predpokladu, že zdravé potraviny obsahujú o cca 50% viac minerálov, vláknin a vitamínov oproti konvenčným potravinám. Vyplýva to z mnohých medzinárodných vedeckých výskumov, kde však výsledky pri jednotlivých potravinách a komoditách sú v rozmedzí od 8 do 80%. Cieľom bolo poukázať, že ak by spotrebiteľia konzumovali zdravé potraviny minuli by na nie viac financií ale na druhej strane by nekonzumovali doplnky výživy a nemuseli by míňať toľko výdavkov aj na lekárske ošetrenia a lieky.

LITERATÚRA

- EUROPEAN COMMISSION 2023. Towards Sustainable Food Consumption. 84 s., ISBN 978-92-68-01571-1 Dostupné na: <https://pure.iiasa.ac.at/id/eprint/18873/1/towards%20sustainable%20food%20consumption-KI0923145ENN.pdf>
- Nicolau, M., Esquivel, L., Schmidt, I., Fedato, C., Leimann, L., Samoggia, A., Monticone, F., Prete, D. M., Ghelfi, R., Saviolidis, M.N., Olafsdottir, G., Sigurdardottir, H., Aubert, P.M., Huber, E., Aditjandra, A., Hubbard, C., De, A., Gorton, M., Čechura, L., Bogason, G.S., Brimont, L., Odene, J. Schamari, D. 2021. Food consumption behaviours in Europe. Mapping drivers, trends and pathways towards sustainability. VALUMICS project Dostupné na: https://valumics.eu/wp-content/uploads/2021/06/Valumics-Report-1-_Mapping-Behaviours.pdf
- NOURISHMENT VITALITY, 2023 Dostupné na: <https://nourishmentvitality.com/general-blog/100-years-of-food-1919-2019/>
- REGIONÁLNY ÚRAD VEREJNÉHO ZDRAVOTNÍCTVA 2023 Stravovanie v minulosti z pohľadu glykemického indexu potravín Dostupné na: <https://www.ruvzsn.sk/Stravovanie.pdf>
- REHDER, L. 2023. EU Consumers save on food and buy less organic in 2022, Report 2023, Report Number: E42023-0005 Dostupné na: https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/Report/DownloadReportByFileName?fileName=EU%20Consumers%20save%20on%20food%20and%20buy%20less%20organic%20in%202022_Berlin_European%20Union_E42023-0005.pdf
- Rush, Elaine; Savila, Fa'asisila; Jalili-Moghaddam, Shabnam A Amoah, Isaac. Vegetables: New Zealand Children Are Not Eating Enough. Online. Frontiers in Nutrition. 2019, roč. 5. ISSN 2296-861X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00134>. [cit. 2024-02-26].
- Wunsch, N. G. (2024). Health and wellness food trends in Europe-statistics and facts. Dostupné na: <https://www.statista.com/topics/3731/health-and-wellness-food-trends-in-europe/>

Kontaktná adresa: doc. Ing. Patrik Rovný, PhD., Ústav marketingu, obchodu a sociálnych štúdií, Fakulta ekonomiky a manažmentu, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra
Andrea Rovná Panšulovie, Slovenský zväz agropodnikateľov a rodinných fariem, Rišňovce 155, 951 21 Rišňovce

KVALITA PITNEJ VODY URČENEJ PRE HROMADNÉ ZÁSOBOVANIE VO VYBRANÝCH OBCIACH REGIÓNU ORAVA QUALITY OF DRINKING WATER INTENDED FOR MASS SUPPLY IN SELECTED VILLAGES OF THE ORAVA REGION

Lucia Zeleňáková, Martina Fikselová, Anna Kolesárová

Abstract: The presented study was focused on the analysis of microbiological and physico-chemical quality indicators of drinking water in selected villages of the Orava region. The analysis of drinking water quality indicators from the point of view of its use for human consumption was carried out in the villages of Rabča, Zákamenné and Námestovo for the years 2018, 2020 and 2022. We analyzed the drinking water at the individual sampling points, where water flows directly from the tap. When determining the quality of drinking water, we used analytical methods that were under the prescribed legislation. The operator of the water source treats raw water by chlorination and thus ensures its health safety. In this case, it is important to point out that the treatment of raw water is crucial for ensuring safe drinking water for the final consumer. During the analysis of drinking water, we found that operators of water resources fulfill their duties arising from the legislation and ensure regular sampling of drinking water. The values of microbiological and physico-chemical indicators of drinking water quality meet with the limits set by the Decree of the Ministry of Health of the Slovak Republic No. 247/2017 Coll., and thus we evaluate drinking water in the villages of Zákamenné, Rabča and in the city of Námestovo as safe for health.

Keywords: water quality, drinking water, analysis, microbiological and physico-chemical indicators

ÚVOD

Zásobovanie pitnou vodou je životne dôležité a je celosvetovo ohrozené ľudskou činnosťou. Pitná voda je nevyhnutná pre prežitie človeka a rozvoj sociálnych a ekonomických činností (Cunha, 2016).

Svetová zdravotnícka organizácia (WHO) definuje „bezpečnú pitnú vodu“ ako vodu, ktorá nepredstavuje žiadne významné zdravotné riziko počas celej životnosti jej spotreby. Približne 2,3 miliardy ľudí na celom svete je ohrozených chorobami prenášanými vodou z dôvodu nedostatku bezpečne riadených služieb pitnej vody a absencie riadneho sanitárneho systému (Perveen, 2023). V dôsledku zmeny klímy hrozí, že až polovica svetovej populácie bude žiť v oblastiach s nedostatkom vody (Helte, 2022).

Kvalita pitnej vody na Slovensku za posledné roky vykazuje vysokú úroveň. V roku 2021 bolo až 99,74 % analýz, ktoré vyhovovali stanoveným limitom, v porovnaní s rokom 2006, kedy podiel vyhovujúcich analýz tvoril 99,44 % (URL 1).

Vyhláška MZ SR č. 247/2017 Z. z., ktorou sa ustanovujú podrobnosti o kvalite pitnej vody, kontrole kvality pitnej vody, programe monitorovania a manažmente rizík pri zásobovaní pitnou vodou v prílohe č. 1 stanovuje jednotlivé ukazovatele kvality pitnej vody a ich povolené limity.

V súčasnosti sú obyvatelia Slovenska zásobovaný pitnou vodou dvoma spôsobmi. Prvým je hromadné zásobovanie pitnou vodou z verejného vodovodu alebo z vodárenského zdroja, kde podmienkou je zásobovanie najmenej 50 osôb. Druhým je individuálne zásobovanie pitnou vodou z jedného zdroja, kde denná produkcia pitnej vody je menej ako 10 m³ alebo zo zdroja, ktorý zásobuje menej ako 50 osôb (URL 2).

Zásobovanie obyvateľov vodou na rôzne účely, napr. pitie, poľnohospodárstvo, priemysel, domácnosť, atď. je neoddeliteľnou súčasťou spoločnosti. Povrchová voda je potenciálne nebezpečná ako nosič patogénnych mikroorganizmov na všetkých miestach, kde

prichádza do kontaktu s ľudským odpadom alebo odpadovými vodami z okolitého prostredia. Mikrobiálne kontaminovaná voda sa stáva nebezpečná pre pitie, plávanie, kúpanie a iné činnosti (Some, 2021).

Prítomnosť patogénov v životnom prostredí predstavuje nebezpečenstvo pre kvalitu pitnej vody a ľudské zdravie (Derx, 2022).

Pri posudzovaní kvality vody sa kladie veľká pozornosť na mikrobiologické ukazovatele, ktoré poskytujú prehľad o okamžitom stave vody. Mikrobiologický nález je citlivým indikátorom fekálneho znečistenia, čiže potencionálneho zdroja patogénnych organizmov a infekčných chorôb. Mikrobiologickým rozborom sa stanovujú počty baktérií, ktoré nemusia byť nebezpečné ľudskému zdraviu, ale ich prítomnosť môže znamenať preniknutie odpadových vôd do vody pitnej a tým aj možnú kontamináciu patogénnych mikroorganizmov (Kopáček et al., 2020).

Najväčšie mikrobiologické riziká vo všeobecnosti sú spojené s požitím vody kontaminovanej stolicou, ktorá môže byť zdrojom patogénnych baktérií, vírusov, prvokov a hĺst (Llonch et al., 2023). Mikrobiologická kvalita vody sa monitoruje pomocou indikátorových organizmov, ako sú koliformné baktérie, enterokoky alebo bakteriofágy (Yates, 2018).

Vyhláška č. 247/2017 Z. z. uvádza nasledovné mikrobiologické a biologické ukazovatele pre hodnotenie kvality pitnej vody: *Escherichia coli*, koliformné baktérie, enterokoky, kultivovateľné mikroorganizmy pri 22 a 36 °C, živé organizmy, vláknité huby (okrem železitých a mangánových baktérií), mikromycéty stanoviteľné mikroskopicky, mŕtve organizmy, železité a mangánové baktérie, abiosestón, *Clostridium perfringens* (vrátane spór).

Anorganické a organické ukazovatele sú uvedené v tabuľke 1.

Tabuľka 1 Anorganické a organické ukazovatele kvality pitnej vody

Anorganické ukazovatele	Limit	Jednotka	Druh limitu	Organické ukazovatele	Limit	Jednotka	Druh limitu
Antimón	5	µg.l ⁻¹	NMH	Akrylamid	0,1	µg.l ⁻¹	NMH
Arzén	10	µg.l ⁻¹	NMH	Benzén	1	µg.l ⁻¹	NMH
Bór	1	mg.l ⁻¹	NMH	Monochlórbenzén	10	µg.l ⁻¹	MH
Dusičnany	50	mg.l ⁻¹	NMH	Dichlórbenzény	0,3	µg.l ⁻¹	MH
Dusitany	0,5	mg.l ⁻¹	NMH	1,2-dichlóretán	3	µg.l ⁻¹	NMH
Fluoridy	1,5	mg.l ⁻¹	NMH	Celkový organický uhlík	3	mg.l ⁻¹	MH
Chróm	50	µg.l ⁻¹	NMH	Pesticídy	0,1	µg.l ⁻¹	NMH
Kadmium	5	µg.l ⁻¹	NMH	Pesticídy spolu	0,5	µg.l ⁻¹	NMH
Kyanidy	50	µg.l ⁻¹	NMH	Polyaromatické uhľovodíky	0,1	µg.l ⁻¹	NMH
Meď	2	mg.l ⁻¹	MH	Benzo(a)pyrén	0,01	µg.l ⁻¹	NMH
Nikel	20	µg.l ⁻¹	NMH	Epichlórhýdrín	0,1	µg.l ⁻¹	NMH
Olovo	10	µg.l ⁻¹	NMH	Tetrachlóretén a Trichlóretén	10	µg.l ⁻¹	NMH
Ortuť	1	µg.l ⁻¹	NMH	Vinylchlorid	0,5	µg.l ⁻¹	NMH
Selén	10	µg.l ⁻¹	NMH	Mikrocystín	1	µg.l ⁻¹	MH

(Zdroj: Príloha č. 1 k vyhláške MZ SR č. 247/2017 Z. z.)

Monitorovanie a hodnotenie kvality vody je nevyhnutné pre správnu diagnostiku problémov znečistenia vody a pre navrhovanie účinných stratégií prevencie a zmierňovania. Komplexné hodnotenie kvality vody je užitočné pri ochrane vodných zdrojov, pri

monitorovaní systémov úpravy vody a sanitácie, pri bezpečnom využívaní poľnohospodárskej pôdy a pri presadzovaní právnych predpisov v oblasti životného prostredia a ochrany spotrebiteľa (Singh, 2023).

Monitorovanie kvality povrchových a podzemných vôd v Slovenskej republike zabezpečuje Slovenský hydrometeorologický ústav, pričom všetky činnosti sú vykonávané v zmysle zákona č. 364/2004 Z. z. o vodách v znení neskorších predpisov a v zmysle rámcovej smernice o vode č. 200/60/ES (URL 3).

Tabuľka 2 Počet odberov vzoriek pitnej vody v závislosti od počtu zásobovaných obyvateľov

Počet zásobovaných obyvateľov	Objem dodávanej alebo používanej pitnej vody (m ³ /deň)	Počet odberov vzoriek pitnej vody za rok	
		Minimálna analýza	Úplná analýza
<50	<10	2	1 za 10 rokov
≥50 ≤100	≥10≤20	2	1 za 5 rokov
>100 ≤500	>20≤100	3	1 za 2 roky
>500 ≤5 000	>100≤1 000	4	1
>5 000 ≤50 000	>1 000≤10 000	4 +3 na každých 1 000 m ³ z celkového objemu vrátane začatých	1 +1 na každých 4 500 m ³ .deň ⁻¹ (vrátane začatých) z celkového objemu
>50 000 ≤500 000	>10 000≤100 000		3 +1 na každých 10 000 m ³ .deň ⁻¹ (vrátane začatých) z celkového objemu
>500 000	>100 000		12 +1 na každých 25 000 m ³ .deň ⁻¹ (vrátane začatých) z celkového objemu

(Zdroj: Príloha č. 2 k vyhláske MZ SR č. 247/2017 Z. z.)

MATERIÁL A METODIKA

Cieľom práce bola analýza ukazovateľov kvality pitnej vody z hľadiska jej využitia pre ľudskú spotrebu vo vybraných obciach regiónu Orava za roky 2018, 2020 a 2022.

Analýza vzoriek mikrobiologických a fyzikálno-chemických ukazovateľov kvality pitnej vody, používanej pri výrobe potravín a nápojov v obci Rabča, Zákamenné a Námestovo bola uskutočnená v spolupráci s akreditovaným laboratóriom Oravskej vodárenskej spoločnosti, a.s. a s akreditovaným laboratóriom INGEO-ENVILAB, s.r.o. - Divízia chémie a mikrobiológie.

Vzorky pitnej vody sme odoberali do vzorkovnic podľa predpísaného plánu vzorkovania a to priamo z vodovodnej batérie vybraných prevádzok a inštitúcií, ktoré priamo aj nepriamo prichádzajú do kontaktu s potravinami.

Pitnú vodu v obci Zákamenné sme analyzovali v týchto odberných miestach: obchod s potravinami, zdravotné stredisko, obecný úrad – kuchynka a supermarket – kuchynka.

Pitnú vodu v obci Rabča sme analyzovali z týchto odberných miest: ZŠ+MŠ (vodovodná batéria WC), reštaurácia, základná škola – kuchynka, gastronomická prevádzka – kuchynka a kancelária.

Pitnú vodu v meste Námestovo sme odoberali z týchto odberných miest: hotel, Oravská Priehrada – šatňa, stredná odborná škola – jedáleň.

Vyhláška MZ SR č. 247/2017 Z. z., ktorou sa ustanovujú podrobnosti o kvalite pitnej vody, kontrole kvality pitnej vody, programe monitorovania a manažmente rizík pri zásobovaní pitnou vodou v prílohe č. 4 uvádza analytické metódy, ktoré sa používajú na stanovenie kvality pitnej vody.

Počet kultivovateľných mikroorganizmov pri 22 °C (aj pri 36 °C) sme stanovovali zalievacou metódou podľa STN EN ISO 6222. Počet koliformných baktérií a *Escherichia coli* sme stanovili metódou membránovej filtrácie podľa STN EN ISO 9308-1. Počet enterokokov sme stanovili metódou membránovej filtrácie podľa STN EN ISO 7899-2. *Clostridium perfringens* sme stanovili pomocou metódy membránovej filtrácie podľa STN EN ISO 14189.

Na detekciu fekálnych indikátorových baktérií v pitnej vode sa používajú analytické metódy založené na membránovej filtrácii. Pri membránovej filtrácii sa 100 ml vzorka vody prefiltruje cez 0,45 µm membránu a inkubuje sa na selektívnom živnom médiu (Gillespie, 2016).

Dusitany sme stanovovali spektrofotometricky podľa STN EN 26777, dusičnany spektrometricky s kyselinou sulfosalicylovou podľa STN EN 7890-3. Pri stanovení amónnych iónov sme využili spektrometrickú metódu podľa STN ISO 7150-1. Sumu horčíka a vápnika sme stanovili pomocou titrácie s EDTA podľa STN ISO 6059. Na stanovenie železa sme použili spektrometrickú metódu podľa STN ISO 6332 (nariadenie č. 269/2010 Z. z.).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

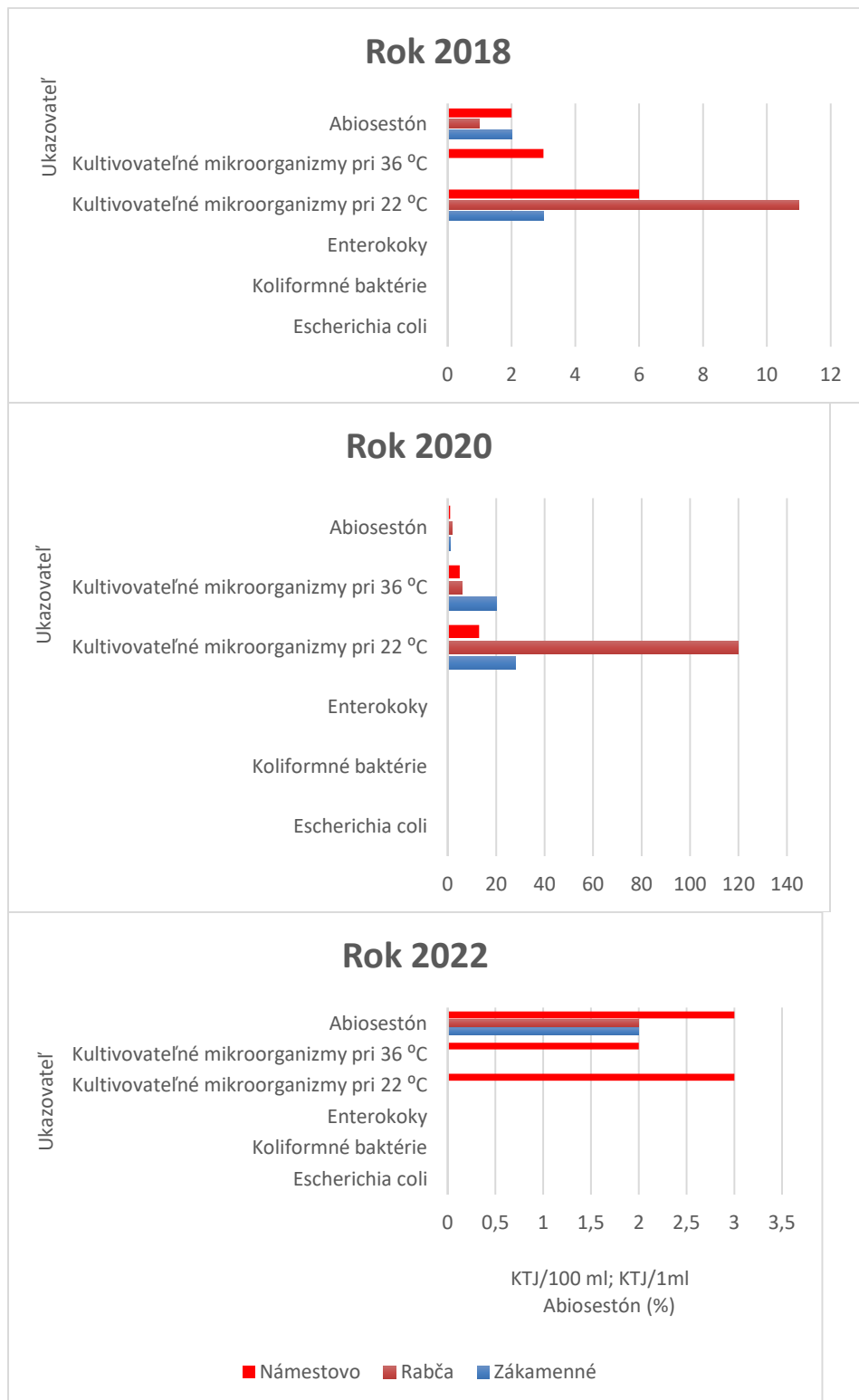
Kvalitu vody vo vodovodnom kohútiku a plnenie legislatívnych predpisov v oblasti kvality vody zabezpečujú vodárenské spoločnosti, ktoré sú povinné pravidelne odberať vzorky vody (Li, 2022).

Podľa správy o stave životného prostredia SR z roku 2021 bolo vyhovujúcich až 99,74 % vykonaných analýz ukazovateľov kvality pitnej vody, ktoré spĺňali hygienické limity. Vo všetkých ukazovateľoch kvality pitnej vody, okrem voľného chlóru, bolo vyhovujúcich 95,34 % vykonaných analýz. Najčastejšie boli v pitnej vode prekročené limitné hodnoty pri ukazovateľoch *E. coli*, *Clostridium perfringens*, enterokoky, koliformné baktérie, kultivovateľné mikroorganizmy pri 22 °C a pri 36 °C. Prítomnosť fekálnych baktérií poukazuje na nedostatočnú úpravu pitnej vody a nedostatočné zdravotné zabezpečenie. Z fyzikálno-chemických ukazovateľov kvality pitnej vody boli najčastejšie prekračované limitné hodnoty pre železo, mangán, dichlórbenzény a celkový organický uhlík. Pri pesticídoch spolu nebolo zaznamenané prekročenie limitnej hodnoty (Lieskovská, 2022).

Aby sme porovnali, v ktorej obci, resp. v meste je pitná voda z mikrobiologického hľadiska najkvalitnejšia, zosumarizovali sme údaje úplnej analýzy kvality pitnej vody za rok 2018; 2020 a 2022. Z grafov 1 – 3 vyplýva, že v odberných miestach boli všetky sledované parametre pod prípustnými limitmi, ktoré stanovuje vyhláška MZ SR č. 247/2017 Z. z.

Tiež je zřejmé, že pri úplných analýzach kvality pitnej vody v rokoch 2018; 2020 a 2022 nebola prítomná *Escherichia coli*, ani enterokoky a koliformné baktérie, čo znamená, že voda nebola kontaminovaná fekáliami. Kultivovateľné mikroorganizmy pri 22 °C a pri 36 °C sa vyskytovali v povolenom množstve a nedosahovali hraničné hodnoty. Limit pre kultivovateľné mikroorganizmy pri 22 °C je 200 KTJ.1ml⁻¹ a pre kultivovateľné mikroorganizmy pri 36 °C je limit 50 KTJ.1ml⁻¹. Kultivovateľné mikroorganizmy pri 22 °C sa v najvyššom počte za posledné roky vyskytli v obci Rabča a to v počte 120 KTJ.ml⁻¹ (rok 2020). Kultivovateľné mikroorganizmy pri 36 °C sa v najvyššom počte za posledné roky

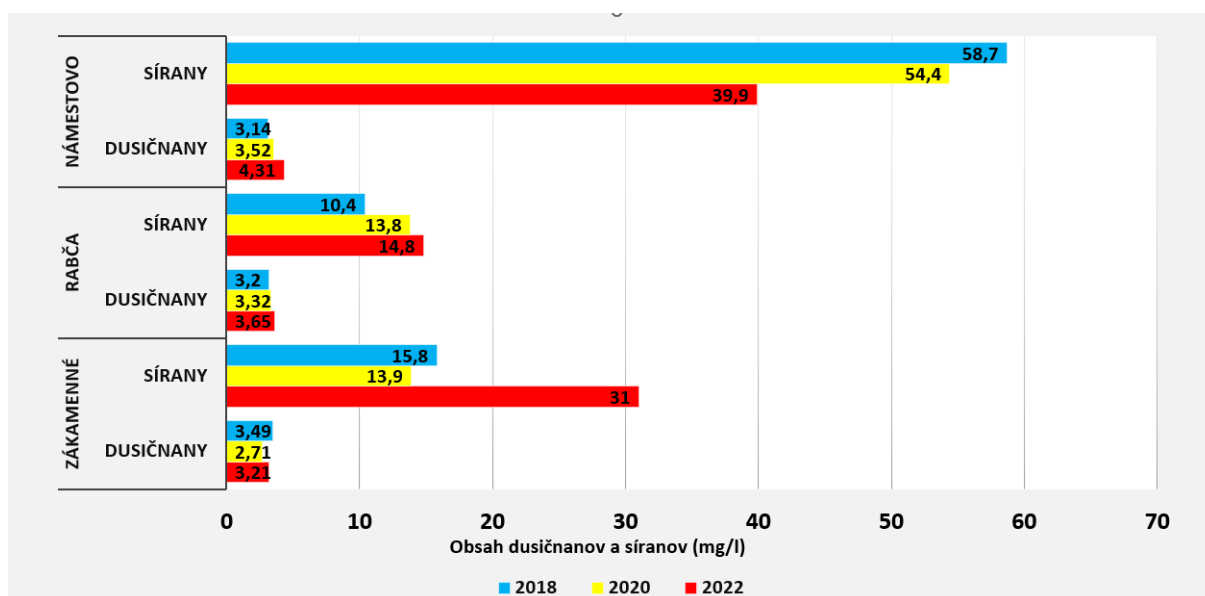
vyskytli v obci Zákamenné a to v počte 20 KTJ.ml⁻¹ (rok 2020). Hodnoty abiosestónu v pitnej vode sú v obci Rabča, Zákamenné a v meste Námestovo za posledné roky približne rovnaké. Limitná hodnota pre abioseston v pitnej vode je 10 %. Na základe uvedeného a z konkrétnych výsledkov rozborov uvedených v jednotlivých tabuľkách v diplomovej práci, môžeme konštatovať, že najkvalitnejšiu pitnú vodu majú občania mesta Námestovo a obce Rabča.



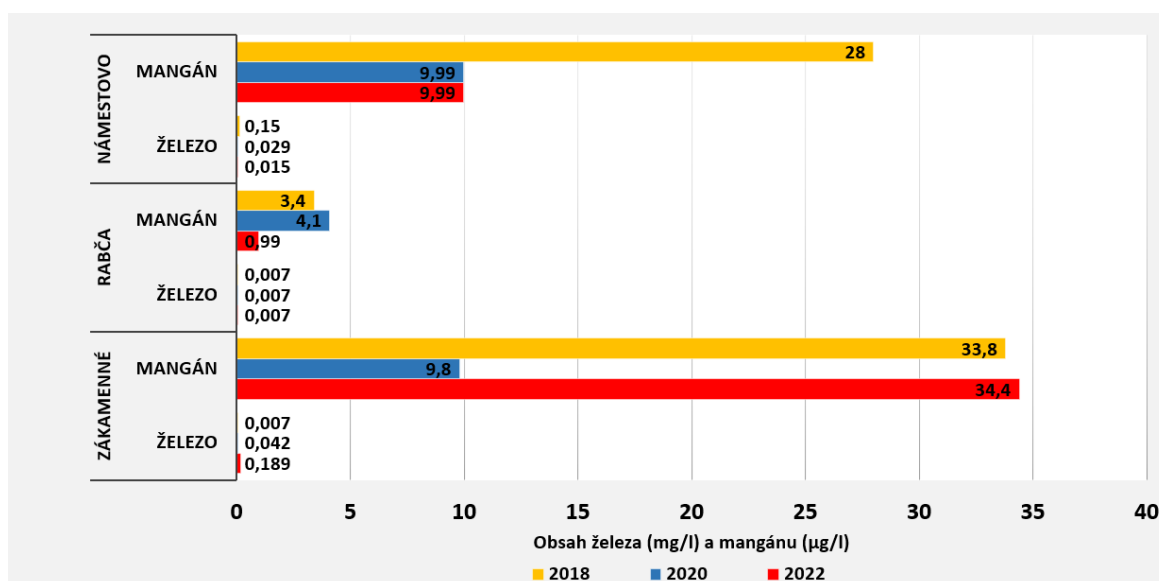
Grafy 1 – 3 Porovnanie mikrobiologickej kvality pitnej vody vo vybraných obciach regiónu Orava

Najvyšší obsah horčíka obsahuje pitná voda v meste Námestovo. V roku 2018 obsahovala najviac vápnika voda v Zákamennom, ale za posledné roky je obsah vápnika vyšší v pitnej vode v Námestove. Obsah horčíka a vápnika je dôležitým ukazovateľom tvrdosti vody. Pitná voda v meste Námestovo je podľa obsahu horčíka a vápnika stredne tvrdá v porovnaní s obcou Rabča, kde voda je mäkká.

Z údajov analýzy kvality pitnej vody za roky 2018; 2020 a 2022 sme zistili, že pitná voda v meste Námestovo obsahuje v porovnaní s dvoma ďalšími zdrojmi najviac síranov a dusičnanov. Povolené množstvo síranov v pitnej vode je 250 mg.l⁻¹. Povolené množstvo dusičnanov je 50 mg.l⁻¹. Sírany a dusičnany neprekračujú limitné hodnoty, čo znamená, že pitná voda je bezpečná (graf 4).



Graf 4 Porovnanie obsahu síranov a dusičnanov v pitnej vode v obciach regiónu Orava



Graf 5 Porovnanie obsahu železa a mangánu v pitnej vode v obciach regiónu Orava

Z údajov analýzy kvality pitnej vody za roky 2018; 2020 a 2022 sme zistili, že pitná voda v obci Zákamenné obsahuje v porovnaní s pitnou vodou v Rabči viac železa. Povolené

množstvo železa v pitnej vode je 0,2 mg.l⁻¹. V roku 2022 bol obsah železa v pitnej vode v obci Zákamenné 0,189 mg.l⁻¹, čo je hodnota blížiac sa k limitnej hodnote železa v pitnej vode (graf 5).

Povolené množstvo mangánu v pitnej vode je 50 µg.l⁻¹. Hodnoty mangánu v pitnej vode neprekračujú limitné hodnoty, avšak v obci Zákamenné je potrebné sústrediť sa na zvyšujúce sa hodnoty železa a mangánu v pitnej vode, nakoľko železo môže zhoršovať chuť a farbu pitnej vody a vysoké hodnoty mangánu môžu poškodiť zdravie človeka.

Voda je kľúčovým faktorom udržateľnosti ľudskej civilizácie a životného prostredia krajiny. Monitorovaním kvality vody dokážu krajiny hodnotiť, predvídať a kontrolovať jej znečistenie. Vodné zdroje v blízkosti ťažkého priemyslu sú citlivé na ťažké kovy a nebezpečné látky, ktoré sa do prostredia vypúšťajú ako vedľajší produkt výrobného procesu (Syeed et al., 2023).

Ondieki et al. (2021) uvádza, že v dôsledku požitia kontaminovanej vody a potravín zomiera viac ako päť miliónov ľudí, väčšinou z rozvojových krajín, pričom toto zistenie pochádza z preukázaných štúdií. V roku 2012 bolo v subsaharskej Afrike zaznamenaných približne 200 000 úmrtí v dôsledku nebezpečnej pitnej vody. V Keni sa polovica chorôb týka vody, sanitácie a hygieny.

Morgan et al. (2021) skúmali kvalitu pitnej vody na vidieckych školách v Mozambiku a Ugande, kde boli odobraté vzorky pitnej vody, bežne používanej v škole a následne určili najpravdepodobnejší počet *E. coli*. Až 13 % vidieckych škôl v Mozambiku a 7 % vidieckych škôl v Ugande malo ≥ 100 *E. coli* na 100 ml, čo je kategória najvyššieho zdravotného rizika podľa klasifikácie WHO.

V rozvojových krajinách má mikrobiologická kvalita pitnej vody vyššiu zdravotnú prioritu než chemická kvalita, a preto musí byť súčasťou procesu úpravy vody dezinfekcia (Zhang et al., 2019).

ZÁVER

Záverom možno konštatovať, že úprava surovej vody je kľúčová pre zabezpečenie bezpečnej pitnej vody konečnému spotrebiteľovi. Prevádzkovatelia vodárenských zdrojov si musia plniť povinnosti, ktoré im vyplývajú z legislatívy a zabezpečujú pravidelné odoberanie vzoriek pitnej vody. Z analýzy pitnej vody vyplynulo, že:

- hodnoty mikrobiologických a fyzikálno-chemických ukazovateľov kvality pitnej vody spĺňajú limity, ktoré stanovuje vyhláška MZ SR č. 247/2017 Z. z., a tak pitnú vodu v obci Zákamenné, Rabča a v meste Námestovo hodnotíme ako zdravotne bezpečnú.
- Na základe výsledkov môžeme tiež konštatovať, že voda z podzemného odberu je v porovnaní s vodou z povrchového odberu kvalitnejšia.

LITERATÚRA

Cunha, D. G. F., Sabogal-Paz L. P., Dodds, W. K. 2016. Land use influence on raw surface water quality and treatment costs for drinking supply in São Paulo State (Brazil). In *Ecological Engineering*, vol. 94, pp. 516-524. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.06.063>.

Cunha, Davi Gasparini Fernandes; Sabogal-Paz, Lyda Patricia a Dodds, Walter Kennedy. 2016. Land use influence on raw surface water quality and treatment costs for drinking supply in São Paulo State (Brazil). Online. *Ecological Engineering*. roč. 94, s. 516-524. ISSN 09258574. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.06.063>. [cit. 2024-02-23].

Derx, J., Linke, R., Savio, D. et al. 2022. From Groundwater to Drinking Water – Current Approaches for Microbial Monitoring and Risk Assessment in Porous Aquifers. In *Encyclopaedia of Inland Waters*. Elsevier, pp. 580-594. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819166-8.00175-4>.

Gillespie, S. 2016. Current status of molecular microbiological techniques for the analysis of drinking water. In *Molecular Microbial Diagnostic Methods*, pp. 39-58. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416999-9.00003-4>.

- Helte, E., Säve-Söderbergh, M., Larsson, S., Åkesson, A. 2022. Calcium and magnesium in drinking water and risk of myocardial infarction and stroke - a population-based cohort study. In *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 116, no. 4, pp. 1091-1100. Dostupné z: <https://doi: 10.1093/ajcn/nqac186>. ISSN 00029165.
- Kopáček, J., Hejzlar, J., Rulík, M. 2020. *Voda na Zemi*. České Budějovice: Nakladatelství Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. ISBN 978-80-7394-834-4.
- Li, J., Ren, A., Van der Mark, E., Liu, G. 2022. Direct evidence of microbiological water quality changes on bacterial quantity and community caused by plumbing system. In *Journal of Environmental Sciences*, vol. 116, pp. 175-183. Dostupné z: <https://doi:10.1016/j.jes.2021.04.028>.
- Lieskovská, Z., Lényiová, P. 2022. *Správa o stave životného prostredia Slovenskej republiky v roku 2021*. Banská Bystrica: Slovenská agentúra životného prostredia. ISBN 978-80-8213-091-4.
- Llonch, L., Verdú, M., Martí, S., Medinya, C., Riera, J., Cucurull, J., Devant, M. 2023. Drinking water chlorination in dairy beef fattening bulls: water quality, potential hazards, apparent total tract digestibility, and growth performance. In *Animal*, vol. 17, no. 1, pp. 24-27. Dostupné z: <https://doi: 10.1016/j.animal.2022.100685>.
- Morgan, C. E., Bowling, J. M., Bartram, J., Kayser, L. 2021. Attributes of drinking water, sanitation, and hygiene associated with microbiological water quality of stored drinking water in rural schools in Mozambique and Uganda. In *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, vol. 236, Dostupné z: <https://doi:10.1016/j.ijheh.2021.113804>.
- Ondieki, J. K., Akunga, D. N., Warutere, P. N., Kenya, O. 2021. Bacteriological and physico-chemical quality of household drinking water in Kisii Town, Kisii County, Kenya. In *Heliyon*, vol. 7, no. 5. Dostupné z: <https://doi:10.1016/j.heliyon.2021.e06937>.
- Perveen, S., Amar-Ul-Haque. 2023. Drinking water quality monitoring, assessment and management in Pakistan: A review. In *Heliyon*. Dostupné z: <https://doi:10.1016/j.heliyon.2023.e13872>.
- Some, S., Mondal, R., Mira, D., Jain, D., Verma, D., Das, S. 2021. Microbial pollution of water with special reference to coliform bacteria and their nexus with environment. In *Energy Nexus*, vol. 1. Dostupné z: <https://doi:10.1016/j.nexus.2021.100008>.
- Syeed, M. M. Mahbul, Hossain, Md. S., Karim, Md. R., Uddin, M. F., Hasan, M., Khan, R. H. 2023. Surface water quality profiling using the water quality index, pollution index and statistical methods: A critical review. *Environmental and Sustainability Indicators*. doi:10.1016/j.indic.2023.100247. ISSN 26659727.
- Zhang, X., He, Y., Zhang, B., Qin, L., Yang, Q., Huang, H. 2019. Factors affecting microbiological quality of household drinking water supplied by small-scale ultrafiltration systems: A field study. In *Science of The Total Environment*, no. 689, pp. 725-733. Dostupné z: <https://doi:10.1016/j.scitotenv.2019.06.327>.
- Yates, M. 2018. Drinking Water Microbiology. In *Reference Module in Biomedical Sciences*. Dostupné z: <https://doi:10.1016/B978-0-12-801238-3.66123-8>.
- URL 1 *Správa o stave životného prostredia Slovenskej republiky v roku 2021* [online]. Dostupné na: Správa o stave životného prostredia Slovenskej republiky v roku 2021 (enviroportal.sk)
- URL 2 Kvalita pitnej vody. c2005 - 2023. *Enviroportal* [online]. Dostupné na: <https://www.enviroportal.sk/agendy/obcan/kvalita-pitnej-vody>
- URL 3 *Odbor podzemné vody* [online]. Dostupné na: Odbor Podzemné vody - SHMÚ (shmu.sk)

Legislatívne predpisy:

Nariadenie vlády Slovenskej republiky č. 269/2010 Z. z., ktorým sa ustanovujú požiadavky na dosiahnutie dobrého stavu vôd v znení neskorších predpisov.

Vyhláška MZ SR č. 247/2017 Z. z., ktorou sa ustanovujú podrobnosti o kvalite pitnej vody, kontrole kvality pitnej vody, programe monitorovania a manažmente rizík pri zásobovaní pitnou vodou v znení neskorších predpisov.

Vyhláška MŽP SR č. 636/2004 Z. z., ktorou sa ustanovujú požiadavky na kvalitu surovej vody a na sledovanie kvality vody vo verejných vodovodoch v znení neskorších predpisov.

Kontaktná adresa: doc. Ing. Lucia Zelenáková, PhD., Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, lucia.zelenakova@uniag.sk

Bezpečnosť a kvalita mlieka a mliečnych výrobkov

ZASTÚPENIE MASTNÝCH KYSELÍN V MASTITÍDNOM KRAVSKOM MLIEKU FATTY ACIDS LEVELS IN MASTITIC COW'S MILK

Farkašová Zuzana, Zigo František, Vargová Mária, Ondrašovičová Silvia, Ewa Pecka-Kielb

Abstract: The aim of our experiment was to compare individual milk components and fatty acid values in cow's milk samples from healthy and mastitis (subclinical, clinical) affected dairy cows. Of the total 156 dairy cows, 39 milk samples (25%) were from clinical mastitis, 33 samples (21.2%) were isolated from subclinical mastitis, and 84 samples (53.8%) came from healthy dairy cows. *S. chromogenes* 61.5%, *S. schleiferi* 38.5% from clinical mastitis, and *Aerococcus viridans* 90.9% and *S. schleiferi* 9.1% from subclinical mastitis were isolated from the samples. Differences were noted in the values of lactose where clinical mastitis caused a statistically significant reduction ($P < 0.05$) in lactose values compared to healthy milk. There were also statistically significant differences in SCC values in milk of healthy dairy cows and dairy cows with clinical mastitis ($P < 0.001$), with average SCC in mastitis milk up to 23 times higher than in healthy milk. When comparing individual fatty acids, no significant differences were found between milk samples from healthy dairy cows compared to dairy cows affected by mastitis.

Key words: mastitis, SCC, fatty acids, milk, dairy cows

ÚVOD

Mastitída je zápalová reakcia vemena na invázne patogény, ktorú môžu spôsobiť klinické a subklinické formy ochorenia – najčastejšie a najnákladnejšie ochorenia u dojníc (Halasa et al. 2007). Mastitída môže byť výsledkom infekcie rôznymi druhmi baktérií, ale hlavnými pôvodcami sú kmene *Streptococcus* (*Str.*) spp. a *Staphylococcus* (*S.*) spp. (Lidiane et al. 2012). Za hlavné patogény mastitíd sa považuje niekoľko bakteriálnych druhov, vrátane *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, resp. *Streptococcus uberis* a *Escherichia coli*. V posledných rokoch stúpa aj význam koagulázo-negatívnych stafylokokov (KNS) ako pôvodcov subklinickej mastitídy u hovädzieho dobytku (Pyörälä a Taponen 2009).

Pri dojení prežúvavcov so zdravými vemenami je obsah bielkovín, tukov, sacharidov, podiel bielkovinových frakcií (vrátane kazeínov) faktormi ovplyvňujúcimi biologické a technologické vlastnosti mlieka. Tieto sú určené genetickými aj environmentálnymi faktormi (Barłowska et al. 2012, Pecka-Kielb et al. 2013).

Mastitída sprevádzaná zvýšením počtu somatických buniek a zmenou zloženia bielkovín a koncentrácie solí a laktózy môže ovplyvniť zloženie mlieka a jeho fyzikálno-chemické a výrobné vlastnosti (Le Roux et al. 2003, Santos et al. 2004).

Vemeno kontaminované baktériami rodu *Streptococcus* spp. môže spôsobiť dlhší čas koagulácie mliečnych bielkovín a vyšší podiel srvátkových bielkovín. Tiež pomer srvátkových proteínov ku kazeínom podlieha zvýšeniu (Leitner et al., 2006). Zvýšenie priepustnosti bariéry krv - mlieko počas zápalového stavu má za následok zvýšený pohyb plazmatických bielkovín a krvných enzýmov, čo môže viesť k proteolýze mliečnych bielkovín (Forsbäck et al. 2010). Mnohé kmene patogénov mliečnej žľazy sa vyznačujú vlastnosťami psychrotrofných baktérií poškodzujúcich potravinárske výrobky. Fermentujú laktózu a môžu spôsobiť fermentáciu pseudokyseliny mliečnej, čo je nežiaduce v priemysle výroby syra.

V mliečnom tuku bolo celkovo identifikovaných viac ako 400 jednotlivých mastných kyselín. Niektoré mastné kyseliny sa nachádzajú vo veľmi malých množstvách, ale prispievajú k jedinečnej a žiaducej chuti mliečneho tuku a masla. Napríklad C14:0 a C16:0 β -hydroxymastné kyseliny tvoria pri zahrievaní laktóny, čo zvyšuje chuť masla (Guetouache et al., 2014).

Mastitída môže byť spojená so zmenami v zložení mastných kyselín v mlieku, ktoré môžu ďalej ovplyvniť organoleptické a zdravie prospešné vlastnosti surového mlieka a syrových výrobkov. Predpokladá sa, že niektoré patogény mliečnych žliaz spôsobujú významné zmeny v zložení mlieka (LeMarechal et al., 2011).

Cieľom nášho experimentu bolo porovnať obsah jednotlivých zložiek mlieka a obsah mastných kyselín vo vzorkách kravského mlieka od zdravých a mastitídou (subklinickou, klinickou) postihnutých dojníc.

MATERIÁL A METODIKA

Vyšetrované vzorky mlieka sme odobrali od dojníc na PD Nová Ľubovňa na východe Slovenska. Celkom bolo vyšetrených 156 kusov dobytky. Vzorky mlieka boli odobraté od dojníc počas večerného dojenia do sterilných nádob a boli transportované do laboratória pri teplote 4°C. Pred odberom vzoriek mlieka bolo vemenom dezinfikované 70 % etanolom. Mlieko bolo po odbere vyšetrené maštalným NK testom na detekciu typu mastitídy (subklinická, klinická). Z individuálnych vzoriek mlieka boli na krvnom agare s prídavkom 5 % defibrinovanej baranej krvi izolované suspektné kolónie baktérií, pričom nasledovalo posudzovanie ich rastu aj na selektívnych médiach – *Staphylococcus* medium No 110, Ewards agar, Endo agar, a pod. Bakteriologické vyšetrenie bolo zamerané predovšetkým na izoláciu baktérií rodu *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *E. coli*, *Bacillus* spp. na základe rastu na živných pôdach, výsledkoch farbenia podľa Grama a produkcie katalázy. Izolované kmene boli identifikované pomocou dvoch rôznych identifikačných metód: na základe biochemických enzymatických vlastností baktérií STAPHYtest 24, STREPTOtest 24, ENTEROtest 12 s identifikačným programom TNW 7.0 (Erba-Lachema, Brno, Česká republika) s presnosťou detekcie viac ako 90,0% a na základe stanovenia proteínového spektra Maldi-Biotyperom (Bruker, USA), skóre v rozsahu (2,300-3,000) s vysokou pravdepodobnosťou identifikácie jednotlivých druhov.

Na stanovenie obsahu tuku, celkových bielkovín a laktózy v mlieku bol použitý Infrared Milk Analyzer 150 (Bentley Instruments Inc., Chaska, MN, USA). Počet somatických buniek (PSB) vo vzorkách mlieka bol stanovený pomocou Somacount 150 (Bentley Instruments Inc., Chaska, MN, USA).

Mastné kyseliny boli vo vzorkách mlieka stanovené vo forme methylesterov mastných kyselín (FAME), ktoré boli pripravené alkalickou hydrolýzou mliečného tuku varom s methanolickým roztokom hydroxidu draselného a po následné úprave pH roztoku reesterifikáciou za varu pod spätným chladičom na príslušnej FAME. Po schladení boli FAME extrahované do n-hexanu (VWR International, Taiwan) vytrepaním na trepačke GFL 3005 (Gesellschaft für Labortechnik, Nemecko). Oddelený hexanový podiel bol prefiltrovaný cez vrstvu bezvodého síranu sodného (Honeywell/Fluka, Nemecko) do chromatografickej vialky a následne analyzovaný s využitím plynovej chromatografie s plameňovo-ionizačnou detekciou na chromatografe HP 6890 (Agilent, USA). Ako nosný plyn bolo použité hélium (Airproducts, ČR), celkový prietok nosného plynu kolónou činil 1,2 ml.min⁻¹. Nastriekavaný objem vzorky pre analýzu bol 1 µl. K separácii methylesterov bola použitá kapilárna kolóna HP-88 (Agilent, USA) o dĺžke 100 m. Identifikácia a kvantifikácia mastných kyselín bola uskutočnená metódou vonkajšieho štandardu na základe porovnania so zmesným štandardom 37 methylesterov mastných kyselín Supelco 37 Component FAME Mix (Sigma-Aldrich, Nemecko) a štandardy ďalších FAME: methylester konjugované kyseliny linolovej, methylester kyseliny cis-7,10,13,16-dokosatetraenovej a kyseliny 4,7,10,13,16-dokosapentaenovej. Ako vonkajší štandard bola použitá kyselina nonadekanová (Sigma-Aldrich, Nemecko).

Údaje boli vyhodnotené pomocou Microsoft Excel 2007. Na porovnanie jednotlivých hodnôt medzi skupinami bol použitý Studentov T-test. Za štatisticky významné rozdiely boli považované hodnoty $P < 0,05$, $P < 0,01$, $P < 0,001$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z celkových vyšetrených vzoriek ($n = 156$) bolo 39 vzoriek mlieka (25 %) z klinickej mastitídy, 33 vzoriek (21,2 %) bolo izolovaných zo subklinických mastitíd a 84 vzoriek (53,8 %) pochádzalo od zdravých dojníc. Zo vzoriek pozitívnych na niektorú formu mastitídy boli izolované baktérie *S. chromogenes* 61,5 % a *S. schleiferi* 38,5 % z klinickej mastitídy a *Aerococcus viridans* 90,9 % a *S. schleiferi* 9,1 % zo subklinickej mastitídy. V rámci experimentu bol sledovaný obsah vybraných zložiek v mlieku od zdravých dojníc a v mlieku dojníc s klinickými a subklinickými mastitídami.

Rozdiely boli zaznamenané v obsahu resp. percentuálnom podiele laktózy, kde klinická mastitída spôsobila štatisticky významné zníženie ($P < 0,05$) obsahu laktózy v porovnaní so zdravým mliekom (Tabuľka 1). Počet somatických buniek (PSB) vo vzorkách mlieka zdravých dojníc bol maximálne do $60.1000.ml^{-1}$, pri subklinických mastitídach do $400.1000.ml^{-1}$ a klinických mastitídach v rozpätí od $400 - 5 700.1000.ml^{-1}$. V hodnotách PSB v mlieku zdravých dojníc a dojníc s klinickou mastitídou (Tabuľka 1) boli zaznamenané štatisticky významné rozdiely ($P < 0,001$).

Pecka-Kiełb et al. (2016) vo svojej štúdií zaznamenali vplyv bakteriálnej infekcie vemena na zvýšenie PSB ($p < 0,01$), podiele tuku a sušiny. Vzorky mlieka kontaminované *S. uberis* boli charakterizované vyšším ($p < 0,05$) celkovým počtom baktérií a celkovým počtom bielkovín v porovnaní so vzorkami mlieka odobratými z neinfikovanej mliečnej žľazy. Naopak nepozorovali žiadny štatisticky významný vplyv prítomnosti baktérií na hladinu laktózy v mlieku.

Vasíl' et al. (2016) vo svojej štúdií popisuje vplyv bakteriálnej infekcie na zvýšenie ($p < 0,05$) počtu somatických buniek a zníženie ($p < 0,01$) hladín bielkovín v mlieku v dôsledku mastitídy spôsobenej stafylokokmi.

Tabuľka 1 Porovnanie produkcie mlieka a obsahu zložiek v mlieku od dojníc so zdravou mliečnou žľazou a dojníc s rôznymi druhmi mastitíd

	Zdravé	Subklinická mastitída	Klinická mastitída	P
Mlieko (l)	$14,4 \pm 3,3$	$11,9 \pm 1,6$	$8,6 \pm 3,0$	ns
Tuk (%)	$3,64 \pm 0,5$	$3,6 \pm 0,7$	$3,92 \pm 0,6$	ns
Bielkoviny (%)	$3,50 \pm 0,23$	$3,5 \pm 0,27$	$3,63 \pm 0,26$	ns
Laktóza (%)	$4,93 \pm 0,15^A$	$4,96 \pm 0,24$	$4,72 \pm 0,34^a$	0,05
PSB (.1000.ml⁻¹)	32 ± 16^C	88 ± 101	864 ± 1735^c	0,001

PSB – počet somatických buniek; ^{Aa} $P < 0,05$, ^{Cc} $P < 0,001$ štatisticky významné rozdiely medzi skupinami vyhodnotené Studentovým T-testom

Pri ostatných parametroch vrátane produkcie mlieka neboli zaznamenané štatisticky významne zmeny aj napriek tomu, že priemerná produkcia mlieka u dojníc s klinickou mastitídou bola skoro o polovicu nižšia ako produkcia mlieka u zdravých dojníc.

Kravske mlieko je veľmi variabilné, pokiaľ ide o obsah tuku. Táto frakcia je tvorená asi z 95% triacylglycerolmi, ktoré sú zložené z mastných kyselín, ktorých dĺžka reťazca a stupeň nasýtenia určujú nutričnú hodnotu mliečného tuku. Nasýtené mastné kyseliny sa považujú za faktor nepriaznivo ovplyvňujúci ľudské zdravie, pretože prispievajú k rozvoju artériosklerózy (Pfeuffer a Schrezenmeir, 2000) a zvýšenej hladine cholesterolu v krvi, čo vedie ku kardiovaskulárnym ochoreniam (Haug et al., 2007).

Medzi nenasýtenými mastnými kyselinami majú n-3 priaznivé účinky na ľudský organizmus. Kyseliny n-3 pozitívne ovplyvňujú nervový systém a znižujú riziko cukrovky a kardiovaskulárnych ochorení. Dôležitým parametrom kvality mlieka je aj pomer nenasýtených mastných kyselín n-6:n-3. Ak je obsah prvej skupiny kyselín príliš vysoký, zvyšuje sa riziko zápalu, trombózy a autoimunitných symptómov (Mensink et al., 2003).

Pomer medzi n-6:n-3 v našom experimente bol v prípade vzoriek mastitídneho mlieka 4 – 5:1, v mlieku od zdravých dojníc 3 – 4:1. Tieto rozdiely, však neboli štatisticky významné a preto nemôžeme jednoznačne potvrdiť, že zápal mliečnej žľazy ovplyvňuje v negatívnom smere pomer n-6:n-3 v mlieku. Osobitné miesto v zložení tuku kravského mlieka má konjugovaná kyselina linolová (CLA). Kravské mlieko je hlavným zdrojom izomérov tejto zlúčeniny v ľudskej strave (Haug et al., 2004). V našom experimente pri porovnávaní obsahu jednotlivých mastných kyselín neboli zistené žiadne významné rozdiely medzi vzorkami mlieka od zdravých dojníc v porovnaní s dojnícami postihnutými mastitídou (Tabuľka 2).

Významné ($p < 0,05$) zníženie podielu C13:0 a zvýšené hladiny C18:0, C18:1n7t a CLA boli pozorované v mlieku kontaminovanom *S. uberis* v porovnaní so zdravým kravským mliekom (Pecka-Kielb et al., 2016). Podľa Vasil' et al. (2016) došlo k významnému ($p < 0,05$) zníženiu C8:0, C10:0 a celkového množstva nasýtených mastných kyselín v mlieku infikovaných kráv v porovnaní so zdravými. Uvedený výskum tiež odhalil vyššie ($p < 0,01$) hladiny C14: 0 a C20: 1 v mlieku zdravých kráv.

Tabuľka 2 Porovnanie obsahu mastných kyselín v mlieku od dojníc so zdravou mliečnou žľazou a dojníc s rôznymi druhmi mastitíd

MUFA [mg.g ⁻¹ tuku]	Zdravé	Subklinická mastitída	Klinická mastitída	P
C 14, cis-9	5,55 ± 1,5	6,02 ± 1,91	5,55 ± 1,55	0,430
C 15, cis-10	0,12 ± 0,16	0,67 ± 0,12	0,08 ± 0,15	0,418
C 16, cis-9	13,73 ± 2,45	13,98 ± 2,5	13,8 ± 2,0	0,285
C 18, trans-9	2,2 ± 0,47	2,06 ± 0,5	2,31 ± 0,65	0,386
C 18, cis-9	152,25 ± 23,93	155,10 ± 25,87	157,67 ± 28,86	0,754
C 20, cis-11	0,14 ± 0,07	0,12 ± 0,1	0,15 ± 0,09	0,364
C 22, cis-13	0,05 ± 0,07	0,03 ± 0,04	0,03 ± 0,06	0,720
PUFA [mg.g ⁻¹ tuku]	Zdravé	Subklinická mastitída	Klinická mastitída	P
C 18:2, trans-9,12	0,59 ± 0,23	0,48 ± 0,18	0,61 ± 0,17	0,698
C 18:2, cis-9,12	12,35 ± 1,65	12,60 ± 2,98	12,78 ± 2,11	0,666
C 18:3, cis-6,9,12	0,34 ± 0,16	0,32 ± 0,16	0,38 ± 0,19	0,961
C 18:3, cis-9,12,15	3,36 ± 0,79	3,34 ± 1,11	3,5 ± 0,83	0,169
CLA	5,03 ± 0,81	4,75 ± 1,11	5,24 ± 1,24	0,337
C 20:2, cis-11,14	0,09 ± 0,06	0,08 ± 0,06	0,08 ± 0,06	0,540
C 20:3, cis-8,11,14	0,41 ± 0,15	0,44 ± 0,14	0,44 ± 0,15	0,629
C 22:2, cis-13,16	0,12 ± 0,04	0,09 ± 0,03	0,12 ± 0,05	0,123
C20:5, cis-5,8,11,14,17	0,26 ± 0,08	0,28 ± 0,14	0,25 ± 0,08	0,554
SAFA [mg.g ⁻¹ tuku]	Zdravé	Subklinická mastitída	Klinická mastitída	P
C 4	12,0 ± 1,25	12,05 ± 2,46	11,58 ± 0,95	0,939
C 6	9,39 ± 0,90	9,3 ± 1,16	9,23 ± 1,24	0,778

C 8	6,44 ± 0,85	6,36 ± 0,91	6,38 ± 1,10	0,780
C 10	16,71 ± 2,87	16,26 ± 2,95	16,48 ± 3,38	0,635
C 11	0,21 ± 0,15	0,24 ± 0,18	0,2 ± 0,13	0,602
C 12	20,57 ± 3,72	20,38 ± 3,93	20,41 ± 4,24	0,877
C 13	0,635 ± 0,22	0,62 ± 0,27	0,55 ± 0,17	0,680
C 14	73,13 ± 8,26	71,55 ± 8,07	71,24 ± 10,71	0,554
C 15	7,87 ± 1,56	7,84 ± 1,96	7,56 ± 1,05	0,949
C 16	231,05 ± 25,46	233,73 ± 27,47	228,89 ± 19,37	0,750
C 17	4,47 ± 0,71	4,67 ± 0,79	4,36 ± 0,41	0,422
C 18	68,60 ± 13,27	67,18 ± 19,20	69,61 ± 13,25	0,768
C 20	0,93 ± 0,21	0,81 ± 0,16	0,96 ± 0,24	0,086

MUFA – mononenasýtené mastné kyseliny, PUFA – polynenasýtené mastné kyseliny, SAFA – nasýtené mastné kyseliny

ZÁVER

V rámci experimentu bol porovnávaný obsah vybraných zložiek v mlieku od zdravých dojníc s ich obsahom vo vzorkách mlieka z klinických a subklinických mastitíd. Rozdiely boli zaznamenané v obsahu laktózy, kde klinická mastitída spôsobila štatisticky významné zníženie ($P < 0,05$) obsahu laktózy v porovnaní so zdravým mliekom. Rovnako v hodnotách PSB v mlieku zdravých dojníc a dojníc s klinickou mastitídou boli zaznamenané štatisticky významné rozdiely ($P < 0,001$), kde bol priemerný počet somatických buniek v mastitídnom mlieku mnohonásobne (23x) vyšší ako v mlieku zdravých dojníc. Pri porovnávaní obsahu jednotlivých nasýtených a nenasýtených mastných kyselín sme nezaznamenali žiadne štatisticky významné rozdiely, resp. zmeny v mastitídnom mlieku v porovnaní so zdravým mliekom. Vo vzorkách mlieka od mastitídnych dojníc bol zistený vyšší pomer n-6:n-3, čo môže negatívne ovplyvniť kvalitu mlieka, avšak toto zvýšenie nebolo významné. Potvrdili sme, zvýšenie PSB v mastitídnom mlieku, znížený obsah laktózy a aj napriek tomu, že my sme nepotvrdili negatívny vplyv mastitíd na obsah mastných kyselín a pomer n-6:n-3 v mlieku, na základe viacerých štúdií je možné predpokladať, že neliečená (subklinická, klinická) mastitída negatívne ovplyvňuje biochemické, kvalitatívne a nutričné vlastnosti kravského mlieka.

LITERATÚRA

- Barłowska, J., Litwińczuk, Z., Brodziak, A., Chabuz, W. 2012: Effect of the production season on nutritional value and technological suitability of milk obtained from intensive (TMR) and Traditional Feeding system of cows. *J Microbiol Biotech Food Sci.*, 1: 1205-1220. Dostupné na: <https://office2.jmbfs.org/index.php/JMBFS/article/view/7231>
- Forsbäck, L., Lindmark-Mansson, H., Andren, A., Svennersten-Sjaunja, K. 2010: Evaluation of quality changes in udder quarter milk from cows with low-to-moderate somatic cell counts. *Animal*. 4: 617-626. DOI: 10.1017/S1751731109991467
- Guetouache, M., Guessas, B., Medjekal, S., 2014: Composition and nutritional value of raw milk (Review). *Issues Biol. Sci. Pharm. Res.*, 2: 115-122. Dostupné online na <http://www.journalissues.org/IBSPR/http://dx.doi.org/10.15739/ibspr.005>
- Halasa, T., Huijps, K., Osteras, O., Hogeveen, H., 2007: Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: a review. *Vet Q*, 8, 29: 18-31. DOI: 10.1080/01652176.2007.9695224
- Haug, A., Taugbol, O., Olsen, E.S., Biong, A.S., Harstad, O.M., 2004: Milk fat in human nutrition. Studies in dairy cows with special reference to CLA. *Animal Science Papers and Reports*: 223.
- Haug, A., Hostmark, A. T., Harstad, O. M., 2007: Bovine milk in human nutrition-a review. *Lipids in Health and Disease*, 6: 25. DOI: 10.1186/1476-511X-6-25
- Leitner, G., Krifucks, O., Merin, U., Lavi, Y., Silanikove, N., 2006: Interactions between bacteria type, proteolysis of casein and physico-chemical properties of bovine milk. *Int Dairy J.*, 16: 648-654. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.10.020>

LeMarechal, C., Thiéry, R., Vautor, E., Le Loir, Y., 2011: Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products - A review. *Dairy Sci. Technol.* 91: 247-282. DOI 10.1007/s13594-011-0009-6

Le Roux, Y., Laurent, F., Moussaoui, F., 2003: Polymorphonuclear proteolytic activity and milk composition change. *Vet Res.*, 34: 629-645. DOI: 10.1051/vetres: 2003021

Lidiane, C. S., Pereira, I. A., Pribul, B. R., Oliva, M.S., Coelho, S. M., Souza, M. M., 2012: Antimicrobial resistance and detection of *mecA* and *blaZ* genes in coagulase-negative *Staphylococcus* isolated from bovine mastitis. *Pesq Vet Bras.* 32: 692-696. Dostupné na: http://www.pvb.com.br/antigo/pdf_artigos/27-08-2012_09-26Vet%201205_2489%20LD.pdf

Mensink, R. P., Zock, P. L., Kester, A. D. M., Katan, M. B., 2003: Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am J Clin Nutr.*, 77(5): 1146-55. doi: 10.1093/ajcn/77.5.1146.

Pecka-Kielb, E., Zachwieja, A., Tumanowicz, J., 2013: Technological parameters of milk depending on the cow housing system, nutrition system, age and number of somatic cells. *Przemysł Chemiczny*, 92: 1087-1091.

Pecka-Kielb, E., Vasil, M., Zachwieja, A., Zawadzki, W., Elečko, J., Zigo, F., Illek, J., Farkašová, Z., 2016: An effect of mammary gland infection caused by *Streptococcus uberis* on composition and physicochemical changes of cows' milk. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 19, (1), 49–55. DOI: 10.1515/pjvs-2016-0007

Pfeuffer, M., Schrezenmeir, J., 2000: Bioactive substances in milk with properties decreasing risk of cardiovascular disease. *British Journal of Nutrition*, 84 (1), 155-159. DOI: 10.1017/s0007114500002385

Pyörälä, S., Taponen, S., 2009: Coagulase-negative staphylococci – emerging mastitis pathogens. *Vet Microbiol.*, 134: 3-8. DOI: 10.1016/j.vetmic.2008.09.015

Santos, J. E., Cerri, R. L., Ballou, M. A., Higginbotham, G. E., Kirk, J. H., 2004: Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. *Anim Reprod Sci.*, 80: 31-45. DOI: 10.1016/S0378-4320(03)00133-7

Vasil, M., Pecka-Kielb, E., Elečko, J., Zachwieja, A., Zawadzki, W., Zigo, F., Illek, J., Farkašová, Z., 2016: Effects of udder infections with *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus warneri* on the composition and physicochemical changes in cows milk. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 19, No. 4: 841–848. DOI: 10.1515/pjvs-2016-0105

Pod'akovanie: Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. **APVV-22-0457** a projektmi **SK-PL-23-0066** - Vplyv antioxidantných a imunostimulačných nutričov na antioxidantný status a zdravotný stav mliečnej žľazy u dojníc a bahníc a projektom **VEGA č. 1/0162/23**.

Kontaktná adresa: Zuzana Farkašová, MVDr. PhD., Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 04181 Košice, Slovenská Republika, email: zuzana.farkasova@uvlf.sk

František Zigo, doc., MVDr. PhD., Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 04181 Košice, Slovenská Republika, email: frantisek.zigo@uvlf.sk

Mária Vargová, MVDr. PhD., Katedra verejného veterinárneho lekárstva a welfare zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 04181 Košice, Slovenská Republika, email: maria.vargova@uvlf.sk

Silvia Ondrašovičová, MVDr. PhD., Katedra biológie a fyziológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 04181 Košice, Slovenská Republika, email: silvia.ondrasovicova@uvlf.sk

Ewa Pecka-Kielb, Assoc. prof., Inż., Department of Animal Physiology and Biostructure, Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Norwida 31, 50-375 Wrocław, Poland, email: ewa.pecka@upwr.edu.pl

HODNOTENIE ZDRAVOTNÉHO STAVU VEMENA KÔZ NA ZÁKLADE POČTU SOMATICKÝCH BUNIEK A PRÍTOMNOSTI PATOGENOV

EVALUATION OF GOAT UDDER HEALTH BASED ON SOMATIC CELL COUNT AND PRESENCE OF PATHOGENS

Barbora Gancárová, Kristína Tvarožková, Vladimír Tančin, Lucia Mačuhová, Michal Uhrinčat', Martina Vršková

Abstract: This study aimed to evaluate the presence of mastitis pathogens and somatic cell count (SCC) in goat milk and their relationship. A total of 159 milk samples were collected but only 154 milk samples were available for somatic cell count analysis because goats were suckled by kids and milked at the same time. Of the total number of samples for pathogen identification, 32 samples were positive, and a total of 34 pathogens were identified (2 samples contained two different species of bacteria). The most common bacterial isolates were bacteria of the genus *Staphylococcus* (*S.*), especially coagulase-negative staphylococci (CNS) (85.3%). *S. epidermidis* (32.4%) with *S. caprae* (23.5%) were the most common CNS. $SCC \geq 2000 \times 10^3$ cells/ml were recorded in 33.17% of the bacteriologically positive samples. Bacteriologically positive samples had significantly higher SCC compared to bacteriologically negative samples ($P < 0.05$). In conclusion, regular monitoring of SCC in goat milk along with bacteriological cultivation of milk samples is an effective tool for evaluation the udder health status of goats.

Keywords: goat milk, somatic cell count, pathogens, mastitis

ÚVOD

Kvalitný kozí syr, ale aj ostatné kozie výrobky, nie je možné vyrobiť bez kvalitného kozieho mlieka. Zdravotný stav mliečnej žľazy je jeden z najdôležitejších faktorov ovplyvňujúci produkciu mlieka, či už z pohľadu jeho celkového množstva, nutričnej kvality alebo bezpečnosti (Albenzio et al., 2015). Rôzne druhy baktérií, najmä koaguláza-negatívne stafylokoky (KNS) môžu infikovať vemená kôz prestupom cez ceckový kanálik, a to častokrát bez zjavných klinických príznakov - subklinická mastitída. Predpokladá sa, že prevalencia subklinickej mastitídy na úrovni stáda kôz je približne 15 - 40 % (Silanikove et al., 2010). Prítomnosť baktérií v mliečnej žľaze spôsobuje zhoršenie kvality mlieka a zvyšuje počet somatických buniek (PSB) (Čobirka et al., 2020). Podľa Silanikove et al. (2014) pri zvýšení PSB v rozmedzí od 840×10^3 buniek/ml do 1200×10^3 buniek/ml je možné predpokladať, že 50 % kôz zo stáda trpí subklinickou mastitídou v dôsledku prítomnosti baktérií vo vemene, čo má negatívny dopad na produkciu mlieka (pokles dojivosti o 1,5 %) a výtťažnosť sýreniny (pokles výtťažnosti o 6,5 %). Avšak, pretože imunitný systém kôz oproti kravám je druhovo špecifický je interpretácia vysokého PSB ako indikátora zdravotného stavu vemena kôz stále predmetom vedeckých diskusií (Silanikove et al., 2016).

Cieľom štúdie bolo zhodnotiť zdravotný stav mliečnej žľazy na základe počtu somatických buniek, prítomnosti patogénov v mlieku kôz a ich vzájomného vzťahu.

MATERIÁL A METODIKA

Na farme dojných kôz bolo odobraných 159 vzoriek mlieka od 80 kôz plemena biela koza krátkosrstá na 1 až 3 laktácií. Vzorky mlieka boli odoberané na úrovni polovic vemena pre stanovenie PSB, zhodnotenie výskytu patogénov a ich vzťahu k PSB. Kozy počas kontrolného odberu boli cicané kozľatami a zároveň dojené. Z tohto dôvodu bolo možné stanoviť PSB iba v 154 vzorkách a u jednej z kôz bola odobraná vzorka iba z pravej polovice

vemena (ľavá polovica bola vycicaná). Pre bakteriologické vyšetrenie mlieka boli vzorky odoberané po oddojení prvých strekov a následnej dezinfekcii hrotu cecku utierkami so 70 % alkoholom aseptickým spôsobom do sterilnej skúmavky (10 ml). Následne boli odoberané vzorky mlieka pre stanovenie PSB (50 ml) z každej polovice vemena. Vzorky mlieka pre stanovenie PSB sa uchovávali pri 4 °C a do 6 hodín boli prevezené do laboratória na stanovenie PSB prístrojom Somacount 150 (Bentley Instruments, Inc., Chaska, Minnesota, USA). Vzorky mlieka pre identifikáciu prítomnosti patogénov boli po odbere umiestnené do mrazničky (- 20°C), boli prevezené do laboratória a až do kultivácie boli zmrazené. Pre stanovenie prítomnosti bakteriálnych patogénov v mlieku boli vzorky (10 µl) naočkované na krvný agar s obsahom 5 % baranej krvi (MkB Test a. s., Rosina, SR). Vzorky mlieka pre identifikáciu patogénov boli po rozmrazení a naočkovaní kultivované v aeróbných podmienkach po dobu 24 hodín (prvé hodnotenie rastu patogénov) až 48 hodín (opätovné hodnotenie rastu patogénov) pri teplote 37°C. Bakteriálne kolónie boli rozlíšené na základe ich typickej morfológie, katalázového testu (3 % H₂O₂, Merck, Darmstadt, Germany), typu hemolýzy, eskulin testu, cytochrom C oxidázy (Bactident Oxidase, Merck) a Gramovho farbenia. Kontagiózný *S. aureus* bol predbežne identifikovaný prostredníctvom clumping faktor testu (DiaMondial Staph Plus Kit, Germany). Druhovú identifikáciu bola uskutočnená pomocou prístroja MALDI TOF MS (Bruker Daltonics, Bremen, Germany). Ako pozitívna bola vzorka označená, ak bola zistená prítomnosť minimálne päť kolóniu tvoriacich jednotiek (KTJ.ml⁻¹) pre všetky patogény okrem kontagiózných patogénov (*S. aureus*, *Str. agalactiae*), pri ktorých bola vzorka označená ako pozitívna, ak bola zistená aspoň jedna KTJ.ml⁻¹. Vzorky boli označené ako kontaminované, ak tri a viac patogénov bolo izolovaných z jednej vzorky a nebol zaznamenaný rast kontagiózných patogénov.

Vzorky mlieka boli na základe PSB rozdelené do nasledovných PSB skupín: < 500 × 10³ buniek/ml, ≥ 500 < 1000 × 10³ buniek/ml, ≥ 1000 < 2000 × 10³ buniek/ml, ≥ 2000 × 10³ buniek/ml. Pre matematické vyhodnotenie zastúpenia vzoriek mlieka v jednotlivých PSB skupinách bol použitý program MS Excel (Office 365) a pre štatistické spracovanie bol PSB transformovaný na skóre somatických buniek (SSB) pomocou vzorca: SSB=log₂ (PSB/100 000) + 3

Pre štatistické vyhodnotenie vplyvu prítomnosti patogénov (A - bez prítomnosti patogénu a B - s prítomnosťou patogénu) na PSB bola použitá jednofaktorová analýza rozptylu v programe SAS7.1 (2014), pričom z databázy na štatistické spracovanie boli vylúčené kontaminované vzorky (n=3) a vzorky bez stanoveného PSB (n=5). Viacnásobné porovnania medzi skupinami sa vykonali použitím Tukeyho-HSD testu. Rozdiely sa považovali za štatisticky významné pri P≤0,05. Štatistický model bol nasledovný:

$$y_i = \mu + M_i + e_i$$

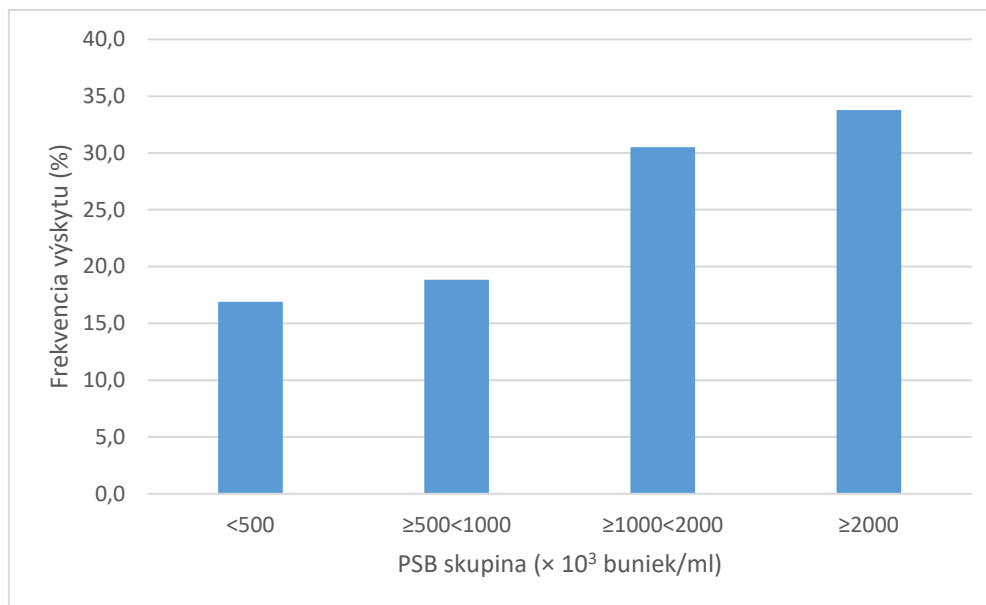
$$y_i - SSB$$

m - celkový priemer

M_i - fixný faktor prítomnosti patogénov (dve úrovne: A – bez prítomnosti patogénu a B -s prítomnosťou patogénu)

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri hodnotení frekvencie zastúpenia vzoriek mlieka (n=154) v jednotlivých PSB skupinách (obrázok 1) u vybraných kôz sme zistili najvyšší počet vzoriek (33,8 %) v skupine s najvyšším PSB (≥ 2000 × 10³ buniek/ml). Naopak najnižší počet vzoriek bol zaznamenaný v skupine s najnižším PSB (< 500 × 10³ buniek/ml). V podmienkach našej chovateľskej praxe sme v predchádzajúcich štúdiách zaznamenali vyššie percento vzoriek s nízkou PSB (< 500 × 10³ buniek/ml) u kôz (Gancárová et al., 2023).



Obrázok 1 Frekvencia zastúpenia vzoriek mlieka v jednotlivých PSB skupinách

V nedávnom výskume francúzskeho laboratória Lilco, ktoré Zazharska et al. (2021) uvádzajú ako jedno zo 16 laboratórií na kontrolu kvality mlieka vo Francúzsku, zaznamenali ročný nárast PSB v kozom mlieku od roku 1996 do roku 2016 o viac ako $48,5 \times 10^3$ buniek/ml (Marnet et al., 2024). Aj keď sú somatické bunky prirodzenou súčasťou mlieka ich počet sa výrazne zvyšuje v dôsledku intramamárnej infekcie (Matuozzo et al., 2020). Aj naše výsledky preukázali, že prítomnosť patogénu mal štatistický významný vplyv na SSB (Tab. 1), pričom bakteriologicky pozitívne vzorky boli spojené s vyšším SSB v porovnaní so vzorkami bez patogénu. Tvarožková et al. (2023) taktiež zistili vyššie SSB v prítomnosti patogénu ($7,48 \pm 0,11$) ako bez patogénu ($7,16 \pm 0,05$) ($p = 0,0063$) vo vzorkách $s \geq 1000 \times 10^3$ buniek/ml (skupina $s \geq 1000 < 2000 \times 10^3$ buniek/ml a $\geq 2000 \times 10^3$ buniek/ml).

Tabuľka 1 Vplyv prítomnosti patogénu na skóre somatických buniek (SSB)

Skupina	Prítomnosť patogénu	SSB		
		Priemer	Smerodajná odchýlka	Počet (n)
A	bez patogénu	6,76 ^a	0,12	120
B	s patogénom	7,25 ^b	0,23	31

Z celkového počtu vzoriek ($n=159$) pre identifikáciu patogénov bolo 32 vzoriek pozitívnych, pričom bolo identifikovaných 34 patogénov (2 vzorky obsahovali dva rôzne druhy baktérií). Ako kontaminované boli označené 3 vzorky (Tab. 2). Najčastejšími bakteriálnymi izolátmi boli baktérie rodu *Staphylococcus* (*S.*), pričom KNS ($n = 29/34$) boli najčastejšie identifikovanými pôvodcami mastitíd u kôz s dominantnou prevalenciou druhov *S. epidermidis* (32,4 %) a *S. caprae* (23,5 %) (Tab. 2). *S. epidermidis* bol dominantným druhom izolovaným z kozieho mlieka aj v štúdií Moroni et al. (2005). Vysoká miera prevalence *S. epidermidis* ako dominantného druhu KNS spôsobujúceho najmä subklinickú formu mastitídy u oviec bola popísaná v rôznych krajinách sveta a zhrnutá v rozsiahlom prehľadovom článku. Záverom tohto článku autori vyjadrujú obavy nad zoonotickým potenciálom tohto patogénu v súvislosti

s krížovou kontamináciou medzi ľuďmi a zvieratami (Lysitsas et al., 2023). Potencionálne zdravotné riziko pre konzumentov predstavuje aj vysoká miera prevalence *S. aureus*, ktorá je spojená s tvorbou enterotoxínov (Shalaby et al., 2024). Z našich výsledkov vyplýva, že v bakteriologicky pozitívnych vzorkách mal *S. aureus* minoritné zastúpenie, čo je pozitívne, keďže podľa vyššie uvedeného prehľadového článku sumarizujúceho 24 štúdií bola najvyššia prevalencia *S. aureus* produkujúceho toxíny zaznamenaná v roku 2001 až 2010 v Európe práve v kozom mlieku (Shalaby et al., 2024).

Po druhoch *Staphylococcus* boli druhými najčastejšie izolovanými patogénmi spôsobujúcimi mastitídu u kôz druhu *Streptococcus* (*Str.*) s prevalenciou od 3 % do 10 % (Moroni et al., 2005; Marogna et al., 2012; Gelasakis et al., 2016), čo je v súlade s našimi výsledkami (n = 3/31; 9,7 %). V dvoch vzorkách sme identifikovali dva druhy patogénov *Str. pluramimalium* spolu so *S. epidermidis*. *Str. pluramimalium* bol vyizolovaný aj vo vzorkách ovčieho mlieka (Tvarožková et al., 2020).

Tabuľka 2 Prevalencia najčastejších patogénov spôsobujúcich mastitídu u kôz identifikovaných pomocou prístroja MALDI TOF MS

Všetky vzorky (n)	159
Počet vzoriek so stanoveným PSB	151
Negatívne vzorky (n)	124 (77,98 %)
Pozitívne vzorky (n)	32 (20,13 %)
Kontaminované vzorky (n)	3 (1,89 %)
<i>S. caprae</i>	8 (23,5 %)
<i>S. epidermidis</i>	11 (32,4 %)
<i>S. warneri</i>	1 (2,9 %)
<i>S. capitis</i>	1 (2,9 %)
<i>S. scoriio</i>	1 (2,9 %)
<i>S. petrasii</i>	1 (2,9 %)
<i>S. chromogenes</i>	2 (5,6 %)
<i>S. arlettae</i>	3 (8,8 %)
<i>S. horminis</i>	1 (2,9 %)
<i>S. aureus</i>	1 (2,9 %)
<i>Str. pluramimalium</i>	2 (5,6 %)
<i>Str. dysgalactiae</i>	1 (2,9 %)
Neidentifikované	1 (2,9 %)

ZÁVER

Prítomnosť patogénu mala štatistický významný vplyv na SSB, pričom bakteriologicky pozitívne vzorky boli spojené s vyšším SSB v porovnaní so vzorkami bez prítomnosti patogénu. KNS boli najčastejšie identifikovanými pôvodcami mastitíd u kôz s dominantnou prevalenciou druhov *S. epidermidis* (32,4 %) a *S. caprae* (23,5 %). Pravidelný monitoring PSB v kozom mlieku spolu s bakteriologickou kultiváciou vzoriek mlieka sú účinným nástrojom pre posúdenie zdravotného stavu vemien kôz v stáde.

LITERATÚRA

- Albenzio, M., Santillo, A., Kelly, A. L., Caroprese, M., Marino, R., Sevi, A. 2015. Activities of indigenous proteolytic enzymes in caprine milk of different somatic cell counts. In *Journal of Dairy Science*, vol. 98, no. 11, pp. 7587-7594. Dostupné na: <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9762>
- Čobirka, M., Tančin, V., Slama, P. 2020. Epidemiology and classification of mastitis In. *Animals*, vol.10, no.12, pp. 2212. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/ani10122212>
- Gancárová, B., Tančin, V., Tvarožková, K., Uhrinčať, M., Mačuhová, L., Vršková, M., Kopec, T. 2023. Počet somatických buniek a ich vplyv na zloženie kozieho mlieka. In: *Hygiena alimentorum XLIII*. Košice: Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, s. 271-278. ISBN 978-80-8077-787-6.
- 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*, vol. 99, no. 5, pp. 3698-3708. Dostupné na: <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10694>
- Lysitsas, M., Spyrou, V., Billinis, CH., Vallakos, G. 2023. Coagulase-Negative Staphylococci as an Etiologic Agent of Ovine Mastitis, with a Focus on Subclinical Forms. In *Antibiotics*, vol. 12, pp. 1661. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/antibiotics12121661>
- 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*, vol. 102, no. 1, pp. 74-83. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.08.013>
- Marnet, P. G., Delattre, L., Delouard, J. M., Luginbühl, T., Laluque, T., Martin, P., Coquireau, G. 2024. High-precision scanning system for complete 3D goat udder and teat imaging, and analysis of morphological traits. In *Small Ruminants Research*, vol. 231, pp. 107194. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2023.107194>
- Matuozzo, M., Spagnuolo, M. S., Hussein, H. A., Gomaa, A. M., Scaloni, A., D'Ambrosio, C. 2020. Novel Biomarkers of Mastitis in Goat Milk Revealed by MALDI-TOF-MS-Based Peptide Profiling. In *Biology*, vol. 9, no. 8, pp. 2-21. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/biology9080193>
- Moroni, P., Pisoni, G., Ruffo, G., Boettcher, P.J. 2005. Risk factors for intramammary infections and relationship with somatic-cell counts in Italian dairy goats. In *Preventive Veterinary Medicine*, vol. 69, no. 3-4, pp. 163-173. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2004.10.013>
- Shalaby, M., Reboud, J., Forde, T., Zadoks, R. N., Busin, V. 2024. Distribution and prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins in raw ruminants' milk: A systematic review. In *Food Microbiology*, vol. 118, pp. 104405. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2023.104405>
- Silanikove, N., Merin, U., Leitner, G. 2014. On effects of subclinical mastitis and stage of lactation on milk quality in goats. In *Small Ruminant Research*, vol. 122, no. 1-3, pp. 76-82. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.07.018>
- Silanikove, N., Leitner, G., Merin, U. 2016. Influence of Animal Health, Breed, and Diet on Non-cow Milk Composition. In Non-bovine milk and milk products, pp. 61-79. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803361-6.00004-1>
- 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*, vol. 89, no. 2-3, pp. 110-124. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.12.033>
- Tvarožková, K., Tančin, V., Uhrinčať, M., Oravcová, M., Hleba, L., Gancárová, B., Mačuhová, L., Ptáček, M., Marnet, P-G. 2023. Pathogens in milk of goats and their relationship with somatic cell count. In: *Journal of Dairy Research*, vol. 90, no. 2, pp. 1-5. Dostupné na: <https://doi.org/10.1017/S0022029923000237>
- Tvarožková, K., Tančin, V., Uhrinčať, M., Hleba, L., Mačuhová, L. 2020. Mastitis pathogens and somatic cell count in ewes milk. In *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 20, pp. 164-169. Dostupné na: <https://doi.org/10.5219/1338>
- Zazharska, N., Fotina, T., Yatsenko, I., Arsenko, L., Biben, I., Zazharskyi, V., Brygydyrenko, V., Sklyarov, P. 2021. Comparative analysis of the criteria for goat milk assessment in Ukraine and France. In *Ukrainian Journal of Ecology*, vol. 11, no. 2, pp. 144-148. Dostupné na: <https://www.ujecology.com/articles/comparative-analysis-of-the-criteria-for-goat-milk-assessment-in-ukraine-and-france.pdf>

Pod'akovanie: Táto publikácia bola podporená projektom APVV-21-0134 „Subklinické mastitídy v chovoch bahníc a kôz: patogény, somatické bunky a morfológia vemená“, 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

VPLYV POČTU SOMATICKÝCH BUNIEK, ŠTÁDIA LAKTÁCIE A PORADIA VSTUPU DO DOJÁRNE NA MNOŽSTVO A ZLOŽENIE OVČIEHO MLIEKA

THE EFFECT OF SOMATIC CELL COUNT, STAGE OF LACTATION AND ORDER OF ENTRY INTO THE PARLOUR ON THE QUANTITY AND COMPOSITION OF OWINE MILK

Lucia Mačuhová, Vladimír Tančín, Juliana Mačuhová, Barbora Gancárová, Kristína Tvarožková, Martina Vršková, Michal Uhrinčat'

Abstract: The effect of the evaluated parameters (somatic cell count, stadium of lactation, and order of entry into the milking parlour) on milk yield and milk composition (content of lactose, fat, and protein, non-fat dry matter (%)) were evaluated in Slovak dairy sheep on one farm. During lactation, 5 measurements were taken (March - 1. measurement (N = 95), April - 2. measurement (N = 91), May - 3. measurement (N = 94), June - 4. measurement (N = 96), July - 5. measurement (N = 96)). Milk samples were divided into three groups on the basis of SCC: $SCC \leq 100\ 000$, $SCC = 100\ 000-300\ 000$, $SCC \geq 300\ 000$ cells/mL. Moreover, ewes were selected on the basis of the group number (1., 2., 3., 4., 5. batch; 1 batch = maximal 20 pieces,) they entered the milking parlour. The significant effect of stadium of lactation was observed on milk yield, percentage of fat, protein, lactose, and solids not fat ($P < 0.0001$; resp.). Milk yield decreased and percentage of solids not fat increased with advancing stadium of lactation. The order of entry into the milk parlour had significant effect on all evaluated parameters except milk yield. No significant differences ($P > 0.05$) were observed between group of SCC.

Keywords: sheep, milk composition, milk yield, somatic cell count

ÚVOD

Na množstvo vydojeného mlieka môže vplyvať viacero faktorov (štádium laktácie, poradie laktácie, poradie vstupu do dojárne, zdravotný stav vemena, plemeno, výživa). V tejto štúdií sme sa zamerali iba na niektoré z nich. Z viacerých štúdií vyplýva, že poradie vstupu dojných zvierat do dojárne nemusí byť náhodné, a to nie len pri ovciach (Mačuhová et al., 2017) ale aj pri kozách (Margetínová et al., 2002; Villagrà et al., 2007) a kravách (Stefanowska et al., 2000). Zmena poradia vstupu zvierat do dojárne môže byť spojená so zmenou zdravotného stavu dojeného zvierat alebo zmenenými podmienkami dojenia (Tančín et al., 2001; Polikarpus et al., 2015). Zvieratá so zhoršeným zdravotným stavom (s mastitídou alebo krívajúce) zvyknú chodiť na dojenie neskôr ako zvyčajne. Narušený welfare zvierat (stres alebo bolesť) sa môže odzrkadliť na zníženej produkcii zvierat (Mačuhová et al., 2002).

Počet somatických buniek (PSB) sa používa na identifikovanie infikovanej a neinfikovanej mliečnej žľazy a na monitorovanie zdravotného stavu vemena zvierat (Schukken et al., 1992). Olechnowicz et al. (2010) a Sutera et al. (2018) zistili zníženú produkciu mlieka spojenú s vysokým počtom somatických buniek zistených v mlieku.

Cieľom tejto práce bolo zistiť, či má PSB, štádium laktácie a poradie vstupu do dojárne vplyv na množstvo vydojeného mlieka a jeho zloženie.

MATERIÁL A METODIKA

Do pokusu boli zaradené zvieratá plemena Slovenská dojná ovca (na prvej až piatej laktácii) s nasledovným počtom zvierat v jednotlivých mesiacoch laktácie: 1. meranie (marec) – 95 ks, 2. meranie (apríl) – 91 ks, 3. meranie (máj) 94 ks, 4. meranie (jún) – 96 ks a 5. meranie (júl) 94 ks. Merania a odber vzoriek mlieka sa uskutočnili počas ranných dojení. Prvé meranie

sa uskutočnilo na 26±5. deň laktácie. Zloženie mlieka sa zisťovalo (obsah tuku, bielkovín, laktózy, sušiny a beztukovej sušiny (%)) pomocou prístroja MilkoScan FT120 (Foss, Hillerød, Dánsko). PSB sa zisťoval prístrojom Somacount 150 (Bentley Instruments, Inc, Chaska, Minesota). Na základe PSB boli vzorky mlieka rozdelené do troch skupín: PSB ≤100 000, PSB =100 000-300 000, PSB ≥300 000 buniek/mL. Ďalej boli zvieratá rozdelené do piatich skupín (1., 2., 3., 4., 5) podľa poradia obrátky, v ktorej vstupovali na dojenie.

Ovce boli dojené v dojárni 1x20 s jednou dojacou jednotkou pre 2 dojné miesta. Dojací stroj bol nastavený na 160 pulzácií za minútu v pomere 50:50 s úrovňou podtlaku 39 kPa. Počas každého dojenia dostala každá bahnica v dojárni 0,1 kg koncentráta. Bahnice sa dojili dvakrát denne o 8:00 a 20:00 bez akejkoľvek prípravy vemena. Na konci dojenia sa vykonalo strojové dodávanie.

Štatistické vyhodnotenie údajov bolo vykonané v programe SAS®9.4 použitím zmiešaného lineárneho modelu (pomocou procedúry MIXED) a následne Tukeyho post hoc testu pri viacnásobnom porovnaní. Ako pevné faktory boli do modelu zahrnuté mesiace laktácie, poradie vstupu do dojárne a PSB. Ako náhodný efekt bol do modelu zahrnutý vplyv zvierat'a. Hladina významnosti bola zvolená na $P < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vplyv štádia laktácie sa signifikatne prejavil na množstve získaného mlieka, ako aj na jeho zložení (Tabuľka 1). Nádoj sa s narastajúcim štádiom laktácie znižoval (z 895 mL – 1. meranie na 413 mL – 5. meranie). Podobne ako aj v iných štúdiách a iných plemenách bol zistený pokles produkcie mlieka v neskorších štádiách laktácie (Casu et al., 2008; Kuchtik et al., 2009; Tančin et al., 2011; Mačuhová et al., 2012). Najnižšie percentuálne zastúpenie tuku, bolo zistené pri 1. meraní (5,54 %). Avšak najvyššie zastúpenie tuku (8,03 %), bielkovín (5,85 %) a beztukovej sušiny (11,33 %) bolo zistené pri 5. meraní – v neskorom štádiu laktácie.

Tabuľka 1 Vplyv štádia laktácie na množstvo a zloženie ovčieho mlieka

Poradie merania	1. meranie	2. meranie	3. meranie	4. meranie	5. meranie	P
Nádoj, mL	895,08 ± 29,57 ^a	740,33 ± 30,12 ^a	756,66 ± 29,89 ^b	524,81 ± 29,90 ^c	412,99 ± 29,51 ^d	<0,0001
Tuk, %	5,54±0,12 ^a	6,40±0,12 ^a	5,62±0,12 ^b	6,80±0,12 ^c	8,03±0,12 ^d	<0,0001
Bielkoviny, %	4,87±0,06 ^{ab}	4,92±0,06 ^a	4,77±0,06 ^b	5,61±0,06 ^c	5,85±0,06 ^d	<0,0001
Laktóza, %	5,04±0,03 ^a	4,92±0,03 ^b	4,94±0,03 ^b	4,68±0,03 ^c	4,60±0,03 ^d	<0,0001
Beztuková sušina, %	10,72±0,06 ^a	10,66±0,07 ^b	10,51±0,07 ^{ab}	11,15±0,07 ^c	11,33±0,06 ^d	<0,0001

^{a, b, c, d} Priemery v tom istom riadku s nerovnakými písmenami sa od seba odlišujú na úrovni $P < 0,05$.

Ako už bolo spomenuté, z rôznych výskumov vieme, že poradie vstupu do dojárne pri bahniciach nemusí byť náhodné (Keszthelyi a Maros, 1992; Wasilewski, 1999; Villagrá et al., 2007; Antonič et al., 2012). Viaceré štúdie dokazujú, že zvieratá vstupujúce do dojárne na dojenie medzi prvými mali väčšiu produkciu mlieka ako tie, ktoré vstupovali do dojárne ako posledné (Margetínová et al., 2002, 2019; Górecki a Wojtowski, 2004; Grasso et al., 2007). Poradie vstupu do dojárne nemalo signifikantný vplyv na nádoj (Tabuľka 2). Avšak preukazný vplyv bol zistený pri všetkých hodnotených parametroch zloženia mlieka. Najnižšie percentuálne zastúpenie tuku, bielkovín, laktózy a aj beztukovej sušiny bolo zistené pri zvieratách dojených v 1. obrátke. Zatiaľ, čo pri obsahu tuku, laktózy a beztukovej sušiny nebol pozorovaný žiadny signifikantný rozdiel medzi ostatnými obrátkami (t.j. obrátkami 2. až 5.), pri obsahu bielkovín bol pozorovaný signifikantný rozdiel aj medzi 2. a poslednou obrátkou.

Tabuľka 2 Vplyv poradie vstupu do dojárne (poradie obrátky) na množstvo a zloženie ovčieho mlieka

Obrátka	1.	2.	3.	4.	5.	P
Nádoj, mL	682,6±33,39	662,37±31,40	662,67±30,77	659,63±30,97	662,60±34,75	0,9226
Tuk, %	5,98±0,14 ^a	6,44±0,13 ^b	6,46±0,13 ^b	6,78±0,13 ^b	6,72±0,15 ^b	<0,0001
Bielkoviny, %	4,94±0,07 ^a	5,15±0,06 ^b	5,32±0,06 ^{bc}	5,32±0,06 ^{bc}	5,84±0,06 ^c	<0,0001
Laktóza, %	4,68±0,03 ^a	4,91±0,03 ^b	4,87±0,03 ^b	4,88±0,03 ^b	4,85±0,04 ^b	<0,0001
Beztuková sušina, %	10,43±0,08 ^a	10,88±0,07 ^b	10,94±0,07 ^b	11,05±0,07 ^b	11,07±0,07 ^b	<0,0001

^{a, b, c} Priemery v tom istom riadku s nerovnakými písmenami sa od seba odlišujú na úrovni P<0,05.

Nakoľko zvieratá chované na tejto farme mali počas našich meraní veľmi nízky PSB a množstvo zvierat s PSB vyšším ako 300 000 buniek/mL bolo nízke, zvieratá boli rozdelené do skupín podľa PSB (Tabuľka 3) prísnejšie ako v iných štúdiách (Martí de Olives et al., 2015; Baranovič et al., 2018; Sutera et al., 2018). Napriek tomu, sa nezistili žiadne významné rozdiely medzi hodnotenými skupinami v zložení mlieka a ani v jeho množstve.

Tabuľka 3 Vplyv počtu somatických buniek (PSB) na množstvo a zloženie ovčieho mlieka

PSB, skupina	≤ 100 000	100 000 - 300 000	≥ 300 000	P
Nádoj, mL	675,87±26,91	661,18±31,38	660,88±39,11	0,7190
Tuk, %	6,39±0,08	6,55±0,14	6,48±0,17	0,4556
Bielkoviny, %	5,13±0,04	5,24±0,06	5,24±0,08	0,0983
Laktóza, %	4,87±0,02	4,83±0,03	4,81±0,04	0,1521
Beztuková sušina, %	10,83±0,05	10,91±0,08	10,88±0,10	0,4570

ZÁVER

Na záver môžeme konštatovať, že z hodnotených parametrov, štádium laktácie malo vplyv na množstvo získaného mlieka ako aj na jeho zloženie. Poradie vstupu do dojárne ovplyvnilo len zloženie mlieka a PSB nemal vplyv na množstvo a ani na zloženie mlieka, čo zrejme ovplyvnil fakt, že táto štúdia prebiehala na farme s veľmi dobrým zdravotným stavom zvierat.

LITERATÚRA

- Antonič J., Tančinová D., Uhrinčať M., Tančin V. 2012. Effect of order of sheep entry into milking parlour on udder health and milk composition. In *Xenobiotics*. Rzeszów: Wydawnictwo Uniwersytetu Rzeszowskiego, 2012, pp. 61-69. ISBN 978-83-7338-785-0.
- Baranovič Š., Tančin V., Tvarožková K., Uhrinčať M., Mačuhová M., Palkovič J. 2018. Impact of somatic cell count and lameness on the production and composition of ewe's milk. In *Potravinárstvo Slovak J Food Sci.* 12: 116-122. <https://doi.org/10.5219/900>
- Casu S., Marie-Etancelin C., Robert-Granié C., Barillet F., Carta A. 2008. Evolution during the productive life and individual variability of milk emission at machine milking in Sardinian x Lacaune back-cross ewes. In *Small Rumin. Res.* 75: 7-16. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2007.07.003>
- Gorecki M. T., Wojtowski J. 2004. Stability of milking order in goat over a long period (short communication). In *Archiv Tierzucht.* 47: 203-208. <https://doi.org/10.5194/aab-47-203-2004>
- Grasso F., De Rosa G., Napolitano F., Di Francia A., Bordi A. 2007. Entrance order and side preference of dairy cows in the milking parlour. In *Ital. J. Anim. Sci.* 6: 187-194. <https://doi.org/10.4081/ijas.2007.187>
- Keszthelyi T., Maros K. 1992. Moving order in different group sizes of milking ewes. In *Appl. Anim. Behav. Sci.* 35: 181-188. [https://doi.org/10.1016/0168-1591\(92\)90008-y](https://doi.org/10.1016/0168-1591(92)90008-y)
- Kuchtik J., Pokorna M., Sustova K., Luzova T., Filipcik R. 2009. Effect of stage of lactation on composition and quality of organic milk of ewes crossbreeds of Lacaune, East Friesian and Improved Wallachian. Book of abstract

of the 60th annual meeting of the European association for animal production, Barcelona, Spain, 24 – 27 August 2009, p. 471.

Mačuhová J., Tančin V., Kraetzl W. D., Meyer H. H. D., Bruckmaier R. M. 2002. Inhibition of oxytocin release during repeated milking in unfamiliar surroundings: the importance of opioids and adrenal cortex sensitivity. In *J. Dairy Res.* 69: 63-73. <https://doi.org/10.1017/s0022029901005222>

Mačuhová L., Tančin V., Uhrinčať M., Mačuhová J. 2012. The level of udder emptying and milk flow stability in Tsigai, Improved Valachian, and Lacaune ewes during machine milking. In *Czech J. Anim. Sci.* 57: 240-247. <https://doi.org/10.17221/5922-cjas>

Mačuhová L., Tančin V., Mačuhová J., Uhrinčať M., Hasoňová L., Margetinová J. 2017. Effect of ewes entry order into milking parlour on milkability and milk composition. In *Czech J. Anim. Sci.* 62: 392-402. <https://doi.org/10.17221/11/2016-cjas>

Margetinová J., Fľak P., Polen, D., 2002. Vplyv poradia veku a plemennej príslušnosti na poradie vstupu oviec do dojárne. In *J. Farm. Sci.* 35: 265-271.

Margetinová J., Oravcová M., Uhrinčať M. 2019. Influence of ewe entry order into milking parlour on morning milk yield with respect to ewe age and year of measurement. In *Slovak J. Anim. Sci.* 52: 127-133.

Martí-De Olives A., Navarro-Ríos M. J., Alemán J. R., Fernández N., Molina M. P. 2015. Composition, proteolysis indices and coagulating properties of ewe milk as affected by bulk tank somatic cell count. In *J. Dairy Res.* 82: 344-349. <https://doi.org/10.1017/s0022029915000394>

Olechnowicz J., Sobek Z., Jaśkowski J., Antosik P., Bukowska D. 2010. Connection of somatic cell count and milk yield as well as composition in dairy ewes. In *Archiv Tierzucht.* 53: 95-100. <https://doi.org/10.5194/aab-53-95-2010>

Polikarpus A., Kaart T., Mootse H., De Rosa G. 2015. Influences of various factors on cow's entrance order into the milking parlour. In *Appl. Anim. Behav. Sci.* 166: 20-24. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2015.02.016>

Schukken, Y. H., Leslie, K. E., Weersink, A., Martin, S. W. 1992. Ontario bulk milk somatic cell count reduction program. 1. Impact on somatic cell counts and milk quality. In *J. Dairy Sci.*, 75(12): 3352-3358. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)78111-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)78111-9)

Stefanowska J., Plavsic M., Ipema A. H., Hendriks M. M. W. B. 2000. The effect of omitted milking on the behaviour of cows in the context of cluster attachment failure during automatic milking In *Appl. Anim. Behav. Sci.* 67: 277-291. [https://doi:10.1016/S0168-1591\(00\)00087-3](https://doi:10.1016/S0168-1591(00)00087-3)

Sutera A. M., Portolano B., Di Gerlando R., Sardina M. T., Mastrangelo S., Tolone M. 2018. Determination of milk production losses and variations of fat and protein percentages according to different levels of somatic cell count in Valle del Belice dairy sheep. In *Small Rumin. Res.* 162: 39-42. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.03.002>

Tancin V., Kraetzl W. D., Schams D., Bruckmaier R. M. 2001. The effects of conditioning to suckling, milking and of calf presence on the release of oxytocin in dairy cows. In *Appl. Anim. Behav. Sci.* 72: 235-246. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(01\)00113-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(01)00113-7)

Tancin V., Macuhova L., Oravcova M., Uhrincať M., Kulinova K., Roychoudhury S. H., Marnet P. G. 2011. Milkability assessment of Tsigai, Improved Valachian, Lacaune and F1 Crossbred ewes (Tsigai × Lacaune Improved Valachian × Lacaune) throughout lactation. In *Small Rumin. Res.* 97: 28-34 <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.01.007>

Villagrà A., Balasch S., Peris C., Torres A., Fernández N. 2007. Order of sheep entry into the milking parlour and its relationship with their milkability. In *Appl. Anim. Behav. Sci.* 108: 58-67. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2006.11.016>

Wasilewski A. 1999. Demonstration and verification of a milking order in dairy sheep and its extent and consistency. In *Appl. Anim. Behav. Sci.* 64: 111-124. [https://doi.org/10.1016/s0168-1591\(99\)00032-5](https://doi.org/10.1016/s0168-1591(99)00032-5)

Pod'akovanie: Táto publikácia vznikla vďaka podpore Agentúry na podporu výskumu a vývoja č. APVV-21-0134 „Subklinické mastitídy v chove bahnic a kôz: patogény, somatické bunky a morfológia vemená“ a riešením projektu VEGA 1/0597/22 “Etiológia zmien počtu somatických buniek v mliečnej žľaze kôz: fyziologické a patologické aspekty” a projektu

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

Míchal Uhrinčať, NPPC – Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky

Martina Vršková, Ing. PhD., NPPC-Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 95141 Lužianky

Juliana Mačuhová, Institute for Agricultural Engineering and Animal Husbandry, Vöttinger Str. 36, 85354 Freising, Germany
Barbora Gancárová, SPU – FAPZ, Ústav chovu zvierat, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra
Kristína Tvarožková, SPU – FAPZ, Ústav chovu zvierat, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

HODNOTENIE KVALITATÍVNYCH UKAZOVATEĽOV OVČIEHO MLIEKA S DÔRAZOM NA POČET SOMATICKÝCH BUNIEK EVALUATION OF SHEEP MILK QUALITATIVE TRAITS WITH RESPECT TO SOMATIC CELL COUNT

Marta Oravcová, Lucia Mačuhová, Martina Vršková, Vladimír Tančín

Abstract: The objective of this study was to characterize relationships between milk traits (fat, protein and lactose percentages) with respect to somatic cell count (SCC) in ewes kept in a farm located in the central Slovakia. A total, 2,159 records of 534 primiparous ewes were included. Ewes were purebred Tsigai (268 heads), Lacaune (154 heads), and their crosses (112 heads). Five SCC classes were formed: (1) $\leq 200 \times 10^3$ SC.ml⁻¹ (1,404 records), (2) $> 200 \times 10^3$ and $\leq 400 \times 10^3$ SC.ml⁻¹ (321 records), (3) $> 400 \times 10^3$ and $\leq 600 \times 10^3$ SC.ml⁻¹ (109 records), (4) $> 600 \times 10^3$ and $\leq 1 \times 10^6$ SC.ml⁻¹ (105 records) and (5) $> 1 \times 10^6$ SC.ml⁻¹ (220 records). Least squares means were: 7.515 \pm 0.042, 7.359 \pm 0.068, 7.594 \pm 0.106, 7.921 \pm 0.108 and 7.820 \pm 0.080 (fat percentage); 5.830 \pm 0.024, 5.686 \pm 0.035, 5.834 \pm 0.053, 5.978 \pm 0.054 and 6.007 \pm 0.041 (protein percentage); 4.673 \pm 0.010, 4.647 \pm 0.017, 4.613 \pm 0.026, 4.563 \pm 0.027 and 4.541 \pm 0.020 (lactose percentage). The increase of SCC caused the increase of fat and protein percentages and the decrease of lactose percentage. Fat percentage was of more fluctuating trend than protein percentage. Fat percentage significantly differed between class (1) and classes (4) and (5) and between class (2) and classes (4) and (5); protein percentage significantly differed between class (1) and classes (2) and (5) and between class (2) and classes (4) and (5); lactose percentage significantly differed between classes (1) and (5) and (2) and (5). Somatic cell count is an indicative parameter of milk hygiene and mammary gland health; its detection enables to (1) improve milk safety/quality and (2) to find infected ewes and prevent them from spreading the disease. It is therefore important to continue research this way in the future.

Keywords: primiparous ewes, fat, protein, lactose percentages, somatic cell count

ÚVOD

Chov oviec má na Slovensku dlhú tradíciu. S cieľom udržať toto odvetvie konkurencieschopným, chovatelia kladú dôraz na produkciu kvalitného a zdravotne bezpečného mlieka, čo je dôležité pre ekonomickú rentabilitu a zisk (Leitner et al., 2015). Podľa autorov Gonzalo et al. (1994) a Albenzio et al. (2019) medzi parametre, na základe ktorých možno hodnotiť bezpečnosť a kvalitu mlieka, patrí počet somatických buniek (PSB). Somatické bunky sú bunky imunitného systému (prirodzeného obranného mechanizmu); zahŕňujú leukocyty, makrofágy a polymorfonukleové bunky. Predstavujú obrannú reakciu bahnice na napadnutie vemena infekčnými mikroorganizmami, čo označujeme ako mastitída mliečnej žľazy. Podmieňuje ju celý rad faktorov na úrovni zvierat'a i prostredia (Park et al., 2013). Všeobecne je akceptovaný názor, že PSB v mliečnej žľaze zdravých oviec je vyšší ako v mliečnej žľaze zdravých dojníc (Silanikove et al., 2010). Na rozdiel od dojníc, limity PSB pre rozlíšenie zdravej a infikovanej mliečnej žľazy oviec a kôz boli podľa našich zistení stanovené iba v USA (1 mil. SB ml⁻¹ pre obe kategórie), ako uvádzajú Paape et al. (2001) a v Izraeli (2,5 mil. SB.ml⁻¹ pre ovce, 3 mil. SB.ml⁻¹ pre kozy), ako uvádzajú Leitner et al.(2015). Jaeggi et al. (2003) dospeli k poznaniu, že vyšší PSB má negatívny vplyv na zloženie mastných kyselín v mliečnom tuku, chuť a textúru ovčích syrov. Podľa ich odporúčenia by PSB nemal prekročiť hodnotu 1×10^6 v 1 ml mlieka, prihliadnuc aj na udržanie dobrého stavu bahníc a hygieny.

V poslednom období sa problematike vzťahov medzi PSB a ukazovateľmi mliekovej úžitkovosti oviec venovalo na Slovensku viac prác (Tančin et al., 2017; Tvarožková et al., 2019; Mačuhová et al., 2023). Prezentovaný výskum, ktorého cieľom bolo zhodnotiť obsah tuku, bielkovín a laktózy s dôrazom na vplyv PSB, preto treba chápať ako príspevok k ďalšiemu rozširovaniu poznania v tejto oblasti (v tom zahrnúť i tvorbu príslušnej legislatívy).

MATERIÁL A METODIKA

Analyzovali sme 2 159 záznamov o obsahu tuku, bielkovín a laktózy v mlieku bahníc plemien cigája (268 ks), resp. lacaune (154 ks) a ich kríženiak (112 ks) produkujúcich na farme stredného Slovenska v rokoch 2019 až 2022. Do analýzy sme zaradili bahnice-prvôstky, priemerný počet meraní pripadajúci na 1 bahnicu bol 4,5 (rozpätie dve až šesť meraní). Vzorky boli odoberané jedenkrát mesačne a vyhodnotené certifikovaným laboratóriom PS SR, š.p.; bahnice sa obahnili počas dvojmesačného intervalu, t.j. nachádzali sa v cca rovnakom štádiu laktácie, na mesiac laktácie a mesiac merania sme nazerali ako na prekrývajúce sa a považovali sme ich za spoločný faktor. Vytvorili sme päť skupín PSB: (1) $\leq 200 \times 10^3$, (2) $> 200 \times 10^3$ a $\leq 400 \times 10^3$, (3) $> 400 \times 10^3$ a $\leq 600 \times 10^3$, (4) $> 600 \times 10^3$ a $\leq 1 \times 10^6$ a (5) $> 1 \times 10^6$ v ml ovčieho mlieka.

Faktory ovplyvňujúce premenlivosť sledovaných ukazovateľov sme skúmali pomocou procedúry MIXED (SAS Studio 3.8, 2022). S prihliadnutím na štruktúru údajov sme použili modelovú rovnicu:

$$y_{ijklmn} = \mu + T_i + M_j + R_k + T_l + u_m + e_{ijklmn}$$

kde:

y_{ijklm} - obsah tuku, bielkovín a laktózy v %

μ - priemer

T_i - pevný faktor skupiny PSB; $\sum_i T_i = 0$

M_j - pevný faktor mesiaca; $\sum_j M_j = 0$

R_k - pevný faktor roku; $\sum_k R_k = 0$

P_l - pevný faktor plemena; $\sum_l P_l = 0$

u_m - náhodný faktor bahnice; $u_m \sim N(0, I\sigma_u^2)$

e_{ijklmn} - náhodná chyba; $e_{ijklmn} \sim N(0, I\sigma_e^2)$

Pevné faktory boli odhadnuté metódou najmenších štvorcov (Fisherov F-testu). Významnosť rozdielov medzi ich jednotlivými úrovňami bola posúdená Scheffeho testom mnohonásobných porovnaní.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Mlieková úžitkovosť bahníc charakterizovaná aritmetickým priemerom a smerodajnou odchýlkou bola nasledujúca: (1) obsah tuku: $7,839 \pm 1,399$ %; (2) obsah bielkovín $5,919 \pm 0,682$ %; (3) obsah laktózy: $4,667 \pm 0,385$ % a PSB: $637,7 \pm 2\,055,26 \times 10^3$ v ml mlieka. Pevné faktory, o ktorých sme predpokladali, že majú vplyv na premenlivosť analyzovaných ukazovateľov, boli predbežne posudzované jednofaktorovými analýzami rozptylu (procedúra GLM, SAS Studio 3.8, 2022). Pri spoločnej analýze sa vplyv týchto faktorov preukázal ako štatisticky vysoko významný ($P < 0,01$), s výnimkou vplyvu plemena na obsah tuku ($P = 0,0455$) a laktózy ($P > 0,05$). V súlade s cieľom práce v ďalšom texte podrobnejšie analyzujeme premenlivosť obsahu tuku, bielkovín a laktózy s dôrazom na vplyv počtu somatických buniek (PSB).

Najvyšší podiel vzoriek bol zaznamenaný v prvej skupine PSB ($\leq 200 \times 10^3$ SB.ml⁻¹) t.j. 65 %, 15 % vzoriek bolo zastúpených v druhej skupine PSB ($> 200 \times 10^3$ a $\leq 400 \times 10^3$ SB.ml⁻¹), v tretej a štvrtej skupine PSB bol podiel vzoriek najnižší (v oboch po 5 %), v piatej skupine

PSB ($>1 \times 10^6$ SB.ml⁻¹) bol opätovne vyšší (10 %). V tabuľke 1 uvádzame odhadnuté priemery obsahu tuku, bielkovín a laktózy v závislosti od PSB. V súlade s doterajšími poznatkami (Olechnowicz et al., 2009) sa vo vzťahu k zvyšujúcemu sa PSB v mlieku bahníc viac-menej potvrdil trend zvyšovania obsahu tuku a bielkovín (pri porovnaní skupín s nižším a vyšším PSB) a trend jednoznačného poklesu obsahu laktózy. Obsah tuku sa zvýšil z $7,515 \pm 0,042$ na $7,820 \pm 0,080$ % ($P < 0,01$) medzi skupinou (1) a (5). Oproti predpokladom mal obsah tuku v skupine PSB $>600 \times 10^3$ a $\leq 1 \times 10^6$ byť vyšší ($7,921 \pm 0,108$ %) ako v skupine PSB $>1 \times 10^6$; tento rozdiel nebol štatisticky významný ($P > 0,05$). Obsah bielkovín sa zvýšil z $5,830 \pm 0,024$ na $6,007 \pm 0,041$ % ($P < 0,01$). Výnimkou bol neočakávaný trend medzi skupinou PSB $\leq 200 \times 10^3$ a skupinou PSB $>200 \times 10^3$ a $\leq 400 \times 10^3$, v ktorej bol obsah bielkovín štatisticky významne nižší ($5,686 \pm 0,035$ %, $P < 0,01$).

V súlade so zisteniami autorov Paape et al. (2001) a Jaeggi et al. (2003) by PSB pod hodnotou 1 mil. nemal predstavovať bezpečnostné riziko a nemal by znehodnocovať kvalitu mlieka. Možno potvrdiť, že vzťah medzi PSB a obsahom tuku a bielkovín sa v tejto práci líšil od skôr publikovaných zistení (Olechnowicz et al., 2009; Oravcová et al., 2018) minimálne, aj keď skupiny PSB neboli definované totožne. Podobne kolísavý trend obsahu tuku a bielkovín z hľadiska PSB zistili Jaeggi et al. (2003): obsah tuku a bielkovín bol nižší pri PSB $>1 \times 10^6$ než pri PSB $\leq 100 \times 10^3$ a PSB $>100 \times 10^3$ a PSB $\leq 1 \times 10^6$. Nejednoznačné trendy v obsahu tuku a bielkovín zistili aj Pirisi et al. (2000); nešlo však o štatisticky významné rozdiely ($P > 0,05$).

Pokles obsahu laktózy v závislosti od rastu PSB bol v súlade so zisteniami autorov Pirisi et al. (2000) a Nudda et al. (2001). Pokles obsahu laktózy indikoval narušenie osmotického tlaku, čo malo za následok zníženie prestupu vody a pokles tvorby mlieka (následne sa zvýšil obsah tuku a bielkovín). Podobne ako v tejto práci, rozdiely v obsahu laktózy boli štatisticky významné ($P < 0,01$). V ČR sa zisteniami o negatívnom vzťahu medzi PSB a obsahom mliečnej laktózy nedávno zaoberali Hanuš et al. (2010).

Tabuľka 1 Odhady priemerov a štandardných chýb priemerov pre obsah tuku, bielkovín a laktózy v závislosti od triedy PSB

Trieda PSB (SB* .ml ⁻¹)	Počet	Tuk (%) $\mu \pm s_{\mu}$	Bielkoviny (%) $\mu \pm s_{\mu}$	Laktóza (%) $\mu \pm s_{\mu}$
$\leq 200 \times 10^3$	1 404	$7,515 \pm 0,042^A$	$5,830 \pm 0,024^A$	$4,673 \pm 0,010^A$
$>200 \times 10^3$ a $\leq 400 \times 10^3$	321	$7,359 \pm 0,068^A$	$5,686 \pm 0,035^B$	$4,647 \pm 0,017^A$
$>400 \times 10^3$ a $\leq 600 \times 10^3$	109	$7,594 \pm 0,106^{AB}$	$5,834 \pm 0,053^{ABC}$	$4,613 \pm 0,026^{AB}$
$>600 \times 10^3$ a $\leq 1 \times 10^6$	105	$7,921 \pm 0,180^B$	$5,978 \pm 0,054^{AC}$	$4,563 \pm 0,027^{AB}$
$>1 \times 10^6$	220	$7,820 \pm 0,080^B$	$6,007 \pm 0,041^C$	$4,541 \pm 0,020^B$

*SB – somatické bunky; odhady označené rôznymi písmenami boli štatisticky významné ($P < 0,01$).

ZÁVER

Výsledky naznačili, že na farme bol najvyšší podiel vzoriek v skupine PSB $\leq 200 \times 10^3$ ml⁻¹ s významným poklesom ich podielu až do skupiny PSB $>600 \times 10^3$ a $\leq 1 \times 10^6$ a opätovným zvýšením podielu vzoriek v skupine PSB $\leq 1 \times 10^6$ ml⁻¹. Najviac mlieka pochádzalo od zdravých bahníc; zvýšenie obsahu tuku a bielkovín a zároveň pokles obsahu laktózy v závislosti od rastúceho PSB poukázal na zníženie tvorby mlieka. Mlieko s vysokým PSB od jednej, resp. malého počtu bahníc nemusí mať za následok zvýšenie PSB bazénového mlieka; je však potrebné zabrániť tomu, aby sa infekcia mliečnej žľazy rozšírila a mala negatívny vplyv na množstvo a kvalitu mlieka vyprodukovaného celým stádom. V tejto súvislosti je žiaduce

uvažovať o zahrnutí PSB do kontroly mliekovej úžitkovosti, prípadne o stanovení jeho prípustného limitu pre ovce.

LITERATÚRA

- Albenzio, M., Figliola, L., Caroprese, M., Marino, R., Sevi, A., Santillo, A. 2019. Somatic cell count in sheep milk. In *Small Ruminant Research*, vol. 176, pp. 24-30. Dostupné na <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.05.013>
- Gonzalo, C., Carriedo, J. A., Baro, J. A., San Primitivo, F. 1994. Factors influencing variation of test day milk yield, somatic cell count, fat and protein in dairy sheep. In *Journal of Dairy Science*, vol. 77, no. 6, pp. 1537-1542. Dostupné na [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77094-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77094-6)
- Hanuš, O., Hronek, M., Hyšpler, R., Yong, T., Tichá, A., Fikrová, P., Hanušová, K., Sojková, K., Kopecký, J., Jedelská, R. 2010. Relationship between somatic cell count and lactose content in milk of various species of mammals. In *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, vol. LVIII, no. 2, pp. 87-100.
- Susanne M Jaeggi, Ria Seewer, Arto C Nirkko, Doris Eckstein, Gerhard Schroth, Rudolf Groner, Klemens Gutbrod, 2003. Does excessive memory load attenuate activation in the prefrontal cortex? Load-dependent processing in single and dual tasks: functional magnetic resonance imaging study, *NeuroImage*, Volume 19, Issue 2, Pages 210-225, ISSN 1053-8119, [https://doi.org/10.1016/S1053-8119\(03\)00098-3](https://doi.org/10.1016/S1053-8119(03)00098-3).
- Leitner, G., Lavon, Y., Matzrafi, Z., Benun, O., Bezman, D. 2015. Somatic cell counts, chemical composition and coagulation properties of goat and sheep bulk tank milk. In *International Dairy Journal*, vol. 58, pp. 9-13. Dostupné na <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.11.004>
- Mačuhová, L., Tančin, V., Mačuhová, J., Uhrinčať, M., Gancárová, B. 2023. Vzťah medzi vybranými morfológickými vlastnosťami vemena, kvalitou a kvantitou mlieka pri bahniciach plemena slovenská dojná ovca. In *LII. Lenfeldovy a Hoklovy dny*, 25.-26. října 2023, Brno: Veterinární univerzita, pp. 196-199. ISBN: 978-80-7305-934-7
- Nudda, A., Feligini M., Murgia P., Pulina G., 2001. Relationship between somatic cells count, whey protein and coagulation properties in sheep milk. In: *Proceedings of 14th National ASPA Congress*, 12-15 June 2001, Firenze (Italy), pp. 511-513
- Olechnowicz J., Jaśkowski J.M., Antosik P., Bukowska D., 2009. Milk yield and composition in line 05 dairy ewes as related to somatic cell counts. In *Journal of Animal and Feed Sciences*, vol. 18, pp. 420-428. Dostupné na <https://doi.org/10.22358/jafs/66417/2009>
- Oravcová, M., Mačuhová, L., Tančin, V. 2018. The relationship between somatic cells and milk traits, and their variation in dairy sheep breeds in Slovakia. In *Journal of Animal and Feed Sciences*, vol. 27, no. 2, pp. 9-14. Dostupné na <https://doi.org/10.5219/439>
- 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(E. Suppl.), pp. E237-E244.
- Park, Y.W., Albenzio, M., Sevi, A., Haenlein, G.F.W. 2013. Milk quality standards and controls. In Park, Y.W., Haenlein, G.F.W. (Eds.) *Milk and dairy products in human nutrition: production, composition and health*. Wiley, Oxford, pp. 261-287.
- Pirisi, A., Piredda G., Corna M., Pes M., Pintus S., Ledda A., 2000. Influence of somatic cell count on ewe's milk composition, cheese yield and cheese quality. In *Proceedings of 6th Great Lakes Dairy Sheep Symposium*. Guelph (Canada), pp. 47-59
- Silanikove, N., Leitner, G., Merin, U., Prosser, C.G. 2010. Recent advances in exploiting goat's milk: quality, safety and production aspects. In *Small Ruminant Research*, vol. 89, pp. 110-124. Dostupné na doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.12.033
- SAS Institute Inc. 2022. SAS Studio 3.8. User's Guide, Cary, NC USA
- Tančin, V., Uhrinčať, M., Mačuhová, L., Baranovič, Š., Vršková, M. 2017. Somatic cell count in milk of individual Lacaune ewes under practical conditions in Slovakia: Possible effect on milk yield and its composition. In *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 11, no. 1, pp. 386-390. Dostupné na <https://doi.org/10.5219/767>
- Tvarožková, K., Tančin, V., Uhrinčať, M., Mačuhová, L., Vršková, M., Oravcová, M. 2019. Somatic cell count first and second lactation in ewes. In *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 13, no. 1, pp. 396-401. Dostupné na <https://doi.org/10.5219/1059>

Podakovanie: Práca bola podporená projektami APVV-21-0134, APVV-15-0072 a VEGA 1/0597/22.

Kontaktná adresa: Marta Oravcová, Ing. PhD., Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky

ZHODNOTENIE POČTU SOMATICKÝCH BUNIEK V KOZOM MLIEKU

EVALUATION OF SOMATIC CELLS COUNT IN GOAT MILK

*Vladimír Tančín, Barbora Gancárová, Lucia Mačuhová, Michal Uhrinčat', Martina
Vršková, Kristína Tvarožková, Marta Oravcová*

Abstract: Mastitis in goat breeding is constantly in the focus of research. An important research aim is to elucidate the high somatic cell count (SCC) in goat milk. The aim of the present work was to evaluate the udder health status of goats based on SCC determination and the possible influence of lactation and farm effect. Farms where SCC was determined as part of the null recording services were included in the evaluation. To assess the udder health of goats based on SCC, we established SCC classes as follows: Class I - up to 500×10^3 cells.ml⁻¹, Class II - 501×10^3 to 1000×10^3 cells.ml⁻¹, Class III - 1001×10^3 to 2000×10^3 cells.ml⁻¹ and Class IV - above 2001×10^3 cells.ml⁻¹. Based on the individual PSB values, we evaluated the frequencies of these samples in each SCC class. The highest percentage of milk samples was in SCC class I (36 %) with a significant decrease up to class III (19 %) and again an increase in the proportion of milk samples in the last SCC class IV (22 %). The highest percentage of milk samples were classified in Class I (41 %) for first lactation with a decrease to second (35 %) and third (36 %) lactation with a marked decrease in fourth lactation (only 16 % of samples). Farms differed in the frequency of milk samples being placed in SCC classes - on Farm C, up to 65 % of milk samples were placed in I. SCC class and only a minimal number were in IV. SCC class (5%). In conclusion, SCC is an important indicator of udder health in goats but research is still needed to elucidate the causes of high SCC in goat milk.

Keywords: goat milk, somatic cell counts, udder health

ÚVOD

Mastitída je jedným z najproblematickejších ochorení vyskytujúcim sa v chovoch dojných zvierat. Predstavuje takto kritický aspekt pre farmy produkujúce mlieko a je vo vzťahu k produkcii mlieka, jeho kvalite a bezpečnosti potravín (Akter et al., 2020, Tvarožková et al., 2023). Svojou komplikovanou etiológiu výrazne ovplyvňuje ekonomiku dojných zvierat vrátane chovu kôz (Gelasakis et al., 2016; Cannas et al., 2019).

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). Mastitída priamo súvisí so zvýšením počtu somatických buniek (PSB) v mlieku, pričom pri uvedenom ochorení sa zvyšuje najmä počet bielych krviniek (leukocytov) ako prirodzená odozva imunitného systému na prítomnosť mikroorganizmov v mliečnej žľaze (Čobirka et al., 2020). Viacerí autori uvádzajú vyšší PSB v kozom mlieku ako v kravskom mlieku (Hanuš et al., 2010), pričom vyšší PSB nemusí vždy indikovať mastitídu (Paape et al., 2007; Podhorecká et al., 2021) avšak konštatujú, že PSB by sa mal pravidelne sledovať, aby sa zabezpečila vysoká kvalita produktov pre konzumenta.

V súčasnosti neexistuje legislatívne stanovená norma pre PSB v mlieku malých prežúvavcov (ovce a kozy), ktorá by reflektovala zdravotný stav mliečnej žľazy ako je tomu v prípade dojníc. Niektoré štúdie poukazujú v chovoch kôz na limitné hodnoty pre PSB v rozpätí od 700×10^3 buniek.ml⁻¹ do 1000×10^3 buniek.ml⁻¹ (Albenzio et al., 2015; Javed et al., 2023) Cieľom uvedenej práce bolo zhodnotiť zdravotný stav vemien kôz na základe PSB a zdokumentovať podiel farmy a poradia laktácie na PSB.

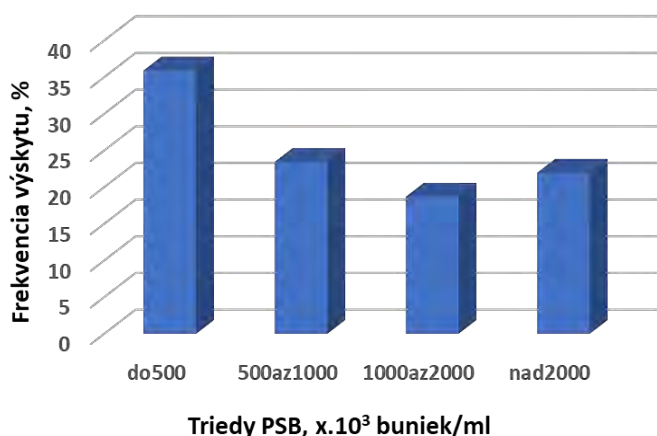
MATERIÁL A METODIKA

Do hodnotenia zdravotného stavu vemena kôz bolo zaradených deväť fariem s chovom dojnych kôz. Tieto farmy boli v kontrole úžitkovosti zabezpečovanej Plemenárskymi službami SR, š. p. Bratislava. Na uvedených farmách pri kontrole úžitkovosti sa okrem základného rozboru mlieka a merania nádoja robila aj analýza mlieka na PSB. Analýzy na PSB neboli pravidelné a v závislosti od podniku sa uskutočnili jeden až trikrát počas laktácie. Takto sme k dispozícii mali 337 vzoriek mlieka s hodnotami PSB. Databáza údajov z kontroly úžitkovosti poskytovala aj údaje o počte laktácií (poradie) a plemene kôz.

Pre posúdenie zdravotného stavu vemena kôz na základe PSB sme si stanovili triedy PSB a to nasledovne: Trieda I. – do 500×10^3 buniek.ml⁻¹, II. - 501×10^3 do 1000×10^3 buniek.ml⁻¹, III. – 1001×10^3 do 2000×10^3 buniek.ml⁻¹ a IV. – nad 2001×10^3 buniek.ml⁻¹. Na základe individuálnych hodnôt PSB sme hodnotili frekvencie výskytu týchto vzoriek v jednotlivých triedach PSB. Hodnotili sme celkové zaradenie všetkých vzoriek mlieka v jednotlivých triedach PSB a následne frekvenciu výskytu vzoriek mlieka v triedach PSB v závislosti na poradí laktácie, podniku a plemena. Pre spracovanie údajov a ich grafické znázornenie sme použili program Microsoft Excel.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

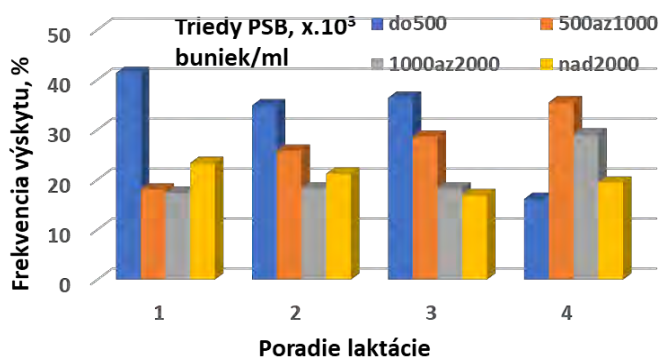
Na obrázku 1. uvádzame frekvenciu výskytu vzoriek mlieka na základe PSB v jednotlivých triedach PSB. Najvyššie percento vzoriek mlieka bolo v triede **I.** (36 %) s výrazným poklesom až do triedy **III.** (19 %) a opätovným zvýšením podielu vzoriek mlieka v poslednej PSB triede **IV.** (22 %) s najvyšším PSB (nad 2000×10^3 buniek.ml⁻¹). Distribúciou vzoriek mlieka v jednotlivých triedach PSB sledovali aj Smistad et al. (2021), ktorí ale zistili postupný percentuálny pokles zastúpenia vzoriek mlieka až do hranice $10\,000 \times 10^3$ buniek.ml⁻¹, kde pozorovali opätovný nárast percenta zaradených vzoriek. Vytvorené skupiny na základe PSB odrážajú zistenia Podhoreckej et al. (2021), ktorí zistili počiatkové rozdiely v kvalite kozieho mlieka pri PSB nad 600×10^3 buniek.ml⁻¹, kde najvýraznejšie rozdiely zistili pri PSB nad 1000×10^3 buniek.ml⁻¹ (trieda **IV**). Uvedené zistenia posledne spomínaných autorov môžu



Obrázok 1. Frekvencia výskytu vzoriek mlieka na základe PSB v jednotlivých triedach PSB.

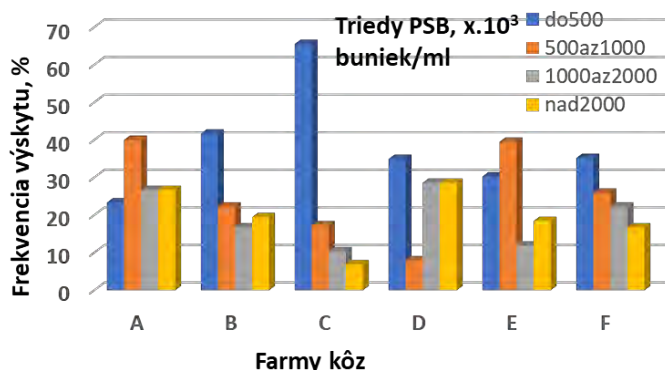
prispievať k stanoveniu legislatívnych limitov pre PSB v kozom mlieku. Okrem negatívneho vzťahu PSB ku kvalite mlieka poukazujúcich na opodstatnenosť stanovenia limitov pre PSB u kôz, prispieva k dôležitosti limitov aj mikrobiálna identifikácia mastitídnych patogénov. Rupp et al. (2019) vo svojom výskume potvrdzujú, že vyšší priemerný PSB (1542×10^3 buniek.ml⁻¹) bol spojený s vyššou frekvenciou bakteriologicky pozitívnych vzoriek (49 %) oproti línii kôz s nízkym PSB (855×10^3 buniek.ml⁻¹). Podobné výsledky sme nedávno zistili aj v našej štúdii (Tvarožková et al., 2023). Vyšší priemerný PSB (1537×10^3 buniek.ml⁻¹) v kozom mlieku sa zistili vo vzorkách s prítomným mastitídnyim patogénom oproti mlieku bez patogénu (861×10^3 buniek.ml⁻¹) (Borková et al., 2020). Samotný percentuálny výskyt vzoriek mlieka v jednotlivých PSB

triedach (Obrázok 1.) jednoznačne poukazuje na skutočnosť, že PSB je hlavným indikátorom zdravotného stavu vemena kôz.



Obrázok 2. Vplyv poradia laktácie na frekvenciu výskytu vzoriek mlieka kôz líšiacich sa PSB.

s výrazným poklesom v štvrtej laktácii (len 16 % vzoriek). Postupný nárast PSB v jednotlivých poradiach laktácie sme pozorovali v triede II, a to od 18 % (prvôstky) po 36 % (štvrtá laktácia). Navyššie percento vzoriek mlieka bolo zaradených do oboch tried III, a IV, pri štvrtej laktácii a dosahovalo až 49 % oproti prvej laktácii, kde bolo percento za uvedené dve skupiny na úrovni 30 %. Zistili sme významný vplyv parity na PSB, podobne ako Smistad et al. (2021) a Tvarožková et al. (2023).



Obrázok 3. Vplyv farmy na frekvenciu výskytu vzoriek mlieka kôz líšiacich sa PSB.

mlieka zaradených do I. PSB triedy a len minimálne sa nachádzalo v IV. PSB triede (5 %). Naopak, iné percentuálne zastúpenie vzoriek mlieka bolo na farmách A a D, kde až 27 % vzoriek mlieka bolo v poslednej IV. triede. Na významné rozdiely medzi farmami poukazuje aj práca Pridalova et al. (2009).

ZÁVER

Percentuálne zastúpenie vzoriek mlieka podľa PSB v jednotlivých triedach PSB má parabolický priebeh. Tento priebeh poukazuje na skutočnosť, že buď sú zvieratá zdravé (nachádzajúce sa na ľavej strane grafu) alebo choré (nachádzajúce sa na pravej strane grafu). Zastúpenie vzoriek mlieka podľa PSB v jednotlivých triedach sa ukazuje ako vhodný systém hodnotenia zdravotného stavu vemien kôz na farmách s možným stanovením limitných hodnôt ako je tomu pri posudzovaní zdravotného stavu vemena dojnic. Rozdielne zastúpenie vzoriek

Poradie laktácie sa spája s nárastom PSB ako z fyziologického tak patologického hľadiska. Napr. Rupp et al. (2019) v svojej štúdiu uvádzajú, že stádo, poradie a štádium laktácie malo štatisticky významný vzťah ku intramamárnej infekcii. Na obrázku 2. sú uvedené zastúpenia vzoriek mlieka na základe ich PSB v jednotlivých triedach PSB. Najvyššie percento vzoriek mlieka bolo zaradené do triedy I. (41 %) pri prvôstkach s poklesom na druhú (35 %) a tretiu (36 %) laktáciu

Manažment farmy významne ovplyvňuje samotný proces produkcie mlieka a zdravotný stav vemena nevynímajúc. Prejavuje sa to organizáciou práce pri dojení, hygienou dojacieho zariadenia a funkčného stavu dojacej techniky a pod. Aj keď sme nehodnotili stav úrovne chovu vo vybratých podnikoch na základe rozdelenia vzoriek mlieka podľa PSB do jednotlivých tried je možné poukázať na spomínané rozdiely v chove kôz na jednotlivých farmách. Na obrázku 3. napr. na farme C bolo až 65 % vzoriek

mlieka na jednotlivých farmách poukazuje na potrebu hodnotenia systémov chovu na farmách s dôrazom na stanovenie rizikových faktorov, ktoré sa negatívne podieľajú na zdravotnom stave vemien kôz.

LITERATÚRA

- Albenzio, M., Santillo, A., Kelly, A. L., Caroprese, M., Marino, R., Sevi, A. 2015. Activities of indigenous proteolytic enzymes in caprine milk of different somatic cell counts. In *Journal of Dairy Science*, vol. 98, č. 11, s. 7587-7594. Dostupné z : <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9762>
- Akter, S., Rahman, Md. M., Sayeed, Md. A., Islam, Md. N., Hossain, D., Hoque, Md. A., Koop, G. 2020. Prevalence, aetiology and risk factors of subclinical mastitis in goats in Bangladesh. In *Small Ruminant Research* vol. 184, pp. 106046. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106046>
- 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. , In. B. m. : B. v., (ca 2019), s. 11. Dostupné z: <https://www.izs-sardegna.it/quaderni/Mastitis%20in%20small%20ruminant.pdf>
- Čobirka, M., Tančin, V., Slama. P. 2020. Epidemiology and classification of mastitis In. *Animals* vol.10(12), pp. 2212.
- 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*, vol. 76, pp. 1035-1039. Dostupné z: [https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(93\)77431-7/pdf](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(93)77431-7/pdf)
- Gelasakis, A. I., Angelidis, A. S., Giannakou, G., Filioussis, M. S., Kalamaki, G. 2016. Bacterial subclinical mastitis and its effect on milk yield in low-input dairy goat herds. In *Journal of Dairy Science*, vol. 99, č. 5, pp. 3698-3708. Dostupné z: <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10694>
- Haenlein, G. F. V. 2002. Relationship of somatic cell counts in goat milk to mastitis and productivity. In *Small Ruminant Research*, vol. 45, pp. 163-178. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(02\)00097-4](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. agric. et silvic. Mendel. Brun.* vol. 58, č. 2, pp. 87-100. Dostupné z: <https://acta.mendelu.cz/pdfs/actu/2010/02/10.pdf>
- Javed, M. U., Ijaz, M., Durrani, A. Z., Ali, M. M. 2023. On-farm epidemiology, virulence profiling, and molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at goat farms. In *Microbial Pathogenesis*, vol. 185, 106456. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106456>
- 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*, vol. 68, č. 1-2, pp. 114-125. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.014>
- 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*, vol. 10, č. 5, pp. 1046. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods10051046>
- Pridalova, H., Janstova, B., Cupalova, S., Drackova, M., Navratilova, P., Vorlova, L. 2009. Somatic cell count in goat milk. In *Folia Veterinaria*, vol. 53, pp. 101-105.
- Rupp, R., Huau, C., Caillat, H., Fassier, T., Bouvier, F., Pampouille, E., Clément, V., Palhière, 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*, vol. 102, pp. 5242-5253. Dostupné z: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15664>
- Smistad, M., Sølverød, L., Inglinstad, R. A., Østerås, O. 2021. Distribution of somatic cell count and udder pathogens in Norwegian dairy goats. In *Journal of Dairy Science*, vol. 104, pp. 11878-11888. Dostupné z: <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20549>
- Tvarožková, K., Tančin, V., Uhrinčat', M., Oravcová, M., Hleba, L., Gancárová, B., Mačuhová, L., Ptáček, M., Marnet, P.-G., 2023 Pathogens in milk of goats and their relationship with somatic cell count. In: *Journal of Dairy Research*. Vol. 90, pp. 173-177. Dostupné na: <https://doi.org/10.1017/S0022029923000237>

Pod'akovanie: Práca podporená riešením projektu VEGA 1/0597/22 "Etiológia zmien počtu somatických buniek v mliečnej žľaze kôz: fyziologické a patologické aspekty" a projektu APVV-21-0134 „Subklinické mastitídy v chove bahnic a kôz: patogény, somatické bunky a morfológia vemena“, GA FAPZ 06/2023

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

**HODNOTENIE ZDRAVOTNÉHO STAVU MLIEČNEJ ŽĽAZY BAHNÍC
PROSTREDNÍCTVOM POČTU SOMATICKÝCH BUNIEK,
PRÍTOMNOSTI PATOGÉNOV A ICH REZISTENCIE VOČI
ANTIBIOTIKÁM
ASSESSMENT OF THE HEALTH STATUS OF THE MAMMARY
GLAND OF EWES THROUGH SOMATIC CELL COUNT, THE
PRESENCE OF PATHOGENS AND THEIR ANTIBIOTIC RESISTANCE**

Kristína Tvarožková, Vladimír Tančin, Barbora Gancárová, Lucia Mačuhová, Michal Uhrinčat', Martina Vršková, Lukáš Hleba

Abstract: Mastitis in dairy ewes is still an overlooked health problem. A regular monitoring of somatic cell count (SCC) could be successful tool for detection inflammatory of mammary gland. The aim of our study was evaluation health status of mammary gland through SCC, evaluate frequency of distribution milk samples in SCC groups and detected the presence of pathogens in milk samples with high SCC. We divided based on SCC the milk samples into five SCC groups: SCC1 < 200 × 10³ cells/ml; SCC2 ≥ 200 < 400 × 10³ cells/ml; SCC3 ≥ 400 < 600 × 10³ cells/ml; SCC4 ≥ 600 < 1000 × 10³ cells/ml and SCC5 ≥ 1000 × 10³ cells/ml. On the basis high SCC (≥ 1000 × 10³ cells/ml) during lactation period, milk samples were collected at the half udder level before dry period from 27 ewes. Milk samples were analysed for SCC and presence of pathogens. In SCC1 group there were distributed samples from 28.91% to 50.75%, and in last SCC5 from 25.52% to 37.50%. The most common pathogens were coagulase negative staphylococci (CNS) 75% of bacteriological positive samples. The most frequent CNS was *Staphylococcus (S.) chromogenes* (40.74%). *S. aureus* as the contagious pathogen was identified in only one milk sample. In conclusion, SCC could be a good tool for selective dry with antibiotics or culling of ewes with health problem of mammary gland.

Keywords: ewes milk, somatic cell count, pathogens, antibiotic resistance

ÚVOD

Mastitída je jedným zo zásadných zdravotných problémov vyskytujúcich sa v chovoch hlavne dojných zvierat, významne ohrozujúcich kvalitu a taktiež množstvo získaného mlieka a v neposlednom rade je mlieko potravina nesúca riziko pre zdravie konzumenta (Silanikove et al., 2014). Mastitída je ochorenie spojené s ekonomickými stratami v dôsledku poklesu produkcie mlieka, zhoršením jeho kvality a nákladmi na liečbu (Aref et al., 2018). Výskyt klinických foriem mastitíd v chovoch dojných oviec je relatívne nízky, avšak subklinická forma mastitídy je v stádach dojných oviec závažným problémom (Moroni et al., 2007). Počet somatických buniek (PSB) sa vo všeobecnosti používa ako prostriedok na diagnostiku subklinickej formy mastitídy (Tvarožková et al., 2019).

Medzi dominantné patogény spôsobujúcich subklinické formy mastitídy bahníc patria koaguláza-negatívne stafylokoky (KNS), avšak aj iné patogény či už kontagiózne alebo environmentálne môžu byť pôvodcami mastitídy (Persson et al., 2017). Okrem identifikácie pôvodcu mastitídy je dôležitým aspektom taktiež aj poznanie citlivosti na antibiotiká identifikovaných patogénov pre aplikáciu úspešnej liečby.

Cieľom našej štúdie bolo zhodnotiť zdravotný stav mliečnej žľazy prostredníctvom PSB v mlieku bahníc ako súčasť kontroly úžitkovosti (KÚ) na vybranej farme dojných oviec počas roka 2023. Následne u vybratých bahníc na základe vysokého PSB v mlieku počas celej

laktácie zistiť prítomnosť mastitídnych patogénov v mlieku na konci laktácie a ich rezistenciu voči antibiotikám.

MATERIÁL A METODIKA

Na farme dojných oviec plemena Lacaune sme sa zamerali na zhodnotenie zdravotného stavu na základe posúdenia PSB počas roka 2023 zisťovaného počas KÚ. Vzorky odobrané počas mesiacov marec a apríl neboli do hodnotenia zahrnuté nakoľko v spomínaných mesiacoch sa síce KÚ konala, avšak nebol stanovovaný PSB v mlieku. Celkovo sme na základe PSB zhodnotili a zaradili do PSB skupín 1768 vzoriek od 704 bahníc odobraných v rámci jednotlivých mesiacov KÚ (február, máj, jún, júl, august, september, október, november, december). Vzorky mlieka sme rozdelili na základe PSB do skupín: PSB1 200×10^3 buniek/ml; PSB2 $\geq 200 < 400 \times 10^3$ buniek/ml; PSB3 $\geq 400 < 600 \times 10^3$ buniek/ml; PSB4 $\geq 600 < 1000 \times 10^3$ buniek/ml a PSB5 $\geq 1000 \times 10^3$ buniek/ml. Program MS Excel (Office 365) bol použitý pre matematické vyhodnotenie percentuálneho zastúpenia vzoriek mlieka v jednotlivých PSB skupinách v jednotlivých mesiacoch KÚ.

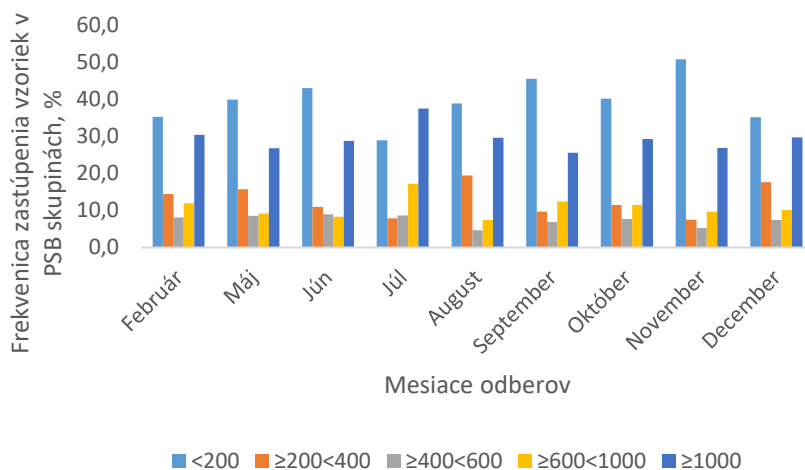
Na konci laktácie sme vybrali 27 bahníc, ktorých PSB sa počas laktácie pohyboval na úrovni $\geq 1000 \times 10^3$ buniek/ml a následne sme od týchto bahníc odobrali vzorky mlieka na úrovni polovic vemená (54 vzoriek) určených pre stanovenie prítomnosti patogénov a PSB. Vzorky mlieka určené na kultiváciu boli odoberané po oddojení prvých strekov a následnej dezinfekcii cecku a hlavne hrotu cecku do sterilnej skúmavky. Potom nasledoval odber vzoriek mlieka pre stanovenie PSB z každej polovice vemená. Inokulum (10 μ l) každej vzorky mlieka bolo naočkované na krvný agar (MkB Test a.s., Rosina, SR) pre stanovenie prítomnosti patogénov. Všetky vzorky boli kultivované v aeróbných podmienkach pri teplote 37 °C po dobu 24-48 hodín. Narastené kolónie baktérií boli rozlíšené na základe morfológie, katalázového testu (3 % H₂O₂, Merck, Darmstadt, Germany), typu hemolýzy, eskulin testu, cytochrom C oxidáza (Bactident Oxidase, Merck) a Gramovho farbenia. Kontagiózný *S. aureus* bol predbežne identifikovaný prostredníctvom clumping faktor testu (DiaMondiaL Staph Plus Kit, Germany). Prístroj MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) bol použitý na identifikovanie narastených baktérií (Tvarožková et al., 2021). Bakteriologicky pozitívna bola vzorka označená, ak bola zistená prítomnosť minimálne päť kolónií tvoriacich jednotiek (KTJ/ml) pre všetky patogény okrem kontagiózných (*S. aureus*, *Str. agalactiae*), pri ktorých bola vzorka označená ako bakteriologicky pozitívna, ak bola zistená aspoň jedna KTJ/ml. Kontaminovaná bola vzorka označená, ak bolo zistených viac ako dva rozdielne patogény, pokiaľ ani jeden z nich nebol kontagióznym druhom. PSB sme stanovovali pomocou Somacount 150 (Bentley Czech, USA).

Pri identifikovaných patogénoch sme stanovovali antibiotickú rezistenciu diskovou difúznou metódou na Mueller-Hinton agare pri teplote 37 °C a kultivácii po dobu 24 hodín podľa manuálu CLSI (CLSI, 2018). Boli použité nasledujúce antibiotické disky (OxoidLtd., Besinsgtoke, Anglicko): amoxicilín potencovaný kyselinou klavulánovou 2:1 AMC (20 μ g - 10 μ g), neomycín NEO (30 μ g), tetracyklín TET (30 μ g), linkomycín LCN (15 μ g), sulfametoxazol potencovaný trimetoprimom SXT (1,25 μ g - 23,5 μ g), erytromycín ERY (15 μ g), penicilín PEN (10 IU), cefoxitín FOX (30 μ g). Výsledky sme získali meraním inhibičnej zóny okolo antibiotického disku z izolovaných patogénov a zaznamenávané ako citlivé, intermediárne a rezistentné. Intermediárne citlivé kmene sme klasifikovali ako rezistentné.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V rámci KÚ sme hodnotili PSB vo vzorkách mlieka bahníc počas sledovaných mesiacov a zaznamenali sme, že v skupine PSB1 sa frekvencia zastúpenia vzoriek pohybovala od 28,91 % do 50,75 %, v PSB2, PSB3 a PSB4 to bolo na úrovni od 4,63 % do 19,44 %.

V poslednej skupine PSB5 sme zaznamenali výskyt vzoriek od 25,52 % do 37,50 % (Graf 1). Podobne ako sme už pozorovali aj počas predchádzajúcich štúdií sa prevažná väčšina vzoriek nachádzala buď v PSB skupinách s nízkym PSB ($< 400 \times 10^3$ buniek/ml), následne zastúpenie vzoriek klesalo a stúpalo opäť v skupine PSB5 ($\geq 1000 \times 10^3$ buniek/ml) (Tančin et al., 2017; Tvarožková et al., 2019; Tvarožková et al., 2020). Naše aj zahraničné štúdie potvrdzujú, že vysoký PSB aj v mlieku bahníc podobne ako je tomu pri dojniciach indikuje výskyt mastitídy (Persson et al., 2017; Tvarožková et al., 2020).



Graf 1. Frekvencia výskytu vzoriek mlieka v PSB skupinách v jednotlivých mesiacoch ($\times 10^3$ buniek/ml)

V skupine vybratých bahníc sme zistili, že z 54 vzoriek mlieka bolo 66,67 % bakteriologicky pozitívnych, 5,56 % vzoriek bolo kontaminovaných. V rámci bakteriologicky pozitívnych vzoriek boli najčastejšie sa vyskytujúcimi patogénmi KNS, ktoré tvorili až 75 % bakteriologicky pozitívnych vzoriek. Z pomedzi KNS bol *S. chromogenes* najčastejšie sa vyskytujúci patogén (40,74 %). KNS sú nielen na území Slovenska, ale taktiež celosvetovo najčastejšie sa vyskytujúcimi patogénmi identifikovanými v mlieku bahníc trpiacich mastitídou (Persson et al., 2017; Vasileiou et al., 2018; Tvarožková et al., 2020; Tvarožková et al., 2021). Z kontagiózných patogénov bol identifikovaný *S. aureus* a to len v jednej vzorke. V podmienkach našej prvovýroby bol zistený vo viacerých štúdiách nízky výskyt kontagiózneho patogénu *S. aureus* (Zigo et al., 2014; Tvarožková et al., 2020; Tvarožková et al., 2021).

Pri identifikovaných patogénoch sme sa zamerali aj na zisťovanie antibiotickej citlivosti pre ciele aplikáciu antibiotík v období zasušenia. Neomycín, linkomycín, erytromycín a sulfametoxazol potencovaný trimetoprimom preukázali 100 % účinnosť na identifikované patogény. Naopak najmenej účinné boli cefoxitín, pri ktorom bola zistená 60,00 % rezistencia voči identifikovaným patogénom, ďalej penicilín s 53,33 % mierou rezistencie, amoxicilín potencovaný kyselinou klavulánovou s 26,67 % mierou rezistencie a tetracyklín s 13,33 % rezistenciou (Tabuľka 1). Podobne aj Ůnal et al. (2012) a Vasil' et al. (2016) zaznamenali vyššiu mieru rezistencie izolovaných baktérií voči penicilínu a tetracyklínu. Sulfametoxazol potencovaný trimetoprimom, erytromycín, neomycín a linkomycín patrili medzi antibiotiká s vysokou mierou účinnosti aj v ďalších štúdiách (Ergün et al., 2009; Ůnal et al., 2012; Tvarožková et al., 2019).

Tabuľka 1. Výsledky rezistencie identifikovaných patogénov voči antibiotikám (%)

	AMC	SXT	FOX	TET	PEN	ERY	LCN	NEO
Citlivé	73,33	100	40,00	86,67	46,67	100	100	100
Intermediárne	20,00	0	53,33	0	0	0	0	0
Rezistentné	6,67	0	6,67	13,33	53,33	0	0	0

AMC (20 µg-10 µg)- amoxicilín potencovaný kyselinou klavulanovou, TET (30 µg)- tetracyklín, LCN (15 µg)- linkomycín, ERY (15 µg)- erytromycín, SXT (1,25 µg-23,75 µg)- sulfametoxazol potencovaný trimetoprimom, NEO (30 µg)- neomycín, FOX (30 µg)- cefoxitín, PEN (10 IU)-penicilín.

ZÁVER

Pravidelné sledovanie PSB v mlieku bahnič prostredníctvom kontroly úžitkovosti môže napomôcť k identifikácii zdravotných problémov mliečnej žľazy, k efektívnejšiemu brakovaniu chorých bahnič alebo ich cielenej liečbe. Okrem identifikácie postihnutej bahnice je dôležitým aspektom aj identifikácia pôvodcu mastitídy a taktiež zistenie vhodného antibiotika na liečbu konkrétneho patogénu. Poznanie zdravotného stavu vemena bahnic a hlavne prítomného patogénu a jeho rezistencie voči antibiotikám by sa mohli využiť aj pri selektívnom zasúšaní chorých bahnic a ich brakovaní podobne ako je tomu pri dojniciach.

LITERATÚRA

- Aref, NEM., Sayed, AS., Zahran, A. M., Abdelaal, G. A., Nasser, EA. 2018. Flow cytometric analysis of somatic cells and oxidant/antioxidant profile in dairy cows with subclinical mastitis. In *Bulgarian Journal Veterinary Medicine*, vol. 21, pp. 347-57.
- CLSI 2018. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. In 4th Edn. CLSI Supplement VET08, 170. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Ergün, Y., Aslantas, O., Dogruer, G., Kirecci, E., Saribay, M. K., Ates, C. T., Ulku, A., Demir C. 2009. Prevalence and etiology of subclinical mastitis in Awasi dairy ewes in southern Turkey. In *Turkey Journal Veterinary Animal Science*, vol. 21, pp. 477-83.
- Moroni, P., Pisoni, G., Varisco, G., Boettcher, P. 2007. Effect of intramammary infection in Bergamasca meat sheep on milk parameters and lamb growth. In *Journal of Dairy Research*, vol. 74, pp. 340-344. Dostupné na: doi: <https://doi.org/10.1017/S0022029907002506>
- 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>
- Silanikove, N., Merin, U., Shapiro, F., Leitner, G. 2014. Subclinical mastitis in goats is associated with upregulation of nitric oxide-derived oxidative stress that causes reduction of milk antioxidative properties and impairment of its quality. In *Journal Dairy Science*, vol. 97, pp. 3449-55.
- Tančin, V., Baranovič, Š., Uhrinčať, M., Mačuhová, L., Vrškova, M., Oravcova, 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, pp. 253-260. Dostupné na: doi: <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2017.0402>
- Tvarožková, K., Tančin, V., Holko, I., Uhrinčať, M., Mačuhová, L. 2019. Mastitis in ewes: Somatic cell counts, pathogens and antibiotic resistance. In *Journal Microbiology, Biotechnology and Food Science*, vol. 9, pp.661-70.
- Tvarožková, K., Tančin, V., Uhrinčať, M., Hleba, L., Mačuhová, 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., 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>
- Únal, N., Askar, S., Macun, H. C., Sakarya, F., Altun, B., Yildirim, M. 2012. Panton- Valentine leukocidin and some exotoxins of *Staphylococcus aureus* and antimicrobial susceptibility profiles of staphylococci isolated from milks of small ruminants. In *Tropical Animal Health and Production*, vol. 44, pp. 573-579. <https://doi.org/10.1007/s11250-011-9937-7>
- 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>

Vasiľ, M., Elečko, J., Farkašová, Z., Zigo, F., Lapin, M. 2016. Antibiotic Resistance in Bacteria Staphylococcus sp. Isolated From Samples of Raw Sheep's Milk. In *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 10, pp. 619-624. Dostupné na: doi: <https://doi.org/10.5219/680>

Zigo, F., Vasiľ, M., Elečko, J., Farkašová, Z., Lapin, M. 2014. Production of enterotoxins of Staphylococcus sp. isolated from samples of sheep milk. In *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 8, pp. 92-96. Dostupné na: doi: <https://doi.org/10.5219/361>

Pod'akovanie: Táto publikácia bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja č. APVV-21-0134 „Subklinické mastitídy v chovoch bahnic a kôz: patogény, somatické bunky a morfológia vemená“ 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

**PRODUKCIA MLIEKA, TUKU, BIELKOVÍN A LAKTÓZY ZA
LAKTÁCIU PODĽA RÔZNYCH ÚROVNÍ POČTU SOMATICKÝCH
BUNIEK U DOJNÝCH KÔZ**

**MILK, FAT, PROTEIN AND LACTOSE PRODUCTION PER
LACTATION ACCORDING TO DIFFERENT SOMATIC CELL COUNT
LEVELS IN DAIRY GOATS**

*Michal Uhrinčat', Vladimír Tančin, Lucia Mačuhová, Martina Vršková, Kristína
Tvarožková, Barbora Gancárová, Marta Oravcová, Martin Ptáček*

Abstract: The aim of this study was to evaluate the effect of average somatic cell count (PSB) per lactation and lactation order on total milk, fat, protein, and lactose production per lactation. The PSB within each collection was transformed into a somatic cell score (SSB). The arithmetic mean of the SSB of the samples during lactation was used to classify the goat into PSB classes (A-D), corresponding to: up to $5 \cdot 10^5$ (A), $5 \cdot 10^5 + 1$ to $1 \cdot 10^6$ (B), $1 \cdot 10^6 + 1$ to $2 \cdot 10^6$ (C), and above $2 \cdot 10^6$ cells.ml⁻¹ (D). The lactation order classes were (1st), (2nd), (3rd), and (4th and above). Differences in total milk yield between animals in different PSB classes were not significant in any of the years studied. Animals in PSB class B had the highest total milk production in 2018, followed by animals in PSB class A the following year. In the subsequent year, animals with a higher PSB produced the maximum milk. In 2020 and 2021 this was PSB class D and in 2022 it was class C. Lactation order also significantly affected the total milk yield per lactation. There were significant differences between animals with the lowest production at the first lactation and the maximum at the fourth and higher lactation.

Keywords: goat, milk, somatic cell count, lactation

ÚVOD

Množstvo a kvalita vyprodukovaného mlieka sú podstatné faktory pre farmára, zdravý produkt je dôležitý pre konzumenta a dobré zdravie je dôležité pre zvieratá produkujúce mlieko. Všetky tieto faktory sú negatívne ovplyvnené pri ochorení mliečnej žľazy dojných zvierat. Počet somatických buniek (PSB) v mlieku je už dlhodobo používaný u dojených prežúvavcov na predikciu zdravotného stavu vemena. Použitie lineárneho skóre somatických buniek (SSB), čo je logaritmická transformácia meraní PSB, je dobre zavedená metóda na diagnostiku zdravia vemena u kráv (Kirk, 1984), no postupne sa začína uplatňovať aj pri hodnotení zdravia vemena oviec a kôz (Paape et al., 2007). Každé zvýšenie pre lineárne skóre o 1 je spojené so zdvojnásobením PSB. Lineárne skóre má priamy vzťah s množstvom produkovaného mlieka a u kráv je možné jeho prostredníctvom odhadovať stratu na produkcii spôsobenú ochorením mliečnej žľazy (Fox et al., 1985; Franzoi et al., 2020).

Produkcija kozieho mlieka je závislá na viacerých faktoroch a vrchol dosahuje v 3. prípadne 4. laktácii, potom pozvoľna klesá (Olechnowicz a Sobek, 2008; Goetsch et al., 2011). S nárastom PSB štandardne dochádza k poklesu produkcie mlieka (Barrón-Bravo et al., 2013; Sandrucci et al., 2019) a k zvyšovaniu hladiny bielkovín (Leitner et al., 2017). No sú známe aj prípady, kedy z nárastom PSB prichádza aj k nárastu množstva kozami produkovaného mlieka (Bernacka, 2006). Podobne bol zaznamenaný aj vyšší nádoj u zvierat infikovaných patogénom *Corynebacterium bovis* (Koop et al., 2010).

Cieľom práce bolo otestovať hypotézu, že kozy s vyšším PSB za celú laktáciu vyprodukujú menej mlieka, tuku a viac bielkovín, ako aj otestovať vplyv poradia laktácie na sledované produkčné ukazovatele.

MATERIÁL A METODIKA

Údaje zaradené do hodnotenia boli získané počas mesačných kontrol úžitkovosti v priebehu rokov 2018 - 2022 na farme v severných Čechách, v stáde 110 - 150 dojných kôz plemena hnedá krátkosrstá a biela krátkosrstá. Výživa pozostávala prevažne z pastvy. Zvieratá boli dojené dvakrát denne v dojárni 2 x 20 s rýchlym odchodom. Do hodnotenia boli zaradené zvieratá s minimálne 4 odbermi v priebehu laktácie. Kontrola mliekovej úžitkovosti bola robená metódou A4 - produkcia mlieka bola meraná dva krát za kontrolný deň a to ráno a večer. Zdravotný stav vemena kôz bol hodnotený na základe stanovenia PSB v mlieku v rámci jednotlivých odberov. PSB bol následne transformovaný na lineárne SSB pomocou vzorca $[SSB = (\log_2 (PSB/10^5)) + 3]$. PSB, ako aj obsah tuku, bielkovín a laktózy bol stanovovaný analyzátorom CombiFoss FT+ (MilkoScan FT+, Fossomatic FC) (Foss Analytical, Hillerød, Dánsko). Celková produkcia mlieka, tuku, bielkovín a laktózy kozy za dojnú periódu bola vypočítaná podľa metódy, ktorú používajú Plemenárske služby SR, š.p. (Anonym, 2012). Celkové SSB za laktáciu bolo vypočítané ako aritmetický priemer hodnôt SSB jedinca za jednotlivé odbery. Na základe celkového SSB boli zvieratá zatriedené do tried, zodpovedajúcim PSB v danej triede. Trieda A – do $5 \cdot 10^5$ buniek.ml⁻¹; B - $5 \cdot 10^5 + 1$ až $1 \cdot 10^6$ buniek.ml⁻¹; C – $1 \cdot 10^6 + 1$ až $2 \cdot 10^6$ buniek.ml⁻¹ a D – nad $2 \cdot 10^6$ buniek.ml⁻¹.

Tabuľka 1 Počet zvierat v hodnotených podtriedach

Rok	PSB trieda	Laktácia				Σ
		1.	2.	3.	4. a vyššia	
2018	A	6	1	1	10	18
	B	5	2	1	21	29
	C	2	1	3	17	23
	D				15	15
2018 Σ		13	4	5	63	85
2019	A	15	7	3	23	48
	B	9	8		21	38
	C	4	1		12	17
	D	2			3	5
2019 Σ		30	16	3	59	108
2020	A	26	5	1		32
	B	15	11	6	8	40
	C	4	13	6	26	49
	D	2		2	17	21
2020 Σ		47	29	15	51	142
2021	A	2	31	14	15	62
	B		8	7	22	37
	C			1	12	13
	D				2	2
2021 Σ		2	39	22	51	114
2022	A	18	3	29	19	69
	B	5		6	23	34
	C	3		2	18	23
	D				4	4
2022 Σ		26	3	37	64	130
Σ		118	91	82	288	579

Podľa poradia laktácie boli zvieratá rozčlenené do tried: 1. laktácia, 2. laktácia, 3. laktácia, 4. a vyššia laktácia. Počty zvierat v jednotlivých podtriedach sú uvedené v Tab. 1.

Hodnotenie pre jednotlivé roky bolo vykonané samostatne. Štatistické analýzy vzťahov medzi premennými boli vykonané viacfaktorovou analýzou rozptylu (Proc GLM; SAS/STAT ver. 9.3; SAS Institute Inc., 2011), na vyhodnotenie rozdielov sme použili Scheffého multiple range test. Pre odhad koeficientov opakovateľnosti celkového nádoja a zloženia mlieka sme použili nasledovný model :

$$y = X\beta + Zu + e$$

y – vektor meraných hodnôt pred sledované ukazovatele

β – pevný efekt pre triedu poradia laktácie a triedu skóre somatických buniek

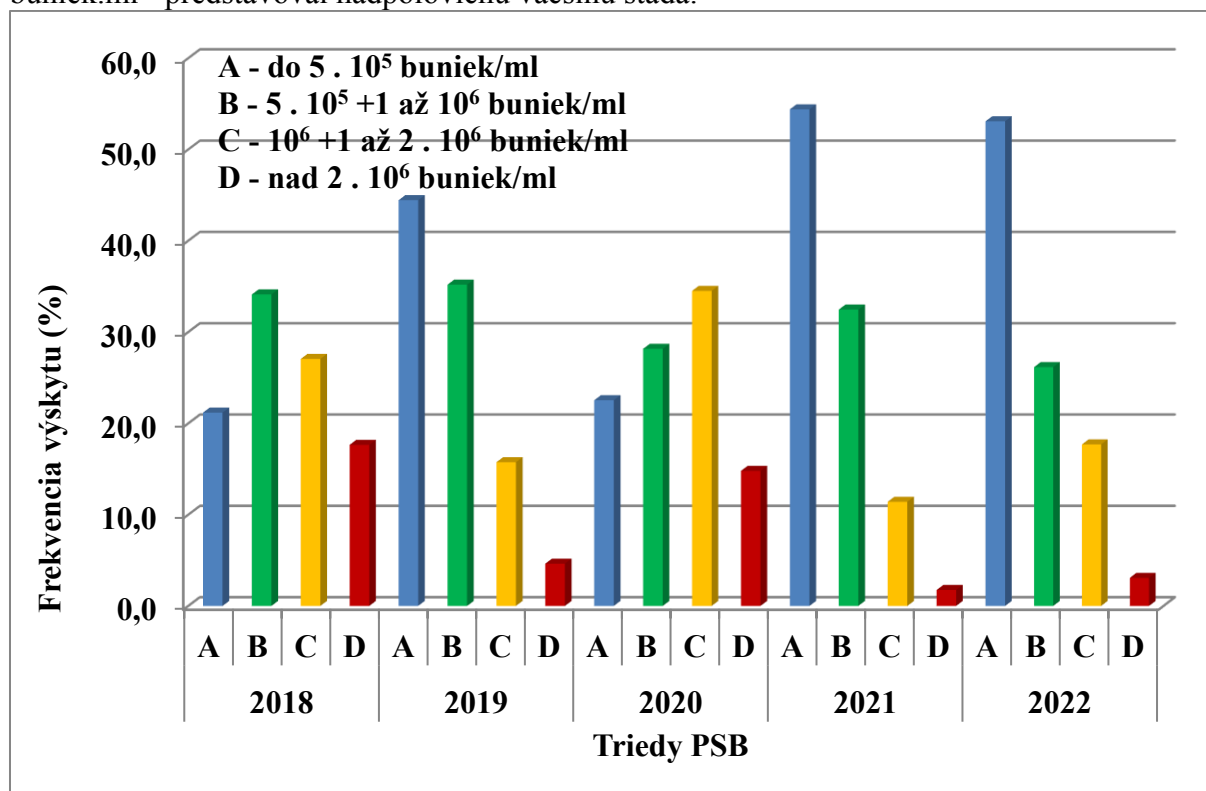
u – náhodný efekt zvierat'a $u \sim N(0, \delta^2_{goat})$

e – nezávislé, normálne rozdelené náhodne chyby pozorovaní $e \sim N(0, \delta^2_e)$.)

Mieru závislosti medzi SSB a množstvom mlieka a sledovaných zložiek sme zisťovali Pearsonovými koreláciami.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Zdravotný stav mliečnej žľazy kôz počas sledovaných rokov značne kolísal (Obr. 1). V roku 2018 bolo viac ako 44% zvierat v kategóriách nad 1 milión somatických buniek v ml. V nasledujúcom roku bolo v týchto triedach už len 20% zvierat, no v ďalšom roku to už bola opäť skoro polovica hodnotených jedincov. V rokoch 2021 a 2022 sa už v chove darilo udržiavať zdravie vemena na podstatne lepšej úrovni, keď podiel zvierat s PSB do $5 \cdot 10^5$ buniek.ml⁻¹ predstavoval nadpolovičnú väčšinu stáda.



Obrázok 1 Podiel zvierat v triedach PSB v sledovaných rokoch

Korelácie medzi množstvom vyprodukovaného mlieka za laktáciu a SSB boli slabé (0,0004 - 0,386) a vo všetkých rokoch okrem roku 2019 boli pozitívne. Očakávali sme negatívne korelácie, ktoré by znamenali pokles produkcie mlieka s nárastom SSB, ako u kráv uvádzajú Franzoi et al., (2020) a u kôz Koop et al., (2010), ktorý zistil silnú koreláciu medzi množstvom mlieka a PSB so stúpajúcim mesiacom laktácie.

Priemerná produkcia mlieka $527,49 \pm 176,69$ kg (aritmetický priemer \pm smerodajná odchýlka) za laktáciu v sledovaných rokoch (Tab. 2) bola porovnateľná s produkciou sánskych kôz z komerčnej farmy ($519,0 \pm 7,3$ kg), ktorú uvádzajú Zamuner et al., (2020), no obe sú podstatne nižšie ako produkcie uvádzané Šlyžius et al., (2017) (biela krátkosrstá vs. sánska $831,66 \pm 10,11$ vs. $728,25 \pm 26,22$). Rozdiely v produkcii zvierat v rôznych triedach PSB (Tab. 2) však neboli významné ani v jednom z hodnotených rokov. Maximum mlieka v roku 2018 mali zvieratá v PSB triede B, v nasledujúcom roku v triede A, no v ďalších rokoch už maximum produkovali zvieratá s vyšším PSB. V rokoch 2020 a 2021 to boli z PSB triedy D, v roku 2022 z triedy C. Významný vplyv na množstvo mlieka za laktáciu malo poradie laktácie, kde sme

Tabuľka 2 Množstvo mlieka (kg) za laktáciu v závislosti na triede PSB a poradí laktácie

		Laktácia				
Rok	PSB trieda	1.	2.	3.	4. a viac	Spolu
2018	A	340,63 ± 116,80	407,40	498,40	592,08 ± 132,39	492,80 ± 166,41
	B	402,37 ± 45,61	430,75 ± 30,19	650,00	634,90 ± 163,05	581,25 ± 170,23
	C	439,25 ± 136,12	503,10	463,47 ± 153,52	504,58 ± 133,29	493,47 ± 128,04
	D				532,01 ± 115,49	532,01 ± 115,49
2018 Spolu		379,55 ^B ± 97,42	443,00 ^{AB} ± 45,06	507,76 ^{AB} ± 135,41	568,44 ^A ± 147,45	530,08 ± 152,81
2019	A	408,02 ± 131,64	585,56 ± 91,15	661,20 ± 95,59	696,44 ± 123,40	587,94 ± 173,71
	B	390,57 ± 131,77	506,08 ± 146,49		693,06 ± 198,98	582,05 ± 215,35
	C	309,90 ± 116,48	665,50		592,82 ± 209,50	530,53 ± 221,22
	D	481,95 ± 122,82			561,50 ± 256,51	529,68 ± 196,39
2019 Spolu		394,63 ^B ± 129,20	550,81 ^A ± 125,88	661,20 ^A ± 95,59	667,30 ^A ± 179,79	574,13 ± 196,35
2020	A	388,29 ± 84,19	694,94 ± 128,98	741,15		447,23 ± 153,16
	B	367,28 ± 69,80	688,21 ± 158,71	669,68 ± 146,87	695,59 ± 141,30	566,56 ± 197,62
	C	407,88 ± 113,66	601,62 ± 125,09	627,64 ± 151,32	663,01 ± 145,82	621,56 ± 151,75
	D	521,50 ± 144,25		483,73 ± 73,43	661,90 ± 154,65	631,56 ± 156,91
2020 Spolu		388,92 ^B ± 87,05	650,56 ^A ± 141,77	632,84 ^A ± 144,48	667,75 ^A ± 145,69	568,26 ± 179,45
2021	A	591,13 ± 110,27	493,68 ± 110,22	666,49 ± 193,20	604,50 ± 97,94	562,66 ± 147,24
	B		442,26 ± 167,47	644,86 ± 136,90	570,37 ± 138,59	556,76 ± 155,94
	C			306,60	539,96 ± 113,00	522,01 ± 126,07
	D				585,95 ± 100,06	585,95 ± 100,06
2021 Spolu		591,13 ^A ± 110,27	483,13 ^B ± 123,28	643,25 ^A ± 184,98	573,86 ^A ± 119,71	556,52 ± 146,29
2022	A	263,59 ± 60,81	481,07 ± 19,00	407,53 ± 91,49	506,10 ± 173,25	400,32 ± 143,92
	B	282,94 ± 100,68		396,57 ± 84,83	474,04 ± 164,31	432,27 ± 158,57
	C	291,93 ± 30,07		460,75 ± 78,35	476,10 ± 156,59	450,75 ± 152,59
	D				382,96 ± 112,37	382,96 ± 112,37

2022 Spolu	270,58 ^B ± 65,79	481,07 ^A ± 19,00	408,63 ^{AB} ± 88,64	478,45 ^A ± 161,37	417,06 ± 148,54
Spolu	366,69 ± 111,58	546,55 ± 145,73	527,87 ± 173,02	587,24 ± 168,40	527,49 ± 176,69

^{A,B} Priemery s rôznymi písmenami v riadku boli preukazne rozdielne pri $P \leq 0,05$, ± smerodajná odchýlka počas celého sledovaného obdobia zaznamenali významné rozdiely medzi zvieratami s najnižšou produkciou na prvej a maximom na štvrtej a vyššej laktácii. Výnimku tvoril len rok 2021 s len dvoma kozami na prvej laktácii, oboma v PSB triede A, s vysokou produkciou. Pri podrobnejšom pohľade do jednotlivých podtried (Tab. 2) je možné vidieť, že v závislosti od interakcie triedy PSB a poradia laktácie dosahovali maximálnu produkciu mlieka zvieratá na štvrtej a vyššej laktácii v rokoch 2019, 2020 a 2022 (696,44 ± 123,40 PSB trieda A; 695,59 ± 141,30 PSB trieda B; 506,10 ± 173,25 PSB trieda A), resp. na tretej laktácii v rokoch 2018 a 2021 (650,00 PSB trieda B; 666,49 ± 193,20 PSB trieda A). Ide o zvieratá s celoročným priemerom PSB do $5 \cdot 10^5$ buniek.ml⁻¹, resp. do $1 \cdot 10^6$ buniek.ml⁻¹, teda zo zdravšej časti stáda. Najvyššia produkcia zvierat na tretej resp. štvrtej a vyššej laktácii korešponduje s poznatkami autorov Olechnowicz, a Sobek, (2008) a Goetsch et al., (2011), no mierne vyššie hodnoty ročnej produkcie mlieka kozami na štvrtej a vyššej laktácii ukazujú potenciál dosiahnuť vrchol celoživotnej produkcie aj vo vyššom veku. Že na produkciu mlieka vplyvajú aj iné faktory môžeme vidieť pri porovnaní rokov 2021 a 2022, kedy podiel zvierat v jednotlivých triedach PSB (Obr. 1) je podobný, no v celkovej produkcii (Tab. 2), ako aj v jednotlivých podtriedach sú značné rozdiely. Množstvo tuku v závislosti na PSB vykazovalo významné rozdiely len v roku 2020 (Tab. 3). Zvieratá v PSB triede D mali najvyššiu produkciu v porovnaní so zvieratami v triede A.

Tabuľka 3 Množstvo tuku, bielkovín a laktózy za laktáciu v závislosti na roku a triede PSB.

Rok	PSB trieda	N	Tuk (kg)	Bielkoviny (kg)	Laktóza (kg)
2018	A	18	14,52 ± 5,00	13,99 ± 4,99	22,30 ± 7,68
	B	29	18,07 ± 5,66	16,36 ± 4,40	25,87 ± 7,37
	C	23	14,85 ± 4,58	14,89 ± 4,43	22,12 ± 5,72
	D	15	16,75 ± 3,61	16,28 ± 3,25	23,44 ± 5,06
2019	A	48	20,15 ± 6,25	18,33 ± 5,14	12,94 ± 9,61
	B	38	19,55 ± 8,00	18,14 ± 6,44	10,36 ± 7,58
	C	17	19,05 ± 9,52	16,80 ± 7,48	8,03 ± 6,65
	D	5	19,94 ± 9,99	16,86 ± 5,50	8,22 ± 7,25
2020	A	32	14,75 ^B ± 3,78	13,81 ^B ± 3,93	4,08 ^B ± 5,17
	B	40	16,86 ^{AB} ± 5,16	16,45 ^A ± 4,96	6,37 ^{AB} ± 8,45
	C	49	17,36 ^{AB} ± 4,37	17,75 ^A ± 4,00	7,00 ^{AB} ± 4,37
	D	21	18,05 ^A ± 4,59	18,20 ^A ± 4,39	8,24 ^A ± 5,51
2021	A	62	20,31 ± 5,21	17,66 ± 4,20	8,23 ^B ± 3,42
	B	37	18,98 ± 5,19	17,06 ± 4,45	8,61 ^B ± 4,53
	C	13	17,19 ± 4,46	15,94 ± 3,73	8,24 ^B ± 6,88
	D	2	20,21 ± 5,37	18,30 ± 5,72	18,34 ^A ± 17,18
2022	A	69	13,59 ± 4,60	12,80 ± 4,39	3,51 ± 4,22
	B	34	14,22 ± 4,53	13,71 ± 4,72	3,41 ± 3,24
	C	23	13,75 ± 3,86	13,70 ± 4,10	4,17 ± 3,25
	D	4	12,16 ± 3,82	12,16 ± 3,47	3,47 ± 1,47

^{A,B} Priemery s rôznymi písmenami v stĺpci za rok boli preukazne rozdielne pri $P \leq 0,05$, ± smerodajná odchýlka

Rovnaká situácia bola aj v produkcii bielkovín. Nárast množstva bielkoví so stúpajúcim PSB, ktorý uvádzajú Leitner et al. (2017) bol však významný len v tomto jednom prípade, v ostatných rokoch sa nepotvrdil. Významné rozdiely v produkcii laktózy v roku 2020 boli aj v roku 2021. Podobne ako v prípade tuku a bielkovín, najvyššia produkcia bola v PSB triede D a najnižšia v triede A. Významné rozdiely v množstve vyprodukovaného tuku, bielkovín a laktózy medzi zvieratami rôzneho poradia laktácie (Tab. 4) boli pozorované počas celého sledovaného obdobia, s výnimkou v roku 2021. Skoro vždy išlo o najvyššiu produkciu zvierat na štvrtej a vyššej laktácii v porovnaní so zvieratami na prvej laktácii. Len v jedinom prípade bola situácia opačná, keď v roku 2019 vyprodukovali kozy na prvej laktácii najviac laktózy a zvieratá na štvrtej a vyššej mali najnižšiu produkciu.

ZÁVER

Hoci sme u kôz s celoročne vysokým PSB nepotvrdili významne nižšiu produkciu mlieka za laktáciu, stále je potrebné snažiť sa o čo najväčší počet zvierat s nízkym PSB. Okrem zlepšenia dobrých životných podmienok týmto zvieratám prostredníctvom nižšieho infekčného tlaku, dostaneme technologicky bezpečnejšiu surovinu pre spotrebiteľa. Posledné dva hodnotené roky dokazujú možnosti postupného zvyšovania počtu jedincom s nízkym PSB. Relatívne nízka produkcia mlieka zvierat v porovnaní s produkčným potenciálom daných plemien dáva chovateľovi priestor na významné zlepšenie produkcie v budúcnosti. Výsledky našich hodnotení nás utvrdzujú v názore, že u kôz bude použitie SSB na odhad straty produkcie mlieka pri súčasnom stave PSB v stádach značne problematické.

Tabuľka 4 Množstvo tuku, bielkovín a laktózy za laktáciu v závislosti na roku a poradí laktácie.

Rok	Laktácia	N	Tuk (kg)	Bielkoviny (kg)	Laktóza (kg)
2018	1.	13	12,24 ^B ± 3,49	11,01 ^B ± 3,17	17,36 ^B ± 4,66
	2.	4	14,26 ^{AB} ± 1,91	12,89 ^{AB} ± 1,59	20,20 ^{AB} ± 1,73
	3.	5	16,63 ^{AB} ± 4,54	14,69 ^{AB} ± 3,72	22,18 ^{AB} ± 6,02
	4. a viac	63	17,13 ^A ± 5,16	16,58 ^A ± 4,17	25,32 ^A ± 6,56
2019	1.	30	14,04 ^B ± 4,78	12,72 ^B ± 4,21	16,23 ^A ± 7,18
	2.	16	18,54 ^{AB} ± 4,93	17,27 ^{AB} ± 4,08	10,44 ^{AB} ± 8,05
	3.	3	21,24 ^{AB} ± 2,76	20,10 ^A ± 1,54	6,18 ^{AB} ± 2,20
	4. a viac	59	22,92 ^A ± 7,69	20,69 ^A ± 5,54	8,81 ^B ± 8,42
2020	1.	47	13,58 ^B ± 2,95	12,49 ^B ± 2,43	2,58 ^B ± 4,13
	2.	29	18,11 ^A ± 4,28	18,66 ^A ± 4,06	8,35 ^A ± 8,89
	3.	15	18,23 ^A ± 4,30	18,05 ^A ± 4,15	7,88 ^A ± 6,78
	4. a viac	51	18,42 ^A ± 4,76	18,68 ^A ± 4,03	8,22 ^A ± 3,90
2021	1.	2	24,02 ± 9,29	18,89 ± 4,18	7,61 ± 4,80
	2.	39	19,87 ± 4,99	16,14 ± 3,93	6,90 ± 2,57
	3.	22	19,93 ± 5,57	19,14 ± 5,41	9,92 ± 3,86
	4. a viac	51	18,90 ± 5,02	17,30 ± 3,67	9,22 ± 5,93
2022	1.	26	9,71 ^B ± 2,71	8,68 ^B ± 2,12	3,11 ^B ± 4,20
	2.	3	16,20 ^A ± 0,90	15,75 ^A ± 0,31	8,61 ^A ± 9,63
	3.	37	15,05 ^A ± 3,34	14,09 ^A ± 2,73	2,53 ^B ± 2,58
	4. a viac	64	14,50 ^{AB} ± 4,67	14,36 ^A ± 4,78	4,18 ^{AB} ± 3,56

^{A,B} Priemery s rôznymi písmenami v stĺpci za rok boli preukazne rozdielne pri $P \leq 0,05$, ± smerodajná odchýlka

LITERATÚRA

- Anonym, 2012. Zásady automatizovaného spracovania dát oviec a kôz. Plemenárske služby SR, š.p., 54s., [cit. 2024-02-01]. Dostupné na: https://www.pssr.sk/wp-content/uploads/ku/subory/ov/Zasady_ASD_ovce_kozy.pdf
- Barrón-Bravo, O. G., Gutiérrez-Chávez, A. J., Ángel-Sahagún, C. A., Montaldo, H. H., Shepard, L., Valencia-Posadas, M. 2013. Losses in milk yield, fat and protein contents according to different levels of somatic cell count in dairy goats. In *Small Ruminant Research*, 113(2-3), 421-431, <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2013.04.003>
- Bernacka, H. 2006. Cytological quality of goat milk on the basis of the somatic cell count. In *Journal of Central European Agriculture*, 7(4), 773-778, <https://hrcak.srce.hr/file/26931>
- Fox, L. K., Shook, G. E., Schultz, L. H. 1985. Factors related to milk loss in quarters with low somatic cell counts. In *Journal of Dairy Science*, 68(8), 2100-2107, [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(85\)81074-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(85)81074-2)
- Franzoi, M., Manuelian, C. L., Penasa, M., De Marchi, M. 2020. Effects of somatic cell score on milk yield and mid-infrared predicted composition and technological traits of Brown Swiss, Holstein Friesian, and Simmental cattle breeds. In *Journal of Dairy Science*, 103(1), 791-804, <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16916>
- Goetsch, A. L., Zeng, S. S., Gipson, T. A. 2011. Factors affecting goat milk production and quality. In *Small Ruminant Research*, 101(1-3), 55-63, <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.09.025>
- Kirk, J. H. 1984. Programmable calculator program for linear somatic cell scores to estimate mastitis yield losses. In *Journal of dairy Science*, 67(2), 441-443, [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(84\)81322-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(84)81322-3)
- Koop, G., Van Werven, T., Schuiling, H. J., Nielen, M. 2010. The effect of subclinical mastitis on milk yield in dairy goats. In *Journal of dairy science*, 93(12), 5809-5817, <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3544>
- Leitner, G., Merin, U., Lavi, Y., Egber, A., Silanikove, N. 2007. Aetiology of intramammary infection and its effect on milk composition in goat flocks. In *Journal of dairy research*, 74(2), 186-193, <https://doi.org/10.1017/S0022029906002299>
- 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*, 17(1), 41, https://www.researchgate.net/profile/Jan_Olechnowicz/publication/237387343_Factors_of_variation_influencing_production_level_SCC_and_basic_milk_composition_in_dairy_goats/links/0deec52553a6e45a2c000000.pdf
- 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*, 68(1-2), 114-125, <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.014>
- Sandrucci, A., Bava, L., Tamburini, A., Gislón, G., Zucali, M. 2019. Management practices and milk quality in dairy goat farms in Northern Italy. In *Italian Journal of Animal Science*, 18(1), 1-12, <https://doi.org/10.1080/1828051X.2018.1466664>
- Šlyžius, E., Šlyžienė, B., Lindžiūtė, V. 2017. Factors affecting goat milk fat yield. In *Žemės ūkio mokslai*, 24(3), 91-100, <https://doi.org/10.6001/zemesukiomokslai.v24i3.3555>
- 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*, 103(1), 954-964, <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17051>

Pod'akovanie: Práca podporená riešením projektu VEGA 1/0597/22 "Etiológia zmien počtu somatických buniek v mliečnej žľaze kôz: fyziologické a patologické aspekty" a projektu APVV-21-0134 „Subklinické mastitídy v chove bahníc a kôz: patogény, somatické bunky a morfológia vemena“.

Kontaktná adresa: Michal Uhrinčat', PaedDr., PhD., NPPC-Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 95141 Lužianky, michal.uhrincat@nppc.sk

Vladimír Tančín, 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

Lucia Mačuhová, Ing., PhD., NPPC – Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky, lucia.macuhova@nppc.sk

Martina Vršková, Ing., PhD., NPPC – Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky, martina.vrskova@nppc.sk

Kristína Tvarožková, Ing. PhD., SPU – FAPZ Ústav chovu zvierat, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, kristina.tvarozkova@gmail.com

Ing. Barbora Gancárová, SPU – FAPZ Ústav chovu zvierat, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: xgancarova@uniag.sk

Marta Oravcová, Ing., PhD., NPPC – Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky, marta.oravcova@nppc.sk

Martin Ptáček, Ing., Ph.D., CZU v Praze, FAPPZ, Kamýcká 129, 165 00 Praha - Suchdol, Česká republika, ptacekm@af.czu.cz

VPLYV POČTU SOMATICKÝCH BUNIEK NA MLIEKOVÚ ÚŽITKOVOSŤ KÔZ NA VYBRANEJ FARME THE EFFECT OF SOMATIC CELLS COUNT ON THE MILK YIELD OF GOATS ON A SELECTED FARM

Martina Vršková, Vladimír Tančín, Lucia Mačuhová, Michal Uhrinčat', Marta Oravcová

Abstract: The aim of our work was to evaluate the influence of the somatic cell count (SCC) on the parameters of milk yield on a dairy goat farm during the years 2020 to 2023. In addition to the amount of milk yield and components, an analysis of somatic cell count was also performed in one of the measurements during the milking period, except in 2021. The samples were divided on the basis of SCC into 3 groups Class I. – up to 1000×10^3 cells.ml⁻¹, II. – 1001 to 2000×10^3 cells.ml⁻¹, III. – over 2001×10^3 cells.ml⁻¹. We found a gradual increase in the frequency of occurrence of SC in the class II. and III., highest in 2023 in III. class up to 52.25% compared to 2020 28.69%. The fat values increase within individual years, which is related to the decrease in the amount of milk per milking period. We found the highest milk production in 2020 with the lowest fat and highest protein. Within the year 2022, where we found the highest values of SCC with the highest frequency of occurrence above 2001×10^3 cells.ml⁻¹, the average values of milk production were comparable. The values of the fat content increase within individual years, which is related to the decrease in the amount of milk per milking period. In terms of protein content, the differences between the classes were minimal. Lactose content tends to decrease with increasing SCC, which may be due to subclinical mastitis caused by pathogens occurring in milk. We can conclude that SCC is an important indicator of the health status of the mammary gland of goats, but a risk factor, either infectious or non-infectious, that is specific to each goat farm needs to be established.

Keywords: dairy goat, milk yield, somatic cell count

ÚVOD

Mlieko je jedným z najpoužívanějších a zároveň najcennejších produktov živočíšneho pôvodu. Hoci 80 % mliečnych výrobkov je vyrobených z kravského mlieka, produkcia kozieho mlieka je cenená vďaka svojim nutričným zložkám, ľahšej stráviteľnosti a pozitívnym zdravotným benefitom spojeným s týmito výrobkami (Kanca, 2017).

Zloženie kozieho mlieka je veľmi podobné kravskému z pohľadu obsahu tuku a bielkovín, ale kozie mlieko sa v niektorých fyzikálno-chemických vlastnostiach líši od kravského mlieka. Zloženie bielkovín je (70/30%) v prospech β-kazeínu, tukové guľôčky sú menšie, takže je lepšie stráviteľné a hypoalergénne oproti kravskému mlieku (Králíčková et al., 2013, Šlyžius et al., 2023).

Počet somatických buniek (PSB) je bežne používaná nepriama a najmä nenákladná diagnostická metóda zdravotného stavu vemená dojených zvierat. Na rozdiel od dojníc, kde Európska únia stanovila limit do 400 000 buniek v 1ml (nariadenie Rady č. 853/2004), limit u malých prežúvavcov nie je stanovený. Kozie mlieko obsahuje prirodzene vyššie PSB ako kravské mlieko v dôsledku apokrinného sekrečného procesu kôz (Králíčková et al., 2013). Leitner et al. (2004) uviedli ako normálne PSB v mlieku kôz medzi 210 000 a 1 120 000 buniek/ml.

V porovnaní s klinickou mastitídou, pri ktorej sú prejavy zápalu mliečnej žľazy zjavné (Čobirka et al., 2020), subklinická mastitída často zostáva nepovšimnutá a môže byť zdrojom infekcie pre ostatné zvieratá. Rupp et al. (2014) udáva 20-30% prevalenciu v rámci jednej laktácie. Význam subklinickej mastitídy a PSB ako limitujúceho faktora ku množstvu

produkcii mlieka je dobre zdokumentovaná u dojníc a oviec (Pleguezuelos et al., 2015), ale sú publikované veľmi rôzne výsledky u dojnych kôz, u ktorých mali hlavný podiel neinfekčné faktory (Jiménez-Granado et al., 2014, Olechnowicz and Jaśkowski, 2014).

Somatické bunky v mlieku pozostávajú z rôznych typov leukocytov, ako sú makrofágy, lymfocyty a polymorfonukleárne leukocyty (PMN), ktorých pomery sa líšia podľa živočíšnych druhov. PMN sú hlavným typom leukocytov, ktoré sa nachádzajú v mlieku zdravých kôz (Bagnicka et al., 2011) v porovnaní s kravským a ovčím mliekom, ktoré prevažne obsahuje makrofágy (Alhussien a Dang, 2018). Mastitída zvyšuje obsah PMN v kravskom a ovčom mlieku, ale nie v kozom mlieku, v ktorom stále predstavujú dominantný typ somatických buniek (Bagnicka et al. 2011).

Cieľom práce bolo vyhodnotiť vplyv počtu somatických buniek (PSB) na parametre mliekovej úžitkovosti na danej farme počas rokov 2020 až 2023.

MATERIÁL A METODIKA

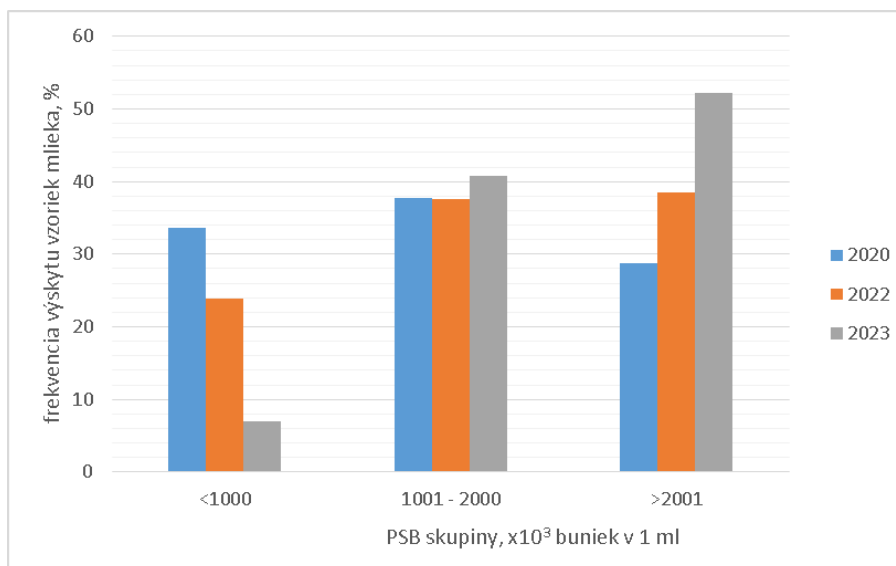
Na vybranej farme dojnych kôz na severe Slovenska sme hodnotili parametre mliekovej úžitkovosti v súvislosti PSB v rokoch 2020 až 2023. Zvieratá boli na 1. a 2. laktácii, strojovo dojené v paralelnej dojárni 2x12. Daná farma má šľachtiteľský chov plemena biela koza krátkosrstá a je v kontrole úžitkovosti zabezpečovanej Plemenárskymi službami SR, š.p. Bratislava. Okrem množstva nadojeného mlieka a zložiek (DairySpec FT, Bentley Instruments, Inc., USA) sa v rámci dojenej periódy robila na konci dojenej periódy (august) aj analýza počtu somatických buniek okrem roku 2021 (Somacount FC, Bentley Instruments, Inc., USA).

Pre posúdenie zdravotného stavu vemena kôz na základe PSB sme si stanovili triedy PSB a to nasledovne: Trieda I. – do 1000×10^3 buniek.ml⁻¹, II. – 1001×10^3 do 2000×10^3 buniek.ml⁻¹, III. – nad 2001×10^3 buniek.ml⁻¹. Pre spracovanie údajov a ich grafické znázornenie sme použili program Microsoft Excel.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na obrázku 1 sme znázornili frekvenciu výskytu vzoriek mlieka podľa počtu somatických buniek (PSB) v rámci rokov 2020 až 2023. V roku 2021 nebolo meranie PSB robené. Ako vidíme z obrázku 1 na danej farme prichádza k postupnému nárastu PSB v triede III. nad $2001 \cdot 10^3$ buniek.ml⁻¹.

PSB v kozom mlieku je väčšinou oveľa vyšší ako v kravskom mlieku a neinfekčné faktory, ako je štádium laktácie, cyklus, spôsob dojenia, sezóna, plemeno a poradie laktácie môžu ovplyvniť hodnoty PSB. Soquila (2023) odporúča akékoľvek pozitívne intramamárne nálezy potvrdiť bakteriálnym vyšetrením. Podhorecká et al. (2021) skonštatovali fyziologicky vyššie hodnoty PSB v kozom mlieku oproti kravskému mlieku.



Obrázok 1 Frekvencia výskytu vzoriek mlieka na základe PSB v jednotlivých triedach PSB

Dojené kozy boli počas prvých mesiacov ešte cicané kozľatami, takže zvýšený PSB mohol byť spôsobený zvýšeným počtom leukocytov ako reakciou na bakteriálnu infekciu tkaniva zranením, bolesťou a stresom z poranených ceckov od mláďat (Sharma et al., 2011).

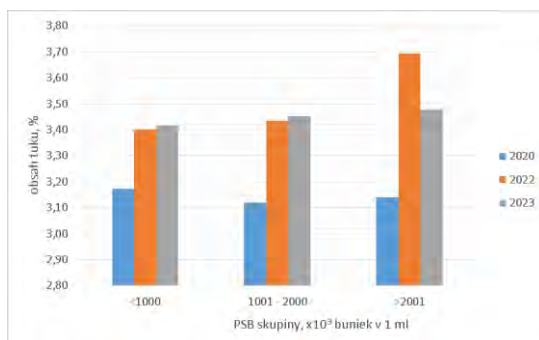
Hussein et al. (2020) neodporúčajú PSB ako správny indikátor na monitorovanie intramamárnej infekcie a bakteriologické vyšetrenie je efektívnejšie na hodnotenie zdravotného stavu vemena jednotlivých dojných kôz. Stále je potrebné identifikovať spoľahlivý a cenovo dostupný skrining na hodnotenie zdravotného stavu mliečnych žliaz. Navyše úroveň PSB je zvyčajne veľmi vysoká na konci laktácie, preto je ťažké rozlišovať medzi zdravými a chorými zvieratami v tejto fáze (Jiménez-Granado et al., 2014). Vyšší PSB mení technologické vlastnosti mlieka (Podhorecká et al., 2021) a nepriamo súvisí s výškou produkcie mlieka. Najvyššiu produkciu mlieka sme zistili v roku 2020 pri najnižšom tuku a najvyšších bielkovinách (tab. 1, graf 2 a 3). V rámci roku 2022, kde sme zistili najvyššie hodnoty PSB s najvyššou frekvenciou výskytu nad 2001 x10³ buniek.ml⁻¹, boli priemerné hodnoty produkcie mlieka porovnateľné (tab. 1). Pleguezuelos et al. (2015) zistili pri hladine PSB nad 1000 x 10³ buniek v 1 ml tendenciu zníženej dojivosti a zvýšeného obsahu tuku a bielkovín v porovnaní s kozami s nízkym PSB. Sklon regresie medzi PSB a obsahom zložiek boli nižšie pre obsah tuku.

Tabuľka 1 Produkcia mlieka za dojnú periódu (I) v rámci PSB skupín

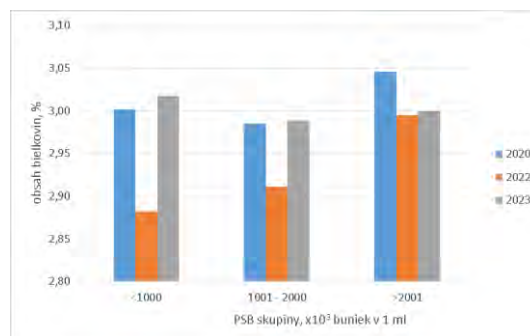
rok	n	PSB skupiny, x 10 ³ buniek v 1 ml							
		priemer	<1000	n	priemer	1001 - 2000	n	priemer	>2001
		PSB	I.trieda		PSB	II.trieda		PSB	III.trieda
2020	41	717,56	944,07±94,30	46	1406,17	926,79±93,30	35	3694,83	967,48±84,87
2022	54	605,43	796,90±135,63	85	1404,19	752,89±113,74	87	10814,28	760,20±114,75
2023	17	785,41	702,63±154,65	100	1495,63	723,76±169,62	128	3479,66	748,38±161,94

Na obrázkoch 2 až 4 sme uviedli obsah základných zložiek mlieka. Hodnoty obsahu tuku v rámci jednotlivých rokov stúpajú, čo súvisí s poklesom množstva mlieka za dojnú periódu ako vidíme v tabuľke 1.

My sme zistili trend zvyšovania obsahu tuku v triede PSB II. A III., čo môže byť ovplyvnené aj výškou produkcie mlieka (tab. 1, obrázok 2). Pri obsahu bielkovín boli rozdiely medzi triedami minimálne, čo pripisujeme optimálnej úrovni výživy dojných kôz.

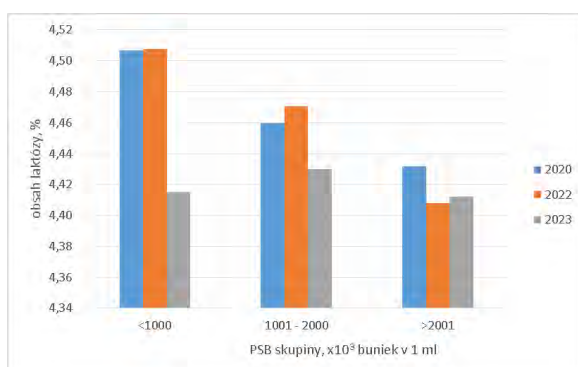


Obrázok 2 Obsah tuku v kozom mlieku na základe PSB v jednotlivých triedach



Obrázok 3 Obsah bielkovín v kozom mlieku na základe PSB v jednotlivých triedach

Obsah laktózy má klesajúcu tendenciu so zvyšujúcim sa PSB, čo môže byť spôsobené subklinickými mastitídami zapríčinené patogénmi vyskytujúcimi sa v mlieku (obr. 4).



Obrázok 4 Obsah laktózy v kozom mlieku na základe PSB v jednotlivých triedach

ZÁVER

Zastúpenie vzoriek mlieka podľa PSB v jednotlivých triedach sa ukazuje ako vhodný systém hodnotenia zdravotného stavu vemien kôz na farme s možným stanovením hraničných hodnôt, ako je tomu pri posudzovaní zdravotného vemena dojnic. Každá farma dojených kôz je špecifická technikou a technológiou chovu a preto je potrebné stanoviť rizikový faktor, či už infekčný alebo neinfekčný, ktorý negatívne ovplyvňuje zdravotný stav mliečnych žliaz kôz. Všeobecne platí, že kozie mlieko má vyšší PSB ako kravské mlieko a interpretácia zistených hodnôt PSB u kôz je zložitejšia ako u kráv.

LITERATÚRA

- Alhussien, M. N., Dang, A. K. 2018. Milk somatic cells, factors influencing their release, future prospects, and practical utility in dairy animals: An overview. In *Vet. World*, 11, 562–577 doi: 10.14202/vetworld.2018.562-577
- Bagnicka, E.; Winnicka, A.; Józwik, A.; Rzewuska, M.; Strzałkowska, N.; Kósciuczuk, E.; Prusak, B.; Kaba, J.; Horbańczuk, J.; Krzyzewski, J. 2011. Relationship between somatic cell count and bacterial pathogens in goat milk. In *Small Rumin. Res.* 100, 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.04.014>
- Čobirka, M., Tančin, V., Sláma P. 2020. Epidemiology and classification of mastitis. In *Animals* (Basel). 2020, Nov 26;10(12):2212. doi: 10.3390/ani10122212. PMID: 33255907; PMCID: PMC7760962

- Jiménez-Granado, R., Sánchez, M., Arce, C., Rodríguez, V. 2014. Factors affecting somatic cell count in dairy goats: a review. In *Spanish Journal of Agricultural Research* 12: 133-150. <http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2014121-3803>
- Hussein, H. A., Fouad, M. T., Abd El-Razik, K. A., Amal M. A. El-M., Ambrosio, C. D., Scaloni, A., Gomaa, A. M. 2020. Study on prevalence and bacterial etiology of mastitis, and effects of subclinical mastitis and stage of lactation on SCC in dairy goats in Egypt. In *Trop Anim Health Prod* 52, 3091–3097. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02331-5>
- Kanca, N. 2017. The Nutritional Value and Health Benefits of Goat Milk Components. In *Nutrients in Dairy and Their Implications for Health and Disease*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 441–449. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809762-5.00035-8>
- Králíčková Š., Kuchtík J., Filipčík R., Lužová T., Šustová K. 2013: Effect of chosen factors on milk yield, basic composition and somatic cell count of organic milk of Brown short-haired goats. In *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 2013, LXI, No. 1, pp. 99–105, <http://dx.doi.org/10.11118/actaun201361010099>
- Leitner, G., Merin, U. N., Silanikove, N. 2004. Changes in Milk Composition as Affected by Subclinical Mastitis in Goats. In *J. Dairy Sci.* 87:1719–1726, DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73325-1
- NARIADENIE EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 853/2004 z 29. apríla 2004, ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu
- Olechnowicz, J., Jaśkowski, J. M. 2014. Mastitis in small ruminants. In *Med. Weter.* 70 (2), 67-72, <https://www.researchgate.net/publication/259969131>
- Pleguezuelos, F.J., De La Fuente, L.F., Gonzalo, C. 2015. Variation in Milk Yield, Contents and Incomes According to Somatic Cell Count in a Large Dairy Goat Population. In *J Adv Dairy Res.* 3: 145. doi:10.4172/2329-888X.1000145
- 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* 2021, 10 (5):1046. <https://doi.org/10.3390/foods10051046>
- Rupp, R., Palhière, I., Maroteau, C., Balloche, G., Sallé, G., Tircazes, A., Moreno, C., Foucras, G., Tosser-Klopp, G. 2014. Mapping QTL controlling milk somatic cell counts in sheep and goat support the polygenic architecture of mastitis resistance. Proceedings, 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production. Aug. 17-22, 2014 Vancouver, Canada.
- Soquira, Salvador S. 2023. Direct And Indirect Measurement Of Somatic Cell Count In *Detecting Subclinical Mastitis In Goats*. The Seybold Report. p. 1085-1090. DOI 10.17605/OSF.IO/9Z82Q
- Sharma, N., Singh, N., Bhadwal, M. 2011. Relationship of Somatic Cell Count and Mastitis: An Overview In *Anim Biosci* 24(3):429-438. DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.10233>
- Šlyžius, E., Anskiene, L., Palubinskas, G., Juozaitiene, V., Šlyžiene, B., Juodžentyte, R., Laučiene, L. 2023. Associations between Somatic Cell Count and Milk Fatty Acid and Amino Acid Profile in Alpine and Saanen Goat Breeds. In *Animals* 2023, 13, 965. <https://doi.org/10.3390/ani13060965>

Pod'akovanie: Práca podporená riešením projektu VEGA 1/0597/22 “Etiológia zmien počtu somatických buniek v mliečnej žľaze kôz: fyziologické a patologické aspekty” a projektu APVV-21-0134 „Subklinické mastitidy v chove bahníc a kôz: patogény, somatické bunky a morfológia vemena“,

Kontaktná adresa: Ing. Martina Vršková, PhD., Odbor systémov chovu, šľachtienia a kvality produktov, VÚŽV Nitra, Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky, martina.vrskova@nppc.sk

VÝSKYT A ETIOLÓGIA MASTITÍD V PRODUKČNÝCH CHOVOCH DOJNÍC

OCCURRENCE AND ETIOLOGY OF MASTITIS IN DAIRY COWS HERDS

František Zigo, Zuzana Farkašová, Silvia Ondrašovičová, Mária Vargová, Juliana Arvaiová, Ewa Pecka-Kielb

Abstract: The aim of the study was to evaluate the health of the mammary gland, to identify the pathogens causing mastitis and determinate their virulence factors in 960 dairy cows in four dairy farms located in eastern Slovakia and Czechia. Staphylococci (59.1%), streptococci (17.8%), *E. coli* (11.9%) and enterococci (11.2%) were the most frequent causes of mastitis in dairy cows, according to the findings of this study. Coagulase-negative staphylococci (CoNS), in addition to the main udder pathogens including *S. aureus*, *S. uberis*, and *S. agalactiae*, pose a serious concern to dairy animals. The majority of the virulence factors as production of hemolysins, gelatinase, biofilm, the ability to hydrolyze DNA, and resistance to antibiotics were found in *S. chromogenes*, *S. warneri*, and *S. xyloso*, which were isolated from infected animals with clinical and chronic mastitis. Tested strains of *S. aureus* and CoNS by disk diffusion method showed 77.0% resistance to one or more antimicrobial classes from mastitic milk samples. Due to the high resistance to β -lactam-antibiotics in two isolates of *S. aureus* and two species of CoNS isolated from milk samples, the presence of a methicillin-resistant gene *mecA* was confirmed which poses serious complications for the treatment of infected cows.

Keywords: cows, lactation, mastitis, coagulase-negative staphylococci, antibiotics, resistance

ÚVOD

Do dnešného dňa je evidovaných viac ako 137 rôznych pôvodcov intramamárnej infekcie (IMI) prežúvavcov zahŕňajúc baktérie, vírusy, mykoplazmy, kvasinky a riasy. Až 95% IMI je najčastejšie zapríčinená baktériami. Ich najčastejší prienik do mliečnej žľazy je cez ceckový otvor a kanálik, prípadne z lézií poškodenej kože, kedy sú baktérie rozšírené počas procesu dojenia (Čobirka et al., 2020). Vo všeobecnosti sa predpokladá, že každý prípad mastitídy je spôsobený jedným primárnym patogénom, keďže vo vzorkách mlieka z infikovanej mliečnej žľazy bol zvyčajne identifikovaný iba jeden bakteriálny druh. Nie je však zriedkavé zistiť infekcie zapríčinené dvoma rôznymi druhmi patogénov a v malej časti vzoriek sa našli dokonca tri a viac patogény (Dufour et al., 2019).

Medzi kontagióznymi infekčnými pôvodcami, ktoré kolonizujú priamo mliečnu žľazu pri kontaminácii z dojaceho zariadenia a rúk dojičov patria baktérie *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* a hemolytické streptokoky, hlavne druhy séro skupín C, G a L. Mastitídy vyvolané patogénnymi baktériami, ktoré normálne neinfikujú mliečnu žľazu, ale spôsobujú infekciu ak im je z okolia umožnený prístup do cisterny mliečnej žľazy cez ceckový kanálik, môžeme označiť ako environmentálne. Ich zdrojom je vonkajšie prostredie, v ktorom prežívajú a extrémne rýchlo sa množia. Zaraďujeme k nim, tzv. „environmentálne“ streptokoky *Streptococcus uberis*, *Enterococcus* spp., baktérie, predovšetkým *Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Klebsiela pneumoniae*, *Enterobacter* spp., *Arcanobacterium pyogenes* a iné (Vasil' et al., 2012; Holko et al., 2019).

V poslednej dobe sú významnými v etiológii environmentálnych mastitíd baktérie *Staphylococcus* spp. a to hlavne koaguláza–negatívne stafylokoky (KNS). Práve tieto baktérie majú veľa vlastností, ktoré im dovoľujú vyhnúť sa účinku dezinfekčným a antimikrobiálnym látkam. Podľa slovenských štúdií, medzi najčastejšie patogény spôsobujúce mastitídu dojnic

patria KNS ako *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus warneri* a *Staphylococcus xylosus*, nasledujú *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *E. coli* a enterokoky (Vasil' et al., 2012; Holko et al., 2019; Zigo et al., 2022).

Medzi hlavné komplikácie spojené s liečbou stafylokokových mastitíd patrí skutočnosť, že mnohé kmene môžu spôsobiť toto ochorenie a čoraz väčší počet z nich sa stáva odolným voči čoraz väčšiemu spektru antibiotík (ATB) dostupných na veterinárne účely. Jednou z častých príčin rastúcej rezistencie je bežná prax plošného zasušenia dojníc intramamárnymi antibiotikami na produkčných farmách popri liečbe klinických prípadov. Podľa talianskej štúdie, realizovanej na 101 farmách s chovom hovädzieho dobytku bola 3x vyššia spotreba antibiotík na produkčných farmách ako na farmách bez trhovej produkcie mlieka (Ferroni et al., 2020).

Okrem zvýšenej antibiotickej rezistencie, autori Haveri et al. (2007) a Vasil et al. (2017) potvrdili u stafylokokov izolovaných zo vzoriek mastitídneho mlieka tvorbu biofilmu a lyzínov, ktoré považovali za dôležité faktory virulencie, ktoré sa podieľajú na adhérencii stafylokokov k epitelu s prejavom klinických príznakov zápalu mliečnej žľazy.

Je preto dôležité pochopiť, ako tieto mikroorganizmy si uľahčujú adhéziu et alonizáciu epitelu mliečnej žľazy, čo im umožňuje prežiť, úspešne sa usadiť a pretrvávajú v hostiteľskom tkanive. Štúdia sa zaoberá detekciou a etiológiou kontagiózných a environmentálnych patogénov mliečnej žľazy v štyroch produkčných chovoch dojníc lokalizovaných na Slovensku a Česku. Najmä u izolovaných stafylokokov bol zisťovaný ich vplyv na jednotlivé formy mastitíd s detekciou faktorov virulencie.

MATERIÁL A METODIKA

Monitorované farmy dojníc

Praktická časť štúdie bola realizovaná v štyroch produkčných farmách dojníc lokalizovaných na Slovensku (Prešovský kraj) a v Čechách (Ostravský kraj). Výber fariem bol realizovaný s konvenčným chovom s použitím domácich plemien hovädzieho dobytku (slovenský a český strakatý dobytok) s dojivosťou 6,5–7,5 kg x 10³ za laktáciu. Z každej krajiny boli vyšetrené dve farmy o veľkosti 250 - 350 ks dojníc medzi 1. a 4. laktáciou, 14 – 100 dní po otelení s priemernou dennou dojivosťou od 18,7 +/- 2,4 l až 23,2 l +/- 3,1 l. Sledované dojnice na všetkých štyroch farmách boli chované systémom voľného ustajnenia na slamenej podstielke s voľným prístupom k vode a kŕmené TMR v súlade s nutričnými požiadavkami pre dojnice o hmotnosti 650 kg (NRC, 2001). Všetky kravy sa dojili dvakrát denne v paralelnej dojárni (BouMatic, USA) alebo v rybinovej dojárni (DeLaval, Švédsko) s aplikáciou pre a post-dippingového roztoku.

Vyšetrenie dojníc

Celkovo bolo vyšetrených 270 kráv z prvej a 215 kráv z druhej slovenskej farmy a 250 kráv z prvej a 225 kráv z druhej českej farmy. Vybrané dojnice z rovnakej úžitkovej skupiny - skorá laktácia (14-100 dní po otelení) boli ustajnené v jednotlivých chovných skupinách, ktoré zahŕňali 45–90 zvierat na každej farme. Každá dojnica bola komplexne vyšetrená na základe klinického vyšetrenia so senzorickým vyšetrením a palpáciou vemena. Odstreky mlieka z každej štvrte vemena boli podrobené senzorickému vyšetreniu a hodnotené NK-testom podľa Tančin et al. (2020).

Pre laboratórnu diagnostiku bakteriálnych patogénov boli podľa Holko et al. (2019) odobraté zmesné vzorky surového mlieka od kráv s pozitívnym NK-test skóre 1 až 3. Podľa klasifikácie mastitíd boli jednotlivé formy na základe klinického vyšetrenia vemena, zvýšeného

PSB podľa posúdenia NK-testu a laboratórneho vyšetrenia odobratých vzoriek mlieka vyhodnotené ako subklinické, klinické a chronické IMI (NMC, 2001).

Kultivácia vzoriek a detekcia patogénov mliečnej žľazy

Inokulum každej vzorky mlieka (0,2 ml) sa naočkovalo na platne s 5 % krvným agarom, ktoré sa inkubovali pri 37 °C a po 24 hodinách sa vyhodnotili. Na základe morfológických vlastností boli primokultivované kolónie z krvného agaru znovu subkultivované na rôznych selektívnych živných pôdach ďalších 24 hodín pri 37 °C. Identifikácia *Staphylococcus* spp. sa uskutočnila podľa hodnotenia rastu podozrivých baktérií na selektívnych agaroch (5% krvný agar, agar 110, Baird-Parker agar, Brilliance UTI Clarity Agar, OXOID Ltd, UK). Následne boli kolónie identifikované na základe morfológického tvaru, farbenia podľa Grama, typu hemolýzy, aktivity katalázy (3% H₂O₂, Merck, Darmstadt, Nemecko), hydrolýzy eskulínu a cytochróm oxidázy C (Bactident Oxidase, Merck). Eskulín pozitívne streptokoky boli kultivované na modifikovanom Rambachovom agare pre bližšiu identifikáciu *Str. uberis* alebo *Enterococcus* spp. podľa štúdií Vasil' et al. (2012) a Holko et al. (2019). Identifikácia každého druhu bola vykonaná biochemickými testami a to STAPHYtestom 24, STREPTOtestom 24, resp. ENTEROtestom 24 a vyhodnotené programom TNW ProAuto 7.0 (Erba-Lachema, Brno, CZ) s pravdepodobnosťou správneho označenia druhu nad 90%. Navyše, u všetkých suspektných stafylokokov a streptokokov bol použitý pre detekciu MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Bremen, Nemecko) pomocou metódy hmotnostnej spektrofotometrie s laserovou desorpciou a ionizáciou (Ozbey et al., 2022). Pre overenie správnosti identifikácie bol použitý referenčný kmeň *S. aureus* CCM 7113 (CCM, Masarykova univerzita, Brno, CZ) ako kontrolná vzorka.

Vzorky kultivátov boli považované za pozitívne ak bola detegovaná prítomnosť jednej alebo viacerých jednotiek tvoriacich kolónie (CFU) hlavných patogénov vemena, ako je *S. aureus*, *Str. dysgalactiae* alebo *Str. agalactiae*. Taktiež sa vzorka považovala za pozitívnu, ak bol potvrdený rast kontagiózneho patogénu vemena v spojení s inými druhmi environmentálnych patogénov alebo ak tieto patogény tvorili aspoň tri CFU. Ak sa nepreukázali hlavné kontagiózne patogény alebo sa z jednej vzorky mlieka izolovali tri a viac patogénov, takéto kultiváty sa považovali za kontaminované.

Detekcia faktorov virulencie u stafylokokov

Potvrdené stafylokoky na základe analýzy MALDI-TOF boli podľa predchádzajúcej štúdie Hiko (2019) testované na produkciu extracelulárnych proteolytických enzýmov (test hydrolýzy želatíny) a deoxyribonukleázovému testu (test DNázy). Tvorba biofilmu bola stanovená fenotypovou metódou na Kongo Red agare (CRA) podľa Vasil'a et al. (2017). Schopnosť stafylokokov produkovať hemolýziny bola stanovená podľa Moraveji et al. (2014). Typy hemolýzy boli fenotypovo charakterizované na základe zóny lýzy každého stafylokokového izolátu na platniach s krvným agarom s prídavkom 5% ovčej krvi po 24 a 48 hodinách inkubácie pri 37 °C.

Citlivosť stafylokokov (n=136) izolovaných z kravského mastitídneho mlieka bola testovaná *in vitro* voči 14 antimikrobiálnym látkam. Testy citlivosti izolátov sa vykonávali na Mueller Hintonovom agare pomocou diskovej difúznej metódy (CLSI, 2018). Výber testovaných antimikrobiálnych látok bol zvolený na základe používaných intramamárnych antibiotík pre liečbu dojnic počas laktácie a v zasušení. Inhibičné zóny boli klasifikované ako citlivé, intermediálne alebo rezistentné podľa noriem CLSI (2021). Ako kontrola v testoch slúžili referenčné kmene *S. aureus* CCM 4750 a *S. chromogenes* CCM 3386 (CCM, Masarykova univerzita, Brno, CZ).

Fenotypovo pozitívne stafylokoky (45 izolátov zo vzoriek mastitídneho mlieka) na základe ich antimikrobiálnej rezistencie na β -laktámové antibiotiká boli testované PCR metódou na prítomnosť génu *mecA* podľa Hein et al. (2005). Podobnosť sekvencií DNA získaných z izolátov so sekvenciami dostupnými z databázy GenBank–EMBL (Európske laboratórium molekulárnej biológie) bola stanovená pomocou programu BLAST (softvérový balík NCBI). Referenčný kmeň *S. aureus* CCM 4750 (Česká zbierka mikroorganizmov, Brno, CZ) bol použitý ako pozitívna kontrola pre PCR.

Štatistické metódy

Na spracovanie získaných výsledkov bol použitý Microsoft Excel 2007® (Microsoft Corp., Redmond, USA) a na analýzu použitá SPSS verzia 20 a Excel (IBM Corp., Armonk, USA). Podľa špecifických mikrobiálnych druhov a foriem mastitíd boli nálezy kultivovaných patogénov spracované a prepočítané na percentá. Na vyjadrenie výsledkov antimikrobiálnej rezistencie sa pozitívne testované stafylokoky pre každý typ antimikrobiálnej látky prepočítavali na percentá. Podľa produkcie faktorov virulencie sa porovnávali izoláty stafylokokov z klinickej, subklinickej alebo chronickej mastitídy pomocou chi-kvadrát testu. Hladina významnosti bola stanovená na 0,05, ak kritická hodnota χ^2 bola 2,206. V rámci každého testovaného *Staphylococcus* spp. bola štatistická závislosť medzi izolátmi s faktormi virulencie významná, ak testovacia hodnota bola rovnaká alebo väčšia ako kritická hodnota ($G \geq \chi^2$), závislosť nebola štatisticky významná ak $G \leq \chi^2$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Napriek zvyšujúcej sa úrovni zoohygienického zabezpečenia chovu dojníc, mastitída je stále jedným z hlavných zdravotných problémov. Vyšetrenie štyroch produkčných stád dojníc ukázalo, že z 960 vyšetrených dojníc počas skorej fázy laktácie (14 – 100 dní po otelení) malo 689 kráv (71,7%) negatívne skóre NK-testu a 271 kráv (28,2%) malo pozitívne skóre NK-testu na jednu alebo viac štvrtí. Na základe anamnézy, klinického vyšetrenia a pozitívneho NK-testu bolo z 271 zmesných vzoriek kultivovaných 230 (84,8 %) izolátov spôsobujúcich subklinickú, klinickú alebo chronickú mastitídu. Ako negatívne alebo kontaminované bolo vyhodnotených 41 vzoriek (15,1%).

Podľa Singha et al. (2021), klinické mastitídy predstavujú vážny zdravotný problém, ktorý môže mať za následok zníženú pohodu zvierat, zníženie až zastavenie dojivosti, zvýšené náklady na liečbu, predčasné vyradenie alebo úhyn, zhoršenie kvality mlieka s zvýšeným rizikom antimikrobiálnej rezistencie. Wentz et al. (2001) vo svojej štúdií zistili, že mnohé prípady klinických mastitídy spôsobujú grampozitívne mikroorganizmy (*Staphylococcus* spp. alebo *Streptococcus* spp.), čo sa potvrdilo aj v našej štúdií.

Z 230 pozitívnych vzoriek na bakteriálne patogény mliečnej žľazy až v 136 prípadoch (59,1% infikovaných vzoriek) boli potvrdené stafylokoky z čoho, KNS predstavovali najčastejšie detekované baktérie v 42,6% pozitívnych nálezoch (Tabuľka 1). Druhým najrozšírenejším patogénom bol *S. aureus* (16,5%), za ním nasledovali infekcie zapríčinené *E. coli* (11,3%), streptokokmi (*Str. uberis*: 9,1%; *Str. agalactiae*: 3,4%) a enterokokmi (6,1%). Najčastejšou formou intramamárnej infekcie bola subklinická mastitída, ktorá predstavovala 46,9% zo všetkých pozitívnych prípadov. Okrem toho, bakteriálne patogény izolované z klinických prípadov sa vyznačovali v 37,8% viditeľnými zmenami v mliečnom sekréte a s vysokým skóre NK-testu. Z izolovaných patogénov sa najviac podieľal na výskyte klinických mastitíd KNS (16,5%), *S. aureus* (7,8%) a *Str. uberis* (3,8%). Na základe predchádzajúcej anamnézy a aktuálneho vyšetrenia zdravotného stavu vemena boli chronické mastitídy (15,2% zo všetkých pozitívnych prípadov) zapríčinené primárne *S. aureus* (4,7%), KNS (3,5%), *Str. uberis* (3,0%), *Str. agalactiae* (1,3%) a zmiešanými infekciami (1,7 %).

Tabuľka 1. Patogény mliečnej žľazy izolované zo vzoriek mlieka a ich podiel na jednotlivých formách mastitíd

Patogén	Počet izolátov	% (n=230)	Klinická n/%			Chronická	Subklinická
			KM1	KM2	KM3	n/%	n/%
KNS	98	42.6	28/12.2	7/3.0	2/1.3	8/3.5	53/23.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	38	16.5	10/4.3	5/2.2	3/1.3	11/4.7	9/3.9
<i>Escherichia coli</i>	26	11.2	5/2.2	2/0.9	0/0	2/0.9	17/7.4
<i>Str. uberis</i>	21	9.1	4/1.7	4/1.7	1/0.4	7/3.0	5/2.2
<i>Str. agalactiae</i>	8	3.4	0/0	3/1.3	0/0	3/1.3	2/0.9
<i>Streptococcus spp.</i>	10	4.3	4/1.7	0/0	0/0	0/0	6/2.6
<i>Enterococcus spp.</i>	14	6.1	2/0.9	1/0.4	0/0	0/0	11/4.8
Zmiešaná IMI ¹	15	6.5	4/1.7	2/0.9	0/0	4/1.7	5/2.2
Spolu	230	100	57/24.7	24/10.5	6/2.6	35/15.2	108/46.9

Poznámka: Klinická mastitída vrátane miernej (KM1), strednej (KM2) a ťažkej formy (KM3), Zmiešaná IMI¹ – zmiešaná intramamárna infekcia dvomi a viac bakteriálnymi patogénmi.

Tabuľka 2 sumarizuje v zostupnej frekvencii izolované kmene *Staphylococcus spp.* a ich faktory virulencie na výskyte jednotlivých foriem mastitíd. Z kontagiózných pôvodcov bol *S. aureus* izolovaný z 18 klinických, 11 chronických a 9 subklinických prípadov mastitíd, a bol vyhodnotený ako najčastejšie izolovaný patogén s najvyššou schopnosťou tvorby faktorov virulencie ako je produkcia želatinázy, biofilmu, hemolýza a schopnosť hydrolyzovať DNA. U dvoch izolátoch *S. aureus* detegovaných z klinickej mastitídy bol potvrdený *mecA* gén. Z KNS bolo izolovaných osem druhov, pričom najpočetnejšie boli: *S. chromogenes* (22,4%), *S. warneri* (20,4%), *S. xylosus* (18,4%), *S. epidermidis* (9,1%), *S. haemolyticus* (7,1%), *S. hyicus* (10,2%), *S. capitis* (4,4%) a *S. piscifermentans* (4,4%). Zastúpenie KNS na jednotlivých formách IMI bolo rozdielne. Najčastejšie boli zistené prípady subklinickej mastitídy (39,0%) spôsobenej prevažne *S. xylosus*, *S. hyicus*, *S. warneri* a *S. epidermidis*. Klinická a chronická mastitída bola zistená v 37 prípadoch (27,2%), resp. v 8 prípadoch (5,9%), zapríčinená najmä *S. chromogenes*, *S. warneri* a *S. xylosus*. Štatistická významnosť ($\alpha = 0,05$) sa potvrdila u izolovaných stafylokokov *S. aureus*, *S. chromogenes*, *S. warneri* a *S. xylosus*, ktoré mali najpočetnejšie zastúpenie faktorov virulencie (produkcia hemolyzínov, želatináza, schopnosť hydrolyzovať DNA a biofilm) v porovnaní s menej virulentnými kmeňmi. Okrem toho bol *mecA* gén potvrdený z jedného chronického prípadu mastitídy u *S. chromogenes* a jedného prípadu klinickej mastitídy u *S. warneri*.

Podľa Perez et al. (2020), interakcia medzi produkciou hemolyzínov a biofilmom môže zvýšiť adhérenciu stafylokokov k bunkám epitelu mliečnej žľazy a ich prežívanie počas imunitnej odpovede organizmu a antibiotickej liečby. Naše výsledky potvrdili skutočnosť, že baktérie nesúce túto schopnosť sú rezistentné voči antimikrobiálnym látkam. Najmä stafylokoky so schopnosťou tvoriť biofilm boli vo väčšine prípadov rezistentné na testované antibiotiká. Z testovaných stafylokokov, 105 izolátov (77,2%) vykazovalo rezistenciu voči jednému alebo viacerým antibiotikám. Na jedno antibiotikum bolo rezistentných 51 izolátov (37,5%). Na dve alebo viac antimikrobiálnych látok bolo rezistentných 54 (39,7%) izolátov zo všetkých testovaných stafylokokov. Viacnásobná rezistencia na tri a viac antimikrobiálnych skupín bola zaznamenaná u 16 izolátov (11,7%). Testované stafylokoky preukázali multi-rezistenciu na kombináciu antimikrobiálnych skupín, ako sú aminoglykozidy, β -laktámy, makrolidy a cefalosporíny.

Tabuľka 2. Výskyt *S. aureus* a KNS na jednotlivých formách mastitíd u infikovaných kráv a ich faktory virulence

Staphylococcus spp. / počet	IMI ¹ /počet	Hemolýza ²	DNAza ³	Želatináza	Biofilm	<i>mecA</i> gene	Testovacia hodnota
<i>S. aureus</i> (38)	klinická (22)	6 α /4 δ /1 β	14	17	9	2	5.447*
	chronická (8)	3 α /2 δ /2 β	8	7	7	0	
	subklinická (8)	3 α /1 β	6	7	5	0	
Koaguláza-negatívne stafylokoky s výrazným zastúpením faktorov virulence							
<i>S. chromogenes</i> (22)	klinická (11)	4 β /3 δ	3	4	4	0	3.204*
	chronická (4)	3 β	1	1	2	1	
	subklinická (7)	2 β /2 δ	1	1	2	0	
<i>S. warneri</i> (20)	klinická (9)	4 δ /2 β	2	2	4	1	2.688*
	chronická (3)	3 β	0	0	1	0	
	subklinická (8)	3 β /1 δ	2	0	2	0	
<i>S. xylosus</i> (18)	klinická (7)	2 δ /2 β	2	0	3	0	2.255*
	chronická (1)	0	0	0	0	0	
	subklinická (10)	4 β /1 δ	0	0	2	0	
Koaguláza-negatívne stafylokoky s malým výskytom faktorov virulence							
<i>S. epidermidis</i> (9)	klinická (2)	1 δ	0	0	1	0	1.012
	subklinická (7)	2 δ	0	0	2	0	
<i>S. haemolyticus</i> (7)	klinická (4)	2 β /1 δ	1	0	2	0	0.742
	subklinická (3)	0	0	0	0	0	
<i>S. capitis</i> (6)	klinická (2)	2 δ	0	0	0	0	0.401
	subklinická (4)	0	0	0	0	0	
<i>S. piscifermentans</i> (6)	klinická (2)	1 β	0	0	1	0	0.851
	subklinická (4)	2 δ	0	0	0	0	
<i>S. hyicus</i> (10)	klinická (0)	0	0	0	0	0	0.332
	subklinická (10)	1 δ	0	0	1	0	

Poznámka: IMI¹ – počet izolátov zapríčiňujúcich intramamrne infekcie, Hemolýza² – produkcia hemolyzýn typu α , β alebo δ ; DNAza³- schopnosť stafylokokov hydrolyzovať DNA; *Chi-kvadrát test test – štatistická významnosť $\alpha = 0.05$; kritická hodnota $\chi^2 = 2.206$; Testovacia hodnota (G) a štatistická nezávislosť testovaných faktorov virulence u izolovaných stafylokokov bola potvrdená ak $G > \chi^2$; štatistická nezávislosť testovaných faktorov virulence u izolovaných stafylokokov nebola potvrdená ak $G < \chi^2$.

ZÁVER

Zo získaných výsledkov môžeme konštatovať, že v monitorovaných produkčných farmách dojníc viac ako polovica IMI (59,1%) bola spôsobená stafylokokmi, najmä KNS a *S. aureus*. Okrem *S. aureus*, niektoré KNS (*S. chromogenes*, *S. warneri* a *S. xylosus*) izolované z klinických a chronických mastitíd indikovali vysoký stupeň patogenity v produkcii viacerých faktorov virulence v porovnaní s inými kmeňmi. Najčastejšie u testovaných stafylokokov bola zistená rezistencia na aminoglykozidové a β -laktámové antibiotiká pravdepodobne preto, že sú to antimikrobiálne látky často používané pri liečbe mastitíd ako aj pri zasúšení dojníc. Na základe fenotypového profylu rezistencia na β -laktámové antibiotiká bola u dvoch izolátov *S. aureus* (2,9 %) a dvoch izolátov KNS (*S. chromogenes* a *S. warneri*) potvrdená prítomnosť rezistentného *mecA* génu na metilín. Naše zistenia potvrdili, že *S. aureus* stále patrí medzi dominantné stafylokoky zapríčiňujúce najmä klinické a perzistentné mastitídy s vysokou mierou patogenity ale niektoré druhy KNS môžu mať rovnaký agresívny potenciál na základe ich faktorov virulence.

LITERATÚRA

CLSI document M100–S31.2021. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Thirty–first informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA. 350 p.

- CLSI, document M2-A13. 2018. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, Thirteenth informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA. 92 p.
- Cobirka, M., Tančin, V., Slama, P. 2020. Epidemiology and Classification of Mastitis. In *Animals*, vol. 10, 2212.
- Dufour, S., Labrie, J., Jacques, M. The Mastitis Pathogens Culture Collection. *Microbiol Resour Announc* 2019; 8:15:e00133-19.
- Ferroni, L., Lovito, C., Scoccia, E., Dalmonte, G., Sargenti, M. et al. 2020. Antibiotic consumption on dairy and beef cattle farms of central Italy based on paper registers. In *Antibiotics*, vol. 9, 273.
- Haveri, M., Roslöf, A., Pyörälä, S. 2007. Virulence genes of bovine *Staphylococcus aureus* from persistent and nonpersistent intramammary infections with different clinical characteristics. In *Journal Appl Microbiol*, vol. 103, pp. 993-1000.
- Hein, I., Jorgensen, H. J., Loncarevic, S., Wagner, M. 2005. Quantification of *Staphylococcus aureus* in unpasteurized bovine and caprine milk by real-time PCR. In *Res Microbiol*, vol. 156, pp. 554-563.
- Hiko, A. 2019. DNase-cross-Coagulase test and antimicrobial resistance test on *Staphylococcus* along beef abattoir line in Addis Ababa Ethiopia. In *Ethiop Vet J*. vol. 23, pp. 90-110.
- Holko, I., Tančin, V., Vršková, M., Tvarožková, K. 2019. Prevalence and antimicrobial susceptibility of udder pathogens isolated from dairy cows in Slovakia. In *Journal of Dairy Research*, vol. 86, pp. 436-439.
- Moraveji, Z., Tabatabaei, M., Shirzad, A. H., Khoshbakht, R. 2014. Characterization of hemolysins of *Staphylococcus* strains isolated from human and bovine, southern Iran. In *Iran J Vet Res*, vol. 15, pp. 326-330.
- NMC. 2001. National mastitis council. *National Mastitis Council Recommended Mastitis Control Program*. Natl. Mastitis Council. Ann. Mtg. Proc., Reno, NV. Natl. Mastitis Council, Inc., Verona, WI. 408 p.
- NRC. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th ed. WASHINGTON, USA: The National Academies Press, National Research Council. 381 p.
- Ozbey, G., Cambay, Z., Yilmaz, S., Aytakin, O., Zigo, F., Ozçelik, M., Otlu, B. 2022. Identification of bacterial species in milk by MALDI-TOF and assessment of some oxidant-antioxidant parameters in blood and milk from cows with different health status of the udder. In *Polish Journal of Veterinary Sciences*, vol. 25, pp. 269-277.
- Pérez, V. K. C., Da Costa, G. M., Sá Guimarães, A., Heinemann, M. B., Lage, A. P., Dorneles, E. M. S. 2020. Relationship between virulence factors and antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis. In *Journal of Global Antimicrobial Res.* vol. 22, pp. 792-802.
- Singha, S., Koop, G., Persson, Y., Hossain, D., Scanlon, L., et al. 2021. Incidence, etiology, and risk factors of clinical mastitis in dairy cows under semi-tropical circumstances in Chattogram, Bangladesh. In *Animals*, vol. 11, 2255.
- Tančin, V., Mikláš, Š., Čobirka, M., Uhrinčat', M., Mačuhová, L. 2020. Factors affecting raw milk quality of dairy cows under practical conditions. In *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 14, pp. 744-749.
- Vasil', M., Elečko, J., Zigo, F., Farkašová, Z. 2012. Occurrence of some pathogenity factors in coagulase negative *Staphylococci* isolated from mastitis milk in dairy cows. In *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Science*, vol. 6, pp. 60-63.
- Vasil', M., Farkasova, Z., Elecko, 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 *Pol J Vet Sci*. vol. 20, pp. 795-801.
- Wenz, J. R., Barrington, G. M., Garry, F. B. 2001. Bacteremia associated with naturally occurring acute coliform mastitis in dairy cows. In *J Am Vet Med Assoc*, vol. 219, pp. 976-981.
- Zigo, F., Farkašová, Z., Výrostková, J., Regecová, I., Ondrašovičová, S., et al. 2022. Dairy cows' udder pathogens and occurrence of virulence factors in *Staphylococci*. In *Animals*, vol. 4, 470.

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

Kontaktná adresa: František Zigo, doc., MVDr. PhD., Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 04181 Košice, Slovenská Republika, email: frantisek.zigo@uvlf.sk

Zuzana Farkašová, MVDr. PhD., Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 04181 Košice, Slovenská Republika, email: zuzana.farkasova@uvlf.sk

Silvia Ondrašovičová, MVDr. PhD., Katedra biológie a fyziológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 04181 Košice, Slovenská Republika, email: silvia.ondrasovicova@uvlf.sk

Mária Vargová, MVDr. PhD., Katedra verejného veterinárneho lekárstva a welfare zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 04181 Košice, Slovenská Republika, email: maria.vargova@uvlf.sk

Juliana Arvaiová, Ing. Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 04181 Košice, Slovenská Republika, email: juliana.arvaiova@student.uvlf.sk
Ewa Pecka-Kielb, Assoc. prof., Inž., Department of Animal Physiology and Biostructure, Wroclaw University of Environmental and Life Sciences, Norwida 31, 50-375 Wroclaw, Poland, email: ewa.pecka@upwr.edu.pl

Bezpečnost a kvalita mäsa a mäsových výrobkov

STANOVENIE VYBRANÝCH MIKROBIOLOGICKÝCH PARAMETROV V RYBACEJ SUROVINE DETERMINATION OF SELECTED MICROBIOLOGICAL PARAMETERS IN FISH RAW MATERIAL

*Lucia Benešová, Ladislav Ondruš, Silvia Jakobová, Peter Zajác, Jozef Čapla, Jozef Čurlej,
Jozef Golian*

Abstract: Innovation and optimization of new methods in company laboratories are very desirable in recent times. The main reason is that manufacturing companies are set to international quality management systems and their duty is to keep the product under control from the input raw materials to the final product. In the work, we dealt with the analysis of selected microbiological indicators in raw and heat-treated fish meat from various suppliers, as well as in finished products from these raw materials. We performed the determination of the numbers of yeasts, microscopic fungi, coliform bacteria, and *E. coli* using the establishment culture method according to the relevant standards. Microbiological control of both raw materials and finished products is crucial for their hygiene and health safety, usually monitoring the presence of yeasts, microscopic fungi, coliform bacteria, and other microorganisms. We checked daily for 1 month. Test results of microbiological analyzes of raw and heat-treated fish meat from various suppliers were under hygienic standards in production. The average results of selected microbiological indicators in the finished product Treska exklusiv on the 22nd day from the date of production meet the requirements outlined in the relevant regulations.

Keywords: microbiological parameters, fish material, fish products

ÚVOD

Základnou hygienickou podmienkou v potravinárskom podniku je dôkladná hygiena a sanitácia výrobných priestorov a technologických zariadení. Dôležitá podmienka je aj tá „neviditeľná“, teda mikrobiologická čistota. Medzi základné sledované mikrobiologické ukazovatele efektivity hygieny a sanitácie sú koliformné baktérie, medzi ktoré patrí napríklad *Escherichia coli*. Görner a Valík (2004) uvádzajú, že koliformné baktérie sú laktózo-pozitívne, oxidázonegatívne baktérie, ktoré sa v použitých živných pôdach alebo na ich povrchu správajú podobne ako druh *Escherichia coli* a jeho biotypy, *Enterobacter aerogenes* a *Enterobacter cloacae*, členovia rodov *Citrobacter* a *Klebsiella*. Jednou z hlavných príčin chorôb prenášaných potravinami je konzumácia pokazených potravín (Samanta a Choudhary, 2019). Pod pojmom koliformné baktérie rozumieme laktózo-pozitívne oxidázo-negatívne baktérie, ktoré sa na a v použitých živných pôdach správajú podobne ako druh *E. coli* a jeho biotypy. Základnými vlastnosťami koliformných baktérií z hľadiska ich zistenia a stanovenia na polotuhých médiách je fermentácia laktózy za tvorby kyselín a prechodných metabolitov a v tekutých médiách tvorba plynov a kyselín. Pre svoju termostabilitnosť sú v potravinách indikátorom spoľahlivosti pasterizácie a termizácie. Pre dobrý rast sú indikátorom sekundárnej kontaminácie potravín (Görner a Valík, 2004). *E. coli* tvorí gramnegatívne fakultatívne anaeróbne krátke paličky fermentujúce laktózu za tvorby organických kyselín a plynov. Patria do čeľade *Enterobacteriaceae*. *E. coli* je trvalým obyvateľom ľudskeho a zvieracieho zažívacieho traktu a je rozšírená všade v prírode (Valík a Prachar, 2009). Veľmi významným mikrobiologickým parametrom z hľadiska hygieny sú aj kvasinky a vláknité huby. Čo sa týka náročnosti na rast a rozmnožovanie, majú menšie nároky ako napríklad baktérie. Majú menšie nároky na podmienky rastu ako sú napríklad teplota, aktivita vody

alebo hodnota pH (Görner a Valík, 2004). Význam kvasiniek a plesní je zeda z hľadiska primárnej a sekundárnej kontaminácie.

MATERIÁL A METODIKA

V práci sme stanovovali vybrané mikrobiologické ukazovatele v surovom a uvarenom rybacom mäse rýb pochádzajúcich od rôznych dodávateľov (Aljašská treska z USA, Rusko, Čína, Čína MA, MA a bloky flamingo) a následne sme mikrobiologické ukazovatele stanovovali aj v hotových výrobkoch (6) zo surovín od týchto dodávateľov.

Stanovenie počtov kvasiniek a plesní v surovom a varenom rybacom mäse a hotových výrobkoch sa vykonávali zriadovacou kultivačnou metódou podľa príslušných STN ISO 21527-1: 2010. Stanovenie počtov koliformných baktérií a *E. coli* v surovom a varenom rybacom mäse a hotových výrobkoch sa vykonávali zriadovacou kultivačnou metódou podľa príslušných STN ISO 4832.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Mikrobiologická kontrola vstupných surovín ako aj hotových výrobkov je veľmi dôležitou súčasťou kontroly ich hygieny a zdravotnej bezpečnosti. Štandardne sa sleduje prítomnosť kvasiniek, mikroskopických vláknitých húb, koliformných baktérií, *Listeria monocytogenes* a v prípade potreby aj ďalšie mikroorganizmy. Mikrobiologickú kontrolu sme vykonávali denne počas 1 mesiaca. Vzhľadom k značnému rozsahu výsledkov sme neistili prekročenie požadovaných limitov, uvádzame vybrané ukazovatele vybraných mikrobiologických ukazovateľov.

Tabuľka 1 Výsledky mikrobiologických ukazovateľov v surovom rybacom mäse

Vzorka/krajina pôvodu	Kvasinky (KTJ.g ⁻¹)	Mikroskopické vláknité huby (KTJ.g ⁻¹)	Koliformné baktérie (KTJ.g ⁻¹)	<i>E. coli</i> (KTJ.g ⁻¹)
Aljašská treska USA	50	<10	<10	<10
Aljašská treska Rusko	70	<10	<10	<10
Aljašská treska Čína	<10	<10	<10	<10
Aljašská treska Čína MA	10	<10	<10	<10
Aljašská treska MA	<10	<10	<10	<10
B bloky flamingo	<10	<10	<10	<10

V tabuľke 1 a 2 sú uvedené priemerné hodnoty 30 vzoriek výsledkov mikrobiologických analýz vybraných parametrov očkovaných v podnikovom laboratóriu v surovom a tepelne upravenom rybacom mäse vzorkách tresky z rôznych krajín pôvodu a rôznych dodávateľov. Na dané suroviny nie je stanovený legislatívny limit. Výsledky mikrobiologických testov sú vyhovujúce a sú v súlade s nastavenými hygienickými štandardami vo výrobe.

Tabuľka 2 Výsledky mikrobiologických ukazovateľov v uvarenom rybacom mäse

Vzorka/krajina pôvodu	Kvasinky (KTJ.g ⁻¹)	Mikroskopické vláknité huby (KTJ.g ⁻¹)	Koliformné baktérie (KTJ.g ⁻¹)	<i>E. coli</i> (KTJ.g ⁻¹)
Aljašská treska USA	<10	<10	<10	<10
Aljašská treska Rusko	30	<10	<10	<10
Aljašská treska Čína	<10	<10	<10	<10
Aljašská treska Čína MA	<10	<10	<10	<10
Aljašská treska MA	<10	<10	<10	<10
B bloky flamingo	<10	<10	<10	<10

V tabuľke 3 sú priemerné výsledky (n=20) vybraných mikrobiologických ukazovateľov v hotovom výrobku Treska exklusiv očkované na 22. deň od dátumu výroby v troch vzorkách. Výsledky sú v súlade s Nariadením komisie (ES) č. 1441/2007 a Výnosu MPSR a MZSR zo 6. februára 2006 š. 06267/2006-SL.

Tabuľka 3 Výsledky mikrobiologických ukazovateľov v hotovom výrobku Treska exklusiv na 22. deň od dňa výroby

Vzorka/krajina pôvodu	Kvasinky (KTJ.g ⁻¹)	Mikroskopické vláknité huby (KTJ.g ⁻¹)	Koliformné baktérie (KTJ.g ⁻¹)	<i>E. coli</i> (KTJ.g ⁻¹)	<i>Listeria monocytogenes</i> (KTJ.g ⁻¹)
Treska exklusiv USA	<10	<10	<10	<10	neprítomné
Treska exklusiv Rusko	50	<10	<10	<10	neprítomné
Treska exklusiv Čína	<10	<10	<10	<10	neprítomné
Treska exklusiv Čína MA	<10	<10	<10	<10	neprítomné
Treska exklusiv MA	<10	<10	<10	<10	neprítomné
Treska exklusiv B bloky flamingo	<10	<10	<10	<10	neprítomné

Európska hygienická legislatíva bola v ostatnom čase doplnená o Nariadenie o mikrobiologických kritériách pre potraviny (Nariadenie č. 2073/2005 a č. 1441/2007), ktoré predpokladajú, že potraviny sa vyrábajú v prostredí bez kompromisov s požiadavkami Správnej výrobnnej a hygienickej praxe a pri zabezpečení zdravotnej bezpečnosti systémov HACCP.

ZÁVER

Hygienické kritériá sú vo výrobe nastavené na vyhovujúcej úrovni. Pri sledovaní mikrobiologických parametrov ako sú kvasinky, plesne, koliformné baktérie a *E. coli* mali nízke, resp. nulové hodnoty, ktoré nevytvárajú riziko z hľadiska zdravotnej bezpečnosti. Zo sledovaných surovín vyrobené hotové výrobky spĺňali platné a predpísané legislatívne hodnoty jednotlivých mikrobiologických parametrov.

LITERATÚRA

GÖRNER, Fridrich a VALÍK, Lubomír. Aplikovaná mikrobiológia požívatin: princípy mikrobiológie požívatin, potravinársky významné mikroorganizmy a ich skupiny, mikrobiológia potravinárskych výrob, ochorenia mikrobiálneho pôvodu, ktorých zárodky sú prenášané požívatinami. Bratislava: Malé centrum, 2004. ISBN 80-967064-9-7.

SAMANTA, Mrinal a CHOUDHARY, Pushpa. Safety of Fish and Seafood. Online. In: Food Safety and Human Health. Elsevier, 2019, s. 169-187. ISBN 9780128163337. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816333-7.00007-2>. [cit. 2024-02-23].

VALÍK, L., PRACHAR, V. 2009. *Pôvodcovia ochorení z požívatin a minimalizácia ich rizika*. Bratislava : Slovenská technická univerzita, 167 s. ISBN 978-80-227-3200-0.

STN ISO 21527-1: 2010 (56 0087), Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu kvasiniek a plesní.

STN ISO 4832 (560085) Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu koliformných baktérií. Metóda počítania kolónií.

Nariadenie Komisie (ES) č. 1441/2007 z 5. decembra 2007 , ktorým sa mení a dopĺňa nariadenie (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériách pre potraviny (Text s významom pre EHP) OJ L 322, 7.12.2007, p. 12-29.

Výnos MP SR a MZ SR zo 6. februára 2006 č.06267/2006-SL, ktorým sa dopĺňa výnos MP SR a MZ SR , ktorým sa vydáva PK SR upravujúca mikrobiologické požiadavky na potraviny a na obaly na ich balenie.

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

Kontaktná adresa: Ing. Lucia Benešová, PhD., Výskumné centrum AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, lucia.benesova@uniag.sk

PHYSICO-CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF THYME-CMC EMULSIONS FOR SHELF-LIFE EXTENSION OF SHRIMPS

Shweta Gautam, Tereza Hůsková, Lubomír Lapčík, Barbora Lapčíková

Abstract: Fresh seafood is highly prone to spoilage as soon as it is fished. The time frame from the fresh to the spoiled stage is very narrow. Therefore, it is highly pertinent to control the environment and the processing of the sea food to reduce spoilage (of all types) as soon as possible. Advanced packaging systems such as edible coatings can facilitate superior meat products. Furthermore, exploring sustainable packaging materials derived from waste generated in slaughter industries is gaining momentum. The carboxymethyl cellulose emulsions with encapsulated thyme oil was prepared and characterised. The emulsions were used as edible coatings for shrimps. The total volatile count of the shrimps coated with 3% emulsion was found to be the best for inhibiting bacterial growth.

Keywords: shrimps, total viable count, particle size, emulsion, carboxymethyl cellulose, thyme oil

INTRODUCTION

Seafood, fish and their products are considered essential components of a balanced and nutritious diet for their health benefits and are consumed worldwide (Hassoun et al., 2022). They are low in fat, high in protein, and high in micronutrients such as vitamins and minerals. Additionally, seafood is a major source of Omega - 3 fatty acids such as eicosapentaenoic acid (EPA) and also docosahexaenoic acid (DHA). These acids provide a number of health benefits, one of them being a reduction in the risk of cardiovascular disease (Carlucci et al., 2015; Petricorena, 2015). However, the sea foods come with the immense challenge of short shelf life. Especially, crustaceans and shellfish have a shorter shelf life compared to other seafood. They are subject to rapid spoilage due to biological reactions such as lipid oxidation, protein degradation or decomposition caused by endogenous or microbial enzymes (Hosseini et al., 2016). Accumulation of undesirable compounds from microbial growth and biochemical reactions is considered to be the most important cause of rapid spoilage in shrimps. The shelf life of shrimp is generally limited due to the formation of black dots or melanosis, which is harmless to the consumer but reduces consumer acceptability, resulting in a loss of market value (Nirmal and Benjakul, 2011). In general, fresh unprocessed shrimp should be stored in a refrigerator at 0-4 °C and must be consumed within 1-2 days after purchase.

Presently, seafood preservation is most often done by refrigeration or freezing. Therefore, the temperature at which seafood is stored is, without doubt, the most critical parameter controlling spoilage reactions. Refrigeration can preserve fish and seafood but cannot ensure their longer shelf life (He et al., 2019). For guaranteed long-term preservation of seafood and seafood products, freezing technology is used, where seafood is stored at temperatures below freezing temperatures of less than -18°C (He et al., 2019; Pinto de Rezende et al., 2022). Freezing is a very efficient method, but there are a few drawbacks in terms of efficiency, one of them being the negative impact on the sensory properties of fish and seafood, where the products are discoloured at low temperatures thereby affecting the overall acceptability of the product (Peng et al., 2022). Other preservation methods include smoking, dehydration, canning, fermentation or salting, but these methods significantly affect the physicochemical properties of seafood (Sireesha et al., 2022) and are less opted for by consumers in general.

In the food industry today, there is a growing interest in the use of natural preservatives and modern preservation methods, which include edible coating and edible films (either alone or in combination with other methods) as a method to increase the shelf life of perishable foods (Sharaf Eddin and Tahergorabi, 2017). There is a very wide range of these coatings that have found applications in both food and pharmaceutical industries. Non-toxic, linear, and water-soluble substances, such as carboxymethyl cellulose, chitosan, etc., constitute one of the most opted materials within the category (Rezaei et al., 2021). The retardation of product spoilage is achieved through the application of edible films and coatings, which operate by establishing a protective layer that interposes between the product and its ambient environment. This mechanism effectively impedes the proliferation of undesirable bacteria. Moreover, these methodologies engender substantial preservation of the sensory attributes — namely taste, aroma, and appearance — of seafood products (Pinto de Rezende et al., 2022). The application of such protective measures proves instrumental in extending the shelf life of seafood, ensuring both safety and quality throughout the storage period.

The main aim of this research was to prepare sodium carboxymethyl cellulose (CMCNa) emulsions with thyme oil as the bioactive substance (1%, 2% and 3%), followed by a double coating of shrimps. The emulsion was studied for its physical, chemical and microbiological properties for 14 days with a specific focus on its effectivity as a means to increase the shelf life of refrigerated shrimps.

MATERIAL AND METODOLOGY

Materials

Thyme oil, sodium carboxymethyl cellulose, Tween 80, DPPH (2,2-difenyl-1-picrylhydrazyl), nutrient broth, nutrient Agar, frozen shrimp from the local supermarket.

Emulsion preparation

2.5% sodium carboxymethyl cellulose (90,000 kDa) was dissolved in 100 ml of distilled water and allowed to stand for 24 hours for absolute dissolution. The following day, thyme essential oil in three different concentrations (1%, 2% and 3%) was added to the solubilised CMCNa. Tween 80 was added as an emulsifier in the same concentration as the oil. The mixture was then homogenized using the Heidolph silentcrusher homogenizer (Schwabach, Germany) at 20000 RPM for 3 minutes. The emulsion was stored at 4°C until further use. Plain CMCNa solution without any oil was used as a Zero sample.

Shrimp coating

For coating and packaging, the method of Alotaibi (Alotaibi and Tahergorabi, 2018). Shrimps were thawed, washed and dried with a clean paper. They were then dipped in the prepared emulsion for 3 mins, followed by draining the excess and allowed to dry in a sterile biohazard box for 15 mins. The procedure was repeated to have a double coating. The shrimp pieces were then packed individually in LDPE wraps and stored at $(4 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$ until further experiments. Shrimp samples were also coated with plain CMCNa solution (without thyme oil) as a zero set, and another set without any coating was kept as a control set.



Figure 1: Prepared emulsion samples and preparation of shrimp samples.

Physical Characterisation

Dynamic Light Scattering of Thyme Emulsions

Particle size of the prepared emulsions was measured every second day for 14 days by dynamic light scattering (ZetaPlus Instrument, Brookhaven Instruments Corporation, Holtsville, NY, USA). Samples were diluted 10 times in distilled water.

Chemical Characterisation

pH Activity

The pH of individual shrimp samples was recorded every second day for 14 days. Each sample was crushed with sterile 90 mL peptone water (pH= 6.9 ± 0.2) and measured using a standard handheld pH meter. Four recordings were made for each sample and reported as arithmetic mean with standard deviation.

Antioxidant activity

The antioxidant activity (AA) of the emulsions was evaluated by the DPPH (2,2-diferyl-1-picrylhydrazyl) method. For the measurement, 0.5 ml of the emulsion sample was mixed with 4.5 ml of a 1 mM methanol DPPH solution. Subsequently, this solution was left in the dark for 30 minutes. The absorbance values of the solution were then measured at 517 nm in a standard cuvette, against distilled water (as a standard) on colorimeter Cecil 1021 (Cecil Instruments, Cambridge, UK). The antioxidant activity was calculated using the following formula (Yuan et al., 2022):

$$\text{Antioxidant activity (\% inhibition of DPPH radical)} = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100\% \quad (1)$$

where, A_1 is the absorbance of the DPPH solution and A_2 is the absorbance of the DPPH and sample mixture.

Microbiological Characterisation

Antimicrobial Study

10 μ l *E.coli* and *S. aureus* inoculum (0.5 Mcfarland, 10⁻² dilution) was added to the nutrient agar plate. Sterile test paper with a 10 mm diameter was dipped in the prepared emulsions, followed by draining the excess and placing it on the centre of the previously inoculated petri plates. The plates were incubated at 35° C for 24 hours (Farajzadeh et al., 2016).

Total Viable Count

Shrimp meat samples (10 g) were placed in 90 mL of 0.1% sterile peptone water and homogenized using a stomacher for 3 min. For microbial enumeration, serial dilutions (1:10) were prepared in 0.1% sterile peptone water and plated 0.1 mL on Nutrient Agar using the surface culture method. The plates were incubated at 25 °C for 72 h (Keykhosravy et al., 2020).

RESULTS AND DISCUSSION

Physical Characterisation

Dynamic Light Scattering of Thyme Emulsions

Figure 2 displays the outcomes of Dynamic Light Scattering measurements for particle size (denoted as "a"). Notably, an increase in oil quantity corresponds to an augmentation in particle size. Interestingly, the particle size of the emulsions exhibited no significant change ($p < 0.05$) over the 14-day study period, indicating consistent emulsion stability.

The ζ -potential of an emulsion also serves as a direct indicator of its stability. This magnitude reflects the level of electrostatic repulsion among particles carrying similar charges. For the 1%, 2%, and 3% thyme emulsions, ζ -potential values were determined as -7.89 mV, -8.6 mV, and -15.87 mV, respectively.

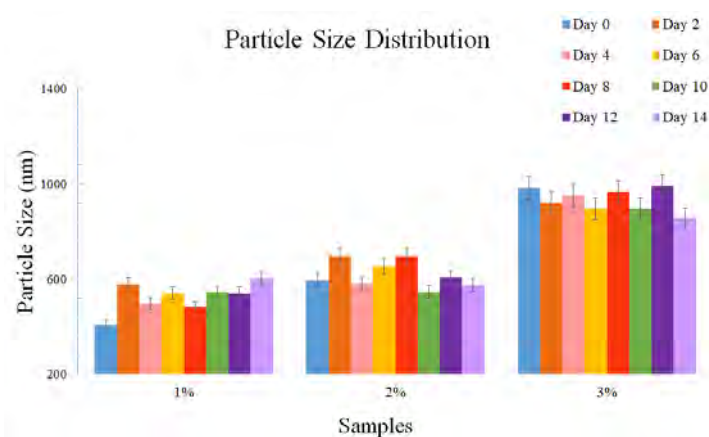


Figure 2. Particle size distribution of the emulsions.

Chemical Characterization

pH Activity

Table 2 displays the outcomes of pH analysis, indicating no significant difference ($p < 0.05$) throughout the study. This lack of significance can be attributed to the initial variation in pH among shrimp samples on day zero, ranging from 7.5 to 8.5, preventing a comprehensive conclusion. Additionally, the shrimp underwent pre-treatment with polyphosphates as a cryoprotectant, and these compounds played a role in enhancing water binding capacity, consequently elevating the pH. This accounts for the observed deviation in pH compared to the literature values of 6.5-7 (Alotaibi and Tahergorabi, 2018).

Table 2: pH activity of the shrimps. Data are given as mean values \pm standard deviation.

Sample	Control	Zero	1% Emulsion	2% Emulsion	3% Emulsion
0 Day	8.57 \pm 0.29	8.2 \pm 0.09	8.23 \pm 0.15	8.13 \pm 0.3	8.18 \pm 0.11
2 Day	8.08 \pm 0.03	8.13 \pm 0.13	7.95 \pm 0.02	8.14 \pm 0.03	8.29 \pm 0.08
4 Day	8.06 \pm 0.07	7.94 \pm 0.11	8.13 \pm 0.06	8.06 \pm 0.15	7.99 \pm 0.07
6 Day	7.87 \pm 0.04	7.73 \pm 0.16	7.8 \pm 0.01	7.85 \pm 0.05	8.00 \pm 0.06
8 Day	7.52 \pm 0.06	7.53 \pm 0.10	7.74 \pm 0.07	7.84 \pm 0.10	7.93 \pm 0.05
10 Day	7.53 \pm 0.05	7.58 \pm 0.02	7.67 \pm 0.04	7.81 \pm 0.04	7.89 \pm 0.14
12 Day	7.58 \pm 0.20	7.48 \pm 0.03	7.51 \pm 0.12	7.55 \pm 0.07	7.88 \pm 0.09
14 Day	7.65 \pm 0.10	7.49 \pm 0.01	7.54 \pm 0.13	7.53 \pm 0.14	7.95 \pm 0.03

Antioxidant Activity

The antioxidant activity of the emulsions exhibited a direct correlation with the amount of thyme oil incorporated. Specifically, the samples demonstrated antioxidant activities of 63.40%, 67.74%, and 76.21% for 1%, 2%, and 3% emulsions, respectively.

Microbiological Characterisation

Antimicrobial Study

The results of the antimicrobial study are presented in table 3. A clear inhibition zone was observed for all the emulsions. The antimicrobial activity was due to the phenolic compounds and essentially the terpenoid compounds of the thyme oil.

Table 3: Antimicrobial activity of the emulsions. Data are given as mean values \pm standard deviation.

Sample	<i>E.coli</i> (mm)	<i>S.aureus</i>
1% emulsion	7 ± 0.1	7 ± 0.02
2% emulsion	10.1 ± 0.02	9 ± 0.1
3% emulsion	10.2 ± 0.01	9.5 ± 0.02

Total Viable Count (TVC)

The results of TVC are presented in Figure 3. It was quite clear that the samples with the emulsion coating had significantly better action against microbial growth in comparison to the Zero and Control set. Thyme oil is a powerful antimicrobial agent, and its activity was found to be the best at 3% concentration. Less than 2 CFU/ml were reported at the end of 14 days, thereby proving its efficiency in increasing the shelf life of the shrimps at refrigerated conditions.

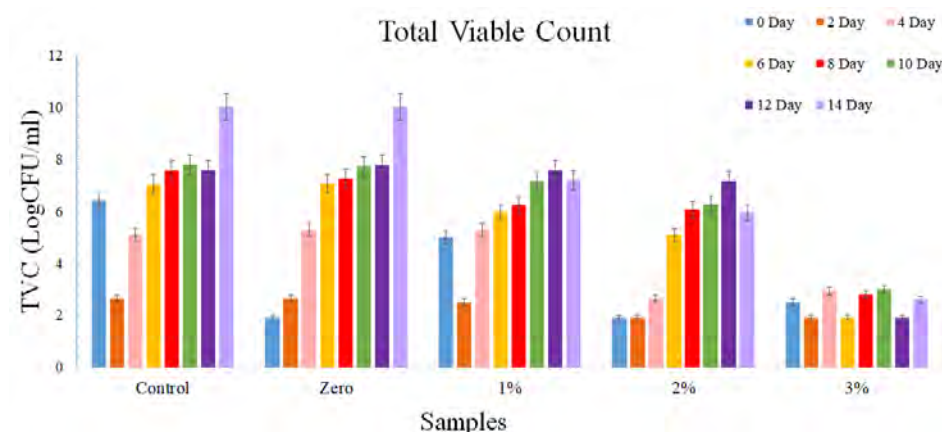


Figure 3. Total viable count of shrimp samples during refrigerated storage.

CONCLUSION

This study aimed to assess the effectiveness of edible coatings in prolonging the shelf life of refrigerated shrimps. The total viable count revealed that shrimps coated with a 3% thyme emulsion exhibited the best results, followed by 2% and 1% coatings. Conversely, uncoated samples and those with a plain CMCNa coating experienced rapid spoilage within 4 days. The antimicrobial efficacy of thyme oil against *E. coli* and *S. aureus* was also investigated, along with the measurement of antioxidant activity using the DPPH assay. Particle size analysis over a 14-day period indicated no significant disruption in the emulsion stability. The sample with 3% emulsion coating showed the lowest value of TVC even on 14th day. However, the safety

of consumption cannot be judged based on one experiment and accordingly creates a niche for further research. Overall, the study underscores the potential impact of edible coatings on enhancing the shelf life of refrigerated shrimps, suggesting that the successful application of such coatings could be beneficial for preserving shrimp freshness.

REFERENCES

- Alotaibi S., Tahergorabi R. 2018. Development of a sweet potato starch-based coating and its effect on quality attributes of shrimp during refrigerated storage. *LWT*, 88, 203-209.
- Carlucci D., Nocella G., De Devitiis B., Viscecchia R., Bimbo F., Nardone G. 2015. Consumer purchasing behaviour towards fish and seafood products. Patterns and insights from a sample of international studies. *Appetite*, 84, 212-227.
- Farajzadeh F., Motamedzadegan A., Shahidi S., Hamzeh S. 2016. The effect of chitosan-gelatin coating on the quality of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under refrigerated condition. *Food Control*, 67, 163-170.
- Hassoun A., Siddiqui S.A., Smaoui S., Ucak İ, Arshad R.N., Garcia-Oliveira P., Prieto M.A., Aït-Kaddour A., Perestrelo R., Câmara J. S. 2022. Seafood processing, preservation, and analytical techniques in the age of industry 4.0. *Applied Sciences*, 12(3), 1703.
- He Q., Gong B., He J., Xiao K. 2019. A novel superchilling storage-ice glazing (SS-IG) approach using anti-oxidative and antimicrobial essential oil (EO) for freshness-keeping of sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 500, 243-249.
- Hosseini S. F., Rezaei M., Zandi M., Ghavi F. F. 2016. Effect of fish gelatin coating enriched with oregano essential oil on the quality of refrigerated rainbow trout fillet. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 25(6), 835-842.
- Keykhosravi K., Khanzadi S., Hashemi M., Azizzadeh M. 2020. Chitosan-loaded nanoemulsion containing *Zataria Multiflora* Boiss and *Bunium persicum* Boiss essential oils as edible coatings: Its impact on microbial quality of turkey meat and fate of inoculated pathogens. *International Journal of Biological Macromolecules*, 150, 904-913.
- Nirmal N. P., Benjakul S. 2011. Retardation of quality changes of Pacific white shrimp by green tea extract treatment and modified atmosphere packaging during refrigerated storage. *International Journal Of Food Microbiology*, 149(3), 247-253.
- Peng S., Wei H., Zhan S., Yang W., Lou Q., Deng S., Yu X., Huang T. 2022. Spoilage mechanism and preservation technologies on the quality of shrimp: An overview. *Trends in Food Science & Technology*.
- Petricorena Z. C. 2015. Chemical composition of fish and fishery products. *Handbook of food chemistry*, 1, 28.
- Pinto de Rezende L., Barbosa J., Teixeira P. 2022. Analysis of alternative shelf life-extending protocols and their effect on the preservation of seafood products. *Foods*, 11(8), 1100.
- Rezaei F., Shekarforoush S. S., Hosseinzadeh S., Basiri S. 2021. The effect of carboxymethyl cellulose coating incorporated with clove oil nanoemulsion on quality of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during refrigerated storage. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 22(2), 129.
- Sharaf Eddin A., Tahergorabi R. 2017. Application of a surimi-based coating to improve the quality attributes of shrimp during refrigerated storage. *Foods*, 6(9), 76.
- Sireesha T., Gowda N. N., Kambhampati V. 2022. Ultrasonication in seafood processing and preservation: a comprehensive review. *Applied Food Research*, 2(2), 100208.
- Yuan D., Hao X., Liu G., Yue Y., Duan J. 2022. A novel composite edible film fabricated by incorporating W/O/W emulsion into a chitosan film to improve the protection of fresh fish meat. *Food Chemistry*, 385, 132647.

Acknowledgements: This research was financed by Tomas Bata University in Zlín internal grant agency project no. IGA/FT/2024/005

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

Shweta Gautam, Department of Food Technology, Faculty of Technology, Tomas Bata University in Zlín, Vavrečkova 275, 762 72 Zlín, Czech Republic, E-mail: gautam@utb.cz, ORCID: 0000-0003-1545-2205

Tereza Hüsková, Department of Food Technology, Faculty of Technology, Tomas Bata University in Zlín, Vavrečkova 275, 762 72 Zlín, Czech Republic, E-mail: t1_huskova@utb.cz, ORCID: 0009-0008-3053-2450

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

MIKROBIOLOGICKÁ KVALITA BRAVČOVÉHO MÄSA OŠETRENÉHO RASTLINNÝMI SILICAMI MICROBIOLOGICAL QUALITY OF PORK MEAT TREATED WITH ESSENTIAL OILS

*Simona Kunová, Ivana Timoracká, Viktória Zachar Lovászová, Martina Fikselová,
Miroslava Kačániová*

Abstract: The present study aimed to evaluate pork ground meat microbiological quality when treated with thyme essential oil (EO) in concentrations 0.25; 0.5 and 1%), in combination with vacuum packaging during 14 days of storage of meat at 4 °C. Total viable counts (TVC), coliforms bacteria (CB) and lactic acid bacteria (LAB) were analysed at day 0, 7 and 14. MALDI-TOF MS Biotyper technology was applied to identify microorganisms isolated from meat. The highest number of TVC at the end of the experiment was $7,00 \pm 0,03$ log CFU/g in the aerobically packaged control group and the lowest number of TVC was $5,06 \pm 0,04$ log CFU/g in the samples treated with 1.0% thyme EO. CB were not detected in the samples treated with EO during the entire storage period. The highest number of LAB was $4,00 \pm 0,01$ log CFU/g in the control group with rapeseed oil and the lowest number of LAB was $2,52 \pm 0,03$ log CFU/g in the aerobic control group. The most frequently isolated bacteria belong to the family *Enterobacteriaceae* and *Lactobacillaceae*.

Keywords: pork meat, microorganisms, thyme, essential oil, antimicrobial effect

ÚVOD

Mäso a mäsové výrobky veľmi rýchle podliehajú mikrobiálnemu znehodnoteniu, ktoré v konečnom dôsledku vedie k problémom s bezpečnosťou a kvalitou (Najjaa et al., 2020). To platí najmä pre mleté mäso, pretože mleté mäso je citlivejšie na oxidáciu, z dôvodu mikrobiálneho znehodnotenia v dôsledku procesu mletia (Esmer et al., 2011). Kontaminácia mäsa závisí od prostredia, v ktorom sa s ním manipuluje a akým spôsobom sa skladuje. Počiatočné mikrobiálne zaťaženie a typ mikrobiálneho spoločenstva prítomného na mäse ovplyvňujú trvanlivosť mäsa pri skladovaní (Nethra et al., 2023).

Kazenie čerstvého mäsa je nežiaduci proces zahŕňajúci biologické aj chemické reakcie (Johansson et al., 2020).

Diverzitu mikróflóry ovplyvňuje niekoľko faktorov, ako je úroveň bakteriálnej kontaminácie, typ balenia a teplota a čas skladovania. K hlavným bakteriálnym rodom prevládajúcim v mäse a mäsovéch výrobkoch, ktoré sú zodpovedné za znehodnotenie, patria *Acinetobacter*, *Alteromonas*, *Aeromonas*, *Brochothrix*, *Flavobacterium*, *Leuconostoc*, *Pseudomonas*, *Moraxella*, baktérie mliečneho kvasenia (BMK) a rôzne rody z čeľade *Enterobacteriaceae* (Doulgerani et al., 2012). *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* a *Escherichia coli* sú hlavnými patogénnymi baktériami, ktoré môžu kontaminovať mäso a sú zodpovedné za vznik alimentárnych ochorení (Heredia a García, 2018).

Cieľom balenia potravín je optimalizovať kvalitu potravín, zabezpečiť hygienu a bezpečnosť potravín, zvýšiť ich stabilitu pri skladovaní, znížiť náklady na skladovanie a tiež dosiahnuť nižšiu spotrebu konzervačných látok počas skladovania (Łopusiewicz et al., 2018). Vákuové balenie sa široko používa na predĺženie trvanlivosti komerčných čerstvých mäsových výrobkov. Zabráňuje tiež rastu aeróbných baktérií a zabezpečuje hygienu produktu počas distribúcie a skladovania (Cenci-Goga et al., 2020).

Používanie konzervačných látok v priemyselne spracovaných potravinách spotrebiteľia vnímajú negatívne v súvislosti s možnými toxikologickými účinkami a poškodeniami zdravia. V tomto zmysle je používanie prírodných antimikrobiálnych látok, ktoré majú vo všeobecnosti nízku toxicitu a sú extrahované z prírodných, obnoviteľných a udržateľných zdrojov, indikované ako pozitívna alternatíva, ktorá môže prispieť ku kvalite a mikrobiologickej bezpečnosti potravín (Marques et al., 2019).

Rastlinné silice sú komplexné zmesi zlúčenín s nízkou molekulovou hmotnosťou syntetizované rastlinami s antimikrobiálnymi vlastnosťami. Vo všeobecnosti ich antimikrobiálna aktivita súvisí s interakciou niektorých sekundárnych metabolitov prítomných v rastlinných siliciach so štruktúrou bakteriálnych buniek (Nazzaro et al., 2013).

Metabolity prítomné v rastlinných siliciach zahŕňajú najmä terpény, terpenoidy, fenylypropanoidy, aldehydy, estery, alkoholy a ketóny, ktorých bioaktivita sa mení v závislosti od štruktúrnej konfigurácie molekuly (Tohidi et al., 2019).

Antimikrobiálna aktivita rastlinných silíc je ovplyvnená viacerými faktormi vrátane botanického zdroja, času zberu, vývojového štádia a metódy extrakcie. Zloženie, štruktúra, taktiež aj funkčné skupiny olejov zohrávajú dôležitú úlohu pri určovaní ich antimikrobiálnej aktivity (Tiwari et al., 2009).

Dúška tymianová (*Thymus vulgaris L.*), známa aj ako tymian, je vždyzelená rastlina so silnou arómou patriaca do čeľade Lamiaceae. Táto rastlina sa tradične využívala ako prísada pre vylepšenie chuti jedál, ako aj na liečbu rán a rôznych ochorení vrátane bronchitídy, laryngitídy, čierneho kašľa, gastritídy, hnačky a kongescie horných dýchacích ciest. Rastlinné silice je vhodné pridávať do obalových materiálov, čo môže viesť k zapracovaniu ich zložiek do potravín, k neutralizácii mikroorganizmov spôsobujúcich kazenie a k predĺženiu trvanlivosti produktu (Li et al., 2019).

Tymianová rastlinná silica je sľubným zdrojom bioaktívnych zložiek, ktoré preukázali antagonistický účinok proti mikroorganizmom pochádzajúcich z potravín. Majú veľký vplyv na mikrobiologickú stabilitu mäsa tým, že potláčajú výskyt nežiaducich mikroorganizmov (Posgay et al., 2022).

Tymianová rastlinná silica obsahuje viac ako 60 komponentov, hlavnými zložkami sú fenoly tymol, karvakrol, ako aj monoterpénové uhľovodíky p-cymén a γ-terpinén. Karvakrol a tymol majú antimikrobiálnu aktivitu *in vitro* proti širokému spektru grampozitívnych baktérií. Tymianová silica bola testovaná na antioxidačné a antimikrobiálne účinky vo viacerých potravinových komoditách vrátane morských plodov, mletého bravčového a kuracieho mäsa, vareného hovädzieho mäsa a zeleniny (Solomakos et al., 2008).

Cieľom predkladanej štúdie bolo skúmať mikrobiologickú kvalitu mletého bravčového mäsa ošetreného bazalkovou silicou počas skladovania.

MATERIÁL A METODIKA

Na mikrobiologické analýzy bolo použité mleté bravčové mäso. Mäso bolo zakúpené v autorizovanom obchode. Obsah mäsa bol 100 %, percentuálny podiel obsahu tuku bol menej ako 20 %. Vzorky boli balené do polyetylénových vreciek. Spolu bolo analyzovaných 54 vzoriek, každá vzorka bola analyzovaná v 3-násobnom opakovaní. Mikrobiologické analýzy sa vykonávali na 0., 7. a 14. deň skladovania pri teplote 4 °C. Vzorky mäsa boli ošetrené 0,25; 0,5 a 1,0 % roztokmi tymianovej silice (Hanus, Nitra, Slovensko) rozpustenej v repkovom oleji a vákuovo zabalené pomocou vákuovej baličky (Concept, Choceň, Česká republika).

Vzorky boli pripravené nasledovne:

1. Kontrolná aeróbne balená skupina: vzorky mäsa boli balené do polyetylénových vreciek v aeróbnych podmienkach a skladované pri teplote 4 °C;
2. Kontrolná skupina s vákuovým balením: Vzorky čerstvého mäsa boli balené do

- polyetylénových vreciek a skladované v anaeróbných podmienkach pri teplote 4 °C;
3. Kontrolná skupina s repkovým olejom: Mäso bolo ošetrované repkovým olejom, zabalené do polyetylénových vreciek a skladované v anaeróbných podmienkach pri teplote 4 °C;
 4. Vákuovo balené vzorky s 0,25 % tymianovou silicou: vzorky mäsa ošetrované 0,25 % tymianovou silicou, skladované v anaeróbných podmienkach pri teplote 4 °C;
 5. Vákuovo balené vzorky s 0,5 % tymianovou silicou: vzorky mäsa ošetrované 0,5 % tymianovou silicou, skladované v anaeróbných podmienkach pri teplote 4 °C;
 6. Vákuovo balené vzorky s 1 % tymianovou silicou: vzorky mäsa ošetrované 1 % tymianovou silicou, skladované v anaeróbných podmienkach pri teplote 4 °C;

Pri aplikácii rastlinnej silice sa vzorky mäsa namočili do roztoku repkového oleja a tymianovej silice na 30 minút.

Mikrobiologické analýzy sa vykonali na 0., 7. a 14. deň skladovania pri 4 °C. Päť gramov vzorky sa zriedilo so 45 ml 0,1 % sterilného fyziologického roztoku. Vzorky sa homogenizovali v trepačke (GFL 3031, Burgwedel, Nemecko) počas 30 minút. Na stanovenie celkového počtu mikroorganizmov (CPM) bol použitý Plate Count Agar (PCA, Oxoid, Basingstoke, UK), vzorky sa kultivovali pri 30 °C počas 48-72 h. Na stanovenie počtu koliformných baktérií bol použitý Violet Red Bile Lactose Agar (VRBL, Oxoid, Basingstoke, UK) a vzorky sa kultivovali pri 37 °C počas 24 až 48 h. Na stanovenie baktérií mliečneho kvasenia (BMK) bol použitý De Man, Rogosa a Sharpe agar (MRS, Oxoid, Basingstoke, UK) a vzorky sa kultivovali s 5 % CO₂ pri 37 °C počas 48 - 72 h.

Na identifikáciu mikroorganizmov izolovaných zo vzoriek mäsa bol použitý MALDI-TOF (matricou asistovaná laserová desorpcia/ionizácia v čase letu) MS Biotyper (Bruker, Daltonics, Brémy, Nemecko) na základe porovnania získaných vzoriek s referenčnými hodnotami.

Pripravil sa základný roztok, ktorý slúžil ako organické činidlo, vrátane: 50 % acetonitrilu, 47,5 % vody a 2,5 % kyseliny trifluóroctovej (1 ml základného roztoku predstavoval zmes 500 µl čistého acetonitrilu, 475 µl destilovanej vody a 25 µl čistej kyseliny trifluóroctovej). Pripravilo sa 250 µl organického rozpúšťadla, ktoré sa premiešalo v Eppendorfovej banke s "HCCA matricou". Všetky chemikálie na prípravu matrice boli zakúpené od spoločnosti Lambda Life (Bratislava, Slovensko).

Biologický materiál sa pridalo z Petriho misky do Eppendorfovej banky s 300 µl destilovanej vody, premiešalo sa a pridalo sa 900 µl etanolu. Zmes sa potom odstredila pri 10 000 × g počas 2 minút. Po odstránení supernatantu sa zrazenina nechala vysušiť pri 20 °C. Potom sa k peletu pridalo 30 µl 70 % kyseliny mravčej a 30 µl acetonitrilu. Následne sa zmes odstredila pri 10 000× g počas 2 min. Supernatant s objemom 1 µl sa pipetoval na MALDI platňu, nechal sa vysušiť a ihneď sa na platňu pipetoval 1 µl matricového roztoku MALDI. Po vysušení sa vzorky pripravili na identifikáciu mikroorganizmov v hmotnostnom spektrometri MALDI-TOF (Bruker, Daltonics, Brémy, Nemecko). Hmotnostné spektrá boli automaticky generované pomocou hmotnostného spektrometra microflex LT MALDI-TOF, ktorý pracoval v lineárnom pozitívnom režime v hmotnostnom rozsahu 2000 - 20 000 Da. Použili sa identifikačné kritériá: skóre 2 300 až 3 000 znamenalo vysoko pravdepodobnú identifikáciu na úrovni druhu; skóre 2 000 až 2 299 identifikáciu rodu s pravdepodobnou identifikáciou druhu; skóre 1 700 až 1 999 pravdepodobnú identifikáciu na úrovni rodu; < 1 700 sa považovalo za nespoľahlivú identifikáciu.

Všetky experimenty sa uskutočnili v troch opakovaníach a uvedené výsledky sú výsledkami týchto opakovaných stanovení so štandardnými odchýlkami.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Podmienky balenia a doba skladovania ovplyvnili hodnotu celkového počtu mikroorganizmov (CPM) vo vzorkách mletého bravčového mäsa. Priemerné počiatkové hodnoty CPM boli $2,99 \pm 0,02 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ a po 14 dňoch skladovania pri teplote $4 \text{ }^\circ\text{C}$ sa pohybovali od $5,06 \pm 0,04 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ vo vzorkách ošetrovaných 1 %-nou tymianovou silicou do $7,00 \pm 0,03 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ v kontrolnej skupine vzoriek bez ošetrenia (tabuľka 1).

Tabuľka 1 Priemerné hodnoty celkového počtu mikroorganizmov (CPM) ($\log \text{KTJ.g}^{-1}$) vo vzorkách mletého mäsa počas 14 dní skladovania pri $4 \text{ }^\circ\text{C}$

	0. deň	7. deň	14. deň
Kontrola	$2,99 \pm 0,02$	$5,32 \pm 0,01$	$7,00 \pm 0,03$
Kontrola vákuum	$2,99 \pm 0,02$	$5,19 \pm 0,02$	$5,99 \pm 0,05$
Kontrola s olejom	$2,99 \pm 0,02$	$5,16 \pm 0,03$	$5,74 \pm 0,02$
Tymianová RS – 0,25 %	$2,99 \pm 0,02$	$4,91 \pm 0,03$	$5,31 \pm 0,01$
Tymianová RS – 0,5 %	$2,99 \pm 0,02$	$5,00 \pm 0,02$	$5,25 \pm 0,03$
Tymianová RS – 1,0 %	$2,99 \pm 0,02$	$4,82 \pm 0,01$	$5,06 \pm 0,04$

Čerstvé alebo minimálne spracované mäsové výrobky sú veľmi náchylné na mikrobiálnu kontamináciu počas rôznych krokov výroby až po spotrebu. Preto je stanovenie rastu mezofilných baktérií nevyhnutné vo väčšine bezpečnostných noriem (Dehghani et al., 2018).

Boskovic et al. (2017) skúmali vplyv tymianovej rastlinnej silice na výskyt baktérií čeľade Enterobacteriaceae, na baktérie mliečneho kvasenia a celkový počet životaschopných mikroorganizmov v bravčovom mletom mäse. Najvýraznejší antibakteriálny účinok dosiahla kombinácia balenia v modifikovanej atmosfére a 0,9 % tymianovou silicou.

Lages et al. (2021) uvádzajú, že tymianová silica bola účinná vo svojom inhibičnom účinku proti *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli* vo všetkých testoch uskutočnených *in vitro*. Po aplikácii tymianovej silice na mäsové salámy, preukázala svoj inhibičný účinok proti koagulázopozitívnym stafylokokom, znížila počet mikroorganizmov a čiastočne inhibovala aeróbne mezofilné baktérie.

Počiatkové hodnoty koliformných baktérií (KB) boli $1,05 \pm 0,02 \log \text{KTJ.g}^{-1}$. Samotné vákuové balenie mierne znížilo počet KB v porovnaní s aeróbne skladovaným mäsom. Prítomnosť repkového oleja preukázala lepší inhibičný účinok ako samotné balenie vo vákuu. Počty KB vo vzorkách ošetrovaných tymianovou silicou boli menej ako $1 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ počas celej doby skladovania mäsa (tabuľka 2).

Tabuľka 2 Priemerné hodnoty koliformných baktérií (KB) ($\log \text{KTJ.g}^{-1}$) vo vzorkách mletého mäsa počas 14 dní skladovania pri $4 \text{ }^\circ\text{C}$

	0. deň	7. deň	14. deň
Kontrola	$1,05 \pm 0,02$	$1,68 \pm 0,01$	$2,01 \pm 0,03$
Kontrola vákuum	$1,05 \pm 0,02$	$1,06 \pm 0,03$	$1,53 \pm 0,02$
Kontrola s olejom	$1,05 \pm 0,02$	< 1	$1,18 \pm 0,01$
Tymianová RS – 0,25 %	$1,05 \pm 0,02$	< 1	< 1
Tymianová RS – 0,5 %	$1,05 \pm 0,02$	< 1	< 1
Tymianová RS – 1,0 %	$1,05 \pm 0,02$	< 1	< 1

Koliformné baktérie, najmä *Escherichia coli*, sú mikroorganizmy, ktoré vyvolávajú obavy, pretože vysoký počet koliformných baktérií a prítomnosť *E. coli* v potravinách zvyčajne signalizuje nehygienické zaobchádzanie počas výrobného procesu, nesprávne podmienky skladovania a kontamináciu po procese (González et al., 2003).

Nunesa Barbosa et al. (2014) zistili, že kuracie párky, ktoré obsahovali buď 0,03 % alebo 0,3 % bazalkovú silicu, vykazovali znížený počet koliformných baktérií počas skladovania v chladničke počas 15 dní.

Dave a Ghaly (2011) vo svojom výskume zistili, že rast baktérií čeľade Enterobacteriaceae a baktérií rodu *Pseudomonas* bol väčší na mäse (najmä na bravčovom) balenom v modifikovanej atmosfére ako na vákuovo balenom mäse, ich rast bol podporovaný skladovaním pri teplote 5 °C.

Priemerné počiatkové hodnoty baktérií mliečneho kvasenia (BMK) boli $2,52 \pm 0,03 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ a po 14 dňoch skladovania pri teplote 4 °C sa pohybovali od $3,67 \pm 0,03 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ v kontrolnej skupine aeróbne balených vzoriek do $4,00 \pm 0,01 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ v kontrolnej skupine vzoriek s repkovým olejom. Hodnoty BMK vo vzorkách ošetrených tymianovou silicou na 14. deň skladovania boli v rozmedzí od $3,81 \pm 0,02 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ vo vzorkách s 1 %-nou tymianovou silicou do $3,98 \pm 0,03 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ vo vzorkách s 0,25 %-nou silicou (tabuľka 3).

Tabuľka 3 Priemerné hodnoty baktérií mliečneho kvasenia (BMK) ($\log \text{KTJ.g}^{-1}$) vo vzorkách mletého mäsa počas 14 dní skladovania pri 4 °C

	0. deň	7. deň	14. deň
Kontrola	$2,52 \pm 0,03$	$2,95 \pm 0,03$	$3,67 \pm 0,03$
Kontrola vákuum	$2,52 \pm 0,03$	$3,19 \pm 0,01$	$3,99 \pm 0,02$
Kontrola olej	$2,52 \pm 0,03$	$3,11 \pm 0,03$	$4,00 \pm 0,01$
Tymianová RS – 0,25 %	$2,52 \pm 0,03$	$3,07 \pm 0,01$	$3,98 \pm 0,03$
Tymianová RS – 0,5 %	$2,52 \pm 0,03$	$3,00 \pm 0,01$	$3,84 \pm 0,01$
Tymianová RS – 1,00 %	$2,52 \pm 0,03$	$3,01 \pm 0,02$	$3,81 \pm 0,02$

Baktérie mliečneho kvasenia sú jednými z najodolnejších grampozitívnych baktérií, pokiaľ ide pôsobenie rastlinných silíc (Kostaki et al., 2009).

Po potlačení aeróbnych baktérií spôsobujúcich kazenie počas skladovania vo vákuovom balení, mäsa sa BMK môžu stať dominantnou skupinou baktérií (Mantzourani et al., 2022).

Wińska et al. (2019) uvádzajú, že tymianová silica je spomedzi mikroorganizmov najúčinnějšía proti baktériám. Obzvlášť vysokú bakteriostatickú aktivitu voči väčšine grampozitívnych a gramnegatívnych baktérií preukazuje chemotyp tymolu z rastlinnej silice *T. vulgaris* L. Táto aktivita je spôsobená vysokým obsahom zložiek tymolu a karvakuolu, ktoré vďaka kyslej povahe hydroxylovej skupiny môžu vytvárať vodíkové väzby s aktívnym miestom mnohých enzýmov.

Vyizolované druhy mikroorganizmov sú uvedené v tabuľke 4. Z jednotlivých vzoriek mäsa sa nám podarilo najčastejšie vyizolovať druh *Lactobacillus sakei*, ktorý bol prítomný vo všetkých kontrolných skupinách vzoriek a vo vákuovo balených vzorkách ošetrených tymianovou silicou. Druhým najviac zastúpeným druhom bola *Serratia liquefaciens*, ktorú sa nám podarilo vyizolovať zo všetkých kontrolných skupín a z vákuovo balených vzoriek ošetrených 0,25 %-nou tymianovou silicou. V troch prípadoch boli vyizolované druhy *Hafnia alvei*, *Serratia fonticola*, *Ewingella americana*, *Microbacterium maritopicum* a *Sphingobacterium faecium*.

Tabuľka 4 Vyizolované druhy mikroorganizmov zo vzoriek mletého mäsa skladovaného v rôznych podmienkach balenia

Vzorka	Mikroorganizmy
Kontrola vzduch	<i>Hafnia alvei</i> , <i>Serratia fonticola</i> , <i>Enterobacter xiangfangensis</i> , <i>Pseudomonas rhodesiae</i> , <i>Lactobacillus sakei</i> , <i>Lactobacillus curvatus</i> , <i>Pseudomonas fragi</i> , <i>Pseudomonas lundensis</i> , <i>Kocuria salsicia</i> , <i>Yarrowia lipolytica</i> , <i>Serratia liquefaciens</i> , <i>Buttiauxella gaviniae</i> , <i>Aeromonas bestiarum</i>
Kontrola vákuum	<i>Lactobacillus sakei</i> , <i>Microbacterium phyllosphaerae</i> , <i>Brochothrix thermosphacta</i> , <i>Serratia liquefaciens</i> , <i>Ewingella americana</i> , <i>Acinetobacter johnsonii</i>
Kontrola olej	<i>Buttiauxella warmboldiae</i> , <i>Brochothrix thermosphacta</i> , <i>Pantoea agglomerans</i> , <i>Yarrowia lipolytica</i> , <i>Lactobacillus sakei</i> , <i>Candida zeylanoides</i> , <i>Microbacterium maritypicum</i> , <i>Serratia liquefaciens</i> , <i>Ewingella americana</i> , <i>Serratia fonticola</i>
Tymianová RS 0,25 %	<i>Lactobacillus sakei</i> , <i>Brochothrix thermosphacta</i> , <i>Hafnia alvei</i> , <i>Serratia fonticola</i> , <i>Serratia liquefaciens</i> , <i>Sphingobacterium faecium</i> , <i>Macrococcus caseolyticus</i> , <i>Lactobacillus curvatus</i> , <i>Acinetobacter johnsonii</i>
Tymianová RS 0,5 %	<i>Lactobacillus sakei</i> , <i>Hafnia alvei</i> , <i>Buttiauxella gaviniae</i> , <i>Buttiauxella agrestis</i> , <i>Sphingobacterium faecium</i> , <i>Microbacterium maritypicum</i>
Tymianová RS 1 %	<i>Ralstonia pickettii</i> , <i>Lactobacillus sakei</i> , <i>Buttiauxella agrestis</i> , <i>Sphingobacterium faecium</i> , <i>Microbacterium maritypicum</i> , <i>Lactobacillus curvatus</i>

Zo všetkých vyizolovaných čeľadí mali najväčšie zastúpenie mikroorganizmy z čeľade *Enterobacteriaceae* (26,54 %), kde sme vyizolovali 7 rôznych druhov. Druhou najzastúpenejšou čeľad'ou bola čeľad' *Lactobacillaceae* (16,33 %), kde sme vyizolovali 2 druhy mikroorganizmov. Z čeľade *Microbacteriaceae* (8,17 %) sme vyizolovali 2 rôzne druhy. Ďalej boli vyizolované druhy, patriace do *Hafniaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Listeriaceae*, *Yersiniaceae* a *Sphingobacteriaceae* s percentuálnym zastúpením 6,12 %. Ostatné mikrobiálne druhy patrili do čeľadí *Moraxellaceae*, *Saccharomycetaceae*, *Aeromonadaceae*, *Staphylococcaceae*, *Micrococcaceae* a *Burkholderiaceae* (tabuľka 5).

Tabuľka 5 Zaradenie vyizolovaných mikroorganizmov do čeľadí

MIKROORGANIZMUS	ČEĽAĎ
<i>Hafnia alvei</i>	<i>Hafniaceaea</i>
<i>Enterobacter xiangfangensis</i> <i>Serratia fonticola</i> <i>Buttiauxella gaviniae</i> <i>Serratia liquefaciens</i> <i>Pantoea agglomerans</i> <i>Buttiauxella warmboldiae</i> <i>Buttiauxella agrestis</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Pseudomonas fragi</i> <i>Pseudomonas lundensis</i> <i>Pseudomonas rhodesiae</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>
<i>Aeromonas bestiarum</i>	<i>Aeromonadaceae</i>
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	<i>Moraxellaceae</i>
<i>Lactobacillus sakei</i> <i>Lactobacillus curvatus</i>	<i>Lactobacillaceae</i>

<i>Macroccoccus caseolyticus</i>	<i>Staphylococcaceae</i>
<i>Microbacterium phyllosphaerae</i> <i>Microbacterium maritypicum</i>	<i>Microbacteriaceae</i>
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	<i>Listeriaceae</i>
<i>Ewingella americana</i>	<i>Yersiniaceae</i>
<i>Sphingobacterium faecium</i>	<i>Sphingobacteriaceae</i>
<i>Kocuria salsicia</i>	<i>Micrococcaceae</i>
<i>Yarrowia lipolytica</i>	<i>Dipodascaceae</i>
<i>Candida zeylanoides</i>	<i>Saccharomycetaceae</i>
<i>Ralstonia pickettii</i>	<i>Burkholderiaceae</i>

Štúdia Jääskeläinen et al. (2016) sa zameriavala na skúmanie toho, ako balenie mäsa (vo vákuu a v atmosfére s vysokým obsahom kyslíka) ovplyvňuje rast mikroorganizmov pri teplote 6 °C. Na začiatku skladovania boli v mikrobiálnej populácii hlavne rody *Carnobacterium* a *Lactobacillus*. Po dvoch týždňoch skladovania sa *Lactococcus* a *Lactobacillus* stali dominantnými rodmi vo vzorkách mäsa balených vo vákuu, zatiaľ čo vo vzorkách balených za prístupu kyslíka sa stal dominantným rod *Leuconostoc*. Medzi najčastejšie izolované bakteriálne druhy patria *Leuconostoc gelidum*, *Lactococcus piscium*, *Lactobacillus sakei* a *Lactobacillus algidus*.

ZÁVER

S narastajúcim záujmom spotrebiteľov o prírodné alternatívy na predĺžovanie trvanlivosti potravín je vhodné dôkladne preskúmať a začať používať prírodné antimikrobiálne látky, ktoré majú mnoho pozitívnych účinkov a sú obnoviteľným zdrojom už viacero storočí.

V predkladanej štúdií sa skúmal vplyv tymianovej rastlinnej silice s rôznou koncentráciou na mikrobiologickú kvalitu mletého bravčového mäsa počas skladovania. Naše výsledky ukazujú, že tymianová rastlinná silica aplikovaná na mäso v kombinácii s vákuovým balením je vysoko účinná proti celkovému počtu mikroorganizmov a proti koliformným baktériám. Rastlinná silica, ktorá sa nachádza v byline *Thymus vulgaris* L., je veľmi účinným antimikrobiálnym prostriedkom a môže sa využiť ako prírodná konzervačná látka vo výrobkoch z mäsa.

LITERATÚRA

- Barbosa, L. N., Alves, F. C. B., Andrade, F. M. T., Albano, M., Castilho, I. G., Rall, V. L. M Athayde, N. B., Delbem, N. L. C., De Oliveira Roça, R., Júnior, A.F. 2014. Effects of *Ocimum basilicum* linn essential oil and sodium hexametaphosphate on the shelf life of fresh chicken sausage. In *Journal of Food Protection*, vol. 77, no. 6, pp. 981-986. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-13-498>
- Boskovic, M., Djordjevic, J., Ivanovic, J., Janjic, J., Zdravkovic, N., Glisic, M., Glamoclija, N., Baltic, B., Djordjevic, V., Baltic, M. 2017. Inhibition of Salmonella by thyme essential oil and its effect on microbiological and sensory properties of minced pork meat packaged under vacuum and modified atmosphere. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 258, pp. 58-67. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.07.011>
- Cenci-Goga, B. T., Iulietto, M. F., Sechi, P., Borgogni, E., Karama, M., Grispoldi, L. New trends in meat packaging. In *Microbiological Research*, vol. 11, pp. 56-67. <https://doi.org/10.3390/microbiolres11020010>
- Dehghani, P., Hosseini, S. M. H., Golmakani, M. T., Majdinasab, M., Esteghlal, S. 2018. Shelf-life extension of refrigerated rainbow trout fillets using total Farsi gum-based coatings containing clove and thyme essential oils emulsions. In *Food Hydrocolloids*, vol. 77, pp. 677-688. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.11.009>
- Doulgeraki, A. I., Ercolini, D., Villani, F., Nychas, G. J. E. 2012. Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 157, no. 2, pp. 130-141. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.05.020>
- Esmer, O. K., Irkin, R., Degirmencioglu, N., Degirmencioglu, A. 2011. The effects of modified atmosphere gas composition on microbiological criteria, color and oxidation values of minced beef meat. In *Meat Science*, vol. 88, no. 2, p. 221-226. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.12.021>

- González, P. D., Tamagnini, L. M., Olmos, P. D., De Sousta, G.B. 2003. Evaluation of a chromogenic medium for total coliforms and *Escherichia coli* determination in ready-to-eat foods. In *Journal of Food Microbiology*, vol. 20, no. 5, pp. 601-604. [https://doi.org/10.1016/s0740-0020\(02\)00178-8](https://doi.org/10.1016/s0740-0020(02)00178-8)
- Heredia, N., García, S. 2018. Animals as sources of food-borne pathogens: A review. In *Animal Nutrition*, vol. 4, no. 3, pp. 250-255. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.04.006>
- Johansson, P., Jääskeläinen, E., Nieminen, T., Hultman, J., Auvinen, P., Björkroth, K.J., Johansson, P., Jääskeläinen, E., Nieminen, T., Hultman, J. 2020. Microbiomes in the context of refrigerated raw meat spoilage. In *Meat and Muscle Biology*, vol. 4, no. 2. <https://doi.org/10.22175/mmb.10369>
- Lages, L. Z., Radünz, M., Gonçalves, B. T., Da Rosa, R. S., Fouchy, M. V. et al. 2021. Microbiological and sensory evaluation of meat sausage using thyme (*Thymus vulgaris*, L.) essential oil and powdered beet juice (*Beta vulgaris* L., Early Wonder cultivar). In *Journal of LWT*, vol. 148, pp. 111794. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111794>
- Li Z. H., Cai M., Liu Y.-S., Sun P.-L., Luo S. L. 2019. Antibacterial activity and mechanisms of essential oil from *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis*. In *Molecules*, vol. 24, no. pp. 1577. <https://doi.org/10.3390/molecules24081577>
- Lopusiewicz, Ł., Jedra, F., Mizieńska, M. 2018. New poly (lactic acid) active packaging composite films incorporated with fungal melanin. In *Polymers*, vol. 10, no. 4, p. 386. <https://doi.org/10.3390/polym10040386>
- Mantzourani, I., Daoutidou, M., Dasenaki, M., Nikolaou, A., Alexopoulos, A., Terpou, A., Thomaidis, N., Plessas, S. 2022. Plant Extract and Essential Oil Application against Food-Borne Pathogens in Raw Pork Meat. In *Journal of Food Industry*, vol. 11, no. 6, pp. 861. <https://doi.org/10.3390/foods11060861>
- Marques, C. S., Carvalho, S. G., Bertoli, L. D., Villanova, J. C. O., Pinheiro, P.F., dos Santos, D. C. M., Yoshida, M. I., de Freitas, J. C. CH., Cipriano, D. F., Bernardes, P. C. 2019. β -Cyclodextrin inclusion complexes with essential oils: Obtention, characterization, antimicrobial activity and potential application for food preservative sachets. In *Food Research International*, vol. 119, pp. 499-509. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.016>
- Najjaa, H., Chekki, R., Elfalleh, W., Tlili, H., Jaballah, S., Bouzouita, N. 2020. Freeze-dried, oven-dried, and microencapsulation of essential oil from *Allium sativum* as potential preservative agents of minced meat. In *Food Science and Nutrition*, vol. 8, no. 4, p. 1-9. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1487>
- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., De Feo, V. 2013. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. In *Pharmaceuticals*, 6 (12) (2013), pp. 1451-1474. <https://doi.org/10.3390/ph6121451>
- Nethra, P. V., Sunooj, K. V., Aaliya, B., Navaf, M., Akhila, P. P., Sudheesh, Ch., Mir, S.A., Shijin, A., George, J. 2023. Critical factors affecting the shelf life of packaged fresh red meat – A review. In *Measurement: Food*, <https://doi.org/10.1016/j.meafoo.2023.100086>
- Posgay, M., Greff, B., Kapcsándi, V., Lakatos, E. 2022. Effect of *Thymus vulgaris* L. essential oil and thymol on the microbiological properties of meat and meat products: A review. In *Journal of Heliyon*, vol. 8, no. 6, pp. 83-102. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10812>
- Solomakos, N., Govaris, A., Koidis, P., Botsoglou, N. 2008. The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin, and their combination against *Listeria monocytogenes* in minced beef during refrigerated storage. In *Food Microbiology*, vol. 25, no. 1, pp. 120-127. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.07.002>
- Tiwari, B. K., Valdramidis, V. P., Donnel, C. P. O., Muthukumarappan, K., Bourke, P., Cullen, P. J. 2009. Application of natural antimicrobials for food preservation. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 57, no. 14, pp. 5987-6000. <https://doi.org/10.1021/jf900668n>
- Tohidi, B., Rahimmalek, M., Trindade, H. 2019. Review on essential oil, extracts composition, molecular and phytochemical properties of thymus species in Iran. In *Industrial Crops and Products*, vol. 134, pp. 89-99. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.038>
- Wińska, K., Mączka, W., Łyczko, J., Grabarczyk, M., Czubaszek, A., Szumny, A. 2019. Essential Oils as Antimicrobial Agents-Myth or Real Alternative? In *Journal of Molecules*, vol. 24, pp. 1-21. <https://doi.org/10.3390/molecules24112130>
- Jääskeläinen, E., Hultman, J., Parshintsev, J., Riekkola, M. L., Björkroth, J. 2016. Development of spoilage bacterial community and volatile compounds in chilled beef under vacuum or high oxygen atmospheres. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 223, pp. 25 – 32. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.01.022>

Pod'akovanie: Štúdia prebiehala s finančnou podporou projektov 013SPU-4/2023 a APVV-20-0058

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

ZNÍŽENIE EXKRÉCIE DUSÍKATÝCH LÁTOK U MORIEK PO PRÍJME HUMÍNOVÝCH LÁTOK A POZITÍVNY VPLYV NA OBSAH BIELKOVÍN V STEHENNEJ SVALOVINE

DECREASE OF CRUDE PROTEIN EXCRETION BY TURKEYS AFTER DIETARY INTAKE OF HUMIC SUBSTANCES AND THE POSITIVE EFFECT ON PROTEIN CONTENT IN THE THIGH MUSCLES

Andrej Marcin, Pavel Nad', Michaela Harčárová, Alena Hreško Šamudovská, Tomáš Mihok, Lukáš Bujňák, Štefánia Molnárová

Abstract: The aim of experimental study was to determine the effect of the addition of humic substances (HS) to feed mixtures (FM) on crude protein (CP) excretion of turkeys (Hybrid Converter) and its content in thigh muscles. The control and experimental groups (n=20, age 6 weeks) were fed with two diets: grower (CP 238.8 g.kg⁻¹) and finisher (CP 195.7 g.kg⁻¹) till day 70. HS 5 g.kg⁻¹ (humic acids min. 650 and fulvic acids min. 50 g.kg⁻¹) dry matter (DM) were added into feeds. The samples from the thigh muscles (*m. gastrocnemius*) were collected after slaughter. The parameters of DM, water, fat and CP were analysed. The excreta from both groups were sampled for the analyses of DM, CP, ash and ash insoluble in HCl on days 27, 30, 34, 42 and 57. Lower excretion of CP was observed in the experimental group in all sampling periods with the statistical differences on days 34 and 42 (p<0.05). In conclusion, the addition of HS into a feed of turkeys can decrease CP excretion and positively increase protein content in the thigh muscles of turkeys.

Keywords: poultry nutrition, humic substances, dry matter, nitrogen, internal marker

ÚVOD

Huminové látky (HS) sú heterogénne zmesi polydispergovovaných materiálov, ktoré vznikajú biochemickými a chemickými reakciami pri rozklade a transformácii rastlinných a mikrobiálnych zvyškov v procese humifikácie. Základnými zložkami tohto procesu sú rastlinný lignín, jeho transformačné produkty, polysacharidy, melanín, kutín, proteíny, lipidy, nukleové kyseliny a jemné častice uhlia (Bezuglová, 2019).

Huminové a fulvónové kyseliny sú dvoma hlavnými komponentami HL, ktoré majú podobné funkčné štruktúry a ich všeobecné charakteristiky sú podobné humusu (Muhammad et al., 2016). Fulvónové kyseliny pozostávajú z mnohých aktívnych funkčných skupín: fenolových, hydroxylových, karboxylových a hydrochinónových (Aiken et al., 1986). Gao et al., 2017 zistili, že fulvónové kyseliny môžu zvýšiť podiel prospešných baktérií v čreve, zvýšiť sekréciu tráviacich enzýmov vrátane lysozýmu, proteázy a kyslo-alkalickej fosfatázy a zlepšiť črevné trávenie.

Cieľom experimentálnej štúdie bolo vyhodnotiť účinky dietárneho príjmu humínových látok pridávaných do krmiva na exkréciu dusíkatých látok, meranú ako pomer dusíkatých látok a popola nerozpustného v HCl analyzovaného v exkrementoch výkrmových moriek s potenciálnym vplyvom na ich obsah v stehennej svalovine (*m. gastrocnemius*).

MATERIÁL A METODIKA

Experiment bol autorizovaný Etickou komisiou Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach. V pokuse bolo použitých 20 moriek (Hybrid Converter) s priemernou hmotnosťou 1 726,8 g, ktoré boli vo veku 6 týždňov dodané z komerčnej farmy (Nadbuvar, Maďarsko). Vtáky boli náhodne rozdelené do 2 skupín po 10 jedincov (kontrolná - K a pokusná

skupina - Exp) 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 trvajúceho po dobu 70 dní boli použité dve komerčné kŕmne zmesi (KZ) (De Heus, a.s., Česká republika): a/ morka midi forte (MMF, dusíkaté látky (NL) 238,8 g.kg⁻¹) od 1. dňa pokusu po dobu 6 týždňov, b/ morka maxi (MM, NL 195,7 g.kg⁻¹) od 13. týždňa veku do 70. dňa pokusu). Žiadna KZ neobsahovala antibiotiká a rastové stimulatory. MM obsahovala antikokcidikum a histomonostatikum monenzinát sodný 70,0 mg.kg⁻¹.

Krmivá pokusných kurčiat boli suplementované produktami obsahujúcimi humínové látky (HS) (Humac s.r.o., Slovenská republika). Humac MycotoxiSorb bol pridaný do krmiva pokusnej skupiny B v množstve 5 g.kg⁻¹. Uvedené aditívum malo nasledovné parametre: veľkosť častíc do 200 µm, pH 5,8, maximálna vlhkosť 21%, obsah humínových min. 650 a fulvónových kyselín min. 50 g.kg⁻¹ v sušiny. Príjem krmiva a vody počas celého pokusu bol *ad libitum*. Hmotnosti moriek a spotreba krmiva boli merané počas experimentálneho obdobia v dvojtýždňových intervaloch. Exkrementy boli odoberané od oboch skupín na čistú plastovú podložku na 27., 30., 34. 42. a 57. deň pokusu pre analýzu sušiny, dusíkatých látok, popola a popola nerozpustného v HCl.

Experimentálne diéty a exkrementy 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 kŕmív (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).

Údaje sú vyjadrené ako priemer ± štandardná odchýlka (SD) jednotlivých hodnôt. Priemerné hodnoty výsledkov boli porovnávané Student – Newman – Keuls testom.

Tabuľka 1 Analyzovaný obsah živín v experimentálnych diétach

Parameter (g.kg ⁻¹)	Kŕmna zmes	
	Morka midi forte (MMF, 1. - 42. deň)	Morka maxi (MM, 43. - 70. týždeň veku)
Sušina	1000,0	1000,0
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 výtlačkové, ⁴- Metabolická energia (Európska komisia (2009))

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Analyzované parametre v exkrementoch moriek po príjme HS sú uvedené v tabuľke 2. Bol pozorovaný pozitívny vplyv príjmu HS na pomer dusíkatých látok a popola nerozpustného v HCl v pokusnej skupine moriek pri všetkých odberoch (27., 30., 34., 42., 57. deň) so štatisticky významnými rozdielmi na 34. a 42. deň pokusu.

Tabuľka 2 Analyzované parametre v exkrementoch moriek po príjme HS (priemer \pm SD, n=8)

Odber vzoriek (deň)	Sušina [g.kg ⁻¹]		NL [g.kg ⁻¹]		Popol [g.kg ⁻¹]		Popol nerozp. v HCl [g.kg ⁻¹]		NL/Popol nerozp. v HCl	
	K	Exp	K	Exp	K	Exp	K	Exp	K	Exp
27	266,9 5 ^a \pm 34,53	340,2 6 ^a \pm 17,22	5,92 ^a \pm 3,30	8,58 ^a \pm 4,15	45,96 a \pm 10,17	68,16 b \pm 9,28	1,88 ^a \pm 1,86	2,50 ^a \pm 0,80	7,70 ^a \pm 1,71	3,72 ^a \pm 2,34
30	237,8 4 ^a \pm 27,08	259,2 0 ^a \pm 18,03	4,16 ^a \pm 0,49	4,81 ^a \pm 2,40	32,47 a \pm 13,08	43,89 b \pm 7,15	1,11 ^a \pm 0,60	2,05 ^b \pm 0,29	5,79 ^a \pm 4,92	2,47 ^a \pm 1,53
34	302,7 1 ^a \pm 16,89	284,4 8 ^a \pm 24,50	18,14 a \pm 13,21	6,39 ^b \pm 3,92	49,99 a \pm 1,69	45,06 b \pm 4,35	1,85 ^a \pm 0,27	2,09 ^a \pm 0,41	10,22 a \pm 8,23	3,21 ^b \pm 2,26
42	206,5 4 ^a \pm 13,07	234,1 6 ^b \pm 14,82	4,04 ^a \pm 0,45	4,85 ^b \pm 1,14	28,31 a \pm 6,80	38,02 b \pm 1,35	1,15 ^a \pm 0,25	1,89 ^b \pm 0,36	4,87 ^a \pm 0,81	2,68 ^b \pm 0,99
57	210,2 2 ^a \pm 13,99	205,4 7 ^a \pm 16,66	3,25 ^a \pm 1,23	2,92 ^a \pm 0,73	23,45 a \pm 5,17	28,75 b \pm 1,70	1,00 ^a \pm 0,50	1,19 ^a \pm 0,07	4,48 ^a \pm 3,44	2,46 ^a \pm 0,62

Priemery s odlišnými indexami sa štatisticky významne líšia (^{a,b} P < 0,05)

Analyzované obsahy sušiny, dusíkatých látok a tuku v stehennej svalovine (*m. gastrocnemius*) sú uvedené v tabuľke 3. Príjem HS pozitívne vplýval na zvýšenie obsahu tuku a dusíkatých látok (P < 0,001) analyzovaných na 70. deň pokusu v pokusnej skupine.

Podľa Tang et al. (2023) je možné metabolizmus dusíka regulovať ošetrením s fulvónovými kyselinami, ktoré sú dôležitými komponentami HS, a zvýšiť využitie dusíkatých zlúčenín v čreve hydiny a tak redukovať elimináciu amoniaku prostredníctvom exkrementov. Amoniak je čreve hydiny produkovaný deamináciou aminokyselín a hydrolýzou močoviny. Ak sa zníži obsah amoniaku v čreve, potom sa zmierni kompenzačný efekt amoniaku na črevné bunky, čo má za následok zlepšenie črevnej bariéry a histomorfológie čreva (Ichikawa a Sakata, 1998).

Tabuľka 3 Analyzované parametre v stehennej svalovine moriek po príjme HS (priemer \pm SD, n=6)

Parameter (g.kg ⁻¹)	Skupiny	
	K	EXP
Sušina	254,16 ^a \pm 7,720	248,27 ^a \pm 7,026
Dusíkaté látky v sušine	180,10 ^a \pm 8,777	207,11 ^d \pm 5,699
Hrubý tuk v sušine	2,27 ^a \pm 7,713	2,88 ^a \pm 7,667

Priemery s odlišnými indexami sa štatisticky významne líšia (^{a,d} P < 0,001)

Fulvónové kyseliny prospešne inhibujú fekálnu ureázovú aktivitu a znižujú uvoľňovanie amoniaku stolicou, čo môže súvisieť so zvýšeným metabolizmom dusíka a metabolizmom riboflavínu (Tang et al. 2023).

ZÁVER

Príjem humínových látok v krmive pre morky pri aplikačnej dávke 5 g.kg⁻¹ znížil exkréciu dusíkatých látok meranú ako pomer exkrécie NL ku popolu nerozpustnému v HCl v prípade všetkých odberov a zvýšil podiel bielkovín v stehennej svalovine. Poukazuje to na potenciálne pozitívny vplyv týchto aditív na životné prostredie a výživné vlastnosti živočíšneho produktu.

LITERATÚRA

- Aiken, G. R., McKnight, D. M., Wershaw, R. L., MacCarthy, P. 1986. Humic substances in soil, sediment, and water. In *Soil Science*, [online], vol. 142, pp. 323. [cit. 2024-02-16]. Dostupné na: doi: 10.1002/gj.3350210213
- Bezuglova, O. 2019. Molecular structure of humus acids in soils. In *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, [online], vol. 182, pp. 676 - 682. [cit. 2024-02-16]. Dostupné na: doi: 10.1002/jpln.201900043
- Carvalho, L. H. M., De Koe, T., Tavares, P. B. 1998. An improved molybdenum blue method for simultaneous determination of inorganic phosphate and arsenate. In *Ecotoxicology and Environmental Restoration*, vol. 1, pp. 13 - 19.
- Cuniff, P. 1995. Official Methods of Analysis of AOAC. 16th edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, USA.
- 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], vol. 50, pp. 459 - 465. [cit. 2024-02-16]. Dostupné na: doi: 10.17221/4245CJAS
- European Commission 2009. Commission Regulation (EC) No 152/2009 of 37 January 2009 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of feed. In *Official Journal of European Union*, [online], vol. 54, pp. 1 - 130. [cit. 2024-02-16]. Dostupné na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32009R0152>
- Gao, Y., He, J., He, Z., Li, Z., Zhao, B., Chu, Z. 2017. Effects of fulvic acid on growth performance and intestinal health of juvenile loach *Paramisgurnus dabryanus* (Sauvage). In *Fish Shellfish Immunol*, [online], vol. 62, pp. 47 - 56. [cit. 2024-02-16]. Dostupné na: doi: 10.1016/j.fsi.2017.01.008
- Ichikawa, H., Sakata, T. 1998. Stimulation of epithelial cell proliferation of isolated distal colon of rats by continuous colonic infusion of ammonia or short-chain fatty acids is nonadditive. In *Journal of Nutrition* [online], vol. 128, pp. 843 - 847. [cit. 2024-02-16]. Dostupné na: doi: 10.1093/jn/128.5.843
- Muhammad, A. Z. Sonita, A. Deana, W. Mia, W. 2016. Preparation of Fe₃O₄-chitosan hybrid nanoparticles used for humic acid adsorption. In *Environ. Nanotechnol. Monit. Manage*, [online], vol. 6, pp. 64 - 75. [cit. 2024-02-16]. Dostupné na: doi: 10.1016/j.enmm.2016.06.001
- Tang, C., Kong, W., Wang, H., Liu, H., Shi, L., Uyanga, V.A., Zhao, J., Wang, X., Lin, H., Jiao, H. 2023. Effects of fulvic acids on gut barrier, microbial composition, faecal ammonia emission, and growth performance in broiler chickens. In *Journal of Applied Poultry Research* [online], vol. 32, 100322. [cit. 2024-02-16]. Dostupné na: doi: 10.1016/j.japr.2022.100322
- Van Loon, J.C. 1980. *Analytical Atomic Absorption Spectroscopy, Selected Methods*. New York: Academic Press, 348 pages. ISBN 978-032-154-864.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre and no starch polysaccharides in relation to animal nutrition. In *Journal of Dairy Science*, vol. 74, pp. 3583 - 3597. [cit. 2024-02-16]. Dostupné na: doi: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2

Pod'akovanie: Experimentálna štúdia a jej vyhodnotenie boli financované z grantov VEGA-1/0402/20 – Vplyv aditív vo výžive monogastrických zvierat na produkčné zdravie, produkciu, kvalitu produktov a životné prostredie a KEGA-006ZUVLF-4/2022.

Kontaktná adresa: Andrej Marcin, doc. MVDr., CSc., Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Komenského 73, 041 81 Košice

QUALITY OF MEAT PRODUCTS FROM MEAT OF POLISH NATIVE BREEDS OF SHEEP

Władysław Migdał, Maria Walczycka, Bartłomiej Faber, Anna Migdał, Łukasz Migdał

Abstract: Subsidies for native sheep breeds in Poland have not solved the problem of profitability of sheep breeding and have not contributed to an increase in the sheep population (they have only halted further decline). Despite the fact that the Programmed for the Protection of Sheep Genetic Resources currently covers 17 indigenous breeds of sheep. Therefore, ways should be sought to increase consumer interest in sheep products, particularly lamb and lamb sausages from indigenous breeds. The aim of this study was to analyses the chemical composition of lamb meat products available on the market. Sausages and lamb hams were characterized by high protein (19.2 to 33.27%) and fat (4.79 to 46.8%) contents. Sausages made from meat from the Wielkopolska breed of sheep were particularly high in protein and fat content. Due to their specific flavor and high fat content, lamb sausages are suitable for connoisseurs of this type of meat and sausages.

Keywords: Lambs, native breeds, meat products, chemical composition

INTRODUCTION

Sheep farming in Poland is currently a marginal activity. As recently as the 1980s and 1990s the sheep population in our country numbered 4-5 million (Rokicki, 2008). The decline in the number of sheep has progressed rapidly since 1980, to drop from 4.7 million head to 278 000 head in 2020 (Sawicki, 2019). After years of dynamic development of sheep farming according to the slogan "He who has sheep has what he wants", breeding collapsed.

Table 1. Sheep population in Poland (thousands of heads) (as of December of a given year) (Rokicki, 2008; Sawicki, 2019)

Year	Sheep population (thousand of heads)
1945	600.0
1955	4 200.0
1966	3 000.0
1980	4 700.0
1989	4 159.0
2002	330.0
2009	224.0
2010	213.7
2011	212.7
2012	218.5
2013	223.1
2014	201.3
2015	221.2
2016	244.2
2017	268.5
2018	267.0
2019	268.0
2020	278.0
2021	265.0
2022	290.0
2023	273.15

The appearance on the Polish market of finer and cheaper Australian and New Zealand wool resulted in a fall in demand for domestic wool, which in turn caused a drastic fall in the sheep stock - Table 1. It was only thanks to the introduction of subsidies for sheep farming that it was possible to halt the further fall in the stock and to achieve its current stable level of around 270 000 head. Currently the largest sheep farms are located in the Małopolskie, Podlaskie and Wielkopolskie Voivodships.

The aim of activities undertaken in the Polish sheep industry has become to optimize the production of lambs for slaughter and to make efficient use of the raw material for slaughter. Making use of the properties of ewe's milk and the tradition of producing sheep's cheese, which is typical of the Carpathian Mountains and foothills, the dairy use of sheep in the form of so-called transhumance pastoralism, i.e. a kind of original, extensive form of pastoralism, which has been maintained in mountain and foothill areas (Migdał et al. 2021). In addition, there is an increasing role for alternative uses of sheep to maintain the landscape by grazing wasteland and fallow land, in landscape parks and nature reserves, on dunes, on sports facilities or in home gardens (Kawęcka et al., 2017; Kawęcka i Sikora, 2022). There are currently over thirty breeds and strains of sheep in Poland, of which special attention should be paid to the old, indigenous breeds of sheep that are perfectly adapted to the local, often difficult and demanding environmental conditions of the regions from which they originate. These breeds are often characterized by lower productivity, which is compensated for by resistance to disease and stress, low nutritional requirements with good feed conversion, high fertility and prolificacy, and longevity. However, the crisis of the 1990s in Polish sheep breeding meant that some of the indigenous breeds became irretrievably extinct, e.g. the Karnówka and Krukówka (Kawęcka i Sikora, 2022). In order to preserve the indigenous breeds and consolidate their valuable, distinctive features in the population, they were included in the Programme for the Protection of Sheep Genetic Resources. The protection of sheep genetic resources has been carried out in our country since the 1970s. Thanks to the initiative of the National Research Institute of Animal Production, the Wrzosówka sheep, considered an extinct breed, was restored and reintroduced to breeding through restitution activities. A similar situation applied to Świniarka and Olkuska sheep. (Kawęcka i Sikora, 2022). In the 1990s there was a drastic decline in the overall sheep population in Poland and many of the less productive, mainly indigenous breeds were in real danger of being eliminated from breeding. In 1999, work began on the National Programme for the Protection of Animal Genetic Resources in Poland, as a result of which, by decision of the Minister of Agriculture and Rural Development, programmes were developed to protect the genetic resources of livestock populations, including sheep (Krupiński et al., 2017). The National Research Institute of Animal Production in Kraków is currently the only unit implementing and coordinating the tasks in the field of genetic resources protection, entrusted under the Act of 10 December 2020 on the organization of animal breeding and reproduction (Dz.U. z 2021, poz. 36). -Programme for the protection of genetic resources of sheep is implemented by the breeders - owners of flocks of sheep, the Polish Sheep Breeders' Association and the Regional Sheep and Goat Breeders' Associations, keeping breeding books and with the price of the functional value of sheep, and the National Research Institute of Animal Production implementing and coordinating tasks in the field of the protection of genetic resources of livestock. Participation in a conservation programme is voluntary (<http://owce.bioroznorodnosc.izoo.krakow.pl/>). The sheep genetic resources conservation programme is an important tool for protecting the biodiversity of the species. Since the beginning of its implementation, a steady increase in the protected population has been observed - the number of sheep has increased more than eightfold: from 8,000 ewes in 2005 to over 69,000 in 2021, kept in 848 flocks throughout Poland (Sikora et al., 2018; Kawęcka i Sikora, 2022). Since 2005, breeders of indigenous breeds of sheep have received financial support for breeding, mainly from EU funds. The Programme for the Conservation of Sheep

Genetic Resources currently covers 17 indigenous sheep breeds. These include mountain sheep (Podhale Zackel, Polish Mountain Sheep and Polish Mountain Sheep - coloured variety), which are an integral part of the economy and culture of the highlanders, as well as lowland sheep such as Wielkopolska, Uhruska, Żelaźnieńska and Koridel. In addition, such conservation breeds as the Wrzosówka, Świniarka, Polish merino sheep of the old type, the Kamieniecka sheep, the Olkuska sheep, the Pomeranian white-headed meat sheep and the Polish Foothill sheep are maintained (<http://owce.bioroznorodnosc.izoo.krakow.pl/>). Milk from ewes is used to produce regional products which are included on the List of Traditional Products or entered by the European Commission in the Register of Protected Designations of Origin (lump cheese, Żywiec and Wallachian smoked bryndza, Wallachian smoked bundz cheese, zentyca, bryndza podhalańska, oscypek, redykołka). The same applies to lamb meat on the list of traditional products (beskidzka lamb, lamb from świniarka, lamb from Wielkopolska sheep, Jurassic lamb from Olkuska sheep or leg of lamb from Pomeranian sheep with garlic) (<https://www.gov.pl/web/rolnictwo/lista-produktow-tradycyjnych12>). Podhale lamb, on the other hand, has Protected Geographical Indication status in the EU (<https://www.gov.pl/web/rolnictwo/produkty-zarejestrowane-jako-chronione-nazwy-pochodzenia-chronione-oznaczenia-geograficzne-oraz-gwarantowane-tradycyjne-specjalnosci>). Since subsidies for native breeds of sheep do not solve the problem of the profitability of sheep farming and have apparently not contributed to an increase in the sheep population (they have only halted its further decline), ways should be sought to increase consumer interest in sheep products, especially lamb and cold cuts made from lamb meat of native breeds. The aim of this study was to analyze the chemical composition of lamb meat products purchased from producers in Podhale, Beskid Śląski and Wielkopolska to eventually support their outstanding value.

MATERIAL AND METODOLOGY

There were bought some lamb meat products from in Podhale, Beskid Śląski and Wielkopolska: lamb sausages, ripening lamb sausage and lamb hams. The meat products were minced and average samples obtained were subjected to following chemical analyses:

- Water content according to the standard PN-ISO 1442:2000.
- Fat content according to the standard PN-ISO 1444:2000.
- Protein content by Kjeldahl method (PN-75/A-04018).
- Total ash content according to the standard PN-ISO 936:2000.
- Total carbohydrates content was calculated assuming that the all total solids and water stand for 100%,
- NaCl content by the Mohr's method (Polish standard PN ISO 1841-1:2002).

The energy value [kcal/100g] was calculated according to Regulation (EU) No 1169/2011 (European Parliament and of the Council. (2011). Regulation (EU) No 1169/2011)

RESULTS AND DISCUSSION

Sausages and lamb hams were characterized by high protein (from 19.2 to 33.27%) and fat (from 4.79 to 46.8%) contents. Sausages made from meat from the Greater Poland breed of sheep were particularly high in protein and fat content. Zajac et al. (2019) analyzing the chemical composition of the *longissimus dorsi lumborum* muscle of 8 indigenous lamb breeds found the highest fat content in lamb meat from sheep of the Wielkopolska breed (7.47-9.14%), while meat from lambs of the Wrzosówka breed contained 1.74-2.14% fat and that of the Podhale Zackel breed 1.76-2.22% fat. The fat content of lamb meat depends on both the method of feeding and the breed origin of the lambs, and the influence of these factors can be modified by feeding, housing system and slaughter age. Grześkowiak (2003) states that the optimum

amount of fat in lamb meat, having a favorable effect on sensory characteristics, should be in the range of 1.5-2.5%.

Table 2 shows the chemical composition of meat products (hams and sausages) made from meat of polish native breeds of lamb.

Table 2. Chemical composition of mat products made from meat of polish native breeds of lamb

Meat products	Dry matter %	Protein %	Fat %	Ash %	Carbohy -drates %	Salt %	Energy value kcal/100 g
Sheep sausage (Podhale Zackel sheep) n=4	43.81 ± 3.2	25.17 ± 1.9	14.81 ± 1.5	3.59 ± 0.25	0.23 ± 0.02	2.1 ± 0.3	234.89 ± 20.4
Sheep sausage (Wrzosówka) n=4	47.02 ± 2.10	22.18 ± 1.25	20.98 ± 1.86	2.52 ± 0.28	0.74 ± 0.05	1.8 ± 0.2	280.5 ± 21,4
Sheep sausage (Polish Mountain Sheep) n=4	51.9 ± 3.17	26.3 ± 1.46	22.7 ± 2.36	2.6 ± 0.2	0.30 ± 0,04	2.0 ± 0.15	310.7 ± 26.5
Sheep sausage (Wielkopolska sheep) n=4	75.97 ± 4.11	33.27 ± 1.32	37.37 ± 2.40	4.93 ± 0.29	0.40 ± 0.06	2.80 ± 0.2	471.01 ± 36.4
Ripening Sheep sausage (Wielkopolska sheep) n=4	79.80 ± 3.44	27.97 ± 2.28	46.80 ± 1.3	4.0 ± 0.10	1.03 ± 0.03	3.1 ± 0.25	537.2 ± 48.3
Sheep ham (Wrzosówka) n=4	33.88 ± 2.15	25.62 ± 1.94	4.79 ± 0.35	2.67 ± 0.20	0.80 ± 0.02	1.7 ± 0.13	148.79 ± 15,1
Sheep ham (Wielkopolska sheep) n=4	40.63 ± 3.83	19.2 ± 2.44	16.67 ± 2.64	3.90 ± 0.1	0.86 ± 0.04	2.5 ± 0.02	230.3 ± 18.7

Results falling within these limits were obtained by other authors analysing meat from lambs of different breeds and interbreed hybrids (Borys and Borys, 2002; Borys et al., 2011; Jandasek et al., 2014; Ramírez-Retamal and Morales, 2014). Zając et. al (2019) analysing the meat of lambs of 8 indigenous breeds found results falling within the recommended limits of 1.5-2.5% in lambs of the following breeds: Uhruska, Podhale Zackel, Pomeranian Sheep, Wrzosowka (heath) and Black-headed Sheep, while the meat of lambs of the breeds: Świniarka, Old Polish Merino and Wielkopolska Sheep was characterised by a fat content of 4.60 to 9.14%. Johnson et al. (2005) suggests that ewe lambs mature earlier and have a faster fat development compared to rams. Kędzior (2005) reports that changes in the tissue composition of sheep carcasses, observed with advancing age and weight development, are primarily associated with an increase in fatness. Arousseau et al. (2004) and Joy et al. (2008) found that feeding on pasture resulted in a higher proportion of meat and lower fat in carcasses compared to groups fattened with concentrate feed. It can therefore be concluded that intensive fattening results in relatively rapid fat deposition, while lower feeding intensity, at the same slaughter weight, results in a higher proportion of muscle tissue in the carcass. A similar trend was shown by Zając et al (2019),

only Uhruska and Wielkopolska lambs kept on pasture were characterised by a higher fat content in meat compared to lambs kept alcouve and fattened with concentrate feed. The results indicate that the chemical composition of lamb meat, and then meat products made from this meat, depends on genetic factors (breed, sex), environmental factors (nutrition, housing systems) and age of slaughter (Borys et al., 2011; Knapik et al., 2016; Milerski and Junkuszew, 2017; Warner et al., 2010).

Products made from sheep milk or meat may be important for human health due to the high content of ingredients such as CLA, GABA, L-carnitine and orotic acid (Milewski, 2006; Molik et al., 2017; Najgebauer-Lejko et al., 2021).

CONCLUSION

The analyzed lamb meat products were characterized by their high protein and fat content and high calorific value and should be presented to consumers as such. Due to their specific taste and high fat content, lamb meat products are intended for connoisseurs of this type of meat and products, and for those who prefers natural ways of supporting healing of civilization diseases.

REFERENCES

- Aurousseau, B., Bauchart, D., Calichon, E., Micol, D., Priolo, A. 2004. Effect of grass or concentrate feeding systems and rate of growth on triglyceride and phospholipid and their fatty acids in the *M. longissimus thoracis* of lambs. In *Meat Science*, vol. 66, pp. 531–541.
- Borys, B., Borys, A., Oprządek, J., Przegalińska-Gorączkowska, M. 2011. Effect of sex and fattening intensity on health-promoting value of lamb meat. In *Animal Science Papers and Reports*, vol. 29, pp.331–342.
- Borys, B., Borys, A. 2002. Wpływ rasy owiec na wybrane parametry jakości zdrowotnej mięsa jagnięcego. In *Zeszyty Naukowe Przeglądu Hodowlanego*, vol. 63, pp. 69–79.
- European Parliament and of the Council. (2011). Regulation (EU) No 1169/2011 on the provision of food information to consumers, amending Regulations (EC) No 1924/2006 and (EC) No 1925/2006 of the European Parliament and of the Council, and repealing Commission Directive 87/250/EEC, Council Directive 90/496/EEC, Commission Directive 1999/10/EC, Directive 2000/13/EC of the European Parliament and of the Council, Commission Directives 2002/67/EC and 2008/5/EC and Commission Regulation (EC). Official Journal of the European Union, L 304.
- Grześkowiak, E., Strzelecki, J., Borzuta, K., Borys, B., Borys, A., Lisiak, D. 2003. The influence of the sheep breed on the yield of culinary cuts and meat quality of lambs fattened intensively to high weight standards (in Polish). In *Zeszyty Naukowe Przeglądu Hodowlanego*, vol. 68, no. 3, pp. 81-91.
- Jandasek, J., Milerski, M., Lichovnikova, M. 2014. Effect of sire breed on physic-chemical and sensory characteristics of lamb meat. In *Meat Science*, vol. 96, pp. 88–93.
- Johnson, P.L., McEwan, J.C., Dodds, K.G., Purchas, R.W., Blair, H.T. 2005. Meat quality traits were unaffected by a quantitative trait locus affecting leg composition traits in Texel sheep. in *Journal of Animal Science*, vol. 83, no. 12, pp.2729-2735. doi: 10.2527/2005.83122729x. PMID: 16282610.
- Joy, M., Alvarez-Rodriguez, J., Revilla, R., Delfam, R., Ripoll, G. 2008. Ewe metabolic performance and lamb carcass traits in pasture and concentrate-based production system in Churra Tensina breed. In *Small Ruminant Research*, vol. 75, pp.24-35.
- Kawęcka, A., Radkowska, I., Szewczyk, M., Radkowski, A. 2017. Wypas kulturowy owiec w ochronie cennych zbiorowisk roślinnych na przykładzie Hali Majerz. In *Wiadomości Zootechniczne*, vol. RLV, no. 5, pp. 189–197.
- Kawęcka, A., Sikora, J. 2022. Chów i hodowla owiec i kóz z uwzględnieniem ras rodzimych. Centrum Doradztwa Rolniczego w Brwinowie, p. 68. 978-83-88082-69-6
- Kędzior, W. 2005. Owce produkty spożywcze. Polskie Wydawnictwo Ekonomiczne, p. 196.
- Knapik, J., Ropka-Molik, K., Pieszka, M. 2016. Genetic and Nutritional Factors Determining the Production and Quality of Sheep Meat – A Review. In *Annals of Animal Science*, vol. 17, no. 1, pp 23–40. doi:10.1515/aoas-2016-0036
- Krupiński, J., Martyniuk, E., Krawczyk, J., Baran, L., Bielański, P., Bobak, L., Calik, J., Chełmińska, A., Kawęcka, A., Kowalska, D., Majewska, A., Obrzut, J., Pasternak, M., Piórkowska, M., Polak, G., Puchała, M., Sikora, J., Sosin-Bzducha, E., Szyndler-Nedza, M., Tomczyk-Wrona, I. 2017. 15th anniversary of coordination of animal genetic resources conservation programmes at the National Research Institute of Animal Production (in Polish). In *Przegląd Hodowlany*, no. 4, pp. 30-36.
- Lista produktów tradycyjnych. <https://www.gov.pl/web/rolnictwo/lista-produktow-tradycyjnych12>

- Migdał, W., Tabor, S., Walczycka, M., Migdał, Ł. 2021. Shepherding and Wallachian dialect – the relicts of the Carpathian Mountains range economy. In *Indicators of change in cultural heritage*. Monograph / Hernik Józef [i in.] (red.), Kraków, Wydawnictwo Uniwersytetu Rolniczego im Hugona Kołłątaja w Krakowie, pp. 235-260, ISBN 978-83-66602-15-1
- Milerski, M., Junkuszew, A. 2017. Wartość dietetyczna i możliwości kulinarnego zagospodarowania mięsa z dorosłych owiec. (Dietary value and the possibilities for culinary utilization of meat from adult sheep). in *Wiadomości Zootechniczne*, vol. LV, no. 2, pp. 107–114.
- Milewski, S. 2006. Walory prozdrowotne produktów owczych. In *Medycyna Weterynaryjna*, vol. 62, no 5, pp. 5016-519.
- Molik, E., Błasiak, M., Nahajło K. 2018. Walory prozdrowotne mleka owczego i czynniki wpływające na zawartość w nim aktywnych związków. In *Przegląd Hodowlany*, no 2, pp.16-19.
- Najgebauer-Lejko, D., Domagała, J., Walczycka, M., Migdał, W. 2012. Polish Red Cattle and Polish Mountain Sheep and their products as the bio-indicators of Polish part of the Carpathian Mountains heritage. In *Indicators of change in cultural heritage*. Monograph / Hernik Józef [i in.] (red.), 2021, Kraków, Wydawnictwo Uniwersytetu Rolniczego im Hugona Kołłątaja w Krakowie, pp.273-302, ISBN 978-83-66602-15-1
- Polish Committee for Standardization. 2002. PN-75/A-04018:1975/Az3:2002, Agricultural food products. Nitrogen contents determination with Kjeldahl's method and recalculation into protein. Polish Committee for Standardization, Warsaw, Poland.
- Polish Committee for Standardization. 2013. PN-ISO 1442:2000, Meat and meat products. Water contents determination. Polish Committee for Standardization, Warsaw, Poland.
- Polish Committee for Standardization. 2013. PN-ISO 1444:2000, Meat and meat products. Free fat contents determination. Polish Committee for Standardization, Warsaw, Poland.
- Polish Committee for Standardization. 2013. PN-ISO 936:2000, Meat and meat products. Determination of total ash content. Polish Committee for Standardization, Warsaw, Poland.
- Polish Committee for Standardization. 2013. PN ISO 1841-1:2002, Meat and meat products. NaCl content by the Mohr's method. Polish Committee for Standardization, Warsaw, Poland
- Produkty zarejestrowane jako Chronione Nazwy Pochodzenia, Chronione Oznaczenia Geograficzne oraz Gwarantowane Tradycyjne Specjalności. <https://www.gov.pl/web/rolnictwo/produkty-zarejestrowane-jako-chronione-nazwy-pochodzenia-chronione-oznaczenia-geograficzne-oraz-gwarantowane-tradycyjne-specjalnosci>
- Programy ochrony zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich. <http://owce.bioroznorodnosc.izoo.krakow.pl/>
- Ramírez-Retamal, J., Morales, R. 2014. Influence of breed and feeding on the main quality characteristics of sheep carcass and meat: A review. In *Chilean Journal of Agricultural Research*, vol. 74, pp. 225-233. 10.4067/S0718-58392014000200015.
- Rokicki, T. 2008. Uwarunkowania rozwoju produkcji owczarskiej w Polsce. In *Zeszyty Naukowe SGGW. Ekonomika i Organizacja Gospodarki Żywnościowej*, no 67, pp. 109-116.
- Sawicki A. 2019. Bariery w organizacji krajowego rynku produktów owczarskich. In *Potencjał ras rodzimych owiec w produkcji naturalnej żywności – tradycja, regionalność, jakość*. Monografia (red. Borys, B., Knapik, J.) pp 7-20. ISBN 978-83-7607-388-0.
- Sikora, J., Kawęcka, A., Pasternak, M., Puchała, M. 2018. Dynamika rozwoju hodowli rodzimych ras owiec w latach 2008-2016. In *Wiadomości Zootechniczne*. vol. 4 pp. 159-165.
- Ustawa z dnia 10 grudnia 2020 r. o organizacji hodowli i rozrodzie zwierząt gospodarskich. Dz.U. z 2021, poz. 36.
- Warner, R. D., Greenwood, P. L., Pethick, D. W. Ferguson, D. M. 2010. Genetic and environmental effects on meat quality. In *Meat Science*, vol 86, pp. 171–183. doi: 10.1016/j.meatsci.2010.04.04
- Zajac, M., Tkaczewska, J., Kulawik, P., Guzik, P., Borys, B., Migdał, Ł., Migdał, A., Migdał, W. 2019. Comparing the chemical composition of the lamb meat of various native breeds. In: *Proceedings of the 12th International Symposium Modern Trends in Livestock Production / Radović Čedomir (red.)*, Belgrade - Zemun, Institute for Animal Husbandry, pp. 610-617, ISBN 978-86-82431-76-3

Contact address: Władysław Migdał, BEng, PhD, DSc, Prof. Tit., Maria Walczycka, Bartłomiej Faber
 Department of Animal Product Technology, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow,
 Balicka 122 St., 31-149 Kraków, Poland
 Anna Migdał, Łukasz Migdał, Department of Animal Genetics, Breeding and Ethology, Faculty of Animal
 Science, University of Agriculture in Kraków, Mickiewicza 24/28 St., 30-059 Kraków; Poland;

NUTRIČNÉ PARAMETRE STEHENNEJ SVALOVINY MORIEK PO PERORÁLNO M PODÁVANÍ ADITÍV

THIGH MUSCLE NUTRITIONAL CHARACTERISTICS OF TURKEYS FOLLOWING ORAL ADDITIVE ADMINISTRATION

Tomáš Mihok, Andrej Marcin, Alena Hreško Šamudovská, Michaela Harčárová, Lukáš Bujňák, Pavel Nad', Petra Timkovičová Lacková

Abstract: In a 70-day experiment was studied the effect of probiotics (*Lactobacillus fermentum* 213), humic substances (HUMAC MycotoxiSorb; added to the diet in experimental group in amount of 5 g.kg⁻¹) and combination of both on chemical composition of thigh meat in turkeys (dry matter, water, crude protein, fat). Supplementation of humic substances led to an increase the crude protein content of thigh meat ($p < 0.001$). The *per oral* intake of probiotics had a positive effect on the reduction of fat content in the thigh muscle. The dry matter has been significant higher in control group than in groups fed with humic substances and combination of humic substances and probiotics ($p < 0.001$).

Key words: poultry nutrition, probiotics, humic substances, meat, chemical composition

ÚVOD

Mäso hydiny je pre svoje nutričné, dietetické a senzorické vlastnosti jedným z najobľúbenejších druhov mäsa vo výžive ľudí (Semjon et al. 2020). Jeho kvalita je ovplyvnená zložením krmív a je možné ju ovplyvniť aj pridaním rôznych krmných doplnkových látok do krmív či pitnej vody. 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). Tieto látky sa už dlhšie používajú pre ich protihnačkové, imunostimulačné a antimikrobiálne vlastnosti v chovoch hydiny. Probiotické baktérie regulujú kolonizáciu črevný mikrobióm a zabraňujú kolonizácii črevného traktu patogénnymi baktériami (Schlee et al. 2008), zlepšujú imunitnú rezistenciu (Yasui et al. 1992, Shu and Gill 2001) a v experimentálnych podmienkach redukovávajú bakteriálnu translokáciu (Barc et al. 2008).

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). Humínové látky sú prírodné produkty, ktoré majú potenciál zlepšiť kvalitu mäsa hydínových brojlerov. 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 tejto práce bolo v experimentálnych podmienkach na modelovom krmnom pokuse sledovať vplyv podávania humínových látok a živých probiotických baktérii do krmiva na nutričné zloženie stehennej svaloviny u moriek (obsah sušiny, hrubého proteínu a tuku).

MATERIÁL A METODIKA

Experimentálna štúdia bola autorizovaná Etickou komisiou Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach. Štyridsať moriek (Hybrid Converter, priemerná hmotnosť 1 726,8 g) vo veku 6 týždňov bolo dodaných z komerčnej farmy (Nadbuvar, Maďarsko). Vtáky boli náhodne rozdelené do 4 skupín po 10 jedincov a označené identifikačnými krúžkami. V skupine A boli kŕmené krmivom bez prídavkov aditív. Skupine B boli do krmiva pridané humínové látky. Skupine C boli do vody pridané probiotiká a skupine D boli do krmiva pridané humínové látky a do vody probiotiká. Ustajnenie bolo realizované v 4 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 stimulanty. MMF obsahovala antikokcidikum a histomonostatikum monenzinát sodný 70,0 mg.kg⁻¹. Morkám v skupine C a D bol do vody podávaný kmeň *Lactobacillus fermentum* 213 (podľa novej nomenklatury *Limosilactobacillus fermentum*), 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 1,1×10⁸ KTJ.ml⁻¹. Probiotické baktérie boli aplikované v množstve 1 ml bujónu na kus do malého objemu vody pri rannom napájaní. V skupine B a D 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. 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 kŕmnym zmesiach. Neutrálne detergentná vlákna bola analyzovaná metódou podľa Van Soesta a kol. (1991). Atómová absorpčná spektrofotometria (AAS) bola použitá pre analýzu minerálneho zloženia krmív (Van Loon 1980). Fosfor bol kvantifikovaný spektrofotometricky (Carvalho et al. 1998). Hodnota metabolizovateľnej energie (ME) bola vypočítaná vzorcom podľa Nariadenia Komisie (ES) č. 152/2009 (European Commission 2009). Zloženie kŕmnym zmesí je uvedené v tabuľke 2.

Tabuľka 1 Analyzovaný obsah živín v experimentálnych diétach

Analyzované živiny (g.kg ⁻¹) sušiny	Kŕmna zmes	
	Morka midi forte (MMF)	Morka maxi (MM)
Sušina (g.kg ⁻¹) krmiva	886,80	897,40
Dusíkaté látky	238,80	194,90
Hrubý tuk	39,50	53,60
NDV	146,60	167,40
ADV	77,80	72,70
Škrob	472,10	518,70
BNLV	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 (MJ.kg ⁻¹) sušiny	13,67	14,10

NDV- neutrálne detergentná vlákna, ADV- acido detergentná vlákna, BNLV- bezdusíkaté látky výťažkové, ME- metabolizovateľná energia

Analýzy nutričných parametrov stehej 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. Stanovenia boli vykonané podľa metodiky špecifikovanej v zozname oficiálnych metód a laboratórnej diagnostiky pre potraviny a krmivá uvedenej vo Vestníku Ministerstva pôdohospodárstva SR (2004). Získané údaje boli spracované pomocou IBM SPSS Statistics verzie 24.0 (IBM Corporation, Armonk, USA). Výsledky boli vyjadrené

ako priemer a štandardná odchýlka. Na vyhodnotenie rozdielov v parametroch stehennej svaloviny u moriek bola vykonaná jednocestná analýza rozptylu (ANOVA) a Tukeyov test pre viacnásobné porovnanie priemerov.

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, monokalciium fosfát,	dihydrogénfosforečnan vápenatý, chlorid sodný, uhličitan vápenatý, monokalciium 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

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Nutričné zloženie stehennej svaloviny v jednotlivých skupinách je uvedené v tabuľke č. 3. Výsledky štatistickej analýzy ukázali, že morky prijímajúce probiotiká resp. v kombinácii probiotík a humínových látok mali výrazne nižší obsah tuku v stehennej svalovine ako morky s prídavkom iba humínových látok ($p < 0,001$). Štatisticky nižší obsah tuku bol zaznamenaný u týchto dvoch skupín aj v porovnaní s morkami, ktoré boli kŕmené krmivom bez prídavku aditív ($p < 0,01$). 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). 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. Prídavok humínových látok do krmiva viedol k signifikantnému zvýšeniu obsahu dusíkatých látok v stehennej svalovine moriek v porovnaní s morkami, kde tento prídavok nebol použitý ako aj v porovnaní s ostatnými pokusnými skupinami ($p < 0,001$). 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 (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). Signifikantne vyšší obsah sušiny/nížší obsah vody bol zaznamenaný vo svalovine moriek bez prídavku aditív než vo svalovine moriek, ktoré mali prídavok probiotík resp. probiotík a humínových ($p < 0,001$). Vyšší obsah sušiny bol zaznamenaný aj v skupine moriek s prídavkom humínových látok oproti morkám, ktoré boli kŕmené v kombinácii humínových látok s probiotikami ($p < 0,05$).

Tabuľka 3 Chemické zloženie stehennej svaloviny moriek

Analyzované parametre (%)	A	B	C	D
Sušina	25,42 ± 0,77 ^{a,b}	24,83 ± 0,70 ^c	24,02 ± 0,42 ^a	23,80 ± 0,19 ^{b,c}
Voda	74,58 ± 0,77 ^{d,e}	75,17 ± 0,70 ^f	75,98 ± 0,42 ^d	76,20 ± 0,19 ^{e,f}
Dusíkaté látky	18,01 ± 0,87 ^g	20,71 ± 0,57 ^{g,h,i}	18,15 ± 1,03 ^h	18,27 ± 1,20 ⁱ
Tuk	2,27 ± 0,71 ^{j,k}	2,88 ± 0,78 ^{l,m}	1,23 ± 0,43 ^{j,l}	1,24 ± 0,25 ^{k,m}

Rovnaké indexy v riadku sú štatisticky významné: $p < 0,05$: c,f; $p < 0,01$: j,k; $p < 0,001$: a,b,d,e,g,h,i,l,m (A-kontrola; B-humínové látky; C-probiotiká; D-humínové látky+probiotiká)

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. 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.

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. 2024-02-02]. Dostupné na doi: 10.1007/s11356-018-1687-x
- 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. 2024-02-07]. Dostupné na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6811714/>
- 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. 2024-02-02]. ISBN 1336-9245. Dostupné na doi: 10.15414/afz.2018.21.04.173-178
- Bahadori, Z., Esmailzadeh, 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. 2024-02-07]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.05.010>
- 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. 2024-02-08]. Dostupné na doi: 10.1016/j.anaerobe.2008.04.003
- Carvalho, L. H. M., Koe, T. D., Tavares, P. B. 1998. An improved molybdenum blue method for simultaneous determination of inorganic phosphate and arsenate. In *Ecotoxicology and Environmental Restoration* [online], vol. 1(1), pp. 13-19 [cit. 2024-02-02]. ISSN 0032-5791. Dostupné na: <https://www.researchgate.net/publication/284670220>

- 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. 2024-02-02]. Dostupné na doi: 10.17221/4245-CJAS
- 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. 2024-02-07]. Dostupné na: <https://doi.org/10.3382/japr.2013-00901>
- 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. 2024-02-02]. 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. 2024-02-02]. Dostupné na <http://data.europa.eu/eli/reg/2009/152/oj>
- Gálik, B., Hrnčár, C., Gašparovič, M., Rolínek, M., Hanušovský, O., Juráček, M., Šimko, M., Zábanský, 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. 2024-02-06]. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/agriculture13020295>
- 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. 2024-02-02]. 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. 2024-01-30]. Dostupné na: doi: 10.3923/ijps.2005.488.492
- 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. 2024-02-06]. 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. Multiple factorial analysis of physicochemical and organoleptic properties of breast and thigh meat of broilers fed a diet supplemented with humic substances. *Poultry Science*, 2020, 99(3), 1750-1760.
- 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. 2024-02-08]. Dostupné na doi: 10.1007/s430-001-8021-9
- Schlee, M., Harder, J., Kotten, 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. 2024-02-08]. Dostupné na doi: 10.1111/j.1365-2249.2007.03587.x
- Slominski, P. 2011. Recent advances in research on enzymes for poultry diets. In *Poultry Science* [online], 90(9), 2013-2023 [cit. 2024-02-02]. 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
- 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. 2024-01-30]. Dostupné na doi: 10.14202/vetworld.2019.1775-1778
- Van Loon, J. C. 1980. Analytical Atomic Absorption Spectroscopy, Selected methods. New York: Academic Press, New York, 348 pp. ISBN: 9780323154864.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* [online], 74(10), 3583–3597 [cit. 2024-02-03]. Dostupné na doi: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2
- 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. 2024-02-08]. Dostupné na doi: 10.3109/08910609209141310

Pod'akovanie: Práca bola podporená projektom Vedeckej grantovej agentúry MŠ SR VEGA 1/0698/24 Sledovanie účinku krmných doplnkových látok prírodného pôvodu a alternatívnych krmných komponentov na produkciu a zdravie monogastričných zvierat

Kontaktná adresa: MVDr. Tomáš Mihok, PhD., Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, tomas.mihok@uvlf.sk

VÝZNAM SKRMOVANIA PROBIOTÍK A HUMÍNOVÝCH LÁTOK NA KVALITU MÄSA BROJLEROVÝCH KURČIAT THE IMPORTANCE OF FEEDING PROBIOTICS AND HUMIC SUBSTANCES IN NUTRITION ON THE MEAT QUALITY OF BROILER CHICKENS

*Anna Reitznerová, Boris Semjon, Martin Bartkovský, Jozef Nagy, Stanislav Lauko,
Martin Faldyna, Dagmar Mudroňová, Slavomír Marcinčák*

Abstract: The aim of the work was to assess the effect of probiotics and humic substances in the diet of broiler chickens on the chemical composition, colorimetric parameters and sensory analysis of produced breast meat. In the PS experimental group, where probiotic strains of *Lactobacillus fermentum* 3I2 were applied higher fat content were recorded compared to the control group. In the HS experimental group, which had a feed enriched with 0.6% humic substances lower protein content was achieved compared to the other experimental groups. Changes in color parameters L* and a* of breast meat were determined in all experimental groups of broiler chickens during storage ($p < 0.01$). The best evaluation in overall sensory acceptability was achieved by the breast muscle samples of the experimental group PS. After seven days of storage in the refrigerator (4°C), the meat of the experimental group with the addition of humic substances and probiotics (PHS) was the best evaluated compared to the other groups.

Keywords: breast meat, humic substances, probiotic, sensory analysis

ÚVOD

V minulosti sa využívali antimikrobiálne látky, ako stimulatory rastu vo výžive hospodárskych zvierat. Vzhľadom na riziko reziduí liečiv a nárast rezistencie mikroorganizmov voči antibiotikám používaným vo veterinárnej aj humánnej terapii sa pristúpilo k zákazu ich používania vo výžive zvierat. V súčasnosti sa za jednu z vhodných alternatív považujú práve humínové látky, ktorým sa pripisujú mnohé pozitívne účinky na produkčné ukazovatele, imunitný systém a zdravie zvierat. Sú schopné viazať rôzne toxické látky a tvoriť s nimi nerozpustné komplexy. Vďaka tejto vlastnosti sú vhodné na použitie aj ako adsorbenty, sú schopné znížiť absorpciu rôznych endotoxínov, čo má nezastupiteľný význam v ochrane zdravia zvierat a aj človeka. Humínové látky majú antibakteriálny, antivirotický a antimikrobiálny účinok v chove zvierat, čím zlepšujú ekonomiku a ekológiu v živočíšnej výrobe, najmä zvyšovaním rastu, znižovaním nákladov na kilogram prírastku a minimalizovaním rizika ochorení. Navyše nie sú toxické, ani teratogénne (Lala et al., 2017).

Používanie probiotík v chove hydiny sa v posledných rokoch zvyšuje v dôsledku vyššieho dopytu mäsa bez antibiotík. Probiotické kmene (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Enterococcus*, *Bacillus*) majú pozitívny vplyv na produkciu a zdravie čriev hydiny, čím sa dosahuje úprava črevnej mikrobiálnej flóry, stimulácia imunitného systému, zníženie zápalových reakcií, prevencia kolonizácie patogénov, zvýšenie rastu, zvýšenie konverzie krmiva a zníženie vylučovania amoniaku a močoviny (Jha et al., 2020).

Pre značný význam probiotík a humínových látok v chove brojlerových kurčiat bolo cieľom experimentu zhodnotiť vplyv podávania probiotík vo vode a humínových látok v krmive brojlerových kurčiat na chemické zloženie, farebnú stabilitu a senzorické vlastnosti prsnej svaloviny získanej z pokusných brojlerových kurčiat.

MATERIÁL A METODIKA

Za účelom experimentu bolo chovaných 160 kusov brojlerových kurčiat COBB 500, mäsový hybrid. Priamo od dodávateľa (Domäsko s.r.o., farma Spišské Tomášovce) boli

privezené jednodňové kurčatá, ktoré boli rovnomerne rozdelené do štyroch skupín (40 kurčiat) – kontrolná skupina (KS); humínová skupina (HS); probiotická skupina (PS) a kombinovaná skupina (PHS). Všetky skupiny kurčiat boli kŕmené dvakrát denne rovnakými priemyselne vyrábanými kŕmivými zmesami BR1 (1. – 10. deň), BR2 (11. – 30. deň) a BR3 (31. – 37. deň). Počas celého experimentu mali kurčatá prístup ku krmivu v *ad libitum* množstve a voľný prístup k dostatočnému množstvu nezávadnej pitnej vody. Kontrolná skupina kurčiat (KS) bola kŕmená len základnou kŕmivou zmesou (KZ). Prvej experimentálnej skupine (HS) 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. Druhá experimentálna skupina (PS) bola kŕmená základnou KZ a vo vode jej bol podávaný probiotický kmeň *Lactobacillus fermentum* 213 v dávke 1ml/kura/deň. V tretej kombinovanej experimentálnej skupine (PHS) bol kurčatám vo vode podávaný 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 prsnej 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 prsnej svaloviny bol stanovený obsah tuku, vody - vyjadrený prepočtom na základe stanoveného obsahu sušiny a obsah celkových bielkovín.

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

Senzorickému hodnoteniu boli podrobené vzorky prsnej svaloviny 24 hodín po zabití a na 7.deň skladovania. Analýza vykonaná v Špecializovanom senzorickom laboratóriu na Inštitúte vzdelávania veterinárnych lekárov v Košiciach zriadeného podľa všeobecného plánu na usporiadanie senzorických pracovísk (ISO 8589, 2007). Senzorický panel bol zložený z 5 poučených hodnotiteľov vo veku od 28 do 60 rokov, ktorý mali dostatočné praktické skúsenosti s hodnotením hydínového 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 prsnej svaloviny získanej z pokusných skupín brojlerových kurčiat sú uvedené v tabuľke 1. Pridávanie humínových látok (0,6 %) Humac Natur AFM Mycotoxisorb do krmiva v pokusnej skupine HS spôsobilo vyšší obsah tuku a nižší obsah bielkovín v porovnaní s kontrolnou skupinou ($p > 0,05$). Semjon et al. (2020) uvádzajú, že po skrmovaní humínových látok dochádza k zníženiu obsahu tuku a zvýšeniu obsahu

bielkovín. Nami získané hodnoty tuku v prsnej svalovine (0,8 – 1,6%) sú výrazne nižšie, ako hodnoty uvádzané Semjonom et al. (2020) v prsnej svalovine 2,76 %, resp. 2,69 % pri skrmovaní 0,8 % a 1,0 % humínových látok v krmive a tiež Hudákom et al. (2021) obsah tuku 2,28 % pri 0,7 % zastúpení humínových látok v krmive. Pridávanie probiotík *Lactobacillus fermentum* 2I3 do vody malo vplyv na obsah tuku, pričom obsah bielkovín bol porovnateľný s kontrolnou skupinou ($p > 0,05$). Kombinácia probiotík a humínových látok v strave brojlerových kurčiat spôsobila zníženie obsahu tuku oproti kontrolnej skupine ($p > 0,05$).

Tabuľka 1: Priemerné hodnoty chemického zloženia prsnej svaloviny (%) pokusných skupín brojlerových kurčiat (priemer \pm SD)

parameter	KS	HS	PS	PHS	p – hodnota
voda	74,3 \pm 0,8	74,9 \pm 0,	474,6 \pm 0,1	74,8 \pm 1,1	0,5864
tuk	0,9 \pm 0,4	1,5 \pm 0,7	1,6 \pm 0,2	0,8 \pm 0,2	0,1316
bielkoviny	22,6 \pm 0,7	21,7 \pm 0,8	22,0 \pm 0,4	22,5 \pm 0,8	0,3183

KS – kontrolná skupina; HS – pokusná skupina s prídavkom 0,6 % Humac® Natur AFM Mycotoxisorb; PS – pokusná skupina s prídavkom probiotického kmeňa *Lactobacillus fermentum* 2I3; PHS – pokusná skupina s prídavkom probiotického kmeňa *Lactobacillus fermentum* 2I3 a humínových látok 0,6 % Humac® Natur AFM Mycotoxisorb

Hodnoty kolorimetrického merania na reze pokusných vzoriek prsnej svaloviny brojlerových kurčiat pred a po skladovaní pri teplote 4 ± 2 °C zobrazuje tabuľka 2. Kolorimetrické meranie preukázalo štatistickú významnosť medzi jednotlivými pokusnými skupinami prsnej svaloviny na reze pred a po skladovaní v kolorimetrických parametroch L^* a a^* . Hodnota kolorimetrického parametra L^* bola vo všetkých pokusných skupinách nižšia v porovnaní s kontrolnou skupinou a medzi skupinami bola zistená štatisticky významná rozdielnosť v tomto analyzovanom parametri ($p < 0,01$). Počas skladovania došlo k zmene hodnoty L^* kolorimetrického parametra v pokusnej skupine PS s prídavkom probiotík *Lactobacillus fermentum* ($p < 0,05$). V kolorimetrickom parametri a^* došlo k štatistickému nárastu hodnoty len v kontrolnej skupine pred a po skladovaní ($p < 0,001$). Kolorimetrický parameter b^* bol vo všetkých pokusných skupinách nižší v porovnaní s kontrolnou skupinou a medzi skupinami bola zistená štatistická významnosť $p < 0,01$ pred skladovaním a $p < 0,05$ po skladovaní. Pokusná skupina HS s prídavkom Humac natur AFM Mycotoxisorb vykazovala štatistickú významnosť kolorimetrického parametra b^* pred a po skladovaní ($p < 0,05$).

Tabuľka 2: Hodnoty kolorimetrického merania prsnej svaloviny na reze, pred a po skladovaní (4 ± 2 °C, 7 dní; priemer \pm SD)

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

KS – kontrolná skupina; HS – pokusná skupina s prídavkom 0,6 % Humac® Natur AFM Mycotoxisorb; PS – pokusná skupina s prídavkom probiotického kmeňa *Lactobacillus fermentum* 2I3; PHS – pokusná skupina s prídavkom probiotického kmeňa *Lactobacillus fermentum* 2I3 a humínových látok 0,6 % Humac® Natur AFM

Mycotoxisorb. Priemery zdieľajúce zhodný horný index (a-b) v stĺpci (faktor: pokusná skupina) nie sú vzájomne štatisticky významne rozdielne (Tukeyho test, $p < 0,05$). Priemery zdieľajúce zhodný horný index (1,2) v stĺpci (faktor: doba skladovania) nie sú vzájomne štatisticky významne rozdielne v danom čase skladovania.

Tabuľka 3: Hodnoty senzorickeho hodnotenia pokusnych vzoriek prsnej svaloviny brojlerovych kurciat pred a po skladovaní (4 ± 2 °C, 7 dní; priemer \pm SD)

<i>parameter</i>		<i>KS</i>	<i>HS</i>	<i>PS</i>	<i>PHS</i>	<i>P - hodnota</i>
<i>farba</i>	1. deň	8,00 \pm 1,15	7,40 \pm 1,71	8,00 \pm 1,56	8,10 \pm 0,99	0,2607
	7. deň	7,50 \pm 1,35	8,10 \pm 0,74	7,70 \pm 1,16	7,90 \pm 0,74	0,2884
<i>vôňa</i>	1. deň	7,80 \pm 1,69	7,00 \pm 0,94	7,70 \pm 1,16	7,90 \pm 0,88	0,1064
	7. deň	7,20 \pm 1,23	7,00 \pm 1,33	6,90 \pm 1,20	7,30 \pm 1,25	0,5612
<i>chut'</i>	1. deň	7,00 \pm 1,41	7,10 \pm 0,57	7,20 \pm 1,23	7,30 \pm 1,25	0,8951
	7. deň	7,30 \pm 1,25	7,60 \pm 0,97	7,30 \pm 1,42	7,20 \pm 1,23	0,5374
<i>šťavnatosť</i>	1. deň	5,90 \pm 1,29 ²	6,10 \pm 1,52	6,60 \pm 1,58	6,30 \pm 1,16	0,3179
	7. deň	7,30 \pm 1,34 ¹	6,50 \pm 2,07	6,80 \pm 1,62	6,90 \pm 1,73	0,3983
<i>krehkosť</i>	1. deň	5,90 \pm 1,20 ^{c2}	7,00 \pm 1,25 ^{cb}	7,70 \pm 0,82 ^{ab}	7,90 \pm 0,88 ^{a1}	0,0007
	7. deň	7,60 \pm 0,97 ¹	7,60 \pm 0,84	7,40 \pm 0,84	7,10 \pm 0,88 ²	0,4614
<i>celková prijateľnosť</i>	1. deň	7,50 \pm 0,85	7,30 \pm 1,06	7,80 \pm 0,63	7,70 \pm 0,95	0,5289
	7. deň	7,50 \pm 1,35	7,20 \pm 1,40	7,20 \pm 1,14	7,70 \pm 0,67	0,4506

KS – kontrolná skupina; HS – pokusná skupina s prídavkom 0,6 % Humac[®]Natur AFM Mycotoxisorb; PS – pokusná skupina s prídavkom probiotického kmeňa *Lactobacillus fermentum* 2I3; PHS – 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.

ZÁVER

Z dosiahnutých výsledkov možno konštatovať, že pridávanie probiotického kmeňa *Lactobacillus fermentum* 2I3 do vody a skrmovanie humínových látok vo forme prípravku Humac natur AFM Mycotoxisorb v kŕmnej zmesi od začiatku výkrmu brojlerových kurciat má vplyv na zvýšenie podielu tuku a na zníženie obsahu bielkovín vo vzorkách prsnej svaloviny. Z kolorimetrického merania vyplýva, že probiotiká a humínové látky ovplyvnili farbu mäsa prsnej svaloviny počas skladovania. Senzorickým hodnotením sa nezistili rozdiely vo farbe, vône, chuti a šťavnatosti vzoriek a preukázalo sa zlepšenie celkovej prijateľnosti prsnej svaloviny získanej z pokusných skupín brojlerových kurciat.

LITERATÚRA

- AOAC 1990. Official Methods of Analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- Hudák, M., Semjon, B., Marcinčáková, D., Bujňák, L., Naď, P., Koréneková, B., Nagy, J., Bartkovský, M., Marcinčák, S. 2021. Effect of Broilers Chicken Diet Supplementation with Natural and Acidified Humic Substances on Quality of Produced Breast Meat. In *Animals* (Basel). Apr 10;11(4):1087.
- Jha, R., Das, R., Oak, S., Mishra, P. Probiotics (Direct-Fed Microbials) in Poultry Nutrition and Their Effects on Nutrient Utilization, Growth and Laying Performance, and Gut Health: A Systematic Review. In *Animals* 2020, 10, 1863.
- Lala, A. O.; Oso, A. O.; Okwelum, N., Ajao, A. M. 2017. Adegbenjo, A. Response of broiler chickens to varying dosage of humic acid in drinking water. *Journal of Animal Production Research*, 2017, 29, 288 – 294.
- Lawless, H. T. Heymann, H. 2010. Sensory evaluation of food: Principles and practices. 2nd Ed. Springer_Verlag: New York, 2010. p. 596. ISBN 978-1-4419-6487-8.
- 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.

Pod'akovanie: 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: prof. MVDr. Slavomír Marcinčák, PhD. Katedra hygieny, technológie a zdravotnej bezpečnosti potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika, e-mail: slavomir.marcinčak@uvlf.sk

Anna Reitznerová, Boris Semjon, Martin Bartkovský, Jozef Nagy, Stanislav Lauko, Dagmar Mudroňová, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika
Martin Faldyna, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Hudcova 296/70, 621 00 Brno, Česká republika

Bezpečnosť a kvalita potravín rastlinného pôvodu

HODNOTENIE VPLYVU ENOLOGICKÝCH PROCESOV NA OBSAH HISTAMÍNU VO VÍNE

EVALUATION OF THE INFLUENCE OF OENOLOGICAL PROCESSES ON THE HISTAMINE CONTENT IN WINE

Lucia Benešová, Štefan Ailer, Martin Janás

Abstract: In food, biogenic amines are perceived as undesirable, anti-nutritional factors that raise public health concerns. Wines that mature for a period of several months to more than a year can, due to the increased pH and reduced effect of SO₂, contain lactic acid bacteria and retain decarboxylation activity. Subsequently, the yeast lees become a nutrient medium for these bacteria. In yeast lees, proteins are hydrolysed to amino acids, which can subsequently be decarboxylated to biogenic amines. The content of the research is focused on biogenic amines in wine and the evaluation of the influence of fermentation and length of maturation on the content of histamine in wine. The samples were analysed by high-performance liquid chromatography (HPLC) with a fluorescence detector (FLD). The separation took place on a C18-RP chromatographic column using gradient elution and subsequent post-column derivatization using OPT (o-phthaldialdehyde). Quantification of histamine was performed using the external calibration method. Wines in which the concentration of histamine was determined to be more than 0.25 mg/l (which is also the limit of sensitivity of the method) were designated as histamine positive. The analysis of the results shows that the highest content of histamine (0.313 mg/l) was contained in red wine that lay on the yeast lees for 7 months. A higher histamine content was not detected in the other samples, despite the fact that malolactic fermentation took place in most cases. In these samples, the detected histamine content was <0.25.

Keywords: Biogenic amines, amino acids, histamine, malolactic fermentation

INTRODUCTION

Biogenic amines are most often formed in food by decarboxylation of amino acids through bacterial decarboxylases. Acidic amino acids are thus formed by the action of decarboxylation enzymes into basic biogenic amines (Čuboň, 2019). The three basic conditions for the formation of biogenic amines include:

- occurrence of amino acids in the substrate,
- occurrence of microorganisms with decarboxylase activity,
- suitable conditions for the growth and reproduction of microorganisms.

Factors influencing the activity of microorganisms and their decarboxylases include the composition of the substrate, pH of the environment, temperature of the environment, presence of salts, presence of oxygen, product storage time, starter cultures, and hygiene during production (Komprda, 2004). Among consumers, the concept of "intolerance to wine", with which almost 10% of the population has relatively frequent experiences, became popular (Wigand et al, 2012). Most of them attribute these symptoms to a reaction to sulphur dioxide, but it is a reaction to BA toxicity. BA in wine can be considered more toxic than in other foods because ethanol and acetaldehyde inhibit the enzymatic degradation of BA (EFSA, 2011).

Amino oxidases are expressed in the human intestine and proved to have a detoxifying effect on biogenic amines. However, these mechanisms are insufficient if biogenic amines are taken into the body in large quantities or if their degradation in humans is inhibited, which happens especially for allergic individuals primarily patients consuming medication with the effect of monoamine oxidase inhibitors Histamine produced from the amino acid histidine via

decarboxylation by histidine decarboxylase (Simpson, 2012). From the point of view of the presence of biogenic amines, we divide foods into non-fermented and fermented ones. A higher occurrence of biogenic amines in fermented foods is expected, as the production of these amines is supported by the activity of bacterial decarboxylases present specifically in fermented foods.

Non-fermented foods containing biogenic amines include fish (primarily mackerel; tens to hundreds of milligrams of biogenic amines per 100 grams of raw material, depending on the quality of product storage). Furthermore, non-fermented foods with a content of around 1 milligram per 100 grams of product include meat, milk, certain types of vegetables (tomatoes), fruit, chocolate, and mushrooms.

Fermented foods containing biogenic amines include cheeses (tens to hundreds of milligrams of biogenic amines per 100 grams of product), fermented meat products (up to tens of milligrams per 100 grams of product), fermented beverages (up to tens of milligrams per 100 grams of product) and fermented vegetables as well. In Central Europe, sauerkraut is the fermented vegetable possessing the highest risk, mainly the one spontaneously fermented (tens of milligrams of biogenic amines per 100 grams of product) (Maintz and Novak, 2007). Some yeasts can degrade BA, for example, some strains of *Debaryomyces hansenii* or *Yarrowia lipolytica*.

This property is probably due to the activity of peroxisomal amine oxidase. Such a finding brings new insight into the possibility of using microorganisms or purified microbial enzymes to solve the problem of high BA concentrations in wine (Costantini et al., 2019).

Wine, just like other fermented foods, is an ideal substrate for the formation of biogenic amines. The wine production process includes not only the availability of free amino acids but also the possible presence of microorganisms with positive decarboxylation activity and environmental conditions that allow the growth of these microorganisms, as well as the activity of decarboxylation enzymes. The availability of the substrate and the associated formation of biogenic amines influence not only the vintage but also other factors related to technological and oenological procedures. Among them, in particular, the length of mash maceration, malolactic fermentation, and wine aging on yeast lees is included (Martín-Álvarez et al., 2006). Agrotechnical and oenological factors can also influence BA content. For example, the use of nitrogen fertilization can increase BA in musts and wines (Smit et al., 2013).

Histamine is not an additive, but a natural product of biotechnological production, therefore the label does not need to state, "contains histamine," or "contains biogenic amines." From the point of view of allergens, wine is a healthy and safe food. (Ailer and Pintér, 2023).

Scientific Hypothesis

First hypothesis: Wine, that has been on yeast lees for a long time should have a higher histamin content.

Second hypothesis: Inoculation with lactic acid bacteria and maturation of wine in wooden barrels should reduce the histamine content.

MATERIAL AND METODOLOGY

Tested samples:

- Roesler, 2022 thick red wine, Anchor Alchemy III (ADWY), macerated during alcoholic fermentation, 2 months on yeast lees, with malolactic fermentation (LA bacteria)
- Roesler sur lie, 2022 Thick red wine, Anchor Alchemy III (ADWY), macerated during alcoholic fermentation, 7 months on yeast lees, with malolactic fermentation (LA bacteria)

- Riesling Barrel Fermented, 2019 Quality varietal wine, white, dry, *Saccharomyces cerevisiae* (ADWY), without prior maceration, 5 months on yeast lees, with partial malolactic fermentation (LA bacteria)
- Riesling DSC, 2021 Quality varietal wine, white, dry, *Saccharomyces cerevisiae* (ADWY), without prior maceration, 3 months on yeast lees, with partial malolactic fermentation (LA bacteria)
- Welsch Orange, 2022 Quality varietal wine, orange, dry, *Saccharomyces cerevisiae* (ADWY), macerated during alcoholic fermentation, 6 months on yeast lees, with partial malolactic fermentation (LA bacteria)
- Rizling Vlašský, 2022 Quality varietal wine, white, dry, *Saccharomyces cerevisiae* (ADWY), without prior maceration, 1 month on yeast lees, without malolactic fermentation

We analyzed the samples by high-performance liquid chromatography (HPLC) with a fluorescence detector (FLD). The separation took place on a C18-RP chromatographic column using gradient elution and subsequent post-column derivatization using OPT (o-phthalaldehyde). In an alkaline environment, a fluorescent complex is formed, which was detected by a fluorescence detector. Quantification of histamine was performed using the external calibration method. Wines in which the concentration of histamine was determined to be more than 0.25 mg/l (which is also the limit of sensitivity of the method) were designated as histamine-positive.

RESULTS AND DISCUSSION

The following table summarizes the results of the chemical analysis of one of the biogenic amines - histamine, for the individual monitored variants - white, red, and orange wines that were left on yeast lees from 1 month to 7 months. From the measured histamine values for each wine sample, the average value of histamine within the given variant was always determined. For each analysis, three values from each wine sample were measured and subsequently the averages of these values were determined and used in the evaluation of the given samples.

Table 1 Main parameters

No.	Sample	Type	Maturation time	Type of container	Histamin content (mg/l)
1	Roesler 2022	red	2 months on YL	glass container	<0.25
2	Roesler sur lie	red	7 months on YL	glass container	0.313
3	Welsch Orange	orange	6 months on YL	w.b. + stain. tank	<0.25
4	Riesling BF	white	5 months on YL	wooden barrel	<0.25
5	Riesling DSC	white	3 months on YL	stainless-steel tank	<0.25
6	Rizling vlašský	white	1 month on YL	stainless-steel tank	<0.25

Kumšta et al. (2023) studied the effect of winemaking technologies on the concentration of different biogenic amines in Chardonnay wines by the HILIC method of chromatographic

separation. Wines produced from sedimented, inoculated must with active dry yeast without malolactic fermentation were compared with wine produced from non-sedimented must spontaneously fermented with malolactic fermentation. They did not find the impact of technology on the content of histamine. The highest concentration of histamine was 0.055 mg/l. There are currently no coordinated limits in the EU for the content of biogenic amines in wines. Different countries have established upper limits of histamine in wine: 2 mg/l in Germany, 10 mg/l in Australia and Switzerland, 8mg/l in France, 3.5 mg/l in the Netherlands, and 6 mg/l in Belgium (Smit et al., 2008).

CONCLUSION

Several technological and oenological strategies have been proposed to reduce the content of biogenic amines in the final product protecting the human health and wellbeing in mind. These strategies include, for instance, the use of commercial starter cultures, the selection of starter cultures without decarboxylase activity incapable of producing biogenic amines, or the timely application of sulphur dioxide after the completion of malolactic fermentation. Currently, there are no regulatory instruments for wine. BA Resolution of the International Organization for Vine and Wine (OIV-CST 369-2011) provides recommendations on how to minimize BA in wine and wine products. Wine producers use the current communication of this allergen, but more or less from a marketing point of view. The process began with the publication of the term "histamine-free wine" on consumer packaging. Control authorities did not accept such a form since every wine contains a certain amount of histamine. Wines that contain less than 0.25 mg/l of histamine (which is currently the sensitivity limit of the method in Slovakia) can be communicated as "low histamine" wines. For example, in Austria, the detection limit (October 2023) is 0.1 mg/l. A wine that contains less than 0.1 mg/l of this substance can be labeled in this country as: "contains less than 0.1 mg/l of histamine". From the point of view of biogenic amines, wine is a healthy and safe food, and only in some types of technology (malolactic fermentation, kvevri, orange) can the histamine content be slightly increased. From the point of view of allergens, wine is a healthy and safe food. Sulphur dioxide is quickly detoxified by the enzyme sulphite oxidase in the liver, heart, and kidneys to sulphates, which are excreted from the body in the urine. Wine consumers with low sulphite oxidase activity have a strong intolerance to sulphites and therefore develop allergies.

REFERENCES

- Ailer, Š., Pintér, E. 2023. Management of grape and wine quality. Nitra. SUA. 193 p. ISBN 978-80-552-2697-2.
- Costantini, A., Vaudano, E., Pulcini, L., Carafa, T., Garcia-Moruno, E. 2019. An overview on biogenic amines in wine. In *Beverages* [online], vol. 5, p. 19 [cit. 2019-03-30]. ISSN 2306-5710. Dostupné na: doi: 10.3390/beverages5010019
- Čuboň, J., Haščík, P., Hleba, L., Cviková, P., Tkáčová, J., Lopašovský, L., Pavelková, A. 2019. Biogenic amines as risk factors of food chain. In *Archives of Ecotoxicology* [online], vol. 1, p. 7-10 [cit. 2019-03-30]. ISSN 2644-4747.
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). (2011). Scientific opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. In *Efsa Journal* [online], vol. 9, p. 2393 [cit. 2019-03-30]. ISSN 1831-4732. Dostupné na: doi: 10.2903/j.efsa.2011.2393
- Komprda, T. 2004. Obecná hygiena potravin. 1. vyd. Brno: Mendlova zemědělská a lesnická univerzita, 145 s. ISBN 807157757X.
- Kumšta, M., Helmová, T., Štůsková, K., Baroň, M., Průšová, B. (2023) HPLC/HILIC determination of biogenic amines in wines produced by different winemaking technologies. In *Acta Alimentaria: An International Journal of Food Science* [online], vol. 52, p. 209-219 [cit. 2019-03-30]. ISSN 0139-3006. Dostupné na: doi: 10.1556/066.2022.00247
- Simpson, B. K. 2012. Food Biochemistry and Food processing. 2nd ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell. ISBN 978-0-8138-0874-1.

Smit, A. Y., du Toit, W., du Toit, M. 2008. Biogenic amines in wine: understanding the headache. In *South African Journal for Oenology and Viticulture* [online], vol. 29, p. 109127 [cit. 2019-03-30]. ISSN 0254-6299. Dostupné na: doi: 10.21548/29-2-1444.

Smit, A. Y., Du Toit, W. J., Stander, M., Du Toit, M. (2013). Evaluating the influence of maceration practices on biogenic amine formation in wine. In *LWT-Food Science and Technology* [online], vol. 53, p. 297-307 [cit. 2019-03-30]. ISSN 0023-6438.

Maintz, L., Novak, N. 2007. Histamine and histamine intolerance. In *The American Journal of Clinical Nutrition* [online], vol. 85, p. 1185-96 [cit. 2019-03-30]. ISSN 1938-3207. Dostupné na: doi: 10.1093/ajcn/85.5.1185

Martín-Álvarez, P. J., Marcobal, Á., Polo, C., & Moreno-Arribas, M. V. 2006. Influence of technological practices on biogenic amine contents in red wines. In *European Food Research and Technology* [online], 222, p. 420-424 [cit. 2019-03-30]. ISSN 1438-2385.

Wigand, P., Blettner, M., Saloga, J., Decker, H. (2012). Prevalence of wine intolerance: results of a survey from Mainz, Germany. In *Deutsches Ärzteblatt International* [online], vol. 109, p. 437 [cit. 2019-03-30]. ISSN 1866-0452.

Pod'akovanie: The analyses and contributions were created with the financial support of the project of the Agency for the Support of Research and Development - project no. APVV-22-0402, VEGA project no. 1/0239/21. Thanks to the project Demand-driven research for the sustainable and innovative food, Drive-4SIFood 313011V336, co-financed by the European Union.

Kontaktná adresa: Ing. Lucia Benešová, PhD., Research centre AgroBioTech, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra, lucia.benesova@uniag.sk

CHARAKTERISTIKA VYBRANÝCH SLOVENSKÝCH ODRÔD VÍN RÔZNEHO PÔVODU V SÚVISLOSTI S ANTIOXIDAČNOU AKTIVITOU A OBSAHOM POLYFENOLICKÝCH LÁTOK DESCRIPTION OF SELECTED SLOVAK GRAPE WINES OF VARIOUS ORIGINS REGARDING THEIR ANTIOXIDANT ACTIVITY AND PHENOLIC SUBSTANCES

Martina Fikselová, Silvia Jakobová, Simona Kunová, Lucia Zeleňáková, Jozef Čapla, Jozef Golian, Janka Pokrývková

Abstract: In this work three varieties of grape wine were monitored, which originated from two different wine-growing areas of Slovakia. There were used Noria (white wines), Cabernet Sauvignon (rose and red wines), and Dunaj (red) wines from Stredoslovenský and Južnoslovenský wine-growing region. The samples were analysed for their total polyphenol content (TPC) using the Folin-Ciocalteu method and antioxidant activity by the DPPH method. The highest TPC was determined in the red wine of Dunaj variety from Stredoslovenská wine-growing region and the second highest in Dunaj wine as well, from Južnoslovensky region. The lowest in both observed parameters (TPC and DPPH) was Cabernet Sauvignon rose from Južnoslovensky region. The highest percentage of DPPH inhibition was determined in Cabernet Sauvignon (74,58 %), followed by Dunaj (61,55 %), both originated from Stredoslovenský wine-region and at the same time both characterized by high TPC content.

Cultivation under different environments as well as the influence of production technology lead to different content and representation of phenols, composition and antioxidant activity of wines. TPC as well as the antioxidant activity are also result of the qualitative phenolic representation.

Keywords: wine, grape, polyphenols, antioxidant activity, Dunaj, Cabernet Sauvignon, Noria

ÚVOD

Kvalitu vína ovplyvňujú rôzne faktory, v súčasnosti má spotrebiteľ na kvalitu stále vyššie nároky. Obsah biologicky cenných látok, ktoré sa nachádzajú v hrozne a následne vo víne sú témou pre výskum. Vedci sa často zameriavajú najmä na obsah polyfenolov ako aj iných antioxidačných látok.

Zo štruktúrneho hľadiska sú fenolové zlúčeniny tvorené aromatickým kruhom s jednou alebo viacerými naviazanými -OH skupinami. Patria sem jednoduché fenolové látky ale aj polymerizované fenolové zlúčeniny (Balasundram et al., 2006). Vo vínach je identifikovaných viac ako 200 fenolových zlúčenín. Hydroxylové skupiny zohrávajú hlavnú úlohu pri pripisovaní antioxidačných vlastností vychytávaním reaktívnych druhov. Fenolové zlúčeniny prítomné vo vínach možno vo všeobecnosti klasifikovať ako flavonoidy (napr. flavanoly, flavonoly, antokyaníny a taníny) a neflavonoidné látky (napr. kyselina hydroxybenzoová, deriváty kyseliny hydroxyškoricovej a stillbeny) (Cosme et al., 2016).

Fenolové látky zodpovedajú za množstvo dôležitých charakteristík vína, predovšetkým za farbu ale aj chuť a antioxidačné vlastnosti vína.

Z mnohých biologicky účinných, zdraviu prospešných fenolických antioxidačných zlúčenín prítomných v hrozne a víne sú najviac preskúmané resveratrol a piceid, patriace medzi stilbéby a kvercetín, patriaci medzi flavonoidy (Poláček et al., 2018). Vína a výťažky z hroznových semien a šupiek, predovšetkým získané z červeného hrozna, sú často predmetom výskumu pre vysoký obsah antioxidantov (Hosu et al., 2014).

Cieľom tejto práce bolo porovnať celkový obsah polyfenolov a antioxidačnú aktivitu rôznych odrôd vín pochádzajúcich z rôznych vinohradníckych oblastí Slovenska.

MATERIÁL A METODIKA

Materiálom boli 3 odrody akostných vín, pochádzajúce z dvoch vinohradníckych oblastí Slovenska (VO), z Južnoslovenskej a Stredoslovenskej (tabuľka 1), pričom Cabernet Sauvignon bol vyrobený ako ružové (Južnoslovenská VO, Strekov) a červené (Stredoslovenská VO, V. Krtíš) víno, Dunaj ako červené víno a Noria ako biele víno.

Tabuľka 1 Analyzované vzorky vín

VZORKA	VINOHRADNÍCKA OBLASŤ	REGIÓN
Dunaj	Južnoslovenská	Strekov
Cabernet Sauvignon rosé	Južnoslovenská	Strekov
Noria	Južnoslovenská	Strekov
Dunaj	Stredoslovenská	Veľký Krtíš
Cabernet Sauvignon	Stredoslovenská	Veľký Krtíš
Noria	Stredoslovenská	Veľký Krtíš

Dunaj

Slovenská odroda Dunaj vznikla trojitým krížením. Semenáč odrôd Muškát Bouchet a Oporto bol následne krížený s odrodou Svätovavrinecké. Zaregistrovaná bola v roku 1997. Výhodou tejto odrody v našich vinohradníckych oblastiach je skoršie dozrievanie hrozna, pravidelne vysoké úrody a vysoká cukornatosť muštu. Odroda Dunaj sa zaraďuje medzi najkvalitnejšie a vhodné do našich ekologických podmienok. Je vhodná na výrobu prívlastkových odrodových vín. Vína sú intenzívnej tmavočervenej farby, chuťovo plné a harmonické. V chuti a vône sú tóny prezretých višní a čerešní. Vyzreté vína majú príchut sliviek, čierneho bobuľového ovocia, čokolády, kávy. Odroda je vhodná aj na výrobu prírodných sladkých prívlastkových vín (Poláček et al., 2018).

Cabernet Sauvignon

Odroda Cabernet Sauvignon pochádza z oblasti Bordeaux. Vznikla z odrôd Cabernet Frank a Sauvignon Blanc. Je to najznámejšia a najpestovanejšia modrá muštová odroda viniča na svete s rozlohou približne 300 tis. ha (Poláček et al., 2018).

Noria

Je to slovenský kríženec odrôd Rizling rýnsky a Semillon. Do listiny registrovaných odrôd bola zapísaná v roku 2002. Patrí medzi najkvalitnejšie odrody. Je vhodná predovšetkým na výrobu akostných vín s prívlastkom s výrazným odrodovým charakterom. Vína z nej sú skôr rizlingového typu, harmonické s vyšším obsahom kyselín a miernou lipovou arómou. Sú vhodné na dlhodobé skladovanie v dubových sudoch i vo fľašiach. Vo vône pripomínajú Semillon s tónmi marhúľ, nektáriniek a manga (Poláček et al., 2018).

Južnoslovenská vinohradnícka oblasť (VO)

Vinohradnícke trate južného Slovenska ležia na nížinných rovinách, sprašových pahorkatinách a ílovito-hlinitých terasách severne od povodia rieky Dunaj. Oblasť zahŕňa 8 vinohradníckych rajónov s katastrami 114 vinohradníckych obcí. Južnoslovenská VO je najteplejšou vinohradníckou oblasťou Slovenska so suchým podnebím a miernymi zimami. Má

vynikajúce podmienky na pestovanie odrôd s neskorším obdobím dozrievania hrozna určeného na výrobu akostných vín s prívlastkom najvyššej kvality (Hronský, 2014).

Stredoslovenská vinohradnícka oblasť (VO)

Ide o geologicky a pestovateľsky zaujímavú oblasť pestovania viniča s bohatou vinárskou a vinohradníckou tradíciou. Nemá ucelené vinohradnícke trate, ponúka však množstvo rozmanitých terroirov od najvyššie položených svahov Krupinskej pahorkatiny cez sopečné pohorie Sitno a Štiavnické vrchy až po vyvýšené polohy Ipeľskej nížiny. V Stredoslovenskej VO je 7 vinohradníckych rajónov a 107 vinohradníckych obcí s celkovou registrovanou plochou vinohradov 2 289 ha (Hronský, 2014).

METODIKA

Stanovenie celkového obsahu polyfenolov (TPC)

Do 50 ml odmernej banky sa napipetovala destilovaná voda, pridalo sa 0,05 ml vzorky vína a 2,5 ml roztoku fenolového činidla Folin-Ciocalteu, 5 ml 20 % - ného vodného roztoku Na_2CO_3 . Objem sme doplnili destilovanou vodou a premiešali, takto pripravený sa nechal reagovať dve hodiny. Zároveň sme pripravili kalibračnú krivku s roztokom kyseliny galovej ($5 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$).

Absorbancia modrosfarbených roztokov sa merala pri vlnovej dĺžke $\lambda = 765 \text{ nm}$ oproti slepému pokusu spektrofotometricky. Výsledky obsahu celkových fenolov vo vzorkách sa získali na základe prepočtu a vyjadrili sa ako celkový obsah polyfenolov (Lachman et al., 2003).

Stanovenie antioxidačnej aktivity metódou DPPH

Zásobný roztok DPPH bol pripravený z 0,025 g DPPH radikálu, pričom sa pripravilo jeho rozpustenie v etanole na objem 100 ml. Pred samotným meraním sa roztok DPPH zriedil etanolom. Sklenená kyveta sa naplnila 3,9 ml zriedeného DPPH a počiatočná absorbancia DPPH (A_0) bola odčítaná pri 515,6 nm. Následne bola pridaná vzorka vína v množstve 100 μl do kyvety a obsah kyvety sa riadne premiešal. Po 10 minútach reakcie v tme sa opäť zmerala konečná absorbancia (A_t). Pokles absorbancie bol vyjadrený ako % inhibície DPPH radikálu (Jakabová et al., 2021).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V porovnaní s inými alkoholickými nápojmi, vína obsahujú množstvo zložiek, ktoré môžu mať pre človeka zdravotné benefity. Červené vína preukazujú vyššiu aktivitu pri zachytávaní voľných radikálov, čo z nich robí dôležitý zdroj prírodných antioxidantov. Fenolové zlúčeniny sú zodpovedné za viacero rozdielov medzi červenými a bielymi vínami. Obsah fenolových zlúčenín sa v rôznych druhoch vín výrazne líši, v závislosti od odrody hrozna, klimatických a pôdných podmienok a technológie výroby (Jakabová et al., 2020).

V grafe 1 je znázornený TPC vo vzorkách sledovaných vín z oboch sledovaných VO Slovenska. Najvyššie nameraná hodnota bola zistená v červenom víne Dunaj ($4227,43 \text{ mg GAE}\cdot\text{l}^{-1}$), v porovnaní s ním odroda Dunaj z Južnoslovenskej VO preukázala druhé najvyššie obsahy TPC ($3114,5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$). Ako už bolo spomínané a potvrdzuje sa to aj v týchto výsledkoch, odroda Dunaj sa zaraďuje medzi najkvalitnejšie na Slovensku a ako vhodná do našich ekologických podmienok.

Obsah celkových fenolov vo víne súvisí s mnohými faktormi, najmä s odrodou. V bielych vínach sa predpokladá obsah celkových polyfenolov od 100 do $400 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, v ružových vínach od 400 do $800 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a v červených vínach od 1 000 do $2 000 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (Kennedy, 2008). V inej štúdii sa v bielych vínach stanovil obsah 150 – $250 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ celkových fenolov,

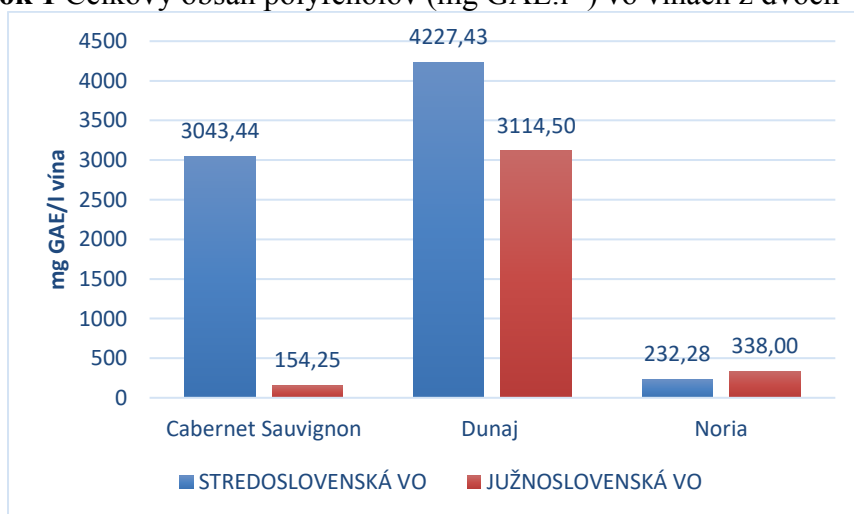
v červených vínach približne 10-násobne viac (Poláček et al., 2018). Tieto údaje čiastočne korešpondujú s našimi zisteniami, kedy TPC v bielych vínach odrody Noria sa pohyboval od 232,3 (Stredoslovenská VO) do 338 mg.l⁻¹ (Južnoslovenská VO). V porovnaní s tým TPC červených vín sa zistil v rozmedzí od 3 043,4 (Cabernet Sauvignon, Stredoslovenská VO) do 4 227,4 (Dunaj, Stredoslovenská VO). Proces macerácie vedie k zvýšeniu celkových polyfenolov v dôsledku ich vysokej koncentrácie v šupkách a semenách. K najväčším prírastkom dochádza na konci macerácie, keď vyprodukovaný alkohol ničí lipidovú vrstvu šupky, ktorá chráni semená.

Najdominantnejšími polyfenolmi v bielych vínach sú kyselina hydroxyškoricová, kyselina hydroxybenzoová, flavonoly a flavan-3-oly (Tardaguila et al., 2008).

Vína s vyšším obsahom polyfenolov sú považované za kvalitnejšie. Dozrievaním bobúľ sa zvyšuje koncentrácia fenolických látok, ktoré následne dávajú vínu charakter a kvalitu (Michlovský, 2014). V bielych vínach sú vyššie hladiny polyfenolov nežiaduce, pretože môžu prispievať k nadmernej horkosti a vína majú tendenciu na vzduchu hnednúť. V červených vínach prispievajú k horkosti, trpkosti a iným sensorickým vlastnostiam, ako je farba vína (Waterhouse, 2003).

Pri extrakcii polyfenolov z hrozna a pri ich ďalšej stabilite vo vínach zohrávajú významnú úlohu aj technológia výroby vína; čas macerácie a fermentácie v kontakte so šupkami a semenami hrozna, lisovanie, zrenie v dube, čerenie a dozrievanie vo fľašiach ovplyvňujú fenolové zloženie vín (Pokrývková, 2022).

Obrázok 1 Celkový obsah polyfenolov (mg GAE.l⁻¹) vo vínach z dvoch VO Slovenska



Najnižší obsah TPC sa stanovil v ružovom víne odrody Cabernet Sauvignon z Južnoslovenskej oblasti (154,25 mg GAE.l⁻¹). Väčšina fenolových zlúčenín sa koncentruje v šupke hrozna, a preto možno očakávať vyššie obsahy fenolických látok v červených vínach (Pandeya et al., 2018).

Obsah polyfenolov ovplyvňuje prísun vody a minerálnych živín, ktoré vplývajú na vývoj viniča, kvalitu hrozna a následne aj kvalitu vyrobeného vína (Magarreiro et al., 2019). Prostredníctvom sekundárneho metabolizmu rastliny produkujú fenolové látky počas normálneho rastu a ako obrannú reakciu na stres, ako je poranenie, infekcia a UV žiarenie (Naczka a Shahidi, 2006).

Ďalším dôležitým faktorom je teplota. Teplota klesá s nadmorskou výškou, zvyčajne v rozsahu 0,65 až 1,0 °C pre 100 m prevýšenia, plochy vo vyšších nadmorských výškach vykazujú oneskorenie v puknutí a kvitnutí. Pretože vinohrady vo vyšších nadmorských výškach

dozrievajú neskôr počas chladnejších období roka, majú vyšší potenciál na produkciu vysokokvalitného hrozna (s vyššou kyslosťou a nižším obsahom alkoholu) (Mansour et al., 2022).

Vysoká nadmorská výška a s tým súvisiaca nižšia teplota vzduchu majú vplyv na dozrievanie a polyfenolické zloženie hrozna. Oblasti s vysokou nadmorskou výškou a s nimi spojené klimatické podmienky sú priaznivé pre produkciu vyššieho obsahu fenolových zlúčenín, kým v oblastiach s nízkou nadmorskou výškou produkujú nižší obsah. Najvhodnejšie pôdy na pestovanie viniča sú kamenisté pôdy s dobrou akumuláciou slnečnej energie (Barantal et al., 2015). V našom prípade sa Južnoslovenská VO vyznačila nižším obsahom TPC, najmä pri červených vínach.

Vyhodnotenie antioxidačnej aktivity vo vínach

Fenolové zlúčeniny prispievajú k antioxidačnej aktivite vín. Dôležitá úloha v antioxidačnej aktivite červeného vína sa pripisuje prítomnosti resveratrolu, trifenolického stilbénu prítomného v šupke hrozna a proantokyandínov (Liu et al., 2013).

Inhibícia DPPH radikálu bola najnižšia vo vzorke Cabernet Sauvignon ružové víno (39,81 %) z Južnoslovenskej oblasti, čo korešpondovalo s najnižším obsahom TPC v tomto víne.

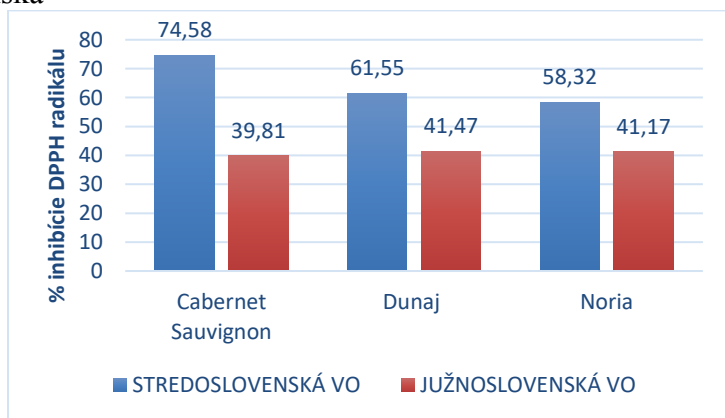
Najvyššie percento inhibície DPPH radikálu celkovo sa stanovilo v červenom víne Cabernet Sauvignon (74,58 %), nasledoval Dunaj (61,55 %) obe pochádzajúce zo Stredoslovenskej VO a súčasne sa obe odrody vyznačovali vysokým obsahom TPC.

Južnoslovenská VO sa pri všetkých vzorkách prejavila v antioxidačnej aktivite nižšia, pohybovala sa v rozmedzí 39,81 - 41,47 % inhibície.

Antioxidačné vlastnosti vína sú výsledkom najmä obsahu ich biologicky aktívnych zlúčenín, polyfenolových zlúčenín a organických kyselín. Fenolové kyseliny sú predmetom pozornosti pre ich antioxidačné a protizápalové vlastnosti. Tieto látky sú antioxidačné molekuly pôsobiace prostredníctvom aktivity zachytávania radikálov vďaka svojej vlastnosti darovania elektrónov alebo vodíka a ich schopnosti stabilizovať/delokalizovať výsledný fenoxylový radikál vo svojej štruktúre (Grieco et al., 2019).

Flavanoly sú vo víne prítomné buď ako monoméry (katechín, epikatechín, galokatechín, epigalokatechín a epikatechín 3-galát) alebo ako oligoméry aj polyméry, tiež nazývané taníny a proantokyandíny (Giovinazzo a Grieco, 2015).

Obrázok 2 Antioxidačná aktivita sledovaných vín (% inhibície DPPH radikálu) z dvoch VO Slovenska



Priaznivé účinky hrozna sa často pripisujú antioxidačnej aktivite a funkcii jeho flavonoidových zlúčenín, pretože konzumácia potravín bohatých na flavonoidy je spojená so zníženým rizikom zápalu či zníženým rozvojom chronických ochorení. Vysoká antioxidačná aktivita polyfenolových zlúčenín súvisí s vychytávaním voľných radikálov a chelatačnými vlastnosťami kovu, ktoré prispievajú k antimutagénnemu, antibakteriálnemu a protizápalovému pôsobeniu (Badhani et al., 2015).

Zvýšené hladiny tanínov a antokyánov dodávajú vínam sensorické vlastnosti a potenciálne zdravotné benefity, a to aj napriek nízkym hladinám, ktoré možno nájsť v bielych vínach v porovnaní s červenými vínami.

Cabernet Sauvignon zo Stredoslovenskej oblasti preukázal najsilnejšie antioxidačné vlastnosti 74,58 % inhibície DPPH radikálu a zároveň vysokú hodnotu celkového obsahu polyfenolov, nasledovalo víno odrody Dunaj.

Výsledky antioxidačnej aktivity nezáviseli len od celkového obsahu polyfenolov ale súvisia aj s kvalitatívnym fenolickým zložením (Hogan et al., 2009). Rast v rôznych prostrediach alebo rôzne odrody vedú k odlišnému obsahu a zastúpeniu fenolov, zloženiu aj antioxidačnej aktivite.

ZÁVER

Obsah a zastúpenie fenolických látok je ovplyvnené klimatickými, pôdnymi a geografickými podmienkami, odrodou hrozna, zrelosťou a technológiou výroby. V súčasnosti prebieha množstvo výskumov, ktoré sa zameriavajú na možnosti autentifikácie nielen vína, na základe ich regionálneho pôvodu aj v súvislosti s fenolickými látkami. Súčasne sú zaujímavé biologicky cenné zložky v surovine i v spracovanej potravine z pohľadu ich ďalšieho využitia.

Predpokladáme, že TPC a antioxidačná aktivita súvisia významne s kvalitatívnym fenolickým zložením. Rast v rôznych prostrediach ako aj vplyv technológie výroby vedú k odlišnému obsahu a zastúpeniu fenolov aj antioxidačnej aktivity vín.

Avšak v našich stanoveniach sa potvrdilo, že odroda Dunaj patrí medzi najkvalitnejšie odrody a vhodné do našich ekologických podmienok a je porovnateľná ak nie predstihujúca svojimi biologicky cennými zložkami aj tradičné odrody ako je Cabernet Sauvignon.

LITERATÚRA

- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. In *Food Chemistry*, vol. 99, pp. 191-203. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>
- Cosme, F., Gonçalves, B., Inês, A., Jordão, A. M., Vilela, A. 2016. Grape and wine metabolites: Biotechnological approaches to improve wine quality. In *Grape and Wine Biotechnology*, edited by A. Morata & I. Loira [**online**], London: Published by InTech. pp. 187–214. DOI: 10.5772/64822
- Kováč, J. 2012. Polyfenoly v hrozne a víne. In *Vinič a víno*. Modra: Stredná odborná škola vinársko-ovocinárska [online], DOI: Polyfenoly v hrozne a vo víne Odborný časopis pre vinohradníkov a vinárov (vinicavino.sk)
- Poláček, Š., Tomáš, J., Vietoris, V., Lumnitzerová, M. 2018. *Vinárstvo, someliérstvo a enogastronómia*. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita. 320 s. ISBN 978-80-552-1910-3.
- Hosu, A. D., Cimpoiu, C., Miclus, V., Jantschi, L. 2014. Antioxidant Content of Three Different Varieties of Wine Grapes. In *Biotechnology & Biotechnological Equipment* [online], vol. 25, pp. 2217-2221. DOI: <https://doi.org/10.5504/BBEQ.2011.0005>
- Hronský, V. 2014. *Spríevodca vínami Slovenska*. 1. vyd. Bratislava: SLOVART, spol. s r. o. 263 s. ISBN 978-80-556-0850-1.
- Lachman et al. 2003. Content polyphenolic antioxidants and phenol carboxylic acids in selected 81 parts of yakon. In *Vitamins – Natural antioxidants and free radicals*. Pardubice: Pardubická univerzita. p. 89 – 97.
- Kennedy, J. A. 2008. Grape and Wine Phenolics: Observations and Recent Findings. In *Ciencia e Investigación Agraria* [online], Vol. 35, pp. 107–120. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-16202008000200001>
- Tardaguila, J., Diago, M. P., De Toda, F. M., Poni, S., Vilanova, M. 2008. Effects of timing of leaf removal on yield, berry maturity, wine composition and sensory properties of cv. Grenache grown under non irrigated

- conditions. In *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin [online]*, vol. 42, pp. 221–229. DOI: <https://doi.org/10.20870/oenone-2008.42.4.810>
- Jakabová, S., Fikselová, M., Mendelová, A., Ševčík, M., Jakab, I., Aláčová, Z., Lolačková, J., Ivanova-Petropulos, V. 2021. Chemical Composition of White Wines Produced from Different Grape Varieties and Wine Regions in Slovakia. In *Applied Sciences [online]*, vol. 11. DOI: <https://doi.org/10.3390/app112211059>
- Jakabová, S. et al. 2020. Antioxidant properties of white wines from different geographical origins. In *Metrology for suitable food production [online]*, pp. 81–82. DOI: 10.5281/ZENODO.4017462
- Michlovský, M. 2014. *Lexikon chemického složení vína*. 1 vyd. Rakvice: Vinselekt Michlovský. 262 s. ISBN: 9788090531925
- Waterhouse, A. L. 2003. Determination of Total Phenolics. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry [online]*. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/0471142913.fai0101s06>
- Pandeya, A., Rayamajhi, S., Pokhrel, P., Giri, B. 2018. Evaluation of secondary metabolites, antioxidant activity, and colour parameters of Nepali wines. In *Food Science & Nutrition [online]*, vol. 6, pp. 2252–2263. DOI: 10.1002/fsn3.794
- Magarreiro, C., Gouveia, C. M., Barroso, C. M., Trigo, I. F. 2019. Modelling of Wine Production Using Land Surface Temperature and FAPAR-The Case of the Douro Wine Region. In *Remote Sensing [online]*, vol. 11, pp. 604. DOI: <https://doi.org/10.3390/rs11060604>
- Nacz, M., Shahidi, F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. In *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis [online]*, vol. 41, pp. 1523–1542. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.04.002>
- Mansour, G., Ghanem, C., Mercenaro, L., Nassif, N., Hassoun, G., Del Caro, A. 2022. Effects of altitude on the chemical composition of grapes and wine: a review. In *OENO One [online]*, vol. 56. DOI: <https://doi.org/10.20870/oenone-2022.56.1.4895>
- Barantal, S., Ložek, O., Chlebo, P. 2015. *Vplyv výživy a rezu viniča na úrodu a kvalitu hrozna*. 1. vyd. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita. s. 147. ISBN 978-80-552-1381-1.
- Liu, Y., He, X. Q., Huang, Ding, L., Xu, L., Shen, Y. T., Zhang, F., Zhu, M. B., Xu, B. H., Qi, Z. Q., Wang, H. L. 2013. Resveratrol protects mouse oocytes from methylglyoxal-induced oxidative damage. In *The Journal of Nutrition, Health & Aging [online]*, vol. 20, pp. 540–545. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12603-015-0611-z>
- Grieco, F., Carluccio, M. A., Giovino, G. 2019. Autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* Starter Cultures Enhance Polyphenols Content, Antioxidant Activity, and Anti-Inflammatory Response of Apulian Red Wines. In *Foods [online]*, vol. 8, pp. 453. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods8100453>
- Giovino, G., Grieco, F. 2015. Functional Properties of Grape and Wine Polyphenols. *Plant Foods Hum. Nutr. [online]*, vol. 70, pp. 454–462. DOI: 10.1007/s11130-015-0518-1
- Badhani, B., Sharma, N., Kakkar, R. 2015. Gallic acid: A versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. In *RSC Advances [online]*, vol. 5, pp. 27540–27557. DOI: 10.1039/C5RA01911G
- Hogan, S., Zhang, L., Li, J., Zoecklein, B., Zhou, K. 2009. Antioxidant properties and bioactive components of Norton (*Vitis aestivalis*) and Cabernet Franc (*Vitis vinifera*) wine grapes. In *LWT Food Sci. Technol [online]*, vol. 42, pp. 1269–1274. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.02.006>
- Pokryvková, J. 2022. Charakteristika vybraných odrôd vín v súvislosti s obsahom polyfenolických látok a antioxidačnou aktivitou. Nitra: SPU. 42 s.

Pod'akovanie: Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-22-0402.

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, E-mail: martina.fikselova@gmail.com.

STUDIUM FAKTORŮ OVLIVŇUJÍCÍCH OXIDAČNÍ STABILITU SNÍDAŇOVÝCH CEREÁLIÍ STUDY OF FACTORS INFLUENCING THE OXIDATIVE STABILITY OF BREAKFAST CEREALS

Miroslav Fišera, Vladimír Bezděk, Daniela Sumczynski, Helena Velichová

Abstract: The article deals with the determination of the oxidative stability of shell fruit kernels using the OXITEST device. The analysed samples were in their native state, modified only by grinding. It follows from the measured values that the values of the induction periods are in a wide range, while the analyses on the device are relatively time-consuming. Each analysis is supplemented by a curve showing the time course of oxidative degradation during the experiment. The kernels of these nuts are the most resistant to oxidation: cashews, pistachios, and peanuts. The article is also supplemented with the analysis of mineral elements by the ICP-MS method, the content of which is evaluated by determining the metal pollution index.

Keywords: breakfast cereals, oxidative stability, induction period, nuts, metal pollution index

ÚVOD

Dnešní doba vede stále více lidí k určitému návratu k přírodě a k využití jednoduchých, původních, případně netradičních zdrojů a surovin do pokrmů, které příroda volně poskytuje k využití. Mezi surovinami zatím převážně moderní gastronomie tak můžeme nalézt například i jedlé květy a různé netradiční obiloviny. Nabízí se široká škála neobvyklých pokrmů i jejich mnohdy speciální příprava. Patří sem i tzv. rawfood kuchyně, kde se setkáváme s jídly, která byla připravena s minimální tepelnou úpravou, aby tak byly zachovány důležité nutriční vlastnosti surovin.

Také výrobci se snaží dodávat na trh stále nové produkty, aby tak rozšířili nabídku a uspokojili poptávku spotřebitelů. Vzhledem ke stále se měnícím trendům v životních stylech je potřeba obměňovat stávající produkty i přicházet s novými nápady. Významná oblast, která je mezi lidmi oblíbená, jsou snídaně ve formě müsli směsí (případně v širším pojetí jako snídaňové cereálie), neboť jejich příprava je velmi snadná a rychlá. Řada producentů snídaňových cereálií tak má snahu nabízet jejich stále nové varianty, aby zaujali konzumenty a poskytli jim i možnost poznat například nové chutě a vyzkoušet nezvyklé potraviny.

Při vývoji a výrobě nových cereálních müsli směsí a jiných produktů je nutná analýza jednotlivých surovin a samozřejmě konečného výrobku, ať už z důvodu uvedení jeho složení na obalu, nebo kvůli skladovatelnosti. Pro vyhodnocení údržnosti takovýchto směsí je potřeba znát kromě obsahu tuku také jejich oxidační stabilitu (Barriuso et al., 2013) Při správném skladování je pak minimální riziko pro spotřebitele, aby se setkali s předčasným zhoršením organoleptických vlastností z důvodu žluknutí tuků obsažených ve výrobcích.

Všeobecně platí, že všechny potravinářské výrobky obsahující olej, součásti bohaté na olej nebo olejnaté části (Bozan and Temelli, 2008) by měly vykazovat oxidační stabilitu podle vhodné a uznávané vnitrostátní/mezinárodní zkušební metodiky (např. AOAC) (EU 2017/2470).

Oxidační stabilitu cereálního základu je možné ovlivnit (zvýšit/snížit) přidávkem dalších součástí, které jsou na bázi ořechů (arašídý, vlašské, lískové, pekanové ořechy, mandle apod.), olejnatých semen (lněná, dýňová, konopná, piniová semínka apod.), případně mohou být kombinací těchto složek s kakaovými produkty (hořká, mléčná čokoláda) a sušeným ovocem (borůvky, maliny) a ještě doplněny kořením (skořice) nebo medem (Ragae et al., 2006). Mohou být použity také přísady specifických antioxidantů přírodního nebo

syntetického charakteru a tím se dostáváme do oblasti fortifikovaných potravin (Choe and Min, 2006, Kochhar et al., 2009).

Obohacování potravin polyfenoly úzce souvisí s pojmy „fortifikace“ a „funkční potraviny“. Fortifikace znamená obohacení potravin určitými látkami, např. nutričně významnými nebo biologicky aktivními, které jsou v neobohacené potravine ve velmi malém množství nebo nejsou přítomny vůbec. Může se tak jednat o vitaminy, minerální látky, probiotika aj. Pojem funkční potravina je však širší a Crowe a Francis (2013) jej definují jako jakoukoliv potravinu, původní, fortifikovanou nebo jakkoliv vylepšenou, která má při běžné konzumaci pozitivní vliv na lidské zdraví. Z tohoto hlediska se jeví jako vhodná „nosná média“ polyfenolických látek pekařské výrobky (Ou et al., 2019), masné výrobky (Metha et al., 2015) a v neposlední řadě i mléčné výrobky (Sampaio Cutrim a Sloboda Cortez, 2018). Jejich hlavní výhodou je, že jsou součástí každodenní stravy.

MATERIÁL A METODIKA/MATERIAL AND METHODOLOGY

V potravinářství se ke stanovování oxidační stability výrobků využívá různých analytických metod a přístrojů. Poměrně nově se můžeme setkat s metodou, která využívá přístroj Oxitest (VELP SCIENTIFICA s.r.l., Italy), (OXITEST, 2019) ke stanovení oxidační stability tuků, olejů a látek obsahujících tuk, který pracuje za konstantní teploty a měření spočívá ve sledování závislosti změny tlaku kyslíku na čase. Grafickým výstupem je křivka, z níž je patrný úbytek tlaku vzniklý spotřebovaným kyslíkem při oxidaci tuků ve vzorcích. Na konci pokusu přístroj odečte indukční periodu (IP) – dobu, po kterou je sledovaný vzorek stabilní (než začne tlak výrazně klesat). Jedná se o zrychlený proces oxidace. Toho se dosahuje zvýšenou teplotou a kyslíkem, který se tlakuje do prostoru reakční komory se vzorkem. Princip metody připomíná určitou obdobu Schaalova testu, přičemž sestává ze dvou vyhřívaných reakčních komor, z nichž každá má objem 250 ml. Přístroj umožňuje analyzovat 2 stejné nebo 2 různé vzorky současně, se stejnými pracovními podmínkami. Značnou výhodou přístroje je skutečnost, že ze vzorků není potřeba extrahovat tuk, stačí je pouze granulárně upravit mletím. Analyzované vzorky mohou být v nativním stavu. Díky tomu je pak možné stanovit dobu minimální trvanlivosti surovinových základů i cereálních směsí za stanovených skladovacích podmínek.

Podstatným faktorem, který má vliv na trvanlivost výrobků, je jejich styk a reakce s atmosférickým kyslíkem. Zejména oxidace tuků je jeden z hlavních faktorů, který ovlivňuje trvanlivost potravin (McKevith, 2004). Z tohoto důvodu byly součástí cereálních směsí, které jsou nejbohatší na tuky podrobeny analýze na obsah minerálních látek, které mohou na jedné straně katalyzovat oxidační procesy, ale na druhé straně mohou být také zdrojem toxických prvků, které pak mohou znehodnotit očekávané zdravotní benefity těchto produktů. Analýza minerálních prvků komponent bohatých na tuk byla realizována na přístroji iCAP Q ICP-MS (Thermo Scientific) po oxidačně-kyselinovém rozkladu vzorků v mikrovlnné peci. Výsledky pak byly vyhodnoceny formou indexu znečištění kovy a korelovány s indukčními periodami příslušných směsí. Index znečištění kovy (MPI) udává sumu koncentrací kovů, a porovnává jejich množství v daných vzorcích, toto umožňuje srovnání různých oblastí z hlediska znečištění (Orecchio et al., 2014).

$$MPI = (C_1 \cdot C_2 \cdot C_3 \cdot \dots \cdot C_n)^{1/n}$$

Cílem práce bylo stanovit oxidační stabilitu cereálních základů, jader skořápkových plodů a cereálních směsí včetně kombinací s kakaovými produkty a v kombinaci se sušeným ovocem. Byly zvoleny tyto suroviny: mandle, vlašské ořechy, pekanové ořechy, lískové ořechy,

makadamové ořechy, para ořechy, kešu ořechy, arašidy, pistácie a semena borovice pinie. K uvedeným plodům byly při pokusech dodatečně přiřazeny sójové boby, neboť jejich pražením se v potravinářském průmyslu získávají tzv. sójové oříšky.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Naměřené hodnoty se nachází v tab. 1–4, kde jsou pro jednotlivé vzorky uvedeny tyto údaje: indukční perioda v hodinách, tlak plynu v reakční komoře na počátku a na konci pokusu; dále doba trvání pokusu. Tabulky jsou doplněny o grafický záznam závislosti tlaku na čase, z něhož je patrný tvar a průběh křivky (obrázky 1-2). Tato vizuální kontrola doplňuje základní údaj, tj. hodnotu indukční periody. Osa x každého grafu má měřítko upravené tak, aby bylo možné do tabulky interpretovat celý graf.

Tabulka 1 Výsledky na přístroji Oxitest – různé druhy kompletních směsí

Popis vzorku	Navážka [g]	Reaktor	Indukční perioda [h : min]	Teplota [°C]	Počáteční tlak [bar]	Konečný tlak [bar]	Trvání pokusu [h]
Mysli křupavé čokoládové trio 750 g ; základ bez přisypané čokolády	25	A	19:44	90	6,1	1,95	110
Mysli křupavé čokoládové trio 750 g ; celé mysli – pomleto	25	B	25:40	90	6,07	2,05	110
Mysli jahoda-mandle 375 g ; pouze základ – pomleto	25	A	36:09	90	6,14	2,4	60
Mysli jahoda-mandle 375 g ; celé mysli – pomleto	25	B	40:22	90	6,13	2,6	60
Mysli křupavé 35% ovoce 750 g ; celé mysli – podrceno	25	B	38:34	90	6,1	4,1	85
Mysli křupavé 35% ovoce Export 750 g ; jen základ-pomleto	25	A	78:04	90	6,15	2,8	162
Mysli křupavé 35% ovoce 750 g ; pouze základ – pomleto (bez pšeničných vloček)	25	A	43:09	90	6,14	1,8	140
Mysli křupavé 35% ovoce 750 g ; celé mysli – pomleto (bez pšeničných vloček)	25	B	59:05	90	6,11	3,4	140
Mysli med-ořechy 375 g ; pomleto	25	A	26:19	90	6,13	1,8	65
Mysli s ořechy 375 g ; pouze základ – pomleto	25	A	38:37	90	6,13	1,6	85

Mysli s ořechy 375 g ; celé mysli – pomleto	25	B	31:42	90	6,1	1,8	85
Mysli čokoláda-ořechy 375 g ; pouze základ – pomleto	25	A	50:23	90	6,06	1,7	140
Mysli čokoláda-ořechy 375 g ; celé mysli – pomleto	25	B	52:49	90	6,11	1,9	140
Mysli hořká čokoláda 375 g ; pouze základ – pomleto	25	A	27:00 graficky	90	6,08	1,8	85
Mysli hořká čokoláda 375 g ; celé mysli – pomleto	25	B	33:00 graficky	90	6,08	1,95	85
Mysli borůvky-maliny 375 g ; pouze základ – pomleto	25	A	36:39	90	6,1	1,7	83
Mysli borůvky-maliny 375 g ; celé mysli – pomleto	25	B	41:34	90	6,07	2,2	83
Mysli skořice-mandle 750 g; pouze základ – pomleto	25	A	40:47	90	6,14	1,7	120
Mysli skořice-mandle 750 g; celé mysli – pomleto	25	B	45:00	90	6,14	1,7	120
BIO Čokoládové mysli (použit BIO řepkový olej); antioxidant: lecitin řepkový; upečeno	25	A	35:26	90	6,06	2,18	120

Tabulka 2 Výsledky na přístroji Oxitest – různé druhy surovin

Popis vzorku	Navážka [g]	Reaktor	Indukční perioda [h : min]	Teplota [°C]	Počáteční tlak [bar]	Konečný tlak [bar]	Trvání pokusu [h]
Dýně semena loupaná světlá; země původu: Čína	25	B	90:00:00	90	6,16	4,8	85
Lísková jádra 11/13; země původu: Gruzie	25	B	67:16	90	6,12	2,4	140
Slunečnice loupaná ; původ: Rumunsko	25	B	42:02	90	6,09	1,6	59
Para ořechy nepražené	25	A	44:02	90	6,12	1,8	56
Para ořechy pražené (1/2 h při 130 °C) výtěžnost pražení 98 %	25	B	31:35	90	6	1,2	56

Vlašská jádra pražená sekaná 5-8 mm; ČR	25	A	19:08	90	6,08	1,2	120
Pistáciové ořechy pražené sekané 5-8 mm ; původ: Irán	25	B	velmi stabilní	90	6,07	5,2	120
Mandle plátky blanširované 1,2 mm ; původ: USA; zpracováno: Španělsko	25	A	20:20 graficky	90	6,12	1,6	24
Mandle plátky nepražené – nabídkový vzorek ; prošlé – silně žluklé	25	B	9:05	90	6,1	1,7	24
Kešu LSP pražené; původ: Vietnam	25	B	velmi stabilní	90	6,03	4,95	145
Lněné semínko zlaté; nabídkový vzorek	25	A	23:05 graficky	90	6,16	1,7	26
Lněné semínko; nabídkový vzorek	25	B	22:50 graficky	90	6,1	1,2	26
Arašídová pasta	25	A	velmi stabilní	90	6,05	5,05	200
Pasta získaná mletím pražených arašídů	25	A	velmi stabilní	90	6,08	5,4	100
Konopné semínko loupané – nabídkový vzorek	25	A	47:14	90	6,1	1,29	66
Píniová jádra – oloupaná 50 g ; původ: Čína	25	A	17:29	90	6	1,1	63
Lískové ořechy 1/4 blanširované (bez slupky): nabídkový vzorek	25	A	89:48	90	6,06	1,69	141
Macadam ořech ; původ: Jižní Afrika	25	A	32:36	90	6,05	1,5	68
Pecan ořech ; původ: USA	25	B	43:59	90	6,08	1,6	68
Arašídová pasta	25	A	více jak 240 hodin	90	9,04	4,1	240
Arašídová pasta – zatížená teplem	25	B	144:28	90	6,03	1,5	240
Pražená sójová drť	25	A	48:56	90	6,1	2,02	140

Tabulka 3 Výsledky na přístroji Oxitest – různé druhy antioxidantů ve směsích

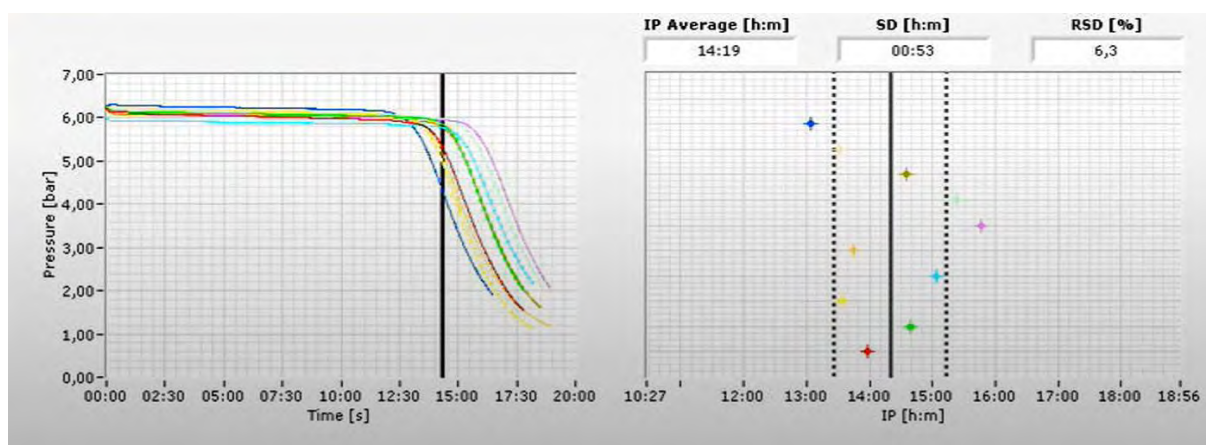
Popis vzorku	Navážka [g]	Reaktor	Indukční perioda [h : min]	Teplota [°C]	Počáteční tlak [bar]	Konečný tlak [bar]	Trvání pokusu [h]
BIO Čokoládové myslí (použit BIO řepkový olej); antioxidant: lecitin řepkový	25	A	35:26	90	6,06	2,18	120
BIO Řepkový olej + lecitin řepkový ; poměr míchání = 23 : 1	25	B	31:07	90	6	0,99	120
Olej BIO řepkový, za studena lisovaný; PROBIO	25	B	13:29	90	6	0,5	41
Mysli hořká čokoláda 375 g ; celé myslí – pomleto	25	B	33:00 graficky	90	6,08	1,95	85
Mysli čokoláda-ořechy 375 g ; celé myslí – pomleto	25	B	52:49	90	6,11	1,9	140
Mysli křupavé čokoládové trio 750 g ; celé myslí – pomleto	25	B	25:40	90	6,07	2,05	110
Olej řepkový HORO	25	B	15:15	90	6	1,7	18,5
Olej řepkový HORO + Vitablend 162 IP / poměr : 100 : 1	25	A	30:48	90	6,08	1	40

Tabulka 4 Výsledky na přístroji Oxitest – různé druhy základní suroviny

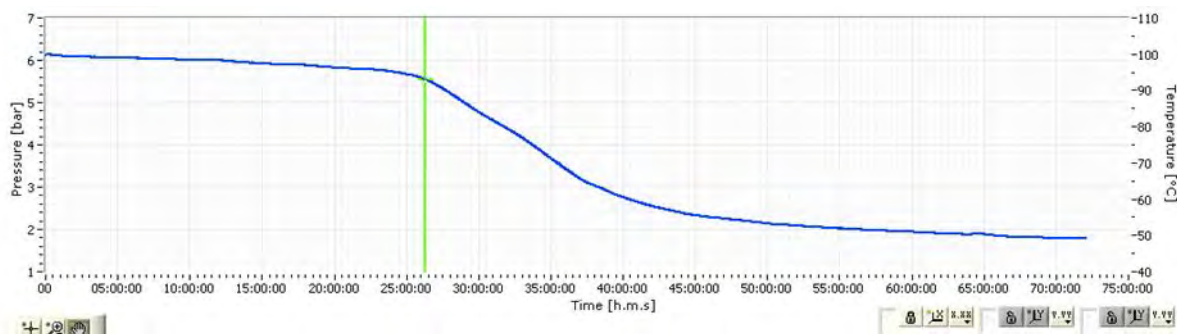
Popis vzorku	Navážka [g]	Reaktor	Indukční perioda [h : min]	Teplota [°C]	Počáteční tlak [bar]	Konečný tlak [bar]	Trvání pokusu [h]
Ovesné vločky celé – kilned	100,0	A	14:55	90	6,27	2,42	45
Ovesné vločky celé – unkilned	100,0	B	15:40	90	6,27	2,43	45
Ovesné vločky řezané – unkilned	100,0	B	19:16	90	6,10	1,60	60
Vločky z pluchatého ovsu	100,0	A	16:52	90	6,22	2,45	100
Vločky z bezpluchého ovsu	100,0	B	19:25	90	6,25	2,18	100
Ovesné vločky celé 500 g	100,0	A	13:51	90	6,25	2,12	42

Ovesné vločky řezané 500 g	100,0	B	17:55	90	6,25	2,24	42
Ovesné vločky jemné 500 g	100,0	A	15:32	90	6,20	1,60	100
Ovesné vločky instantní 250 g (Peter Kölln KGaA, Elmshorn)	100,0	B	20:22	90	6,17	1,40	100
Haferflocken kilned klbl 410 Porridge	100,0	B	17:32	90	6,25	2,83	66
Ovesné vločky jemné – unkilned	100,0	A	18:35	90	6,16	2,20	95
Ovesné vločky (Vřesce)	100,0	A	13:11	90	6,24	2,51	39
Ovesné vločky (Vřesce); žok: 471	100,0	B	13:40	90	6,22	2,59	39
Ovesné lupínky (Semix) 1 kg	100,0	B	35:34	90	6,05	1,60	63
BIO ovesné vločky/ORG Oat flakes 15 kg	100,0	A	14:28	90	6,14	3,20	44
Ovesné vločky tenké 320 (Rubin Mühle)	100,0	B	18:00	90	6,14	1,58	44
Oat flakes small	100,0	A	16:48	90	6,12	1,95	140

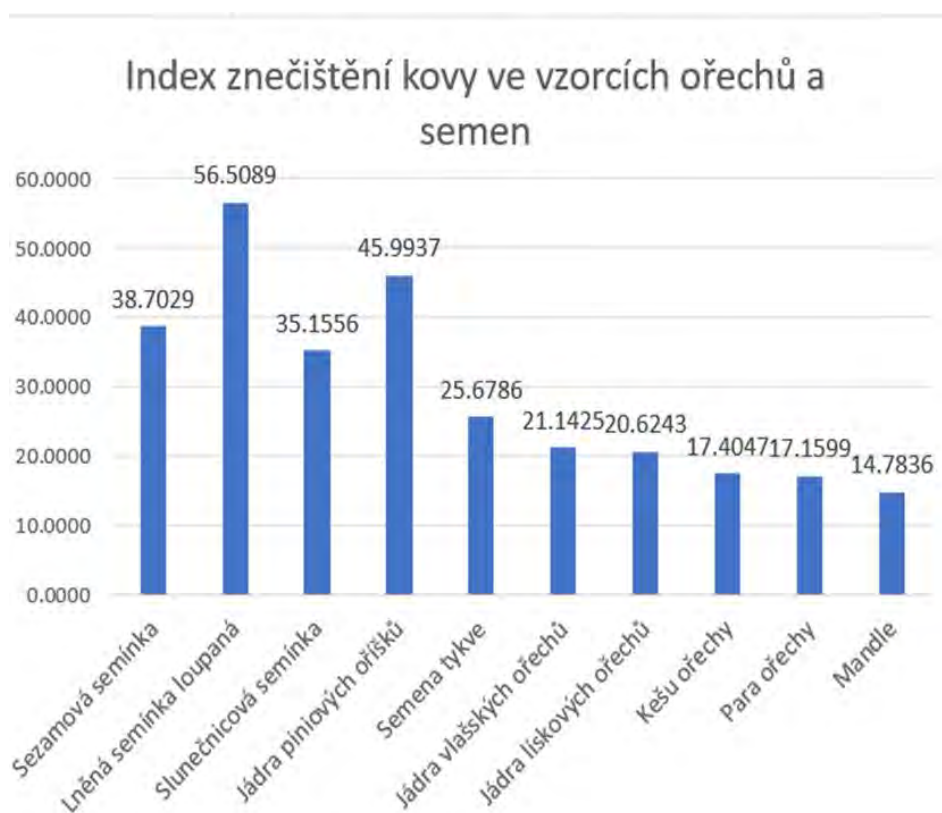
Jednotlivé indukční periody (IP) určují oxidační stabilitu cereálních základů, jader skořápkových plodů a cereálních směsí včetně kombinací s kakaovými produkty a se sušeným ovocem. Jsou zde uvedeny suroviny v různé formě úpravy: mandle, vlašské ořechy, pekanové ořechy, lískové ořechy, makadamové ořechy, para ořechy, kešu ořechy, arašidy, pistácie a semena borovice pinie a sójové boby. Tyto suroviny jsou ve směsích s různým cereálním základem a v kombinaci těchto složek s kakaovými produkty (hořká, mléčná čokoláda) a sušeným ovocem (borůvky, maliny) a ještě doplněny kořením (skořice) nebo medem.



Obrázek 1 Ukázka záznamu křivek pro odečtení indukční periody různých vzorků



Obrázek 2 Ukázka křivky pro odečtení indukční periody jednoho vzorku



Obrázek 3 Index znečištění kovy ve vzorcích ořechů a semen (ICP-MS)

ZÁVĚR

Z uvedeného vyplývá, že indukční periody jader skořápkových plodů pokrývají poměrně širokou oblast, přibližně od 20 do cca 200 hodin. Oxidaci nejvíce odolávají: kešu, pistácie a arašidy. Zhruba polovina skořápkových plodů má indukční periodu v oblasti 20 až 50 hodin. Při vyhodnocení oxidační stability je důležité brát v úvahu 2 důležité faktory týkající se IP jednak je zřejmé, že větší hodnoty značí stabilnější materiály a na druhé straně samotný tvar křivky (průběh tlaku v závislosti na čase). Křivka stabilního materiálu klesá velmi pomalu (někdy téměř připomíná přímku), potom následuje prudký pokles tlaku k nízkým hodnotám. Dále se také ukázalo, že tepelně ošetřený materiál má menší indukční periodu než

původní vzorek v nativním stavu – to je patrné v případě para-orechů, arašídů a sóji. Lze předpokládat, že uvedené zjištění má obecnější platnost.

U lískových ořechů je patrné, že lepších výsledků je dosaženo, když jsou ořechy zbaveny hnědé slupky (osemení). Bílá jádra mají větší indukční periodu a křivka vykazuje větší stabilitu (pomalejší spád). Dá se očekávat, že podobné výsledky mohou vykazovat i další jádra skořápkových plodů. Pro arašídů jsou charakteristické vysoké hodnoty indukčních period; tvar křivek se po dlouhou dobu podobá velmi mírně klesajícím přímkám. Jedná se tedy o stabilní materiál. Pokud je sójová drť v nepražené formě, jedná se o velmi stabilní materiál. Indukční perioda 93,97 h a přímo vzorový tvar křivky – po dlouhou dobu je tlak téměř konstantní, ke konci pokusu křivka prudce klesá. Pražená sójová drť vykazuje kratší indukční periodu, tj. pouze 48,93 h. Křivka má od začátku pokusu větší spád. Opět i zde platí, že tepelně ošetřený materiál má menší indukční periodu než původní vzorek v nativním stavu.

Co se týče znečištění kovy přidávaných složek, tak nejvyšší index MPI byl naměřen u lněných semínek 56,51; jader piniových oříšků 45,99; sezamových semínek 38,70. Přítomnost kovů může být všeobecně příznivá, pokud se jedná o biogenní prvky případně stopové prvky. Problémem část bývají toxické prvky, kde je to na prvním místě kadmium. Toto se objevilo ve vyšších zastoupeních, než povoluje legislativa ((EU) 2021/1323) ve vzorcích slunečnicových, lněných, sezamových semínek a piniových jader.

LITERATURA

- Barriuso, B., Astiasarán I., Ansorena D. 2013. A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: a challenging task. In *European Food Research and Technology* [online]. 236(1), 1-15. DOI: 10.1007/s00217-012-1866-9. ISSN 1438-2377.
- Bozan, B., Temelli, F. 2008. *Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seed and seed oils*. In *Bioresource Technology* [online]. 2008, 99(14), 6354-6359. DOI: 10.1016/j.biortech.2007.12.009. ISSN 09608524.
- Choe, E., Min, D. B. 2006. Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. *Comprehensive In Reviews in Food Science and Food Safety* [online] 5(4), 169-186. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2006.00009.x. ISSN 1541-4337.
- Crowe, K.M., Francis, C. 2013. Position of the academy of nutrition and dietetics: functional foods. In *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 113.8: 1096-1103.
- (EU) 2017/2470 Prováděcí nařízení Komise ze dne 20. prosince 2017, kterým se zřizuje seznam Unie pro nové potraviny v souladu s nařízením Evropského parlamentu a Rady (EU) 2015/2283 o nových potravinách.
- (EU) 2021/1323 Nařízení Komise ze dne 10. srpna 2021, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, pokud jde o maximální limity kadmia v některých potravinách." Úřední věstník Evropské unie, 10. srpna 2021, L 273/3-10.
- Kochhar, S. P., Jeya, C., Henry, K. 2009. Oxidative stability and shelf-life evaluation of selected culinary oils. In *International Journal of Food Sciences and Nutrition* [online] 60(sup7), 289-296. DOI: 10.1080/09637480903103774. ISSN 0963-7486
- Metha, N., Ahlawat, S.S., Sharma, D.P., Dabur, R.S. 2015. Novel trends in development of dietary fiber rich meat products – a critical review. In *J. Food Sci. Tech.* 2015, 52, 633-647.
- McKevith, B. Nutritional aspects of cereals. In *Nutrition Bulletin*. 2004. 29(2), 111-142. [online] DOI: 10.1111/j.1467-3010.2004.00418.x. ISSN 1471-9827
- Orecchio, S.; Amorello, D.; Raso, M.; Barreca, S.; Lino, C.; Di Gaudio, F. 2014. Determination of trace elements in gluten-free food for celiac people by ICP-MS. In *Microchem. J.*, 116, 163-172. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2014.04.011>.
- Ou, J., Wang, M., Zheng, J., Ou, S. 2019. Positive and negative effects of polyphenol incorporation in baked foods. In *Food Chemistry*, 284: 90-99.
- OXITEST. Oxidation Test Reactor, 2019. Manuál přístroje, firemní literatura VELP SCIENTIFICA, Italy.
- Ragae, S., Abdelaal, E., Noaman, M. 2006. Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. In *Food Chemistry* [online] 98(1), 32-38. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.04.039. ISSN 03088146.
- Sampaio Cutrim, C., Sloboda Cortez, M.A. 2018. A review on polyphenols: Classification, beneficial effects and their application in dairy products. In *International Journal of Dairy Technology*, 71.3: 564-578.

Kontaktná adresa Miroslav, Fišera, Ústav analýzy a chemie potravin, Fakulta technologická, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Vavrečkova 5669, 760 01 Zlín, Česká republika

APLIKÁCIA ANALÝZY TEXTÚRY NA HODNOTENIE ŽEMLÍ VYROBENÝCH ZO SLOVENSKÝCH ODRÔD PŠENICE APPLICATION OF TEXTURE PROFILE ANALYSIS FOR EVALUATION OF BAKED ROLLS PRODUCED FROM SLOVAK WHEAT VARIETIES

*Tatiana Holkovičová, Zlatica Kohajdová, Michaela Lauková, Lucia Minarovičová,
Ladislav Staruch*

Abstract: Textural properties of baked rolls prepared from two Slovak bred wheat varieties were evaluated in this study. It was found that baked good produced from IS Danubius and MS Luneta wheat varieties showed significantly different values in chewiness compared to control flour sample (about 31 and 49% higher, respectively). Moreover, these varieties as well as commercial flour showed high values for cohesiveness, that could indicated the high quality gluten of applied raw materials. Storage samples were also characterised with high springiness, thus reflecting that retained freshness during storage. This study demonstrated that texture profile analysis can be usefully applied for assessing texture attributes of baked goods.

Keywords: wheat varieties, baked rolls, texture profile analysis, quality assessment

INTRODUCTION

Wheat is one of the most important cereals in terms of production and utilization for human consumption (Pronin et al., 2020). Cereal processing is an essential requirement to transform cereals into attractive and palatable bakery products (Fernández-Canto et al., 2022). Wheat-based food products are consumed globally and they provide 20–30% of the daily calorie intake (Szira et al., 2014; Kiszonas and Morris, 2018). They are important sources of energy, proteins, carbohydrates, fibre, minerals, phenolic acids, vitamins, and other bioactive phytochemicals (Lu et al., 2014).

It has been suggested that wheat breeding may have resulted in a higher qualitative potential of modern wheat cultivars compared to old wheat cultivars. While increasing yield is the main goal of wheat breeding, secondary goals include improvement of adaptation, resistance to biotic and abiotic stress factors, and baking quality (Pronin et al., 2020).

Wheat starch and proteins are the main components of wheat flour, and play a major role in functionality and product quality. It is commonly accepted that wheat flour characteristics are mainly dependent on protein content and gluten quality, which are closely related to the texture of wheat products (Shang et al., 2021). Texture involves several sensory characteristics and is considered as a critical attribute for the quality of final products. In this way, texture determines the consumer perception and value attributed to the products. Besides, the texture is also important from the technological and economic points of view to minimize losses during production, storage or transportation (Guiné, 2022).

The textural properties of baked products can be evaluated using several methods. Texture profile analysis (TPA) is an instrumental test which provide objective measurements of texture parameters, a major factor of food acceptability (Trinh and Glasgow, 2012).

Due to the relevance of textural characteristics of bakery products, this study have focused on the measurement of textural properties in baked rolls produced from two Slovak wheat bred varieties (IS Danubius, MS Luneta) and the methods used for their assessment.

MATERIAL AND METODOLOGY

Materials

Commercial fine wheat flour (Mlyn Kolárovo a.s., Slovak Republic) (wet gluten content in dry matter: 28.24 %) and other ingredients (vegetable oil, sugar, salt, yeast) used for preparation of baked rolls were purchased from local markets in Slovakia. Wheat flours produced from IS Danubius and MS Luneta varieties (wet gluten content in dry matter: 30.91% and 28.5 %, respectively) were obtained from Research Institute of Plant Production Piešťany, Slovakia.

Methodology

Wheat rolls were prepared using a recipe described by Kohajdová et al. (2013). The control recipe included: wheat flour 300 g, vegetable oil 7.5 g, yeast 12.06 g, salt 5.63 g, sugar 3.22 g and water to farinographic consistency 400 Brabender units (BU).

The textural profile analysis (TPA) of baked rolls was realized according to method described by Lauková et al. (2017) using a texture analyzer (TA-XT Plus, Stable MicroSystems, Godalming, Surrey UK). TPA tests were carried out: 25 mm slices were placed on the test platform of a texture analyzer equipped with a P/36R cylindrical probe. The test program was set to the TPA mode with a pretest speed of 1 mm/s, a test speed of 1 mm/s, and a posttest speed of 1 mm/s, and the two compression pause times were 4s. The parameters measured were the hardness, springiness, cohesiveness, gumminess, chewiness, and resilience. Analyses were performed in fresh (2 h after baking) and storage samples (24 h after baking). Samples were storage in closed polyethylene bags at ambient temperature.

All analyses were performed five times. The results were expressed as mean value \pm standard deviation. The analysis of variance was conducted to data for determine differences ($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.0001$). Fisher's least significant differences (LSD) test was used to describe the significance of the differences between the Slovak commercial flour sample (control) and flours produced from IS Danubius and MS Luneta wheat varieties.

RESULTS AND DISCUSSION

TPA is a method used to evaluate the mechanical properties of food products, including baked goods. It involves analysing the texture of a food item based on its sensory attributes. TPA helps assess various textural characteristics (hardness, springiness, cohesiveness, gumminess, chewiness, and resilience) which can provide valuable information about the structural properties of the baked product and its overall mouthfeel (Nwosisi et al., 2019; Peleg, 2019). The principle of texture analyser is mimicking what occurs inside the mouth and obtaining a force-time curve through two sample compression cycles, meant to identify some texture properties of food. In the process of food texture evaluation, compared with human sensory evaluation, TPA can obtain more intuitionistic and quantifiable parameters (Dou et al., 2023). Texture profile analysis of studied baked rolls is listed in table 1.

Hardness is defined as the maximum peak force during the first compression cycle (first bite) (Pham and Liou, 2017). Texture evaluation demonstrated that baked rolls made from IS Danubius and MS Luneta wheat varieties had significantly higher hardness than control in both fresh goods and samples after 24h storage. The increase in hardness during storage is probably influenced by the retrogradation of starch molecules and the migration of water (Wang a Zhu, 2016; Cao et al., 2022). Statistically significant differences were also found in hardness within the baked rolls produced from the bred wheats ($p < 0.001$) (results are not showed).

Table 1 Texture profile analysis of baked rolls

	Control	Danubius	Luneta
Fresh			
Hardness (g)	2283.50 ± 26.83	2513.98 ± 34.55*	3143.48 ± 31.91***
Springiness	0.95 ± 0.01	0.97 ± 0.01	0.95 ± 0.03
Cohesiveness	0.65 ± 0.03	0.69 ± 0.03	0.62 ± 0.00
Gumminess	3146.05 ± 9.17	2339.13 ± 9.60***	3048.00 ± 38.13
Chewiness	1528.62 ± 25.32	2219.42 ± 12.16***	2967.91 ± 33.11***
Resilience	0.32 ± 0.01	0.29 ± 0.02*	0.26 ± 0.01**
Storage			
Hardness (g)	4810.85 ± 24.39	5381.95 ± 25.99***	6206.88 ± 13.96***
Springiness	0.88 ± 0.01	0.95 ± 0.03	0.88 ± 0.01
Cohesiveness	0.60 ± 0.01	0.65 ± 0.14	0.59 ± 0.08
Gumminess	2184.17 ± 37.20	1355.34 ± 6.85*	1499.88 ± 20.61***
Chewiness	1069.98 ± 45.07	1250.89 ± 19.07	1842.05 ± 25.76*
Resilience	0.27 ± 0.05	0.24 ± 0.03	0.24 ± 0.01

The asterisks denotes a statistically significant difference among samples at $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**) and $p < 0.001$ (***) level, respectively.

Springiness (elasticity) is related to the height that the food recovers during the time that elapses between the end of the first bite and the start of the second bite (Driss et al., 2013). Previously, Tess et al. (2015) described that springiness is associated with product freshness. Low values of this attribute are linked with crumb brittleness. According to Tóth et al. (2022), higher values of springiness indicate prolonged shelf life of baked goods. No significant differences in the springiness were observed among evaluated samples. However, baked rolls prepared from IS Danubius showed about 2-7% higher values of this parameter, which can indicate its better texture integrity.

Cohesiveness is defined as a ratio of the positive force during the second compression to that during the first compression (Tess et al., 2015). It is a textural property which is mainly influenced by the quality of the gluten. Low cohesion indicates a high susceptibility of the mixture to crumbling and thus has a negative effect on the acceptability of baked goods by consumers (De la Hera et al., 2014; Encina-Zelada et al., 2019). It was determined that baked rolls produced from IS Danubius showed higher values of cohesiveness in comparison with other samples. Since cohesiveness indicates the strength of the internal bonds, the higher cohesiveness values suggests a more unified texture of baked rolls (Mousavi et al., 2019).

Gumminess is defined as the energy required to disintegrate a semisolid food to a state of readiness for swallowing. It combines both hardness and cohesiveness (Sabbaghi et al., 2020). Baked rolls produced from IS Danubius and MS Luneta showed significantly lower values in this parameter compared to those prepared from control wheat flour. A higher gumminess value for bread suggests that the bread has a chewier and more cohesive texture. It reflects the resistance the bread presents during the chewing process. This parameter is mostly influenced by composition of the dough and baking process (Rózylo and Laskowski, 2011).

Chewiness is related to the work needed to chew a solid sample to a steady state of swallowing (Nishinari and Fang, 2018). Obtain results also showed that fresh baked rolls produced from both wheat varieties had significantly higher values of chewiness. This can

indicate higher gluten content in flour, which contribute to a more resilient and chewy texture in the baked goods (Guo et al., 2021).

Resilience characterizes the beginning of a sample's elasticity and calculated from the ratio of the area under curve of the second half of the first cycle to the first half of the cycle. Reduction in resilience reflects alteration of the crumb elasticity (Tóth et al., 2022). Statistical analysis showed that fresh baked rolls prepared from IS Danubius and MS Luneta had significantly lower values in resilience that control baker rolls. With storage, decreased resilience was observed in both baked rolls wheat varieties.

CONCLUSION

In this study, baked goods produced from two Slovak bred varieties (IS Danubius and MS Luneta) were assessed for its texture attributes. Parameters of textural analysis showed significant differences among all samples. From the obtained results concluded that no significant differences were found among tested samples in springiness and cohesiveness, however high values in this parameters refers to higher gluten quality and freshness of final products. In addition, IS Danubius showed significantly different values in gumminess and chewiness than control sample indicating more consistent texture. Based on these findings it can be concluded that wheat variety IS Danubius is suitable and recommended for baked goods production.

REFERENCES

- Cao, H., Wang, X., Wang, X., Guan, X., Huang, K., Zhang, Y. 2022. Effect of storage conditions on the textural properties and in vitro digestibility of wheat bread containing whole quinoa flour. In *Food Bioscience*, vol. 49, article 101921. ISSN 2212-4292. Dostupné na: doi: 10.1016/j.fbio.2022.101921
- De la Hera, E., Rosell, C. M., Gomez, M. 2014. Effect of water content and flour particle size on gluten-free bread quality and digestibility. In *Food chemistry*, vol. 151, pp. 526-531. ISSN 1873-7072. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodchem.2013.11.115
- Dou, X., Lv, M., Ren, X., He, Y., Liu, L., Zhang, G., Hua Yang, C. 2023. Test conditions of texture profile analysis for frozen dough. In *Italian Journal of Food Science*, vol. 35, no. 4, pp. 58-68. ISSN 1120-1770. Dostupné na: doi: 10.15586/ijfs.v35i4.2401
- Driss, D., Bhiri, F., Siela, M., Bessess, S., Chaabouni, S., Ghorbel, R. 2013. Retracted: Improvement of Breadmaking Quality by Xylanase GH 11 from *Penicillium occitanis* P ol6. In *Journal of Texture Studies*, vol. 44, no.1, pp. 75-84. ISSN 1745-4603. Dostupné na: doi: 10.1111/j.1745-4603.2012.00367.x
- Encina-Zelada, C. R., Cadavez, V., Monteiro, F., Teixeira, J. A., Gonzales-Barron, U. 2019. Physicochemical and textural quality attributes of gluten-free bread formulated with guar gum. In *European Food Research and Technology*, vol. 245, pp. 443-458. ISSN 1438-2385. Dostupné na: doi: 10.1007/s00217-018-3176-3
- Fernández-Canto, M. N., García-Gómez, M. B., Boado-Crego, S., Vázquez-Oderiz, M. L., Muñoz-Ferreiro, M. N., Lombardero-Fernández, M., Romero-Rodríguez, M. Á. 2022. Element content in different wheat flours and bread varieties. In *Foods*, vol. 11, no. 20, article 3176. ISSN 2304-8158. Dostupné na: doi: 10.3390/foods11203176
- Guiné, R. P. 2022. Textural properties of bakery products: A review of instrumental and sensory evaluation studies. In *Applied Sciences*, vol. 12, no. 17, article 8628. ISSN 2076-3417. Dostupné na: doi: 10.3390/app12178628
- Guo, J., Wang, F., Zhang, Z., Wu, D., Bao, J. 2021. Characterization of gluten proteins in different parts of wheat grain and their effects on the textural quality of steamed bread. In *Journal of Cereal Science*, vol. 102, article 103368. ISSN 1095-9963. Dostupné na: doi: 10.1016/j.jcs.2021.103368
- Kiszonas, A. M., Morris, C. F. 2018. Wheat breeding for quality: a historical review. In *Cereal Chemistry*, vol. 95, no. 1, pp. 17-34. ISSN1943-3638. Dostupné na: doi: 10.1094/CCHEM-05-17-0103-FI
- Kohajdová, Z., Karovičová, J., Jurasová, M., Magala, M. 2013. Cereálie, Cukor, Cukrovinky I – Návod na laboratórne cvičenia. Bratislava: Fakulta Chemickej a potravinárskej technológie Slovenskej technologickej univerzity, 107 s. ISBN 978-80-89597-09-3.
- Lauková, M., Kohajdová, Z., Karovičová, J., Kuchtová, V., Minarovičová, L., Tomášiková, L. 2017. Effects of cellulose fiber with different fiber length on rheological properties of wheat dough and quality of baked rolls. In *Food Science and Technology International*, vol. 23, no. 6, pp. 490-499. ISSN 1532-1738. Dostupné na: doi: 10.1177/1082013217704122

- Lu, Y., Luthria, D., Fuerst, E. P., Kiszonas, A. M., Yu, L., Morris, C. F. 2014. Effect of processing on phenolic composition of dough and bread fractions made from refined and whole wheat flour of three wheat varieties. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 62, no. 43, pp. 10431-10436. ISSN 1520-5118. Dostupné na: doi: 10.1021/jf501941r
- Mousavi, M., Heshmati, A., Daraei Garmakhany, A., Vahidinia, A., Taheri, M. 2019. Texture and sensory characterization of functional yogurt supplemented with flaxseed during cold storage. In *Food Science and Nutrition*, vol. 7, no. 3, pp. 907-917. ISSN 2048-7177. Dostupné na: doi: 10.1002/fsn3.805
- Nishinari, K., Fang, Y. 2018. Perception and measurement of food texture: Solid foods. In *Journal of Texture Studies*, vol. 49, no. 2, pp. 160-201. ISSN 1745-4603. Dostupné na: doi: 10.1111/jtxs.12327
- Nwosisi, S., Nandwani, D., Ramasamy, R. 2019. Texture Profile Analysis (TPA) of organic sweetpotato (ipomoea batatas) cultivars as affected by different processing methods. In *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, vol. 8, no. 6, article 1254. ISSN 1338-5178. Dostupné na: doi: 10.15414/jmbfs.2019.8.6.1254-1259
- Peleg, M. 2019. The instrumental texture profile analysis revisited. In *Journal of Texture Studies*, vol. 50, no. 5, pp. 362-368. ISSN 1745-4603. Dostupné na: doi: 10.1111/jtxs.12392
- Pham, Q. T., Liou, N. S. 2017. Investigating texture and mechanical properties of Asian pear flesh by compression tests. In *Journal of Mechanical Science and Technology*, vol. 31, pp. 3671-3674. ISSN 1976-3824. Dostupné na: doi: 10.1007/s12206-017-0707-y
- Pronin, D., Börner, A., Weber, H., Scherf, K. A. 2020. Wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding from 1891 to 2010 contributed to increasing yield and glutenin contents but decreasing protein and gliadin contents. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 68, no. 46, pp. 13247-13256. ISSN 1520-5118. Dostupné na: doi: 10.1021/acs.jafc.0c02815
- Rózylo, R., Laskowski, J. 2011. Predicting bread quality (bread loaf volume and crumb texture). In *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, vol. 61, no. 1. ISSN 2083-6007. Dostupné na: doi: 10.2478/v10222-011-0006-8
- Sabbaghi, H., Ziaifar, A. M., Kashani-Nejad, M. 2020. Textural profile analysis (TPA) of dried apple slices using infrared radiation with intermittent heating method. In *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, vol. 16, no. 1, pp. 57-72. ISSN 1735-4161. Dostupné na: doi: 10.22067/iftstrj.v15i5.71974
- Shang, J., Li, L., Liu, C., Hong, J., Liu, M., Zhao, B., Zheng, X. 2021. Relationships of flour characteristics with isolated starch properties in different Chinese wheat varieties. In *Journal of Cereal Science*, vol. 99, article 103210. ISSN 1095-9963. Dostupné na: doi: 10.1016/j.jcs.2021.103210
- Szira, F., Monostori, I., Galiba, G., Rakszegi, M., Bálint, A. F. 2014. Micronutrient contents and nutritional values of commercial wheat flours and flours of field-grown wheat varieties - a survey in Hungary. In *Cereal Research Communications*, vol. 42, pp. 293-302. ISSN 1788-9170. Dostupné na: doi: 10.1556/CRC.2013.0059
- Tess, M., Bhaduri, S., Ghatak, R., Navder, K. P. 2015. Physical, textural and sensory characteristics of gluten free muffins prepared with teff flour (*Eragrostis tef* (ZUCC) trotter). In *Journal of Food Processing and Technology*, vol. 6, no. 9, p. 1-5. ISSN 2157-7110. Dostupné na: doi: 10.4172/2157-7110.1000490
- Tóth, M., Kaszab, T., Meretei, A. 2022. Texture profile analysis and sensory evaluation of commercially available gluten-free bread samples. In *European Food Research and Technology*, vol. 248, no.6, pp. 1447-1455. ISSN 1438-2385. Dostupné na: doi: 10.1007/s00217-021-03944-2
- Trinh, K. T., Glasgow, S. 2012. On the texture profile analysis test. In *Proceedings of the Chemeca*, vol. 2012, pp. 23-26.
- Wang, S., Zhu, F. 2016. Formulation and quality attributes of quinoa food products. In *Food and Bioprocess Technology*, vol. 9, pp. 49-68. ISSN 1935-5149. Dostupné na: doi: 10.1007/s11947-015-1584-y

Acknowledgments: This publication was supported by grant VEGA No. 1/0583/20 and 1/0549/24 and by Young Research Support Program/ Excellent Team of STU, Slovak Republic, grant No. 1352.

Contact address: Ing. Tatiana Holkovičová, Department of Food Technology, Institute of Food Science and Nutrition, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovak Republic, e-mail: tatiana.holkovicova@stuba.sk

BKB24 INŠTRUMENTÁLNA ZOBRAZOVACIA TECHNIKA IRIS AKO NÁSTROJ NA CHARAKTERIZÁCIU FARIEB SOUS-VIDE RASTLINNÉHO PRODUKTU

INSTRUMENTAL IRIS VISUAL ANALYZER AS A TOOL TO CHARACTERIZE THE COLORS OF SOUS-VIDE VEGETABLE PRODUCT

Patricia Joanidis, Jana Štefániková, Marek Šnirc, Ivana Mezeyová

Abstract: Our study aimed to evaluate the suitability of the e-eye IRIS visual technique to evaluate colour changes during the optimization of sous-vide (SV) technology conditions for SV butternut squash (*Cucurbita moschata*). We identified 33 colours in the samples prepared at different temperatures (70-85 °C) and times (5-30 min.). Based on hierarchical grouping the samples were divided into 4 clusters, specifically 3 clusters for SV samples and 1 cluster for control sample (raw butternut squash) with differences in colour values. The majority colours were shades of yellow, orange, and brown with L*a*b* and RGB coordinates in the specified range: L* (66,228-96,960), a* (-11,150-38,999), b* (15,452-77,633) and R (232-248), G (136-248), and B (8-216). Based on our results the most suitable combinations of temperatures and times for colour preservation can be found in cluster 3, specifically 75 °C at 10 min., 20 min., and 30 min., and 85 °C at 5 min., 10 min., 15 min., and 20 min.

Keywords: butternut squash, colour profile, electronic eye, long-term cooking

ÚVOD

Vizuálny analyzátor elektronické oko (e-oko) IRIS VA400 umožňuje detailné vizuálne posúdenie farebných a tvarových parametrov celkových produktov alebo vybraných častí týchto produktov. E-oko IRIS pozostáva z osvetlenej kabíny pri 6700 °K a je bez tieňov, z kamery so snímačom CMOS (complementary metal-oxide semiconductor) a Alphasoft softvéru (Štefániková et al., 2020). Softvér rozpoznáva 4096 farieb, ku ktorým sú priradené aj CIELAB a RGB koordináty a jednotlivé farby sú vyjadrené v percentuálnom zastúpení (Štefániková et al., 2019a).

Princíp obrazového snímača CMOS bol predstavený koncom 60. rokov 20. storočia, no do praxe sa dostal až po vývoji technológie mikrobrábania polovodičov v 90. rokoch (Shi, 2023). CMOS senzor vie prenášať dáta z každého bodu samostatne, zatiaľ čo predchádzajúci obvod s nábojovou väzbou (charge-coupled device – CCD) po riadkoch. Hlavnými výhodami technológie CMOS sú oveľa jednoduchšie rozhranie, nízka spotreba energie, nízky šum a nie sú tak náchylné na degradáciu účinnosti prenosu náboja (CTE) z protónového ožiarenia ako CCD snímače (Jerram a Stefanov, 2020).

Farby a farebné zmeny je možné kvantifikovať pomocou systémov usporiadania farieb, ako je napríklad RGB, CIELAB, CIEXYZ a iné. Základné farebné zložky sú červená (R), zelená (G) a modrá (B). Ľudské oko má najlepšiu citlivosť práve pre vlnové dĺžky týchto farieb. Farebný model RGB je založený na aditívnom spôsobe, t. j. zmiešavaním farby k farbe. Číselná hodnota vyjadruje množstvo základnej farby, ktorá sa nachádza vo výslednej farbe, napríklad 0-0-0 zodpovedá čiernej farbe. Systém CIELAB je štandardizovaný komisiou Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) a vyjadruje svetlosť farby (L*), intenzitu na červeno-zelenej farebnej osi (a*) a intenzitu na žlto-modrej farebnej osi (b*) (Ly et al., 2020).

Martišová et al. (2021a,b) hodnotili farebné odlišnosti vo vybraných vzorkách viacdruhových a medovicových medov zo Slovenska a zahraničia pomocou e-oka IRIS a v práci uviedli, že doposiaľ boli využívané len metodiky ako Pfundova stupnica,

spektrofotometrické et alorimetrické stanovenia, ktoré detegujú len jednu farbu vzorky. Na druhej strane, e-oko IRIS ponúka farebné spektrum vzorky aj s percentuálnym zastúpením jednotlivých farebných odtieňov. V predchádzajúcich štúdiách sme sa venovali hodnoteniu farebných zmien v údených a neúdených slovenských parených syroch vplyvom skladovania alebo mesiaca výroby (Hynšt et al., 2019; Štefániková et al., 2019a,b; Štefániková et al., 2020) a potvrdili sme vhodnosť e-oka IRIS na hodnotenie kvality vybraných produktov. V ďalšej štúdií boli sledované farebné zmeny, ako aj zmeny v tvare produktu, ktoré boli hodnotené pomocou e-oka IRIS ako kvalitatívne parametre pri optimalizácii prídavku mikroprášku z hroznových jadriec do pšeničného chleba (Valková et al., 2020). Uvedené práce porovnávajú hodnotenie farebných zmien inštrumentálnou analýzou so senzorickým hodnotením panelom hodnotiteľov. V roku 2021, Nakai et al. (2021) použili e-systémy Alpha M.O.S. na hodnotenie kvality kávových zŕn z Guatemaly.

Technológia Sous-vide (SV), pochádzajúca z Francúzska, predstavuje kontrolovaný spôsob varenia potravín zabalených vo (sous) vákuu (vide), ktorý využíva nižšie teploty a dlhšie časy varenia v porovnaní s konvenčným varením (Iborra-Bernad et al., 2014). Varenie SV technikou zabraňuje strate vlhkosti, živín a arómy potravín, zabraňuje tiež oxidačným zmenám, inhibuje rast aeróbných baktérií a predlžuje trvanlivosť (Kathuria et al., 2022). Z nutričného hľadiska predstavuje spôsob spracovania potravín s vysokým potenciálom na uchovávanie zdraviu prospešných zlúčenín (Patras et al., 2010). Tekvica (*Cucurbita* L.) je známa svojimi nutričnými vlastnosťami (karotenoidy, polyfenoly, minerály, vitamíny, aminokyseliny) a jej pestovanie je rozšírené po celom svete v miernych aj tropických oblastiach. Patrí do čeľade *Cucurbitaceae*, kam patrí okolo 800 druhov a 130 rodov (Dhenge et al., 2022).

V tejto práci sa venujeme posúdeniu vhodnosti využitia zobrazovacej techniky e-oko IRIS na hodnotenie farebných zmien pri optimalizácii podmienok SV techniky na prípravu vybranej SV muškátovej tekvice.

MATERIÁL A METODIKA

Rastlinný materiál, tekvica muškátová-plazivá (*Cucurbita moschata* Duch. Ex Poir.), pochádzal z Botanického záhrady SPU v Nitre. Plody zberané v druhej polovici septembra mali typický hruškovitý tvar oranžovej farby. Do dátumu analýz boli plody skladované na chladnom a tmavom mieste bez prítomnosti škodcov. Po ošúpaní a odstránení dužiny boli plody nakrájané na kocky vo veľkosti približne 2x2x2 cm. Priemerná vzorka s hmotnosťou 200 g bola vložená do vákuovacieho PE vrečka a následne zavákuovaná (Maxxo VMProfi vákuová balička potravín, Hong Kong, Čína). Na varenie metódou SV boli použité rôzne kombinácie teplôt (70-85 °C) a časov (5-30 min.), celkovo bolo takto pripravených 16 vzoriek a ako kontrolná vzorka bola použitá surová tekvica. Po uvarení boli vzorky šokovo schladené v ľadovom kúpeli (1 °C) a skladované v chladničke (4 °C) do dňa analýzy (nasledovný deň).

Na hodnotenie farebných spektier SV tekvice pripravenej rôznymi kombináciami teplôt a časov bola použitá inštrumentálna zobrazovacia technika elektronické oko IRIS VA400 (Alpha M.O.S., Francúzsko) so zabudovaným AlphaSoft softvérom. Softvér slúži na dekódovanie farieb identifikovaných v hodnotených vzorkách, pričom uvádza označenie konkrétnych farieb v RGB aj CIELAB farebných systémoch (Štefániková et al., 2020). E-okom boli zaznamenané farebné spektrá celého obsahu vákuovacieho vrečka (200 g), pričom každá vzorka bola odfotená 3 krát za súčasného otočenia každej kocky.

Na získaných dátach sa uskutočnilo hierarchické zoskupovanie na analýze hlavných komponentov (PCA), aby sa identifikovali skupiny vzoriek SV tekvice pripravenej pri rôznych kombináciách teploty a času. PCA sa použila na zredukovanie rozmerov dát extrakciou spojených premenných zahŕňajúcich najvýznamnejšie informácie. Štatistická analýza bola

vykonaná v programe RStudio pomocou balíkov „FactoMineR“ a „factoextra“ (Lê et al., 2008; Kassambara a Mundt, 2017; RStudio Team, 2020).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V predkladanej štúdií sme hodnotili farebné spektrá 16 vzoriek SV muškátovej tekvice pripravenej kombináciami rôznych teplôt (70-85 °C) a časov (5-30 min.). Ako kontrolná vzorka bola hodnotená surová muškátová tekvica. Spolu bolo v hodnotených vzorkách SV muškátovej tekvice identifikovaných 33 farieb (>1%). V Tabuľke 1 uvádzame kódové označenie 23 farieb výnimočných na základe v-testu, ktoré boli významné pri metóde hierarchického klastrovania hlavných komponentov (HCPC): 3712 (fulvous), 3728 (gamboge), 3968 (tangerine), 3984 (orange RYB), 4000 (chrome yellow), 4036 (sandstorm), 4038 (jonquil), 4039 (topaz), 4051 (banana yellow), 4052 (sandstorm), 4053 (jonquil), 4054 (jonquil), 4056 (buff), 4057 (champagne), 4070 (corn), 4071 (jasmine), 4072 (flavescent), 4088 (pastel yellow), 4089 (pastel yellow), 4090 (pale goldenrod), 4091 (blond), 4092 (lemon chiffon) a 4093 (beige) s ich RGB a L*a*b* koordinátami. V slovenskom jazyku neexistujú preklady pre všetky identifikované farby, preto uvádzame ich názvy iba v anglickom jazyku (Tabuľka 1). Majoritné farby SV muškátovej tekvice predstavovali odtiene žltej, oranžovej a hnedej, ktorých koordináty L*a*b* a RGB sa nachádzali v uvedenom rozpätí: L* (66,228-96,960), a* (-11,150-38,999), b* (15,452-77,633) a R (232-248), G (136-248), a B (8-216).

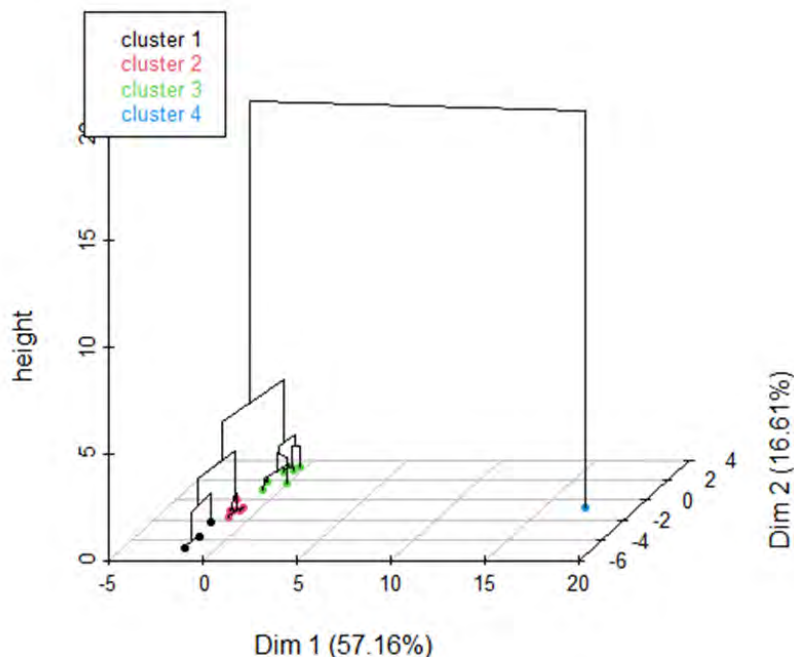
Na základe hierarchického stromu (Obrázok 1) boli vzorky SV muškátovej tekvice rozdelené do 4 klastrov. Kontrolná vzorka patrí do samostatného klastra 4, charakterizovaného vysokými hodnotami farieb „pastel yellow 4089“, „pastel yellow 4088“, „flavescent“, „jasmine“, „corn“, „jonquil 4054“, „jonquil 4053“, „sandstorm 4052“, „banana yellow“ a „sandstorm 4036“ a nízkymi hodnotami farieb „orange RYB“, „lemon chiffon“ a „beige“. Do klastra 1 boli zaradené vzorky 75 °C/15 min., 80 °C/10 min. a 15 min. Táto skupina je charakterizovaná vysokými hodnotami farieb „topaz“, „jonquil 4038“, „buff“, „fulvous“ a „champagne“ a zároveň nízkymi hodnotami farby „chrome yellow“. Do druhého klastra boli zaradené všetky vzorky varené pri teplote 70 °C, 80 °C/20 min. a 25 min. Tieto vzorky zdieľali vysoké hodnoty pre farbu označenú ako „tangerine“ a zároveň boli pre ne typické nízke hodnoty vo farbách „gamboge“, „pale goldenrod“ a „chrome yellow“. Do Klastra 3 patria vzorky pripravene kombináciou teplôt a časov 75 °C/10 min., 20 min. a 30 min. a všetky vzorky varené pri 85 °C s charakteristickými vysokými hodnotami pre farby „gamboge“, „blond“, „chrome yellow“ a „pale goldenrod“ a nízkymi hodnotami farby „tangerine“.

Farba tekvice je podmienená najmä obsahom prírodných oranžových farbív, karotenoidov, na ktoré má vplyv napr. odroda, stupeň zrelosti a podmienky rastu (Azizah et al., 2009). Pre spotrebiteľa predstavuje farba jeden z najdôležitejších atribútov hodnotených pri varenej zelenine (Koç et al., 2017). Najčastejšou príčinou farebných zmien, najmä hnednutia, v tepelne opracovanej zelenine je Maillardova reakcia. Da Silva et al. (2019) vo svojej práci sledovali farebné rozdiely medzi vzorkami tekvice tepelne upravenej metódou SV (90 °C/30 min.), konvenčným varením (100 °C/8 min.), napaňovaním (95 °C/12 min.) a prípravou v mikrovlnke (2450 MHz, 10 min.). S využitím spektrofotometra et alorimetra zaznamenali preukazné zvýšenie ($p < 0,05$) obsahu hnedých pigmentov v SV tekvici v porovnaní s ostatnými spôsobmi tepelnej úpravy. Pozorovaný nárast množstva hnedých pigmentov súvisel s dlhšou dobou tepelnej úpravy a prebiehajúcou Maillardovou reakciou. Súčasne bol v SV tekvici pozorovaný preukazný pokles v oranžovej farbe (da Silva et al., 2019). Porovnávaním farebných rozdielov medzi SV (90 °C), vákuovo varenou (130 °C) a napaňovanou (100 °C) tekvicou sa zaoberali aj Rinaldi et al. (2020). Medzi tepelne ošetrovanými a surovými vzorkami pozorovali preukazné rozdiely ($p < 0,05$), pričom hodnoty L*, a* a b* v porovnaní so surovou vzorkou poklesli, čo bolo očakávané.

Tabuľka 1 Kódové označenie majoritných farieb identifikovaných softvérom AlphaSoft analýzou e-okom IRIS v SV muškátovej tekvici pripravenej pri rôznych teplotách a časoch a v kontrolnej vzorke uvedené v CIELAB a RGB koordinátach

Identifikované majoritné farby (kódové označenie AlphaSoft)	CIELAB systém***			RGB systém**			Názov farby v anglickom jazyku*
	L*	a*	b*	R	G	B	
3712	66,228	32,554	70,795	232	136	8	Fulvous
3728	69,809	24,507	72,976	232	152	8	Gamboge
3968	68,424	38,999	73,424	248	136	8	Tangerine
3984	71,832	31,142	75,424	248	152	8	Orange (RYB)
4000	75,434	23,169	77,633	248	168	8	Chrome yellow
4036	83,276	8,468	67,341	248	200	72	Sandstorm
4038	83,511	9,833	53,909	248	200	104	Jonquil
4039	83,668	10,736	46,464	248	200	120	Topaz
4051	87,170	0,231	76,335	248	216	56	Banana yellow
4052	87,244	0,696	71,100	248	216	72	Sandstorm
4053	87,341	1,296	65,019	248	216	88	Jonquil
4054	87,462	2,039	58,298	248	216	104	Jonquil
4056	87,778	3,970	43,610	248	216	136	Buff
4057	87,977	5,165	35,897	248	216	152	Champagne
4070	91,493	-5,581	62,687	248	232	104	Corn
4071	91,628	-4,709	55,767	248	232	120	Jasmine
4072	91,787	-3,688	48,491	248	232	136	Flavescent
4088	95,86	-11,150	53,357	248	248	136	Pastel yellow
4089	96,031	-10,003	46,036	248	248	152	Pastel yellow
4090	96,225	-8,707	38,525	248	248	168	Pale goldenrod
4091	96,445	-7,260	30,891	248	248	184	Blond
4092	96,689	-5,663	23,188	248	248	200	Lemon chiffon
4093	96,960	-3,919	15,452	248	248	216	Beige

Poznámka:* Názov farby podľa RGB farebného kódovania (RGB color code). ** R – červená, G – zelená, B – modrá farebný model, ***svetlosť farby (L*), intenzita na červeno-zelenej farebnej osi (a*) a intenzita na žltomodrej farebnej osi (b*).



Obrázok 1 Hierarchický strom na faktoriálnej mape. Klaster 1 predstavuje vzorky 75 °C/15 min., 80 °C/10 min. a 15 min. Do Klastra 2 patria vzorky 70 °C/15 min., 20 min., 25 min. a 30 min., 80 °C/20 min. a 25 min. V Klasteri 3 sú zaradené vzorky 75 °C/10 min., 20 min. a 30 min., 85 °C/5 min., 10 min., 15 min. a 20 min. Klaster 4 predstavuje kontrolnú vzorku.

Ďalší autori sa venovali hodnoteniu farebných zmien medzi SV (90 °C/15 min.), konvenčne varenou (100 °C/20 min.) a surovou mrkvou. S využitím kolorimetra zaznamenali v rámci CIELAB farebného systému vo vzorkách surovej mrkvy preukazne vyššie hodnoty ($p < 0,01$) v koordináte b^* (viac žltá vzorka v porovnaní s ostatnými spôsobmi prípravy) (Trejo Araya et al., 2009). Hong et al. (2014) sa vo svojej štúdií venovali porovnávaniam rôznych teplôt pri SV varení (70, 80 a 90 °/10 a 20 min.) mrkvy a ich vplyvu na farebné zmeny. Napriek tomu, že medzi vzorkami boli zaznamenané iba mierne zmeny, hodnoty parametrov L^* , a^* a b^* mali klesajúci charakter s rastúcou teplotou a predlžovaním času SV prípravy.

ZÁVER

Potvrdili sme, že vizuálny analyzátor e-oko IRIS VA400 umožňuje detailné vizuálne posúdenie farebných odlišností pri SV optimalizácii teploty a času na prípravu muškátovej tekvice (*Cucurbita moschata*). Vďaka získaným farebným spektrám bolo možné vyhodnotiť vzorky na základe 33 farieb a zo získaných dát pomocou hierarchického zoskupovania boli vzorky rozdelené do štyroch klastrov. Ako sa očakávalo, farba surovej tekvice, kontroly, bola jedinečná a tepelne spracované vzorky mali zmenenú farbu. No na druhej strane, SV vzorky pripravené pri rôznych teplotách (70-85 °C) a časoch (5-30 min.) boli rozdelené do troch rôznych klastrov. Z výsledkov vyplýva, že najvhodnejšími podmienkami pre zachovanie farebných odtieňov podobných kontrole by mohli byť kombinácie 75 °C/10 min., 20 min. a 30

min. a 85 °C/5 min., 10 min., 15 min. a 20 min. (klaster 3). Pre zúženie výberu SV kombinácií teploty a času je potrebné doplniť výskum o ďalšie analýzy, ako je napríklad senzorické posúdenie vzoriek panelom hodnotiteľov alebo hodnotenie textúry texturometrom.

LITERATÚRA

- Azizah, A. H., Wee, K. C., Azizah, O., Azizah, M. 2009. Effect of boiling and stir frying on total phenolics, carotenoids and radical scavenging activity of pumpkin (*Cucurbita moschato*). In *International Food Research Journal* [online], vol. 16, no. 1, pp. 45-51 [cit. 2024-02-09]. Dostupné na: <https://core.ac.uk/download/pdf/153798813.pdf>
- da Silva, M. D. F. G., de Sousa, P. H. M., Figueiredo, R. W., Gouveia, S. T., Lima, J. S. S. 2019. Cooking effects on bioactive compounds and sensory acceptability in pumpkin (*Cucurbita moschata* cv. Leite). In *Revista Ciência Agronômica* [online], vol. 50, no. 3, pp. 394-401 [cit. 2024-02-09]. Dostupné na: doi: 10.5935/1806-6690.20190047
- Dhenge, R., Rinaldi, M., Ganino, T., Santi, S., Ferrarese, I., Dall'Acqua, S. 2022. Variations of polyphenols, sugars, carotenoids, and volatile constituents in pumpkin (*Cucurbita moschata*) during high pressure processing: A kinetic study. In *Innovative Food Science and Emerging Technologies* [online], vol. 78, pp. 103005 [cit. 2024-02-09]. Dostupné na: doi: 10.1016/j.ifset.2022.103005
- Hong, Y.-K., Uhm, J. T., Yoon, W. B. 2014. Using Numerical Analysis to Develop and Evaluate the Method of High Temperature Sous-Vide to Soften Carrot Texture in Different-Sized Packages. In *Journal of Food Science* [online], vol. 79, no. 4, pp. E546-E561 [cit. 2024-02-09]. Dostupné na: doi: 10.1111/1750-3841.12427
- Hynšt, M., Štefániková, J., Martišová, P., Vietoris, V., Nagyová, E. 2019. Využitie elektronického panelu pri hodnotení údených parených syrov zo Slovenska. In Zborník prednášok a posterov. Hygiena Alimentorum XL Bezpečnosť a kvalita mliečnych a rastlinných komodít, 15-17. máj 2019, Štrbské Pleso, Štátna veterinárna a potravinová správa SR Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, s. 352-361. ISBN: 978-80-8077-620-6.
- Iborra-Bernad, C., Tárrega, A., García-Segovia, P., Martínez-Monzó, J. 2014. Comparison of Vacuum Treatments and Traditional Cooking Using Instrumental and Sensory Analysis. In *Food Analytical Methods* [online], vol. 7, pp. 400-408 [cit. 2024-02-08]. Dostupné na: doi: 10.1007/s12161-013-9638-0
- Jerram, P., Stefanov, K. 2020. CMOS and CCD image sensors for space applications. In *Durini, D. 2020. High Performance Silicon Imaging* [online], *Second Edition*. Sawston, UK: Woodhead Publishing, pp. 255-287 [cit. 2024-02-09]. Dostupné na: doi: 10.1016/B978-0-08-102434-8.00009-X
- Kassambara, A., Mundt, F. 2017. Factoextra: Extract and visualize the Results of Multivariate Data Analyses. R Package Version 1.0. 7. Dostupné na: <https://CRAN.R-project.org/package=factoextra>
- Kathuria, D., Dhiman, A. K., Attri, S. 2022. Sous vide, a culinary technique for improving quality of food products: A review. In *Trends in Food Science and Technology* [online], vol. 119, pp. 57-68 [cit. 2024-02-09]. Dostupné na: doi: 10.1016/j.tifs.2021.11.031
- Koç, M., Baysan, U., Devseren, E., Okut, D., Atak, Z., Karataş, H., Kaymak-Ertekin, F. 2017. Effects of different cooking methods on the chemical and physical properties of carrots and green peas. In *Innovative Food Science and Emerging Technologies* [online], vol. 42, pp. 109-119 [cit. 2024-02-09]. Dostupné na: doi: 10.1016/j.ifset.2017.06.010
- Lê, S., Josse, J., Husson, F. 2008. FactoMineR: An R package for Multivariate Analysis. In *Journal of Statistical software* [online], vol. 25, pp. 1-18 [cit. 2024-02-09]. Dostupné na: doi: 10.18637/jss.v025.i01
- Ly, B. C. K., Dyer, E. B., Feig, J. L., Chien, A. L., Del Bino, S. 2020. Research Techniques Made Simple: Cutaneous Colorimetry: A Reliable Technique for Objective Skin Color Measurement. In *Journal of Investigative Dermatology* [online], vol. 140, no. 1, pp. P3-12 [cit. 2024-02-09]. Dostupné na: doi: 10.1016/j.jid.2019.11.003
- Martišová, P., Korčok, M., Vietoris, V., Štefániková, J. 2021a. Farebné spektrá medovicových medov získané pomocou elektronického oka. In Zborník príspevkov z konferencie Mladý vedci – Bezpečnosť potravinového reťazca, online, Košice, Slovenská republika : Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, 2021, 78-82 s. ISBN 978-80-89738-30-4.
- Martišová, P., Štefániková, J., Šedík, P. 2021b. Využitie elektronického oka na hodnotenie farebných odlišností viacdruhových medov. In Zborník príspevkov z konferencie Hygiena a technológia potravín L. - Lenfeldovy a Höklovy dny, Brno, Česká republika: Veterinárna a farmaceutická univerzita, 2021, 186-192 s. Dostupné na: <https://fvhe.vfu.cz/cz/hygiena-a-technologie-potravin-l-lenfeldovy-a-hoklovy-dny>. ISBN 978-80-7305-859-3.
- Nakai, M., Motohiko, S., Toshiyuki, Y. 2021. Assessing Guatemalan Coffee Bean Quality with E-Eye, E-Nose, and E-Tongue systems. In *Book of Abstracts 28th Conference of Association for the Science and Information on Coffee*, 28 June – 1 July 2021, Montpellier, France, pp. 287. [cit. 2024-02-05]. Dostupné na: <chrome-extension://efaidnbnmnhibpcapjpcggleclfindmkaj/> https://www.alphavisa.com/asic/2021/documents/Book-of-Abstracts_Asic2021.pdf

Patras, A., Brunton, N. P., Butler, F. 2010. Effect of water immersion and sous-vide processing on antioxidant activity, phenolic, carotenoid content and color of carrot disks. In *Journal of Food Processing and Preservation* [online], vol. 34, no. 6, pp. 1009-1023 [cit. 2024-02-09]. Dostupné na: doi: 10.1111/j.1745-4549.2009.00434.x
RGB color code. [online] [cit. 2024-02-09]. Dostupné na: <https://rgbcolorcode.com/color/ converter/>
Rinaldi, M., Santi, S., Paciulli, M., Ganino, T., Pellegrini, N., Visconti, A., Vitaglione, P., Barbanti, D., Chiavaro, E. 2020. Comparison of physical, microstructural and antioxidative properties of pumpkin cubes cooked by conventional, vacuum cooking and sous-vide methods. In *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online], vol. 101, no. 6, pp. 2534-2541 [cit. 2024-02-09]. Dostupné na: doi: 10.1002/jsfa.10880
RStudio Team. 2020. *RStudio: Integrated Development for R*. RStudio, PBC, Boston, USA. Dostupné na: <http://www.rstudio.com/>
Shi, C. 2023. Applications of CMOS image sensors: Applications and innovations. In: *Proceeding of the 2023 International Conference on Mechatronics and Smart Systems* [online], pp. 95-103 [cit. 2024-02-09]. Dostupné na: doi: 10.54254/2755-2721/11/20230216
Štefániková, J., Hynšt, M., Vietoris, V. 2019b. Využitie elektronického panelu pri hodnotení neúdených parených syrov zo Slovenska. In: *Zborník prednášok a posterov, Hygiena Alimentorum XL Bezpečnosť a kvalita mliečnych a rastlinných komodít*, 15-17. máj 2019, Štrbské Pleso : Štátna veterinárna a potravinová správa SR Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, 588-595 s. ISBN: 978-80-8077-620-6.
Štefániková, J., Martišová, P., Árvay, J., Jankura, E., Kačániová, M., Gálová, J., Vietoris, V. 2020. Comparison of electronic systems with sensory analysis for the quality evaluation of parenica cheese. In *Czech Journal of Food Sciences* [online], vol. 38, no. 5, pp. 273-279 [cit. 2024-02-08]. Dostupné na: doi: 10.17221/42/2020-CJFS
Štefániková, J., Martišová, P., Vietoris, V. 2019a. Hodnotenie kvality parených syrov elektronickým panelom. In *Recenzovaný zborník vedeckých prác v oblasti potravinárskych technológií*, Nitra, Slovenská republika : SPU v Nitre, 90-97 s. ISBN 978-80-552-2125-0.
Trejo Araya, X. I., Smale, N., Zabaras, D., Winley, E., Forde, C., Stewart, C. M., Mawson, A. J. 2009. Sensory perception and quality attributes of high pressure processed carrots in comparison to raw, sous-vide and cooked carrots. In *Innovative Food Science and Emerging Technologies* [online], vol. 10, no. 4, .pp. 420-433 [cit. 2024-02-09]. Dostupné na: doi: 10.1016/j.ifset.2009.04.002
Valková, V., Dúranová, H., Štefániková, J., Miškeje, M., Tokár, M., Gabríny, L., Kowalczewski, P. Ł., Kačániová, M. 2020. Wheat Bread with Grape Seeds Micropowder: Impact on Dough Rheology and Bread Properties. In *Applied Rheology* [online], vol. 30, pp. 138-150 [cit. 2024-02-09]. Dostupné na: doi: 10.1515/arh-2020-0112

Pod'akovanie: Táto práca vznikla vďaka finančnej podpore projektu č. 18-GASPU-2021 "Moderné postupy a technológie zvyšujúce kvalitu vybraného sous-vide potravinového modelu" Grantovej agentúry SPU v Nitre; vďaka podpore v rámci operačného programu Výskum a inovácie pre projekt: Podpora výskumných aktivít vo VC ABT, 313011T465, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja a 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: Patrícia Joanidis Ing. PhD., Výskumné centrum AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko

A NEW DERIVATISATION METHOD FOR THE DETERMINATION OF ETHYL CARBAMATE IN DISTILLED SPIRITS

Jitka Klikarová, Michal Kašpar, Milan Sýs

Abstract: A completely novel derivatization procedure has been developed for the determination of ethyl carbamate in alcoholic beverages. The method utilized 4-(dimethylamino)benzaldehyde reagent forming the corresponding derivative within 5 minutes (99.4 % yield) without significant by-products. The derivatization procedure led to the development of a new chromatographic method with spectrophotometric detection at 420 nm. The achieved quantification limit of $582.5 \mu\text{g L}^{-1}$ complies with the European Commission Recommendation from 2010, demonstrating its practical use in food safety control. Compared to the EC derivatization method used so far, employing the expensive reagent 9-xanthyrol, the proposed approach significantly reduces the cost and time required to screen this potential carcinogen and could lead to the manufacture of commercial colorimetric assay kits detecting hazardous concentrations of EC levels.

Keywords: ethyl carbamate, 4-(dimethylamino)benzaldehyde, Ehrlich's reagent, derivatization, spectrophotometric detection, chromatographic analysis

INTRODUCTION

Ethyl carbamate (EC) is a colourless crystalline substance that was classified by the International Agency for Research on Cancer (IARC) in 2007 as a Group 2A substance, i.e. a possible human carcinogen (IARC, 2010; EFSA, 2007). EC is produced naturally during fermentation, distillation, or storage of food. Fortunately, most food products contain EC only in quantities that do not pose a threat to human health. However, an exception is distilled alcoholic beverages made from stone- or pome-fruits, which have EC concentrations of up to $18\,000 \mu\text{g L}^{-1}$ (IARC, 2010).

Although the official method for the determination of EC present in alcoholic beverages and soy sauce published by the Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2000) employs the technique of gas chromatography, there are several analytical methods utilizing high-performance liquid chromatography with fluorescence detection (HPLC-FLD). Compared to the official method, the HPLC-FLD method does not require concentration or sample purification but involves EC derivatization. To date, it has been performed exclusively with the expensive 9-xanthyrol (9-XA) reagent (Li et al., 2015), which requires high demands on sample treatment and optimization of the subsequent chromatographic separation.

Considering that EC is an ester of carbamic acid and, therefore, also contains an amide functional group in its chemical structure, its reactivity toward the Ehrlich's reagent (*p*-DMAB), which is known to react willingly with amines, urea, and sulphonamides in acidic media to form coloured Schiff base type products (Adegoke, 2011; Czuderna and Kowalczyk, 2012), was investigated.

Since this reaction has never been proposed before, a completely new chromatographic method with spectrophotometric detection has also been developed. After thorough validation, its practical application was verified in the analysis of spirits. Finally, both analytical and validation parameters of the presented method, also including the results from practical analysis, were compared with the previously established method using 9-XA.

MATERIAL AND METODOLOGY

In the optimised derivatization procedure, 273 mg of *p*-DMAB was dissolved in 1 mL of 35% HCl to obtain 1.83 mol L⁻¹ stock solution of the reagent (stored at 4 °C in the refrigerator), which was then mixed in a ratio of 1:2 (v/v) with an ethanolic solution of urea or EC standard, both at a concentration of 300 mmol L⁻¹ or with the corresponding volume of the sample. To obtain a blank solution, the standard solution of urea or EC was replaced with ethanol, keeping the other components (including their ratios) and reaction conditions identical. After thorough vortexing of the mixture, suitable dilution with 3% HCl in ethanol, and filtration through a PTFE syringe filter (4 mm × 0.45 μm; Labstore, HPST, Prague, Czech Republic), spectrophotometric and chromatographic analyses were performed.

Spectrophotometric measurements were carried out with a UV2450 spectrophotometer (Shimadzu, Kyoto, Japan) using a 1 cm quartz cuvette (Fisher Scientific, Pardubice, Czech Republic) in the range of wavelengths 200–800 nm at a scanning speed of 0.5 nm s⁻¹.

The HPLC system equipped with an LC-30AD binary gradient pump, a DGU-20 A5 degassing unit, an SPD-M30A diode array detector (all Shimadzu), a QTRAP 4500 mass spectrometer (AB Sciex, Framingham, USA), an LCO 102 column thermostat (Ecom, České Meziříčí, Czech Republic), and 2 μL external dosing system (Valco Instruments, Schenk, Switzerland) was used. Reversed-phase HPLC analyses of final derivatives (*p*-DMAP-EC) were performed on Ascentis Express C18 (150 × 3.0 mm; 2.7 μm) analytical column (Supelco, Bellefonte, USA) tempered at 30 °C, using a mobile phase consisting of an aqueous solution of formic acid with pH 3.0 (A) and pure methanol (B) with following gradient program: 0 min–20 % B; 2 min–25 % B; 5 min–61 % B; 10 min–62 % B, and 11 min–100 % B. The further chromatographic parameters, namely mobile phase flow rate, sample volume, and detection wavelength, corresponded to 0.4 mL min⁻¹, 2 μL, and 420 nm, respectively. The mass spectrometer (MS) with electrospray ionization operating in the positive-ion mode was set to the following conditions: temperature 200 °C, curtain gas 20 psi, ion source gases 50 psi (both), ion spray voltage 3500 V, and entrance potential 10 V. Then, the protonated molecule of *p*-DMAP-EC derivate was fragmented using declustering potential 65 V, collision energy 45 V, and collision cell exit potential 14 V. The mass scan was set in the range of *m/z* 50–250.

To verify the validity of our method, the samples were also derivatized using the traditional 9-XA reagent. The conditions of derivatization and chromatographic analysis of the resulting derivatives were based on previously published data (Li et al., 2015). The separation was performed on the same HPLC chromatograph, only coupled to an RF-20A XS fluorescence detector (Shimadzu) and employing a Luna C18 analytical column (150 × 3 mm; 3 μm; Phenomenex, Torrance, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

The derivatization procedure had to be carefully optimised in terms of the reaction environment (effect of water content and different concentrations of HCl, HCOOH, and CH₃COOH), the molar ratio of the individual reactants (*p*-DMAB: analyte ratios; 1:1, 1.5:1, 2:1, 2.5:1, and 3:1; *n/n*), reaction kinetics (monitored up to 60 min), and the stability of the resulting derivative. The effect of these tested parameters was always studied spectrophotometrically in the wavelength range of 375–460 nm, as a new absorption band of *p*-DMAP-EC with an absorption maximum at 420 nm occurred. The highest derivatization yield (99.4 % recovery) together with the fastest reaction (just 5 min) and satisfactory stability of the resulting derivative (minimum of 5 days) were obtained using *p*-DMAB reagent dissolved directly in 35% HCl and mixed with ethanolic solution of analyte in the molar ratio of 3:1. Since the reaction kinetics usually rise with increasing temperature, the derivatization mixture was also tempered at 50 °C in a water bath for 30–50 min. The heating caused a

decrease in the intensity of the *p*-DMAP-EC absorption band probably due to its hydrolysis (Gérard et al., 2022).

HPLC separation parameters were necessary to optimise with the aim of achieving the best possible resolution and peak shape in the shortest possible analysis time. Two different stationary phases (C18 and RP-Amide) combined with various aqueous (0.1–0.5 mol L⁻¹ phosphate buffer with pH 3–4.5, 0.1% triethylamine solution with pH 3–4.5, and HCOOH solution with pH 2.5–4.5) as well as organic components (pure acetonitrile or methanol) of the mobile phase were tested for the separation of EC derivative. The C18 column and methanol combined with HCOOH solution of pH 3 were found to be the optimal stationary and mobile phase, respectively. Then, the gradient elution program was optimized in terms of initial methanol concentration (20–30 %), gradient slope, and the number of steps to achieve sufficiently narrow Gaussian peaks with high resolution (see experimental part). As can be seen in the chromatogram (Figure 1), *p*-DMAP-EC provides a peak at 6.5 min. The method was utilized in an HPLC-MS system to unambiguously confirm the derivatization product (Figure 1).

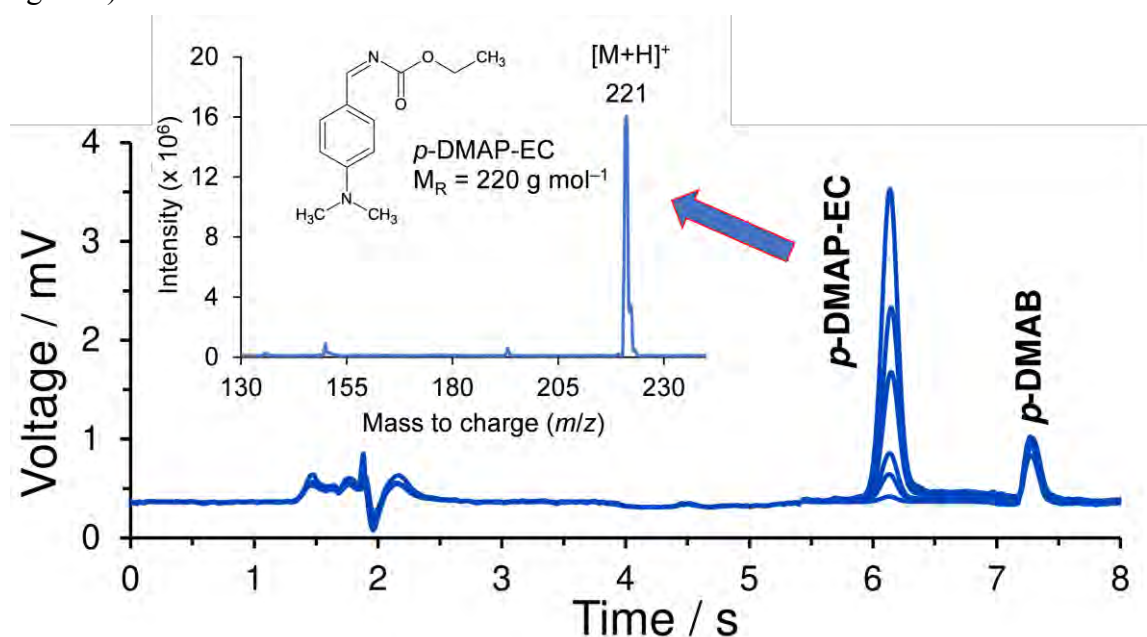


Figure 1 Chromatographic records of 1, 5, 10, 30, 40, and 60 mg L⁻¹ *p*-DMAP-EC together with its mass spectrum. Abbreviations: *p*-DMAB, Ehrlich's reagent; *p*-DMAP-EC, derivative of ethyl carbamate and Ehrlich's reagent.

The developed method was validated and values of instrumental detection limit 174.8 µg L⁻¹, instrumental quantification limit 582.5 µg L⁻¹, repeatability < 5 %, sensitivity 0.0515 mV s mg⁻¹ L for the linear range 0.58–60 mg L⁻¹ EC (determination coefficient 0.9952) were achieved, thus meeting the generally applicable validation requirements (AOAC, 2016).

A total of six homemade fruit spirits were subjected to the analysis. Table 1 summarizes the EC concentrations determined using both the developed method and the reference chromatographic method employing the 9-XA agent. While the reference method revealed EC in four samples at concentrations of 14–1503 µg L⁻¹, the proposed method did not reach such a low quantification limit (582.5 µg L⁻¹) and detected EC only in sample No. 1 (1499 µg L⁻¹). Although the proposed method will not detect harmless EC concentrations (< 1000 µg L⁻¹ EC) recommended by the European Commission (EU 2010), it will reliably, cheaply, and quickly reveal non-compliant samples (≥ 1000 µg L⁻¹).

Table 1 Comparison of the developed HPLC method with the reference approach.

Sample No.	Fruit base	Developed method ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Reference method ($\mu\text{g L}^{-1}$)
1	Plum	1498.8 ± 3.1	1503.4 ± 2.9
2	Plum	-	-
3	Cherry	-	14.2 ± 1.7
4	Pear	-	516.1 ± 2.3
5	Apple	-	-
6	Peach	-	354.0 ± 1.2

Contents given as confidence intervals $\bar{x} \pm s \cdot t_{1-\alpha}$, where \bar{x} is the arithmetic mean, s is the standard deviation, and $t_{1-\alpha}$ the critical value of Student's t -distribution for five repetitions (2.776) at a significance level α of 0.05 (95% probability).

CONCLUSION

The novel derivatization of ethyl carbamate with cheap 4 (dimethylamino)benzaldehyde proved to be at least comparable to the hitherto exclusively used reaction with the expensive 9-xanthidrol reagent and can thus serve as an alternative method for the EC detection in potentially hazardous samples. Moreover, both the simple derivatization and chromatogram (without any by-products or interfering peaks) offer the possibility of developing a commercial colorimetric assay kit or screening platform using a microfluidic chip with spectrophotometric detection, advantageously applicable for rapid food safety control.

REFERENCES

- Adegoke, A. O. 2011, Analytical, biochemical, and synthetic applications of para-dimethylaminobenzaldehyde. In *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, vol. 11, pp. 17–29. ISSN 0976 – 044X.
- AOAC, 2000. AOAC official method 944.07: Ethyl carbamate in alcoholic beverages and soy sauce. In *AOAC Official Methods of Analysis (17th edition)*, pp. 14–15. Gaithersburg, MD, USA.
- AOAC, 2016. Guidelines for standard method performance requirements. In: *AOAC Official Methods of Analysis*, Appendix F, pp. 1–18. J. AOAC Int. Gaithersburg, MD, USA. Available at: http://www.eoma.aoac.org/app_f.pdf.
- Czauderna, M., Kowalczyk, J. 2012. Simple, selective, and sensitive measurement of urea in body fluids of mammals by reversed-phase ultra-fast liquid chromatography. In *Czech Journal of Animal Science*, vol. 57, pp. 19–27. Available at: <https://doi.org/10.17221/5480-CJAS>.
- EFSA, 2007. Ethyl carbamate and hydrocyanic acid in food and beverages - Scientific Opinion of the Panel on Contaminants. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission. In *The EFSA Journal*, vol. 551, pp. 1–44. ISSN 1831-4732. Available at: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2007.551>.
- EU, 2010. Commission Recommendation of 2 March 2010 on the prevention and reduction of ethyl carbamate contamination in stone fruit spirits and stone fruit marc spirits and on the monitoring of ethyl carbamate levels in these beverages: (2010/133/EU). In *Official Journal of the European Union*.
- Gérard, D., Méchin, S., Saint-Loup, R., Fleury, E., Pascault, J. P. 2022. Study of the carbamate/aldehyde reaction, a new pathway towards NIPU materials. In *Progress in Organic Coating*, vol. 165, pp. 106728. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2022.106728>.
- IARC, 2010. Alcohol consumption and ethyl carbamate. In *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*, vol. 96. International Agency for Research on Cancer. Publisher: World Health Organization. ISBN 978-92-832-1296-6.
- Li, G., Zhong, Q., Wang, D., Zhang, X., Gao, H., Shen, S. 2015. Determination and formation of ethyl carbamate in chinese spirits. In *Food Control*, vol. 56, pp. 169–176. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.03.029>.

Acknowledgments: Financial support from the Faculty of Chemical Technology, University of Pardubice (project No. SGS_2024_004) is gratefully acknowledged.

Contact address: Ing. Jitka Klikarová, Ph.D., Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical Technology, University of Pardubice, Studentská 573, 532 10 Pardubice, Czech Republic.

KVASNÉ VLASTNOSTI CESTA S PRÍDAVKOM LYOFILIZOVANÉHO OVOCIA

FERMENTED PROPERTIES OF DOUGH WITH THE ADDITION OF LYOPHILIZED FRUIT

Kolesárová Anna, Bojňanská Tatiana, Solgajová Miriam, Mendelová Andrea, Zeleňáková Lucia

Abstract: This study dealt with the effects of additions of small berry lyophilized fruits (chokeberry, black elderberry, blackcurrant, saskatoon berry) mixed with wheat flour (in amounts of 15%) on the quality of dough from this mixed flour, which was compared with the control (dough and bread prepared from wheat flour). A rheofermentometer F4 was used to evaluate the fermentation of the experimental routes. The dough with addition of black elder had the best ability to form fermentation gases, and the dough with addition of saskatoon berry had the lowest. Doughs supplemented with chokeberry and blackcurrant produced a significantly increased total volume of CO₂, but also lost a significant amount of gas during analysis, and the retention volume was comparable to the control wheat dough.

Keywords: Lyophilised fruits powder, Dough rheology, Rheofermentometer, Gas retention

ÚVOD

V súčasnosti prevláda trend obohacovania jednotlivých druhov cereálnych potravín o zdraviu prospešné zložky. Jednou z možností na zlepšenie nutričnej kvality chleba je čiastočné nahradenie pšenice nepekárskymi surovinami s nutričným potenciálom, vďaka čomu vznikajú rozmanité produkty s priaznivými zdravotnými účinkami (Almeida et al., 2013; Tebben, Shen, 2018; Torbica et al., 2019). Spolu so známymi prísadami používanými v pekárstve majú veľký potenciál aj nepekárske/netradičné rastlinné suroviny, ktorých aplikácii s cieľom zvyšovania nutričnej hodnoty chleba a pekárskych výrobkov je venovaná vo výskume významná pozornosť (Anil, 2007; Krishtafovich et al., 2021; Siddiq et al., 2009; Jannati et al., 2018; Romano et al., 2021; Bojňanská et al., 2021).

Červené ovocie je veľmi obľúbené pre svoju atraktívnu chuť, príjemný vzhľad a bioaktívne zloženie (Martinsen et al., 2020). Tieto bobule obsahujú významný obsah fenolových zlúčenín, z ktorých hlavnými triedami sú fenolové kyseliny, flavonoidy a stilbény. Fenolové zlúčeniny sú pre ľudské zdravie dôležité a ich konzumácia je spájaná so znížením rizika niekoľkých chronických ochorení, ako sú nádorové ochorenia (Leite-Legatti et al., 2012), Alzheimerova choroba (Jha et al., 2018), diabetes (Cásedas et al., 2019) a obezita (Lenquiste et al., 2019). Drobné bobuľové ovocie (červené plody) má vďaka svojej farbe a chuti, zdravotným a funkčným výhodám a tiež technologickým vlastnostiam, viacero možností na využitie pri produkcii potravín (da Silva et al., 2017; Cedrim et al., 2018; Schulz et al., 2019).

Pridávanie nepekárskych surovín do kompozitných múk s pšeničnou alebo ražnou múkou však zásadne mení vlastnosti týchto múk. Výrazná zmena je spôsobená najmä nižším podielom lepek tvoriacich bielkovín v týchto múkach, ale aj vyšším podielom vlákniny, prípadne iných zložiek, ktoré môžu ovplyvňovať ich technologické vlastnosti (Bojňanská et al., 2012; Bresciani, Marti, 2019). Tvorba plynu pri kysnutí závisí hlavne od aktivity pekárskych kvasníc (*Saccharomyces cerevisiae*) a schopnosť cesta tento vzniknutý plyn zachytiť závisí od lepkovej siete. Na predpovedanie skutočného kysnutia cesta je vhodná analýza pomocou reofermentometra, ktorá odhaduje vlastnosti cesta počas fermentácie meraním uvoľneného CO₂ alebo vyrobeného tlaku. Vytvorený CO₂ slúži na expanziu cesta a dosiahnutie finálneho objemu bochníka chleba (Gao et al., 2017).

Spôsob spracovania čerstvých bobúľ je z hľadiska maximálneho zachovania cenných zložiek v ovocí veľmi dôležitý. Za najžiadanejšiu metódu sušenia je považovaná lyofilizácia, pretože produkty spracované touto metódou si zachovávajú vysokú nutričnú hodnotu (Calín-Sánchez et al., 2020; Sidor et al., 2021).

Cieľom tohto výskumu bolo študovať vplyv prídavku netradičného lyofilizovaného ovocia bazy čiernej (*Sambucus nigra* L.), ríbezle čiernej (*Ribes nigrum* L.), arónie čiernoplodej (*Aronia melanocarpa* L.) a muchovníka jelšolistého (*Amelanchier alnifolia*, Nutt.) na schopnosť experimentálnych ciest zadržať fermentačné plyny.

MATERIÁL A METODIKA

Použitý materiál

V tejto štúdií bola použitá komerčne dostupná pšeničná múka (MLYN ZRNO, Miroslav Grznár, Slovenská republika), s parametrami garantovanými výrobcom: energetická hodnota 1 464 kJ, obsah sacharidov 71 g.100⁻¹ g z toho cukry 1,59 71 g.100⁻¹, obsah vlákniny 3,3 g.100⁻¹, obsah tuku 1,3 g.100⁻¹ z toho nasýtené 0,3 g.100⁻¹, obsah bielkovín 11 g.100⁻¹, soľ 0,01 g.100⁻¹.

Na prípravu zmesných múk boli použité plody bazy čiernej, čiernej ríbezle, arónie čiernoplodej a muchovníka jelšolistého, zbierané po dosiahnutí úplnej zrelosti (Nitra, Slovenská republika). Lyofilizované boli len kvalitné plody bez stopiek a poškodených častí a to 5 dní pri -58 °C (ilShin Lab Co., Ltd., Korea) a následne homogenizované (BOSCH TSM6A01, Nemecko). Vo forme lyofilizovaného prášku sa pridávali do pšeničnej múky v množstve 15 %.

Boli pripravené 4 druhy zmesi pšeničnej múky a prášku lyofilizovaného ovocia: BČ – múka : baza čierna (85:15), RČ – múka : ríbezľa čierna (85:15), AČ – múka : arónia čiernoplodá (85:15), MJ – múka : muchovník jelšolistý (85:15). Ako kontrola (K) bola použitá len pšeničná múka.

Reofermentometrická analýza

Na monitorovanie vývoja cesta a objemu plynu, ktoré cesto zadržiavalo a uvoľňovalo počas fermentácie, bol použitý reofermentometer F4 (Chopin Technologies, Francúzsko). Jednotlivé cestá boli pripravené zmiešaním 250 g múčnej zmesi, 5 g droždia, 5 g soli, vody pridanej podľa väznosti múčnej zmesi pre optimálnu konzistenciu cesta (stanovenej prístrojom Mixolab). Cesto bolo miešané po dobu 7 min. (SP 12 D, Diosna Dierks & Söhne GmbH, Osnabrück, Nemecko). Po miesení bolo 315 g vzorky cesta vložené do fermentačnej nádoby a prikryté optickým senzorom. Cesto bolo hodnotené pri teplote 28,5 °C počas 180 minút. Parametre boli získané meraním krivky *a*: H_m (maximálna výška cesta v mm); *a* krivky *b*: H' m (maximálna výška krivky uvoľňovania plynu v mm); T'1 (čas maximálnej tvorby plynu; čas potrebný na získanie H' m v minútach); T_x (čas, keď cesto začne uvoľňovať CO₂ v minútach); celkový objem (objem vyprodukovaného plynu v ml CO₂); objem strateného CO₂ v ml (objem plynu uniknutého do prostredia); retenčný objem (objem zadržaného plynu v ceste na konci testu).

Štatistická analýza

Na vyhodnotenie rozdielov medzi referenčnou vzorkou a vzorkami zmesí s prídavkom ovocia (p<0,05) bola použitá analýza rozptylu (ANOVA) a Fisherov test. Analýzy sa uskutočnili trojmo a štatistická analýza bola vykonaná pomocou MS Excel 2016 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pre výrobu chleba s dobrým objemom je dôležitá schopnosť cesta tvoriť kvasné plyny. Analýza pomocou reofermentometra umožňuje súčasne pozorovať kvasinkovú fermentáciu a rast cesta, čo poskytuje dôkaz o korelácii medzi týmito dvoma faktormi (Huang et al., 2008).

Vývin cesta a schopnosť zadržiavať plyn cesta, ktoré obsahovalo rôzne druhy ovocných prídavkov v nutrične zaujímavom množstve 15 %, boli analyzované pomocou reofermentometra F4, ktorý zaznamenáva dve krivky počas kysnutia cesta. Jedna krivka popisuje vývoj cesta a druhá zaznamenáva tvorbu a zadržiavanie plynu.

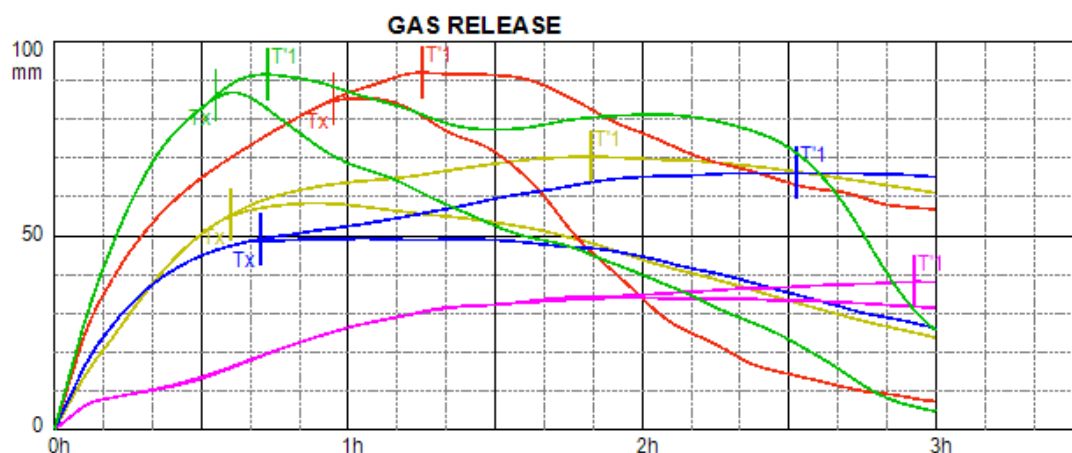
Vývin cesta bol ovplyvnený druhom konkrétneho prídavku. Výsledky uvedené v tabuľke 1 ukázali významné zníženie ($p < 0,05$) výšky cesta (H_m) s prídavkami arónie, ríbezle čiernej a muchovníka. Hodnoty H_m sa oproti kontrole znížili o 42,3 % vo vzorke s prídavkom muchovníka (MJ), o 43 % s aróniou (AČ) a až o 71,6 % s prídavkom ríbezle (RČ). Iný trend ako ostatné mal prídavok bazy čiernej (BČ), ktorý veľmi výrazne podporil nárast hodnoty H_m (v porovnaní s kontrolou o 35,6 %, $p < 0,05$) a cesto bolo odolnejšie voči prepadu.

Krivky vývoja cesta pokusných múk (krivky *b*) sú znázornené na obrázku 1. Cestá s prídavkom prášku lyofilizovaných plodov arónie, bazy čiernej a ríbezle čiernej dosiahli hodnotu H_m (najvyšší bod na krivke *b*, kedy je maximálna výška uvoľňovania plynu), preukazne vyššiu ako kontrolné cesto, v poradí: BČ > RČ > AČ. Výnimkou bolo cesto s prídavkom muchovníka, v ktorom bola hodnota H_m preukazne najnižšia (Tab. 1).

Čas potrebný na dosiahnutie maximálnej tvorby plynu T_1 , ktorý zodpovedá najvyššiemu bodu krivky *b*, bol najkratší pri kontrole (55,5 min.). Ovocné prídavky v ceste tento čas výrazne predĺžili, v prípade bazy čiernej (BČ) o 19,5 min, prídavok ríbezle čiernej (RČ) o 54 min., arónie (AČ) o 95 min., a najvýraznejšie prídavok muchovníka (MJ) o 120 min. tzn., že tento čas bol dosiahnutý až celkom na konci analýzy a maximum bolo extrémne nízke.

Pre kysnuté pečivo je vhodnejšie, aby čas meraný od začiatku skúšky až po uvoľnenie kvasného plynu do prostredia T_x (bod zlomu) bol čo najdlhší. Najdlhší čas T_x bol zistený v ceste s prídavkom bazy čiernej, ostatné prídavky do cesta v porovnaní s kontrolným cestom skrátili T_x , čo naznačuje skoršie uvoľňovanie plynu (Tab. 1, Obr. 1).

V prípade cesta s prídavkom muchovníka sa domnievame, že množstvo vzniknutého plynu bolo nízke a do dvoch hodín metódy vôbec nedošlo k jeho uvoľneniu z cesta, preto Rheofermentometer nezaznamenal hodnotu. Cesto s prídavkom prášku muchovníka malo jednoznačne najhorší priebeh krivky *b*, čo bolo dôsledkom nízkej produkcie plynu a nízkeho objemu zadržaného plynu v tejto vzorke. Výsledky boli preukazne horšie ($p < 0,05$) ako pri ostatných pokusných vzorkách. V porovnaní s kontrolným cestom bol v ostatných vzorkách s prídavkom lyofilizovaného ovocia (arónia, baza čierna a ríbezľa čierna) preukazne vyšší celkový objem CO_2 vyprodukovaného v ceste napriek tomu, že čas T_1 (maximálna výška krivky) bola dosiahnutá neskôr ako v kontrolnom ceste.



Obrázok 1 Reofermentometrická krivka *b* - porovnanie cesta s 15 % prídavkom rôznych druhov lyofilizovaného ovocia s kontrolnou vzorkou: zelená – kontrola; červená – baza čierna; žltá – ríbezľa čierna; modrá – arónia čiernoplodá; ružová – muchovník jelšolistý.

Tabuľka 1 Reofermentometrické parametre cesta z kontrolnej múky a skúšobných zmesí

Vzorka	H _m (mm)	H'm (mm)	T'1 (min)	T _x (min)	Celkový objem (mL)	Retenčný objem (mL)	Množstvo uvoľneného CO ₂ (mL)	Retenčný koeficient
K	84,1±0,5 ^c	61,6±1,1 ^b	55,5±2,6 ^a	49,5±1,6 ^d	1385±35,1 ^b	1165±42,5 ^a	220±7,4 ^d	84,1±0,9 ^d
AČ	47,9±3,9 ^a	66,2±0,7 ^c	151,5±0,8 ^b	42±0,8 ^c	1539±31,0 ^c	1140±9,8 ^a	399±21,2 ^c	74,1±0,9 ^e
BČ	114±1,6 ^d	92,1±0,7 ^c	75,0±2,5 ^c	57±1,6 ^c	1981±18,8 ^e	1323 ± 8,9 ^c	658±9,8 ^a	66,8±0,2 ^a
RČ	23,9±2,5 ^b	70,3±1,2 ^d	109,5±0,8 ^d	36±0,8 ^b	1667±17,2 ^d	1200±5,7 ^a	467±22,9 ^b	72±1,1 ^b
MJ	48,5±6,6 ^a	38,1±2,4 ^a	175,5±1,4 ^c	0±0	778±58,8 ^a	740±46,5 ^b	38±12,3 ^e	95,2±1,2 ^e

Poznámka: Merané indexy: H_m (maximálna výška vývoja cesta); H'm (maximálna výška krivky uvoľňovania plynu); T'1 (čas maximálnej tvorby plynu; čas potrebný na získanie H'm); T_x (čas uvoľnenia plynu); Celkový objem (objem vyrobeného plynu); Retenčný objem (objem CO₂ zadržaný v ceste na konci testu); Objem strateného CO₂ (objem CO₂, ktorý cesto stratilo počas kysnutia); Retenčný koeficient (retenčný objem/celkový objem). Priemery označené rôznymi písmenami sú výrazne odlišné ($p < 0,05$).

Okrem množstva vyprodukovaného plynu je dôležitá aj schopnosť cesta tento plyn zadržiavať. Počas priebehu testu (180 minút) stratili pokusné cestá s prídavkom arónie, bazy a čiernej ríbezle v porovnaní s kontrolou preukazne ($p < 0,05$) vyššie množstvá CO₂, čo demonštruje zníženie retenčného koeficientu o 10 % v prípade arónie, o 17,3 % v prípade bazy čiernej, a o 12,1 % v prípade ríbezle čiernej.

Výsledný objem plynu zadržaného v ceste na konci testu (retenčný objem) bol preukazne ($p < 0,05$) najvyšší v ceste s prídavkom bazy a keďže sa v tomto ceste vyprodukovalo preukazne najväčšie množstvo kvasného plynu (celkový objem), ani vysoké straty neboli podstatné. V prípade cesta s muchovníkom bol retenčný objem o 36,5 % nižší ako pri kontrolnom ceste, a dokonca o 44 % nižší ako v prípade najlepšie hodnoteného cesta s prídavkom bazy čiernej. Kysnutie cesta s prídavkom muchovníka možno charakterizovať ako nedostatočné a pomalé, a aj keď si po fermentácii zachovalo 95,11 % z celkového množstva kvasného plynu (celkový objem), toto množstvo CO₂ bolo so všetkých vzoriek preukazne najnižšie.

Pre zachytávanie plynu a udržiavanie štruktúry cesta je rozhodujúca viskoelastická trojrozmerná sieť tvorená gluténovým proteínom, škrobom a ďalšími zložkami (Verheyen et al., 2016). Je tendencia, že pridávanie nepšeničných surovín znižuje retenčnú schopnosť cesta, kedy dochádza k narušeniu matrice zo škrobu a lepku, to zhorší zadržiavanie plynov, čo má za následok zníženie špecifického objemu chleba a pórovitosti (Rubel et al., 2015; Bojňanská et al., 2021). Naše výsledky experimentu s prídavkom muchovníka v množstve 15 % odrážajú nestabilitu vývoja cesta a slabú kapacitu zadržiavania plynu, čo naznačuje, že štruktúra gluténovej siete spolu s výkonnosťou zadržiavania plynu bola oslabená a narušená pridaním prášku tohto ovocia. Podobne slabšiu silu cesta s múkou s nízkym obsahom bielkovín potvrdili aj Gao et al. (2017). Plody muchovníka sa vyznačujú tiež vysokým obsahom biologicky aktívnych polyfenolových zlúčenín (Lachowicz et al., 2017), vynikajú silnými antioxidantnými účinkami (Loza-Mejía and Salazar, 2015). Okrem iného, sú významným zdrojom minerálnych látok (mangánu, horčíka, železa, vápnika, draslíka, medi) a tiež vlákniny (obsahujú 5,9 g celkovej vlákniny v každých 100 g čerstvých bobúľ) (Mazza, 2006) a domnievame sa, že aj vláknina pri takomto vysokom množstve prídavku môže negatívne vplyvať na vývin cesta, pretože má vysokú schopnosť zadržiavať vodu a tým zvyšuje viskozitu cesta (Rosell et al., 2009). Na cesto zo zmesnej múky môže negatívne vplyvať aj zvýšené množstvo pektínov, pričom sa všeobecne plody bobúľ považujú za ich cenné zdroje. Pektíny z čiernych ríbezlí tvoria gél s vyššou viskozitou a má vyšší zahusťujúci účinok (Bélafi-Bakó et al., 2012).

Už predchádzajúce analýzy preukázali vplyv lyofilizovaného drobného bobuľového ovocia na fyzikálne vlastnosti cesta (stanovené Mixolabom), ktoré v kompozitných múčnych

zmesiach ovplyvnili stabilitu bielkovinovej časti. Predbežné výsledky naznačovali, že lyofilizované bobuľové ovocie vo vyšších prídavkoch je možné odporučiť skôr na prípravu trvanlivého pečiva, resp. sušenok, pri výrobe ktorých sa nevyžaduje počas miesenia vytvorenie kompaktnej priestorovej lepkovej siete (Kolesárová et al., 2022), čo sa nám potvrdilo najmä pri takomto vysokom prídavku prášku muchovníka.

ZÁVER

Na základe výskumu orientovaného na overovanie možností aplikácie nepekárskych surovín, konkrétne lyofilizovaných plodov vybraných druhov drobného bobuľového (červeného) ovocia do pekárskych produktov vo zvýšenom množstve 15 % sa potvrdilo, že druh lyofilizovaného ovocia výrazne ovplyvňuje vlastnosti cesta. Čo sa týka dôležitej schopnosti cesta tvoriť a zadržiavať kvasné plyny, výnimočné výsledky boli zistené pri prídavku bazy čiernej, ale tiež s prídavkami arónie, ríbezle čiernej a jednoznačne najhoršie pri prídavku muchovníka. Prídavok týchto necereálnych surovín môže okrem nutričných benefítov prinášať aj zaujímavé sensorické vlastnosti a po stanovení optimálnej výšky prídavku, môžu predstavovať určitú perspektívu na aplikáciu do pekárskych produktov.

LITERATÚRA

- Almeida, E. L., Kil Chang, Y., Steel, C. J. 2013. Dietary fibre sources in bread: Influence on technological quality. *LWT-Food Sci Technol*. 50:545–553. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.012>
- Anil, M. 2007. Using of hazelnut testa as a source of dietary fibre in bread making. *J Food Eng* 80(1):61–67. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.05.003>
- Bélafi-Bakó, K., Cserjési, P., Beszédes, S., Csanádi, Z., Hodúr, C. 2012. Microwave-Assisted Extraction and Rheological Properties. *Food Bioprocess Technol* 5: 1100–1105. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0592-9>
- Bojňanská, T., Frančáková, H., Lišková, M., Tokár, M. 2012. Legumes – the alternative raw materials for bread production. *J Microbiol Biotechnol Food Sci*; February Special issue, 876-886.
- Bojňanská, T., Musilová, J., Vollmannová, A. 2021. Effects of Adding Legume Flours on the Rheological and Breadmaking Properties of Dough. *Foods* 10(5):1087. <https://doi.org/10.3390/foods10051087>
- Bresciani, A., Marti, A. 2019. Using pulses in baked products: lights, shadows, and potential solutions. *Foods*. 2019; 8:451. <https://doi.org/10.3390/foods8100451>
- Calín-Sánchez, Á., Lipan, L., Cano-Lamadrid, M., Kharaghani, A., Masztalerz, K., Carbonell-Barrachina, Á. A., Figiel, A. 2020. Comparison of traditional and novel drying techniques and its effect on quality of fruits, vegetables and aromatic herbs. *Foods* 9:1261. <https://doi.org/10.3390/foods9091261>
- Cásedas, G., Les, F., González-Burgos, E., Gómez-Serranillos, M. P., Smith, C., López, V. 2019. Cyanidin-3-O-glucoside inhibits different enzymes involved in central nervous system pathologies and type-2 diabetes. *S Afr J Bot* 120:241–246. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.07.001>
- Cedrim, P. C. A. S., Barros, E. M. A., Nascimento, T. G. D. 2018. Propriedades antioxidantes do açaí (*Euterpe oleracea*) na síndrome metabólica. *Brazil J Food Technol* 21(0). <https://doi.org/10.1590/1981-6723.09217>
- da Silva, R. F. R., Barreira, J. C. M., Heleno, S. A., Barros, L., Calhelha, R. C., Ferreira, I. C. F. R. 2019. Anthocyanin Profile of Elderberry Juice: A Natural-Based Bioactive Colouring Ingredient with Potential Food Application. *Molecules*, 24:13,2359. <https://doi.org/10.3390/molecules24132359>
- Gao, J., Lyn Tay S., Hui Si Koh, A., Zhou, W. 2017. Dough and bread made from high- and low-protein flours by vacuum mixing: Part 2. Yeast activity, dough proofing and bread quality, *J Cereal Sci* 77: 275-283, ISSN 0733-5210, <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.08.015>
- Huang, W., Kim, Y., Li, X., Rayas-Duarte, P. 2008. Rheofermentometer parameters and bread specific volume of frozen sweet dough influenced by ingredients and dough mixing temperature *J Cereal Sci* 48:639-646. ISSN 0733-5210. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2008.02.008>
- Jannati, N., Hojjatoleslami, M., Hosseini, E., Mozafari, H., Siavoshi, M. 2018. Effect of apple pomace powder on rheological properties of dough and Sangak bread texture. *Carpath. J Food Sci Technol* 10(2): 77-84.
- Jha, A. B., Panchal, S. S., Shah, A. 2018. Ellagic acid: Insights into its neuroprotective and cognitive enhancement effects in sporadic Alzheimer's disease. *Pharmacol Biochem Behav* 175:33–46. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2018.08.007>
- Kolesárová, An., Bojňanská, T., Kopčeková, J., Kolesárová, Ad. 2022. The influence of non-traditional fruits and elder flowers on rheological properties of the dough. *J Microbiol Biotechnol Food Sci* 11(6). <https://doi.org/10.55251/jmbfs.4671>
- Krishtafovich, V. I., Krishtafovich, D. V., Bronnikova, V. V., Savina, O. V. 2021. The Effect of Juniper Supplements on the Quality and Nutritional Value of Bread. In: Bogoviz, A.V. (eds) *The Challenge of*

- Sustainability in Agricultural Systems. Lecture Notes in Networks and Systems, 206, Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-72110-7_96
- Lachowicz, S., Oszmiański, J., Pluta, S. 2017. The composition of bioactive compounds and antioxidant activity of Saskatoon berry (*Amelanchier alnifolia* Nutt.) genotypes grown in central Poland. *Food Chem* 235: 234–243. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.050>
- Leite-Legatti, A. V., Batista, A. G., Dragano, N. R. V., Marques, A. C., Malta, L. G., Riccio, M. F. et al. 2012. Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. *Food Res Int*, 49(1):596–603. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.07.044>
- Lenquiste, S. A., de Almeida Lamas, C., da Silva Marineli, R., Moraes, É. A., Borck, P. C., Camargo, R. L., et al. 2019. Jaboticaba peel powder and jaboticaba peel aqueous extract reduces obesity, insulin resistance and hepatic fat accumulation in rats. *Food Res Int* 120:880–887. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.053>
- Loza-Mejia, M. A., Salazar, J. R. 2015. Sterols and triterpenoids as potential anti-inflammatory: Molecular docking studies for binding to some enzymes involved in inflammatory pathways. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 62, 18–25. <https://doi.org/10.1016/j.jmglm.2015.08.010>
- Martinsen, B. K., Aaby, K., Skrede, G. 2020. Effect of temperature on stability of anthocyanins, ascorbic acid and color in strawberry and raspberry jams. *Food Chem* 316, 126297. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126297>
- Mazza, G. 2006. Chemical composition of saskatoon berries (*Amelanchier alnifolia* Nutt.). *J Food Sci* 47 (5): 1730–1731. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1982.tb05022.x>
- Romano, A., Gallo, V., Ferranti, P., Masi, P. 2021. Lentil flour: nutritional and technological properties, *in vitro* digestibility and perspectives for use in the food industry, *Curr Opin Food Sci* 40:157–167. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.04.003>
- Rubel, I. A., Pérez, E. E., Manrique, G. D., Genovese, D. B. 2015. Fibre enrichment of wheat bread with Jerusalem artichoke inulin: Effect on dough rheology and bread quality. *Food Struct* 3:21–29. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2014.11.001>
- Schulz, M., Katia, S., Seraglio, T., Della, F., Nehring, P., Camargo, A., et al. 2019. Blackberry (*Rubus ulmifolius* Schott): Chemical composition, phenolic compounds and antioxidant capacity in two edible stages. *Food Res Int* 122: 627–634. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.034>
- Siddiq, M., Nasirb, M., Ravia, R., Butt, M. S., Dolanac, K. D., Harte, J. B. 2009. Effect of defatted maize germ flour addition on the physical and sensory quality of wheat bread. *LWT Food Sci Technol* 42(2):464–470, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.09.005>
- Sidor, A., Drożdżyńska, A., Brzozowska, A., Gramza-Michałowska, A. 2021. The Effect of Plant Additives on the Stability of Polyphenols in Dried Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) Fruit *Foods* 10(1):44. <https://doi.org/10.3390/foods10010044>
- Tebben, L., Shen, Y., Li, Y. 2018. Improvers and functional ingredients in whole wheat bread: A review of their effects on dough properties and bread quality. *Trends Food Sci Technol*. 81:10–24. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.08.015>
- Torbica, A., Belović, M., Tomić, J. 2019. Novel breads of non-wheat flours. *Food Chem*. 282:134–140. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.113>
- Verheyen, C., Albrecht, A., Becker, T., Jekle, M. 2016. Destabilization of wheat dough: Interrelation between CO₂ and glutathione. *Innov Food Sci Emerg Technol* 34: 320–325. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.03.006>

Pod'akovanie: Táto práca bola realizovaná vo výskumnom centre AgroBioTech a podporená projektami APVV-18-0312 Modulačné účinky fytonutrientov vo vzťahu k zdraviu konzumenta a APVV-21-0206 Vývoj potravín využitím fytonutrientov z rastlinných zdrojov a medicínálnych húb s imunomodulačnými účinkami.

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

ANALÝZA PREFERENCIÍ SPOTREBITEĽOV V OBLASTI JEDLÝCH GÉLOV

ANALYSIS OF CONSUMER PREFERENCES REGARDING EDIBLE GELS

Melina Korčok, Veronika Vigašová, Katarína Poláková, Vladimír Vietoris

Abstract: Currently, there is a growing demand for innovative and tasty food products that take into account the specific dietary needs and preferences of targeted consumer groups, such as seniors. This study aimed to analyze the consumer preferences of three age groups (youth, adults, and seniors) regarding edible gels as a promising category of food products that are easy to consume and represent an ideal matrix for the incorporation of health-promoting substances. 117 respondents participated in the survey. Differences in preferences between age groups were found for attributes such as sweetness and consistency of gels. The presence of turbidity, sour taste, and gel coloration were not considered as determining factors in respondents' preferences. In addition to sweetness and consistency, the presence of a bitter taste in the gels is important to consider. Dependencies were found between the age categories of responders and preferences for sweetness, consistency, and the presence of turbidity. The edible gel could be consumed independently or as part of a product/meal. The flavors that most suited the preferences of all three age groups were apple, strawberry, and raspberry.

Keywords: consumer preferences, consumer acceptance, seniors, edible gels, easy-to-swallow

ÚVOD

Populácia osôb vo veku 65 rokov a viac zaznamenáva bezprecedentný nárast a predstavuje najrýchlejšie rastúcu demografickú skupinu na svete. Predpokladá sa, že v roku 2050 dosiahne počet seniorov v tejto vekovej kategórii 1,6 miliardy, čo znamená, že každý šiesty človek na svete bude mať 65 rokov alebo viac (UN, 2023). Adekvátne výživa seniorov je kľúčová pre zachovanie zdravia, prevenciu ochorení súvisiacich s vyšším vekom, udržanie samostatnosti a kvality života. Je dôležité udržať vitalitu, zvýšiť celkovú kvalitu života seniorov

a zároveň minimalizovať chorobnosť a počet rokov prežitých v nemoci (Host et al., 2016; Calligaris et al., 2022).

Pri navrhovaní potravín pre starších ľudí, je nevyhnutné zohľadniť rôzne faktory vrátane fyziologických, psychologických, výživových a sociálno-ekonomických aspektov. Ide najmä

o vnútorné (správanie sa výrobku v tele) a vonkajšie (kontext, v ktorom sa potravina podáva a konzumuje) faktory (Aguilera et Covacevich, 2023). Fyziologické a patologické zmeny prebiehajúce v starnúcom organizme, ako sú choroby súvisiace s vyšším vekom, zmeny v trávení, vstrebávaní, žuvaní, prehltaní, ako aj zmeny v zmyslovom vnímaní, ovplyvňujú proces príjmu potravy u starších ľudí (Xie et al., 2023). Na riešenie fyziologických dysfunkcií a špecifických výživových potrieb, ktoré vznikajú počas starnutia, je potrebné vyvinúť zdravé potraviny, ktoré sú mäkké, bezpečné a ľahko sa prehltajú, pričom majú aj primeranú výživovú hodnotu a atraktívne senzorké vlastnosti (Gallego et al., 2022). Seniori by mali uprednostňovať potraviny s mäkkou a vlhkou konzistenciou, ktorá si vyžaduje minimálnu námahu pri žuvaní a umožňuje ľahké prehltanie. Naopak, mali by sa vyhýbať tvrdým, suchým, vláknitým, lepkavým a priľnavým potravinám, ktoré predstavujú vyššie riziko udusenía a vzniku rezíduí (Cichero, 2016). Potraviny pre seniorov tak možno vo všeobecnosti rozdeliť na zahustené tekutiny a potraviny s upravenou textúrou, ktoré zahŕňajú mäkké

potraviny, ako sú pyré a gély, ako aj tuhé potraviny, ktoré sú ľahko žuvateľné a rozpúšťajú sa v ústach (Aguilera et Covacevich, 2023). Okrem potravín s upravenou textúrou, ako aj potravín, ktoré sa ľahko prehltajú, v súčasnosti rastie dopyt po potravinách obsahujúcich biologicky aktívne látky. Väčšinou ide o potraviny so zvýšeným obsahom vlákniny, omega-3 mastných kyselín, fytoestrogénov, polyfenolov, karotenoidov, prebiotík, probiotík, synbiotík, rastlinných sterolov a stanolov (Jędrusek-Golińska et al., 2020). Vývoj potravín navrhnutých tak, aby boli ľahko žuvateľné a prehltateľné, obohatených o bioaktívne látky, predstavuje tak perspektívne riešenie na uspokojenie výživových potrieb starších ľudí a na podporu prevencie a liečby rôznych ochorení s vyšším výskytom u starších ľudí (Keršienė et al., 2020; Grochowicz et al., 2021; Lee et al., 2021; Korčok et al., 2023).

V priebehu posledného desaťročia došlo k nárastu záujmu spotrebiteľov o zloženie ich stravy, čo priamo ovplyvnilo spotrebu potravín (De Marchi et al., 2016). Preferencie spotrebiteľov sa neustále menia v reakcii na rôzne faktory (FAO, 2022), a prijateľnosť výrobku zo strany spotrebiteľov je vo všeobecnosti významným faktorom úspechu daného výrobku na trhu (Bogosavljević Jovanović a Radojičić, 2016; Popa a Jurcoane, 2012). Sensorická analýza a spotrebiteľský výskum sa v súčasnosti považujú za jeden z najužitočnejších nástrojov v rôznych fázach vývoja nového výrobku (Ruiz-Capillas a Herrero, 2021). V tomto kontexte pochopenie vyvíjajúcich sa požiadaviek starších ľudí a ich vzájomného prepojenia s potrebami spotrebiteľov v rôznych vekových skupinách je základnou úvodnou fázou pri vývoji spotrebiteľského sortimentu, ktorý uspokojí rastúcu potrebu ponuky vhodných potravín pre starších ľudí (Murphy a Vertrees, 2017).

Cieľom predkladanej štúdie bolo analyzovať preferencie spotrebiteľov v oblasti jedlých gélov, pričom výskum bol zameraný na skúmanie preferencií troch rôznych vekových kategórií respondentov.

MATERIÁL A METODIKA

Na zber údajov bol vytvorený dotazníkový prieskum pomocou softvéru Google Forms, ktorý sa zameriaval na názory spotrebiteľov týkajúce sa jedlých gélov a ich preferovaných vlastností počas konzumácie. Zber údajov bol uskutočnený v marci 2022. Respondenti boli na základe veku rozdelení do troch rôznych kategórií: mládež, dospelí a seniori. Dotazníkového prieskumu sa zúčastnilo 117 respondentov, z toho 7 % patrilo do skupiny mládeže (do 18 rokov), 80 % do skupiny dospelých (19–54 rokov) a 13 % do skupiny seniorov (55 rokov a viac).

Otázky v dotazníku možno rozdeliť do dvoch základných kategórií (tabuľka 1). Úvodná časť dotazníka je venovaná získaniu odpovedí týkajúcich sa atribútov jedlých gélov, ktoré zahŕňajú aspekty ako chuť (sladká, horká, kyslá), konzistencia a farba. Druhá časť dotazníka je zameraná na získanie informácií o preferovaných spôsoboch konzumácie (samostatne a/alebo ako súčasť iného výrobku/jedla), ako aj o preferenciách týkajúcich sa príchuťí jedlých gélov.

Získané údaje boli analyzované pomocou metód deskriptívnej štatistiky. Na zistenie štatisticky významných rozdielov medzi preferenciami jednotlivých vekových skupín bola použitá analýza ANOVA (Duncan a REGWQ). Rozdiely medzi hodnotami sa považovali za významné, keď vypočítaná p-hodnota bola väčšia ako hladina významnosti $\alpha = 0,05$. Na overenie existencie štatisticky významných závislostí medzi vekovými skupinami a jednotlivými preferenciami bol použitý chí-kvadrát test nezávislosti v súlade s formulovanými hypotézami. Závislosť bola považovaná za štatisticky významnú, ak p-hodnota bola nižšia ako hladina významnosti $\alpha=0,05$. Štatistické analýzy boli vykonané pomocou programu Microsoft Excel a XLSTAT (Addinsoft, 2022, New York, NY, USA).

Tabuľka 1 Charakteristika dotazníka na analýzu preferencií v oblasti jedlých gélov

č.	Otázka	Stupnica
1	Keď by som konzumoval gél, chcel by som aby bol sladký:	1 – nesladený 9 – veľmi sladký
2	Keď by som konzumoval gél, chcel by som aby mal konzistenciu:	1 – tekutú 9 – hustú
3	Vadila by Vám prítomnosť zákalu v géli?	1 – vôbec by mi nevadila 5 – veľmi by vadila
4	Vadilo by Vám, keby bol gél zafarbený?	1 – vôbec by mi nevadilo 5 – veľmi by vadilo
5	Vadila by Vám horká chuť v géli?	1 – vôbec by mi nevadila 5 – veľmi by vadila
6	Vadila by Vám kyslá chuť v géli?	1 – vôbec by mi nevadila 5 – veľmi by vadila
č.	Otázka	Odpovede
7	Vedeli by ste jedlý gél konzumovať samostatne, alebo radšej ako súčasť hotového výrobku / jedla (napr. plnka v koláči...)?	a.) Samostatne b.) Ako súčasť hotového výrobku / jedla c.) Môže byť aj samostatne aj ako súčasť výrobku / jedla Jablko, hruška, banán, ananás, mango, jahoda, malina, čučoriedka, kiwi, pomaranč, marhuľa .
8	Preferujem príchuť gélu (označte 3 možnosti):	

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky dotazníkového prieskumu ukázali, že existujú štatisticky významné rozdiely medzi kategóriami v hodnotení sladkosti ($p < 0,0001$) a konzistencie ($p = 0,004$) (tabuľka 2). Konkrétne dospeli a mládež uvádzajú, že by uprednostnili priemerne sladký jedlý gél (5,13–5,48), zatiaľ čo seniori uvádzajú, že by uprednostnili menej sladký gél (2,87). Podľa štúdií autorov De Graaf a Zandstra (1999) a Pellegrino et al. (2018) starší konzumenti uprednostňujú nižšie koncentrácie hladiny cukru vo vzorkách. Hoffman et al. (2016) konštatujú, že dochádza k výraznému poklesu preferencie sladkosti s vekom a tento trend zostáva stabilný počas celého života. Podobne aj pri konzistencii kategórie mládeže a dospelých uvádzajú, že by preferovali priemernú hustotu jedlého gélu (nie príliš tekutú a nie príliš hustú). Naopak, výsledky týkajúce sa demografickej skupiny seniorov naznačujú preferenciu skôr tekutej konzistencie gélu (3,53). Autori Park et al. (2022) uvádzajú, že obľuba mäkkých potravín u starších ľudí je ovplyvnená zdravotným stavom chrupu, pričom zlý zdravotný stav chrupu koreluje so zníženou aktivitou žuvacích svalov a tendenciou vyberať si mäkkšie potraviny.

Medzi ďalšími atribútmi nebol zistený štatisticky významný rozdiel na hladine významnosti $\alpha = 0,05$. Všetky tri vekové kategórie uvádzajú, že by im skôr nevadila prítomnosť zákalu v jedlom gély. Prítomnosť zafarbenia bola tiež hodnotená kladne alebo skôr kladne, nakoľko všetky tri vekové kategórie uviedli, že by im prítomnosť zafarbenia nevadila (1,50–1,87). Respondenti uviedli, že by im skôr vadila prítomnosť horkej chuti gélu (3,63–4,02), zatiaľ čo prítomnosť kyslej chuti vnímali skôr neutrálne (2,33–2,94). Prirodzená

averzia voči horkosti môže vyplývať zo vzťahu k prítomnosti toxických látok v potravinách (Pellegrino et al., 2018).

Tabuľka 2 Výsledky hodnotenia preferencií spotrebiteľov v oblasti jedlých gélov pre vybrané atribúty

Veková kategória	Sladkosť	Konzistencia	Zákal	Zafarbenie	Horká chuť	Kyslá chuť
Mládež	5,13 ^b ± 1,73	6,13 ^b ± 3,40	2,13 ^a ± 0,93	1,87 ^a ± 0,93	3,40 ^a ± 1,30	2,33 ^a ± 1,41
Dospelí	5,48 ^b ± 1,75	5,53 ^b ± 2,08	2,64 ^a ± 1,43	1,80 ^a ± 1,11	4,02 ^a ± 1,09	2,94 ^a ± 1,37
Seniori	2,87 ^a ± 1,51	3,53 ^a ± 2,47	2,00 ^a ± 1,19	1,50 ^a ± 1,36	3,63 ^a ± 1,30	2,63 ^a ± 0,98

Poznámka: a, b = skupiny v stĺpci s rôznymi hornými indexmi sa významne líšia pri $p \leq 0,05$.

Výsledky chí-kvadrát testu (χ^2) zameraného na testovanie závislosti medzi jednotlivými preferenciami a vekovými kategóriami sú zobrazené v tabuľke 3. V prípade prvých troch hypotéz bola vypočítaná p-hodnota nižšia ako hladina významnosti $\alpha=0,05$, čo znamená, že v tomto prípade bola zamietnutá hypotéza H0 a prijatá hypotéza Ha. Konkrétne, existovala závislosť medzi preferenciami a vekovými skupinami spotrebiteľov pri hodnotení sladkosti, konzistencie a prítomnosti zákalu. V ďalších prípadoch bola vypočítaná p-hodnota vyššia ako hladina významnosti α a bola prijatá H0. Tieto výsledky naznačujú, že neexistovala žiadna závislosť medzi vekovými kategóriami respondentov a ich preferenciami vzhľadom na prítomnosť zafarbenia, ako aj intenzitu horkej a kyslej chuti.

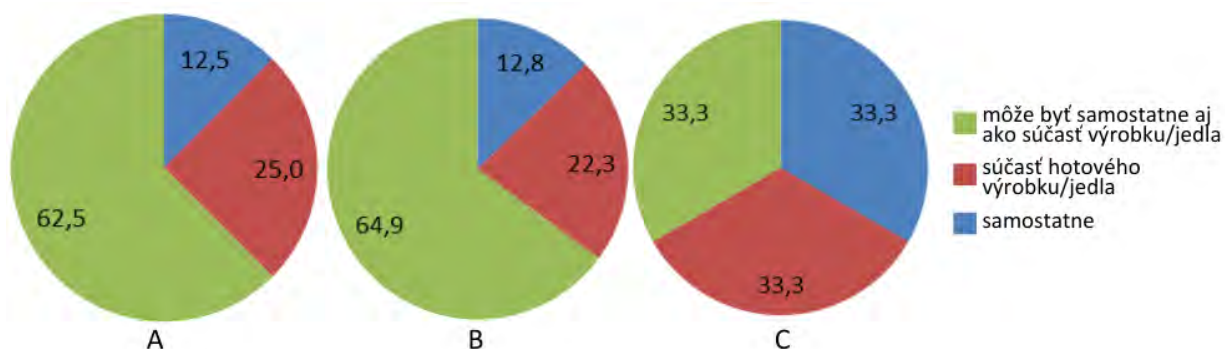
Tabuľka 3 Výsledky testovania existencie závislosti medzi preferenciami vlastností jedlého gélu a vekovými skupinami respondentov

Otázka	H0	Ha	χ^2	p-hod.
č.1	Neexistuje žiadna závislosť medzi preferenciami sladkosti gélu a vekovými skupinami respondentov.	Existuje závislosť medzi preferenciami sladkosti gélu a vekovými skupinami respondentov.	35,1	0,004
č.2	Neexistuje žiadna závislosť medzi preferenciami konzistencie gélu a vekovými skupinami respondentov.	Existuje závislosť medzi preferenciami konzistencie gélu a vekovými skupinami respondentov.	37,4	0,002
č.3	Neexistuje žiadna závislosť medzi preferenciami prítomnosti zákalu v géle a vekovými skupinami respondentov.	Existuje závislosť medzi preferenciou prítomnosti zákalu v géle a vekovými skupinami respondentov.	16,9	0,031
č.4	Neexistuje žiadna závislosť medzi preferenciami zafarbenia gélu a vekovými skupinami respondentov.	Existuje závislosť medzi preferenciami zafarbenia gélu a vekovými skupinami respondentov.	9,74	0,284
č.5	Neexistuje žiadna závislosť medzi preferenciami horkej chuti gélu a vekovými skupinami respondentov.	Existuje závislosť medzi preferenciami horkej chuti gélu a vekovými skupinami respondentov.	9,01	0,342
č.6	Neexistuje žiadna závislosť medzi preferenciami kyslej	Existuje závislosť medzi preferenciami kyslej chuti	5,06	0,751

chuti gélu a vekovými skupinami respondentov.

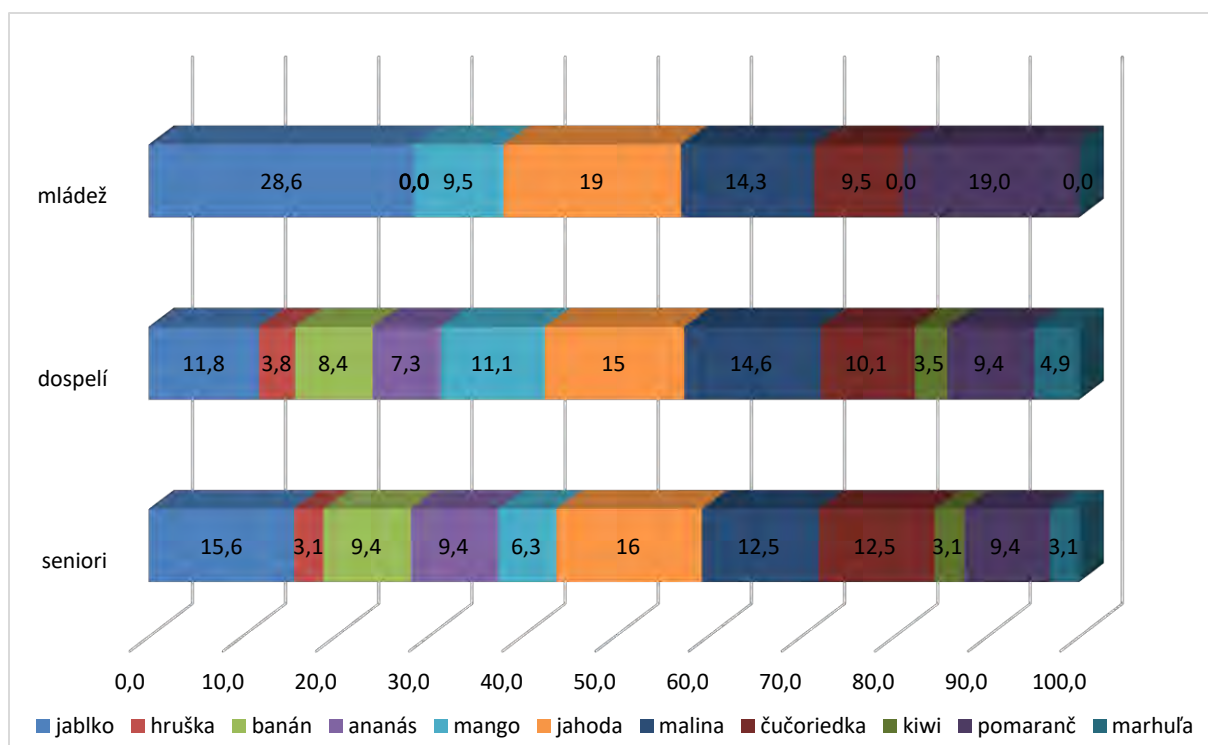
gélu a vekovými skupinami respondentov.

Ďalšou úlohou respondentov bolo zaznamenať preferencie týkajúce sa spôsobu konzumácie jedlého gélu, konkrétne, či by uprednostnili konzumáciu gélu samostatne, ako súčasť hotového výrobku / jedla alebo obidve možnosti. Väčšina (62,3 %) respondentov vo veku do 18 rokov v rámci demografickej skupiny mládeže vyjadrila preferenciu pre konzumáciu gélu samostatne alebo ako súčasť pripraveného výrobku alebo jedla. Samostatnú konzumáciu pritom uprednostnilo 12,5 % respondentov, zatiaľ čo 25 % respondentov vyjadrilo preferenciu kombinácie s hotovým výrobkom alebo jedlom (obrázok 1). Podobne aj v rámci demografickej skupiny dospelých vyjadrila výrazná väčšina respondentov náklonnosť k obom navrhovaným spôsobom konzumácie gélových výrobkov. Menšia časť respondentov uviedla, že uprednostňuje zakomponovanie jedlého gélu do hotových výrobkov alebo jedál (22,3 %), zatiaľ čo menšia časť si predpokladá konzumáciu jedlého gélu ako samostatného výrobku (12,8 %). V skupine seniorov prejavil rovnaký počet respondentov (33,33 %) záujem o každú z troch dostupných možností spotreby, čo naznačuje, že respondenti nepreferovali jednoznačne konkrétny spôsob konzumácie.



Obrázok 1 Preferovaný spôsob konzumácie (%) jedlých gélov podľa vekových kategórií respondentov (A – mládež; B – dospelí; C – seniori)

Respondenti boli následne požiadaní, aby vyjadrili svoje preferencie týkajúce sa príchutí jedlého gélu a z 11 možností vybrali 3 preferované príchute. Z výsledkov uvedených na obrázku 2 vyplýva, že mladší respondenti uprednostňovali príchute jablko, mango, jahoda, malina a kivi. Na druhej strane niektoré príchute, ako napríklad hruška, banán, čučoriedka, pomaranč a marhuľa, neboli mladšími respondentmi preferované. Autori Hoffman et al. (2016) konštatujú, že mladí ľudia, uprednostňujú čerešňovú, cukríkovú, kávovú, jahodovú, pomarančovú, jablkovú a škorovicovú príchut'. Medzi respondentami vo veku od 18 do 54 rokov boli najviac preferované príchute jahoda, malina a jablko, zatiaľ čo príchute kivi, hruška a marhuľa mali nižšiu obľúbenosť. Väčšina seniorov uprednostňovala príchute jablka a maliny, nasledované príchutami čučoriedky a maliny. Podľa Schiffman (2000) pridanie príchutí v ideálnom množstve prispôbenom starším osobám (t.j. zvýraznenie chuti) môže zvýšiť pôžitok z jedla a pozitívne ovplyvniť jeho konzumáciu.



Obrázok 2 Preferencie príchuťí jedlých gélov (%) podľa vekových kategórií

ZÁVER

Vzhľadom na pretrvávajúce demografické zmeny je nevyhnutné zaoberať sa vývojom produktov pre špecifické skupiny spotrebiteľov, ako sú napríklad starší ľudia. S pribúdajúcim vekom sa ľudia často stretávajú s problémami súvisiacimi s prehĺtaním, v dôsledku zmien svalovej sily a koordinácie v oblasti ústnej dutiny a hltana. Je nevyhnutné vyvinúť potraviny, ktoré sú nielen výživné, ale aj bezpečné a zároveň jednoduché na konzumáciu. Okrem fyzikálnych vlastností a textúry je nevyhnutné zohľadniť aj sensorické aspekty, ako je chuť, vôňa a vzhľad, aby sa zachovala atraktivnosť a príťažlivosť ľahko požívateľných potravín pre staršiu populáciu. Predkladaná štúdia poukázala na existenciu štatisticky významných rozdielov medzi jednotlivými vekovými skupinami (mládežou, dospelými a seniormi) vo vnímaní sladkosti a konzistencie jedlých gélov. Výsledky naznačujú, že respondenti rôzneho veku mali rozdielne preferencie a názory na určité vlastnosti jedlých gélov, čo má potenciálne významný vplyv na ich popularitu a prijatie na trhu. V rámci skúmaných preferencií bolo poukázané na existenciu štatisticky významnej závislosti medzi vekovými kategóriami respondentov a ich preferenciami v oblasti sladkosti, konzistencie a prítomnosti zákalu v gélovom produkte. Uvedené faktory ovplyvňujú preferencie spotrebiteľov a môžu byť dôležité pri navrhovaní a marketingu výrobkov. Naopak, v prípade farby, horkej a kyslej chuti gélu nebola zistená štatisticky významná závislosť vo vzťahu k vekovým kategóriám respondentov. Väčšina spotrebiteľov prejavila pripravenosť konzumovať gélový výrobok samostatne alebo ako súčasť ďalších potravinárskych výrobkov alebo jedál. Táto flexibilita poukazuje na potenciálnu prispôsobivosť a atraktivnosť gélového výrobku v rôznych kontextoch spotreby. Príchute ako jablko, jahoda a malina predstavovali najčastejšie preferované príchute vo všetkých troch vekových kategóriách. Výsledky tejto štúdie poskytujú základné vstupné dáta pre dizajn a optimalizáciu jedlých gélov podľa preferencií cieľovej skupiny spotrebiteľov. Do budúceho výskumu odporúčame zvýšiť počet zúčastnených respondentov.

LITERATÚRA

- Aguilera, J. M., Covacevich, L. 2023. Designing foods for an increasingly elderly population: a challenge of the XXI century. In *Current Opinion in Food Science* [online], vol. 51, no.101037 [cit. 2024-01-31]. ISSN: 2214-8000. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2023.101037>.
- Bogosavljević Jovanović, M., Radojičić, Z. 2016. Consumer Behaviour in the New Products Management in Serbia. Management. In *Journal for Theory and Practice of Management* [online], vol. 21, no. 79, pp. 27–36 [cit. 2024-02-03]. Dostupné na: <https://doi.org/10.7595/MANAGEMENT.FON.2016.0012>.
- Calligaris, S., Moretton, M., Melchior, S., Mosca, A. C., Pellegrini N., Anesea M. 2022. Designing food for the elderly: the critical impact of food structure. In *Food & Function* [online], vol. 13, pp. 6467–6483 [cit. 2024-02-01]. Dostupné na: DOI: 10.1039/d2fo00099g.
- Cichero, J. A. Y. 2016. Adjustment of Food Textural Properties for Elderly Patients. In *Journal of Texture Studies* [online], vol. 47, no. 4, pp. 277–283 [cit. 2024-02-04]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1111/jtxs.12200>.
- De Graaf, C., Zandstra, E. H. 1999. Sweetness Intensity and Pleasantness in Children, Adolescents, and Adults. In *Physiology & Behavior* [online], vol. 67, no. 4 [cit. 2024-02-09]. Dostupné na: [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(99\)00090-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(99)00090-6).
- De Marchi, E., Caputo, V., Nayga, R. M., Banterle, A. 2016. Time preferences and food choices: Evidence from a choice experiment. In *Food Policy* [online], vol. 62, pp. 99–109 [cit. 2024-02-01]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2016.05.004>.
- FAO. 2022. *Thinking about the future of food safety*. Rome: FAO, 158 s. ISBN 978-92-5-135783-5. Dostupné na: <https://doi.org/10.4060/cb8667en>.
- Gallego, M., Barat, J. M., Grau, R., Talens, P. 2022. Compositional, structural design and nutritional aspects of texture-modified foods for the elderly. In *Trends in Food Science & Technology* [online], vol. 119, pp. 152–163 [cit. 2024-02-05]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.008>.
- Grochowicz, J., Fabisiak, A., Ekielski, A. 2021. Importance of physical and functional properties of foods targeted to seniors. In *Journal of Future Foods* [online], vol. 1, no. 2, pp. 146–155 [cit. 2024-02-02]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.01.004>.
- Hoffman A.C., Salgado R.V., Dresler C., Faller, R.W., Bartlett, Ch. 2016. Flavour preferences in youth versus adults: a review. In *Tobacco Control* [online], vol. 25, pp. 32–39 [cit. 2024-02-09]. Dostupné na: DOI: 10.1136/tobaccocontrol-2016-053192.
- Host, A., McMahon, A. T., Walton, K., Charlton, K. 2016. Factors Influencing Food Choice for Independently Living Older People—A Systematic Literature Review. In *Journal of Nutrition in Gerontology and Geriatrics* [online], vol. 35, no. 2, pp. 67–94 [cit. 2024-02-01]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1080/21551197.2016.1168760>
- Jędrusek-Golińska, A., Górecka, D., Buchowski, M., Wieczorowska-Tobis, K., Gramza-Michałowska, A., Szymandera-Buszka, K. 2020. Recent progress in the use of functional foods for older adults: A narrative review. In *Comprehensive reviews in food science and food safety* [online], vol. 19, pp. 835–856 [cit. 2024-01-31]. ISSN:1541-4337. Dostupné na: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12530>.
- Keršienė, M., Jasutienė, I., Eisinaite, V., Pukalskienė, M., Venskutonis, P. R., Damulevičienė, G., Knašienė, J., Lesauskaitė, V., Leskauskaitė, D. 2020. Development of a high-protein yoghurt-type product enriched with bioactive compounds for the elderly. In *LWT* [online], vol. 131 [cit. 2024-02-03]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109820>.
- Korčok, M., Calle J., Veverka, M., Vietoris, V. 2023. Understanding the health benefits and technological properties of β -glucan for the development of easy-to-swallow gels to guarantee food security among seniors. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online], vol. 63, no. 33 [cit. 2024-02-03]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2093325>.
- Lee, C. G., Shim, Y.Y., Reaney, M. J. T., Chang, H. J. 2021. Food Puree for Seniors: The Effects of XanFlax as a New Thickener on Physicochemical and Antioxidant Properties. In *Foods* [online], vol. 10, no. 1100 [cit. 2024-02-01]. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/foods10051100>.
- Murphy, C., Vertrees, R. 2017. Sensory functioning in older adults: relevance for food preference. In *Current Opinion in Food Science* [online], vol. 15, pp. 56–60 [cit. 2024-02-04]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.05.004>.
- Park, Y. S., Hong, H. P., Ryu, S. R., Lee S., Shin, W. S. 2022. Effects of textured food masticatory performance in older people with different dental conditions. In *BMC Geriatrics* [online], vol. 22, no. 384 [cit. 2024-02-05]. Dostupné na: <https://bmcgeriatr.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12877-022-03064-w>.
- Pellegrino, R., Sorokowska, A., Marczak, M., Niemczyk, A., Butovskaya, M., Huancad, T., Sorokowski, P. 2018. Mapping sweetness preference across the lifespan for culturally different societies. In *Journal of Environmental Psychology* [online], vol. 58, pp. 72–76 [cit. 2024-02-10]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.jenvp.2018.07.012>.

Popa, M. E., Jurcoane, A. 2012. Consumer behaviour: Determinants and trends in novel food choice. In McElhatton, A., do Amaral Sobral, P. J., *Novel Technologies in Food Science: Their Impact on Products, Consumer Trends and the Environment*. New York: Springer, pp. 137–156. ISBN 978-1-4419-7880-6.

Ruiz-Capillas, C., Herrero, A. M. 2021. Sensory Analysis and Consumer Research in New Product Development. In *Foods* [online], vol. 10, no. 582 [cit. 2024-02-02]. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/FOODS10030582>.

Schiffman, S. S. 2000. Intensification of Sensory Properties of Foods for the Elderly. In *The Journal of Nutrition* [online], vol. 130, no. 4, pp. 927S–930S [cit. 2024-02-09]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1093/jn/130.4.927S>.

UN. 2023. *Leaving No One Behind In An Ageing World; World Social Report 2023*. United Nations 2023, pp. 161. ISBN 978-92-1-130458-9.

Xie, Y., Liu, Q., Zhang, W., Yang, F., Zhao, K., Dong, X., Prakash, S., Yuan, Y. 2023. Advances in the Potential Application of 3D Food Printing to Enhance Elderly Nutritional Dietary Intake. In *Foods* [online], vol. 12, no. 1842 [cit. 2024-02-04]. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/foods12091842>.

Pod'akovanie: Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-20-0078 "Vývoj potraviny a aplikácie na báze jedlého gélu v cieľovom segmente starnúcej populácie".

Kontaktná adresa: Melina Korčok, Ing. Ústav potravinárstva, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: xkorcok@uniag.sk

STANOVENÍ TĚKAVÝCH LÁTEK ŘEPKOVÝCH OLEJŮ DETERMINATION OF VOLATILE COMPOUNDS IN RAPESEED OILS

Vojtěch Kružík, Anna Zelenková, Helena Čížková, Aleš Rajchl

Abstract: Rapeseed oil is popular among consumers due to its nutritional and sensory properties. Volatile compounds create the specific aroma of these oils, but they can also cause negative defects. In this study, the volatile compounds of rapeseed oils produced under laboratory conditions and commercially produced products were compared. The samples differed in type of variety and technological processing. A total of 24 samples of laboratory production and 11 commercial oils were analysed. Large differences in the volatile profile were found between the extracted and pressed oils. Significant differences were observed in the representation of 3-methyl-2-butenitrile, hexanal, 5-cyano-1-pentene and octanal. It was also confirmed that the type of variety used significantly influences the final spectrum of volatile compounds.

Keywords: rapeseed oil; volatile compound; variety; processing; gas chromatography

ÚVOD

Řepkový olej patří mezi nejčastěji produkované oleje a jeho obliba mezi spotřebiteli neustále narůstá. Tento olej je žádaný především díky svému složení mastných kyselin, obsahem bioaktivních složek a specifickým těkavým sloučeninám. Produkce řepkového oleje hraje významnou roli v zemědělské produkci. Klimatické podmínky České republiky jsou pro pěstování řepky olejky příznivé.

Těkavé sloučeniny řepkových olejů určují jeho charakteristické aroma a senzorycké vlastnosti. Jejich význam závisí na koncentraci a senzoryckém prahu vnímání. Těkavé sloučeniny odpovídají odrůdě, způsobu zpracování a skladování oleje. K jejich změnám dochází vlivem enzymatických reakcí, oxidací mastných kyselin, degradací glukosinolatů či Maillardovou reakcí (Zhang et al. 2019).

Oleje nižší kvality mohou být typické negativními přípachy, které se senzorycky popisují jako štiplavé, zatuchlé či sirné aroma. Tyto přípachy způsobují nejčastěji sloučeniny obsahující síru (dimethylsulfid, dimethyltrisulfid apod.), které vznikají degradací glukosinolatů (Zhou et al. 2018).

Tato studie je zaměřena na charakterizaci těkavých látek řepkových olejů produkovaných v České republice. Hlavní pozornost je věnována vlivu technologického zpracování a rozdílům mezi jednotlivými hybridními odrůdami.

MATERIÁL A METODIKA

Analýza těkavých látek byla provedena na laboratorně vyrobených surových řepkových olejích (ze semen hybridních odrůd), které byly rozděleny do následujících skupin: 1) oleje lisované za studena (LZS); 2) oleje lisované za tepla (LZT); 3) oleje extrahované z výlisků po teplém šnekovém lisování pomocí *n*-hexanu. Celkem bylo analyzováno 8 odrůd.

Druhou skupinou analyzovaných vzorků byly řepkové oleje průmyslové výroby (výrobce Fabio Produkt s.r.o., Viterra Czech s.r.o.). Tyto vzorky byly za průmyslově užívaných podmínek lisovány na šnekových lisech za tepla/studena a dále byla použita extrakce pomocí *n*-hexanu. Označení a specifikace všech měřených vzorků je uvedena v Tabulce 1 a 2.

Profil těkavých látek byl stanoven pomocí plynové chromatografie s hmotnostním detektorem (GC/MS). Pro izolaci sloučenin byla použita technika SPME (vlákno DVB/CAR/PDMS).

Tabulka 1 Seznam analyzovaných vzorků řepkových olejů (průmyslová výroba; Raf – rafinovaný olej)

Výrobce	Označení	Typ oleje
Fabio Produkt s.r.o.	A	Surový olej
	1A	Raf - vyšší vakuum
	2A	Raf - před sušením AMA filtru
	3A	Raf - po sušení AMA filtru
	4A	Raf - snížení teploty vyvíječe páry
	B	Surový olej
	1B	Raf - za filtrem neodkyselený
	2B	Raf - zkouška vakua
	3B	Raf - ubrání hlinky
Viterra Czech s.r.o.	Řepkový olej	Extrahovaný olej
		Rafinovaný olej

Tabulka 2 Seznam analyzovaných vzorků řepkových olejů (laboratorní výroba ze semen hybridních odrůd)

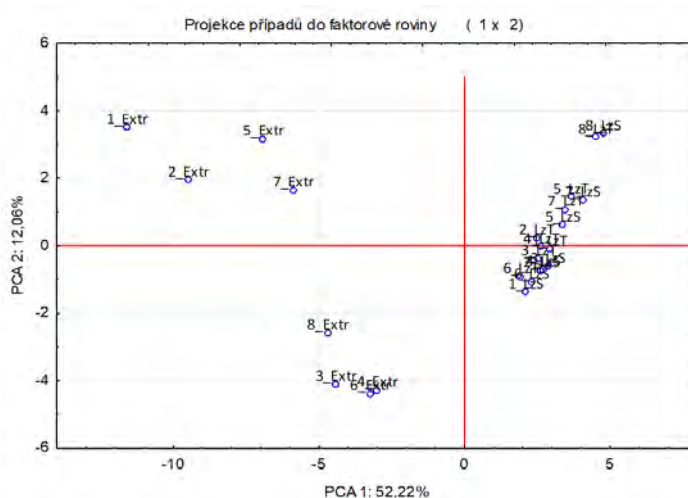
Výrobce	Označení	Typ oleje
Oleje lisované ze semen dodané ÚKZÚZ (výroba VŠCHT Praha)	RAW 1228-050	1 Extrahovaný
		1 Lisovaný za tepla
		1 Lisovaný za studena
	OP-BN- 72	2 Extrahovaný
		2 Lisovaný za tepla
		2 Lisovaný za studena
	Ivanka SG- C48916	3 Extrahovaný
		3 Lisovaný za tepla
		3 Lisovaný za studena
	Keltor	4 Extrahovaný
		4 Lisovaný za tepla
		4 Lisovaný za studena
	Aurelia	5 Extrahovaný
		5 Lisovaný za tepla
		5 Lisovaný za studena
	0EW0275	6 Extrahovaný
		6 Lisovaný za tepla
		6 Lisovaný za studena
	Ocelot	7 Extrahovaný
		7 Lisovaný za tepla
		7 Lisovaný za studena
	DK Exlibris	8 Extrahovaný
		8 Lisovaný za tepla
		8 Lisovaný za studena

VÝSLEDKY A DISKUZE

Získaná spektra těkavých látek byla nejprve zpracována pomocí cílené analýzy sloučenin. Ve vzorcích řepkových olejů bylo celkem identifikováno 44 těkavých sloučenin. Nejvíce těkavých látek (vyjádřeno jako suma ploch 44 sloučenin) obsahovala skupina extrahovaných olejů ($137106 - 307968 \times 10^3$). Menší množství těkavých sloučenin obsahovaly

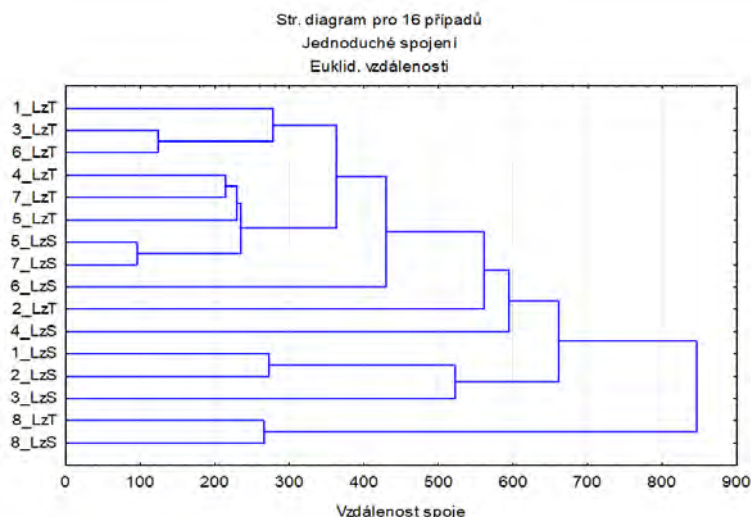
vzorky lisované za studena ($2308 - 5046 \times 10^3$) a nejméně pak oleje lisované za tepla ($1955 - 3706 \times 10^3$). V případě extrahovaných vzorků ovlivnily celkové sumy ploch i vyskytující se rezidua rozpouštědel (např. pentan, 2-methylpentan, 3-methylpentan, hexan, methylcyklopentan, cyklohexan).

Celkový profil těkavých látek byl zpracován pomocí analýzy hlavních komponent PCA (program Statistica 12). Jako proměnné sloužily identifikované sloučeniny (celkem 44), které byly charakterizovány svými plochami (plocha/1000). Umístění vzorků v prostoru první a druhé hlavní komponenty je uvedeno v diagramu komponentního skóre (Obrázek 1.). První dvě hlavní komponenty popisují celkově 64 % variability dat. Z diagramu je zřejmá největší odlehlost extrahovaných vzorků (záporné hodnoty PCA 1). Tato skutečnost byla dána především výskytem sloučenin pocházejících z extrakčních činidel.



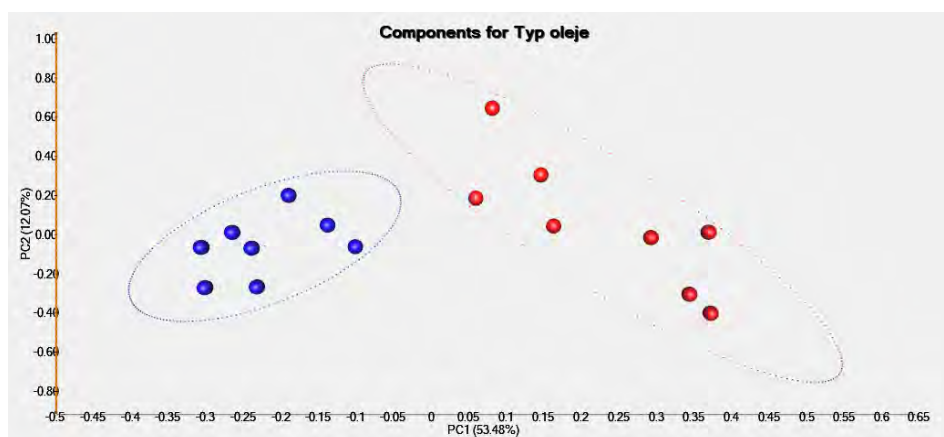
Obrázek 1 Variabilita vzorků řepkových olejů zhodnocená pomocí analýzy hlavních komponent (PCA; diagram komponentního skóre pro 1. a 2. hlavní komponentu), vzorky jsou specifikovány 44 těkavými sloučeninami

Kromě analýzy hlavních komponent byla pro zhodnocení profilů těkavých látek použita také shluková analýza. Pro zpracování byla vyloučena nejvíce odlehlá skupina extrahovaných olejů. Dendrogram olejů lisovaných za tepla a za studena je znázorněn na Obrázku 2. Na diagramu je vidět podobnost olejů lisovaných za tepla (LZT) z odrůd 1, 2, 3, 4, 5, 6 a 7. S těmito vzorky mají značnou podobnost 2 oleje lisované za studena (5_LZS a 7_LZS). Nejvíce odlišná skupina je tvořena vzorky pocházejícími z odrůdy 8. Tyto vzorky byly specifické vyšším zastoupením těkavých látek jako je hexanal, 1-hexanol, heptanal a oktanal.



Obrázek 2 Dendrogram olejů lisovaných za tepla a za studena (vzorky charakterizovány 44 těkavými sloučeninami)

Druhým způsobem zpracování dat byla necílená analýza. Pro zpracování dat byl využit software ChromSpace obsahující nástroj ChromCompare+. Na základě předchozích výstupů byly porovnávány pouze oleje lisované za tepla a oleje lisované za studena. Výstup analýzy hlavních komponent získaný tímto nástrojem je uveden na Obrázku 3. Na diagramu jsou zřetelně oddělené vzorky olejů lisované za tepla (záporné hodnoty PCA 1) a oleje lisované za studena (kladná hodnota PCA 1). Obecně lze u vzorků pozorovat skutečnost, že zpracováním za tepla dochází k poklesu intenzity těkavých látek. Významný vliv na profil těkavých látek má také použitá odrůda, která individuálně vykazuje specifické vlastnosti.



Obrázek 3 Analýza hlavních komponent PCA (diagram komponentního skóre pro 1. a 2. hlavní komponentu) získaná pomocí softwaru ChromCompare+ pro vzorky olejů lisovaných za studena (LZS, červeně) a vzorky lisované za tepla (LZT, modře)

Vedle laboratorně vyrobených vzorků byla analyzována také skupina řepkových olejů průmyslové výroby. Extrahované oleje obsahovaly větší zastoupení těkavých látek a také zbytky po extrakčním rozpouštědle (hexan, methylcyklopentan, 3-methyl-butenenitril a 5-kyano-1-penten) v porovnání s rafinovanými oleji. Rafinované oleje neobsahovaly 3-methyl-2-butenenitril a 5-kyano-1-penten. Bylo zjištěno, že 3-methyl-2-butanenitril a 5-kyano-1-penten

jsou typické látky řepky, které vznikají termickou/enzymatickou degradací glukosinolátů. Jejich vliv na finální sensorické vlastnosti řepkového oleje nejsou ještě zhodnoceny, pravděpodobně mohou způsobovat jejich negativní pachutě. Do oleje se mohou dostávat extrakčním krokem, ale následnou rafinací jsou odstraněny. Porovnání vybraných látek pro všechny analyzované oleje je uvedeno v Tabulce 3. V tabulce je možné vidět eliminaci typických sloučenin (hexanal, oktanal) pro rostlinné oleje během rafinace. Uvedené sloučeniny jsou specifické pro surové oleje.

Tabulka 3 Porovnání vybraných těkavých látek všech analyzovaných vzorků (hodnoty plocha píku/1000; Raf – rafinovaný olej)

Výrobce	Označení	Typ oleje	Hexan	3-Methyl-2-butenitril	Hexanal	5-Kyano-1-penten	Oktanal
Fabio Produkt s.r.o.	A	Surový olej	97	121	722	59	22
	1A	Raf - vyšší vakuum	29	0	111	0	0
	2A	Raf - před sušením AMA filtru	17	0	66	0	0
	3A	Raf - po sušení AMA filtru	25	0	94	0	0
	4A	Raf - snížení teploty vyvíječe páry	28	0	110	0	0
	B	Surový olej	101	133	760	74	26
	1B	Raf - za filtrem neodkyselený	92	107	1085	73	28
	2B	Raf - zkouška vakua	21	0	104	0	0
	3B	Raf - ubrání hlínky	14	0	93	0	0
Viterra Czech s.r.o.	Řepkový olej	Extrahovaný olej	2444	9739	77	26968	22
		Rafinovaný olej	77	0	0	0	0
Oleje lisované ze semen dodané ÚKZÚZ (výroba VŠCHT Praha)	RAW 1228-050	1_ Extrahovaný	96769	0	23	17	0
		1_ Lisovaný za tepla	1006	73	210	30	2
		1_ Lisovaný za studena	2302	0	99	0	0
	OP-BN-72	2_ Extrahovaný	81436	0	28	24	0
		2_ Lisovaný za tepla	899	24	241	0	8
		2_ Lisovaný za studena	2077	0	171	0	5
	Ivanka SG-C48916	3_ Extrahovaný	98273	0	36	20	0
		3_ Lisovaný za tepla	886	12	288	0	5
		3_ Lisovaný za studena	2509	0	215	0	3
	Keltor	4_ Extrahovaný	74713	0	37	25	0
		4_ Lisovaný za tepla	569	5	483	0	5
		4_ Lisovaný za studena	1493	0	402	0	3
	Aurelia	5_ Extrahovaný	44457	0	16	27	0
		5_ Lisovaný za tepla	723	16	516	0	9
		5_ Lisovaný za studena	625	0	464	0	6
	0EW027 5	6_ Extrahovaný	91220	0	39	20	0
		6_ Lisovaný za tepla	849	28	294	6	0
		6_ Lisovaný za studena	497	0	111	0	0
	Ocelot	7_ Extrahovaný	42543	0	88	117	0
		7_ Lisovaný za tepla	638	6	527	0	5
		7_ Lisovaný za studena	674	0	496	0	8
	DK Exlibris	8_ Extrahovaný	94534	0	30	20	0
		8_ Lisovaný za tepla	797	14	1344	0	34
		8_ Lisovaný za studena	689	0	1408	0	26

ZÁVĚR

Celkem bylo v analyzovaných řepkových olejích identifikováno 44 sloučenin. Profily těkavých látek se lišily v závislosti na původu (odrůda) a způsobu zpracování. Nejvíce těkavých sloučenin se vyskytovalo v extrahovaných olejích. Menší množství bylo zjištěno v olejích lisovaných za studena, nejchudší profil vykazovaly oleje lisované za tepla. Během tepelného záhřevu tedy dochází k významným ztrátám těkavých látek. V případě extrahovaných olejů byl profil těkavých látek ovlivněn i výskytem reziduálních sloučenin pocházejících z použitého rozpouštědla. Mezi jednotlivými odrůdami olejů byla pozorována značná variabilita. V případě průmyslových vzorků byly nejvíce odlišné profily surových olejů, ostatní vzorky měly značnou podobnost. Bylo potvrzeno, že během rafinace dochází ke ztrátám typických sloučenin pro rostlinné oleje (hexanal, oktanal aj.).

LITERATURA

- Matheis, K., Granvogl, M. 2016. Characterisation of the key aroma compounds in commercial native cold-pressed rapeseed oil by means of the Sensomics approach. In *European Food Research and Technology*, vol. 242, pp. 1565–1575.
- Statistica 12.0. 2011: StatSoft Inc., Tulsa, Oklahoma, USA. Dostupné online: <http://www.statsoft.com/> (accessed 2023-11-27).
- SepSolve Analytical. 2023. ChromSpace a ChromCompare+ (USB). Automatický vyhodnocovací software pro GCxMS.
- Zelenková, A. 2023. Chromatografické stanovení senzoričky aktivních látek v potravinách. Bakalářská práce, VŠCHT Praha.
- Zhou, Q., Liu, S., Liu, Y., Song, H. 2019. Comparative Analysis of Volatiles of 15 Brands of Extra-Virgin Olive Oils Using Solid-Phase Micro-Extraction and Solvent-Assisted Flavour Evaporation. In *Molecules*, vol. 24, pp. 1512.
- Zhang, W., Cao, X., Liu, S.Q. 2019. Aroma modulation of vegetable oils - a review. In *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 60, pp. 1538-1551.
- Zhou, Q., Tang, H., Jia, X., Zheng, C., Huang, F., Zhang, M. 2018. Distribution of glucosinolate and pungent odours in rapeseed oils from raw and microwaved seeds. In *Int. J. Food Prop.*, vol. 21, pp. 2296–2308.

Poděkování: Tato práce vznikla s finanční podporou Národní agentury pro zemědělský výzkum Ministerstva zemědělství České republiky při řešení projektu QK22010135 (Nové trvale udržitelné způsoby zpracování a využití tuzemských olejnin) v programu ZEMĚ.

Kontaktní adresa: Ing. Vojtěch Kružík, Ph.D., Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha 6 – Dejvice, Technická 5, 166 28, e-mail: kruzikv@vscht.cz

APLIKÁCIA EXTRAKTOV Z LIEČIVÝCH RASTLÍN DO OVOCNÝCH ŠTIAV S CIEĽOM ZVÝŠENIA ICH SENZORICKEJ A NUTRIČNEJ KVALITY

APPLICATION OF EXTRACTS FROM MEDICINAL PLANTS TO FRUIT JUICES IN ORDER TO INCREASE THEIR SENSORY AND NUTRITIONAL QUALITY

Andrea Mendelová, Eubomír Mendel, Miriam Solgajová, Ján Mareček

Abstract: The aim of the work was to assess the effect of the addition of extracts from medicinal plants on the change in the content of total polyphenols and the sensory quality of apple and grape juice. The work used extracts of *Mentha piperita*, *Lavandula angustifolia*, *Melissa officinalis*, *Calendula officinalis*, *Sambucus nigra*, *Tilia cordata* in the amount of 10% of the extract prepared by extracting 10 g of the dried drug in 400 ml of water. We found that extracts from *Melissa officinalis* and *Mentha piperita* showed the highest content of total polyphenols, and fruit juices with the addition of extracts from the given medicinal plants also achieved the highest content of total polyphenols. The addition of medicinal plant extracts also showed a positive effect on the stability of total polyphenols in fruit juices during cold storage. The addition of *Lavandula angustifolia* extract was the most effective in this regard. From the sensory point of view, the addition of *Melissa officinalis* extract was the best rated in apple juice and *Sambucus nigra* extract in grape juice.

Keywords: functional drinks, apple juice, grape juice, polyphenols, medicinal plants

ÚVOD

V sektore výroby ovocných a zeleninových štiav sa v súčasnosti v dôsledku zmeny životného štýlu prejavuje trend spotrebiteľov uprednostňovať zdravé výrobky. Výrobcovia na celom svete zavádzajú do výroby množstvo nových a inovovaných výrobkov, ktorých cieľom je stimulovať predaj prostredníctvom inovácií príchuť, znižovania množstva kalórií a funkčných benefitov pre zdravie konzumentov (Mihalev et al., 2018; Mushtaq et al., 2018).

Funkčné potraviny vrátane nápojov sú jednou z najzaujímavejších oblastí výskumu a inovácií. Vedci skúmajú rôzne funkčné prísady a ich prospešné vlastnosti, ako aj možné výrobné procesy, aby vyrobili nové alebo vylepšili existujúce druhy nápojov (Nazir et al., 2019; Turkmen et al., 2019). Funkčné nápoje sú obohatené o vitamíny, minerálne látky, aminokyseliny, vlákninu či antioxidanty (Ahmad et Ahmed, 2019). Výtázky z bylín, liečivých rastlín a korenín sa používajú na zlepšenie sensorických vlastností nápojov, atraktivity pre konzumentov a zároveň majú podľa druhu použitej rastliny rôzne terapeutické vlastnosti, ako sú antioxidačné, protizápalové, antidiabetické, antihypertenzívne alebo antimikrobiálne účinky (El-Sayed et Youssef, 2019). Ou et al. (2019) uvádzajú, že nápoje na báze liečivých a aromatických rastlín, alebo s ich prídavkami sú najdostupnejšími zdravými prospešnými výrobkami, ktoré obsahujú biologicky aktívne látky rastlinného pôvodu.

Cieľom práce bolo pripraviť jablkovú a hroznovú šťavu fortifikovanú o vybrané extrakty z liečivých rastlín a zhodnotiť sensorickú a nutričnú kvalitu pripravených ovocných štiav.

MATERIÁL A METODIKA

Ovocie a byliny pochádzali z Botanickej záhrady SPU v Nitre. Ovocie bolo po zbere očistené, hrozno odstopkované, podrvené a vylisované na košovom hydraulickom lise a šťava odkalená sedimentáciou. S cieľom zlepšenia stability oxilabilných zložiek sa v jednom variante získaná drť navyše ošetrila kyselinou askorbovou v množstve 0,2 g.kg⁻¹ základnej suroviny.

Extrakt z liečivých rastlín (mäta pieporná - vňať, levanduľa úzkolistá - kvet, medovka lekárska - vňať, nechtík lekársky - kvet, baza čierna - kvet a lipa malolistá - kvet) sa pripravili extrakciou 10 g sušenej drogy v 400 ml vody s teplotou 80 °C počas 10 minút. Výslednú fortifikovanú šťavu sme pripravili zmiešaním šťavy (90 %) a bylinného extraktu (10 %). Podiel extraktu sa určil predbežnou senzoričkou skúškou.

V extraktoch liečivých rastlín, v ovocných šťavách a v ovocných šťavách obohatených bylinnými extraktmi sa hodnotil obsah celkových polyfenolov spektrofotometrickou metódou s použitím Folin-Ciocalteu činidla. Senzorická kvalita bola hodnotená 9-bodovou stupnicou. Hodnotitelia sledovali vôňu, chuť, dochuť a celkový dojem ovocných štiav.

Pripravené ovocné šťavy sa hodnotili v čerstvom stave a tiež po chladiarenskom skladovaní pri teplote 5 °C počas 48 hodín.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Celkový obsah polyfenolov v ovocných šťavách bez prídavku liečivých rastlín bol nižší v hroznovej šťave (423,49 mg GAE.l⁻¹) ako v jablkovej šťave (613,00 mg GAE.l⁻¹). Najvyššie hodnoty obsahu celkových polyfenolov zo skupiny extraktov vykazovali extrakt z medovky lekárskej (2091,65 mg GAE.l⁻¹) a extrakt z mäty piepornej (1480,79 mg GAE.l⁻¹). Tieto dva bylinné extrakt preukazovali oveľa vyššie hodnoty v porovnaní s ostatnými extraktami. Najnižšiu hodnotu vykazoval extrakt z lipy (618,24 mg GAE.l⁻¹). Celkový obsah polyfenolov v extraktoch z liečivých rastlín klesal v nasledovnom poradí: medovka lekárska>mäta pieporná>baza čierna (950,45 mg GAE.l⁻¹) >nechtík lekársky (718,24 mg GAE.l⁻¹)>levanduľa úzkolistá (679,67 mg GAE.l⁻¹)>lipa malolistá.

Islam et al. (2016) uvádzajú, že v jablkovej šťave sa nachádza veľké množstvo polyfenolov. Najviac zastúpenými polyfenolmi sú kyselina chlorogénová (4,04 mg.100 g⁻¹) a floridzín (1,79 mg.100 g⁻¹). Množstvo týchto zlúčenín môže byť však ovplyvnené odrodou, spôsobom pestovania, klimatickými podmienkami, mikrobiologickou kvalitou a stupňom zrelosti. Podľa autorov sa prítomné fenolové zlúčeniny zúčastňujú na prevencii kardiovaskulárnych ochorení, rakoviny, cukrovky a obezity.

Araujo et al. (2019) porovnávali prítomnosť antioxidačne pôsobiacich fenolov vo vybraných druhoch rastlín z čeľade *Lamiaceae*. V štúdiu hodnotil extrakt *Melissa officinalis*, *Mentha sp.*, *Ocimum basilicum*, *Plectranthus barbatus* a *Rosmarinus officinalis*. Autori zistili, že všetky druhy obsahovali vysoké množstvo antioxidačne pôsobiacich látok, z ktorých prevládali predovšetkým fenolové zlúčeniny, ako sú flavonoidy, triesloviny a kumaríny. Autori ďalej poukazujú na to, že izolácia týchto zlúčenín z prírodných zdrojov by mohla viesť k výrobe prírodných antioxidantov so širokým použitím.

Podľa vedeckej štúdie Pavlić et al. (2019) najviac zastúpenými fenolovými zlúčeninami prítomnými v mäte piepornej sú flavonoidy, fenolové kyseliny a stilbény. Medzi ďalšie zložky prítomné v tejto rastline patrí p-cimén (9,171 mg.100 g⁻¹), limonén (5,4 mg.100 g⁻¹), 1,8 cineol (6,351 mg.100 g⁻¹), menthomentén (10,908 mg. 100 g⁻¹) a mentón (7,752 mg.100 g⁻¹). Celkový obsah polyfenolov namerali autori v hodnote 1130,7 mg GAE.l⁻¹. Táto hodnota je nepatrne nižšia ako naša nameraná hodnota 1480,79 mg GAE.l⁻¹.

Extrakt z levandule obsahuje veľké množstvo polyfenolových zlúčenín. Vedci zistili, že viac ako jedna tretina extrahovaných látok boli polyfenoly a polovica z nich boli flavonoidy. Najviac zastúpenou fenolovou látkou bola kyselina rozmarínová 2,56±0,43 mg.g⁻¹ sušiny. Medzi významné zložky tiež patrili flavonoidy quercetín-3-β-glukozid (2,05±0,32 mg.g⁻¹ sušiny) a katechín (1,69±0,14 mg.g⁻¹ sušiny). Celkový obsah polyfenolov stanovili na hodnotu 573,57±16,94 mg.100 g⁻¹. Zistilo sa, že tento extrakt inhibuje rast *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa* (Vasileva et al., 2018).

Štúdia autorov Caleja et al. (2018) dokázala, že v extrakte z medovky lekárskej bolo identifikovaných asi 30 aktívnych zložiek ako napr. eggeranial, neral, citronellal, geraniol, kyselina egursolová, kyselina oleanolová, izoméry kyseliny cis- a trans- rozmarínovej, kyselina kávová a jej deriváty, luteolín, naringín, hesperidín a i. Tieto zlúčeniny vykazovali insekticídne, fungicídne, antioxidačné a antimikrobiálne funkcie. Prídavkom extraktu z medovky do nápoja dochádza nie len k zvýšeniu funkčnosti nápoja zo zdravotného hľadiska, ale aj zvýšeniu mikrobiálnej ochrany produktu a tým predĺženiu trvanlivosti. Bylinné extrakty z medovky inhibujú rast *Staphylococcus aureus*, *Cyberlindnera jadinii*, *Bacillus subtilis*.

Autori Abudunia et al. (2016) vo svojej práci poukazujú na významné antibakteriálne pôsobenie extraktov z kvetov nechtíka lekárskeho.

Tabuľka 1 Hodnotenie obsahu celkových polyfenolov (mg GAE.l⁻¹) v ovocných šťavách

Druh šťavy	Čerstvo lisovaná bez ošetrenia kyselinou askorbovou	Čerstvo lisovaná ošetrená kyselinou askorbovou	Skladovaná bez ošetrenia kyselinou askorbovou	Skladovaná ošetrená kyselinou askorbovou
Jablková bez prídavku	613,00	838,96	390,89	652,27
Jablková s nechtíkom	624,24	847,90	497,67	711,95
Jablková s lipou	616,37	844,39	458,62	685,13
Jablková s levanduľou	619,74	844,07	516,75	732,31
Jablková s bazou	655,32	893,20	491,96	727,09
Jablková s medovkou	771,05	1058,02	609,51	866,82
Jablková s mäťou	706,63	963,17	572,72	820,57
Hroznová bez prídavku	423,49	569,68	263,65	443,04
Hroznová s nechtíkom	454,95	609,43	364,77	511,80
Hroznová s lipou	441,09	590,88	328,91	479,54
Hroznová s levanduľou	447,46	601,87	366,78	522,26
Hroznová s bazou	472,55	630,44	329,36	513,29
Hroznová s medovkou	597,27	806,85	464,87	661,13
Hroznová s mäťou	533,97	724,32	358,48	617,14

Prídavok extraktu z liečivých rastlín pozitívne ovplyvnil celkový obsah polyfenolov vo oboch druhoch ovocných štiav. Rovnako pozitívne sa prejavilo aj ošetrenie kyselinou askorbovou v množstve 0,2 g.kg⁻¹ drte lisovaného ovocia. Najvyššiu hodnotu obsahu celkových polyfenolov vykazovali šťavy s prídavkom extraktu z medovky lekárskej a mäty piepornej. Nižší obsah polyfenolov vykazovali šťavy s prídavkom lipy malolistej a levandule úzkolistej.

Ivanišová et al. (2015) uvádzajú, že bylinné fytochemikálie sú atraktívnym materiálom pre vedcov v mnohých oblastiach výskumu. Autori štúdie zistili, že použitie rastlinných extraktov v jablkovej šťave zvyšuje antioxidačné aktivity a tiež celkový obsah polyfenolov v porovnaní s čistou jablkovou šťavou. Bylinné extrakty môžu zohrávať dôležitú úlohu pri prevencii kardiovaskulárnych chorôb a rakoviny a z toho dôvodu sa aplikujú v potravinárskom priemysle.

Heinma et al. (2017) uvádzajú, že obsah polyfenolov v jablkovej šťave ovplyvňujú aj technologické operácie spracovania. Medzi tieto operácie patrí drvenie a lisovanie, ktoré

spôsobuje pokles obsahu polyfenolov v čerstvo lisovaných šťavách. Vysoký pokles obsahu polyfenolov je spôsobený aj procesom stabilizácie štiav.

Za účelom zvýšenia stability a ochrany polyfenolických látok v ovocných šťavách sme ovocnú drť počas spracovania ošetrili prídavkom kyseliny askorbovej. Ošetrovanie jablkovej šťavy malo pozitívny vplyv na celkový obsah polyfenolov. V základnej jablkovej šťave bez extraktov liečivých rastlín došlo k zvýšeniu obsahu celkových polyfenolov o 36,86 %. Rovnako aj v šťavách s bylinnými extraktmi mal prídavok kyseliny askorbovej počas výroby ochranný vplyv na polyfenoly. V jablkových šťavách s prídavkom extraktov z liečivých rastlín sme zistili zvýšenie obsahu polyfenolov o 36-37 %. Najvyššie zvýšenie bolo v prípade jablkovej šťavy s medovkou lekárskej a to z hodnoty 771,05 mg GAE.l⁻¹ na hodnotu 1058,02 mg GAE.l⁻¹. V základnej hrozňovej šťave sa ošetrovanie kyselinou askorbovou prejavilo zvýšením obsahu celkových polyfenolov o 34,52 %. Najvýraznejšie zvýšenie v hrozňových šťavách s prídavkom extraktov liečivých rastlín bolo v hrozňovej šťave s prídavkom mäty piepornej, z hodnoty 533,97 mg GAE.l⁻¹ na hodnotu 724,32 mg GAE.l⁻¹, teda o 35,65 %. Najnižšie zvýšenie obsahu polyfenolov bolo v hrozňovej šťave s prídavkom bazy (33,41 %).

Kyselina askorbová, známa tiež ako vitamín C, je prirodzene sa vyskytujúcou organickou zlúčeninou a dôležitou potravinárskou prísadou. Zaraďuje sa medzi významné antioxidanty a má tiež významnú biologickú úlohu proti starnutiu, rakovine, imunitnej regulácii a redukcii aterosklerózy (Zou et al., 2020). Kyselina askorbová sa používa ako prísada v priemyselných procesoch ovocných výrobkov, vďaka svojej schopnosti zachytávať molekulárny kyslík (Pešić et al., 2019).

Po chladiarenskom skladovaní ovocných štiav došlo vo všetkých prípadoch k zníženiu obsahu celkových polyfenolov. K najväčšiemu úbytku celkových polyfenolov v jablkových šťavách došlo v jablkovej šťave bez prídavku extraktu liečivých rastlín a bez prídavku kyseliny askorbovej. V jablkových šťavách s prídavkom liečivých rastlín došlo k menšiemu úbytku obsahu polyfenolov, môžeme teda povedať, že extrakty z liečivých rastlín bránia aj poklesu obsahu polyfenolov počas skladovania. Najnižší % pokles bol zaznamenaný vo vzorke jablkovej šťavy s prídavkom levandule (16,62 %). Najvyšší % pokles bol vo vzorke jablkovej šťavy s prídavkom lipového extraktu (25,59 %). Najvyšší obsah polyfenolov bol v šťave s prídavkom medovky a mäty a tieto bylinky mali rovnako pozitívny vplyv na stabilitu polyfenolov, aj keď bol nižší ako pri levanduli. Ošetrovaním jablkovej drte počas výroby šťavy sa nielenže zvýšila ochrana polyfenolov počas spracovania, ale zlepšila ich stabilita počas skladovania a zvýšil sa aj efekt zvyšovania biologickej kvality po prídavku extraktu liečivých rastlín. Najlepšia stabilita polyfenolov bola v jablkovej šťave s prídavkom levandule (13,24 %) a najvyšší pokles bol pri jablkovej šťave bez prídavku extraktov (22,25 %). Z výsledkov vyplýva, že práve levanduľa dokáže najviac ochrániť polyfenoly počas chladiarenskeho skladovania.

Marszalek et al. (2018) sledovali zmenu obsahu polyfenolov v jablkovej šťave počas jej chladiarenskeho skladovania. Z výsledkov štúdie vyplýva, že celkový obsah polyfenolov po chladiarenskom spracovaní šťavy klesol o 37,2 %. V našej práci sme v čistej jablkovej šťave zistili podobnú hodnotu. Medzi najviac náchylne zlúčeniny Marszalek et al. (2018) uvádzajú procyanidín, ktorého obsah klesol až o 33 % a epikatechín a floridzín, ktorých obsah klesol o 24 %.

V hrozňovej šťave sme po chladiarenskom skladovaní sledovali podobný pokles obsahu polyfenolov ako v prípade jablkovej šťavy. Najvyšší pokles obsahu polyfenolov sme sledovali v hrozňovej šťave bez prídavku extraktov z liečivých rastlín (37,74 %) a najnižší pokles pri hrozňovej šťave s prídavkom levandule (18,03 %). Zistili sme, že rovnako ako pri jablkovej šťave aj v hrozňovej šťave má prídavok bylinných extraktov pozitívny účinok na zníženie poklesu obsahu polyfenolov. Kyselina askorbová, ktorá bola počas výroby použitá aj

v hroznovej šťave stlmila úbytok obsahu polyfenolov. Najvyšší úbytok obsahu polyfenolov bol v oštrenej čistej hroznovej šťave (22,23 %) a najnižší bol v oštrenej hroznovej šťave s prídavkom levandule (13,23 %).

Autori Tamer et al. (2016) skúmali limonády fortifikované bylinnými extraktmi kvôli rastúcemu záujmu o nové potraviny a nápoje s pridanou hodnotou a so zdraviu prospešnými vlastnosťami. Výskum ukázal, že limonáda s prídavkom bylinných extraktov obsahovala vyšší obsah polyfenolov ako limonáda bez prídavku extraktov a tiež vykazovala vyššiu antioxidačnú aktivitu. Obsah kyseliny askorbovej taktiež stúpol vo všetkých vzorkách. Výskum tiež ukázal, že prídanie bylinných extraktov do limonády konzumenti dobre akceptovali aj po senzorickej stránke.

Všetky druhy štiav s prídavkom bylinných extraktov sme skúmali aj po senzorickej stránke. Hodnotitelia sledovali chuť a vôňu ovocnej a bylinnej zložky. Pri hodnotení jablkovej šťavy s prídavkom bylinných extraktov hodnotitelia určili ako najlepšiu jablkovú šťavu s prídavkom medovky, ktorá sa vyznačovala príjemnou chuťou ovocnej a bylinnej zložky, ktoré boli v rovnováhe. Hodnotitelia taktiež veľmi pozitívne hodnotili jablkovú šťavu s prídavkom levandule a lipy. Nasledovala jablková šťava s prídavkom bazy, nechtíka a mäty. Pri bodovom teste v prípade hroznovej šťavy s prídavkom bylinných extraktov môžeme povedať, že prídavok bazy hodnotitelia určili ako najviac pozitívny. Nasledovala hroznová šťava s prídavkom nechtíka, medovky, lipy a levandule. Prídavok extraktu z mäty do hroznovej šťavy zhodnotili ako senzoricke menej príjemný.

ZÁVER

Ovocné šťavy s prídavkom extraktov z liečivých rastlín sú atraktívnou zložkou stravy pre svoju lahodnú chuť. Tieto šťavy sú bohatým zdrojom minerálnych látok, vitamínov a ďalších významných zložiek, ktoré prispievajú k zdraviu človeka. Prídavkom extraktov menia senzorické vlastnosti nápoja a zvyšujú biologickú hodnotu, čo prináša pozitívne zdravotné benefity. Tieto nápoje sú stále viac vyhľadávané kvôli ich funkčnosti. V práci sme zistili, že prídavok extraktov z liečivých rastlín prispel k vyššiemu obsahu celkových polyfenolov jablkovej aj hroznovej šťavy. Ako najúčinnnejšie sa v našom pokuse javili prídavky z medovky a mäty. Prídavok antioxidačne účinných extraktov z liečivých rastlín zlepšilo aj stabilitu celkových polyfenolov počas chladiarenského skladovania, v tomto smere sa ako najúčinnnejší javil extrakt z levandule. V rámci senzorickej analýzy sa v jablkovej šťave priaznivo prejavil prídavok medovky, v hroznovej šťave bol pozitívne hodnotený najmä prídavok bazy

LITERATÚRA

- Abudunia, A., Marmouz, I., Faouzi, M. E., Ramli, Y., Taoufik, J., El Madani, N., Essassi, E. M., Salama, A., Khedid, K., Ansar, M., Ibrahimi, A. 2016. Anticandidal, antibacterial, cytotoxic and antioxidant activities of *Calendula arvensis* flowers. In *Journal de Mycologie Médicale*, vol. 27, no. 1, pp. 31-43. ISSN 1156-5233. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.11.002>
- Ahmad, A., Ahmed, Z. 2019. Fortification in Beverages. In Grumezescu, A., Holban, A.M. *Production and Management of Beverages*, pp. 85-122. ISBN 978-0-12-815260-7.
- Araujo, S. G., Amado, P. A., Pinto, M. E. A., Castro, A. H. F., Lima, L. A. R. D. S. 2019. Total phenol and antioxidant potential of five species of *Lamiaceae* family. In *Periodico Tche Quimica*, vol. 16, no. 32, pp. 239-249. [10.52571/ptq.v16.n32.2019.257_periodico32_pgs_239_249.pdf](https://doi.org/10.52571/ptq.v16.n32.2019.257_periodico32_pgs_239_249.pdf)
- Caleja, C., Barros, L., Barreira, J. C. M., Ciric, A., Sokovic, M., Calhelha, R. C., Beatriz, M., Oliveira, P. P., Ferreira, I.C.F.R. 2018. Suitability of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract rich in rosmarinic acid as a potential enhancer of functional properties in cupcakes. In *Food Chemistry*, vol. 250, no. 6, pp. 67-74. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.034>
- El-Sayed, S., Youssef, A. M. 2019. Potential application of herbs and spices and their effects in functional dairy products. In *Heliyon*, vol. 5, no 6. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01989>

- Heinma, L., Moor, U., Poldma, P., Paudsepp, P., Kidmose, U., Scalzo, R. 2017. Content of health-beneficial compounds and sensory properties of organic apple juice as affected by processing technology. In *LWT – Food Science and Technology*, vol. 85, no. 11, pp. 372-379. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.044>
- Islam, M.S., Patras, A., Pokharel, B., Wu, Y., Vergne, M.J., Shade, L., Xiao, H., Sasges, M. 2016. UV-C irradiation as an alternative disinfection technique: study of its effect on polyphenols activity of Apple juice. In *Innovative Food Science & Emerging Technologies.*, vol. 34, no. 4, pp. 344-351 <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.02.009>
- Ivanišová, E., Frančáková, H., Ritschlová, P., Dráb, Š., Solgajová, M., Tokár, M. 2015 Biological activity of Apple juice enriched by herbal extracts. In *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, vol. 4, no. 2. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2015.4.special3.69-73>
- Marszałek, K., Wozniak, L., Barba, F.J., Skapska, S., Lorenzo, J. M., Zambon, A., Spilimbergo, S. 2018. Enzymatic, physicochemical, nutritional, and phytochemical profile changes of apple (Golden Delicious) juice under supercritical carbon dioxide and long-term cold storage. In *Food Chemistry*, vol. 268, no. 12, pp. 279-286. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.109>
- Mihalev, K., Dinkova, R., Shikov, V., Mollov, P. 2018. *Classification of Fruit Juices*. In *Fruit Juices*. Massachusetts: Academic Press. pp. 33-44. ISBN 978-0-12-802230-6. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802230-6.00003-5>
- Mushtaq, M., Akram, S., Adnan, A. 2018 *Extraction, Composition, Quality and Analysis*. In *Fruit Juices*. [online]. Massachusetts: Academic Press. pp. 161-18. ISBN 978-0-12-802230-6. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802230-6.00009-6>
- Nazir, M., Arif, S., Khan, R. S., Nazir, W., Khalid, N., Maqsood, S. 2019. Opportunities and challenges for functional and medicinal beverages: Current and future trends. In *Trends in Food Science & Technology*, vol. 88, pp. 513-526. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.04.011>
- Ou, J., Wang, M., Zheng, J., Ou, S. 2019. Positive and negative effects of polyphenol incorporation in baked foods. In *Food Chemistry*, vol. 284, no. 2, pp. 90-99. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.096>
- Pavlič, B., Kaplan, M., Bera, O., Olgun, E. O., Canli, O., Milosavljević, N., Antić, B., Zeković, Z. 2019. Microwave-assisted extraction of peppermint polyphenols- Artificial neural networks approach. In *Food and Bioprocesses Processing*, vol. 118, no. 11, pp. 258-269. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.09.016>
- Pešić, M. B., Milinčić, D. D., Kostić, A. Ž., Stanisavljević, N. S., Vukotić, G. N., Kojić, M. O., Gašić, U. M., Barać, M.B., Stanojević, S.P., Popović, D.A., Banjac, N.R., Tešić, Ž.L. 2019. In vitro digestion of meat- and cereal-based food matrix enriched with grape extracts: How are polyphenol composition, bio accessibility and antioxidant activity affected? In *Food Chemistry*, vol. 284, no. 6, pp. 28-44. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.107>
- Tamer, C. E., Yekeler, F. Z., Copur, O. U., Incedayi, B., Suna, S. 2016. A study of fortification of lemonade with herbal extracts. In *Food Science and Technology*, vol. 37, no. 1. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.06016>
- Turkmen, N., Akal, C., Ozer, B. 2019. Probiotic dairy-based beverages: A review. In *Journal of Functional Foods*, vol. 53, pp. 62-75. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.12.004>
- Vasileva, I., Denkova, R., Chochkov, R., Teneva, D., Denkova, Z., Dessev, T., Denev, P., Slavov, A. 2018. Effect of lavender (*Lavandula angustifolia*) and melissa (*Melissa Officinalis*) waste on quality and shelf life of bread. In *Food Chemistry*, vol. 253, no. 7, pp. 13-21. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.131>
- Zou, M. Y., Nie, S. P., Yin, J. Y., Xie, M. Y. 2020. Ascorbic acid induced degradation of polysaccharide from natural products: a review. In *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 151, no. 5, pp. 483-491 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.193>

Pod'akovanie: Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-22-0402

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

APLIKACE ELEKTROCHEMICKÝCH METOD PŘI ANALÝZÁCH KOŘENÍ

APPLICATION OF ELECTROCHEMICAL METHODS IN ANALYSES OF SPICES

Radovan Metelka, Granit Jashari, Milan Sýs, Monika Bínová

Abstract: New electrochemical methods for analyzing substances present in spices using carbon-based electrodes were developed. The method for determining *trans*-anethole is based on the anodic oxidation of the compound in acetonitrile at a carbon paste electrode modified with sodium dodecyl sulfate (40 % w/w). The mechanism of the electrochemical oxidation was elucidated using a glassy carbon electrode. The voltammetric determination of *trans*-anethole under optimal conditions was characterized by the linear range of 2.3–196.1 $\mu\text{mol L}^{-1}$, the sensitivity of 0.1122 $\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$, and the detection limit of 0.7 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The standard addition method was used to assay the analyte in anise and fennel seeds, and the results agreed with a reverse-phase HPLC. Electrochemical detection of safranal, which is present in saffron spice, was carried out at glassy carbon (GCE) and boron-doped diamond (BDD) electrodes in organic solvents. The sensitivity of the detection was higher at the GCE than at BDD and in acetonitrile than in ethanol, respectively. A linear range of 1–300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of safranal was achieved at the GCE.

Keywords: *trans*-anethole, safranal, carbon paste electrode, glassy carbon electrode, boron-doped diamond electrode, voltammetry

ÚVOD

Anethol (1-methoxy-4-(1-propenyl)benzen) je derivát fenypropenu, který se v přírodě vyskytuje v silicích aromatických rostlin. Jeho hlavním zdrojem je bedrník anýz (*Pimpinella anisum* L.), badyánik pravý (*Illicium verum*) a fenykl obecný (*Foeniculum vulgare*). Anethol tvoří dvě izomerní formy, kdy převažuje *trans*-anethol (90 %). Pouze tato forma se používá jako potravinářské aditivum, *cis*-anethol je prudce jedovatý. Často se přidává do léčiv, kosmetiky, mýdel a do přípravků ústní hygieny. *trans*-Anethol je považován za bezpečné potravinářské aditivum, jeho denní dávka by neměla překročit 2 mg kg⁻¹ (Newberne et al, 1999).

Analytické stanovení této látky ve vzorcích potravin, léčiv nebo kosmetiky se většinou provádí pomocí plynové nebo kapalinové chromatografie. Bylo popsáno pouze jedno voltametrické stanovení *trans*-anetholu elektrochemickou oxidací na uhlíkové pastové elektrodě modifikované La₂O₃ a borem dopované diamantové elektrodě (Kowalcze et al, 2018). Rozpustnost *trans*-anetholu ve vodném prostředí je velmi malá (cca 750 $\mu\text{mol l}^{-1}$). Z tohoto důvodu je vhodnější používat při extrakci vzorků čistá organická rozpouštědla, ve kterých se *trans*-anethol velmi dobře rozpouští. Příspěvek popisuje využití uhlíkové pastové elektrody modifikované dodecylsíránem sodným (40 % hm.) pro elektroanalýzu *trans*-anetholu po jeho extrakci v čistém acetonitrilu s přísadkou 0,1 mol l⁻¹ LiClO₄. Navržená metoda umožňuje jednodušší přípravu vzorků v porovnání s chromatografickými technikami, provedení analýzy na jednom povrchu elektrody bez další úpravy a kvantifikaci pomocí metody standardního přídatku. Elektrochemické stanovení *trans*-anetholu bylo provedeno ve vzorcích koření fenyklu a anýzu a porovnáno s referenční metodou RP-HPLC se spektrofotometrickou detekcí.

Safranal (2,6,6-trimethylcyklohexa-1,3-dien-1-karbaldehyd) je aldehydická aromatická sloučenina, která vytváří charakteristické aroma koření šafránu. Tato látka byla izolována z rozemletých blizen šafránu setého (*Crocus sativus* L.), ze kterých se sušením šafrán připravuje. Safranal je elektroaktivní a lze ho elektrochemicky oxidovat. Dosud byla zmíněna

pouze jeho elektrochemická detekce společně s krocinem pomocí square wave voltametrie (SWV) na elektrodě ze skelného uhlíku ve směsi ethanol:acetonitril (1:1) s přidavkem LiClO_4 (Armellini et al, 2017). Yousefi-Nejad et al (2021) potom popsali použití elektronického jazyka se čtyřmi různými pracovními elektrodami ke klasifikaci kvality šafránu cyklickou voltametrií mikromolárních koncentracích safranalů.

MATERIÁL A METODIKA

Pracovní uhlíková pastová elektroda CPE/SDS byla připravena homogenizací 0,4 g uhlíkového prášku s průměrem částic $\geq 5 \mu\text{m}$ (Graphite Týn, Týn nad Vltavou, Česká republika), 0,2 g minerálního oleje a 0,4 g dodecylsírany sodného (vše Merck KGaA, Darmstadt, Německo). Uhlíková pasta byla poté vpravena do pístového teflonového držáku o průměru 3 mm. Před použitím byla elektroda obnovena vytlačení menšího množství pasty a vyleštěním povrchu filtračním papírem. Mechanismus elektrochemické oxidace byl zkoumán s využitím rotační diskové GCE o průměru 3 mm a cyklické voltametrie a lineární voltametrie v bezvodém acetonitrilu s $500 \mu\text{mol l}^{-1}$ *trans*-anetholu, $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ LiClO_4 nebo Bu_4NPF_6 . Reálné vzorky koření byly analyzovány diferenční pulzní voltametrií (DPV) na CPE/SDS v čistém acetonitrilu s přidavkem $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ LiClO_4 . Pro kvantifikaci vzorků byla použita metoda vícenásobného standardního přidavku se čtyřmi alikvoty $20 \mu\text{l}$ $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ *trans*-anetholu v čistém acetonitrilu.

Safranal byl analyzován na GCE o průměru 3 mm (Metrohm Česká republika s.r.o., Praha, Česká republika) nebo na tištěném senzoru s borem dopovanou diamantovou elektrodou, vytvořenou chemickou depozicí z par (pracovní a pomocná elektroda) a referentní Ag/AgCl elektrodou (STU v Bratislave, Bratislava, Slovenská republika). Všechna elektrochemická měření u klasických elektrod byla prováděna v tříelektrodovém uspořádání společně s referentní nasycenou kalomelovou nebo chloridostříbrnou elektrodou s můstkem obsahující acetonitril s přidavkem $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ LiClO_4 nebo Bu_4NPF_6 a platinovou pomocnou elektrodou pomocí potenciostatu/galvanostatu PGSTAT101 a software Nova 1.11 (vše Metrohm Česká republika s.r.o., Praha, Česká republika).

Chromatografická sestava pro RP-HPLC analýzu obsahovala autosampler SIL 30AC, gradientovou pumpu LC 30AD, degasser DGU 20A5R, spektrofotometrický detektor s diodovým polem SPD M30A PDA a termostat kolony CTO 20AC (vše Shimadzu, Kjóto, Japonsko). Separace byla prováděna na koloně Ascentis[®] C18 ($100 \times 2,1 \text{ mm}$, velikost částic $3,0 \mu\text{m}$) při teplotě $40 \text{ }^\circ\text{C}$, mobilní fází byla redestilovaná voda s kyselinou mravenčí ($\text{pH} \sim 3,2$) jako rozpouštědlo A a čistý acetonitril jako rozpouštědlo B s gradientovým profilem od 30 % do 90 % pro rozpouštědlo B s průtokem $0,5 \text{ ml min}^{-1}$, nástřik vzorku $10 \mu\text{l}$ a vlnová délka spektrofotometrické detekce 260 nm .

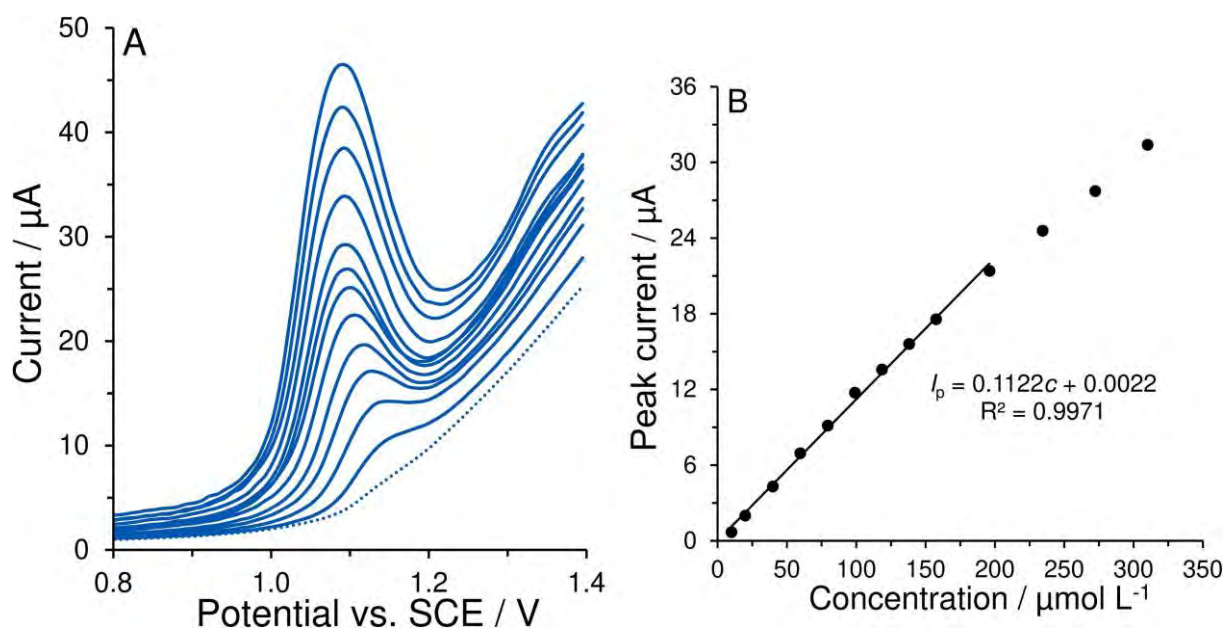
Reálné vzorky koření byly rozdrceny a homogenizovány v třecí misce po dobu 15 min. Poté byla navážka 1 g vzorku převedena do odměrné baňky a doplněna acetonitrem s $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ LiClO_4 . Vzorek byl extrahován v třepačce přes noc a výsledný extrakt byl přefiltrován přes skládaný filtr. Takto připravený roztok vzorku byl poté přímo bez dalšího ředění analyzován pomocí DPV. Pro chromatografickou analýzu byl extrakt ještě přefiltrován přes PTFE stříkačkový filtr s průměrem pórů $0,22 \mu\text{m}$.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Elektrochemická oxidace *trans*-anetholu poskytuje dva irreverzibilní anodické signály. Z měření na rotační diskové elektrodě bylo zjištěno, že oba signály představují jednoelektronové oxidační děje řízené difúzí. Dále bylo optimalizováno složení uhlíkové pastové elektrody pro co nejintenzivnější anodický pík *trans*-anetholu. Množství pastové kapaliny bylo ponecháno konstantní (20 % hm.) a měnil se pouze poměr uhlíkového prášku a

surfaktantu. Na uhlíkových pastách s obsahem 20 – 40 % SDS se oxidační signál už příliš neměnil a pro další experimenty byl použit maximální obsah SDS k zajištění co největší polarity povrchu elektrody a tím udržení dostatečné stability materiálu pasty při experimentech v nevodném prostředí (Jashari et al, 2022). Parametry DPV byly voleny jako přijatelný kompromis mezi výškou píku, tvarem oxidačního signálu a intenzitou proudů pozadí.

Kalibrační závislost elektrochemického stanovení *trans*-anetholu za optimálních experimentálních podmínek (Obrázek 1) byla lineární v rozmezí koncentrací 2.3–196.1 $\mu\text{mol l}^{-1}$. Hodnoty LOD 0,7 $\mu\text{mol l}^{-1}$ a LOQ 2,4 $\mu\text{mol l}^{-1}$ byly určeny podle vztahů $3s/k$ a $10s/k$, kde s je směrodatná odchylka opakovaných měření ($n = 10$) 10 $\mu\text{mol l}^{-1}$ *trans*-anetholu a k je směrnice kalibrační přímky. Opakovatelnost měření vyjádřená jako relativní směrodatná odchylka byla 4 %.



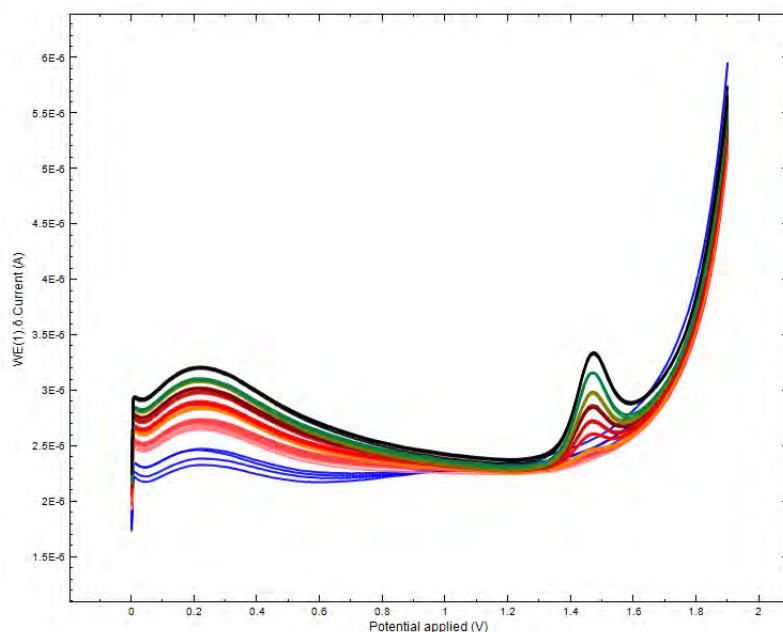
Obrázek 1 DPV voltamogramy 0 (tečkovaná čára), 20–320 $\mu\text{mol l}^{-1}$ *trans*-anetholu (plné čáry) na CPE/SDS v acetonitrilu s 0.1 mol l^{-1} LiClO_4 (A) a příslušná kalibrační závislost (B)

Analýza *trans*-anetholu v reálných matricích může být ztížena přítomností dalších elektroaktivních složek, které mohou rušit vlastní stanovení. Vzhledem k povaze analyzovaných vzorků se jedná hlavně o další silice, jako např. eugenol, fenon, linalool, menthol nebo thymol. Z těchto látek pouze eugenol a thymol poskytují oxidační signály při potenciálech +1,05 V a +1,2 V, nicméně jejich elektrochemická oxidace není za použitých experimentálních podmínek příliš intenzivní a při poměru 1:1 neruší stanovení *trans*-anetholu. Tabulka 1 shrnuje výsledky analýz reálných vzorků koření a porovnání s RP-HPLC jako referentní metodou (Jashari et al, 2023).

Tabulka 1 Analýza *trans*-anetholu ve vzorcích koření

Vzorek	DPV $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$	RP-HPLC $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$
Semínka anýzu	$1318,9 \pm 8,3$	$1206,7 \pm 0,2$
Semínka fenyklu	—	—
Semínka fenyklu s přidavkem <i>trans</i> -anetholu	$604,1 \pm 23,4$	$575,1 \pm 2,5$

Safranal se velmi dobře rozpouští v organických a směsných rozpouštědlech, jeho elektrochemická oxidace byla proto sledována na GCE cyklickou voltametrií v acetonitrilu, ethanolu, dimethylsulfoxidu a dimethylformamidu, vždy s přidavkem LiClO_4 . Nejintenzivnější oxidační signál byl pozorován v acetonitrilu. U voltametrických technik DPV a SWV byly optimalizovány instrumentální parametry a poté určeny příslušné kalibrační závislosti. Intenzivnější signály byly zjištěny u SWV s parametry optimalizovanými na co největší výšku signálu, ale výsledná kalibrace vykazovala odchylky od lineariry. Safranal bylo možné analyzovat v lineárním rozsahu $1\text{--}300\ \mu\text{mol l}^{-1}$ na GCE i BDD. Výhodou měření na GCE je vysoká stabilita proudového signálu oxidace safranal. Na začátku měření je sice nutné nejprve provést cca pět testovacích měření, ale následně je odezva stabilní a prakticky stejná pro danou koncentraci safranal (Obrázek 2). V případě BDD je možné provést několik desítek měření, ale poté tištěný senzor v organickém rozpouštědle pomalu degraduje a je nutné ho vyměnit.



Obrázek 2 SWV voltamogramy ($n = 5$) $1\text{--}20\ \mu\text{mol l}^{-1}$ safranal na GCE v acetonitrilu s $0.1\ \text{mol l}^{-1}\ \text{LiClO}_4$

ZÁVĚR

Byla vyvinuta nová elektroanalytická metoda pro stanovení *trans*-anetholu ve vzorcích koření přímo v jejich extraktech bez dalších úprav vzorku. Modifikace pracovní uhlíkové pastové elektrody větším množstvím dodecylsiranu sodného umožňovala práci i v nevodném prostředí čistého acetonitrilu. Charakter elektrodového materiálu zároveň brání adsorpci produktů oxidace *trans*-anetholu, elektroda nevykazuje paměťový efekt a měření lze tak provádět bez nutnosti regenerace povrchu elektrody v průběhu analýzy. Výsledky elektrochemického stanovení jsou ve shodě se standardní RP-HPLC metodou se spektrofotometrickou detekcí. Navržené stanovení lze využít pro rychlé a nenákladné zjišťování obsahu *trans*-anetholu jako potravinářského aditiva. Dále byla navržena elektrochemická metoda detekce safranal pro případné stanovení v šafránu na klasické elektrodě ze skelného uhlíku nebo tištěném senzoru s borem-dopovanou diamantovou elektrodou v acetonitrilu. Použité elektrodové materiály a detekční prostředí umožňují provést několik desítek měření na jednom elektrodovém povrchu bez nutnosti jeho regenerace.

LITERATURA

- Armellini, R., Compagnone, D., Scampicchio, M., Pittia, P. 2017. Hydrogen and atom transfer activity of saffron extracts by square wave voltammetry. *Electroanalysis*, 29, 521–528. <https://doi.org/10.1002/elan.201600325>
- Jashari, G., Švancara, I., Sýs, M. 2022. Characterisation of carbon paste electrodes bulk-modified with surfactants for measurements in nonaqueous media. *Electrochimica Acta*, 410, 140047. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2022.140047>
- Jashari, G., Frühbauerová, M., Mikysek, T., Švancara, I., Metelka, R., Sýs, M. 2023. New electroanalytical method for the determination of trans-anethole in spices and sweets. *Food Chemistry*, 408, 135167. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135167>
- Kowalcze, M., Wyrwa, J., Dziubaniuk, M., Jakubowska, M. 2018. Voltammetric Determination of Anethole on La₂O₃/CPE and BDDE. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2018, 2158407. <https://doi.org/10.1155/2018/2158407>
- Newberne, P., Smith, R. L., Doull, J., Goodman, J. I., Munro, I. C., Portoghese, P. S., Wagner, B. M., Weil, C. S., Woods, L. A., Adams, T. B., Lucas, C. D., Ford, R. A. 1999. The FEMA GRAS assessment of trans-anethole used as a flavouring substance. Flavour and Extract Manufacturer's Association. *Food and Chemical Toxicology*, 37(7), 789-811. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(99\)00037-X](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(99)00037-X)
- Yousefi-Nejad, S., Heidarbeigi, K., Roushani, M. 2021. Applications of electronic tongue system for quantification of safranal concentration in saffron (*Crocus sativus* L.). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15, 1626–1633. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00723-7>

Pod'akovanie: Autoři děkují za podporu Fakultě chemicko-technologické Univerzity Pardubice (projekt SGS_2023_001).

Kontaktná adresa: Ing. Radovan Metelka, Ph.D., Katedra analytické chemie, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, Studentská 573, 532 10 Pardubice

TESTOVÁNÍ PROCESU IZOLACE A PURIFIKACE KYSELINY FERULOVÉ Z PŠENIČNÝCH OTRUB TESTING OF ISOLATION AND PURIFICATION PROCESS OF FERULIC ACID FROM WHEAT BRAN

Jakub Nábělek, Pavel Diviš, Jaromír Pořízka

Abstract: In this study, the potential process of utilizing native wheat bran, a byproduct of the milling industry, for the production of ferulic acid was investigated. Through alkaline hydrolysis of 1 kg of native wheat bran, it was found that it is possible to obtain 4.04 ± 0.17 g of ferulic acid. However, the purity of the product was very low which indicates the need of ferulic acid isolation from hydrolysate using some specific method. One of the possible option is to use ferulic acid adsorption to the selected adsorbent. Using this method, a partial loss of ferulic acid released after alkaline hydrolysis into the solution was observed, but at the same time this procedure increased the purity of the final product to approximately 11 %. Using infrared spectroscopy, it has been confirmed that the use of the adsorption process does not lead to effective isolation of ferulic acid from proteins contained in the hydrolysate, and that proteins are the main substance responsible for reducing the purity of the final product.

Keywords: Ferulic acid, wheat bran, adsorption, alkaline hydrolysis, FTIR, HPLC

ÚVOD

Pšenice patří k nejvýznamnější obilovině na celém světě. Celosvětová produkce pšenice dosahuje 650 milionů tun. Při zpracování pšeničného zrna v mlýnech vzniká kolem 150 milionů tun pšeničných otrub jakožto vedlejšího produktu. V současné době se otruby nejčastěji využívají jako krmivo pro hospodářská zvířata, minimální množství se využívá jako doplněk lidské stravy (Prückler et al., 2014). Zbylé množství otrub se zpracovává anaerobními nebo aerobními technologiemi, případně se zpracovává termicky. Pšeničné otruby přitom mohou být zajímavým vstupním materiálem pro biorafineri a mohou tak posloužit k produkci dalších zajímavých látek (Tirpanalan et al., 2014). Jednou z těchto látek využitelných v potravinářském nebo ve farmaceutickém průmyslu je kyselina ferulová (Zduńska et al., 2018). Pšeničné otruby obsahují 20–1500 mg kyseliny ferulové ve 100 g materiálu (Apprich et al., 2014). Kyselina ferulová se však v otrubách nenachází ve volné formě, ale je vázaná na polysacharidy obsažené v otrubách (Rondini et al., 2004). Aby došlo k uvolnění kyseliny ferulové z pšeničných otrub, je potřeba provést hydrolýzu, nejčastěji v alkalickém prostředí (Buranov a Mazza, 2009). Většina prací uvádí poměrně dobrou účinnost tohoto procesu, avšak příliš nezmiňuje čistotu získaného produktu. Cílem této práce bylo otestování postupu izolace kyseliny ferulové z pšeničných otrub alkalickou hydrolýzou, ověření čistoty získané kyseliny ferulové a případný návrh možností změn izolačního postupu za účelem zvýšení čistoty získané kyseliny ferulové s následnou purifikací adsorpcí na pevný nosič.

MATERIÁL A METODIKA

Pšeničné otruby pocházely od výrobce Mlýny J. Voženílek spol. s r.o., Předměřice nad Labem (Česká Republika). Alkalická hydrolýza byla provedena podle dříve popsaného postupu (Buranov, Mazza, 2009). Nativní pšeničné otruby v poměru 1:30 s 0,5M hydroxidem sodným byly hydrolyzovány při 50 °C po dobu 4 hodin. Po hydrolýze byla suspenze přeceděna pomocí síta s póry 0,1 mm. Získaná kapalná frakce byla okyselená přidávkem 3M roztoku H_2SO_4 na hodnotu $pH = 3$. Roztok byl dále centrifugován při 64 000 rcf. Získaný supernatant byl následně smíchán s adsorbentem Amberlyst XAD-16, na který se účinně váže kyselina

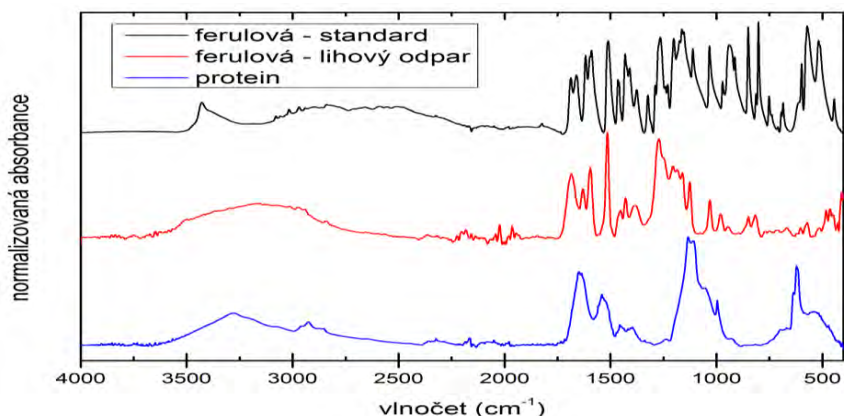
ferulová. Adsorpční proces byl proveden v batch konfiguraci po dobu jedné hodiny při laboratorní teplotě za míchání při 200 rpm. Po adsorpci byl adsorbent zachycen na sítu a propláchnut čtyřnásobným objemem roztoku H_2SO_4 o $\text{pH} = 3$. Kyselina ferulová byla z adsorbentu desorbována za použití ethanolu. Desorpce probíhala v batch konfiguraci při laboratorní teplotě po dobu jedné hodiny. Po desorpci bylo množství kyseliny ferulové ve získaném roztoku stanoveno metodou HPLC. HPLC systém použitý pro analýzu byl WATERS Breeze vybavený dvoukanálovým UV/VIS detektorem (model 2487). Pro analýzu byla použita kolona Kinetex C18 (Phenomenex). Jako mobilní fáze byla použita směs obsahující 10 % acetonitril a 90 % roztok 1% kyseliny octové. Čistota izolátu kyseliny ferulové byla stanovena gravimetrickou metodou a pomocí analýzy metodou FTIR (Thermofisher Scientific iS50 s ATR diamantovým adaptérem).

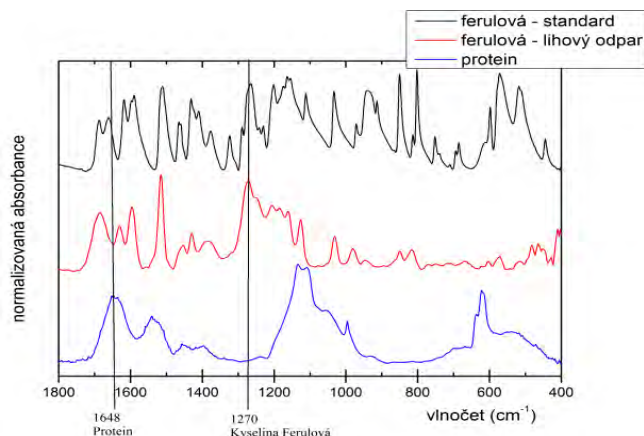
VÝSLEDKY A DISKUZE

Alkalickou hydrolyzou bylo možné získat z jednoho kilogramu nativních pšeničných otrub $4,04 \pm 0,17$ g kyseliny ferulové. Tento výsledek odpovídá výtěžkům publikovaným autory Buranov a Mazza (2009), čistota získaného produktu po odpaření rozpouštědla však byla pouze $1,47 \pm 0,08$ %.

Protože čistota získané kyseliny ferulové byla velmi nízká, byly provedeny další experimenty, během kterých byla studována možnost adsorpce kyseliny ferulové z hydrolyzátu na adsorbent Amberlyst XAD-16. Možnost adsorpce kyseliny ferulové na tento adsorbent již dříve ve své práci popsal Couteau a Mathaly (1997). Během experimentů se podařilo dosáhnout adsorpční účinnosti kyseliny ferulové $37,86 \pm 3,18$ %. Tato hodnota adsorpční účinnosti je poměrně malá, což může být způsobeno tím, že použitý adsorbent není specifický pro kyselinu ferulovou a pravděpodobně se na tento adsorbent vážou i jiné složky z hydrolyzátu, zejména peptidy nebo aminokyseliny. Desorpční účinnost kyseliny ferulové byla stanovena na hodnotu $80,51 \pm 8,72$ %. Pro případné zvýšení desorpční účinnosti je nutné provést další optimalizační testy. Při procesu izolace kyseliny ferulové z hydrolyzátu pomocí adsorpce došlo ke snížení výtěžku kyseliny ferulové na $0,88 \pm 0,10$ g z kilogramu pšeničných otrub, nicméně čistota kyseliny ferulové se zvýšila na $11,39 \pm 0,46$ %.

Přestože se procesem izolace kyseliny ferulové z hydrolyzátu podařilo zvýšit čistotu získaného produktu, výsledná čistota je pro další případné využití kyseliny ferulové stále nízká. Aby bylo možné identifikovat látky znečišťující získanou kyselinu ferulovou, byla provedena analýza izolátu pomocí infračervené spektroskopie. Výsledky analýz jsou znázorněny na Obrázku 1. Obrázek 1 ukazuje FTIR spektra čisté kyseliny ferulové, izolátu a rostlinných proteinů. Analýza pomocí FTIR potvrdila, že získaná kyselina ferulová je znečištěna zejména proteiny.





Obrázek 1. Kompletní FTIR spektrum standardu kyseliny ferulové, izolátu kyseliny ferulové a rostlinných proteinů a detailní výřez spektra v oblasti 1800-400 cm⁻¹

ZÁVĚR

Tato práce studuje proces izolace kyseliny ferulové z pšeničných otrub. Bylo zjištěno, že alkalická hydrolýza vede k vysokému výtěžku kyseliny ferulové, ale zároveň poukázala na nedostatečné řešení problematiky následné izolace kyseliny ferulové z hydrolyzátu. V případě použití adsorpčního procesu na adsorbentu Amberlite XAD-16 byla získána kyselina ferulová o čistotě $11,39 \pm 0,46$ %, avšak za cenu snížení absolutní výtěžnosti kyseliny ferulové. Část kyseliny ferulové přítomné v hydrolyzátu byla ztracena následnými úpravami hydrolyzátu a neúplnou desorpcí kyseliny ferulové z adsorbentu. Za hlavní problém při získávání kyseliny ferulové z pšeničných otrub byly označeny proteiny obsažené v hydrolyzátu, které se adsorbují na použitý adsorbent společně s kyselinou ferulovou a zároveň dochází i k jejich eluci v následném kroku. Pro získání čisté kyseliny ferulové pomocí alkalické hydrolýzy pšeničných otrub je potřeba se v dalších studiích zaměřit na účinné odstranění proteinů z hydrolyzátu.

LITERATURA

- Prückler, Michael; Siebenhandl-Ehn, Susanne; Apprich, Silvia; Höltinger, Stefan; Haas, Cornelia et al., 2014. Wheat bran-based biorefinery 1: Composition of wheat bran and strategies of functionalization. In: *LWT - Food Science and Technology*. 56. S. 211-221. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.004>.
- Tirpanalan, Özge; Reisinger, Michael; Huber, Florian; Kneifel, Wolfgang A Novalin, Senad, 2014. Wheat bran biorefinery: An investigation on the starch derived glucose extraction accompanied by pre- and post-treatment steps. In: *Bioresource Technology*. 163. S. 295-299. ISSN 09608524. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.058>.
- Apprich, Silvia; Tirpanalan, Özge; Hell, Johannes; Reisinger, Michael; Böhmendorfer, Stefan et al., 2014. Wheat bran-based biorefinery 2: Valorization of products. In: *LWT - Food Science and Technology*. 56. S. 222-231. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.003>.
- Rondini, Ludovic; Peyrat-Maillard, Marie-Noëlle; Marsset-Baglieri, Agnès; Fromentin, Gilles; Durand, Philippe et al., 2004. Bound Ferulic Acid from Bran Is More Bioavailable than the Free Compound in Rat. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52. 2004-06-01, s. 4338-4343. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/jf0348323>.
- Buranov, Anvar U. A Mazza, G., 2009. Extraction and purification of ferulic acid from flax shives, wheat and corn bran by alkaline hydrolysis and pressurised solvents. In: *Food Chemistry*. 115. S. 1542-1548. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.059>.
- Couteau, D A Mathaly, P, 1997. Purification of ferulic acid by adsorption after enzymic release from a sugar-beet pulp extract. In: *Industrial Crops and Products*. 6. S. 237-252. ISSN 09266690. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(97\)00014-9](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(97)00014-9).

Zduńska, Kamila; Dana, Agnieszka; Kolodziejczak, Anna A Rotsztejn, Helena, 2018. Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Possible Application. In: *Skin Pharmacology and Physiology*. 31. 2018-10-16, s. 332-336. ISSN 1660-5527. Dostupné z: <https://doi.org/10.1159/000491755>.

Ling, Xiao; Zhang, Jiajia; Teng, Jianwen; Huang, Li A Xia, Ning, 2023. Effects of cross-linking of rice protein with ferulic acid on digestion and absorption of ferulic acid. In: *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 74. 2023-04-03, s. 313-326. ISSN 0963-7486. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/09637486.2023.2199178>.

Poděkování: Tato práce byla převedená v rámci projektu FW02020135 technologické agentury české republiky a projektu FCH-S-23-8303 financovaného ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy české republiky.

Kontaktní adresa: Ing. Jakub Nábělek, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií; Purkyňova 464/118, 612 00 Brno; Email: Jakub.Nabelek@vut.cz

doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D., Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií; Purkyňova 464/118, 612 00 Brno; Email: divis@fch.vut.cz

Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D., Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií; Purkyňova 464/118, 612 00 Brno; Email: porizka@fch.vut.cz

BAKTERICÍDNA ÚČINNOSTĚ STRIEBORNÝCH NANOČASTÍČEK SYNTETIZOVANÝCH POMOCÍ EXTRAKTU Z LISTŮ LEVANDULE

BACTERICIDAL EFFICACY OF SILVER NANOPARTICLES SYNTHESIZED WITH LAVENDER LEAF EXTRACT

Silvia Ondrašovičová, František Zigo, Zuzana Farkašová, Jana Zahumenská, Oksana Velgosová, Livia Mačák

Abstract: This study explores the utilization of dehydrated lavender leaves in synthesizing silver nanoparticles (AgNPs) for potential application in veterinary medicine, specifically in combating bovine mastitis. The extract of lavender leaves (*Lavandula angustifolia*) is both a reducing agent and stabilizer in nanoparticle synthesis. UV-vis spectroscopy analysis confirms the presence of silver nanoparticles with localized surface plasmon resonance observed at 430 nm. Characterization reveals spherical AgNPs with an average diameter of 20 nm, stabilized effectively by lavender compounds as was indicated by FT-IR measurements. Antimicrobial efficacy testing demonstrates promising results, with the largest bacterial inhibitory zone observed against *Streptococcus uberis* measuring 11 mm. This study highlights the potential of silver nanoparticles synthesized by lavender leaves extract as an alternative approach to addressing bovine mastitis.

Keywords: silver nanoparticles; *Streptococcus uberis*; lavender leaves

INTRODUCTION

Nanotechnology is a modern field of science that deals with the synthesis and application of nanoparticles having a size of 1-100 nm. Nanoparticles have been studied extensively because of their unique physicochemical characteristics including antibacterial properties catalytic activity, optical properties, electronic properties, and magnetic properties (Bharathi et al., 2015; Murugan and Shanmugasundaram, 2014).

Biosynthesis of AgNPs using plant materials can avoid the excessive use of toxic chemicals, sophisticated instrumentations, and technical expertise; therefore, it is proving to be more economical and eco-friendlier than other physical and chemical procedures (Kumar et al., 2016; Shankar et al., 2004). Thus, there has been an increasing demand for green nanotechnology for the last decade.

Plants have the advantage of being widely distributed, easily accessible, much safer to handle, and act as reservoirs of several metabolites (Balaprasad et al., 2005).

Plants have the advantage of being widely distributed readily accessible, far safer to handle and act as reservoirs of several metabolites (Balaprasad et al., 2005). The intricate composition of plants poses a challenge in discerning the specific components accountable for the stabilisation or reduction of nanoparticles. According to the existing study conducted by Priya et al., (2016), Ballottin et al., (2016), and Ullah et al., (2020) the creation of nanoparticles using biological materials indicates that proteins and flavonoids have a significant role in reducing and stabilising the nanoparticles. The utilisation of biological synthesis to produce AgNPs from plant sources presents novel opportunities in the realm of environmentally friendly and sustainable technologies (Al Sufyani et al. 2019; Bihal et al., 2023).

FTIR analysis enables the identification of the constituent elements of a biomaterial. It facilitates the identification of functional groups, such as phenols, flavonoids, peptides, proteins, and other compounds present in biomaterials.

This study aimed to investigate the potential use of dehydrated lavender leaves in the synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) for veterinary applications, especially in the treatment of bovine mastitis.

MATERIALS AND METHODS

Extract and AgNPs colloid preparation

The foliage of lavender plants was gathered from a nearby garden in Košice, Slovakia, specifically during the blooming season in July. Silver nitrate (AgNO₃, 99.8%) was purchased from Penta Chemical Unlimited. Deionized water was utilised for the preparation of solutions, dilution, and washing purposes. The lavender leaves were washed twice with deionized water and then dried at a temperature of 45°C. The dried leaves were pulverised in a mortar and subsequently combined with 100 mL of deionized water. The mixture was subjected to heating in a water bath, with the temperature maintained between 70 and 80°C, for 10 minutes. The temperature range was selected to facilitate efficient extraction of the natural chemicals present in plant cells. Afterward, the mixture was cooled to the temperature of the surrounding environment, and the solid component was isolated by passing it through filter paper. The solution that had been passed through a filter was subjected to centrifugation at a speed of 9000 revolutions per minute for 30 minutes. The colloidal solution (*Lav+AgNPs*) prepared in this way was stored in a refrigerator before application.

Characterization of AgNPs

The colloid solutions of prepared AgNPs were examined using a UV-vis Spectrophotometer (specifically, the UNICAM UV-vis Spectrophotometer UV4). The samples were tested within the wavelength range of 350–700 nm. A solution with a ratio of H₂O to extract 5:1 was used as a control. The dimensions and structure of the nanoparticles were analysed using Transmission Electron Microscopy (TEM) JEOL model JEM-2000FX with an accelerating voltage of 200 kV. The examination of Ag nanoparticles size distribution was conducted using image analysis software (ImageJ, version 1.53t).

Production, housing, and milking of dairy cows

To facilitate the analysis, a dairy farm consisting of 300 Holstein Cattle was observed in eastern Slovakia. The agricultural setting comprised a contemporary structure equipped with efficient air circulation and automatic waste disposal systems. The cows were raised in a stable that was partitioned into two rows using a feeding table, with four distinct subsections within each section. There was a total of 42 cubicles in each subsection, placed in three rows that faced each other. Throughout the study, a total of 250 dairy cows were milked twice daily at 5:00 AM and 4:00 PM using a parallel milking parlour with a capacity of 2 × 12 (BouMatic). Before the milking process, the milk obtained from each quarter of the udder was subjected to sensory examination using a cup with a double bottom. The teat disinfection procedure involved the application of a foaming solution called G-Mix Power, which contains chlorine dioxide (Agromont, Nitra, Slovakia). Afterward, the teats were dried using a disposable paper towel. Following the completion of automated milking with a milk flow rate below 0.2L/min, the teats were disinfected using Power Blue Mix (Agromont, Nitra, Slovakia), a lactic acid-based solution.

Evaluation of bovines via the collection of milk samples

To collect milk samples, all 250 cows underwent a comprehensive evaluation, which included a clinical examination and palpation of their udders. The milk samples obtained from each quarter were analysed through sensory evaluation and assessed using the California

Mastitis Test (CMT) as described by Tančín (2013). The laboratory diagnosis of bacterial pathogens following the standards set by the National Mastitis Council (2001) involved examining 96 quarter milk samples for the presence of udder bacterial infections. This examination was based on positive CMT scores ranging from 1 to 3.

Sample cultivation and udder pathogen detection

Each milk sample, measuring 0.2 ml, was evenly distributed on plates with Columbia agar that was supplemented with 5% sheep blood from Oxoid Ltd, UK. The plates were thereafter placed in an incubator set at a temperature of 37 °C and evaluated after 24 hours. To determine the bacterial pathogens causing mastitis more accurately, colonies from the blood agar were transferred to different selective culture media, such as Edwards Medium, Staphylococcal Medium No. 110, and MacConkey Agar (Oxoid, Ltd., Basingstoke, Hants, UK), based on their morphological features. The subcultures were subsequently incubated for 24 hours at a temperature of 37 °C. Tests were subsequently performed to ascertain the existence of catalase activity, haemolysis, pigment production, coagulase, and Gram staining, using the procedure outlined by Malinowski et al (2006). Species identification was conducted by utilising biochemical tests such as STAPHYtest 24, STREPTOtest 24, or ENTEROtest 24. The assessment was carried out using the TNW ProAuto 7.0 programme (Erba-Lachema, Brno, CZ) with a species identification feature.

In vitro evaluation of the antimicrobial effects of Lav+AgNPs against bovine mastitis

The antibacterial effectiveness of *Lav+AgNPs* against certain udder pathogens, such as the reference strain *S. aureus* CCM 4750, which are the main agents responsible for bovine mastitis, was assessed using the diffusion method. Using biochemical assays, we chose six isolates of *S. aureus*, *S. chromogenes*, *S. haemolyticus*, and *Str. uberis*, as well as the reference strain *S. aureus* CCM 4750, from the pathogens collected from the mammary gland. These isolates exhibited a probability exceeding 90% and will undergo additional testing to determine the antibacterial effectiveness of *Lav+AgNPs*.

Identification of antimicrobial sensitivity in certain udder pathogens

The in vitro susceptibility of certain udder infections was investigated against 10 antibacterial drugs. Susceptibility tests were conducted on 22 isolates of *S. chromogenes*, 14 isolates of *S. aureus*, 9 isolates of *S. haemolyticus*, 8 isolates of *Str. uberis*, and a reference strain of *S. aureus* CCM 4750 from the Czech Collection of Microorganisms in Brno, Czech Republic. The tests were performed on Mueller Hinton agar using a standard disc diffusion procedure (CLSI, 2018). The antibiotic discs used in this study were penicillin (PEN; 10 µg), ampicillin (AMP; 10 µg), amoxicillin (AMC; 10 µg), amoxicillin+clavulanic acid (AXC; 20/10 µg), ceftiofur (CEF; µg), oxacillin (OXA; 1 µg), ceftiofur (CFX; 30 µg), ciprofloxacin (CPR; 5 µg), lincomycin (LNC; 15 µg), neomycin (NMC; 10 µg), novobiocin (NVB; 5 µg), rifaximin (RFX; 15 µg), streptomycin (STR; 10 µg), and tetracycline (TET; 30 µg). The diameter of the zone of inhibition was quantified in millimeters and analysed based on the pre-established parameters. The inhibitory zone widths were evaluated using CLSI breakpoints (2021) to determine susceptibility, intermediate resistance, or complete resistance. The control employed in the investigations was the *S. aureus* CCM 4750 strain obtained from the Czech Collection of Microorganisms in Brno, Czech Republic. The choice of antimicrobials is determined by the range of intramammary medications that are accessible in Slovakia for the management of mastitis.

RESULTS AND DISCUSSION

An examination of the dairy herd showed that, of 250 dairy cows, 208 cows (83.2%) had negative CMT scores and 42 cows (16.8%) had positive CMT scores. Positive CMT scores (1–3) for one or more quarters were detected in 92 (9.2%) from the 1000 examined quarters. Based on the anamnesis, a CMT score of trace or 1–3 was identified as bacterial agents causing clinical or subclinical mastitis in 62 quarter samples, and 30 samples were identified as negative or contaminated (Table 1).

Table 1. CMT evaluation and representation of udder pathogens

	Number of tested quarters	%
Negative	908	93.3
CMT score 1 - 3	92	9.2
Infected	62	7.9
Udder pathogens	Number of isolates	% (from 62 infected quarter milk samples)
<i>S. chromogenes</i>	22	35.4
<i>S. aureus</i>	14	22.6
<i>S. haemolyticus</i>	9	14.5
<i>Str. uberis</i>	8	12.9
<i>E. coli</i>	4	6.5
Mixed infection ¹	5	8.1

Note: Mixed infection¹ – includes a mixed infection of two bacterial pathogens.

The results indicate that among the most common etiological agents causing mastitis in cows were Non-*aureus* Staphylococci (NAS), *S. aureus* and *Str. uberis*. Staphylococci have been increasing in importance regarding mastitis and public health. As dairy milk also drives the global economy, being an important source of income for small, medium, and large producers, bovine mastitis caused by *S. aureus* and NAS has a great economic impact. It generates economic losses through decreased yield, expenses associated with veterinary costs, and animal slaughter. However, it is also a public health issue that involves animal health, and welfare, human health, and the ecosystem (Pyörälä and Taponen, 2009).

Lately, Non-*aureus* Staphylococci (NAS) have become a concern among dairy producers, as their potential as mastitis-pathogens has been observed; and they have already been found in the majority of other pathogens. Their predominant isolation can be explained by the fact that NAS are pathogens adapted to survive in cows and may be in the mammary gland of sick or healthy animals; while some species are also more resistant to antibiotics than *S. aureus* (Supre et al., 2011).

In 45 isolates of staphylococci and 8 isolates of *Str. uberis*, *in vitro* resistance to 10 antimicrobials was tested by the standard disk diffusion method (Table 2). Generally, low resistance was shown to tetracycline, amoxicillin reinforced with clavulanic acid, rifaximin, and ciprofloxacin. The obtained results presented in Table 3 show that the resistance of *S. aureus* and NAS, in particular to aminoglycosides and β -lactams, indicates the trend of increasing multi-antimicrobial-resistant pathogens in monitored dairy farms. On the other hand, the tested *Str. uberis* exhibited resistance to gentamicin and streptomycin.

Table 2. Antimicrobial resistance of selected udder pathogens isolated from mastitis milk samples

Bacterial strains (n=53)	<i>S. aureus</i> (n=14)		<i>S. chromogenes</i> (n=22)		<i>S. haemolyticus</i> (n=9)		<i>Str. uberis</i> (n=8)	
	%	n	%	n	%	n	%	n
Penicillin	50.0	7	40.9	9	44.4	4	25	2
Amoxicillin	50.0	7	36.4	8	33.3	3	25	2
Ampicillin	42.3	6	36.4	8	44.4	4	25	2
Ampicillin + subb.	7.1	1	9.1	2	0.0	0	0.0	0
Rifaximin	14.2	2	9.1	2	0.0	0	12.5	1
Lincomycin	28.6	4	13.6	3	11.1	1	25.0	2
Ciprofloxacin	14.2	2	13.6	3	0.0	0	12.5	1
Gentamycin	28.6	4	9.1	2	22.2	2	50.0	4
Streptomycin	28.6	4	22.7	5	22.2	2	50.0	4
Tetracycline	14.2	2	4.5	1	0	0	25.0	2

The spectrum of a colloidal solution of AgNPs, which was created using an extract derived from dried lavender leaves, was analysed using a UV-vis spectrophotometer. The spectrum exhibits a peak absorption at 424 nm, a characteristic feature of spherical silver nanoparticles.

Table 3. The size of the bacterial inhibition zone (mm)

Concentration	SA ref.	SA	SH	SCH	Str. U
H ₂ O	0	0	0	0	0
ATB	19	16	30	14	26
50 ppm <i>Lav+AgNPs</i>	0	0	7	6	5
100 ppm <i>Lav+AgNPs</i>	7	5	8	9	10
150 ppm <i>Lav+AgNPs</i>	8	7	10	10	11
200 ppm <i>Lav+AgNPs</i>	9	8	10	10	11

Note: H₂O – water as the negative control, ATB – gentamicin antibiotic, SA ref. - reference strain of *Staphylococcus aureus*, SA - *Staphylococcus aureus*, SH - *S. haemolyticus*, SCH - *S. chromogenes*, Str. U – *Streptococcus uberis*

The dimensions and shape of the AgNPs were analysed using TEM. TEM analysis confirmed the presence of spherical nanoparticles, and size distribution analysis confirmed that about 81% of the nanoparticles showed an average size of about 20 nm.

The *Lav+AgNPs* that were produced through biosynthesis exhibited antibacterial properties against gram-negative bacteria that are resistant to many drugs (Table 3).

The antibacterial effectiveness of *Lav+AgNPs* was evaluated at concentrations of 25, 50, 100, 150, and 200 ppm. With an increase in the concentration of *Lav+AgNPs*, there was a corresponding increase in the bactericidal efficacy, leading to a larger diameter of the antibacterial ring (Table 3, Figure 1).

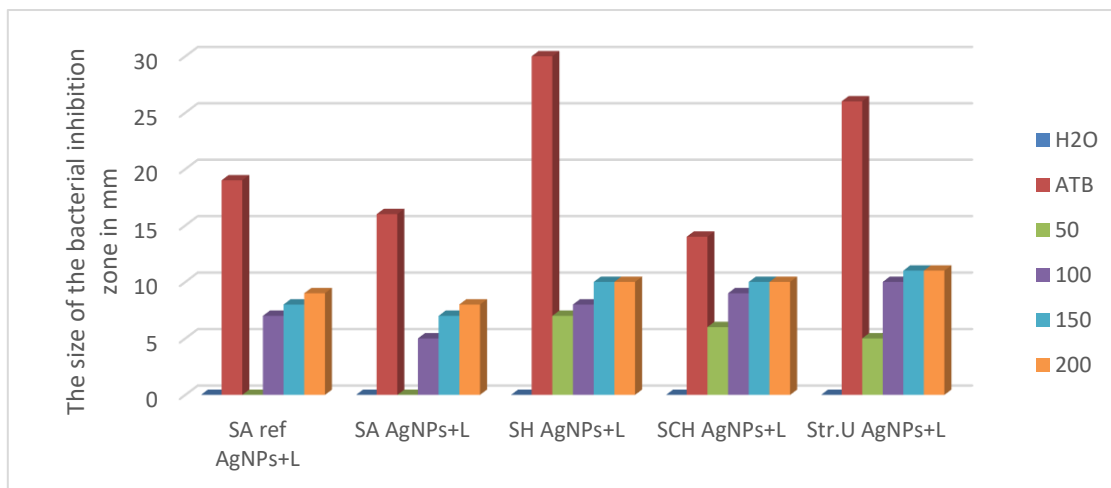


Figure 1. The size of the bacterial inhibition zone in mm

Note: H₂O – water as the negative control, ATB – gentamicin antibiotic, SA ref - reference strain of *Staphylococcus aureus*, SA - *Staphylococcus aureus*, SH - *S. haemolyticus*, SCH - *S. chromogenes*, Str. U – *Streptococcus uberis*, AgNPs+L - lavender leaf extract, and silver nanoparticles.

CONCLUSION

Biosynthesized *Lav+AgNPs* showed antibacterial activity against multidrug resistant gram-negative bacteria. The use of biological synthesis methods utilizing plant sources for the preparation of *Lav+AgNPs* demonstrates promising prospects in green and sustainable technologies. This technique for nanoparticle production is efficient in terms of time and cost, while also being environmentally friendly.

Lav+AgNPs nanoparticles have shown effectiveness as antibacterial agents against udder pathogens responsible for mastitis in dairy cows.

REFERENCES

- Al Sufyani, N. M., Hussien, N. A., Hawsawi, Y. M. 2019. Characterization and Anticancer Potential of Silver Nanoparticles Biosynthesized from *Olea chrysoxylla* and *Lavandula dentata* Leaf Extracts on HCT116 Colon Cancer Cells. In *J. Nanomater.*, 7361695.
- Ballottin, D., Fulaz, S., Souza, M. L., Corio, P., Rodrigues, A.G., Souza, A. O., Tasic, L. 2016. Elucidating Protein Involvement in the Stabilization of the Biogenic Silver Nanoparticles. In *Nanoscale Res. Lett.* vol. 11, pp. 313.
- Balaprasad, A., Damle, C., Ahmad, A., Murali, S. 2005. Biosynthesis of gold and silver nanoparticles using *Emblia officinalis* fruit extract, their phase transfer and trans metallation in an organic solution. In *J. Nanosci. Nanotechnol.* vol. 5, pp. 1665–1671.
- Bharathi, S. V., Ahmad, A., Tajo, S. M. 2015. Silver Nanoparticle Synthesis Using *C. Caesia* and *C. Amada* Rhizome Extract. In *International Journal of Pharm Tech Research*, vol. 8, no.7, pp. 142-145.
- Bihal, R., Al-Khayri, J. M., Banu, A. N., Kudesia, N., Ahmed, F. K., Sarkar, R., Arora, A., Abd-Elsalam, K. A. 2023. Entomopathogenic Fungi: An Eco-Friendly Synthesis of Sustainable Nanoparticles and Their Nanopesticide Properties. In *Microorganisms*, vol. 11, pp. 1617.
- CLSI document M2-A13. 2018. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, Thirteenth informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA: 92 p.
- CLSI document M100–S31. 2021. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Thirty–first informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA. 350 p.
- Kumar, B., Smita, K., Cumbal, L., Camacho, J., Hernández-Gallegos, E., Chávez-López, M. G., Grijalva, M., Andrade, K. 2016. One pot photosynthesis of gold nanoparticles using *Genipa americana* fruit extract and its biological applications. In *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 62, pp. 725–731.
- Malinowski, E., Lass,a H., Klossowska, A., Smulski, S., Markiewicz, H., Kaczmarowski, M. 2006. Etiological agents of dairy cows' mastitis in western part of Poland. In *Polish Journal Veterinary Sciences*, vol. 9, pp. 191–194.

Murugan, M., Shanmugasundaram, K. K. 2014. Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using the aqueous of vitex Negundo, Linn. In *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, vol. 3, Issue 8, pp. 1385–1393.

NMC. 2001. National mastitis council. *National Mastitis Council Recommended Mastitis Control Program*. Natl. Mastitis Council. Ann. Mtg. Proc., Reno, NV. Natl. Mastitis Council, Inc., Verona, WI. 408 p.

Priya, R.S., Geetha, D., Ramesh, P.S. 2016. Antioxidant activity of chemically synthesized AgNPs and biosynthesized Pongamia pinnata leaf extract mediated AgNPs-A comparative study. In *Ecotoxicol. Environ. Saf.* vol. 134, pp. 308–318.

Pyörälä, S., Taponen, S. 2009. Coagulase-negative staphylococci - Emerging mastitis pathogens. In *Veterinary Microbiology*, vol. 134, pp. 3–8.

Shankar, S. S., Rai, A., Ahmad, A., Sastry, M. 2004. Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. In *J. Colloid Interface Sci.* vol. 275, pp. 496–502.

Supre, K., Haesebrouck, F., Zadoks, R. N., Vaneechoutte, M., Piepers, S., De Vliegher, S. 2011. Some coagulase-negative *Staphylococcus* species affect udder health more than others. In *J. Dairy Sci.* vol. 94, 2329–2340.

Tančin, V. 2013. Somatic cell counts in milk of dairy cows under practical conditions. *Slovak Journal of Animal Science*, vol. 46, pp. 31–34.

Ullah, A., Munir, S., Badshah, S. L., Khan, N., Ghani, L., Poulson, B. G., Jaremko, M. 2020. Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. In *Molecules*, vol. 25, 5243.

Acknowledgments: This work was supported by the Research and Development Agency under Contract No. APVV-22-0457 and SK-PL-23-0066.

Contact address: Silvia Ondrašovičová, DVM. PhD., Department of Biology and Physiology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia, email: silvia.ondrasovicova@uvlf.sk

František Zigo, Assoc. Prof., DVM. PhD., Department of Animal Nutrition and Husbandry, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia, email: frantisek.zigo@uvlf.sk

Zuzana Farkašová, DVM. PhD., Department of Animal Nutrition and Husbandry, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 04181 Košice, Slovakia, email: zuzana.farkasova@uvlf.sk

Jana Zahumenská, DVM, PhD., Department of Hygiene, Technology and Health Food Safety, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia, email: jana.zahumenska@uvlf.sk

Oksana Velgosová, Assoc. Prof., Ing., Institute of Materials and Quality Engineering, Faculty of Materials Metallurgy and Recycling, Technical University of Košice, Letná 9/A, 042 00 Košice, Slovakia; email: oksana.velgosova@tuke.sk

Livia Mačák, Ing. Institute of Materials and Quality Engineering, Faculty of Materials Metallurgy and Recycling, Technical University of Košice, Letná 9/A, 042 00 Košice, Slovakia; email: livia.macak@tuke.sk

**ZMENY KOLORIMETRICKÝCH PARAMETROV VZORIEK
BIELYCH VÍN POČAS SKLADOVANIA V RÔZNYCH TEPLOTNÝCH
PODMIENKACH**
**CHANGES IN THE COLORIMETRIC PARAMETERS OF WHITE
WINE SAMPLES DURING STORAGE UNDER DIFFERENT
TEMPERATURE CONDITIONS**

*Boris Semjon, Lea Jenčová, Martin Bartkovský, Ivana Regecová, Jana Výrostková,
Slavomír Marcinčák*

Abstract: Studying the development of wine during bottle ageing is an important aspect of wine quality. In the present work, three wine varieties Traminer Red, Rhenish Riesling and Grüner Silvaner were analysed during a storage period of 12 months under two controlled temperature storage conditions. The first storage temperature regime was at 12 ± 2 °C and the second at 20 ± 2 °C. Objective colour measurements of the experimental wine samples were measured in the CIELab colorimetric space. The effect of storage under the different conditions was statistically significant at the $p < 0.001$ significance level for all three samples.

Keywords: wine, colorimetry, quality, storage conditions, temperature

ÚVOD

Víno podlieha počas skladovania neustálym zmenám zloženia. Bolo vykonaných mnoho štúdií s cieľom opísať chemické zmeny počas skladovania vo fľaši a ich vplyv na senzorické vnímanie vína (Recamales et al., 2006). Biele vína obsahujú rôzne polyfenoly, ktoré sú dôležitými zložkami z hľadiska kvality vína, pretože sú zodpovedné za vlastnosti, ako sú farba, chuť, vôňa a trpkosť (Ferreira-Lima et al., 2013). Polyfenoly sa považujú za bioaktívne zlúčeniny vďaka ich antimikrobiálnym, protizápalovým a antioxidantným vlastnostiam (Lee a Rennaker, 2007; Xanthopoulou et al., 2010). V bielych vínach sú hydroxyškoricové kyseliny a flavonoly, ktoré sú hlavné zlúčeniny zúčastňujúce sa na reakciách, ktoré spôsobujú oxidačné hnednutie (Cheynier et al., 2006). Starnutie vína je obdobie, ktoré začína na konci výroby vína (po rôznom spracovaní v závislosti od odrody vína a vinárskej prax) a pokračuje po stočení do fliaš až do konzumácie. Zrenie vína vo fľaši, kde je kontakt s kyslíkom minimálny, pozostáva z jeho vývoja za redukovaných podmienok a okrem toho má za následok zmeny farby, a malo by vyústiť do zlepšenia senzorických (hlavne čuchových a chuťových) vlastností vína (Cassino et al., 2019). Vyššia a/alebo kolísavá teplota môže v podstate urýchliť proces starnutia vína. Bohužiaľ, tieto zmeny často zostávajú nepovšimnuté až kým sa víno nedostane k spotrebiteľovi. Vplyv zvýšenej teploty na vína sa skúmal v mnohých štúdiách, s viditeľným účinkom, ako je zníženie obsahu oxidu siričitého, vývoj farby (najmä hnednutie bielych vín) a zmeny v profile prchavých zlúčenín. Nanešťastie, väčšina týchto štúdií má úzky rozsah a má tendenciu zameriavať sa len na obmedzený počet druhov vína alebo na špecifické zlúčeniny (Scrimgeour et al., 2005). Jedným z hlavných problémov bieleho vína je jeho nestabilná farba po stáčaní do fliaš. Hnednutie je v podstate dôsledkom oxidácie fenolov na chinóny, ktoré následne polymerizujú a vytvárajú makromolekuly s typickým žltohnedým odtieňom. Konkrétne sa ukázalo, že oxidačné hnednutie bielych vín je najmä s obsahom flavanolu (Recamales et al., 2006). Cieľom tejto štúdie bolo posúdiť vplyv skladovania v rôznych teplotných podmienkach počas 12 mesačnej doby skladovania naflašovaných vín.

MATERIÁL A METODIKA

Vybrané vzorky bielych vín použité v tomto experimente pochádzali z produkcie vinárstva z Východoslovenskej vinohradníckej oblasti. Boli použité vzorky Tramín červený ročník 2021, Rizling rýnsky 2018, Silvánske zelené 2019. Medzi vzorkami boli vybrané suché víno Silvánske zelené a polosuché boli vzorky odrôd Rizling rýnsky a Tramín červený. Z pohľadu obsahu alkoholu tak ten bol vo vzorkách stanovený na nasledovných hodnotách Tramín červený obsahoval 14,0 obj. % alkoholu, Rizling rýnsky 13,0 obj. %, Silvánske zelené 13,0 obj. %. Vo všetkých vzorkách bol stanovený obsah siričitanov. Experimentálne vzorky vín sa skladovali po dobu 12 mesiacov. Prvý spôsob skladovania vín bol vo vínnej komore, ktorá imitovala skladovanie vína v pivniciach, kde bola priemerná teplota počas experimentu okolo 12 ± 2 °C (skladovanie A). Druhý teplotný režim skladovania naffašovaných vzoriek vín bol pri priemernej teplote 20 ± 2 °C (skladovanie B), ktorý imitoval skladovanie pri bežných izbových podmienkach.

Objektívne meranie farby experimentálnych vzoriek vín sme merali v kolorimetrickom priestore CIELab hodnotami L^* (jas), a^* (červený – zelený odtieň), b^* (žltý – modrý odtieň). Meranie sme vykonali prístrojom Chroma meter CR-410 (meracia plocha \varnothing 50 mm, osvetlenie D65, štandardný pozorovací uhol 2° , Konica Minolta, Sensing, Inc., Japan, Obrázok 10 A). Výsledky kolorimetrických meraní sme spracovali v programe Color Data Software CM-S100w SpectraMagic™ NX (Konica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japan, 2014). Pred každým meraním sme vykonali kalibráciu prístroja pomocou priloženého príslušenstva, tzv. kalibračnej doštičky (CR-A43, Konica Minolta). Z každej vzorky sme vykonali šesť meraní a získané výsledky sme vyhodnotili.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

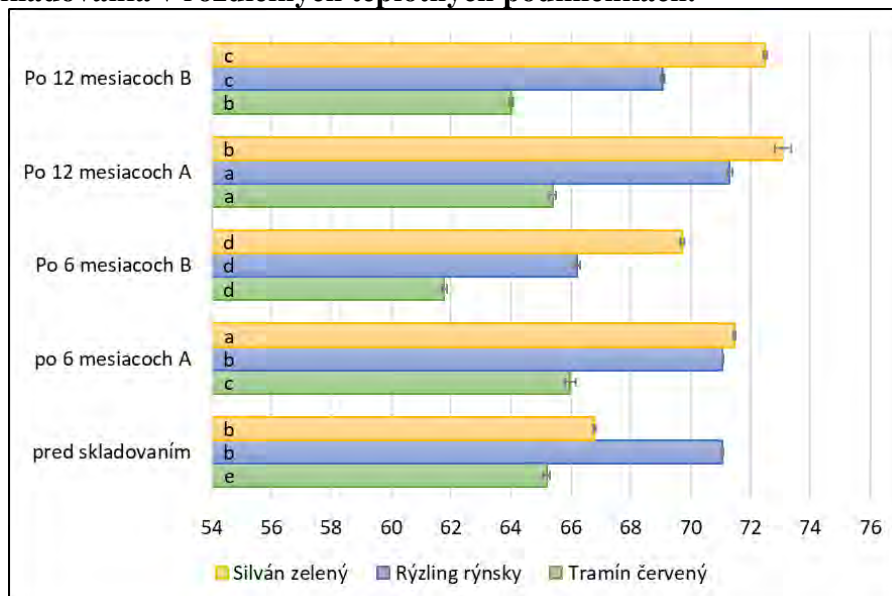
Graf 1 zobrazuje výsledky stanovenia kolorimetrického parametra jasu (L^*) vo vzorkách vín počas skladovania. Štatistická analýza potvrdila vplyv skladovania na jas vzoriek vín ($p < 0,001$). Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že vo vzorkách vín odrody Silván zelený bola po skladovaní vždy vyššia hodnota jasu ako na začiatku experimentu. Štatisticky významný vplyv teplotných režimov počas skladovania vín boli významné na hladine významnosti $p < 0,001$ vo všetkých troch odrodách experimentálnych vzoriek vín (Graf 2).

Najnižšie hodnoty intenzity žltej farby boli vo všetkých vzorkách stanovené vo fáze pred skladovaním resp. na začiatku experimentu (Graf 3). Vplyv skladovania bol podobne ako v predchádzajúcich kolorimetrických parametroch pri parametri b^* štatisticky významný ($p < 0,001$). Z dosiahnutých výsledkov sme zistili že po 12 mesiacoch skladovania pri 20 ± 2 °C.

Škodlivý vplyv stredne vysokých teplôt na stabilitu antokyánov je dobre známy, hoci existujú určité rozpory v rozsahu tohto účinku. Degradácia antokyánov s rastúcou teplotou logaritmicky narastá a rýchlosť degradácie sa zdvojnásobuje pri každom zvýšení teploty o 10 °C (Escribano-Bailón et al., 2019). Okrem toho je termická degradácia antokyánov ovplyvnená aj hodnotou pH, pričom je výraznejšia pri vyšších hodnotách pH. Vo vínach je potrebné kontrolovať teplotu, najmä počas kvasenia muštu, aby sa zabránilo zvýšeniu teploty. V fľaškovom víne prebiehajú reakcie s molekulárnym kyslíkom pomaly, pretože kyslík sa do fľaše ťažko dostane skrz fľašovú zátku alebo cez skrz priestor medzi zátkou a hrdlom. Oxidáciou, z ktorých tak môže vniknúť acetaldehyd, ktorý sa spája s jeho negatívnym vplyvom na kvalitu vína. Hoci vzniká najmä počas alkoholovej fermentácie, môže sa vo víne tvoriť aj inými spôsobmi (Cassino et al., 2019). V ideálnom prípade by sa vína mali skladovať v chladných pivniciach alebo klimatizovaných priestoroch ($15-20$ °C), ale častejšie, ako je potrebné, vína môžu mať počas prepravy alebo iných spôsobov skladovania menej ako optimálne podmienky prostredia, kde sú vystavené vyšším alebo kolísavým teplotám (Scrimgeour et al., 2015). Ideálna teplota skladovania vína vo všeobecnosti neexistuje, pretože vývoj vína je starostlivou rovnováhou medzi umožnením komplexnosti a zrelosti s

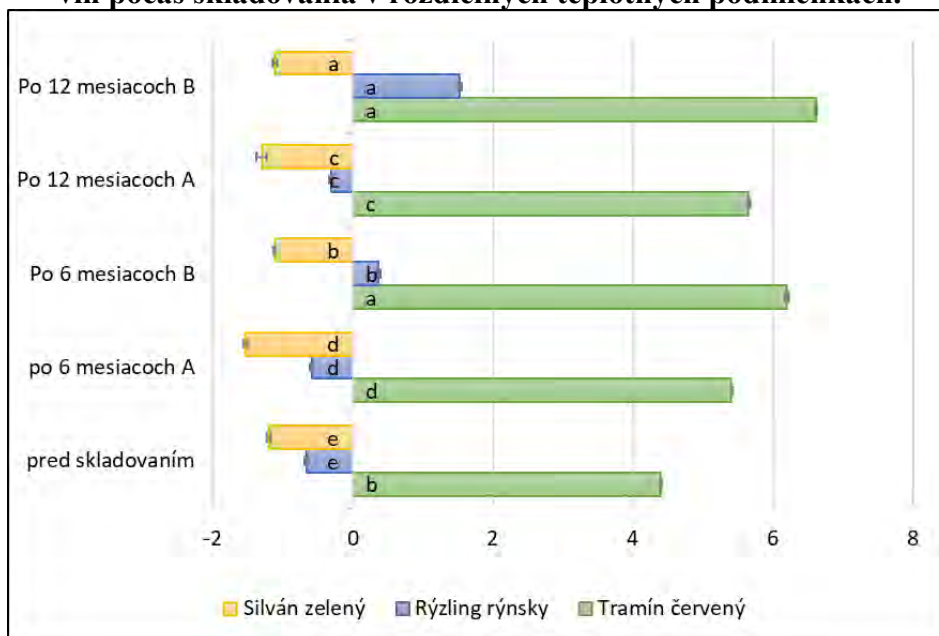
cieľom zabrániť oxidácii a výkyvom teplôt. Víno skladované pri nízkej teplote (napr. $<10\text{ }^{\circ}\text{C}$) bude jednoznačne prospešné z menšieho rizika kazenja, ale bude tiež trvať oveľa dlhšie sa bude vyvíjať dlhšie (Scrimgeour et al., 2015; Cassino et al., 2019).

Graf 1 Výsledky stanovenie L^* kolorimetrického parametra experimentálnych vzoriek vín počas skladovania v rozdielnych teplotných podmienkach.



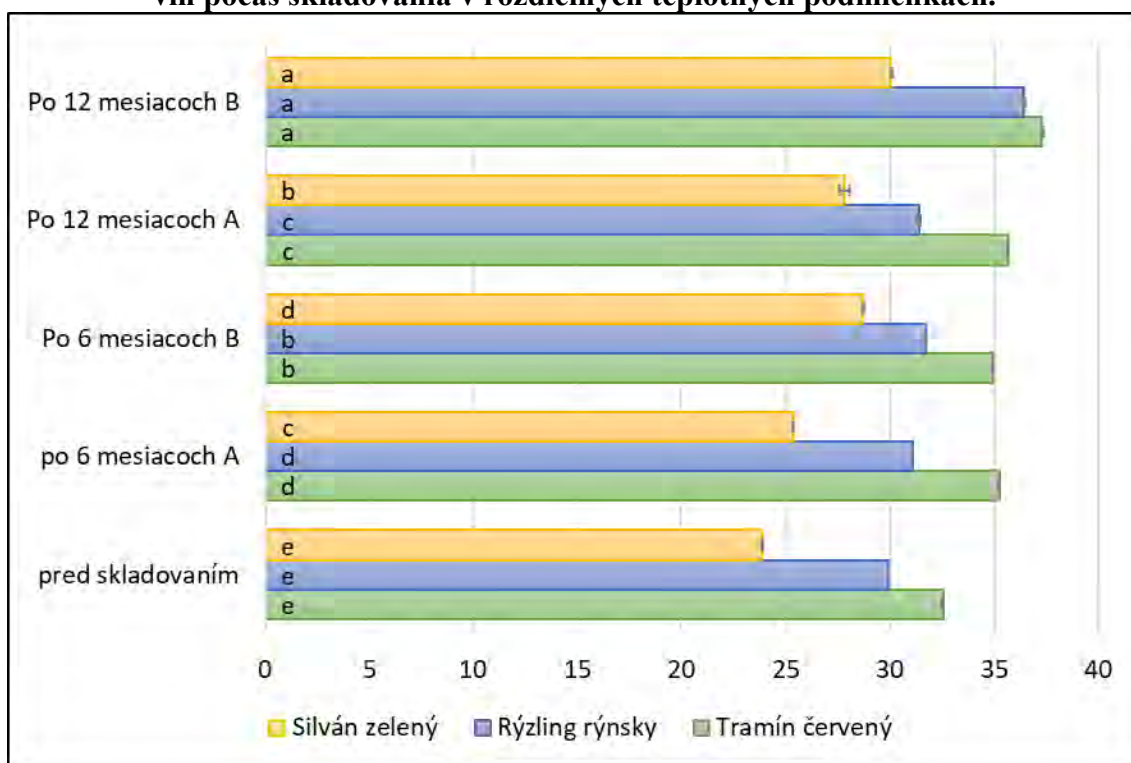
Legenda: Skladovacie podmienky A: $12\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Skladovacie podmienky B: $20\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Priemery zdieľajúce zhodný horný index v základni pruhových grafov (a-e) nie sú štatisticky významne rozdielne (Tukeyho test, $p<0,05$).

Graf 2 Výsledky stanovenie a^* kolorimetrického parametra experimentálnych vzoriek vín počas skladovania v rozdielnych teplotných podmienkach.



Legenda: Skladovacie podmienky A: $12\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Skladovacie podmienky B: $20\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Priemery zdieľajúce zhodný horný index v základni pruhových grafov (a-c) nie sú štatisticky významne rozdielne (Tukeyho test, $p<0,05$).

Graf 3 Výsledky stanovenie b* kolorimetrického parametra experimentálnych vzoriek vín počas skladovania v rozdielnych teplotných podmienkach.



Legenda: Skladovacie podmienky A: 12±2 °C. Skladovacie podmienky B: 20±2 °C. Priemery zdieľajúce zhodný horný index v základni pruhových grafov (a-e) nie sú štatisticky významne rozdielne (Tukeyho test, $p < 0,05$).

ZÁVER

Z dostupnej publikovanej literatúry je zrejmé, že zvýšená teplota skladovania urýchľuje proces starnutia vína, ktorý sa zvyčajne prejaví časom skladovania. Chemický profil vína môže taktiež výrazne meniť pri zvýšenej teplote skladovania, čo naznačuje, že reakčné mechanizmy vína sú veľmi citlivé na teplotu. Prezentované výsledky dokazujú významný vplyv doby skladovania naľňášaných vín na zmenu kolorimetrických parametrov vzoriek. Pre podrobnejšie štúdium jednotlivých mechanizmov a zmien v zložení vzoriek je však nevyhnutné vykonať ďalšie experimenty a analýzy.

LITERATÚRA

- Cassino, Claudio; Tsolakis, Christos; Bonello, Federica; Gianotti, Valentina A Osella, Domenico. Wine evolution during bottle aging, studied by 1H NMR spectroscopy and multivariate statistical analysis. Online. *Food Research International*. 2019, roč. 116, s. 566-577. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.075>. [cit. 2024-02-23].
- Cheyrier, Véronique; Dueñas-Paton, Montserrat; Salas, Erika; Maury, Chantal; Souquet, Jean-Marc et al. Structure and Properties of Wine Pigments and Tannins. Online. *American Journal of Enology and Viticulture*. 2006, roč. 57, č. 3, s. 298-305. ISSN 0002-9254. Dostupné z: <https://doi.org/10.5344/ajev.2006.57.3.298>. [cit. 2024-02-23].
- Escribano-Bailón, María Teresa; Rivas-Gonzalo, Julián C. A García-Estévez, Ignacio. Wine Colour Evolution and Stability. Online. In: *Red Wine Technology*. Elsevier, 2019, s. 195-205. ISBN 9780128143995. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814399-5.00013-X>. [cit. 2024-02-23].
- Ferreira-Lima, Nayla E.; Burin, Vivian Maria a Bordignon-Luiz, Marilde T. Characterization of Goethe white wines: influence of different storage conditions on the wine evolution during bottle aging. Online. *European Food Research and Technology*. 2013, roč. 237, č. 4, s. 509-520. ISSN 1438-2377. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00217-013-2019-5>. [cit. 2024-02-23].

Lee, J A Rennaker, C. Antioxidant capacity and stilbene contents of wines produced in the Snake River Valley of Idaho. Online. *Food Chemistry*. 2007, roč. 105, č. 1, s. 195-203. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.069>. [cit. 2024-02-23].

Recamales, Ángeles F.; Sayago, Ana; González-Miret, M. Lourdes A Hernanz, Dolores. The effect of time and storage conditions on the phenolic composition and colour of white wine. Online. *Food Research International*. 2006, roč. 39, č. 2, s. 220-229. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.07.009>. [cit. 2024-02-23].

Scrimgeour, N.; Nordestgaard, S.; Lloyd, N.D.R. A Wilkes, E.N. Exploring the effect of elevated storage temperature on wine composition. Online. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 2015, roč. 21, s. 713-722. ISSN 13227130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/ajgw.12196>. [cit. 2024-02-23].

Xanthopoulou, Marianna N.; Fragopoulou, Elizabeth; Kalathara, Konstantia; Nomikos, Tzortzis; Karantonis, Haralabos C. et al. Antioxidant and anti-inflammatory activity of red and white wine extracts. Online. *Food Chemistry*. 2010, roč. 120, č. 3, s. 665-672. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.058>. [cit. 2024-02-23].

Pod'akovanies: 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

HODNOTENIE INOVOVANÝCH VEGÁNSKÝCH VÝROBKOV NA BÁZE HRACHU

EVALUATION OF INNOVATED VEGAN PEA-BASED PRODUCTS

Ladislav Staruch, Zlatica Kohajdová, Tatiana Holkovičová, Magdaléna Takáčová

Abstract: Nowadays, alternative meat substitutes are becoming a new food trend, especially among the younger generation. In the present work, we compared a pea-based sausage from a nutritional and sensory point of view with a meat-based sausage and two types of plant-based vegan sausages. Using nutritional and sensory analysis, we were able to determine the type of vegan meat substitute that could be the best alternative meat substitute. As a result of the work, the properties of pea as a suitable raw material for vegan products are compared for its ability to emulsify and stabilize the formation of gels that form the basis of such products.

Keywords: veganism; alternative plant-based meat substitutes; sausages; peas

ÚVOD

V predkladanej práci sme sa zamerali na najnovšie poznatky o vegánstve a alternatívnych náhradách mäsa. Trendom dnešnej doby sa z viacerých dôvodov, akými sú napríklad: etický, ekologický, zdravotný dôvod, stáva vegánstvo. Alternatívna forma výživy, ktorá sa všetkými aspektami života snaží obmedziť konzumáciu mäsa. S vegánskym spôsobom stravovania sa automaticky spája aj zdravší životný štýl, ktorý môže významne prispieť najmä v oblasti prevencie srdcovo-cievnych ochorení a cukrovky druhého typu. Hodnota mortality býva u vegánov štatisticky nižšia ako u bežných konzumentov, avšak nie je to len v dôsledku vyššieho príjmu vlákniny, nižšieho príjmu cholesterolu a nasýtených mastných kyselín a jedlom obohateným o vysoký obsah antioxidantov, ale aj celkovou zmenou životného štýlu. K zvýšenej úmrtnosti vo veľkej miere okrem samotného spôsobu stravovania prispieva najmä fajčenie, nadmerné pitie alkoholu a nižšie ekonomické, či sociálne postavenie v spoločnosti, s čím môže súvisieť vznik stresu, ktorý je najčastejšou príčinou viacerých chorôb (Phillips, 2005; Bakaloudi et al., 2021). Napriek protichodným názorom o vegánstve, sa vegánsky sortiment neustále rozrastá o nové výrobky s vysokým záujmom verejnosti. Potravinárske podniky sa snažia ozvláštniť svoju výrobu o alternatívne výrobky založené na rastlinnej báze. Najčastejšími surovinami pre výrobu takýchto náhrad mäsa a mäsových výrobkov sa stáva: sója, pšenica, cicer a hrach. Opierajúc sa o náležité teoretické informácie o vegánstve a z výsledkov nášho online dotazníka sme vybrali štyri výrobky párkov, pri ktorých sme sa venovali nutričným parametrom a senzorickej analýze. Naše výrobky predstavovali tri druhy vegánskych párkov a jeden druh tradičných mäsových párkov. Zaujímal nás obsah vody, tuku, bielkovín, soli. Na základe zloženia nutričného profilu výrobkov, sme sa snažili o porovnanie párkov a výber tej najzdravšej alternatívy výrobku. Nami vybrané vegánske párky boli založené na pšeničnej, sójovej a hrachovej báze, čím náš experiment pokryl najčastejšie rastlinné alternatívne zdroje náhrad mäsových výrobkov. Pri senzorickej analýze sme využili hedonickú stupnicu a poradovú skúšku. Pri dnešnom rozmanitom výbere vegánskeho sortimentu nás zaujímala chuť týchto výrobkov Cieľom rôznych štúdií bolo určiť, či je vegánstvo vhodnou alternatívou stravovania z hľadiska príjmu makroživín a mikroživín v porovnaní s odporúčaniami WHO (World Health Organization – Svetová zdravotnícka organizácia). Vegánsky jedálňiček by mal spĺňať všetky výživové požiadavky pre človeka, aby mohol poskytnúť zdravotné výhody v prevencii, či liečbe niektorých ochorení. Mal by byť rovnako ako potravinová pyramída u bežných konzumentov rozmanitý a nutrične výhodný pre náš organizmus. Vegánska strava by mala byť bezpečná pre všetky vekové kategórie a pohlavie, pre všetky fázy životného cyklu vrátane tehotenstva, dojčenia, či pre športovcov. Makroživiny,

makronutrienty, rovnako aj mikronutrienty sú látky, ktoré prijímame prostredníctvom potravín. V našom organizme sú tieto makronutrienty dôležité z viacerých hľadísk, radíme medzi nich sacharidy, tuky a bielkoviny. Vitamíny a minerálne látky patria medzi mikronutrienty. Zahrňujúc poznatky zo 48 štúdií od roku 1987 až 2020, ktorej sa spolu zúčastnilo spolu 12 096 osôb, ktorí preferujú vegánstvo sa zistilo, že spotreba makronutrientov je u vegánov v norme, s výnimkou bielkovín, ktoré sú vo vegánskej strave občas pod odporúčaným denným príjmom. Uvádza sa, že ľudské telo by malo prijať 0,8 g bielkovín na kg telesnej hmotnosti. V závislosti od pohlavia, veku, zdravotného stavu spôsobu života sa hodnota môže mierne líšiť. Allés a kolektív vo svojej štúdií uvádza, že 27,3 % vegánov prijíma nedostatok bielkovín. 64,6 % vegánskych konzumentov spĺňa odporúčaný denný príjem bielkovín, a 8,1 % respondentov tejto vegánskej štúdie dokonca prijíma tieto stavebné látky nad prijateľnou hodnotou (Allés et al., 2017; Bakaloudi et al., 2021). Medzi strukoviny z čeľade *Fabaceae* radíme hrach siaty (*Pisum sativum* L.), ktorý je jedným z najstarších domestikovaných plodín pestovaných pre ľudskú spotrebu a pestuje sa už vo viac ako 90 krajinách. Tradičný hrach záhradný sa predáva ako zelená zelenina s nedozretými strukmi a semenami. Hrach sa vyznačuje vysokým zdrojom rastlinných bielkovín pre náš organizmus, a v posledných rokoch sa zvýšil vedecký a priemyselný záujem o túto strukovinu. Rastliny hrachu sú nenáročne na teplo a dokážu tolerovať aj nižšie teploty počas klíčenia, a sú tak vynikajúcou alternatívou pre chladné oblasti, ktoré nie sú vhodné na produkciu sóje. Práve vďaka výbornej dostupnosti a lacnej produkcii sa hrach v súčasnej dobe začal využívať ako zdroj komerčných bielkovín. Na svetových trhoch sa vyskytujú rôzne druhy komerčného hrachového proteínu, môžu byť žltej, či zelenej farby. Výroba hrachového proteínu zahŕňa niekoľko fáz. Hrachové izoláty môžeme získať enzymatickou cestou, alebo kombinovanou úpravou. Najprv sa mechanicky odstráni vonkajšia šupka hrachu. Následne sa hrach rozomelie na jemnú múku, ktorá obsahuje škrob, vlákninu a bielkoviny. Hrachové bielkoviny sú od vlákniny a škrobu odstránené tzv. mokrou filtráciou. Následne sa tieto bielkoviny odstredia a vyzrážajú a vzniká proteínový izolát. V posledných rokoch množstvo štúdií pripisuje hrachu zdravotné výhody. Hrachový proteín sa vyznačuje veľmi dobrými emulgačnými, penivými, a želirujúcimi vlastnosťami, ktorými spĺňa kritéria, a radí sa tak medzi vhodnú surovinu pre výrobu alternatívnych náhrad mäsa. Chemické zloženie hrachu, môžeme vidieť v Tabuľke 1 (Dahl et al., 2012, Ge et al., 2020).

Tabuľka 1 Chemické zloženie hrachu (*Pisum sativum* L.) vyjadrená v % (Dahl et al., 2012)

Zloženie	Obsah (%)
Bielkoviny	21,2 – 32,9
Škrob	36,9 – 49,0
Rezistentný škrob	2,1 – 6,3
Amylóza	20,7 – 33,7
Celková vláknina	14 - 26
Nerozpustná vláknina	10 - 15
Rozpustná vláknina	2 – 9
Rozpustné sacharidy	5,3 – 8,7
Celkové lipidy	1,2 – 2,4
Popol	2,3 – 3,4

Tabuľka 2 Porovnanie profilov esenciálnych aminokyselín v hrachu, sóji, pšenici
Hodnoty v tabuľke sú uvedené v g na 100 g suroviny (Lu et al., 2020)

Aminokyselina	Hrach [g.100 g⁻¹]	Sója [g.100 g⁻¹]	Pšenica [g.100 g⁻¹]
Valín	2,7	2,2	2,3
Leucín	5,7	5,0	5,0
Izoleucín	2,3	1,9	2,0
Metionín	0,3	0,3	0,7
Fenylalanín	3,7	3,2	3,7
Tryptofán	0,8	1,6	1,2
Treonín	2,5	2,3	1,8
Lyzín	4,7	3,4	1,1
Histidín	1,6	1,5	1,4

MATERIÁL A METODIKA

Vychádzajúc z dát z prieskumu trhu sme pre experiment použili produkty firiem jedna (1) ktorý je podľa spotrebiteľov najznámejší a produkt firmy (2), ktorá je podľa prieskumu menej známa, respektíve sa s ňou stretla pomerne malá vzorka respondentov. Vzorka č. 1 boli pšeničné párky firmy 1 (Obrázok 1). Vzorka č. 2 predstavovala sójové párky firmy 2. Tretia vzorka bol produkt: mäsové párky (3) zakúpené v obchodnej sieti, tak ako aj predchádzajúce výrobky. Vzorku č. 4 sme zvolili hrachové párky, ktoré boli nami vyrobené.

Pri nutričnej analýze sme sa zamerali na stanovenie:

obsahu vody, (Príběla et al., 1984)

obsahu tuku, (Dubravický et al., 1989)

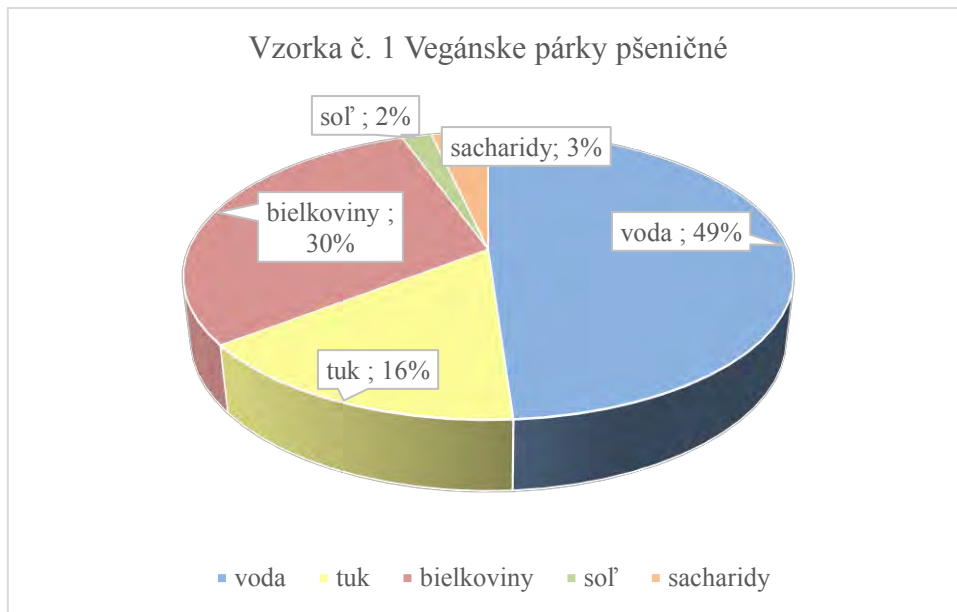
obsahu bielkovín, (STN ISO 1871, 1997)

obsahu soli, (Dubravický et al., 1989)

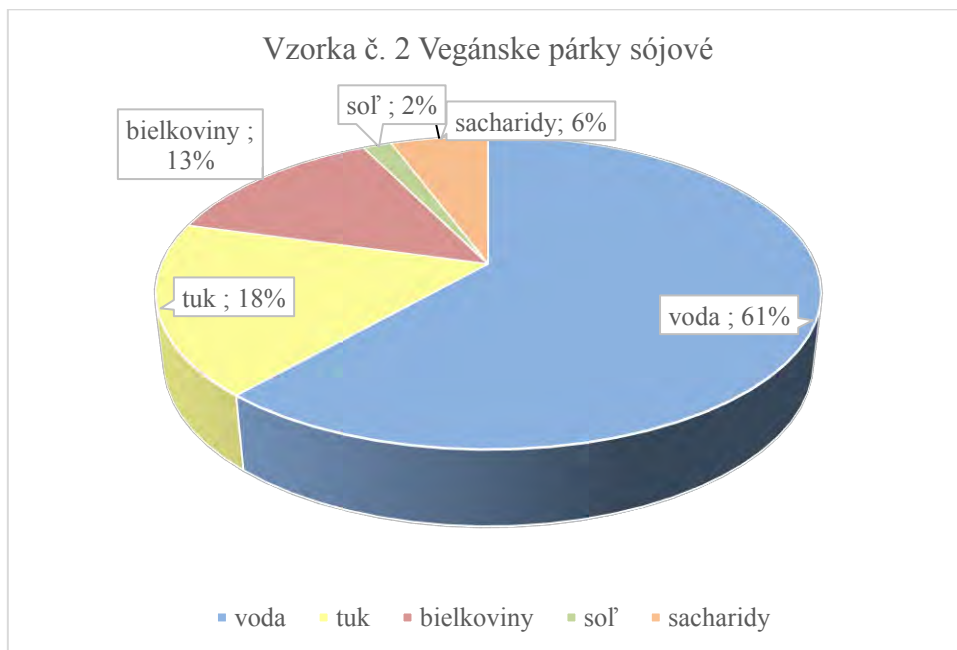
Základ pri Kjeldahlovej metóde je stanovenie celkového dusíka a následný prepočet na obsah bielkovín. Stanovenie bielkovín pozostáva z troch laboratórnych metód v poradí za sebou: mineralizácia, destilácia a titrácia. (STN ISO 1871, 1997), (Wiles et al., 1998).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

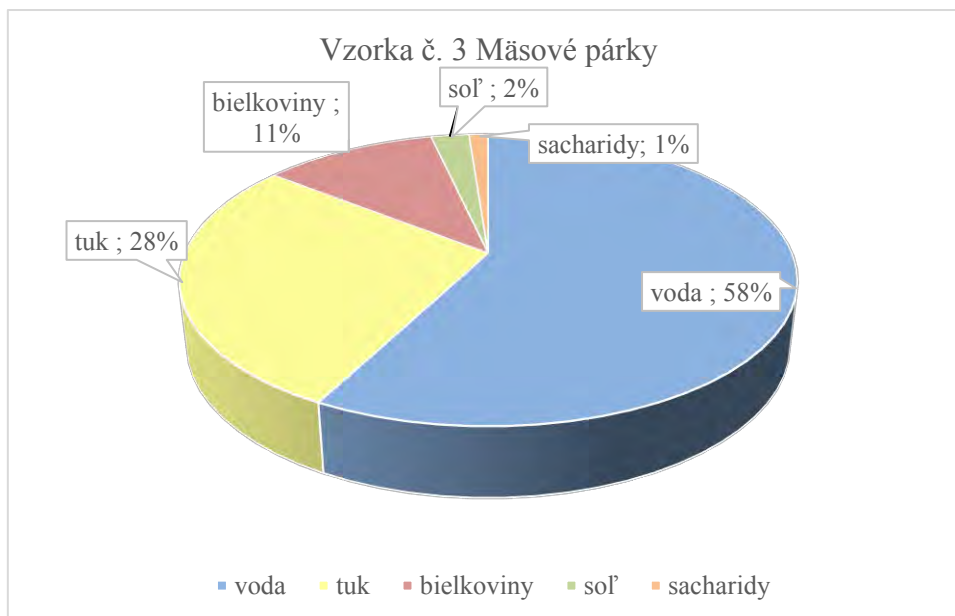
Pre stanovenie všetkých nutričných parametrov sme použili štyri vopred vybrané druhy vzorky párok. Značky párok sme si vybrali na základe výsledkov nášho online dotazníka. Naším cieľom bolo vybrať produkty rôznych značiek v závislosti od rôznej obľúbenosti a preferencii respondentov. V našej analýze sme porovnali nutričné parametre vo vegánskych výrobkoch voči klasickým mäsovým produktom. Tri z našich vzoriek boli vegánske a vzorka č. 3 predstavovala zástupcu mäsových párok. Prvá vzorka bola na báze pšenice. Vzorka č. 2 sú párky sójové. Našou poslednou vzorkou: vzorka č. 4 boli vegánske párky na báze hrachu. V príspevku uvádzame iba výsledky stanovenia obsahu bielkovín. Zmineralizovanú vzorku sme na základe metodiky pri stanovení bielkovín podrobili analýze v prístroji KJELDAHL AUTO 1030. Na obrázkoch uvádzame výsledky analýz. Najväčší obsah bielkovín bol zaznamenaný vo vzorka č. 1 Vegánske párky pšeničné s hodnotou 30,00 %. Vzorka č. 2 a vzorka č. 3 mali priemerný obsah bielkovín v rozmedzí 10 -13 %. Makromolekulové látky, bielkoviny, sú vo vzorke č. 2 v obsahu 13 % zatiaľ, čo mäsové párky obsahujú 11 % obsahu bielkovín. Najmenší obsah bielkovín mala vzorka č. 4 párky na hrachovej báze.



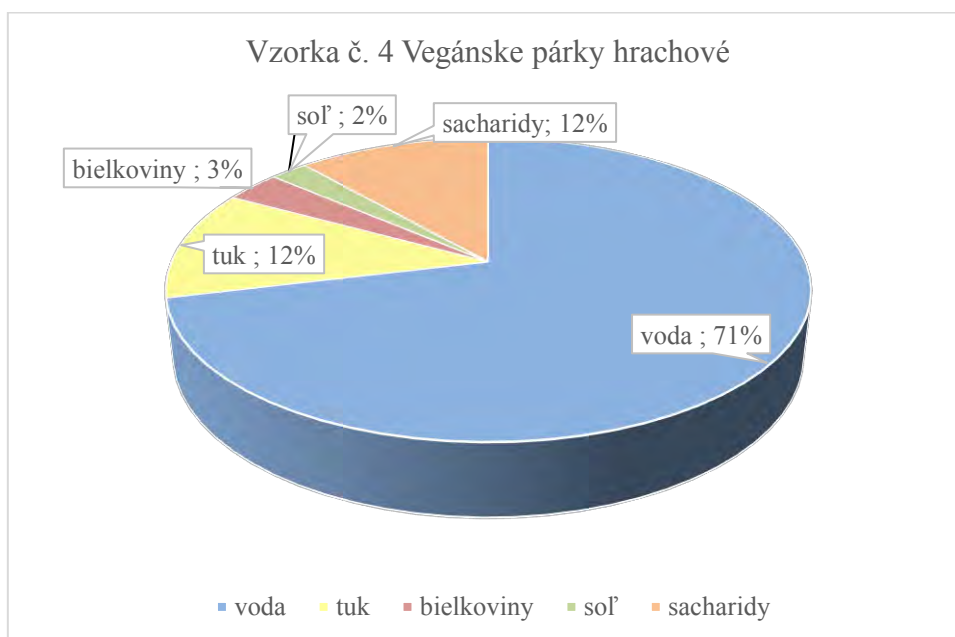
Obrázok 1 Nutričné zloženie vegánskej párky na pšeničnej báze



Obrázok 2 Nutričné zloženie vegánskej párky na sójovej báze



Obrázok 3 Nutričné zloženie mäsovej párky



Obrázok 4 Nutričné zloženie vegánskej párky na hrachovej báze

ZÁVER

Najčastejšími surovinami pre výrobu rastlinných náhrad mäsa sú sója, pšenica, hrach. Sója sa vyznačuje vysokým obsahom bielkovín, avšak negatívom tejto olejiny je, že predstavuje najčastejšie modifikovanú potravinu. Z tohto dôvodu tak konzumácia sóje a sójových produktov môže predstavovať pre konzumentov riziko vzniku rôznych alergií. Alternatívne náhrady mäsa na báze pšenice sú nevhodnou náhradou pre ľudí, ktorí trpia potravinovou intoleranciou na lepok. Práve z tohto dôvodu sme sa v našej práci rozhodli venovať alternatívam mäsových výrobkov na báze hrachu. Strukovinu z čeľade bôbovité začína využívať čoraz viac

potravinárskych podnikov, z dôvodu výborných emulgačných vlastností, pestrým bielkovinovým zložením a obsahom vlákniny. Medzi esenciálne aminokyseliny radíme lyzín, a práve lyzín je v hrachu vo väčšom zastúpení v bielkovinovom profile oproti iným spomínaným surovinám. Negatívom vegánstva nie je nedostatočná konzumácia bielkovín, ale nevhodný pomer zastúpenia jednotlivých aminokyselín vo výrobku (Ge et al., 2020; Bakaloudi et al., 2021). Z hľadiska obsahu bielkovín, stanovené Kjeldahlovou metódou sme zistili, že najväčší obsah bielkovín 30,00 % mali pšeničné párky. Napriek vysokému obsahu bielkovín v surovom hrachu je zaujímavým protikladným zistením, že obsah bielkovín bol v hrachových párkoch v priemernom percentuálnom zastúpení len 3,34 % vo výrobku. Na základe výsledkov senzorickej analýzy, spotrebiteľského dotazníka a poradovej skúšky (ktoré neboli súčasťou tejto publikácie) sme zistili, že svojou celkovou chuťou a chuťou najviac približujúcej sa k mäsovým párkom by mohol byť práve hrachový produkt najlepšou možnou rastlinou alternatívou mäsových produktov.

LITERATÚRA

- Allés, B., Baudry, J., Méjean, C., Touvier, M., Péneau, S., Hercberg, S., Kesse-Guyot, E. 2017. Comparison of sociodemographic and nutritional characteristics between self-reported vegetarians, vegans, and meat-Eaters from the NutriNet-Santé Study. In *Nutrients*, vol. 9, no. 9, i. 10, p. 1-18. ISSN 2072-6643.
- Bakaloudi, D. R., Halloran, A., Rippin, H. L., Oikonomidou, A. Ch., Dardavesis, T. I., Williams, J., Wickramasinghe, K., Breda, J., Chourdakis, M. 2021. Intake and adequacy of the vegan diet. A systematic review of the evidence. In *Clinical Nutrition*, vol. 40, i. 5, p. 3503-3521. ISSN 1532-1983
- Dahl, W. J., Foster, L. M., Tyler, R. T. 2012. Review of health benefits of peas (*Pisum sativum* L.). In *The British Journal of Nutrition*, vol. 108, i. S1, p. 3-10. ISSN 1475-2662.
- Dubravický, J., Smirnov, V., Šimko, P. 1989. *Laboratórium odboru II. Technológia živočíšnych neúdržných potravín*. Bratislava: Edičné stredisko SVŠT, 323 s. ISBN 80-227-0079-7.
- Ge, J., Sun, C. X., Corke, H., Gul, K., Gan, R. Y., Fang, Y. 2020. The health benefits, functional properties, modifications, and applications of pea (*Pisum sativum* L.) protein: Current status, challenges, and perspectives. In *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 19, i. 4, p. 1835-1876. ISSN 1541-4337.
- Key, T. J., Appleby, P. N., Rosell, M. S. 2006. Health effects of vegetarian and vegan diets. In *Proceedings of the nutrition society*, vol. 65, i. 1, p. 35-41. ISSN 1475-2719.
- Lu, Z. X., He, J. F., Zhang, Y. C., Bing, D. J. 2020. Composition, physicochemical properties of pea protein and its application in functional food. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 60, i. 15, p. 2593-2605. ISSN 1549-7852.
- Phillips, F. 2005. Vegetarian nutrition. In *British Nutrition Foundation*. [online]. 2005, vol. 30, i. 2, p. 132 -167 [cit.2022-01-20]. Dostupné na: https://www.nutrition.org.uk/attachments/106_Vegetarian%20nutrition.pdf >112
- Príbela, A., Šoman, L., Smirnov, V. 1984. *Návody na laboratórne cvičenie z analýzy potravín*. Bratislava: Slovenská vysoká škola technická v Bratislave, 388 s. ISBN 80-277-0079-7.
- Shi, M., Zhang, Z., Yu, S., Wang, K., Gilbert, R., Gao, Q. 2014. Pea starch (*Pisum sativum* L.) with slow digestion property produced using β -amylase and transglucosidase. In *Food Chemistry*, 2014, vol. 1, i. 1, p. 317-323. ISSN 1873-7072.
- STN ISO 1871: 1997. Poľnohospodárske potravinárske výrobky. Všeobecné pokyny na stanovenie dusíka metódou podľa Kjeldahla.
- Wiles, P. G., Gray, I. K., Kissling, R. C., Delahanty, C., Evers, J., Greenwood, K., Grimshaw, K., Hibbert, M., Kelly, K., Luckin, H., McGregor, K., Morris, A., Petersen, M., Ross, F., Valli, M. 1998. Routine analysis of proteins by Kjeldahl and Dumas methods: Review and interlaboratory study using dairy products. In *Journal of AOAC International*, vol. 81, i. 3, p. 620-632. ISSN: 1060-3271.

Pod'akovanie: Štúdiá prebiehala s podporou projektu VEGA No. 1/0549/24.

Kontaktná adresa: Ladislav Staruch, Ing. PhD., ÚPV, FCHPT STU, Radlinského 9, Bratislava, 812 37

VPLYV VYBRANÝCH RASTLINNÝCH SILÍC NA FAREBNÝ PROFIL HODNOTENÝ ELEKTRONICKÝM OKOM NA SOUS-VIDE MASLOVÚ TEKVICU

INFLUENCE OF SELECTED ESSENTIAL OILS ON COLOUR PROFILE DETERMINED BY ELECTRONIC EYE IN SOUS-VIDE BUTTERNUT SQUASH

*Jana Štefániková, Patrícia Joanidis, Lucia Benešová, Petra Borotová, Simona Kunová,
Ivana Mezeyová, Miroslava Kačániová*

Abstract: The present study aimed to evaluate the colour changes of sous-vide (SV) butternut squash using selected plant essential oils as natural additives. In this study, a temperature of 70 °C and a time of 25 minutes were used to prepare SV butternut squash. The next day after preparation, the colour profile of the samples was evaluated using the IRIS electronic eye and the Alpha M.O.S. software. In total, more than 25 colours were identified, of which 8 with more than 2 % representation in at least one sample can be considered significant. The results confirm that the addition of Oregano (*Origanum vulgare*) did not change the content of the majority colour compared to the control sample (colour 3968, $L^* = 68.424$, $a^* = 38.999$, $b^* = 73.424$). On the other hand, Wild thyme (*Thymus serpyllum*) and Thyme (*Thymus vulgaris*) changed the majority colour in the product to 3712 ($L^* = 66.228$, $a^* = 32.554$, $b^* = 70.795$). The addition of Wild thyme significantly ($\alpha \leq 0.05$) lowered the proportion of majority colour 3968 (10 %) compared to the control (15.4 %).

Keywords: electronic system IRIS, vacuum cooking, vegetable, pumpkin, *Lamiaceae*

ÚVOD

Metóda sous-vide (SV) je varenie potraviny vo vákuu pri nízkej teplote vo vodnom kúpeli (Baldwin, 2012), kedy potraviny zostávajú naďalej čerstvé (Roascio-Albistur a Gámbaro, 2018) a je možné ich skladovať v chladničke alebo v mraziacom boxe. V súčasnosti je niekoľko štúdií venovaných optimalizácii času a teploty pre správnu výrobu potravinového výrobku (Roldán et al., 2014; Kosewski et al., 2018; Ortuño et al., 2021) vzhľadom na kvalitu, textúru a senzorké vlastnosti. Nižšia teplota SV metódy minimalizuje koaguláciu tepelne citlivých zložiek na rozdiel od iných spôsobov varenia, predovšetkým grilovania, čím sa potláča nepríjemný zápach z oxidácie tukov a bielkovín (Latoch, 2020). Zároveň vákuové balenie môže znížiť stratu vody odparovaním (Dominiquez-Hernandez et al., 2018) a zachovať prítomnosť aromaticky prchavých látok (Latoch, 2020).

Zelenine môže metóda SV pomôcť zachovať zdraviu prospešné látky, ako sú polyfenoly a vitamín C, v porovnaní s bežným varením (Kosewski et al., 2018). Vzhľadom na to, že je veľký dopyt po zdravých potravinách zo strany spotrebiteľov, metóda SV spĺňa všetky predpoklady, aby sa v najbližšom období stala zaujímavou pre konzumenta, aj napriek tomu, že je v súčasnosti využívaná skôr v zariadeniach spoločného stravovania. Medzi bežne kulinársky používané ochucovadlá patria koreniny a bylinky. Ak sa z korenín a bylín pripraví rastlinné silice, známe nielen svojimi terapeutickými účinkami, ale aj protizápalovými, antioxidačnými, antimikrobiálnymi, antiseptickými, anti-malarickými, diuretickými či protirakovinovými vlastnosťami (Cox-Georgian et al., 2019), môže sa potravinám vyrobeným metódou SV predĺžiť trvanlivosť, zvýšiť mikrobiologická stabilita (Abel et al., 2020) alebo zabrániť oxidatívnym zmenám (Pateiro et al., 2018).

Aktivita rastlinných silíc závisí od niekoľkých parametrov, vrátane ich koncentrácií, možných synergických účinkov zlúčenín prítomných v silici, extrakčnej metódy použitej na

výrobu silice ale aj od druhu patogénnej baktérie prítomnej v potravine (Pateiro et al., 2018). Sensorická analýza má pri hodnotení nových produktov neodmysliteľnú úlohu (Ballco a Gracia, 2020), jej neodmysliteľnou súčasťou je aj hodnotenie farby výrobku.

Z tohto dôvodu sme sa v tejto práci zamerali na hodnotenie farebných profilov pripravenej SV maslovej tekvice s prídavkom vybraných rastlinných silíc pomocou inštrumentálnej analýzy, elektronickým okom IRIS VA400.

MATERIÁL A METODIKA

Maloparcelový pokus s tekvicou bol založený v areáli Botanickej záhrady (BZ) Slovenskej poľnohospodárskej univerzity (SPU) v roku 2022 (Nitra, Slovenská republika, 144 m n. m.). Pôda, kde bol pokus realizovaný, bola vyhnojená maštal'ným hnojom v dávke 40 t/ha v septembri 2021. Osivo bolo morené prípravkom Captan 80 WG. Dňa 5.5.2022 boli osivá vysiate priamo do pôdy v spone 200 × 80 cm. Počas sezóny prebehlo 4× plečkovanie, 4× okopávanie. Zber plodov použitých na analýzy bol realizovaný 22.9.2022.

Ošúpaná a umytá maslová tekvica bola nakrájaná na kocky zhruba o veľkosti 2×2×2 cm (Obrázok 1). Kocky tekvice v celkovej hmotnosti 200 g boli vákuovo zabalené (Maxxo VMProfi vákuová balička potravín, Hong Kong, China) do PE vreciek s prídavkom 2,4 ml rastlinnej silice rozpustenej v slnečnicovom oleji (0,05 % dúška materina, 0,05 % pamajorán obyčajný, 0,1 % dúška tymianová) (Hanus, s.r.o., Slovensko). V kontrolnej vzorke nebol pridaný olej ani silica. Takto pripravené vákuové balenia maslovej tekvice boli varené vo vodnom kúpeli pri teplote 70 °C po dobu 25 min., následne šokovo schladené v ľadovom kúpeli (1 °C) a skladované v chladničke (4 °C) do nasledujúceho dňa, kedy sa uskutočnilo meranie.

Pre hodnotenie farby vzoriek bolo použité elektronické oko IRIS VA400 (Alpha M.O.S., Francúzsko), ktoré disponuje CMOS kamerou (komplementárna kamera s metal-oxidovou polovodičovou technológiou) v uzatvorenom priestore bez tvorby tieňov a softvérom Alpha M.O.S., ktorý umožňuje dekódovať identifikované farby v CIELAB (L – svetlosť, a – červeno-zelená os, b – žlto-modrá os) ale aj RGB (R – červená, G – zelená, B – modrá) systéme. Celé 200 g balenie vzorky bolo umiestnené do prístroja a nasnímané. Pre každú vzorku boli urobené tri snímky, za súčasného otočenia každej kocky maslovej tekvice. Pre hodnotenie farebných spektier bola vypočítaná priemerná hodnota percentuálneho zastúpenia každej identifikovanej farby vo vzorke. Získané výsledky boli spracované pomocou štatistického softvéru XLSTAT (v.2023.1.6). Výsledky boli vyhodnotené pomocou Shapiro-Wilkovho testu, ANOVA a Tukeyho testu na hladine významnosti $\alpha \leq 0,05$.



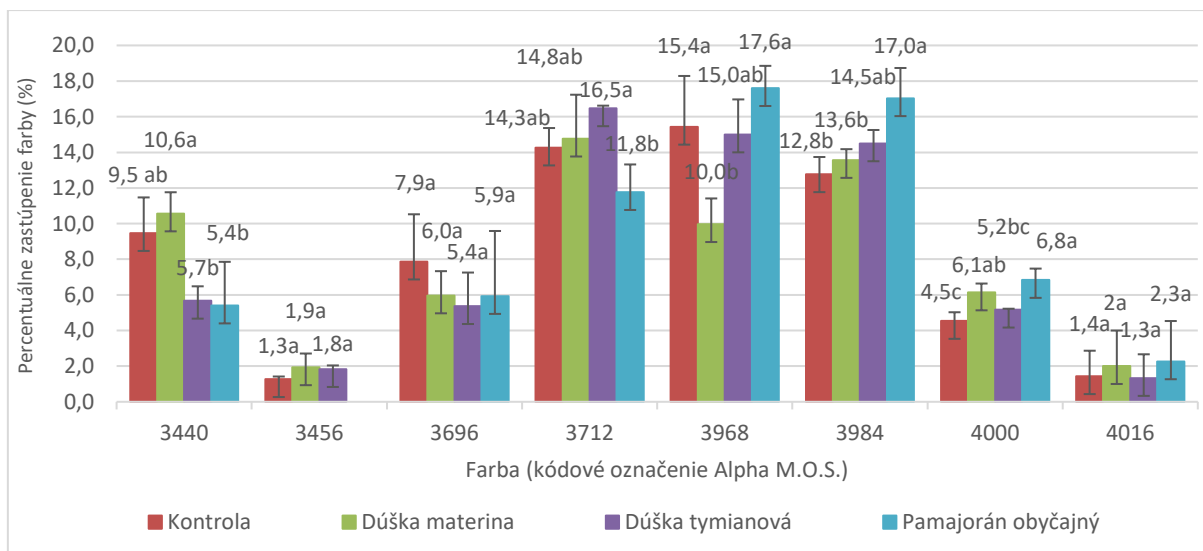
Obrázok 1: Očistená a umytá maslová tekvica, nakrájaná na kocky, vákuovo zabalená a analyzovaná elektronickým okom IRIS (Alpha M.O.S.).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tejto štúdií sme sa zamerali na sledovanie farebných zmien SV maslovej tekvice s prídavkom rastlinných silíc z čeľade hluchavkovitých (*Lamiaceae*), ktoré sme bližšie charakterizovali v predchádzajúcich štúdiách a porovnali s kontrolnou vzorkou, bez prídavku silice. Potvrdili sme vysokú antioxidačnú aktivitu (82,4 %), ako aj antimikrobiálnu aktivitu silice z dúšky materinej, kde hlavnou zložkou bol tymol 18,8 % (Galovičová et al., 2021a). Druhou testovanou silicou v tejto štúdií bola silica z dúšky tymianovej, ktorá tak isto obsahuje ako hlavnú zložku tymol 48,1 % a mala preukázanú antioxidačnú aktivitu 85,2 % a aj antimikrobiálnu aktivitu (Galovičová et al., 2021b). Treťou vybranou prírodnou silicou bola silica z pamajoránu obyčajného s potvrdenou antioxidačnou aktivitou 77,2 % a silnou antimikrobiálnou aktivitou (Galovičová et al., 2021c) a s hlavnou zložkou tymolom 61,45 % (Tančinová et al., 2018).

Celkovo bolo identifikovaných 25 farieb (≥ 1 %) pomocou elektronického oka v SV maslovej tekvici s prídavkom vybraných rastlinných silíc a v kontrolnej vzorke. Na Obrázku 2 je zobrazené priemerné percentuálne zastúpenie ($n=3$) ôsmich majoritných farieb (≥ 2 % aspoň v jednej testovanej vzorke) s kódovým označením podľa softvéru Alpha M.O.S. V kontrolnej vzorke bola detegovaná majoritná farba 3968 (15,4 %) a rovnako aj vo vzorke s prídavkom pamajoránu obyčajného (17,6 %).

Vzorky s prídavkom silice z dúšky materinej a dúšky tymianovej mali dominantnú farbu s označením 3712 (14,8 % a 16,5 %). Štatisticky významné rozdiely ($\alpha \leq 0,05$) boli zaznamenané vo farebnom spektre vzoriek s prídavkom vybraných silíc porovnaním s kontrolnou vzorkou. Prídavok silice dúšky materinej významne ($\alpha \leq 0,05$) znížil podiel farby 3968 (10 %) a navýšil obsah farby 4000 (6,1 %) oproti kontrole (15,4 % a 4,5 %). Na druhej strane, vzorky s prídavkom silice pamajoránu obyčajného mali vyšší obsah farby 3984 (17 %) a farby 4000 (6,8 %) oproti kontrole (12,8 % a 4,5 %) a zároveň absentovala farba 3456.



Obrázok 2 Priemerné percentuálne zastúpenie ($n=3$) majoritných farieb stanovených pomocou elektronického oka v SV maslovej tekvici s prídavkom rastlinných silíc a v kontrolnej vzorke. a,b,c – rozdielne písmená predstavujú rozdiely medzi vzorkami na štatisticky preukaznej úrovni ($\alpha \leq 0,05$)

V tabuľke 1 sú uvedené prislúchajúce súradnice v CIELAB a RGB systéme pre osem majoritných farieb identifikovaných softvérom Alpha M.O.S. po analýze elektronickým okom. Z uvedeného vyplýva, že farebný profil vzoriek pozostával z rôznych odtieňov oranžovej farby

(+a, +b súradnice a vyššia svetlosť L*). Gomes da Silva et al. (2019) sledovali vplyv rôznych techník varenia tekvice (*Cucurbita moschata* Duch) na bioaktívne zlúčeniny a senzorickú prijateľnosť. Venovali sa aj stanoveniu farby v etanolových extraktoch tekvice pomocou spektrofotometra a kolorimetra. Pre SV techniku použili 30 min. varenie pri 90 °C. Aj napriek tomu, že v práci použili inú odrodu tekvice a iné podmienky teploty a času pre SV techniku než my, možno poukázať na to, že v práci Gomes da Silva et al. (2019) mala stanovená svetlosť (L*) SV tekvice hodnotu 37,37, kontrolná vzorka v našej štúdií mala majoritnú farbu 3968, ktorej svetlosť je 68,424, čo predstavuje 1,8 násobný rozdiel.

Tabuľka 1 Kódové označenie majoritných farieb identifikovaných softvérom Alpha M.O.S. po analýze elektronickým okom IRIS v SV maslovej tekvici s prídavkom vybraných rastlinných silíc a v kontrolnej vzorke uvedené v CIELAB a RGB koordinátach

Identifikované majoritné farby (kódové označenie Alpha M.O.S.)	CIELAB systém			RGB systém		
	L*	a*	b*	R	G	B
3440	60,568	33,997	66,099	216	120	8
3456	64,115	25,895	68,243	216	136	8
3696	62,873	40,419	68,85	232	120	8
3712	66,228	32,554	70,795	232	136	8
3968	68,424	38,999	73,424	248	136	8
3984	71,832	31,142	75,424	248	152	8
4000	75,434	23,169	77,633	248	168	8
4016	79,192	15,191	80,025	248	184	8

Hodnotenie farby pomocou elektronického oka IRIS umožňuje získať farebné spektrum analyzovanej vzorky, preto možno svetlosť testovaných vzoriek uvádzať v rozsahu 60,568 – 79,192. Hong et al. (2014) hodnotili farbu SV mrkvy pripravenej pri rôznej teplote a čase, avšak hodnotenie farby bolo kolorimetricky a pre každú vzorku mali jednu koordinátu L*, a*, b*, rovnako ako Gomes da Silva et al. (2019). Nie je dostupná štúdia, ktorá by sa venovala zmene farby SV maslovej tekvice vplyvom prídavku rastlinnej silice. A nie je doposiaľ dostupná literatúra, v ktorej by sa kolektív autorov venoval hodnoteniu farebných zmien pomocou elektronického oka, alebo inej metodiky umožňujúcej získať komplexné farebné profily vzoriek.

ZÁVER

V práci sme sa zamerali na hodnotenie farebných zmien vplyvom vybraných rastlinných silíc pri príprave sous-vide maslovej tekvice. Prídavok silice z pamajoránu obyčajného neovplyvnil majoritnú farbu výrobku v porovnaní s kontrolou. Avšak použitím silice z dúšky materinej a dúšky tymianovej došlo k zmene dominantnej farby výrobku. Hodnotenie farby bolo uskutočnené elektronickým okom IRIS, ktoré poskytuje farebné spektrum vzorky. Vďaka tomu v našej štúdií prezentujeme až osem najvýznamnejších farieb stanovených vo vzorkách s percentuálnym zastúpením každej farby pričom sme preukázali štatisticky významné rozdiely ($\alpha \leq 0,05$) v obsahu jednotlivých farieb. Farba je jeden zo znakov, na základe ktorého si

konzumenti vyberajú potraviny. Preto je dôležité pri výbere vhodnej rastlinnej silice, ako prírodného aditíva s antioxidačnou aktivitou, zohľadniť ich vplyv na farebný profil výrobku.

LITERATÚRA

- Abel, T., Boulaaba, A., Lis, K., Abdulmajjood, A., Plotz, M., Becker, A. 2020. Inactivation of *Listeria monocytogenes* in game meat applying sous vide cooking conditions. In *Meat Science* [online], vol. 167, pp. 108164 [cit. 2024-02-05]. Dostupné na: doi: 10.1016/j.meatsci.2020.108164
- Baldwin, D. E. 2012. Sous vide cooking: A review. In *International Journal of Gastronomy and Food Science* [online], vol. 1, no. 1, pp. 15-30 [cit. 2024-02-05]. Dostupné na: doi: 10.1016/j.ijgfs.2011.11.002
- Ballco, P., Gracia, A. 2020. An extended approach combining sensory and real choice experiments to examine new product attributes. In *Food Quality and Preference* [online], vol. 80, pp. 103830 [cit. 2024-02-05]. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodqual.2019.103830
- Cox-Georgian, D., Ramadoss, N., Dona, C., Basu, C. 2019. Therapeutic and Medicinal Uses of Terpenes. In *Joshee, N., Dhekney, S., Parajuli, P. (eds) Medicinal Plants*, Cham : Springer, pp. 333-359 [cit. 2024-02-05]. ISBN: 978-3-030-31268-8. Dostupné na: doi: 10.1007/978-3-030-31269-5_15.
- Dominguez-Hernandez, E., Salaseviciene, A., Ertbjerg, P. 2018. Low-temperature long-time cooking of meat: Eating quality and underlying Mechanisms. In *Meat Science* [online], vol. 143, pp. 104-113 [cit. 2024-02-05]. Dostupné na: doi: 10.1016/j.meatsci.2018.04.032
- Galovičová, L., Borotová, P., Štefániková, J., Valková, V., Kačániová, M. 2021c. Biological and antibiofilm activity of *Origanum vulgare* essential oil. In *Veda mladých 2021 - Science of Youth 2021. Zborník vedeckých prác : Proceedings of scientific papers*, pp. 21-39 [cit. 2024-02-05]. ISSN: 2585-7398. Dostupné na: doi: 10.15414/2021.9788055223384
- Galovičová, L., Borotová, P., Valková, V., Vukovic, N. L., Vukic, M., Štefániková, J., Ďúranová, H., Kowalczewski, P. L., Čmiková, N., Kačániová, M. 2021b. *Thymus vulgaris* Essential Oil and Its Biological Activity. In *Plants* [online], vol. 10, no. 9, pp. 1959 [cit. 2024-02-05]. Dostupné na: doi: 10.3390/plants10091959
- Galovičová, L., Borotová, P., Valková, V., Vukovic, N. L., Vukic, M., Terentjeva, M., Štefániková, J., Ďúranová, H., Kowalczewski, P. L., Kačániová, M. 2021a. *Thymus serpyllum* Essential Oil and Its Biological Activity as a Modern Food Preserver. In *Plantss* [online], vol. 10, no. 7, pp. 1416 [cit. 2024-02-05]. Dostupné na: doi: 10.3390/plants10071416
- Gomes da Silva, M. F., Machado de Sousa, P. H., Figueiredo, R. W., Gouveia, S. T., Severino Lima, J. S. 2019. Cooking effects on bioactive compounds and sensory acceptability in pumpkin (*Cucurbita moschata* cv. Leite). In: *Revista Ciência Agronômica* [online], vol. 50, no. 3, pp. 394-401 [cit. 2024-02-05]. Dostupné na: doi: 10.5935/1806-6690.20190047
- Hong, Y-K., Uhm, J-T., Yoon, W. B. 2014. Using Numerical Analysis to Develop and Evaluate the Method of High Temperature Sous-Vide to Soften Carrot Texture in Different-Sized Packages. In: *Journal of Food Science* [online], vol. 79, no. 4., pp. E546-E561 [cit. 2024-02-05]. Dostupné na: doi: 10.1111/1750-3841.12427
- Kosewski, G., Górna, I., Bolesławska, I., Kowalówka, M., Więckowska, B., Główska, A. K., Morawska, A., Jakubowski, K., Dobrzyńska, M., Miszczuk, P., Przysławski, J. 2018. Comparison of antioxidative properties of raw vegetables and thermally processed ones using the conventional and sous-vide methods. In *Food Chemistry* [online], vol. 240, pp. 1092-1096 [cit. 2024-02-05]. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodchem.2017.08.048
- Latoch, A. 2020. Effect of meat marinating in kefir, yoghurt and buttermilk on the texture and color of pork steaks cooked sous-vide. In *Annals of Agricultural Sciences* [online], vol. 65, no. 2, pp. 129-136 [cit. 2024-02-05]. Dostupné na: doi: 10.1016/j.aogas.2020.07.003
- Ortuño, J., Mateo, L., Rodríguez-Estrada, M. T., Bañón, S. 2021. Effects of *sous vide* vs grilling methods on lamb meat colour and lipid stability during cooking and heated display. In *Meat Science* [online], vol. 171, pp. 108287 [cit. 2024-02-05]. Dostupné na: doi: 10.1016/j.meatsci.2020.108287
- Pateiro, M., Barbar, F. J., Domínguez, R., Sant'Ana, A. S., Khaneghah, A. M., Gavahian, M., Gómez, B., Lorenzo, J. M. 2018. Essential oils as natural additives to prevent oxidation reactions in meat and meat products: A review. In *Food Research International* [online], vol. 113, pp. 156-166 [cit. 2024-02-05]. Dostupné na: doi: 10.1016/j.foodres.2018.07.014
- Roascio-Albistur, A., Gámbaro, A. 2018. Consumer perception of a non-traditional market on *sous-vide* dishes. In *International Journal of Gastronomy and Food Science* [online], vol. 11, pp. 20-24 [cit. 2024-02-05]. Dostupné na: doi: 10.1016/j.ijgfs.2017.10.002
- Roldán, M., Antequera, T., Hernández, A., Ruiz, J. 2014. Physicochemical and microbiological changes during the refrigerated storage of lamb loins *sous-vide* cooked at different combinations of time and temperature. In *Food Science and Technology International* [online], vol. 21, no. 7, pp. 512-522 [cit. 2024-02-05]. Dostupné na: doi: 10.1177/10820132145528

Tančinová, D., Mašková, Z., Foltinová, D., Štefániková, J., Árvay, J. 2018. Effect of essential oils of *Lamiaceae* plants on the *Rhizopus* spp. In: *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences* [online], vol. 12, no. 1, pp. 491-498 [cit. 2024-02-05]. Dostupné na: doi: 10.5219/921

Pod'akovanie: Táto práca vznikla vďaka finančnej podpore projektu č. 18-GASPU-2021 “Moderné postupy a technológie zvyšujúce kvalitu vybraného sous-vide potravinového modelu” Grantovej agentúry SPU v Nitre; vďaka podpore Agentúry na podporu výskumu a vývoja APVV-20-0058 „Potenciál rastlinných silíc z aromatických rastlín na lekárske použitie a na konzerváciu potravín“, vďaka podpore v rámci operačného programu Výskum a inovácie pre projekt: Podpora výskumných aktivít vo VC ABT, 313011T465, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja a 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: Jana Štefániková Ing., PhD., Výskumné centrum AgroBioTech, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko

A NEW SCREENING ELECTROCHEMICAL ASSAY FOR FIELD MONITORING OF FOOD ADDITIVE E120

Milan Sýs, Sali Muriqi, Libor Červenka

Abstract: For field monitoring of food additive E120 concentration levels in foods, a simple, reliable, and inexpensive screening electrochemical method has been developed that based on direct drop casting of 50 μL sample onto the surface of a commercially available screen-printed voltammetric sensor and subsequent anodic oxidation of the carminic acid present using square-wave voltammetry. Before each screening analysis, it is necessary to determine the pH of the target sample at least with indicator paper due to the statistically significant influence of pH on the current yields of the respective electrode reaction. The peak area response obtained could be calibrated within a linear range 1–50 mg per 100 mL^{-1} carminic acid characterised with coefficient of determination >0.9930 , a sensitivity of 2.181, 3.225, and 8.910 $\mu\text{AVmg}^{-1}\text{L}$ at pH 4, 3 and 2, respectively, and a detection limit of 2 mg L^{-1} carminic acid. Time-consuming optimization with a detailed interference study using a model lemonade, composited from a variety of possible ingredients and eventual contaminants, had to be included, which led to a significant simplification of the entire analytical procedure. Practical applicability of the developed screening electrochemical assay in the food safety control was successfully verified in analysis of candies, soft drinks, and alcoholic beverages. The determined E120 contents were in a good accordance with those obtained by the reference colorimetric method.

Keywords: carminic acid, disposable sensors, electrochemical assay, food colorants, field analysis

INTRODUCTION

As of autumn 2018, you will no longer find the term "cochineal" under the E120 designation, only carmine or carminic acid. Since carmine is insoluble in water, carminic acid is most often present in soft drinks and candies, where it acts as a food colorant. Both anthraquinone derivatives are obtained from grinded bugs to powder, namely from red nopal beetle (*Dactylopius coccus*). Anthraquinones, including carminic acid, are toxic by ingestion and may cause vomiting, diarrhea, kidney and liver damage, and allergic skin reactions (hives), as mentioned in National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information. For this reason, the E120 content is strictly regulated by law. According to the update from 46th Session of the Codex Alimentarius Commission (2023), the E120 content must not exceed 20 mg per 100 mL for liquid foods (soft drink, alcoholic beverage, fruit juice, jam, jelly, and marmalade) and 5–50 mg per 100 g for solid foods (soft candy, raw meat, cheese, salami, sausages, fish, and canned meat). As a rule, raw foods supposed for heat treatment can usually contain a higher amount of E120 food additive.

Despite the large number of already developed analytical methods for monitoring of E120 content in food (Alizadeh et al., 2022), a simple, reliable, and cheap screening analytical method, that could be used directly in the field monitoring without sample preparation, has not been introduced yet. In this contribution, a completely new electrochemical assay is therefore proposed, which is based on anodic oxidation of carminic acid in one sample drop casted onto a commercially available screen-printed carbon electrode (SCPE) using square-wave voltammetry (SWV). The necessary validation has to be included, in terms of sample matrix interference, accuracy, precision, and sensor's service life. These analytical parameters are critically evaluated and discussed below.

MATERIAL AND METODOLOGY

Ethanol, carminic acid, glucose, sucrose, fructose, sodium benzoate, citric acid, sodium citrate, sodium chloride, potassium monophosphate monobasic, anhydrous calcium chloride, magnesium chloride hexahydrate, caffeine, ascorbic acid, pyridoxine, and aluminium nitrate, all of purity higher than 95% (w/w), were purchased from Merck KGaA (Darmstadt, Germany). Ultrapure water characterised with resistivity lower than 18.3 M Ω cm was obtained from a Milli-Q[®] deionization unit from Merck Millipore (Burlington, USA).

The electrochemical cell assembly, comprised of a glassy carbon electrode (GCE) of disk diameter 3 mm (type 6.09395.014) from Metrohm Česká republika, s.r.o. (Prague, Czech Republic) as working electrode, a reference silver/silver chloride electrode with a salt bridge containing 3 mol L⁻¹ KCl, and platinum rod as an auxiliary electrode, was connected to potentiostat/galvanostat AUTOLAB model PGSTAT101 operated via software NOVA 1.11.0 version, all from abovementioned Metrohm company. This system was employed in investigation of carminic acid electrochemical behaviour in an aqueous environment imitating the composition of common soft drinks. For this purpose, a repetitive cyclic voltammetry of 500 μ mol L⁻¹ carminic acid in 0.1 mol L⁻¹ citrate buffers, differing in pH values, was performed in potential range from -0.3 to +1.0 V at scan rate of 50 mV s⁻¹ a potential step of 5 mV.

The itself voltammetric analysis with SPCE (type DRP-C110) from Metrohm DropSens (Oviedo, Spain) were carried out always in 50 μ L drop of each real sample and model lemonade using square-wave voltammetry (SWV) at a potential begin of 0 V, potential end of +0.8 V, potential step (E_{step}) of 0.005 V, amplitude potential (E_{ampl}) of 0.025 V, equilibrium time (t_{eq}) of 5 s, and frequency (f) of 10 Hz. A calibration curve method (1–50 mg per 100 mL) was used to determine E120 content in randomly selected food products. As demonstrated in Figure 1, SPE used was connected to an EmStat USB potentiostat trough a sensor connector operated via PSTrace 4.8 software, all from PalmSens BV (Houten, Netherlands).

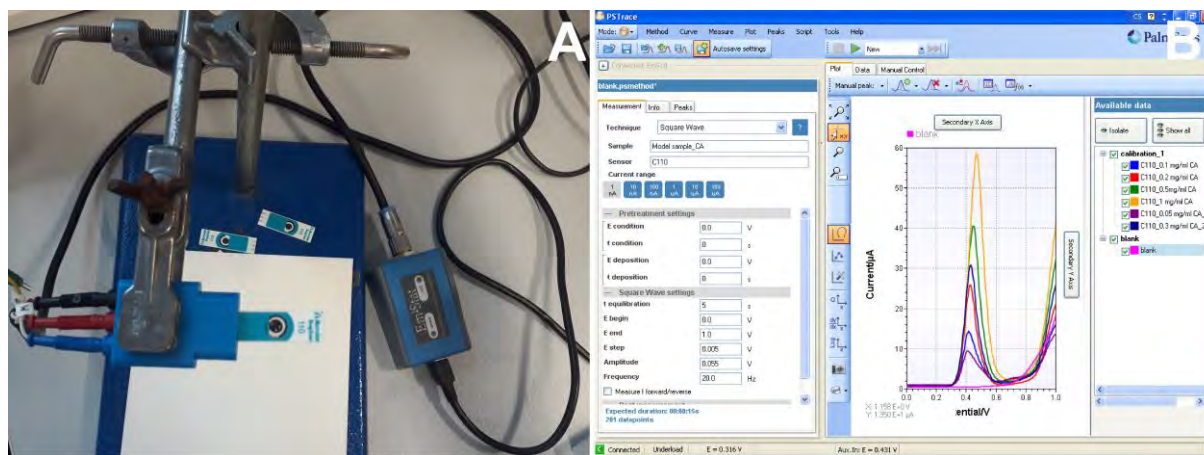


Figure 1 SPCE (type DRP-C110) with 50 μ L soft drink dropped connected to EmStat USB potentiostat (A) and PSTrace 4.8 software with voltammetric curves obtained during calibration measurements (B).

The model lemonade with a volume of 500 mL was composited from 27.5 g sucrose, 2.76 g fructose, 2.75 g glucose, 0.0757 g sodium benzoate, 1.5 g citric acid, 0.071 g sodium citrate, 0.255 g sodium chloride, 0.255 potassium chloride, 0.205 g potassium monophosphate monobasic, 0.055 g caffeine, 0.015 g pyridoxine, and 0.1 g carminic acid. Within detailed interference study, this soft drink was enriched with other ingredients, such as 0.069 g aluminium, 0.104 g magnesium, and 0.069 g calcium salt, 10 mL pure ethanol, and 0.850 g

ascorbic acid. Furthermore, the model lemonade was saturated with CO₂ using a carbonated sparkling water maker.

First, the selected candy for analysis was weighed, then transferred to a 10 mL volumetric flask, filled with 0.1 mol L⁻¹ citric buffer (pH 2) up to mark, and sonicated until whole candy was dissolved. Without subsequent filtration, 50 μL of the resulting sample solution was drop-casted onto SPCE and analysed using SWV.

A rapid colorimetric assay, being recommended as the reference methods for determination of E120 in soft drinks (Marshall, et al., 1974), was used. The corresponding measurements employing visible spectrophotometry (VIS) were performed in 1 cm quartz cuvette (Fisher Scientific, Pardubice, Czech Republic) using a spectrophotometer UV2450 (Shimadzu, Kyoto, Japan) operated via the UV-Probe software. A method of calibration curve (1–20 mg carminic acid per 100 mL) was used for determination of E120 content in real samples, when the maximum adsorption band appears at a wavelength of 492 nm.

All real samples were purchased from Czech stores. Analysis of model lemonade, soft drinks, and an alcoholic beverage was always five times repeated ($n = 5$) and the final results were calculated and presented as confidence intervals $\bar{x} \pm st_{1-\alpha}/\sqrt{n}$ where \bar{x} is the arithmetic mean, s the standard deviation, and $t_{1-\alpha}$ the critical value of Student's t -distribution for ten (4 degrees of freedom) determinations (2.776) at a significance level α of 0.05 (95% probability). Finally, y -intercept significance of the calibration curve constructed from the average of five replicate measurements ($n = 5$) at the SPCE was determined by means of data analysis *via* the Microsoft Excel 2016 version.

RESULTS AND DISCUSSION

In aqueous and aqueous-ethanol mixtures, the carminic acid displayed quasi-reversible waves in cyclic voltammograms which show the shift of the redox peak potentials to more negative values with increasing the pH, as evident from Figure 2.

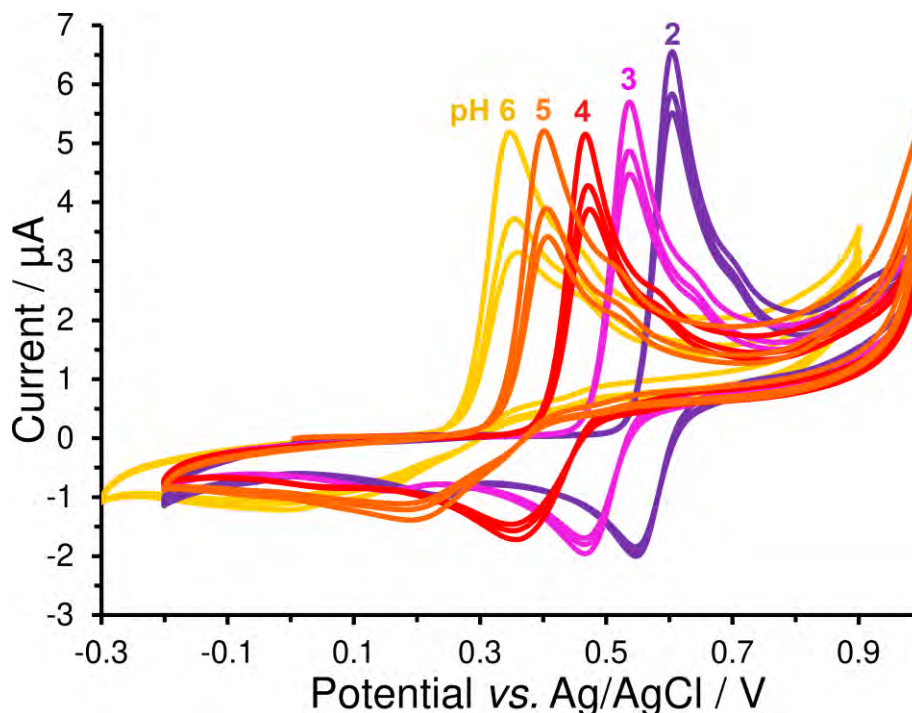


Figure 2 Repetitive cyclic voltammograms (3 cycles) of 500 μmol L⁻¹ carminic acid recorded on GCE in different 0.1 mol L⁻¹ citrate buffers at scan rate of 50 mV s⁻¹.

This phenomenon is caused by easier deprotonation of hydroxyl groups in an alkaline environment and their subsequent anodic oxidation to form the corresponding quinone counterpart with the participation of two electrons (Figure 3), which is typical for naphthazarin (5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone) and similar hydroxyanthraquinones (Yao et al., 2017; Brousse et al., 2018). The corresponding peak current responses also significantly depended on the chosen pH of the working medium, while the highest current yields of electrode reactions can be achieved in a strongly acidic environment. Unfortunately, this fact must be kept in mind during real analysis.

Hence, the pH of analysed soft drinks was determined to vary from 2.8 to 4, which reflects their composition, especially the presence of citric acid, ascorbic acid, phosphoric acid, and sodium benzoate in the mixture. To correctly assign the cutoff values of current response for 20 mg E120 per 100 mL at different pHs (Table 1), it will be necessary to approximately estimate the pH of the analyzed soft drinks and alcoholic beverages at least using pH indicator paper. For solid samples, such as sausages and candies, the pH is given by the used 0.1 mol L⁻¹ citrate buffer into which E120 will be released during sample pretreatment.

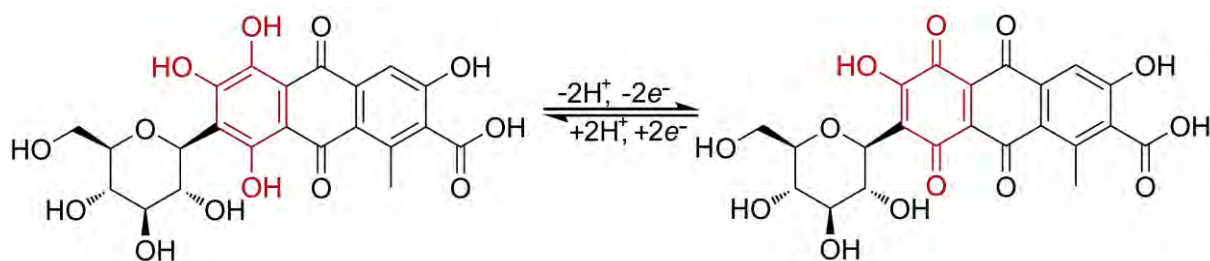


Figure 3 The reversible electrochemical reaction of carminic acid (Alizadeh et al., 2022).

Within optimisation of the electrochemical detection, SWV parameters obtained were deliberately not chosen, in order to guarantee the widest possible linear range (1–50 mg per 100 mL⁻¹) that would cover the commonly occurring E120 content of foods (Figure 4). Therefore, potential range from 0 to +0.8 V, $E_{\text{step}} = 5$ mV, $E_{\text{ampl}} = 25$ mV, $t_{\text{eq}} = 5$ s, and $f = 10$ Hz were considered as an acceptable compromise. The peak area response (A_p) obtained could be calibrated within a linear range 1–50 mg per 100 mL⁻¹ carminic acid characterised with coefficients of determination higher than 0.9930, a sensitivity of 2.181, 3.225, and 8.910 $\mu\text{AVmg}^{-1}\text{L}$ at pH 4, 3 and 2, respectively, statistically insignificant y-intercepts, and a detection limit of 2 mg L⁻¹ (4×10^{-6} mol L⁻¹) carminic acid. Due to passivation of the working electrode surface, manifested in the gradual decrease of the signal during repeated analysis, SPCE seemed to be used only for disposable application. Fortunately, it has been shown that it is possible to renovate the surface using repetitive cyclic voltammetry (15 cycles) in 0.5 mol L⁻¹ H₂SO₄ at potential range from 0 to +1 V and scan rate of 50 mV s⁻¹.

Table 1 Cutoff values of peak current responses for 20 mg per 100 mL E120 food additive at different pH.

pH	2	3	4	5
A_p (μAV)	1.533 ± 0.050	0.865 ± 0.036	0.536 ± 0.021	0.539 ± 0.018
<i>Notes:</i> Values given as confidence intervals $\bar{x} \pm st_{1-\alpha}/\sqrt{n}$, where \bar{x} is the arithmetic mean, s the standard deviation, and $t_{1-\alpha}$ the critical value (2.776) of Student's t -distribution for 5 repetitions (4 degrees of freedom) of each analysis at $\alpha = 0.05$.				

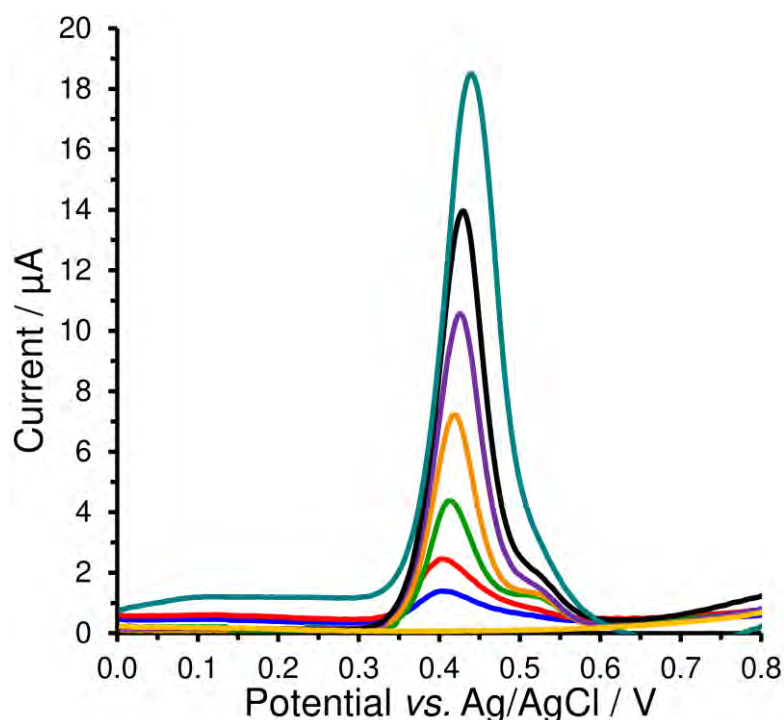


Figure 4 Square-wave voltammograms of 0, 1, 3, 5, 10, 20, 30, and 50 mg carminic acid per 100 mL model lemonade recorded on SPCE (type DRP-C110) at $E_{\text{step}} = 5 \text{ mV}$, $E_{\text{ampl}} = 25 \text{ mV}$, $t_{\text{eq}} = 5 \text{ s}$, and $f = 10 \text{ Hz}$.

The precision of the developed screening electrochemical assay was determined using repetitive analyses of the model lemonade containing maximally allowed carminic acid content (20 mg per 100 mL) to be 3.5 % relative standard deviation. As for accuracy, it was verified in the framework of the analysis of the model lemonade, soft drinks, and candies. As shown in Table 2, the developed electrochemical test is able to provide statistically comparable results with the reference colorimetric method, which demonstrates its potential use in the food safety control.

Table 2 Comparison of the developed electrochemical assay with colorimetric reference method in analysis of several foodstuffs.

Soft drinks	SWV (mg per 100 mL)	VIS (mg per 100 mL)	Allowed content (mg per 100 mL)
Model lemonade	21.55 ± 0.89	21.03 ± 0.06	20
Aloe Vera watermelon	9.29 ± 0.21	9.12 ± 0.05	20
Tiger watermelon	4.82 ± 0.23	5.04 ± 0.13	20
Tiger strawberry	2.24 ± 0.19	2.50 ± 0.08	20
Relax strawberry	2.77 ± 0.12	2.69 ± 0.05	20
Candies	SWV (mg per 100 g)	VIS (mg per 100 g)	Allowed content (mg per 100 g)
MandM	2.765 ± 0.08	2.717 ± 0.05	30
Tutti frutti	3.701 ± 0.17	3.912 ± 0.06	30

Notes: Values given as confidence intervals $\bar{x} \pm st_{1-\alpha}/\sqrt{n}$, where \bar{x} is the arithmetic mean, s the standard deviation, and $t_{1-\alpha}$ the critical value (2.776) of Student's t -distribution for 5 repetitions (4 degrees of freedom) of each analysis at $\alpha = 0.05$.

CONCLUSION

In this post, it has been shown that square-wave voltammetry in combination with commercially available screen-printed sensor offers an effective electroanalytical tool for reliable determination of E120 food additive in soft drinks, alcoholic beverages, and candies. The sensor together with a vial of 0.5 mol L⁻¹ sulfuric acid for sensor renovation, a vial with pure 0.1 mol L⁻¹ citrate buffer (pH 2), pH indicator papers, and list of peak current responses for 20 mg carminic acid per 100 mL at different pH, could be served as portable screening kit for field monitoring in the food safety control.

REFERENCES

- 46th Session of the Codex Alimentarius Commission (2023) [cit. 2024-02-28]. Dostupné na <https://www.fao.org/gsfonline/additives/details.html?id=89&d-3586470-s=2&d-3586470-o=1&lang=>
- Alizadeh, M., Ersin Demir, Aydogdu, N., Zare, N., Karimi, F., Kandomal, S. M., Rokni, H., Ghasemi, Y. 2022. Recent advantages in electrochemical monitoring for the analysis of amaranth and carminic acid as food color. In Food and Chemical Toxicology [online], vol. 163, 112929. [cit. 2024-03-01]. ISSN 1873-6351. Dostupné na: doi: 10.1016/j.fct.2022.112929
- Brousse, T., Cougnon, C., Bélanger, D. 2018. Grafting of quinones on carbons as active electrode materials in electrochemical capacitors. In Journal of the Brazilian Chemical Society [online], vol. 29, pp. 989–997. [cit. 2024-02-28]. ISSN 1678-4790. Dostupné na: doi: 10.21577/0103-5053.20180015
- Marshall, P. N., Horobin, R. W. 1974. A simple assay procedure for carmine and carminic acid samples. In Stain Technology [online], vol. 49, pp. 19–28. [cit. 2024-02-28]. ISSN 1473-7760. Dostupné na: doi: 10.3109/10520297409116931
- Yao, M., Umetani, S., Ando, H., Kiyobayashi, T., Takeichi, N., Kondo, R., Takeshita H. T. 2017. Rechargeable organic batteries using chloro-substituted naphthazarin derivatives as positive electrode materials. In Journal of Materials Science [online], vol. 52, pp. 12401-12408. [cit. 2024-02-28]. ISSN 1573–4803. Dostupné na: doi: 10.1007/s10853-017-1368-z

Acknowledgments: Financial support from Faculty of Chemical Technology, University of Pardubice (project No. SGS_2024_004) are gratefully acknowledged.

Contact address: University of Pardubice, Faculty of Chemical Technology, Department of Analytical Chemistry, Studentská 573, 532 10 Pardubice, Czech Republic

MIKROBIOLOGICKÁ KVALITA CEREÁLNYCH VÝROBKOV S PRÍDAVKOM VČELÍCH PRODUKTOV MICROBIOLOGICAL QUALITY OF CEREAL PRODUCTS SUPPLEMENTED WITH BEE PRODUCTS

*Viktória Zachar Lovászová, Soňa Felšöciová, Ivana Timoracká, Martina Fikselová,
Simona Kunová*

Abstract: The aim of the present study was to investigate the microbiological quality of cereal products supplemented with bee products. Samples made from oats, walnuts, raisins, and floral honey were stored at laboratory temperature for 24 hours, 1 month and 3 months. Microbiological quality was analysed using microbiological indicators such as total plate count, coliform bacteria, filamentous microscopic fungi and yeast and lactic acid bacteria. Microorganisms were identified using the MALDI-TOF MS Biotyper instrument. The microbiological analysis confirmed that the microbiological quality of products supplemented with honey, changes after prolonged storage. After three months of storage, the total plate count, coliform bacteria and lactic acid bacteria decreased. Conversely, the count of filamentous microscopic fungi and yeast increased after a three-month storage period. After 3 months of storage, no lactic acid bacteria were detected in any dilution used. These microbiological results demonstrate the antimicrobial properties of honey and show that honey has self-cleaning and microorganism-eliminating capabilities, improving food quality.

Keywords: honey, oat flakes, walnuts, raisins, microbiological analysis, MALDI-TOF MS Biotyper

ÚVOD

Vyhláška Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky z 26. januára 2012 o mede ustanovuje požiadavky na získavanie, výrobu a dovoz medu, na manipuláciu s ním a jeho uvádzanie na trh. Vyhláška definuje med ako prírodnú sladkú látku produkovanú včelou medonosnou (*Apis mellifera*) z nektáru rastlín, výlučkov živých častí rastlín alebo výlučkov hmyzu cicajúceho živé časti rastlín, ktorý včely zbierajú, pretvárajú a obohacujú vlastnými špecifickými látkami, ukladajú, zahusťujú, uskladňujú a ponechávajú v plástoch, aby vyzrel.

Med je komplexná funkčná a terapeutická potravina so zdraviu prospešnými vlastnosťami charakterizovaná vysokou koncentráciou sacharidov, ako je fruktóza, glukóza, kestóza, izomaltóza, izomaltotrióza a panóza (Khataybeh et al., 2023).

Med je nasýtený roztok cukrov (až 80 % z celkového zloženia medu) obohatený o ďalšie minoritné zložky, vrátane aminokyselín, peptidov, proteínov, enzýmov, kyselín, laktónov, minerálov a polyfenolov. Tieto zložky, ktoré sa v mede nachádzajú v nízkych koncentráciách, okrem toho, že determinujú chuť, vôňu a farbu medu, sú nositeľmi širokého spektra zdraviu prospešných a terapeutických vlastností (Deglovič et al., 2022).

Med je potravinový výrobok vyrobený z rôznych kvetinových zdrojov, celosvetovo používané pre ľudské zdravie a pohodu vďaka svojim nutričným prvkom (Vicá et al., 2021).

Ovsené zrnko (*Avena sativa* L.) je jednou z najdôležitejších obilnín a používa sa ako krmivo pre zvieratá, ľudskú stravu a využitie má aj pri zdravotnej starostlivosti. Tolerancia ovsa k vlhkému počasiu a kyslým pôdam, jeho odolnosť voči chorobám a nízka potreba hnojív a chemikálií počas pestovania sú dôvody jeho popularity v poľnohospodárstve. Štúdie o produktoch na báze ovsa preukázali, že ovos pozitívne ovplyvňuje ľudské zdravie znížením hladiny cholesterolu v krvi, znížením absorpcie glukózy a znížením rizika rakoviny. Okrem týchto dôvodov vedie k enormnému nárastu spotreby ovsených zŕn aj vysoký podiel rozpustnej

vlákniny v ich štruktúre a zvýšená informovanosť obyvateľstva o konzumácii väčšieho množstva vlákniny v strave. Toto viedlo k vytvoreniu nových produktov na báze ovsa, ako sú raňajkové cereálie a fermentované produkty z ovsa (Ozturk et al., 2017).

Vlašský orech (*Juglans regia*. L.) je plod najširšie rozšíreného orechového stromu na svete a je konzumovaný ako potravinu bohatá na živiny po celom svete už mnoho rokov. Vlašské orechy majú mnoho zdravotne prospešných vlastností, vrátane protizápalových a antioxidantných účinkov, majú potenciálne účinky na výskyt a priebeh ochorení, vrátane liečby nádorov a cukrovky (Gao et al., 2024).

Hrozienka sú relatívne zdravá pochutina, najmä v porovnaní s pochutinami s vysokým glykemickým indexom, a môžu mať prospešné účinky na ľudské zdravie pri chronických poruchách (Aali et al., 2024).

Cieľom predkladanej štúdie bolo sledovať mikrobiologickú kvalitu cereálnych výrobkov s prídavkom včelích produktov počas skladovania.

MATERIÁL A METODIKA

Predkladaná štúdia sa zaoberala mikrobiologickou kvalitou cereálnych výrobkov s prídavkom včelích produktov. Na mikrobiologickú analýzu sme použili cereálne výrobky vyrobené zmiešaním ovsených vločiek, vlašských orechov, hrozienok a medu. Včelie medy, ktoré sme používali na analýzy boli kvetové jednodruhové a to konkrétne: repkový, agátový a slnečnicový med. Medy pochádzali z obdobia rokov 2021 a 2022. Včelie medy pochádzali z juhu Slovenska, konkrétne z mesta Hurbanovo. Analýze sme podrobili 24 vzoriek. Vzorky sme si rozdelili podľa spôsobu a doby skladovania. Časť vzoriek sme vákuovo zabalili. Mikrobiologickú analýzu sme vykonali na vzorkách skladovaných 24 hodín, 1 mesiac a 3 mesiace. Vzorky boli skladované pri teplote 20 ± 1 °C. V tabuľke 1 je uvedené zloženie a balenie analyzovaných vzoriek.

Tabuľka 1 Charakteristika analyzovaných vzoriek

Označenie vzoriek	Vzorky balené za prístupu vzduchu	Označenie vzoriek	Vákuovo balené vzorky
1	Repkový med 2021 + ovsené vločky + orechy + hrozienka	1V	Repkový med 2021 + ovsené vločky + orechy + hrozienka
2	Agátový med 2022 + ovsené vločky + orechy + hrozienka	2V	Agátový med 2022 + ovsené vločky + orechy + hrozienka
3	Slnečnicový med 2021 + ovsené vločky + orechy + hrozienka	3V	Slnečnicový med 2021 + ovsené vločky + orechy + hrozienka
4	Slnečnicový med 2022 + ovsené vločky + orechy + hrozienka	4V	Slnečnicový med 2022 + ovsené vločky + orechy + hrozienka

Z mikrobiologických ukazovateľov sme stanovovali mikroorganizmy kultivovateľné pri 30 °C (CPM), počet koliformných baktérií (PKB), vláknité mikroskopické huby a kvasinky (VMH) a baktérie mliečneho kvasenia (BMK). Vzorky sme ďalej podrobili identifikácii jednotlivých druhov pomocou prístroja MALDI-TOF MS Biotyper. Na stanovenie mikroorganizmov kultivovateľných pri 30 °C (CPM) sme použili Plate Count Agar (PCA).

Tento typ agaru sa často používa na kultiváciu a počítanie mikroorganizmov v potravinách. PCA agar poskytuje živiny a podmienky, ktoré umožňujú rýchly rast a tvorbu viditeľných kolónií mikroorganizmov, čo umožňuje ich kvantifikáciu a identifikáciu. Na analýzu koliformných baktérií sme použili Violet Red Bile Lactose agar (VRBL). Tento agar je agar s kryštálovou violetou, neutrálnou červeňou a žľčovými soľami. Tento agar sa používa na selekciu a detekciu koliformných baktérií a *E. coli* v potravinách. Pri vláknitých mikroskopických hubách a kvasinkách sme využili Sabouraud dextrózový agar (SDA) s chloramfenikolom. Pri baktériách mliečneho kvasenia sme použili De Man–Rogosa–Sharpe agar (MRS). Toto médium je špeciálne vyvinuté na selektívnu kultiváciu mliečno-kvasinkových baktérií, ako sú *Lactobacillus*, *Lactococcus* a *Pediococcus*. Na stanovenie počtu kolónií tvoriacich jednotiek (KTJ) vo vzorkách, sme použili platňovú zried'ovacu metódu. Prvé základné riedenie (10^{-1}) sme si pripravili zmiešaním 5 g vzorky so 45 ml fyziologického roztoku. Po pripravení roztoku sme vzorky 30 minút homogenizovali (HAUK Technology & Development, Londýn, Veľká Británia).

Po kultivácii sme stanovili počet mikroorganizmov. Pri výpočte sme sa riadili platnými STN normami pre dané kategórie mikroorganizmov.

Po vykonaných kultiváciách a po spočítaní počtu kolónií sme si pripravili živnú pôdu s TSA agarom. Tryptic soy agar (TSA) agar obsahuje rastové médiá na kultiváciu baktérií. Je to univerzálne, neselektívne médium, ktoré poskytuje dostatok živín, pre širokú škálu mikroorganizmov. Do sterilných Petriho misiek sme si naliali 20 ml TSA agaru vytemperovaného na 45 °C. Agar na Petriho miskách sme nechali stuhnúť. Po stuhnutí sme z Petriho misiek odobrali pomocou sterilného bakteriálneho očka mikrobiálne kultúry. Túto kultúru sme preniesli na stuhnutý TSA agar. Pomocou čiarkovacej metódy sme danú kultúru rozotreli na agar. Ďalej sme kultivovali podľa stanovených podmienok.

Na začiatku sme si pripravili zásobný roztok. Do jednej skúmavky s „HCCA matrix portioned“ sme pridali 250 µl zásobného roztoku. Toto sme následne vortexovali, kým sa nerozpustili všetky kryštáliky matrice. Do Eppendorfových skúmaviek sme napipetovali 300 µl destilovanej vody. Biologický materiál sme odobrali z kultivačných misiek, preniesli sme ho do skúmavky s vodou a dobre premiešali. Potom sme napipetovali 900 µl etanolu a znovu obsah skúmavky dobre premiešali. Vzorky sme centrifugovali pri najvyšších otáčkach po dobu dvoch minút. Po scentrifugovaní sme zliali supernatant a znovu sme centrifugovali. Následne sme odstránili zvyšný etanol a pelet sme nechali niekoľko minút schnúť. K peletu sme napipetovali 50 µl 70 % kyseliny mravčej a dôkladne sme premiešali pipetovaním a vortexovaním. Po vortexovaní sme pridali 50 µl acetonitrilu a dôkladne premiešali. Znovu sme centrifugovali pri maximálnych otáčkach po dobu dvoch minút. Po centrifugovaní sme na MALDI doštičku napipetovali 1 µl supernatantu a nechali sme uschnúť. Po zaschnutí sme supernatant prekryli 1 µl roztoku MALDI matrice. Po uschnutí sme doštičku vložili do prístroja na identifikáciu.

Získané výsledky sú vyhodnotené formou grafov a tabuliek. Na základe výsledkov sme vyhodnotili základné štatistické údaje a to aritmetický priemer, maximum a minimum. Pri štatistickom vyhodnutení sme použijeme analýzu variácie (ANOVA).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

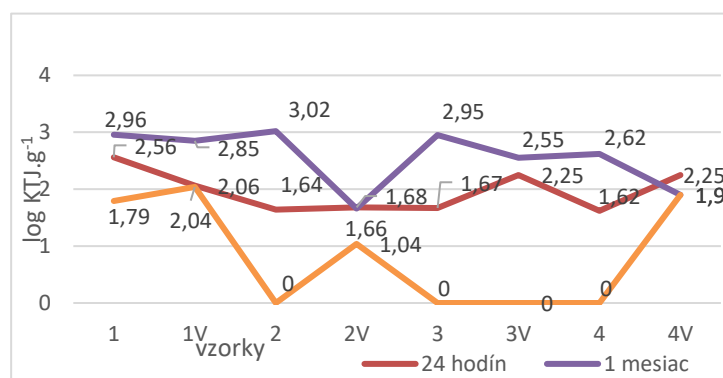
V práci sme skúmali mikrobiologickú kvalitu cereálnych výrobkov s prídavkom včelích produktov. Analyzovali sme 24 vzoriek. Prvú skupinu vzoriek sme analyzovali po skladovaní po dobu 24 hodín pri teplote 20 °C. Druhú skupinu vzoriek sme analyzovali 1 mesiac po skladovaní. Tretia skupina vzoriek bola analyzovaná po troch mesiacoch skladovania. Z mikrobiologických ukazovateľov sme stanovovali mikroorganizmy kultivovateľné pri 30 °C (CPM), počet koliformných baktérií (PKB), vláknité mikroskopické huby a kvasinky (VMH) a baktérie mliečneho kvasenia (BMK). Zamerali sme sa aj na identifikáciu jednotlivých typov

mikroorganizmov pomocou hmotnostnej spektrometrie MALDI-TOF MS Biotyper. Výsledky sme si rozdelili podľa skúmaných skupín mikroorganizmov a v závislosti od balenia. Všetky výsledky mikrobiologických ukazovateľov sme uviedli vo forme $\log \text{KTJ.g}^{-1}$.

Cieľom tejto štúdie bolo preskúmať mikrobiologickú kvalitu cereálnych výrobkov s prídavkom medu. Včelí med má antimikrobiologické vlastnosti a dokáže zastaviť rast niektorých mikroorganizmov. Mikrobiologická analýza potvrdila, že mikrobiologická kvalita produktov s prídavkom medu sa po dlhšej dobe skladovania mení. Po troch mesiacoch skladovania sa počet mikroorganizmov kultivovateľných pri 30 °C, počet koliformných baktérií a počet baktérií mliečneho kvasenia znížil. Naopak počet vláknitých mikroskopických húb a kvasiniek sa po dobe 3 mesačného skladovania zvýšil. Po 3 mesiacoch skladovania neboli detegované žiadne baktérie mliečneho kvasenia.

Počet mikroorganizmov kultivovateľných pri 30 °C vo vzorkách cereálnych výrobkov s prídavkom medu, bez vákuového balenia, skladovaných 24 hodín pri laboratórnej teplote sa pohyboval od 1,62 $\log \text{KTJ.g}^{-1}$ vo výrobkoch s prídavkom slnečnicového medu z roku 2022 do 2,56 $\log \text{KTJ.g}^{-1}$ vo výrobkoch s prídavkom repkového medu z roku 2021. Počet mikroorganizmov kultivovateľných pri 30 °C vo vzorkách cereálnych výrobkov s prídavkom medu, bez vákuového balenia, skladovaných 1 mesiac pri laboratórnej teplote sa pohyboval od 2,62 $\log \text{KTJ.g}^{-1}$ vo výrobkoch so slnečnicovým medom z roku 2022 do 3,02 $\log \text{KTJ.g}^{-1}$ vo výrobkoch s agátovým medom z roku 2022. Počet mikroorganizmov kultivovateľných pri 30 °C vo vzorkách cereálnych výrobkov s prídavkom medu, bez vákuového balenia, skladovaných 3 mesiace pri laboratórnej teplote sa pohyboval od <1 $\log \text{KTJ.g}^{-1}$ vo výrobkoch s agátovým aj slnečnicovým medom do 1,79 $\log \text{KTJ.g}^{-1}$ vo výrobkoch s repkovým medom z roku 2021 (obrázok 1).

Počet mikroorganizmov kultivovateľných pri 30 °C vo vzorkách cereálnych výrobkov s prídavkom medu, vákuovo zabalených, skladovaných 24 hodín pri laboratórnej teplote sa pohyboval od 1,68 $\log \text{KTJ.g}^{-1}$ v agátovom mede z roku 2022 do 2,25 $\log \text{KTJ.g}^{-1}$ v slnečnicovom mede z rokov 2021 aj 2022. Počet mikroorganizmov kultivovateľných pri 30 °C vo vzorkách cereálnych výrobkov s prídavkom medu, vákuovo zabalených, skladovaných 1 mesiac pri laboratórnej teplote sa pohyboval od 1,66 $\log \text{KTJ.g}^{-1}$ v agátovom mede z roku 2022 do 2,85 $\log \text{KTJ.g}^{-1}$ v repkovom mede z roku 2021. Počet mikroorganizmov kultivovateľných pri 30 °C vo vzorkách cereálnych výrobkov s prídavkom medu vákuovo zabalených, skladovaných 3 mesiace pri laboratórnej teplote sa pohyboval od 1,04 $\log \text{KTJ.g}^{-1}$ v agátovom mede z roku 2022 do 2,04 $\log \text{KTJ.g}^{-1}$ v repkovom mede z roku 2021 (obrázok 1).



Obrázok 1 Počet mikroorganizmov kultivovateľných pri 30 °C vo vzorkách cereálnych výrobkov

1-4 Vzorky balené za prístupu vzduchu, 1V-4V - vákuovo balené vzorky, 24 hodín – vzorky analyzované po 24 hodinách skladovania, 1 mesiac – vzorky analyzované po 1 mesiaci skladovania, 3 mesiace – vzorky analyzované po 3 mesiacoch skladovania

Pre potraviny náchylné na skazenie je obmedzenie rýchleho rastu mikroorganizmov, ako je celkový počet mezofilných baktérií, kľúčovou otázkou pre zdravie spotrebiteľov a poskytovanie bezpečnosti potravín v potravinárskom priemysle (Çetinkaya et al., 2021).

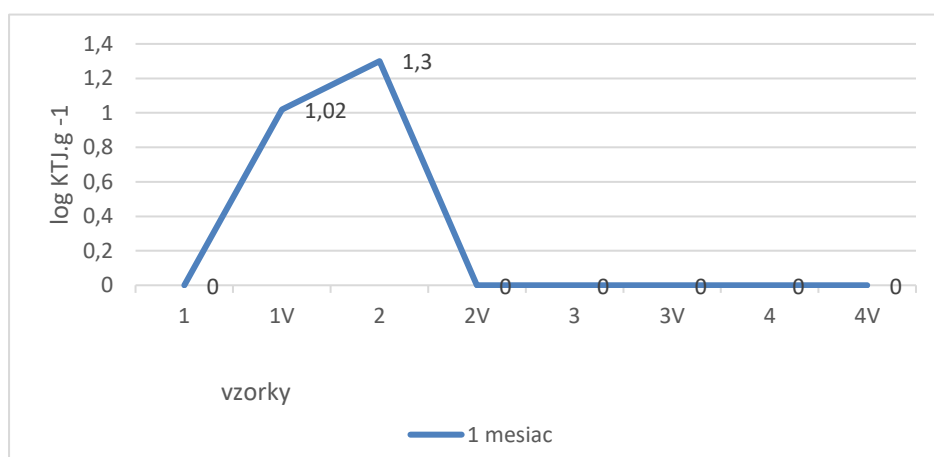
Med zvyčajne neobsahuje mikroorganizmy, pokiaľ nie je kontaminovaný. Nižší výskyt mikroorganizmov možno pripísať manipulácii, kvalite spracovania, skladovaniu, nižšiemu pH a nízkej vlhkosti. Nízke počty baktérií indikujú kvalitu medu v súvislosti s kritériami kontroly kvality stanovenými medzinárodnými normami (Laaroussi et al., 2020).

Med môže byť kontaminovaný mikroorganizmami nachádzajúcimi sa v peli, v nektáre, v tráviacom trakte včiel, vo vzduchu, v kvetoch alebo v prostredí. Podobne aj nevhodné postupy zberu medu a aj nevhodné umiestnenie úľov môže spôsobiť mikrobiologickú kontamináciu (Sereia et al., 2011).

Okrem obilninovej vlákniny a ďalších bioaktívnych zlúčenín sa väčšina obilninovo asociovaných baktérií nachádza vo vonkajších vrstvách jadra (endospermu) a predosvšetkým je sústredená v otrubách. Po zbere obilnín obsahujú zrná baktérie hlavne z čeľadi Pseudomonadaceae, Enterobacteriaceae, Microbacteriaceae, Micrococcaceae, Lactobacillaceae a Bacillaceae (už kurzívou len rod a druh, zase zmeny). Kontaminácia zrn počas skladovania, prepravy a spracovania ďalej ovplyvňuje mikrobiotu. Počet mikroorganizmov klesá počas mletia, ale výsledné frakcie sú často kontaminované baktériami z mlynárskeho zariadenia (Herranen et al., 2010).

Počet koliformných baktérií vo vzorkách cereálnych výrobkov s prídavkom medu, bez vákuového balenia, skladovaných 24 hodín pri laboratórnej teplote nebol detegovaný pri použitom riedení 10^{-1} . Počet koliformných baktérií vo vzorkách cereálnych výrobkov s prídavkom medu, bez vákuového balenia, skladovaných 1 mesiac pri laboratórnej teplote bol $1,30 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ vo výrobkoch s agátovým medom z roku 2022. V ostatných vzorkách koliformné baktérie po 1 mesiaci a po 3 mesiacoch skladovania neboli detegované (obrázok 2).

Koliformné baktérie vo vzorkách vákuovo balených cereálnych výrobkov s prídavkom medu, skladovaných 24 hodín pri laboratórnej teplote neboli detegované pri riedení 10^{-1} . Počet koliformných baktérií vo vákuovo balených vzorkách cereálnych výrobkov s prídavkom medu, skladovaných 1 mesiac bol $1,02 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ vo výrobkoch s repkovým medom z roku 2021. V ostatných vzorkách koliformné baktérie neboli detegované pri žiadnom použitom riedení (obrázok 2).



Obrázok 2 Počet koliformných baktérií vo vzorkách cereálnych výrobkov

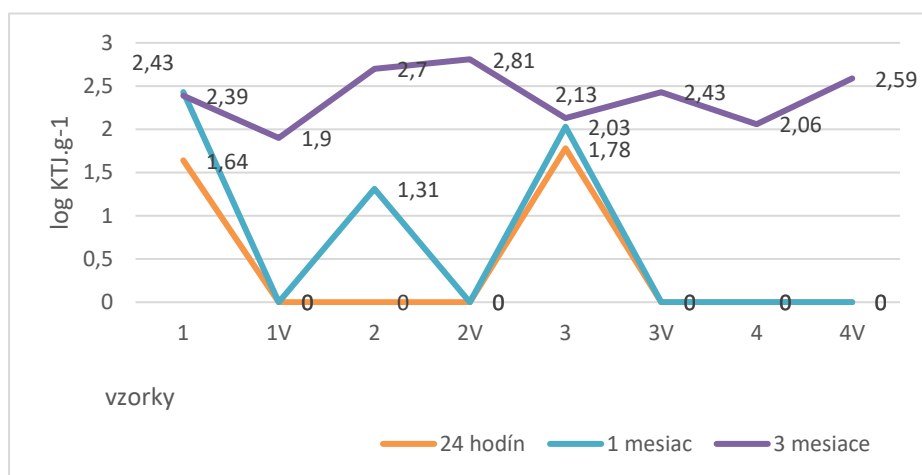
1-4 Vzorky balené za prístupu vzduchu, 1V-4V - vákuovo balené vzorky, 24 hodín – vzorky analyzované po 24 hodinách skladovania, 1 mesiac – vzorky analyzované po 1 mesiaci skladovania, 3 mesiace – vzorky analyzované po 3 mesiacoch skladovania

Dokonca aj med môže byť kontaminovaný patogénmi ako je *Salmonella* a spórami *Clostridium botulinum* typu G, *Staphylococcus aureus* a *Bacillus cereus* a koliformnými baktériami. Počiatočná záťaž mikroorganizmov a faktory ako obsah vlhkosti, teplota a doba skladovania priaznivo ovplyvňujú vznik fermentačných procesov v mede (Correa- Mosquera et al., 2022).

Med je tradičným a cenným produktom s preukázanými baktericídnymi, fungicídnymi a virucidálnymi vlastnosťami. Má široké spektrum účinku proti gram- pozitívnym a gram- negatívnym baktériám vrátane *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp. a *Klebsiella* spp. (Majkut et al., 2021).

Počet vláknitých mikroskopických húb a kvasiniek vo vzorkách cereálnych výrobkov balených za prístupu vzduchu, skladovaných 24 hodín pri laboratórnej teplote sa pohyboval od 1,64 log KTJ.g⁻¹ vo výrobkoch s repkovým medom z roku 2021 do 1,78 log KTJ.g⁻¹ vo výrobkoch so snečnicovým medom z roku 2021. Počet VMH a kvasiniek vo vzorkách cereálnych výrobkov balených za prístupu vzduchu, skladovaných 1 mesiac sa pohyboval od 1,31 log KTJ.g⁻¹ vo výrobkoch s agátovým medom z roku 2022 do 2,43 log KTJ.g⁻¹ vo výrobkoch s repkovým medom z roku 2021. Počet VMH a kvasiniek vo vzorkách výrobkov balených za prístupu vzduchu, skladovaných 3 mesiace sa pohyboval od 2,06 log KTJ.g⁻¹ vo výrobkoch so snečnicovým medom z roku 2022 do 2,70 log KTJ.g⁻¹ vo výrobkoch s agátovým medom z roku 2022 (obrázok 3).

VMH a kvasinky vo vákuovo balených vzorkách cereálnych výrobkov s prídavkom medu, skladovaných 24 hodín a 1 mesiac neboli detegované pri riedení 10⁻¹. Počet VMH a kvasiniek vo vzorkách cereálnych výrobkov s prídavkom medu skladovaných 3 mesiace sa pohyboval od 1,90 log KTJ.g⁻¹ vo výrobkoch s repkovým medom z roku 2021 do 2,81 log KTJ.g⁻¹ vo výrobkoch s agátovým medom z roku 2022 (obrázok 3).



Obrázok 3 Počet vláknitých mikroskopických húb a kvasiniek vo vzorkách cereálnych výrobkov

1-4 Vzorky balené za prístupu vzduchu, 1V-4V - vákuovo balené vzorky, 24 hodín – vzorky analyzované po 24 hodinách skladovania, 1 mesiac – vzorky analyzované po 1 mesiaci skladovania, 3 mesiace – vzorky analyzované po 3 mesiacoch skladovania

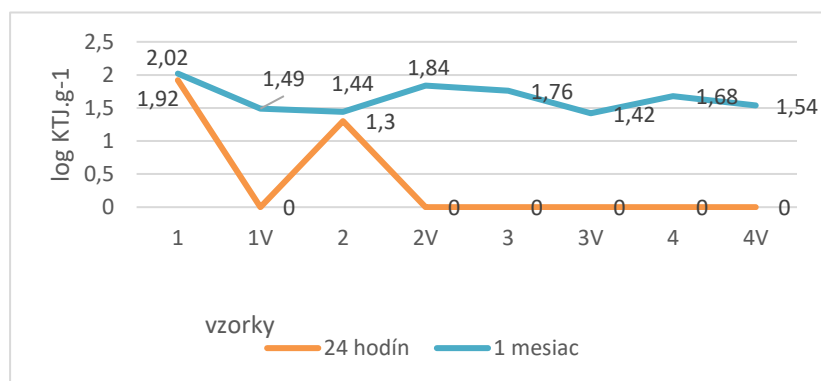
Zistilo sa, že rast skúmaných vláknitých mikroskopických húb a kvasiniek nebol ovplyvnený typom použitého medu, hoci sa medzi nimi prejavovali nejaké rozdiely, najmä pokiaľ ide o pH a kyslosť. Tieto faktory sú označované mnohými výskumníkmi ako hlavné faktory zodpovedné za antimikrobiálnu aktivitu (Gomes et al., 2010).

Mikroorganizmy ako kvasinky a vláknité mikroskopické huby sa môžu vyvinúť a zostať v mede, čo spôsobuje zníženie kvality medu. Kontaminácia môže pochádzať z primárnych zdrojov (napríklad z včiel, peľu, vzduchu a pôdy) a sekundárnych zdrojov (napríklad z manipulácie počas zberu ľuďmi, z priestorov spracovania). Vlákňité mikroskopické huby sú prevládajúcou skupinou mikrobioty znečistenia potravín charakterizovaných strednou vlhkosťou a vysokým obsahom cukru, ako je med (Sadok et al., 2023).

Dostupné údaje o mikrobiologickej bezpečnosti medu potvrdili jeho kontamináciu rôznymi typmi mikroskopických vláknitých húb. Frekvencia hubovo-pozitívnych vzoriek sa obvykle pohybuje v rozmedzí 14-89 %. Niektoré z nich obsahujú huby z rodov *Aspergillus*, *Fusarium* a *Penicillium*, ktoré sú schopné produkovať rad mykotoxínov (Mašková et al., 2020).

Počet baktérií mliečneho kvasenia (BMK) vo vzorkách cereálnych výrobkov balených za prístupu vzduchu s prídavkom medu, skladovaných 24 hodín sa pohyboval od 1,30 log KTJ.g⁻¹ vo výrobkoch s agátovým medom z roku 2022 do 1,92 log KTJ.g⁻¹ vo výrobkoch s repkovým medom z roku 2021. Počet BMK vo vzorkách cereálnych výrobkov skladovaných 1 mesiac sa pohyboval od 1,44 log KTJ.g⁻¹ vo výrobkoch s agátovým medom z roku 2022 do 2,02 log KTJ.g⁻¹ vo výrobkoch s repkovým medom z roku 2021. BMK vo vzorkách cereálnych výrobkov s prídavkom medu, skladovaných 3 mesiace neboli detegované pri žiadnom použitom riedení (obrázok 4).

BMK vo vákuovo balených vzorkách cereálnych výrobkov s prídavkom medu, skladovaných 24 hodín neboli detegované. Počet BMK vo vzorkách cereálnych výrobkov skladovaných 1 mesiac sa pohyboval od 1,42 log KTJ.g⁻¹ vo výrobkoch so slnečnicovým medom z roku 2021 do 1,84 log KTJ.g⁻¹ vo výrobkoch s agátovým medom z roku 2022. BMK vo vákuovo balených vzorkách s prídavkom medu, skladovaných 3 mesiace neboli detegované pri žiadnom použitom riedení (obrázok 4).



Obrázok 4 Počet baktérií mliečneho kvasenia vo vzorkách cereálnych výrobkov

1-4 Vzorky balené za prístupu vzduchu, 1V-4V - vákuovo balené vzorky, 24 hodín – vzorky analyzované po 24 hodinách skladovania, 1 mesiac – vzorky analyzované po 1 mesiaci skladovania, 3 mesiace – vzorky analyzované po 3 mesiacoch skladovania

Baktérie mliečneho kvasenia sú jedným z najbežnejšie používaných fermentačných činidiel. Od roku 2023 *Lactobacillus* zahŕňa 589 druhov a 58 poddruhov. Baktérie mliečneho kvasenia môžu podporovať rozklad lipidov, proteínov a uhl'ohydrátov vytvárať malé molekuly, ako sú peptidy (Xia et al., 2022).

Antibakteriálne, antibiofilmové a anti-kvórum snímacie aktivity medu sa väčšinou pripisujú štyrom kľúčovým zložkám: peroxid vodíka, metylglyoxal, včelí defenzín-1 a fenolové zlúčeniny. Počet a schopnosť rastu baktérií mliečneho kvasenia môže byť ovplyvnený zložkami medu, ktoré ovplyvňujú bunkový cyklus baktérií mliečneho kvasenia a bunkový

morfológiu. Niektoré rody, resp. čeľade baktérií mliečného kvasenia, ako sú *Bifidobacterium*, *Fruktobacillus* a *Lactobacillaceae*, môžu v mede prežiť a dokonca dokážu v mede rásť, čo vlastne z medu robí potenciálny systém dodávania týchto látok (Khataybeh et al., 2023).

Tabuľka 2 Mikroorganizmy identifikované pomocou MALDI-TOF MS Biotyper

Vzorky	Mikroorganizmy
1	<i>Bacillus cereus</i>
1V	<i>Bacillus cereus</i> <i>Ralstonia pickettii</i>
2	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Ralstonia pickettii</i>
2V	<i>Bacillus cereus</i>
3	<i>Bacillus cereus</i>
3V	<i>Ralstonia pickettii</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> <i>Ralstonia insidiosa</i>
4	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Ralstonia pickettii</i>
4V	<i>Bacillus cereus</i>

1-4 Vzorky balené za prístupu vzduchu, 1V-4V - vákuovo balené vzorky, 24 hodín – vzorky analyzované po 24 hodinách skladovania, 1 mesiac – vzorky analyzované po 1 mesiaci skladovania, 3 mesiace – vzorky analyzované po 3 mesiacoch skladovania

K druhom, ktoré sa nám podarilo najčastejšie vyizolovať zo vzoriek patrili *Bacillus cereus* a *Ralstonia pickettii* (tabuľka 2). Baktérie patriace do rodu *Bacillus* boli nájdené v zažívacom trakte, telových tekutinách a v priedušnici zdravých medonosných včiel (Alippi, 2019). K sporulujúcim baktériám patria najmä druhy rodu *Bacillus*. Sporulujúce baktérie sa dokážu brániť nepriaznivým podmienkam vytvorením odpočinkového útvaru - spóry. Ak sa však *Bacillus* dostane do vyhovujúcich podmienok, vyklíči a rozmnožuje sa. Pôsobením agresívneho prostredia v našej tráviacej sústave sú spóry inaktivované, teda nedochádza k ich rozvoju. Vzhľadom nato ich nízky obsah v mede nespôsobí človeku žiadne zdravotné problémy (Kňazovická et al., 2016). Bakteriálne spóry, hlavne *Bacillus* sp. a *Clostridium* sp. sú pravidelne prítomné v mede. Sú veľmi odolné voči vplyvom prostredia, čo im umožňuje prežívať dlhé obdobia v dormantnom stave a vyklíčiť až vo vhodnom prostredí (Tančinová et al., 2017). *Ralstonia pickettii* patrí ku gramnegatívnym baktériám. Považuje sa za klinicky nevýznamný, v literatúre sa však uvádza veľa prípadov infekcií týmto organizmom. Podľa mnohých analýz sa považuje za prirodzeného kontaminanta prostredia (Seo et al., 2019).

ZÁVER

Mikrobiologická analýza potvrdila, že mikrobiologická kvalita produktov s prídavkom medu sa po dlhšej dobe skladovania mení. Po troch mesiacoch skladovania sa počet mikroorganizmov kultivovateľných pri 30 °C, počet koliformných baktérií a počet baktérií mliečného kvasenia znížil. Naopak počet vláknitých mikroskopických húb a kvasiniek sa po dobe 3 mesačného skladovania zvýšil. Po 3 mesiacoch skladovania neboli detegované žiadne baktérie mliečného kvasenia v žiadnom použitom riedení. Tieto mikrobiologické výsledky demonštrujú antimikrobiálne vlastnosti medu a ukazujú, že med má samočistiacu schopnosť a mikroorganizmy zabíjajúcu schopnosť a zlepšuje kvalitu potravín.

LITERATÚRA

Aali, Yasaman; Mirzababaei, Atieh; Clark, Cain T.; Mirzaei, Khadijeh, 2024. The Effect of Raisin (Currant) Intake on Anthropometric Indices and Blood Pressure: Systematic Review and Meta-analysis of Randomised

Controlled Trials. *Journal of Herbal Medicine*. vol. 43. ISSN 2210-8041 Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2023.100830>

Alippi, Adriana M. 2019. Data associated with the characterization and presumptive identification of Bacillus and related species isolated from honey samples by using HiCrome Bacillus agar. *Data in brief*, vol. 25, no. 8, pp. 104-206, [cit. 2024-02-06]. ISSN 2352-3409. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.dib.2019.104206>

Çetinkaya, T., Ceylan, Z., Meral, R., Kılıçer, A., Altay, F. 2021. A novel strategy for Au in food science: Nanoformulation in dielectric, sensory properties, and microbiological quality of fish meat. *Food Bioscience*. ISSN 2212-4292 <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101024>

Correa- mosquera, Ana Ruby; Quicazán, Marta Cecilia; Zuluaga-Domínguez, Carlos Mario., 2022. Shelf-life prediction of pot-honey subjected to thermal treatments based on quality attributes at accelerated storage conditions. *Food Control*. vol. 142. ISSN 1873-7129 Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109237>

Deglovič, Juraj; Majtánová, Nora; Majtán, Juraj, 2022. Novinky v použití medu na prevenciu zubného kazu. *Včelár*, roč. XCVI, č. 10, s. 386-389. ISSN 0139-6064.

Gao, Yuan *et al.*, 2024. Extraction, chemical components, bioactive functions and adulteration identification of walnut oils: A review. *Grain & Oil Science and Technology*. Online. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2024.01.004>

Gomes, Susana; Dias, Luis G.; Moreira, Leandro L.; Rodrigues, Paula; Estevinho, Leticia, 2010. Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*. Online. vol. 48, no. 2, pg. 544-548. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.11.029>

Herranen, Mirkka *et al.*, 2010. Isolation and characterization of folate- producing bacteria from oat bran and rye flakes. *International Journal of Food Microbiology*. Online. vol. 142. no. 3. pg. 277-285. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.07.002>

Khataybeh, Batool *et al.*, 2023. Anti-bacterial, anti-biofilm and anti-quorum sensing activities of honey: A review. *Journal of Ethnopharmacology*. Online. vol. 317. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116830>

Kňazovická, Vladimira *et al.* 2016. Med s prídavkom peľu- testovanie výroby a skladovania. In *Včelár*, roč. 90, č. 8, s. 165- 167. ISSN 0139-6064.

Laaroussi, H., Bouddine, T., Bakour, M., Ousaaid, D., Lyoussi B. 2020. Physicochemical properties, mineral content, antioxidant activities, and microbiological quality of Bupleurum spinosum Gouan honey from the Middle Atlas in Morocco. *Journal of Food Quality*, 10.1155/2020/7609454

Majkut, Michał *et al.*, 2021. Antimicrobial activity of heat-treated Polish honeys. *Food Chemistry*. Online. vol. 343. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128561>

Mašková, Zuzana *et al.*, 2020. Monitoring of microscopic fungi community in selected bee products. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*. Online. vol. 14. Dostupné na: <https://doi.org/10.5219/1405>

Ozturk, Oguz Kaan; Takhar, Pawan Singh, 2017. Stress relaxation behavior of oat flakes. *Journal of Cereal Science*. Online. vol. 77, pg. 84-89. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.08.005>

Sadok, *et al.*, 2023. Honey analysis in terms of nicotine, patuline and other mycotoxins contamination by UHPLC-ESI-MS/MS-method development and validation. *Food Research International*. Online. vol. 172. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113184>

Seo, Dahee *et al.* 2019. Heterologous production of pyromelanin biopolymer using 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase isolated from *Ralstonia pickettii* in *Escherichia coli*. In *Biochemical Engineering Journal* online, vol. 157, no. 3, pp. 107-115, [cit. 2020-03-10]. ISSN 1369-703X. Dostupné na : <https://doi.org/10.1016/j.bej.2020.107548>.

Sereia, Maria Josiane *et al.*, 2011. Microbial flora in organic honey samples of africanized honeybees from Parana river islands. *Food Science and Technology*. Online. vol. 31, no. 2. Dostupné na: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612011000200028> 10.4103/0974-8490.204647

Tančinová, Dana *et al.* 2017. *Mikrobiológia potravín*. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita. 239 s. ISBN 978-80-552-1642-3.

Vică, Mihaela Laura *et al.*, 2021. The antimicrobial activity of honey and propolis extracts from the central region of Romania. *Food Bioscience*. Online. vol. 41. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101014>

VYHLÁŠKA MPRV SR č. 41/2012 Z.z. o mede z 26. januára 2012.

Pod'akovanie: Táto práca bola podporená projektom KEGA 013SPU-4/2023 Inovácie metodík rozvoja kombinovaného vzdelávania v potravinárskych odboroch.

Kontaktná adresa: Viktória Zachar Lovászová, Ing., Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Ústav potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra

Názov: Bezpečnosť a kvalita potravín. Zborník vedeckých prác

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

Vedecký garant: Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske
a veterinárske vedy pri SAV

Vydanie: prvé

Počet strán: 374

Forma vydania: online

Vydavateľ: Garmond Nitra

Miesto vydania: Nitra

Rok vydania: 2024



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

ISBN 978-80-8266-056-5

DOI: <https://doi.org/10.15414/2024.sqf24-psp>

BEZPEČNOSŤ A KVALITA POTRAVÍN

Zborník vedeckých prác

Vedecký garant: Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárske vedy pri SAV

Dielo je publikované pod licenciou Creative Commons Attribution 4.0 International Licence



Vydavateľ: Garmond Nitra, 2024

ISBN 978-80-8266-056-5

DOI: <https://doi.org/10.15414/2024.sqf24-ppsp>

ISBN 978-80-8266-056-5



9 788082 660565