

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

FAKULTA VETERINÁRNÍ HYGIENY A EKOLOGIE

**Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu
Státní veterinární správa ČR**

**Hygiena a technologie potravin
XLVI. Lenfeldovy a Höklovy dny**



Sborník přednášek a posterů

19. a 20. října 2016

Hygiena a technologie potravin – XLVI. Lenfeldovy a Höklovy dny
Food Hygiene and Technology - 46th Lenfeld's and Hökl's Days

Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu
Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Recenzenti: doc. RNDr. Mária Baranová, Ph.D.
 doc. MVDr. Eva Dudriková, Ph.D.
 MVDr. Matej Pospiech, Ph.D.
 Mgr. Michaela Petrášová, Ph.D.

Editace: Doc. MVDr. Bohuslava Tremlová, Ph.D.
 Mgr. Zdeňka Javůrková, Ph.D.
 Ing. Martina Ošťádalová, Ph.D.

Za věcnou a jazykovou správnost příspěvků odpovídají autoři.

Vydání první

Copyright © 2016 Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

SPONZOŘI



Tak chutná mléko



PAPEI



Každý den jinak!

MEDIÁLNÍ PARTNER



SLOVO ÚVODEM

V říjnu letošního roku pořádá Fakulta veterinární hygieny a ekologie VFU Brno 46. ročník konference o hygieně potravin Lenfeldovy a Höklovy dny. Konference je stejně jako v minulých letech spolupořádána Státní veterinární správou ČR a podporována vysokou a aktivní účastí pracovníků SVS ČR i krajských veterinárních správ.

Konference o potravinách pod názvem Lenfeldovy a Höklovy dny se pořádá na univerzitě již od r. 1968. Její název připomíná významné osobnosti historie hygieny potravin v rámci veterinární medicíny. Prof. Lenfeld i doc. Hökl prosazovali uplatňování takových principů v hygieně potravin, o které se opírá i současná evropská legislativa. Tento historický odkaz je tradován a rozvíjen Fakultou veterinární hygieny a ekologie, jak v oblasti pedagogické, tak v oblasti vědecko-výzkumné, a také v dalších oblastech působení fakulty.

Lenfeldovy a Höklovy dny jsou konferencí s mezinárodní účastí, která je zaměřena na problematiku jakosti a zdravotní nezávadnosti potravin rostlinného a živočišného původu, na aplikaci potravinového práva v dozorové činnosti státních orgánů. V letošním roce zde budou nově také prezentovány aktuální poznatky v oblasti hygieny veřejného stravování a gastronomie. Konference přináší příležitosti k setkání odborníků v oblasti výroby, kontroly a hodnocení jakosti potravin jak vědeckých organizací, tak dozorových orgánů a praxe. Odbornou část konference doplní setkání s historií veterinární hygieny potravin.

Vysokou úroveň a také význam konference dosvědčuje vysoký počet přihlášených účastníků. V letošním roce jich je téměř 250. V krásném prostředí auly VFU Brno se setkají odborníci nejen z České a Slovenské republiky, ale také z dalších zemí, jako například z Ruska a Itálie.

Svět potravin je pestrý a tím i poměrně komplikovaný. Zároveň je to oblast, se kterou máme všichni zkušenosti; ať už jako spotřebitelé nebo v případě většiny z vás, jako odborníci na některé aspekty bezpečnosti a kvality potravin. Čeká nás řada témat k zamyšlení i k diskusi. Potkáme se starými přáteli a najdeme možná nové. K úspěšnému průběhu konference můžeme přispět všichni svojí aktivní účastí v odborné diskusi k předneseným příspěvkům nebo i příspěvkům prezentovaným formou posterů.

Věřím, že chvíle strávené na naší alma mater budou přínosné a příjemné, a že se proto budete na naši fakultu rádi vracet i v příštích letech.

V Brně dne 19.10.2016

doc. MVDr. Bohuslava Tremlová, Ph.D.
děkanka

Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

OBSAH

PŘEDNÁŠKY

Biochemical composition of Abkhazian fruit apple

Bazba, E., Belous, O., Kochurina, A. 2

Mikrobiální kontaminace v gastronomii

Bogdanovičová, K., Dušková, M., Strejček, J., Kameník, J. 7

Veterinární antibiotická politika v ČR - Quo vadis?

Bureš, J., Pokludová, L., Hera, A. 11

Srovnání různých metod přípravy vzorků tavených sýrů pro elektronovou mikroskopii

Černíková, M., Nebesářová, J., Salek, R. N., Řiháčková, L., Buňka, F. 16

Mýty o potravinách a výživě

Dostálová, J. 23

Organoleptic Differences between Yak Milk, Camel and Donkey Milk

Gallottini, C., Rapetti, F. 28

Food Safety Culture, an Italian Experience

Gallottini, C., Rapetti, F., Trombetti, N. 29

Regionální potraviny v Jihomoravském kraji

Hlaváček, V., Musil, J. 30

Podniky společného stravování a hromadná alimentární onemocnění

Kameník, J., Bogdanovičová, K., Dušková, M., Strejček, J. 33

Nálezy cyst tasemnice Echinococcus multilocularis v játrech jatečných prasat v České republice

Koudela, B., Harna, J., Pijáček, M. 37

Perzistence kočičího kaliviru a bovinního enteroviru jako náhradních virů v tepelně neopracovaných masných výrobcích

Lorencova, A., Malenovska, H., Prodelalova, J., Kaspar, L., Borilova, G. 41

Vláknité mikroskopické houby, potraviny a zdraví člověka

Ostrý, V. 45

Veterinární dozor a trh s potravinami živočišného původu z pohledu Státní veterinární správy

Semerád, Z. 49

Evropské značky kvality

Třísková, D. 50

O kvalitě masových výrobků rozhoduje spotřebitel

Turek, P. 51

Vliv kuchyňské technologie na senzoričké vlastnosti zapečených těstovinových pokrmů Vinš, Z., Zelený, J.	56
---	----

POSTERY

Effect of modified atmosphere packaging (MAP) on the colour indicators of organic chicken's meat Abdullah, F.A.A., Buchtova, H, Đorđević, Đ.	64
---	----

Vliv snížení obsahu sodných iontů na údržnost a vlastnosti masných výrobků Adamcová, M., Škorpilová, T., Pipek, P.	68
---	----

Kvalita chleba versus kvalitativne parametre použitej múky Baranová, M., Strapáč, I., Mikolajová, I.	72
---	----

Faktory ovlivňující obsah mastných kyselin v kozím a ovčím mléce Bartáková, K., Pospíšil, J., Vorlová, L.	78
--	----

Zhodnotenie texturálnych vlastností bryndze Belej, L., Golian, J., Šnirc, M., Čurlej, J.	82
---	----

Mikrobiologická kvalita vybraných pekárenských výrobkov a hygiena prostredia pri ich výrobe Bobková, A., Golian, J., Belej, L., Bobko, M., Šnirc, M.	88
---	----

Profil syrovátkových proteinů v kozím a ovčím mléce Borkovcová, I., Králová, M., Vorlová, L.	94
---	----

Mikrobiologické parametry vybraných čajů Burdová, E., Kalhotka, L.	98
---	----

Hodnocení růstu toxigenních kmenů Bacillus cereus v kojeneckém mléce Bursová, Š., Necidová, L., Chudová, D.	102
--	-----

Stanovenie vybraných fyzikálno-chemických parametrov srvátky Dičáková, Z., Gergel', R., Dudriková, E., Výrostková, J.	107
--	-----

Stabilita tetracyklinových antibiotik v medu Dluhošová, S., Kaniová, L., Borkovcová, I., Vorlová, L.	111
---	-----

Stanovení barvy másla Doležalová, J., Slámová, A.	116
--	-----

Senzoričké vlastnosti vybraných druhů kuchyňských solí Đorđević, Đ., Buchtová, H., Abdullah, F.A.A.	119
--	-----

Využitie vplyvu Lactobacillus reuteri pri výrobe ekologickej potraviny z prasiat Dudriková, E., Húska, M., Kyzeková, P., Hatalová, E.	124
--	-----

Hygienické aspekty získavania surového mlieka z mliečného automatu v kontexte jeho kvality a bezpečnosti	
Dudriková, E., Lovayová, V., Brňáková, E., Výrostková, J., Dičáková, Z., Húska, M.	129
Vplyv selénových doplnkov krmiva na vybrané vlastnosti vajec	
Fašiangová, M., Bořilová, G., Steinhäuserová, I., Kumprechtová, D.	135
Kvalita vín odrody Rulandské šedé rôzneho geografického pôvodu a enogastronómia	
Fikselová, M., Czako, P., Červenková, M., Zelenáková, L., Golian, J.	139
Kontrola obsahu gluténu vo vybraných potravinách rastlinného pôvodu	
Golian, J., Šnirc, J., Belej, J., Bobková, A.	145
Zmeny vlastností tukov v závislosti od rôznej teploty úpravy pokrmov	
Golian, J., Šnirc, J., Čurlej, J., Belej, J., Fech, R.	153
Sledování koncentrace selenu v mléce	
Holasová, M., Volný, A., Nečasová, A., Pechová, A.	161
Lipoperoxidace rybího masa během tepelné úpravy	
Hostovský, M., Nekvapil, T., Večerek, V.	166
Vliv autolytických tkáňově specifických proteinů v srdci a aortě prasete domácího	
Chernukha, I.M., Fedulova, L.V., Kotenkova, E.A., Vasilevskaya, E.R., Shishkin, S.S., Kovalyov, L.I.	171
Obsah vitamínu C v jablečném moštu v porovnaní s jablečnými džusy z koncentrátu	
Janštová, B., Ošřádalová, M., Tremlová, B., Běhalová, H.	175
Prítomnosť toxínogénnych druhov rodu Aspergillus v čiernom korení	
Jevinová, P., Pipová, M., Regecová, I., Roba, P., Popelka, P.	179
Sledovanie vplyvu skrmovania biokrmiva na fyzikálno – chemické vlastnosti mäsa brojlerových kurčiat	
Koréneková, B., Mačanga, J., Marcinčák, S., Popelka, P., Bartkovský, M., Marcinčáková, D., Čertík, M.	184
Overenie prítomnosti rezíduí inhibičných látok v mäse hydiny po skrmovaní krmnej zmesi s prídavkom fermentovaného krmiva	
Kožárová, I., Poláková, Z., Marcinčák, S., Bartkovský, M., Reitznerová, A., Čertík, M.	188
Srovnání screeningových metod pro stanovení kyseliny L – askorbové v ovocných džusech	
Luňáková, L., Pospiech, M., Tremlová, B., Javůrková, Z., Petrášová, M.	192
Vplyv frekvencie dojenia na zloženie mlieka u bahníc	
Mačuhová, L., Mačuhová, J., Tančin, V., Uhrinčať, M.	197
Senzorické hodnotenie syrov s plesňou v ceste počas skladovania	
Maľová, J., Maľa, P., Semjon, B., Mitrová, A., Výrostková, J., Vargová, M.	201

Proteomická databáze pro vyhledávání tkáňově specifických markerů svalových bílkovin koňského a velbloudího masa	
Manyukhin, Y., Chernukha, I.	205
Účinok skrmovania biofermentovaného krmiva a extraktu repíka brojlerovým kurčatám na kvalitu tuku produkovaného mäsa	
Marcinčák, S., Bartkovský, M., Čertík, M., Koreneková, B., Marcinčáková, D., Mačanga, J.	209
Stanovení biogenních aminů u bílých vín z vinařské oblasti Morava	
Míšková, Z., Budinský, P., Koláčková, T., Trávníková, L., Buňka, F.	213
Vliv pasterace na přežívání bakterií Escherichia coli O157:H7 v mléce	
Necidová, L., Bursová, Š., Svobodová, D.	219
Metody stanovení antioxidační kapacity vína	
Nekvapil, T., Hostovský, M.	223
Identifikace Helicobacter spp. s využitím metody sekvenování	
Nesvadbová, M., Bořilová, G., Vávra, M., Fašiangová, M.	229
Stanovení obsahu β-karotenu u vybraných odrůd meruněk	
Ošřádalová, M., Král, M., Pokorná, J., Gála, T., Tremlová, B.	233
Vliv kombinace kozího a kravského mléka na proteolýzu během zrání sýrů	
Pachlová, V., Charousová, Z.	237
Variabilita profilu mastných kyselin a celkového obsahu tuku v kobyším mléce	
Pospíšil, J., Navrátilová, P.	241
Využití impedanční spektroskopie pro sledování změn ve včelím medu	
Průšová, P., Seidl, J., Scholtz, V., Wiesnerová, L., Hofmann, J., Čížková, H.	244
Stanovenie citlivosti stafylokokových kmeňov izolovaných z králika divého (Oryctolagus cuniculus) voči β-laktámovým antibiotikám	
Regecová, I., Jevinová, P., Pipová, P., Danišová, O., Turek, P.	248
Porovnanie oxidačných procesov tukov v mäse a v mäsových výrobkoch	
Reitznerová, A., Šuleková, M., Nagy, J., Marcinčák, S.	253
Senzorické hodnotenie syrov s plesňou na povrchu počas skladovania	
Semjon, B., Maľa, P., Maľová, J., Mitrová, A., Výrostková, J.	257
Antioxidačný potenciál Bedli vysokej (Macrolepiota procera)	
Strapáč, I., Klátik, M., Baranová, M.	261
Počet somatických buniek v mlieku bahníc počas laktácie: možný vzťah ku kvalite a množstvu mlieka	
Tančin, V., Baranovič, Š., Uhrinčať, M., Mačuhová, L., Vršková, M., Sláma, P.	266
Studium vybraných faktorů na chemické parametry svaloviny divokých prasat	
Tesařová, S., Ježek, F., Hulánková, R., Plhal, R., Bořilová, G., Steinhäuserová, I.	271

Výsledky kontrolní činnosti odboru hygieny výživy za rok 2015

Ulrichová, M., Křesťanová, K. 275

Význam osobnej hygieny v prevencii možnej kontaminácie finálneho produktu

Vargová, M., Veszelits Laktičová, K., Hromada, R., Toropilová, D., Maľová, J., Výrostková, J., Eckerová, R. 278

Využitie sanitácie v procese prevencie vzniku alimentárnych nákaz v potravinárskej prevádzke

Veszelits Laktičová, K., Vargová, M., Hromada, R., Toropilová, D., Maľová, J., Výrostková, J., Eckerová, R. 284

Vplyv počtu somatických buniek na množstvo a nutričnú kvalitu surového kravského mlieka

Vršková, M., Tančin, V. 289

Bezpečná hladina biogénnych amínov v potravinách

Výrostková, J., Dičáková, Z., Dudriková, E., Maľová, J., Semjon, B., Regecová, I., Veszelits Laktičová, K. 294

Zhodnocení metod pro stanovení diastatické aktivity v medu

Zábrodská, B., Králová, M., Vorlová, L. 298

Tepelno-oxidačné zmeny jedlého repkového oleja počas fritovania

Vargová, M., Veszelits Zeleňáková, L., Sojka, L., Angelovičová, M., Kráčmar, S., Fikselová, M., Gálik, B., Šnirc, M., Maršálková, L., Golian, J. 302

HISTORICKÁ SEKCE

Zvěrolékaři a zdravotní nezávadnost mléka

Hejlová, Š. 307

K nedožitým 95. narozeninám pana MVDr. Jaromíra Láta, CSc.

Kozák, A. 308

Veterinární legislativa v České republice na úseku bezpečnosti potravin

Malena, M., Kozák, A. 310

Historie vojenské veterinární služby

Pelková, P., Honeger, J. 315

Prof. MVDr. František Ševčík a vláknité mikroskopické houby (plísňe) - významná epizoda jeho vědeckého života?

Ostrý, V. 320

Kumulace zvěrolékařů aneb rodinná tradice veterinární medicína

Soph, M. 324

PŘEDNÁŠKY

Biochemical composition of Abkhazian fruit apple

Bazba, E.¹, Belous, O.^{2,3}, Kochurina, A.¹

¹Agrarian Research Institute of Abkhazian science Academy

²Federal State Budgetary Scientific Institution "Russian Research Institute of Floriculture and Subtropical Crops

³Sochi Institute of Design, Business and Law, Sochi, Russia

Abstract

The studied varieties are high in dry matter, observed the dependence of their content on the timing of fruit ripening. The total amount of sugars per 100 g of raw material ranges from 6.5 to 13%; a content of organic acids in the fruit ranges from 0.3 to 0.7%; ascorbic acid content in fruits is from 9.2 mg / 100 g to 19.6 mg / 100g. There are defiantly significant differences between the varieties. We revealed variations in the indicators characterizing the quality of the fruit within the year's conditions. Morgenduft and Idared varieties, which are a middle-ripening group, as well as all varieties of late ripening are perfectly suited for the production of juices and dried fruits.

Key words: *dry matter, sugars, organic acids, ascorbic acid, pectin*

Introduction

Apple tree (*Malus domestica* C. Mill.) - is one of the most common fruit crop in the world, including the territory of the Abkhazia. The climate is Mediterranean subtropical in Abkhazia. The winter is mild (temperatures are 0 °C at night, and up to + 8 °C during the day), summer temperatures reach up to 30 °C, and humidity throughout the year is - 70% and above. Such climatic conditions, allows to grow apples trees with high sugar content and biologically active substances. However, frequent unstable weather conditions, for example, the tendency to increase in summer temperatures and repeated dry periods have a significant impact on plants that can serve as a reason for the decline not only on the productivity but also on the quality of the fruit. With that said, apples are one of the few categories of commercial products, which is constantly in demand for a long period, the focus is on the production of quality fruits that leads to undoubted relevance of the studies of the biochemical composition with the selected most perspective assortment, characterized by its high taste qualities. Question of the variability evaluation in the qualitative characteristics of the apple tree, as the most popular culture, which is of paramount importance.

Material and methods

Research conducted from 2013 to 2015. Objects were the 11 most promising varieties of apple trees: summer variety or varieties of early ripening period (harvest time in late July) - Melba, Moskovskoe; autumn varieties (average period of ripping, harvest time in August-September) - Tuscan, Golden Delicious, Morgenduft, Idared, Gala, Jonagold M; are winter varieties or later date varieties (harvest time in October) - Trident, Golden Reinders, Early Red One.

Laboratory analyzes were performed at the Laboratory of Biochemistry Research Institute of Agriculture in the Abkhazia Academy. Determination of sugars was carried out by Bertrand`s method, which is based on the ability of reducing sugars having a free carbonyl group, in an alkaline solution to recover the copper in the nitrous oxide.

The amounts of the precipitate are formed corresponds to the amount of copper oxide in a solution of sugar (Ermakov, 1972). Determination of titratable acids (total acidity) is based on the titration of the extract obtained from the sample with 0.1N NaOH solution in presence of an indicator (Ermakov, 1972). Quantitative determination of pectin, were in the presence of 0.1N NaOH and deesterification for several hours. To the solution is added in equal amounts of acetic acid 0.1 N and 1 M calcium chloride solution. The mixture was allowed to stand for 1 hour and then boiled for a few minutes and filtered. The precipitate of calcium pectinate washed with several portions of water and dried at 100 °C (Ermakov, 1972). In determining the ascorbic acid extraction was performed from the sample with a solution of hydrochloric acid by titration with 0.001 N sensible solutions of 2.6 - dichlorophenol (Ermakov, 1972). Statistical processing was performed using STATGRAPHICS Centurion XV software.

Results and discussion

The weather conditions of the growing season generally are quite aligned. The temperature ranges from 11-12 °C in April to 27 - 28 °C in August, which is the hottest month in the region. Some decrease in relative humidity observed in September (up 71% at 77 - 78% within the rest of the time) due to the lack of sufficient rainfall (on average of 10 ml) after a hot August.

We have found that the dry matter content in the fruits of all the tested varieties ranged from an average of 13 to 18% (Table 1). From literature sources knowing that the content of soluble solids in the high-grade apples varies from 8 to 23% (Makarkina, 2009; Gudkovskiy et al, 2014). Researchers point out that the greatest value are the varieties, the fruits of which contain a lot of dry matter (10% and above) and have a high stability of this property (coefficient of variation less than 10%). As our data indicated, all varieties meet's the standards of high dry matter values that characterizes them as valuable raw materials (Table 1).

Summer and autumn varieties characterized by an average coefficient of variation of 25-27%, whereas in the winter it is lower grades ($V = 23-24\%$). This feature is not stable, and is completely dependent on the climatic conditions of the year. In addition, we have observed the dependence of soluble solids content of the ripening fruit. In summer varieties to this value over many years averaged 14.3% in the autumn - 15.3, and in winter - 15.7% 100 g of raw material.

It is known that fruits of plants growing in southern regions where higher insolation and temperature, the sugars in the fruits of more than the same varieties grown in northern regions (Sedov et al., 2014; Prichko et al., 2015). According to the requirements of the new varieties, the sugar content in the fruit must be 11% or more. In our conditions the total amount of sugars per 100 g of raw material ranges from 6.5 to 13%. According to the content of sugars in the fruit excelled variety Idared, referring to the mid-ripening varieties (Table 1). Most sweet sugar belonging to monosaccharide is fructose, which is better absorbed by the human body other sugars, which increases the nutritional value and taste of apple. Our data showed that the content of monosaccharide's summer varieties is inferior to the middle and late ripening (Table 1). Most highly pleasant fruits possess genotypes titratable acid content in apples fruits of 0.4 to 1.0% (Metlitski, 1976; Motyleva, 2007; Sedov et al., 2014). Our studies have shown that the content of titratable organic acid in the fruits of early ripening varieties is within 0.6 - 0.7% (Table 1). In the middle ripening varieties the number below and ranged from 0.3 to 0.5%, and in the late ripening varieties,

the number organic acid is even lower (0.2 - 0.3%). Variation coefficient of the parameter data for all varieties averaged 12.3 - 22.3%, which indicates low variability and some stability characteristic of the organic acids that changes due to weather conditions. It is considered that varieties with low acidity, in our conditions a winter varieties and varieties of such autumn as Morgenduft and Idared (0.3% of organic acid per 100 g wet weight) have a bland taste and less appreciated in tasting evaluation.

Table 1: Biochemical characterization of fruit ripening apple variety

Variety (s)	Weight, g	Dry matter		Ascorbic acid, mg/100 g	Acidity, %	Mono saccharide, %	Disaccharide, %	Soluble pectin, %
		%	V, %					
Early ripening (summer varieties)								
Melba	139.8	± 13.9	± 26.8	17.1	± 0.7	± 4.9	± 1.6	± 1.6
	4.6	1.6		4.0	0.1	1.1	0.1	0.6
Moskovskoe	123.5	± 14.7	± 26.1	16.1	± 0.6	± 4.6	± 3.3	± 1.2
	11.0	1.9		3.3	0.1	1.4	0.6	1.0
Middle ripening (autumn varieties)								
Tuscan	162.6	± 13.1	± 27.6	15.6	± 0.5	± 7.7	± 2.2	± 1.5
	25.8	1.3		1.3	0.2	1.5	0.4	0.8
Golden Delicious	130.6	± 13.7	± 27.0	14.3	± 0.4	± 6.3	± 3.3	± 1.2
	44.7	1.0		2.0	0.2	1.8	0.2	0.6
Morgenduft	163.2	± 15.4	± 25.5	12.7	± 0.3	± 7.0	± 3.0	± 1.1
	13.2	0.4		1.6	0.1	1.1	0.3	0.4
Idared	233.2	± 15.3	± 25.6	13.7	± 0.3	± 9.7	± 3.2	± 1.2
	24.1	0.2		1.6	0.1	1.9	0.5	0.6
Gala	127.3	± 17.7	± 26.8	9.2	± 0.5	± 9.1	± 2.8	± 1.7
	10.9	1.5		1.6	0.1	0.9	0.4	0.8
Jonagold M	243.8	± 16.4	± 25.7	15.5	± 0.5	± 8.8	± 1.7	± 2.0
	36.1	0.7		0.7	0.1	0.6	0.3	0.6
Later ripening (winter varieties)								
Trident	103.9	± 14.0	± 23.7	11.4	± 0.3	± 7.9	± 1.5	± 0.6
	28.9	2.0		1.9	0.0	1.8	0.0	0.0
Golden Reinders	181.7	± 16.9	± 24.4	13.5	± 0.3	± 8.5	± 3.5	± 1.4
	17.0	0.6		1.7	0.0	0.1	0.1	0.4
Early Red One	169.1	± 16.3	± 24.3	13.7	± 0.2	± 8.6	± 2.2	± 1.6
	35.3	3.1		0.8	0.1	1.6	0.6	0.0
LSD (P ≤ 0.05)	38.2	2.36	-	3.73	0.16	3.17	NS	NS

*NS = not significant at $P \leq 0.05$

The ratio of sugar to acid, or sugar-acid ratio, characterizes the taste of the fruit. With high acidity and low sugar content sugar-acid ratio is about 10 units (Gudkovskiy et al., 2015; Prichko et al., 2015). Our data indicate that such varieties as the Melba, Golden Delicious and Early Red One have the sugar-acid ratio in the range of 5.9 (Melba) to 9.4 units (Golden Delicious). In varieties Moskovskoe, Trident, Idared, Jonagold and Golden Reinders M, this ratio contains 1.3 - 17.9 unit. And varieties Tuscan, Morgenduft and Gala characterized by a sweet flavor with sugar-acid ratio 22.1 - 26.6 units.

Vitamins in apple tree fruits are mainly represented by ascorbic acid and P-active substances (Svetlichenko, 2012). Our data indicate that ascorbic acid content in fruits compile 9.2 mg / 100 g (Gala) to 19.6 mg / 100 g (Tuscan). Variability feature sufficiently high (22-30%) and its dynamics depends on environmental conditions ($R^2 = 45\%$), which is expressed by the following regression equation: Ascorbic acid, % = $-0.15 + 0.12 * F1 + 0.23 * F2 - 0.23 * F3$; where: F1 - rainfall, mm; F2 - relative humidity, %; F3 - temperature, °C.

According to some authors, the content of ascorbic acid (vitamin C) in apple fruits ranges from 3 to 30% or more mg per 100 g raw weight (Gadjiyev, 1999; Gudkovky et al., 2014; Prichko et al., 2015). Fruits best varieties contain more than 20 mg% of ascorbic acid. Our analysis showed that all tested varieties stacked in given time period (Table 1). Moreover, a higher ascorbic acid content in observed early ripening varieties. Among the autumn varieties allocated a Gala variety whose amount of vitamin C is substantially lower of the same varieties group, constituting only 9.2 mg/100 g. As described above, the ascorbic acid content in fruits - sign unstable, larger or smaller vitamin C content depends not only on the specific characteristics and age-related changes in plants, but also on the prevailing weather conditions (Makarkin, 2009; Sedov et al., 2014). In humid years, the ascorbic acid in fruits accumulated more than in the dry. The higher temperature intensity reduced its synthesis and at relatively high temperatures motivates a more energetic destruction of the vitamin. This is what can be explained by our data that contain a lower content of ascorbic acid in apple tree fruits of medium and late ripening, because in processes of maturation (post-ripening) these varieties were held in conditions of higher temperatures (25-27 °C) than the early ripening varieties.

Pectin's substances with a pronounced biological activity, neutralized and removed from the body of lead, zinc, copper and other heavy metal (Sedov et al., 2014; Gudkovky et al., 2014; Prichko et al., 2015). We found that the content of pectin in the fruit analyzed varieties is an average of 1 - 2%, with significant differences between varieties of different ripening periods we were not revealed. In our studies, Idared and Morgenduft varieties which are middle-ripening group, as well as all varieties of late ripening perfectly suited for the production of juices. These varieties are Gala and can be a wonderful raw material for the production of dried fruits.

Conclusion

Thus, as a result of studying the biochemical composition of fruit of an apple tree has set a wide variety of nutrients and biologically active substances. It was revealed that the chemical composition of the fruit depends on the variety and varies depending on conditions of year. Varietal variation in the content of the chemical components is essential that allows you to create on their basis of new varieties with a high content

of sugars in the fruit, vitamins C and P in conjunction with other economic signs. The studied varieties are undeniable nutritional value, with the optimum combination of climatic and production and economic factors gardening reduction using such varieties will be effective.

References

Gudkovskiy V.A., Klad, A.A., Kozhina, L.V., Nazarov, U.B., 2014. Physiological and technological bases of productive plantations management and quality of apple tree fruits in pre-harvest and post-harvest. Material Scientific practical conference "Scientific and practical bases of increase of efficiency of gardening to improve the nutrition of the population structure of domestic environmentally friendly fruit and vegetable products", 4-6 September 2014, Michurinsk-science town of the Russian Federation, 18-33.

Gajiyev, S.G., 1999. Production of apple trees for intensive orchards. [Ph.D. Thesis], Samokhvalovichy, 19.

Ermakov, A.I., Arasimovich, V.V., Smirnova-Ikonnikova, M.I., Yarosh, N.P., Lukovnikova, G.A., 1972. Methods of biochemical research on plant. Leningrad: Kolos, 456.

Makarkin, M.A., 2009. Selection of apple tree and red currant on improving the chemical composition of the fruit. [Thesis Dr. of Agricultural Sciences], Bryansk: Bryansk State Agricultural Academy, 50.

Metlitski, L.V., 1976. Fundamentals biochemistry of fruits and vegetables. Moscow: Economics, 349.

Pavel, A.R., Motyleva, S.M., 1975. The heavy metal content in the fruits of new immunity scab apple tree varieties. [Electronic resource]: URL: http://www.vniispk.ru/news/sbornik_2007

Prichko, T.G., Chala, L.D., 2015. Results of studies to determine the stability of apple tree fruit to stressful environmental factors. Vestnic Stavropol APC, no 2, PP. 212-215, ISSN 2222-9345

Svetlichenko, V.Y., 2012. Changing the contents of the plastic substances in the apple trees fruits under the influence of the film-forming composition «Pelecol» during prolonged storage [Electronic resource]: URL: <http://sci-article.ru/stat.php?i=1466677741>

Sedov, E.N., Makarkin, M.A., Serov, Z.M., 2014. The gene pool of apple trees and breeding to improve the biochemical composition of fruits. Vavilovski Journal of Genetics and Breeding, V. 18, no 3, 540 - 547

Contact address:

Dr. Oksana Belous, professor, chief researcher of biotechnology, biochemistry and plants physiology laboratory

Federal State Budgetary Scientific Institution "Russian Research Institute of Floriculture and Subtropical Crops", Yana Fabritsiusa st., 2/28, Sochi, Russia, 354002, e-mail: oksana191962@mail.ru

Mikrobiální kontaminace v gastronomii

Microbial contamination in gastronomy

Bogdanovičová, K.¹, Dušková, M.^{2,3}, Strejček, J.¹, Kameník, J.¹

¹Ústav gastronomie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno

²Ústav hygieny a technologie mléka, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno

³ Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno

Souhrn

Mnohé studie poukazují na fakt, že choroby z potravin jsou často spojovány s konzumací potravin a pokrmů v restauracích, školách, nemocnicích, domovech důchodců, v rychlém občerstvení apod. Za nejběžnější původce alimentárních nákaz z potravin jsou považovány např. virus hepatitidy A (HAV), norovirus, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 nebo *Campylobacter* spp. Vzhledem k závažnosti tohoto tématu došlo ke sledování mikrobiální kontaminace se zaměřením na výskyt *Staphylococcus aureus* ve společném stravování na území České republiky. Celkem bylo v období od dubna do června roku 2016 odebráno 91 vzorků v gastronomických provozovnách. Bylo získáno celkem 62 stěrů z gastronomického zařízení a 29 stěrů z rukou pracovníků společného stravování. Pozitivní nález *S. aureus* byl zaznamenán u 2 (2,2 %) stěrů z rukou pracovníků a 9 (9,9 %) stěru z gastronomického zařízení. Enterotoxigenní potenciál bakterie *S. aureus* byl zaznamenán u 2 (2,2 %) kmenů.

Klíčová slova: bakterie, patogeny, společné stravování, alimentární onemocnění

Summary

Many studies showed connection between foodborne diseases and consumption of food in restaurants, schools, hospitals, nursing homes, bars, fast foods etc. Foodborne pathogens such as hepatitis A, norovirus, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 or *Campylobacter* spp. Because of importance and seriousness of this topic, there was to monitor microbial contamination caterer in the Czech Republic. In the period April to June 2016, we collected 91 samples of the gastronomic facilities in the Czech Republic. We collected a total of 62 samples from gastronomic equipment and 29 samples from the hands of workers of public catering. A positive finding of *S. aureus* was observed in 2 (2.2%) samples from the hands of workers and 9 (9.9%) samples of gastronomic equipment. Enterotoxigenic potential of bacterium *S. aureus* was observed in 2 (2.2%) strains.

Úvod

Dle světové zdravotnické organizace je na celém světě denně nakaženo zhruba 2,2 milionu lidí konzumací zdravotně závadné potraviny či pokrmu. Dvě třetiny těchto případů je zaznamenáno v domácnostech a ve stravovacích službách (Hedberg et al., 2006). V Evropě je vysoký výskyt onemocnění z potravin připisován právě gastronomickým zařízením (Chapman et al., 2010). V ČR v roce 2015 inspektoři Státní zemědělské a potravinářské inspekce (SZPI) provedli 15 051 kontrol provozoven

společného stravování. U 32 % těchto kontrol (4 832) inspektoři zjistili porušení právních předpisů. Společné stravování je tak nejproblematictější segmentem v rámci kontrol SZPI (WEB1, 2016). Nejčastějším problémem je mikrobiální kontaminace, která upozorňuje na nedostatky v hygieně a dodržování zásad správné výrobní a hygienické praxe. Součástí mikrobiální kontaminace mohou být také původci alimentárních onemocnění, jako je např. *Staphylococcus aureus*. Přítomnost *S. aureus* je spojována s křížovou kontaminací. Otrava jídlem je často přičítána stafylokokovým enterotoxinům (Asao et al., 2003). Na základě těchto poznatků bylo naším cílem sledovat možný výskyt *S. aureus* ve stravovacích zařízeních a zjišťovat případnou schopnost produkce stafylokokových enterotoxinů.

Materiál a metodika

V roce 2016 došlo v období od dubna do června k odběru celkem 91 vzorků (stěrů) v gastronomických provozovnách. Bylo získáno celkem 62 stěrů z gastronomického zařízení a 29 stěrů z rukou pracovníků společného stravování. Vzorky po převozu do laboratoře při teplotě 4 ± 1 °C byly ihned zpracovány.

V každém získaném vzorku byla sledována přítomnost oportunně patogenní bakterie *Staphylococcus aureus*. Laboratorní vyšetření probíhalo podle platných norem (ČSN). Stanovení koaguláza pozitivních stafylokoků bylo prováděno podle ČSN EN ISO 6888-1, průkaz byl proveden po pomnožení v pufrované peptonové vodě (OXOID, UK). Ke kultivaci bylo použito médium Baird-Parker (OXOID, UK). Identifikace izolátů byla provedena pomocí biochemického testu volné koagulázy a konfirmace suspektních kmenů *S. aureus* byla provedena metodou polymerázové řetězové reakce (PCR) detekcí specifického úseku SA442 (Martineau et al., 1998). Současně byl sledován výskyt *mecA* genu, který kóduje rezistenci k methicilinu (Secchi et al., 2008). Reakční objem činil 25 µl a k amplifikaci byla použita DNA polymeráza PPP s MgCl₂ (Top-Bio, ČR). U izolátů *S. aureus* byla provedena také detekce genů kódujících tvorbu stafylokokových enterotoxinů (*sea - sei*) metodou PCR (Lovseth et al., 2004). Produkty PCR byly analyzovány gelovou elektroforézou v 2% agaróze (Serva, Německo) s následnou vizualizací na transiluminátoru po obarvení ethidium bromidem.

Výsledky a diskuze

Provozovny společného stravování představují významné zdravotní riziko pro spotřebitele a jejich pracovníkům často chybí právní povědomí o elementárních pravidlech bezpečnosti. Z důvodu neakceptovatelné hygienické situace byli inspektoři nuceni na místě uzavřít v roce 2015 144 provozoven společného stravování. Segment společného stravování – restaurace, rychlá občerstvení, pivnice, cukrárny apod. je opakovaně problematický. Od ledna letošního roku inspekce uložili zákaz užívání prostor v 47 případech restaurací a dalších stravovacích provozů, což kopíruje výsledky roku 2015 (WEB2, 2016).

V současné době je mikrobiální nebezpečí stále aktuální a předpokládá se, že je výsledkem jedné expozice. Zvýšená pozornost je věnována především původcům alimentárního onemocnění z potravin.

V rámci sledování výskytu bakterie *Staphylococcus aureus* došlo k záchytu u 11 (12,1 %) vzorků odebíraných ve společném stravování na území České republiky. Pozitivní nález *S. aureus* byl zaznamenán u 2 (2,2 %) stěrů z rukou pracovníků a 9 (9,9 %) stěrů z gastronomického zařízení. Celkem tak bylo získáno 11 izolátů

S. aureus. Z hlediska rizika onemocnění z potravin, je problematická schopnost přibližně 50 až 75 % kmenů *S. aureus* vytvářet za správných podmínek extracelulární termostabilní enterotoxiny (SEs) (Omoe et al., 2002). Stafylokokové enterotoxiny jsou původci stafylokokové enterotoxikózy. Klinické příznaky stafylokokové enterotoxikózy jsou výrazné, příznaky nastupují náhle, úporným zvracením, křečemi v břiše, bolestí hlavy a průjmem.

V roce 2014 bylo hlášeno 393 epidemií z potravin způsobené stafylokokovými enterotoxiny. Od roku 2013 tak zaznamenáváme velmi malý nárůst (386). Celková míra hlášení v EU byla 0,12 na 100 000 obyvatel. Největší míra hlášení byla zaznamenána ve Francii (89,6 %). V České republice byl v roce 2014 hlášen pouze jeden výskyt stafylokokové enterotoxikózy (EFSA, 2014). V námi odebraných vzorcích byl enterotoxigenní potenciál bakterie *S. aureus* zaznamenán u 2 (2,2 %) kmenů, kde byla detekována schopnost produkce enterotoxinu G a I. Schopnost produkovat klasické enterotoxiny A-E, které mohou vyvolat otravu u lidí, byla potvrzena pouze u 1 (1,1 %) kmene, a to gen pro produkci enterotoxinu B. Přítomnost genu pro produkci SEs však ještě neznamená, že stafylokokový enterotoxin bude také produkován (Sharma et al., 2000).

Závěr

Závěrem lze říci, že předcházení možného výskytu alimentárních onemocnění po požití pokrmů je možné zajistit zabezpečením patřičných hygienických standardů provozoven, používáním při výrobě i uváděním výrobků do oběhu postupy, které zajistí bezpečnost potravin a pokrmů a dodržováním příslušných právních předpisů. Provozovatelé společného stravování by měli v oblasti znalosti ochrany veřejného zdraví provádět pravidelné proškolení osob činných při výrobě a uvádění potravin a pokrmů do oběhu. Vzděláváním je vhodné vést nejen provozovatele společného stravování, ale celkově obyvatelstvo, k správným hygienickým návykům a postupům při manipulaci s potravinami a pokrmy.

Literatura

Asao, T., Kumeda, Y., Kawai, T., Shibata, T., Oda, H., Haruki, K., Nakazawa, H., Kozaki, S. An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk. *Epidemiology and Infection*, 2003, 130, 33–40.

ČSN EN ISO 6888-1 (560089) Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda stanovení počtu koagulázopozitivních stafylokoků (*Staphylococcus aureus* a další druhy) - Část 1: Technika s použitím agarové půdy podle Baird-Parkera

EFSA 2014. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014 European Food Safety Authority European Centre for Disease Prevention and Control.

Hedberg, W. C., Smith, S. J., Kirkland, E., Radke, V., Jones, T. F., Selman, C. A. Systematic environmental evaluations to identify food safety differences between outbreak and nonoutbreak restaurants. The Ehs-Net Working Group. *Journal of Food Protection*, 2006, 69, 2697-2702.

Chapman, B., Eversley, T., Fillion, K., Maclaurin, T., Powell, D. Assessment of food safety practices of food service food handlers (risk assessment data): testing a communication intervention (evaluation of tools). *Journal of Food Protection*, 2010, 73, 1101-1107.

Løvseth, A., Loncarevic, S., Berdal, K. G. Modified multiplex PCR method for detection of pryrogenic exotoxin genes in staphylococcal isolate. *Journal of Clinical Microbiology*, 2004, 42, 3869-3872.

Martineau F., Picard, F. J., Roy, P. H., Ouellette, M., Bergeron, M. G. Species-Specific and Ubiquitous DNA-Based Assays for Rapid Identification of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 1998, 36, 618-623.

Omoe, K., Ishikawa, M., Shimoda, Y., Hu, D. L., Ueda, S., Shinagawa, K. Detection of *seg*, *seh* and *sei* genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of the enterotoxin productivities of *S. aureus* isolates harboring *seg*, *seh* or *sei* genes. *Journal of clinical Microbiology*, 2002, 40, 857-862.

Sharma, N. K., Rees C. E. D., Dodd, C. E. R. Development of a single-reaction multiplex PCR toxin typing assay for *Staphylococcus aureus* strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66, 1347-1353.

Secchi, C., Antunes, A. L. S., Perez Rodrigues, L. S., Cantarelli, V. V., D'Azevedo, P. A. Identification and Detection of Methicillin Resistance in Non-Epidermidis Coagulase-Negative *Staphylococci*. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 2008, 12, 316-320.

WEB1: Státní zemědělská a potravinářská inspekce [citováno 03. 08. 2016]
<http://www.szpi.gov.cz/clanek/kontroly-szpi-2015-kazda-treti-restaurace-chybovala.aspx>

WEB2: Státní zemědělská a potravinářská inspekce [citováno 04. 08. 2016]
<http://www.szpi.gov.cz/clanek/rada-restauraci-i-letos-ohrozuje-zdravi-spotrebitelu.aspx>

Kontaktní adresa:

Mgr. Kateřina Bogdanovičová, Ph.D.

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie.

E-mail: bogdanovicovak@vfu.cz

Veterinární antibiotická politika v ČR - Quo vadis? *Veterinary antibiotic policy in the Czech Republic. Quo vadis?*

Bureš, J., Pokludová, L., Hera, A.

Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv

Souhrn

Cílem příspěvku je poskytnout aktuální přehled o vývoji regulačních podmínek v oblasti veterinární antibiotické politiky v mezinárodním a vnitrostátním kontextu, a nastínit budoucí směřování veterinární antibiotické politiky v České republice (ČR). Příspěvek rovněž shrnuje výstup z národního akčního plánu 2011 – 2013, jako je spuštění programu sledování rezistence u veterinárně významných cílových patogenů, standardizaci metodiky laboratorního testování či výzkumné projekty realizované v rámci podpory odpovědného používání antimikrobik. Příspěvek rovněž nastiňuje perspektivu budoucí antibiotické politiky v ČR, která bude navazovat na strategii MZe do roku 2030, bude koncipována dle principů „Jedno zdraví“, stanoví si reálně dosažitelné cíle, které přijme praxe, bude vyházet z posilování zdraví zvířat a prevence a bude s problematikou rezistence k antimikrobikům (AMR) pracovat jako s příležitostí.

Klíčová slova: *antimikrobika, rezistence, antibiotická politika, akční plan*

Abstract

The aim of this contribution is to provide an up-to-date overview about the regulatory conditions development affecting the veterinary antibiotic policy from the international and national context and to provide indication regarding the future perspective of the antibiotic policy in the Czech Republic (CZ). The contribution also summarises outcomes of the National Action Plan 2011 – 2013, i.e. start of the resistance monitoring programme in the veterinary target pathogens, standardisation of the laboratory testing methods in the CZ or research projects implemented in frame of the promotion of responsible use of antimicrobials. The contribution also indicates future direction of the Czech antibiotic policy, which will follow the Ministry of Agriculture strategy towards 2030, it shall be designed in line with the „One Health“ principle, it shall establish realistic goals which will be widely accepted by the practice, it shall be based on the improvement of the animal health and prevention and it shall consider the issue of resistance to antimicrobials as the opportunity.

Politické zadání v oblasti AMR

Summit zemí G-20 v čínském Hangzhou v září 2016 potvrdil, že problematika AMR je touto skupinou vnímána jako závažná hrozba pro zdraví člověka, hrozba pro další ekonomický růst a pro globální ekonomickou stabilitu a výsledkem setkání je shoda na potřebě přijímání na důkazech založených opatření, která by bránila dalšímu rozvoji AMR a vedla k jejímu útlumu. G-20 dále podporuje výzkumu do nových a již existujících antimikrobik s jasnou přidanou hodnotou. Skupina G-20 se rovněž přihlásila k podpoře odpovědného používání antimikrobik, přičemž bere v úvahu otázky spojené s dostupností antimikrobních léčiv.

V průběhu září 2016 byla problematika AMR předmětem jednání na vysoké úrovni v průběhu valného shromáždění OSN. Valné shromáždění potvrdilo jako základ budoucích opatření Globální akční plán WHO a jeho pět základních strategických cílů.

Jako primární zájem OSN je deklarována ochrana zdraví veřejnosti a dostupnost zdravotní péče pro člověka. Zdůrazněny byly principy přístupu na bázi „One Health“, úloha prevence, potřeba podpory výzkumu a vývoje nových antimikrobik (zvláště pro humánní použití) a alternativ k antimikrobikům, jako i posílení surveillance v oblasti spotřeby (používání) antimikrobik a posílení programů surveillance a monitoringu AMR. Jako důsledek výstupů bude pravděpodobně dále sílit i tlak na omezování emisí antimikrobik nejen z oblasti zdravotní a veterinární péče, ale i z farmaceutického, respektive chemického průmyslu. Konečně lze očekávat tlak na to, aby jednotlivé státy, v souladu s podmínkami uvedenými v Globálním akčním plánu, vypracovaly a realizovaly národní akční plány, které by měly definovat jejich cíle, kterých se má dosáhnout.

Výstupy z jednání na úrovni OSN se tak ve většině bodů shodují se závěry, které byly v červnu 2016, za holandského předsednictví v Radě přijaty v rámci EU Radou pro zaměstnanost, sociální politiku, zdraví a ochranu spotřebitele jako „Závěry Rady o dalších krocích v rámci přístupu „jedno zdraví“ za účelem boje proti antimikrobiální rezistenci“, a které tak mají, nebo v blízkém budoucnu budou mít konkrétní dopady na podmínky v České republice – jde například o požadavek mít do poloviny roku vypracovaný národní akční plán, který bude postihovat oblast humánní i veterinární medicíny (podle principu „jedno zdraví“) a který by má zahrnovat měřitelné cíle v oblasti snižování případů infekčních onemocnění u člověka a u zvířat, snižování použití antimikrobních léčiv v humánní a veterinární medicíně a konečně snižování rezistence k antimikrobikům ve všech oblastech (humánní, veterinární medicína, životní prostředí). Dále má národní akční plán vést k posilování odpovědného používání antimikrobik, včetně vyloučení rutinního preventivního používání veterinárních antimikrobik a ke zpřísnění používání kriticky významných humánních antimikrobik, podle klasifikace WHO (tj. použití pouze na základě výsledku testování citlivosti). Závěry Rady předpokládají i přijetí nového akčního plánu na úrovni EU, který má vypracovat Evropská komise spolu s členskými státy.

Česká republika svoji antibiotickou politiku v oblasti veterinární medicíny formuje prostřednictvím Ministerstva zemědělství (MZe) v úzké spolupráci a koordinaci s Ministerstvem zdravotnictví a od roku 2013 s přispěním Pracovní skupiny pro antimikrobika, která zahrnuje široké spektrum účastníků, kterých se problematika rezistence dotýká a která formuluje doporučení pro legislativní i nelegislativní opatření, která mají být v resortu MZe k tlumení rezistence přijímána.

Nová legislativa s dopadem na AMR – návrh nařízení pro veterinární léčivé přípravky a pro medikovaná krmiva

Protože ČR může přijímat opatření v oblasti AMR pouze v kontextu a v návaznosti na právní předpisy EU, je na místě připomenout, že v současné době se v Pracovní skupině Rady diskutuje návrh na nová pravidla pro veterinární léčivé přípravky. Návrh předložený Evropskou Komisí v září 2014 má jako jeden z hlavních cílů řešit právě otázky spojené s rozvojem AMR. Na základě analýzy, kterou si provedla Česká republika a která sloužila i ke zpracování rámcové pozice ČR pro projednání návrhu tohoto předpisu vyplývají následující skutečnosti – návrh upozaduje ochranu spotřebitele, včetně ochrany zdraví zvířat před zájmy obchodu, zavádí velkou míru nejistoty a to jak pro regulátory, tak pro soukromoprávní subjekty a lze jen těžko odhadovat jeho dlouhodobé dopady na společnost (např. dostupnost nových veterinárních antimikrobik) i na podnikatelskou sféru (ochota investovat do inovací

stávajících či vývoje nových antimikrobik). K problematickým oblastem patří například navržený systém harmonizace SPC, nedostatečně ošetřený systém pro změny registrace či navrhované změny v systému veterinární farmakovigilance (např. opuštění od systému pravidelných zpráv o bezpečnosti přípravků). Konečně se jako problémová jeví i řada ustanovení, která upravují uvádění veterinárních léčiv do oběhu, jako je například absence definice distribuce veterinárních léčivých přípravků či uvolnění internetového prodeje VLP. Návrh nařízení předpokládá, že ve veterinární medicíně bude zakázáno použití tzv. kriticky významných antimikrobik v humánní medicíně.

Návrh nového nařízení pro medikovaná krmiva úzce navazuje na problematiku veterinárních léčiv. I zde je však řada sporných otázek, například otázka definice medikovaného krmiva, křížové kontaminace, problematika přenosu reziduí či možnosti výroby medikovaných krmiv v mobilních míchárnách. Pokud jde o limity pro křížovou kontaminaci, aktuálně navrhovaný limit pro jiné než antimikrobní látky je 4 mg/kg necílového krmiva. Pro antimikrobika se aktuálně diskutované limity pohybují v rozmezí od 0,5 do 2 mg / kg necílového krmiva.

Akční plán ČR 2011 – 2013, příprava nového národního akčního plánu pro tlumení rezistence k antimikrobikům, navazující aktivity

Česká republika přijala Akční plán Národního antibiotického programu v roce 2011, přičemž některé projekty garantované NAP byly ukončeny v roce 2014. Jako základ pro přijetí akčního plánu byla identifikace 11 prioritních oblastí, z nichž se problematiky veterinární medicíny týkala následující témata:

- surveillance antibiotické rezistence v humánní a veterinární oblasti,
- surveillance spotřeby antibiotik v humánní a veterinární oblasti,
- zlepšení informovanosti a posílení spoluzodpovědnosti laické veřejnosti za zachování účinnosti antibiotik a omezení šíření antibiotické rezistence
- inovace činnosti antibiotických středisek.

Ve všech uvedených oblastech se ve veterinární medicíně podařilo dosáhnout významného pokroku. V případě surveillance antibiotické rezistence se podařilo od roku 2015 realizovat pilotní program monitoringu rezistence u cílových patogenů, který pokračuje i v roce 2016 a je snaha pro přínos tohoto programu zajistit pokračování tohoto programu i do budoucna. Nedílnou součástí realizace tohoto programu byla i standardizace vyšetřovacích metod, včetně definování rozsahu vyšetřovaných antimikrobních látek a rozsahu jejich ředění a to v návaznosti na jednotné stanovení interpretačních kritérií pro jednotlivé kombinace patogena a léčiva, kde byly jednak převzaty veterinární klinické mezní hodnoty (breakpointy) ze standardu CLSI, nicméně z důvodu absence těchto specifických veterinárních kritérií pro většinu kombinací v programu sledovaných původů a antimikrobních látek byly při definování interpretačních kritérií zohledněny údaje z humánní medicíny (EUCAST, CLSI, další programy), dále z dat obsažených v registračních dokumentacích veterinárních léčivých přípravků či otevřených informačních zdrojů. Podrobnosti o podobě programu a vybrané výsledky byly publikovány prostřednictvím odborných periodik (Nedbalcová et al., 2015; Dubská et al. – série publikací 2016)

V roce 2015 (březen – prosinec) bylo v rámci programu získáno a vyšetřeno celkem 1667 izolátů, přičemž 767 bylo ze skupiny gramnegativních, 680 ze skupiny grampozitivních a 220 ze sledovaných veterinárních specifických patogenů. Pokud jde o cílové druhy, nejvíce vyšetřených izolátů pocházelo z drůbeže (597), následovány izoláty pocházejícími z mastitid (541), prasat (305) a skotu (223). Nejčastěji

vyšetřovanými patogeny byly izoláty *Escherichia coli* od prasat, skotu a kura domácího, *Streptococcus uberis* izolovaný z mastitid a původci rodu *Enterococcus* izolované z drůbeže.

Program umožňuje kromě stanovení minimální inhibiční koncentrace patogena a stanovení jeho citlivosti (intermediární citlivosti) nebo rezistence i sledování doplňkových fenotypových znaků rezistence a to rezistenci k methicilinu v případě stafylokoků a produkci širokospektrých betalaktamáz v případě *E. coli*.

Příprava a realizace programu monitoringu veterinárních cílových patogenů tak současně vedla k naplnění většiny stanovených cílů v oblasti inovace činnosti antibiotických středisek ve veterinární oblasti.

První výsledky ukazují například diametrálně odlišný profil rezistence u izolátů *E.coli* ze skotu izolovaných z průjemových onemocnění a mastitid, ojedinělou přítomnost fenotypové rezistence methicilin rezistentního *S. aureus* či přítomnost širokospektrých beta-laktamáz u některých kmenů *E.coli*, nebo naopak velmi dobrou citlivost streptokoků izolovaných z bovinních mastitid k úzkospektrým penicilinům.

Cílem pro nejbližší období je příprava metodiky pro efektivní využívání dat k posílení odpovědného používání antimikrobik ve veterinární klinické praxi, analýzu rizika k formulování směrování antibiotické politiky ČR, směrování dozorové činnosti a konečně i k využití v rámci výzkumu.

Na akční program navázala i řada dalších aktivit – například napojení na mezinárodní projekt sledování tzv. preskripčních návyků a faktorů, které jsou určující v rozhodování o používání antimikrobik ve veterinární klinické praxi, které ukazují na rozdíly mezi jednotlivými členskými státy a úlohou, kterou hrají odborné a ekonomické aspekty (De Briyne et al., 2014, De Briyne et al., 2014). V návaznosti na činnost a výstupy Pracovní skupiny pro antimikrobika byl potom například zahájen výzkumný projekt „Návrh a uplatnění plošného systému sběru dat o nemocech skotu a jeho využití v managementu stád, šlechtění a pro racionální užívání antimikrobik“. Opatření k tlumení antibiotické rezistence musí být současně v souladu se strategií vývoje rezortu zemědělství do roku 2030. Z praktického hlediska potom opatření k tlumení AMR navazují zejména na systémy kvality v produkci a zpracování potravin živočišného původu.

Zkušenosti získané v minulém období by měly být nyní zhodnoceny při přípravě nového národního akčního plánu k tlumení AMR. V souladu s výše uvedeným politickým zadáním bude tento nový akční plán koncipován opět jako společný pro humánní i veterinární oblast, na principu jedno zdraví a bude obsahovat konkrétní opatření a cíle v oblasti útlumu AMR. Za první předpoklad úspěchu tohoto akčního plánu považujeme jeho přijetí veterinárními lékaři a chovateli v praxi. Nový akční plán tedy musí nutně vycházet z ekonomické reality, měl by však současně důrazně akcentovat potřebu odborného řešení a dostupnosti objektivních důkazů pro jeho úspěšné plnění. Cílem je dále směřovat opatření primárně do oblasti posilování zdraví zvířat v souladu s principem „prevence je lepší než léčba“ a navazovat na řadu úspěšných projektů, které se v České republice v této oblasti realizovaly. Dalším z cílů nového národního akčního plánu je pojmout problematiku AMR jako příležitost k pozitivnímu odlišení české zemědělské produkce a na akční plán by proto měla navazovat opatření, která by měla tuto přidanou hodnotu prosadit u konečného spotřebitele. Problematika tlumení AMR by tak měla v souhrnu vést k podpoře konkurenceschopnosti, udržitelnosti a zvyšování soběstačnosti ČR v oblasti potravin. Nedílnou součástí opatření má být i jasná strategie aplikovaného výzkumu, který by měl

zajistit výstupy zaručující proveditelnost a dlouhodobou udržitelnost, respektive adaptabilitu opatření k novým poznatkům stejně jako spolupráce s akademickou sférou a zohlednění AMR jak v pre- tak i post-graduálním vzdělávání.

Literatura:

Evropská unie. Závěry Rady o dalších krocích v rámci přístupu „jedno zdraví“ za účelem boje proti antimikrobiální rezistenci. Dostupné z http://www.consilium.europa.eu/press-releases-pdf/2016/6/47244642809_cs.pdf

Evropská unie. Pokyny Komise pro uvážlivé používání antimikrobiálních látek ve veterinárním lékařství (2015/C 299/04). Dostupné z http://ec.europa.eu/health/antimicrobial_resistance/docs/2015_prudent_use_guidelines_en.pdf.

Nedbalcová K., Kucharovičová I., Černý T., Pokludová L., Bureš J., Hera A., Šatrán P., Sledování rezistencí k antimikrobikům u veterinární významných patogenů. Veterinářství. 2015, č. 3, s. 206 - 211.

Dubská M., Nedbalcová K., Pokludová L., Šatrán P., Černý T. Rezistence k antimikrobikům u vybraných patogenů v chovech drůbeže. Drůbežář-Hydinář. 2016, č. 2, s. 12 - 14.

Dubská M., Nedbalcová K., Pokludová L., Šatrán P., Černý T., Bureš J., Národní program sledování rezistence k antimikrobikům v chovech drůbeže, Náš chov. 2016, č. 7, s. 60 - 63.

Dubská M., Nedbalcová K., Kucharovičová I., Černý T., Šatrán P., Antimikrobika a antimikrobiální rezistence v chovech prasat. Veterinářství. 2016, č. 4, s. 284 - 289.

De Briyne N., Atkinson J., Pokludová L., Borriello S. P., Price S. Factors influencing antibiotic prescribing habits and use of sensitivity testing amongst veterinarians in Europe. Veterinary Record. 2013, vol. 173, no. 19, p. 475. doi: 10.1136/vr.101454.

De Briyne N., Atkinson J., Pokludová L., Borriello S. P. Antibiotics used most commonly to treat animals in Europe. Veterinary Record. 2014, vol. 175, no. 13, p. 325. doi: 10.1136/vr.102462.

Kontaktní adresa:

MVDr. Bureš Jiří

Ústav pro státní kontrolu veterinárních, biopreparátů a léčiv, Hudcova 56a, 621 00 Brno – Medlánky.

Email: bures@USKVBL.CZ

Srovnání různých metod přípravy vzorků tavených sýrů pro elektronovou mikroskopii

Comparison of different preparation methods of processed cheese samples for electron microscopy

Černíková, M., Nebesářová, J., Salek, R. N., Řiháčková, L., Buňka, F.

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Akademie věd ČR

Souhrn

Vzorky pro skenovací elektronovou mikroskopii mohou být připravovány dvěma základními cestami – chemickou a fyzikální fixací. Cílem práce bylo porovnat obě cesty z hlediska vzniku možných artefaktů s ohledem na rozdílný obsah tuku v sušině ve vzorcích tavených sýrů. Nejméně artefaktů vzniklo v průběhu přípravy vzorků fyzikální cestou bez aplikace řízené sublimace.

Klíčová slova: tavené sýry, mikrostruktura, příprava vzorků

Abstract

Samples for scanning electron microscopy can be prepared by two basic methods – chemical and physical approaches. The aim of the study was to compare the two paths from point of view of possible presence of artefacts with respect to different fat in dry matter content in processed cheese samples. At least artefacts were observed during sample preparation by physical paths without application of controlled sublimation.

Úvod

Tavené sýry se vyrábí ze směsi přírodních sýrů, másla, vody a tavicích solí při teplotách 80 – 105 °C. Na strukturu tavených sýrů má vliv celá řada faktorů jako jsou finální vlastnosti taveného sýra, použité suroviny, procesní parametry při výrobě tavených sýrů, podmínky při chlazení a skladování (Kapoor and Metzger, 2008; Bayarri et al., 2012; Lee and Klostermeyer, 2001; Nagyová et al., 2014; Buňka et al., 2014). Pro popis struktury tavených sýrů se mikroskopické metody používají stále častěji.

Skenovací elektronová mikroskopie (SEM) byla pro studium mikrostruktury tavených sýrů využita například v publikacích Guinee et al. (2004) a Carić et al. (1985). Mikrostrukturou surovin používaných pro výrobu tavených sýrových analogů a jejich vlastní mikrostrukturou s použitím SEM se ve své studii zabývali Tamime et al. (1999). Ong et al. (2011) ve své práci využili kromě cryo-SEM také konfokální laserovou skenovací mikroskopii, kdy pozorovali mikrostrukturu mléčného gelu a sýřeniny. Možným vznikem artefaktů při přípravě vzorků pro SEM a v průběhu jejich pozorování se zabýval ve své práci například Kaláb (1984).

Cílem práce bylo zhodnotit různé metody přípravy vzorků tavených sýrů pro SEM. Porovnávány byly metody chemické a fyzikální fixace.

Materiál a metodika

Modelové vzorky tavených sýrů byly vyrobeny s obsahem sušiny 35 % (w/w) a obsahem tuku v sušině (TVS) 40 % (w/w) a 50 % (w/w). Surovinou byla eidamská cihla ve stáří 12 týdnů (50 % (w/w) sušiny, 30 % (w/w) TVS; Kromilk, a.s., Kroměříž,

Česká republika), máslo, voda a tavicí soli fosforečnanového typu (Fosfa a.s, Břeclav, Česká republika). Vzorky byly vyrobeny na zařízení Stephan UMC-5 (Stephan Maschinery GmbH, Německo). Tavené sýry byly vyráběny při teplotě 86 °C s výdrží jedné minuty. Bezprostředně po výrobě byly vzorky zabaleny do polystyrenových vaniček, uzavřeny hliníkovým víčkem, zchlazeny a uchovávány při teplotě 6 ± 2 °C po dobu 14 dnů.

U vzorků byl po 14 dnech skladování stanoven obsah sušiny (dle ISO 5534) a měřeno pH pomocí pH-metru s kombinovanou skleněnou elektrodou při 22 ± 1 °C (pHSpear, Eutech instruments, Oakton, Malaysia). Každý vzorek byl měřen šestkrát.

Příprava vzorků pro elektronovou mikroskopii zahrnovala metodu fyzikální a chemické fixace, přičemž byly testovány různé modifikace. Příprava chemickou cestou se odlišovala v době působení postfixačního činidla, použití či nepoužití chloroformu po lámání vzorku a ve způsobu sušení. Všechny vzorky byly nejprve fixovány v 3,0 % (v/v) roztoku glutaraldehydu (Sigma Aldrich, USA) po dobu 16 hodin. Následně byly vzorky promyty v $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ kakodylanovém pufru (Sigma Aldrich, USA) a fixovány v 2,0 % (w/v) roztoku oxidu osmičelého (Sigma Aldrich, USA). Doba postfixace byla stanovena na 4 hodiny (vzorky označované A1) při teplotě 20 ± 2 °C a na 24 hodin (A2) při teplotě 6 ± 2 °C. Vzorky byly opět promyty v $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ kakodylanovém pufru a následně odvodněny roztoky etanolu 30, 50, 70, 80, 90, 95 a 100 (v/v) % (BC-Chemservis, Česká republika). Po odvodnění byla první část vzorků A1. zlomena v tekutém dusíku a buď zbavena tuku ve 100 % (v/v) chloroformu (BC-Chemservis, Česká republika) a vysušena metodou ke kritickému bodu (A1.1) v přístroji Leica EM CPD300 (Leica Microsystems, Rakousko; dále jen „CPD“), nebo byly vzorky pouze zlomeny a účinku chloroformu vystaveny nebyly (A1.2). Vzorky A2 byly dále rozděleny na tři podskupiny (A2.1, A2.2 a A2.3). U vzorků A2.1 byl aplikován 70 % etanol v průběhu odvodňování, a to po dobu 17 hodin. Po lámání byla část těchto vzorků zbavena tuku v chloroformu (A2.1.1), část (A2.1.2) chloroformu vystavena nebyla. Obě skupiny vzorků A2.1 byly sušeny v CPD. Další část vzorků (A2.2) byla po odvodnění sušena přirozeně na vzduchu po dobu 24 hodin při laboratorní teplotě 20 ± 2 °C. Poslední zkoumaná skupina vzorků (A2.3) byla po odvodnění vložena přímo do CPD, vysušena a zlomena až při lepení na uhlíkovou pásku, na kterou byly lepeny všechny vzorky. Všechny zkoumané vzorky byly pokoveny (Sputter Coater SCD 050, Bal-tec, Liechtenstein) zlatem po dobu 98 s (~ 20 nm zlata). Následně byly vzorky prohlíženy ve skenovacím elektronovém mikroskopu Jeol JSM-7401F (Jeol, UK).

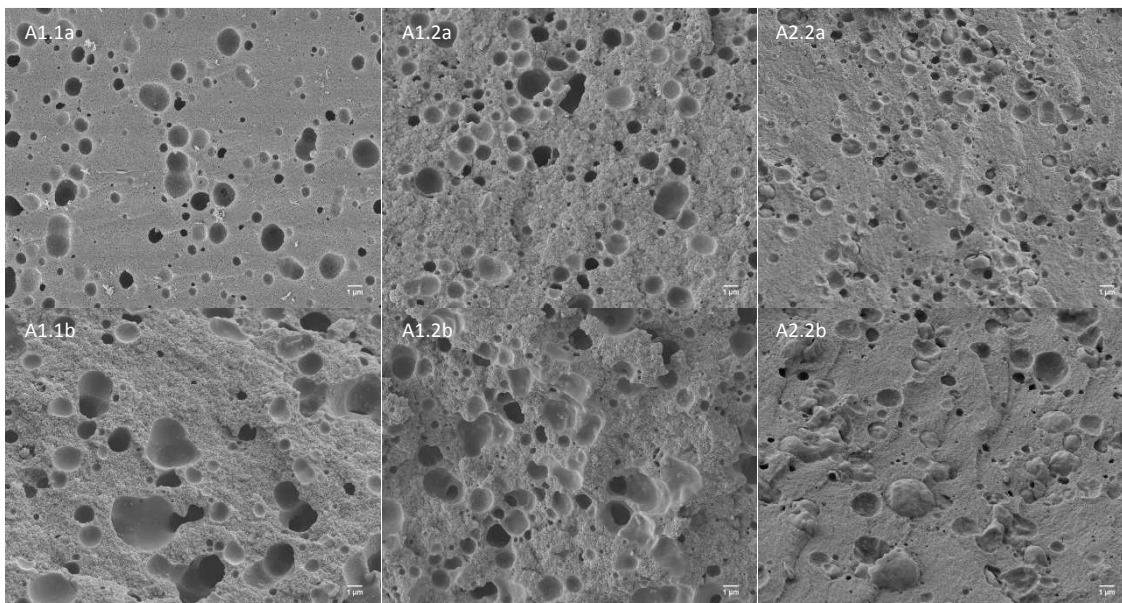
Vzorky připravované fyzikálním způsobem fixace (vzorky označované B) byly na držáku vzorku vloženy do součásti zařízení Alto-Cryo 2500 (Gatan, UK), kde dochází ke zmrazení vzorku pomocí ledové tříště z tekutého dusíku. Poté byly vzorky přeneseny do přípravné kryo-komory Alto-Cryo 2500 (Gatan, UK) připevněné k mikroskopu. V Alto-Cryo 2500 byla udržována teplota minus 135 °C a vysoké vakuum (méně než 10^{-4} Pa). V přípravné komoře je možné provádět také sublimace vzorku a pokovení. Sublimace byla aplikována ve třech různých režimech – vzorky sublimovány na minus 95 °C po dobu tří minut (B1), vzorky se sublimací na minus 98 °C bez výdrže (B2) a vzorky bez řízené sublimace (B3). Dále byly vzorky v přípravné komoře zlomeny pomocí připevněného skalpelu, následně pokoveny směsí palladia a platiny, přesunuty do komory mikroskopu a pozorovány.

Výsledky a diskuze

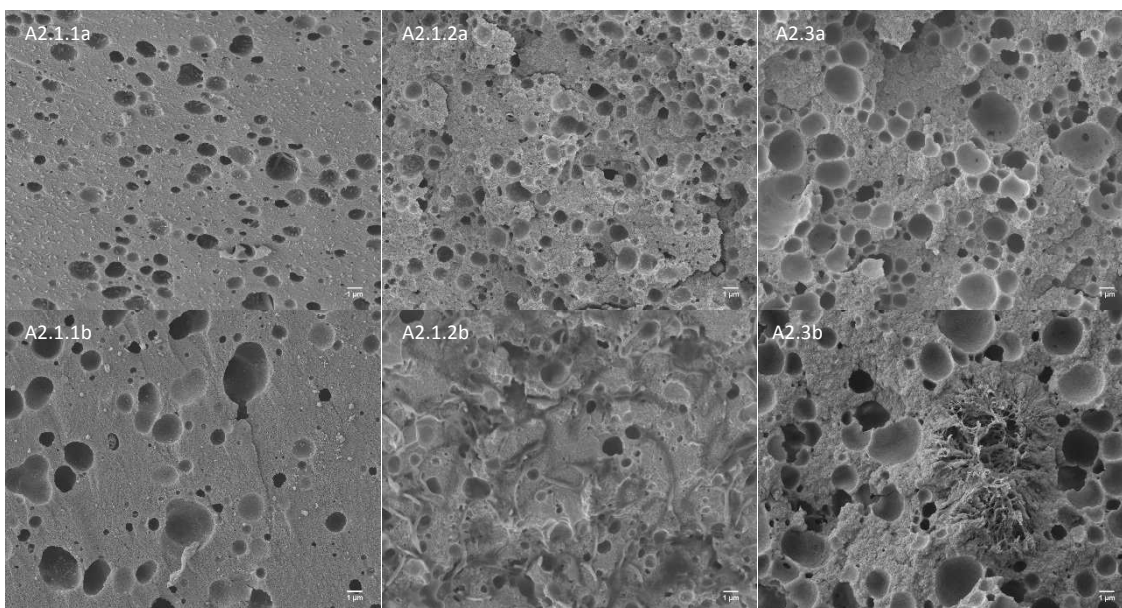
Na základě chemické analýzy je možné konstatovat, že vyrobené modelové vzorky odpovídají navrhovaným parametrům obsahu sušiny. Pro vzorky obsahující 35 % (w/w) sušiny a 40 % (w/w) tuku v sušině byl obsah sušiny stanoven na $36,80 \pm 0,03$ % (w/w) a pH bylo $5,77 \pm 0,05$. U vzorků s obsahem TVS 50 % (w/w) byl obsah sušiny $36,09 \pm 0,02$ % (w/w). Hodnota pH těchto vzorků byla $6,05 \pm 0,03$. Testované obsahy sušiny a tuku v sušině byly vybrány pro srovnání tavených sýrů běžně dostupných v tržní síti (35 % (w/w) sušiny; 40 % (w/w) TVS) se vzorky, které z hlediska obsahu proteinů a tuků (35 % (w/w) sušiny; 50 % (w/w) TVS) jsou ještě vyrobitelné bez nutnosti použití dalších potravinářských přídatných látek. S ohledem na obdobný obsah sušiny lze u vyrobených modelových vzorků porovnat vliv obsahu tuku na přípravu tavených sýrů pro skenovací elektronovou mikroskopii, která se v analýze potravin objevuje stále častěji (Guine et al., 2004; Cunha et al., 2010).

Základní postup chemické fixace vzorků tavených sýrů byl zvolen dle Kaláb and Modler (1985). V literatuře je popisována primární fixace proteinové matrice pomocí roztoků glutaraldehydu v koncentracích 2,4 - 3,0 % (v/v) v délce trvání od 16 do 24 hodin (Viswanathan et al., 2011; Savello et al., 1989; Awad et al., 2002). Námí používaná koncentrace glutaraldehydu byla 3,0 % (v/v) a fixace probíhala po dobu 16 hodin. Při fixaci 24 hodin nebyl v mikrostruktuře vyrobených tavených sýrů zjištěn markantní rozdíl (provedeno během pilotní studie k této práci). Významné odlišnosti však nastávají v případě změn v postfixaci, odvodňování a sušení vzorků. Při postfixaci oxidem osmičelým po dobu 4 hodin při teplotě 20 ± 2 °C (Obr. 1) a bez aplikace chloroformu (A1.2) před vkládáním do CPD bylo patrné u všech vzorků vylití obsahu tuku v místech po tukových kuličkách, které bylo výraznější u vzorků s vyšším obsahem tuku. Při použití chloroformu u těchto vzorků (A1.1) došlo k odstranění zbytků pravděpodobně nedostatečně zafixovaného tuku. Nicméně je nutné poznamenat, že jisté zbytky tukových kuliček v podobě artefaktů jsou viditelné i zde. Obdobné artefakty popsal ve své práci také Kaláb (1984). Bylo by proto vhodné využít vícenásobné promytí v roztoku chloroformu jako použili Tamine et al. (1990). Vzorky postfixované 24 hodin při chladírenské teplotě a ponechané 17 hodin v 70 % etanolu (Obr. 2) a nepromyté chloroformem (A2.1.2) vykazovaly velké změny struktury z hlediska množství uvolněného tuku, který se nevyskytoval jen v otvorech po tukových kuličkách, ale došlo k jeho vylití a zastření struktury proteinové matrice taveného sýra. Opět bylo poškození výraznější u vzorků s vyšším 50 % (w/w) obsahem TVS. Při promytí stejně připravených vzorků v chloroformu (A2.1.1) došlo k odstranění tuku z matrice taveného sýra a tato již výrazné artefakty nevykazovala (Obr. 2). Artefakty bylo možné pozorovat také u vzorků sušených na vzduchu (A2.2), nikoli metodou ke kritickému bodu (Obr. 1). U vzorků A2.2 došlo ke zborcení struktury taveného sýra, která byla nejvíce patrná na tukových kuličkách. Viditelné změny byly lépe pozorovatelné u vzorků s vyšším obsahem tuku, neboť tento obsahoval větší tukové kuličky. Vzorky A2.3 připravené s 24 hodinovou postfixací, odvodněné a vysušené v CPD vykazovaly strukturu bez viditelných artefaktů (Obr. 2).

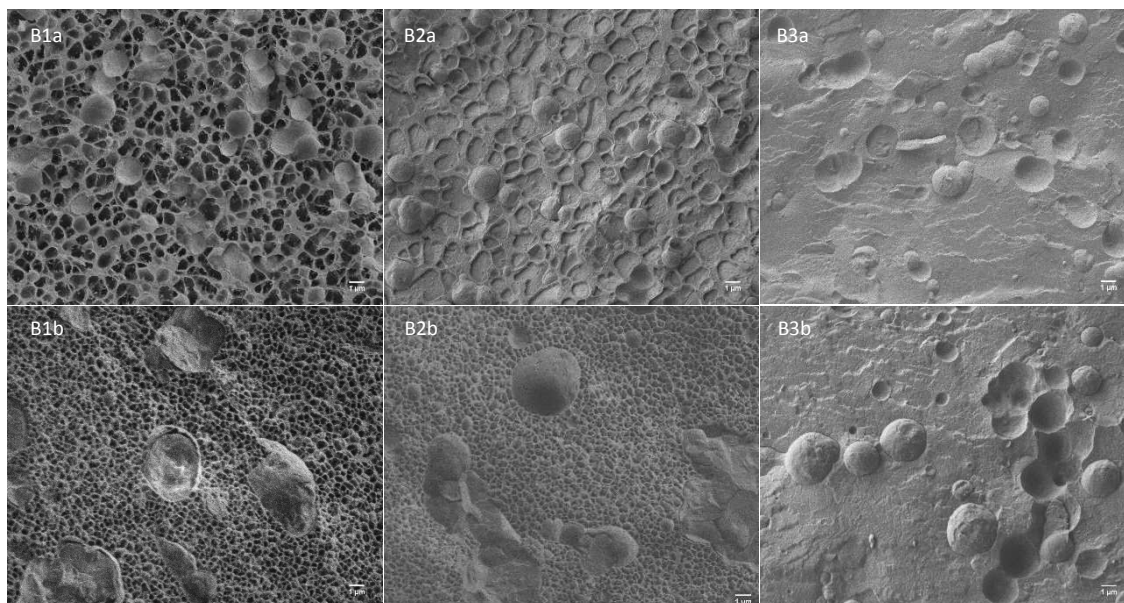
Fyzikální metody fixace jsou v literatuře popisovány jako ty, které nejméně mění strukturu pozorovaného objektu. Po přípravě vzorku fyzikální cestou (zmrazení v dusíkové tříšti) zpravidla následuje sublimace krystalů ledu z povrchové vrstvy, která se liší podle typu vzorků. Snímky vzorků po fyzikální fixaci jsou shrnuty na Obr. 3. Při sublimaci vzorků tavených sýrů při minus 95 °C po dobu tří minut (B1) došlo k výrazné změně struktury tavených sýrů. Struktura byla pozorovaná jako síťovitá.



Obrázek 1: Mikrostruktura taveného sýra s obsahem 35 % (w/w) sušiny a 40 % (w/w) tuku v sušině (index „a“) a 50 % (w/w) tuku v sušině (index „b“) po chemické fixaci vzorky postfixované 4 hodiny s aplikací chloroformu (A1.1) a bez aplikace chloroformu (A1.2), sušení CPD; vzorky po 24 hodinové postfixaci sušené na vzduchu (A2.2)



Obrázek 2: Mikrostruktura taveného sýra s obsahem 35 % (w/w) sušiny a 40 % (w/w) tuku v sušině (index „a“) a 50 % (w/w) tuku v sušině (index „b“) po chemické fixaci vzorky postfixované 24 hodin, ponechané 17 hodin v 70% etanolu, s aplikací chloroformu po lámání vzorku v tekutém dusíku (A2.1.1.) a bez aplikace chloroformu (A2.1.2), sušení CPD; vzorky po 24 hodinové postfixaci sušené CPD (A2.3)



Obrázek 3: Mikrostruktura taveného sýra s obsahem 35 % (w/w) sušiny a 40 % (w/w) tuku v sušině (index „a“) a 50 % (w/w) tuku v sušině (index „b“) po fyzikální fixaci a sublimaci na minus 95 °C 3 minuty (B1); sublimaci minus 98 °C (B2); bez řízené sublimace (B3)

Sublimace byla proto zmírněna na minus 98 °C a ihned po dosažení této teploty (z původních minus 135 °C) byl vzorek přesunut do komory mikroskopu. Sublimační artefakty však byly pozorovány i u těchto vzorků. Obdobné strukturální změny zaznamenali také Ong et al. (2011), kteří studovali mikrostrukturu mléčného gelu a sýřeniny. Sublimační poškození bylo mírnější u vzorků s nižším obsahem tuku (40 % (w/w) TVS) v porovnání s více tučnými (50 % (w/w)) vzorky, při zachování stejného obsahu sušiny. Bylo proto přistoupeno k prohlížení vzorků bez řízené sublimace. Při tomto typu přípravy vzorků nebyly pozorovány žádné artefakty způsobené přípravou vzorku.

Závěr

Na základě získaných výsledků lze pro fixaci vzorků tavených sýrů s obsahem sušiny 35 % (w/w) a tuku v sušině 40 a 50 % (w/w) doporučit spíše metodu fyzikální fixace bez řízené sublimace a následné pozorování cryo-SEM. Při použití chemických metod fixace je nutné nalézt optimální postup pro jednotlivé vzorky dle jejich chemického složení. Při fixaci a následném odstraňování tuku z matrice by bylo vhodné vícenásobné promytí v roztoku chloroformu, pro dokonalejší odstranění tuku a zabránění vzniku nechtěných artefaktů.

Literatura

Awad, R. A., L. B. Abdel-Hamid, S. A. El-Shabrawy, & A R. K. Singh. Texture and microstructure of block type processed cheese with formulated emulsifying salt mixtures. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 2002, 35, 1, 54-61.

Bayarri, S., Carobonell, I., & Costell, E. Viscoelasticity and texture of spreadable cheese with different fat contents at refrigeration and room temperatures. *Journal of Dairy Science*. 2012, 95, 6926 – 6936.

- Buňka, F., Doudová, L., Weiserová, E., Černíková, M., Kuchař, D., Slavíková, Š., Nagyová, G., Ponížil, P., Grüber, T., & Michálek, J. The effect of concentration and composition of ternary emulsifying salts on the textural properties of processed cheese spreads. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie – Food Science and Technology*. 2014, 58, 247 – 255.
- Carić, M., M. Gantar & M. Kaláb. Effect of emulsifying agents on the microstructure and other characteristics of process cheese – a review. *Food microstructure*. 1985, 4, 297 – 312.
- Cunha, C. R., Dias, A. I., & Viotto, W. H. Microstructure, texture, colour and sensory evaluation of a spreadable processed cheese analogue made with vegetable fat. *Food Research International*. 2010, 43, 723 – 729.
- Guinee, T. P., M. Carić & M. Kaláb. Pasteurized processed cheese and substitute/imitation cheese products. In Fox, P.F. (ed), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Volume 2: Major cheese groups*. 3. ed. London: Elsevier Applied Science. 2004, 349–394.
- Kaláb, M. *Artefacts in Conventional Scanning Electron Microscopy of some Milk Products*. 3. vyd. Chicago: SEM Inc. 1984, 95- 111. ISBN 606660507.
- Kaláb, M. & W. H. Modler. Milk gel structure. XV. Electron microscopy of whey protein-based Cream cheese spread. *Milchwissenschaft*. 1985, 193-196. ISSN-0026-3788
- Kapoor, R., & Metzger, L. E. Process Cheese: Scientific and technological aspects – A review. *Comprehensive review in Food Science and Food Safety*. 2008, 7, 194 – 214.
- Lee, S. K., & Klostermeyer, H. The effect of pH on the rheological properties of reduced-fat model processed cheese spreads. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie – Food Science and Technology*, 2001, 34, 288 – 292.
- Nagyová, G., Buňka, F., Salek, R. N., Černíková, M., Mančík, P., Grüber, T., & Kuchař, D. Usage of sodium polyphosphates with different linear length in the production of spreadable processed cheese. *Journal of Dairy Science*. 2014, 97, 111 – 122.
- Ong, L., R. R. Dagastine, S. E. Kentish, & S. L. Gras. Microstructure of milk gel and cheese curd observed using cryo scanning electron microscopy and confocal microscopy. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie – Food Science and Technology*. 2011, 44, 1291 – 1302.
- Tamine, Y. A, M. Kaláb, G. Davis, & M. F. Younis. Microstructure and firmness of processed cheese manufactured from cheddar cheese and skim milk powder cheese base. *Food Structure*. 1990, 9, 23 – 37.
- Tamime, A. Y., D. D. Muir, M. E. Shenana, M. Kaláb & A. H. Dawood. Processed Cheese Analogues Incorporating Fat-Substitutes 2. Rheology, Sensory Perception of Texture and Microstructure. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*. 1999, 32, 50-59.
- Savello, P.A., C. A. Ernstrom & M. Kalab. Microstructure and Meltability of Model Process Cheese Made with Rennet and Acid Casein. *Dairy Foods Research papers*. 1989, 72, 1-11.
- Viswanathan, P. *Electron microscopy*. Chennai: MJP Publishers. 2011. 532 p. ISBN 978-81-8094-075-0.

Poděkování

Tato práce byla podpořena projektem IGA/FT/2016/003 Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně

Kontaktní adresa:

MVDr. Michaela Černíková, Ph.D.

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, Ústav technologie potravin,
Vavrečkova 275, 760 01 Zlín.

E-mail: cernikova@ft.utb.cz

Mýty o potravinách a výživě

Myths on Food and Nutrition

Dostálová, J.

Ústav analýzy potravin a výživy, VŠCHT Praha

Abstrakt

Budou presentovány často se vyskytující mýty o potravinách a výživě. Nejběžnější z nich budou komentovány z pohledu názorů současné vědy o výživě a potravinách

Klíčová slova: *potraviny, výživa, mýty*

Abstract

The myths on food and nutrition will be presented. Most frequent myths will be explained from the point of view present knowledges of food and nutrition science.

Úvod

Výživa je nevýznamnějším faktorem z faktorů zevního prostředí, které ovlivňují naše zdraví. V literatuře se uvádí, že její podíl je přibližně 40 %, někdy až 60 %. V pořadí rizik z potravin je nesprávné složení stravy (riziko z nesprávné výživy) uváděno ve většině případů na prvním místě a další rizika (riziko mikrobiologické, z přírodních toxických látek, chemických kontaminantů a látek přídatných (aditivních) označovaných kódem E až na místech dalších. Výživa se proto stala nejen významným vědeckým oborem, ale i předmětem zájmu mnoha subjektů, které podávají doporučení jak se stravovat a jaké potraviny si vybírat.

Vedle doporučení, která vycházejí z výsledků výzkumu, se v poslední době ve všech typech médií stále častěji objevují nepravdivé, klamavé a zavádějící informace jak o výživě obecně, tak o jednotlivých potravinách. Tyto klamavé informace pocházejí z různých zdrojů a šíří je různé zájmové skupiny. Může se jednat o konkurenční boj různých potravinářských lobby, informace které šíří prodejci doplňků stravy s cílem zvýšit jejich prodej, ale i tížádství novináři, kteří chtějí presentovat senzační zprávy. Ti většinou nemají dostatečné odborné vzdělání ve výživě, potravinářství nebo příbuzných oborech, a tak informaci buď vytrhnou z kontextu, nebo špatně interpretují. V současné době jsou významným zdrojem mýtů i výživoví (nutriční poradci), kteří si za své rady často účtují nemalé částky. Nikdo jejich činnost nekontroluje a navíc živnost nutričního poradce je živnost volná, takže se jím může stát v podstatě kdokoli, i ten který o výživě a potravinách neví vůbec nic.

Smutným faktem pak je, že tyto mýty šíří nejen málo kvalifikovaní odborníci na výživu, ale mnohdy i lidé vzdělaní v oblasti lékařství, potravinářství a příbuzných oborech, jimž toto vzdělání dodává v očích laické veřejnosti na důvěryhodnosti. Jejich klamavé informace mají původ buď v nedostatečných znalostech, nebo autoři patří k zastáncům alternativních směrů výživy, někdy až fanatickým, které jsou postaveny na nevědeckém základě.

Mýty o potravinách a výživě se vyskytují ve všech typech médií. Jejich šíření velmi přispěl internet. Jedná se o šíření poplašných, nebezpečných a řetězových zpráv tzv. hoaxů, jejichž častou součástí je žádost o předání zprávy dále co největšímu počtu adresátů. Hoaxy je v češtině možné nalézt na www.hoax.cz. Nejrozšířenější jsou tyto:

Pangasius – je to k jídlu? Nebezpečný moderní jogurt, Recyklované mléko, Ěčka přísady do potravin, Margaríny a zdravotní riziko (Rama s nama)“ (první výskyt 12.2007)

NEJBĚŽNĚJŠÍ MÝTY

Mýty o mléce a mléčných výrobcích

Mýty o mléce

Mléko zahleňuje. Nepijte mléko, protože žádný savec v dospělosti mléko nepije. Mléko a mléčné výrobky nepatří do jídelníčku. Mléko není nutné pít, protože vápník je i v jiných potravinách. Při alergii na kravské mléko je dobré pít mléko kozí nebo ovčí. Odborníci zastávají názor, že mléko není zdravé. Odtučněné mléko má méně vápníku. Mléko z obchodu je ředěné vodou a přidává se do něj řepkový olej. Čerstvé mléko je zdravější než trvanlivé. Mléko "přímo od krávy" je nejzdravější. Trvanlivé mléko je nutričně nehodnotné. Trvanlivé mléko obsahuje konzervanty. Mléko je moc tučné, má moc kalorií. Nepijte mléko, obsahuje cholesterol a nezdravé živočišné tuky. Mléko je rizikový faktor vzniku cukrovky. Mléko způsobuje osteoporózu. Mléko obsahuje rezidua antibiotik a hormonů.

Mýty o mléčných výrobcích

Probiotické kultury nemají pozitivní vliv na zdraví. Jogurty nemají pozitivní zdravotní účinek – neposilují imunitu, nepodporují trávení apod. Nejčastěji se vyskytuje bifidus avicenc a ten skutečně není našemu tělu vlastní - je izolován z kachen. Tyto nelidské bakterie mohou nahradit původní mikroflóru a způsobovat průjemy. Jogurt je jen atrapa. Některé jogurty a další zakysané mléčné výrobky mohou být nebezpečné – poškození slinivky. Obsahují nebezpečný geneticky modifikovaný kukuřičný škrob. Nejoblíbenější jogurty nejsou jogurty, ale zahuštěná obarvená hmota, která mléko neviděla ani z vrtulníku. Smetanový jogurt obsahuje více vápníku. Jogurty obsahují nebezpečná "ěčka". Ne všechny jogurty obsahují živé kultury. Trvanlivost jogurtů je 2-3 dny, maximálně jeden týden. Jogurt s trvanlivostí jeden měsíc musí obsahovat konzervanty. Současný jogurt není skutečný jogurt. Jogurt není zdravou potravinou. Pouze jogurty zrající v kelímku jsou skutečné jogurty. Jogurty jsou vyráběny z pasterovaného mléka, musí být tudíž mrtvé. Jogurty "ve skle" s ovocem na dně neobsahují "ěčka".

Mýty o tavených sýrech

Tavené sýry se vyrábějí z nekvalitních surovin. Tavené sýry odstraňují vápník z kostí, a proto se kosti snadno lámou. Tavené sýry jsou příliš tučné. Tavené sýry jsou odkladištěm zbytků a závadných sýrů. Tavené sýry jsou plné „ěček“. Tavený sýr je nevhodným zdrojem vápníku. Bílkoviny v tavených sýrech mají nižší biologickou hodnotu. Tavený sýr je výrobek s nezdravým tukem. Tavené sýry obsahují laciné margaríny. Tavené sýry jsou laciné, a tudíž musí být méně kvalitní.

Mýty o tucích.

Rostlinné tuky jsou zdravé, živočišné nezdravé. Margaríny zvyšují celkový cholesterol a LDL cholesterol a snižují HDL cholesterol. Řepkový olej je vhodný jen na „bionaftu“. Kokosový tuk je zdravý. Všechny tuky jsou špatné. Zdravá strava a konzumace tuků se vylučují. Když chci hubnout, nesmím jíst žádný tuk. Je jedno, zda jím máslo nebo rostlinný tuk, po obojím se tloustne. Výroba rostlinných tuků je příliš průmyslová. Máslo je přírodní produkt, zatímco margaríny musí být vyráběny složitým technologickým procesem a nejsou přírodním tukem. Dnešní margaríny se neliší od margarínů, které se používaly v době krize jako náhražky másla. Margaríny ucpávají cévy a obsahují velmi mnoho transfigurovaných mastných kyselin (některé přes 50 %).

Snad největší mýtus se objevil na internetu a byl rozesílán jako spam v několika vlnách. Je to mýtus Rama s nama, ke kterému není třeba se vyjadřovat. Způsob vyjadřování mluví již sám za sebe. Obsahuje termíny a informace jako: „Transfigurované tuky“, „Margarínu chybí pouze jediná molekula, aby z něj byla 100 % umělá hmota“, „Proč to nic živého nechce?“ „Protože to je z 99,99 % plast, který život zabíjí“, „Co takhle rozpustit si na pánvi kelímeček od jogurtu a namazat si ho na topinku, ne?, tak proč jíte margaríny?“

Do sféry mýtů patří i nesprávné interpretace informací které jsou po odborné stránce v pořádku. Jako příklad lze uvést informaci, že tuk bio mléka obsahuje výrazně více (až o desítky procent) esenciálních mastných kyselin linolové a linolenové. Obsah těchto kyselin v mléčném tuku je běžně 2-3% z celkových mastných kyselin, a tak při obsahu cca 4 % tuku v mléce je tedy toto zvýšení z hlediska výživy zcela zanedbatelné. Rovněž tvrzení, že křepelčí vejce obsahují méně cholesterolu než vejce slepičí je zavádějící. Obsah cholesterolu na jednotku hmotnosti je v podstatě stejný, ale hmotnost křepelčích vajec je 6x nižší než vajec slepičích.

Mýty o „éčkách“

Řada mýtů se vztahuje k látkám přídatným, běžně nazývaným „éčka“. Všechny látky přídatné, které byly povoleny úřadem EFSA prošly složitými hygienicko-toxikologickými testy a jsou legislativou povoleny k používání bez omezení (s doporučením „tak, jak je z hlediska technologického nezbytně nutné“) nebo jsou stanovena maximální povolená množství, která se odvíjí od ADI (Acceptable Daily Intake) látky a průměrné spotřeby příslušné potraviny. Látky přídatné se průběžně toxikologicky testují a v případě zjištění negativních účinků se může látka zakázat nebo snížit její maximální povolené množství. U 6 syntetických barviv je nutné na obalu uvádět v rámci předběžné opatrnosti „mohou způsobovat poruchy v chování dětí“. Navíc řada látek označených kódem E se přirozeně nachází v potravinách např. kyselina askorbová, kyselina citronová, lykopen, pektiny, karamel apod. a pouze když se do potravin přidají, označí se kódem E. Přesto se můžeme setkat s tvrzeními patřícími k mýtům: Všechny přídatné látky s kódem Exxx jsou škodlivé, více nebo méně, bez ohledu na množství a bez ohledu na jejich negativní toxikologické testy. Přestože všechna éčka prošla zdravotními testy, mají stejně mnohé z nich na zdraví člověka negativní vliv. Konzumace pokrmů bez aditiv vede ke zlepšení zdravotních problémů řady pacientů. U dětí, které jedly stravu bez přídatných látek a nejznámějších alergenů, došlo během tří dnů k vyléčení nebo výraznému zlepšení původního onemocnění, často vymizely i další problémy dětí jako je astma či ekzémy.

Některé weby a publikace rozdělují éčka na éčka neškodná a škodlivá, někdy je rozdělují do několika skupin podle škodlivosti, přičemž jedinou oprávněnou autoritou, která se může vyjádřit ke škodlivosti nebo bezpečnosti látek používaných v potravinářství, je EFSA, Evropský úřad pro potraviny. V publikaci Éčka v potravinách je uveden obsáhlý seznam éček (dokonce je přiložen manuál "do kapsy", aby ho mohl spotřebitel použít při nákupu), kterým je dobré se vyhnout, kde jsou zahrnuty zcela neškodné látky vyskytující se v přírodě např. sorbitol, xylitol, mannitol, zahušťovadla např. karagenan, arabská guma, guma guar, mono- a diglyceridy mastných kyselin, uhličitan, dusík apod. Velice negativní postoj je zaujímán k náhradnímu sladidlu aspartam, a proto EFSA již několik let prověřuje jeho bezpečnost, ale zatím nebyly zjištěny nějaké negativní účinky, kvůli kterým by mělo být zakázáno, a proto rozhodnutí o jeho používání neustále posunuje.

Mýty o ovoci a zelenině

O ovoci a zelenině se vyskytuje velice málo mýtů. Jsou to např.: Pozor na etikety i u ovoce a zeleniny. I ovoce může obsahovat nebezpečná éčka, přidanou vodu nebo aspik. Rostlinná strava je dostatečným zdrojem minerálních látek. Není nutné konzumovat ovoce a zeleninu, stačí doplňky stravy, např. vitamin C. Strava vždy pokryje potřebu vitaminů a minerálních látek. Konzumace ovoce a zeleniny (potravin) z jiných podnebných pásem je škodlivá.

Při konzumaci ovoce a zejména zeleniny bychom si měli uvědomit, že příliš velká konzumovaná množství škodí, a to především z důvodu poměrně vysokého obsahu cukrů u ovoce, přítomnosti přirozených toxických a antinutričních látek u zeleniny (tomatin v zelených rajčatech, glukosinoláty v brukvovité (košťálové) zelenině, nestravitelné oligosacharidy způsobující trávicí potíže v řadě druhů zeleniny (lusková, košťálová), furanokumariny (fotoalergeny a karcinogeny) v poškozené kořenové zelenině aj. Škodí i vysoký příjem vlákniny, především z důvodu snížení využitelnosti minerálních látek. Tedy doporučení "čím více, tím lépe" je mýtus. Rovněž mýtus je, že zeleninové saláty obsahují vitamin C. V některých případech může být jeho obsah nulový (při špatné přípravě a skladování a při přidavku salátové okurky, která obsahuje enzym askorbasu, která vitamin C rozkládá.

Mýty o výživě.

Z mýtů o výživě jsou nebezpečné zvláště ty, které doporučují alternativní směry výživy, které nemohou zajistit dostatek všech makro- a mikronutrientů. Jde o veganskou stravu, poslední stupně stravy makrobiotické, frutariánství, syrovou veganskou stravu (vitariánství), která v poslední době získává stále více příznivců a některá další výživová doporučení. Zde bych zmínila např. odmítání konzumace mléka a mléčných výrobků a jejich nahrazení výrobky rostlinnými, které je rizikové zejména pro děti a starší občany z důvodu nezajištění především dostatečného příjmu vápníku a vitamínu D. Všechny výše uvedené způsoby stravování jsou obzvláště rizikové pro děti. Moderní jsou také různé očištné diety, včetně léčby půstem. Uvedu příklad fatálního dopadu této léčby, který prezentovala MUDr. Kala Grofova na XXX. Mezinárodním kongresu SKVIMP v roce 2014. 31 letá pacientka vážící 28 kg (BMI okolo 10) byla přijata na interní oddělení PKN koncem listopadu 2013, kde po několika dnech ve stavu těžké podvýživy a dalších diagnóz zemřela. Pacientka držela různé očištné diety a podle internetu se léčila půstem, který dodržovala v roce 2013. Podle návodu celkem 224 dní hladověla, což představuje 67 % jejího života v roce 2013.

Řadu dalších mýtů můžeme nalézt v knize L. Oliveriusové „Mýty a pověry o výživě“.

Závěr

Dopad důsledného převzetí a aplikace některých těchto informací bohužel může vést až k poškození zdraví. Přesto těmito informacím řada lidí věří, často i lidé se vzděláním v příslušném oboru. Alarmující je rovněž skutečnost, že se s mýty o výživě a potravinách stále častěji setkáváme i u studentů a při diskusi s nimi se ukazuje, že někteří těmito „mýtům“ věří víc, než informacím předávaným ve škole, což velmi znesnadňuje jak úlohu učitele, tak i osvěty v oblasti výživy a potravin obecně. Boj s mýty je „boj s větrnými mlýny“. Je ale nutné, aby skuteční odborníci častěji vystupovali v médiích a tím alespoň trochu „zředili“ nepravdivé a klamavé informace. Významně by přispělo i převedení živnosti „nutriční poradce“ ze živnosti volné na živnost vázanou. Vymýtit mýty se nikdy nepodaří, ale přesto by se odborníci s přispěním státních orgánů měli snažit alespoň jejich vliv na obyvatelstvo snížit.

Literatura

Anděl M., Bayer M., Dlouhý P., Dostálová J., Drbohlav J., Kunešová M., Nevoral J., Tláskal P.: Mléko a mléčné výrobky ve výživě, Potravinářská komora České republiky, Praha 2010.

Anděl M., Dostálová J., Dlouhý P., Drbohlav J.: Sýry a tvarohy ve výživě, Česká technologická platforma pro potraviny, Praha 2012.

Brát J., Dostálová J.: Mýty o rostlinných tucích, Medical Tribune 9/2007, strana A14

Buňka F., Kopáček J., (2013), Mýty o tavených sýrech a jak proti nim bojovat, Potravinářská Revue, ročník 8, 201.

HOAX, dostupné na: <http://www.hoax.cz>, 31. 8. 2016

Kala Grofova Z.: Léčba podle internetu – poslední návratová fáze půstu (kazuistika), Sborník z XXX. Mezinárodního kongresu SKVIMP, 6.-8.3.2014, Hradec Králové, str. 91-92.

Klescht V., Hrnčířiková I., Mandelová L.: Éčka v potravinách, Computer Press, Brno, 2007.

Kopáček J., Štafen M., (2012) Nevěřte mýtům o jogurtech, Výživa a potraviny 67, č. 3, 66.

Málková I., Dostálová J.: Nakupujeme s rozumem, vaříme s chutí, Smart Press, Praha 2012.

Oliveriusová L., Mýty a pověry o výživě, EB nakladatelství, 2003.

Informace z medií.

Kontaktní adresa:

Prof. Ing. Jana Dostálová, CSc.

Ústav analýzy potravin a výživy, FPBT, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6.

E-mail: Jana.Dostalova@vscht.cz

Organoleptic Differences between Yak Milk, Camel and Donkey Milk

Gallottini, C., Rapetti, F.

ESI – Euroservizi Impresa Srl, Italian Food Safety Company, Roma - Italy

Abstract

Globally, 16.9% of milk consumed by humans comes from species other than cattle. Non-cattle milk is linked more to territories than cows' milk: sheep in the Mediterranean basin, horse in Central Asia, yak in Himalayas, camel in desert regions. These links contribute to the building of dairy ecosystems including specific dairy species, traditional products, farmer know-how, landscape maintenance, cultural activities, market sector and identity markers. Camels and yaks milks are rich in numerous bioactive substances that function beyond their nutritive value. Camel milk is more similar to goat milk and contains less short-chain fatty acids than cow, sheep and buffalo milks, and about 3 times greater vitamin-C than cow milk. One kg of camel milk meets 100% of daily human requirements for calcium and phosphorus, 57.6% for potassium, 40% for iron, copper, zinc and magnesium, and 24% for sodium. Camel milk helps treat liver problems, lowers bilirubin output, lightens vitamin inadequacy and nutrient deficiency, and boosts immunity. Camel milk reduces allergies caused by cow dairy products. Camel milk has low milk fat made mainly from polyunsaturated fatty acids. It lacks β -lactoglobulin and is rich in immunoglobulins, compatible with human milk. Yak milk has 16.9% - 17.7% solids, 4.9% - 5.3% protein, 5.5% - 7.2% fat, 4.5% - 5.0% lactose, and 0.8% - 0.9% minerals. Yak milk fat is richer in polyunsaturated fatty acids, protein, casein and fat than cow milk. Yak milk casein is used to produce antihypertensive peptides with capacities for producing value-added functional foods and proteins. Donkey milk contains protective proteins and also a higher amount of zinc, was shown to be lower in protein and fat and richer in lactose, which is more similar to human milk than to other mammalian milk. The donkey's milk is recommended for the containment of allergies to cow's milk proteins in children and adults, convalescent patients, the regularization of the gastrointestinal flora, prevention of cardiovascular disease, inflammatory and autoimmune diseases, certain diseases of geriatric relevance, etc. Continual systematic education of milk science especially for non-cow species will be an obligation for health implications to be optimally perceived by human populations worldwide.

Key words: *Milk, Donkey, Camel, Yak*

References

Science of Camel and Yak Milks: Human Nutrition and Health Perspectives Nikkhah, Akbar. Food and Nutrition Sciences 2.6 (Aug 2011): 667-673.
Key Laboratory of Dairy Biotechnology and Engineering, Ministry of Education, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot, P.O. 010018, PR China, J. Yu, W.H. Wang, B.L.G. Menghe, M.T. Jiri, H.M. Wang, W.J. Liu, Q.H. Bao, Q. Lu, J.C. Zhang, F. Wang, H.Y. Xu, T.S. Sun, H.P. Zhang, 2011, Volume 94, Issue 7, Pages 3229–3241.

Contact address: Claudio Gallottini, Ph.D., DVM Euroservizi Impresa Srl, Str. Del Cipresso, 5/D – 06089 Torgiano (Pg), Italy.

E-mail: claudio.gallottini@esinforma.it, www.euroservizimpresa.it.

Food Safety Culture, an Italian Experience

Gallottini, C., Rapetti, F., Trombetti, N.

ESI – Euroservizi Impresa Srl, Italian Food Safety Company, Roma - Italy

Abstract

Euroservizi Impresa Srl (ESI), an Italian consulting company throughout Italy and northern EU has proposed its “Global Management System” or “ESI Methods” including the multiple and simultaneous management of food safety, safety on workplace and privacy code, to the Italian and Northern European food companies.

With the introduction of HACCP and the inclusion of the concept of self-control, Italian and European food companies has gone from a control on the final product to a preventive control of the entire chain. Italian and European food companies are characterized by a small dimension. We will try to explain how in the EU Union characterized by micro enterprises, it was possible to adapt to a radical regulatory change.

By analyzing a sample of 2,000 companies, it is understood that the main obstacle to change was represented in 85% of the total by a lack of understanding of the new language used; 10% of companies who understood the law, did not know, how to face the new manifold costs; the remaining 5% could see the new rule as an imposition, a stretch made by the EU Union. The new regulations were transformed from simple sheets in black and white in color-rich designs manual that transformed the concepts in friendly characters.

The new approach has been amazing. In just two years, 95% of companies has adapted easily to the new European regulations. The remaining 5% is divided into 60% of micro-businesses that have managed to change in another year's time, and 40% who underwent change and closed.

Resistance to change is a physiological human defense mechanism. The success of a behavior change is based into understand what needs to be done and why. A winning proposition, not only must reach the goal, but must take root and then sprout.

Key words: *Food Safety Culture, Italy, SMEs, EU*

References

Gallottini, C., Bedard, B., & Jespersen, L. (2016), La cultura della sicurezza alimentare: nel comportamento dei dipendenti la vera opportunità di successo aziendale, *Alimenti e Bevande*, (41-44) Anno XVIII, Maggio, 2016.

Yiannas, F. (2009). In Frank Yiannas. (Ed.), *Food safety culture creating a behavior-based food safety Management system*. New York: Springer, c2009.

Contact Address:

ESI – Euroservizi Impresa Srl, Strada del Cipresso, 5/D – 06089 Torgiano (Pg), Italy.
Tel.: +39.075/8084352.

E-mail: info@euroservizimpresa.it

Regionální potraviny v Jihomoravském kraji

Regional food in the South-Moravian region

Hlaváček, V., Musil, J.

Regionální agrární komora Jihomoravského kraje

Úvod

Regionální agrární komora Jihomoravského kraje a jí provozované Krajské informační středisko pro rozvoj zemědělství a venkova Jihomoravského kraje jsou organizátory potravinářských soutěží.

Je to forma podpory regionální producentů surovin a potravinářských výrobců.

Soutěž

ZLATÁ Chut' jižní Moravy je v gesci Jihomoravského kraje, Mendelovy univerzity v Brně, Veterinární a farmaceutické univerzity Brno a Regionální agrární komory Jihomoravského kraje. Od počátku soutěže se již uskutečnilo 11 ročníků.

Regionální potravina Jihomoravského kraje je v gesci Ministerstva zemědělství prostřednictvím Státního zemědělského intervenčního fondu (SZIF). Od počátku soutěže se již uskutečnilo 7 ročníků.

Soutěžní kategorie

ZLATÁ Chut' jižní Moravy

1. Pekařské výrobky
2. Cukrářské výrobky
3. Mléko a mléčné výrobky
4. Maso a masné výrobky tepelně opracované
5. Maso a masné výrobky – trvanlivé, včetně tepelně neopracovaných masných výrobků
6. Ryby a rybí výrobky
7. Ovoce a zelenina v čerstvé nebo zpracované formě
8. Mražené výrobky
9. Hotové výrobky – ostatní
10. Ostatní potravinářské výrobky
11. Nealkoholické nápoje
12. Alkoholické nápoje (kromě vína)

Regionální potravina Jihomoravského kraje

1. Masné výrobky tepelně opracované včetně uzených mas
2. Masné výrobky trvanlivé, tepelně neopracované, konzervy a polokonzervy
3. Sýry včetně tvarohu
4. Mléčné výrobky ostatní
5. Pekařské výrobky včetně těstovin
6. Cukrářské výrobky včetně cukrovinek
7. Alkoholické a nealkoholické nápoje
8. Ovoce a zelenina v čerstvé nebo zpracované formě
9. Ostatní

Hodnotící kritéria

- I. **Inovativnost** – originalita, původ, regionalita, inovativnost ve zpracování
- II. **Senzorické posouzení** – chuť, vzhled, vůně apod.
- III. **Použité materiály, suroviny a způsob výroby** – technologická hlediska a způsob zpracování, využití místních surovin
- IV. **Specifické a pomocné posouzení** – vliv výrobku na zdraví zákazníka, dostupnost výrobku na trhu, bioprodukt
- V. **Design výrobku** – označení, vzhled, obalová technika, ochrana před poškozením, etiketa

Hodnotící kritéria jsou shodná pro obě soutěže.

Hodnocení

Každý člen hodnotící komise (komisí) přidělí každému výrobku u příslušného kritéria počet bodů ze stanoveného rozsahu.

Vítězný výrobek je ten, který má v součtu nejvyšší počet bodů.

Ocenění

ZLATÁ Chuť jižní Moravy – získává certifikaci vítězný výrobek a může se takto prezentovat.

Chuť jižní Moravy – získávají certifikaci všechny ostatní úspěšně hodnocené výrobky, které takto končí na „druhém“ místě a mohou se takto prezentovat.

Regionální potravina Jihomoravského kraje – získává certifikaci vítězný výrobek a může se takto prezentovat. Ostatní výrobky nemají žádnou možnost prezentace o úspěších účasti v soutěži.

Vztah soutěží ZLATÁ Chuť jižní Moravy a Regionální potravina Jihomoravského kraje

Principy obou soutěží jsou shodné. Je to jediný, nebo jeden z mála případů v ČR, rozdíl je „pouze“ v kategorizaci a neprezentování úspěšných, ale ne vítězných výrobků v soutěži Regionální potravina Jihomoravského kraje.

Poznatky organizátorů

Poznatky pocházejí z deseti či sedmiletého sledu soutěží a doporučení přijetí vývojových změn, např.:

- **kategorizace** – vhodnější u soutěže ZLATÁ Chuť jižní Moravy (jednoznačnější podpora odlišných potravinových skupin – nápoje, ryby, mražené výrobky, ... Nevylučujeme i další specifické kategorie, které budou využívat jen některé kraje, jsou to např. i ryby.
- **počet hodnocených vzorků jednou komisí** – tak, aby byla respektována senzorická bdělost. Tomu potom bude odpovídat počet hodnotících komisí.
- **termíny hodnocení výrobků** – měly by odpovídat i tomu, že i ovoce a zelenina budou moci být hodnoceny ve fázi konzumní zralosti a ne převážně ve zpracované formě od konzervářů.
- **označování úspěšných výrobků** – propojit logo celostátní grafiky s regionálními k usnadnění orientace nakupujících.
- **postupné přiblížení** – sjednocení principů, což by umožnilo soutěžit mezi jednotlivými regiony v některé specifické kategorii, např. pečivo – chléb, ...)

Závěrem

Při prezentaci během vlastní konference své zkušenosti osobně předneseme. Naše vize je taková, že podpora a realizace podobných akcí jako jsou takovéto soutěže, povede k podpoře jak potravinové bezpečnosti tak i k bezpečnosti potravin formou vzájemné podmíněnosti.

Kontaktní adresa:

Ing. Václav Hlaváček, CSc. a Ing. Jaromír Musil, Ph.D.
Regionální agrární komora Jihomoravského kraje, Krajské informační středisko pro rozvoj zemědělství a venkova Jihomoravského kraje, Kotelářská 53, 602 00 Brno.
E-mail: rak@rakjmc.cz, kis@kisjm.cz, www.kisjm.cz

Podniky společného stravování a hromadná alimentární onemocnění *Catering facilities and food-borne outbreaks*

Kameník, J.^a, Bogdanovičová, K.^a, Dušková, M.^b, Strejček, J.^a

^a Ústav gastronomie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

^b Ústav hygieny a technologie mléka, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Zařízení veřejného stravování (restaurace, kavárny, bary, catering ad.) se v r. 2014 podílela na vypuknutí hromadných alimentárních onemocnění se silným důkazem původu z 26 %. Větší podíl na šíření a vzniku hromadných alimentárních nákaz se přičítal jen domácnostem (37,3 %). Mezi příčiny vzniku ohnisek hromadných alimentárních onemocnění patří nedostatečné tepelné opracování potravin během přípravy pokrmů, infikovaná osoba manipulující s potravinou, nedostatečné chlazení, křížová kontaminace nebo kombinace uvedených faktorů. Příspěvek stručně popisuje tři případové studie hromadných alimentárních onemocnění různé etiologie.

Klíčová slova: EFSA, případové studie, noroviry, *Campylobacter*, *Bacillus cereus*

Abstract

Catering facilities were the second most commonly reported setting (26 %) for food-borne strong-evidence outbreaks in 2014. The category „household“ placed the first position (37.3 %). Inadequate heat treatment, an infected food handler, inadequate chilling, cross-contamination or a combination of different factors were reported as contributory factors of strong-evidence outbreaks. The paper describes three case-studies of food-borne outbreaks of different etiology.

Úvod

Ve Zprávě EFSA o trendech a zdrojích zoonóz a hromadných onemocněních z potravin za rok 2014 se uvádí, že v tomto období hlásilo 26 členských států 5 251 případů hromadných onemocnění z potravin (EFSA, 2015). Z toho se podařilo u 592 ohnisek zjistit původce, dále určit potravinu, která představovala vehikulum, a také identifikovat místo, odkud se onemocnění rozšířilo. V přehledu EFSA se tato hromadná onemocnění označují „se silným důkazem“ (*strong evidence*).

Z hlediska gastronomie je třeba věnovat pozornost skutečnosti, že zařízení veřejného stravování (restaurace, kavárny, bary, catering ad.) byla uvedena mezi místy, odkud došlo k šíření alimentárních onemocnění, na druhém místě (26 % u hromadných onemocnění se silným důkazem). Větší podíl na šíření a vzniku hromadných alimentárních nákaz se přičítá jen domácnostem (37,3 %). Jestliže se ale k provozovně veřejného stravování přiřadí ještě podniky účelového stravování (stravování v nemocnicích, domovech pro seniory, školních jídelnách), potom byl podíl zařízení společného stravování na šíření hromadných alimentárních onemocnění srovnatelný s domácnostmi. Platilo to prakticky i v případech hromadných onemocnění se „slabým důkazem“ (*weak evidence*), kde se podařilo prokázat v 610 případech jako místo zdroje

domácnosti a v 597 případech zařízení veřejného stravování. Nicméně u 3 083 hromadných onemocnění bylo uvedeno místo jako neznámé.

V případě hromadných onemocnění se silným důkazem byly nejčastějším původcem bakterie rodu *Salmonella* (38,2 %), následovaly bakteriální toxiny (18,4 %) a viry (14,2 %). Důvodem, proč došlo k vypuknutí onemocnění, bylo:

- nedostatečné tepelné opracování potravin během přípravy pokrmů
- infikovaná osoba manipulující s potravinou
- nedostatečné chlazení
- křížová kontaminace
- kombinace různých faktorů.

Před pěti lety, v r. 2010 hlásily členské země EU (24) celkem 5 262 ohnisek hromadných onemocnění z potravin, z toho 698 bylo se silným důkazem (EFSA, 2012). Zařízení veřejného stravování se na těchto případech podílely v 30,8 % (domácnosti 38,7 %). Nejčastější příčinou hromadných onemocnění z potravin byly bakterie rodu *Salmonella*, následovaly viry, termotolerantní *Campylobacter* a bakteriální toxiny.

Následují příklady případových studií ze světa, kdy se společné stravování podílelo na vzniku hromadných alimentárních onemocnění rozličné etiologie.

Případová studie 1: dvě ohniska hromadného onemocnění způsobeného noroviry v Anglii (Vivancos et al., 2009). Příčina – infikovaná osoba manipulující s potravinou.

K případům gastrointestinálních onemocnění došlo ve východní Anglii (Norfolk) v r. 2007. Postižení navštívili dvě barbecue akce (akce A, akce B), kde se podávala jídla připravená jednou cateringovou firmou (grilovaná masa a saláty). Burgery, masné výrobky, kebaby a saláty byly připravené v jedné provozovně, ale saláty byly zpracované v jiné místnosti než masné produkty. Všechny saláty připravovala jedna osoba. Obě akce se konaly venku. Masné výrobky a kebab byly tepelně upravené před akcí a po dopravení na místo znovu ohřáté, steaky a burgery byly tepelně upravené ze syrového stavu na místě akce. Cateringová společnost převážela jídlo ve 4 vozidlech, žádné nebylo chlazené.

Akci A navštívilo 26 lidí, onemocnělo 19 z nich (73,1 %). Průměrná inkubační doba byla 32 hodin (15-55 hod). Nejčastěji zmiňované příznaky byly bolesti břicha (89,5 %), nevolnost (84,2 %), následoval průjem (52,6 %), zvracení (57,9 %), horečka (52,6 %). Příznaky trvaly průměrně 37 hod (24-72 hod). Žádný případ nevyžadoval hospitalizaci. Akci B navštívilo asi 250 lidí. Bylo identifikováno 60 lidí s příznaky shodující se s akcí A. Osoba, která připravovala saláty, rovněž hlásila průjemové onemocnění brzy po proběhnutí akcí.

Mikrobiologickým vyšetřením vzorků stolice (1 vzorek pacient z ohniska A, 11 vzorků z ohniska B, osoba připravující saláty) se podařilo prokázat v 6 vzorcích noroviry genetické skupiny II (GII-6). V žádném z analyzovaných vzorků salátů se noroviry nepodařilo prokázat. Nicméně kalkulací na základě provedených statistických analýz byly určeny s největší pravděpodobností jako vehikl listový salát a coleslaw. Předpokládalo se, že osoba připravující saláty byla infikována noroviry a během manipulace bezděčně infikovala tyto potraviny. Těsně před přípravou si přiznala nespecifické příznaky, i ve vzorku její stolice se podařilo noroviry prokázat (Vivancos et al., 2009).

Případová studie 2: hromadné onemocnění vyvolané bakterií *Campylobacter* po návštěvě restaurace v Liverpoolu (Farmer et al., 2012). Příčina – křížová kontaminace.

V lednu 2011 navštívilo jednu liverpoolskou restauraci 26 hostů. Z nich 11 onemocnělo. Od čtyř z nich se podařilo získat vzorky stolice, vyšetřením se prokázaly bakterie rodu *Campylobacter* (bez bližší specifikace). Bolesti břicha postihly všech 11 nemocných, následovaly příznaky: průjem (91 %), plynatost (64 %), horečka (45 %), nevolnost (34 %), zvracení (18 %) a krev ve stolici (18 %). Inkubační doba se pohybovala od 16 hod po 7 dní. Vrcholové příznaky se u 6 postižených objevily mezi 48-72 hod po jídle. Byla provedená statistická analýza každé položky v menu. Mezi onemocněním a chutnáním či požíváním tygřích krevet byl nalezen statisticky významný vztah ($P < 0,01$), stejně jako s požitím chilli omáčky podávané s krevetami. Další položka – paštika z kuřecích jater (chicken liver parfait) vykázala hodnotu $P = 0,04$. Šest členů personálu bylo negativních na přítomnost kampylobakterů ve vzorcích stolice. Bohužel v době, kdy onemocnění propukla, nebyly v restauraci již žádné vzorky inkriminovaných potravin. Předpokládá se, že během přípravy menu došlo ke křížové kontaminaci krevet a chilli omáčky a zdrojem kampylobakterů byla kuřecí játra. Krevety byly smažené ve fritéze a vzhledem k vysoké teplotě není pravděpodobné, že by přežily bakterie původně přítomné v syrových krevetách (Farmer et al., 2012).

Případová studie 3: tři případných hromadných otrav z potravin vyvolaných *Bacillus cereus* v různých provozech hromadného stravování v Rakousku (Schmid et al., 2016). Příčina: nedostatečné chlazení.

B. cereus je významný původce alimentárních onemocnění způsobených konzumací určitých typů potravin v Evropě a USA. Způsobuje dvě formy onemocnění. Průjmy jsou spojené s *in vivo* produkcí termolabilních enterotoxinů Nhe (nehemolytický toxin), Hbl (hemolyzin BL) a CytK (cytotoxin K) v tenkém střevě. Emetickou formu vyvolávají malé, termo- a acidostabilní toxiny cereulid a isocereulidy, které se tvoří v potravinách.

První případ hromadného onemocnění (outbreak A) postihl 14 hotelových hostů z celkových 32. Příznaky se objevily po 3-24 hodinách po večeři. Všech 14 nemocných bylo mezi 18 hosty, kteří snědli bramborovou kaši. Ze vzorků jídel/potravin byly izolovány dva enterotoxigenní kmeny *B. cereus* patřící do fylogenetických skupin III a IV. Byly zjištěné hrubé nedostatky ve způsobu přípravy a skladování pokrmů. Bramborová kaše byla připravená ráno ze syrových brambor, oloupaných a krájených ručně po uvaření. Takto byly brambory ponechány do večera při pokojové teplotě, kdy následovala finální příprava přidáním syrového kravského mléka (hotel chová vlastní dojnice), muškátového oříšku s následným mírným ohřátím a servírováním.

Druhý případ (outbreak B) nastal v jednom závodě po konzumaci oběda v závodní jídelně. Bylo zaznamenáno 14 postižených zaměstnanců z celkových 63. Nástup příznaků byl rychlý, za 1,5-4,5 hod (průměr 2,7 hod) po obědě. V porovnání k nepostiženým spolupracovníkům u lidí, kteří si k obědu dali polévku s celestýnskými nudlemi (*pancake soup*), byla 13krát vyšší pravděpodobnost onemocnění. *B. cereus* byl izolován ve vzorku práškové polévky (10 000 KTJ/g), v menším počtu i ve vzorcích vepřového guláše, salátového dresinku a mražené petrželky. V provozu kuchyně byly zjištěné nedostatky v čištění a dezinfekci a rovněž nevhodné podmínky skladování pokrmů a potravin. Jak v případě hromadných onemocnění A i B byly příznaky onemocnění zvracení a průjem.

Třetí případ (outbreak C) se stal v červenci 2013 v Dolním Rakousku a postihl 106 rezidentů rehabilitační kliniky z celkových 362. Průjmová onemocnění propukla za 15-24 hod po konzumaci oběda. Podezřelými pokrmy byly ovocný salát, jelení ragú a klikvy-hrušky. Ze stolice jednoho pacienta byl izolován kmen *B. cereus* (celkem bylo

v rámci šetření „outbreak C“ izolováno 6 kmenů *B. cereus*), který byl nalezen i ve špenátovém krému a jahodovém mléce. V kuchyni rehabilitační kliniky byly zjištěny šetřením nedostatky ve skladování syrových a vařených pokrmů/potravin.

Závěr

Hromadná onemocnění z potravin bakteriální nebo virové etiologie jsou často způsobena konzumací hotových pokrmů, připravených v různých podnicích hromadného stravování a při různých příležitostech. Vzhledem k různorodé etiologii bývají vehikulem šíření různé druhy potravin včetně ovoce a zeleniny. Vždy je ale příčinou kontaminace a následného šíření/pomnožení lidská chyba – ať je to způsobením křížové kontaminace, nevhodným skladováním či kombinací různých faktorů. Úkolem odborných pracovníků v oblasti státního dozoru i v oblasti vzdělávání je proto soustavná osvěta na téma bezpečnost potravin v přípravě hotových pokrmů a potravin k přímé spotřebě.

Literatura

EFSA (2012): The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010. *EFSA Journal*, 2012, vol. 10, no. 3, p. 2597.

EFSA (2015): The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. *EFSA Journal*, 2015, vol. 13, no. 2, p. 4329.

FARMER, S., KEENAN, A., VIVANCOS, R. Food-borne *Campylobacter* outbreak in Liverpool associated with cross-contamination from chicken liver parfait: Implications for investigation of similar outbreaks. *Public Health*, 2012, vol. 126, p. 657-659.

SCHMID, D., RADEMACHER, C., KANITZ, E. E., FRENZEL, E., SIMONS, E., ALLERBERGER, F., EHLING-SCHULZ, M. Elucidation of enterotoxigenic *Bacillus cereus* outbreaks in Austria by complementary epidemiological and microbiological investigations, 2013. *International journal of Food Microbiology*, 2016, vol. 232, p. 80-86.

VIVANCOS, R., SHROUFI, A., SILLIS, M., AIRD, H., GALLIMORE, C. I., MYERS, L., MAHGOUB, H., NAIR, P. Food-related norovirus outbreak among people attending two barbecues: epidemiological, virological, and environmental investigation. *International Journal of Infectious Diseases*, 2009, vol. 13, p. 629-635.

Kontaktní adresa:

MVDr. Josef Kameník CSc. MBA

Ústav gastronomie, FVHE VFU Brno

E-mail: kamenikj@vfu.cz

Nález cyst tasemnice *Echinococcus multilocularis* v játrech jatečných prasat v České republice

Findings of *Echinococcus multilocularis* larval forms in liver of slaughtered pigs in the Czech Republic

¹Koudela, B., ²Harna, J., ²Pijáček, M.

¹Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

²Státní veterinární ústav Olomouc

Souhrn

Alveolární echinokokóza je závažné zoonotické onemocnění, jehož původcem jsou larvální stádia tasemnice liščí *Echinococcus multilocularis*. Prasata mohou být stejně jako člověk netypickými mezipřenositeli tohoto zoonotického parazita. Při veterinární prohlídce byly zjištěny v játrech 11 kusů jatečných prasat ze dvou chovů v Olomouckém kraji cystické nodulární útvary o velikosti 3-5 mm („mikroabcesy“) obsahující bělavou až světle žlutou kaseózní hmotu. Při histopatologickém posouzení těchto změn byla zjištěna granulomatózní nebo nekrotická hepatitida s četnými eozinofily. Cysty byly ohraničeny eosinofilní bezbuněčnou laminární stěnou, která je typická pro laminární membrány larválních stádií tasemnic rodu *Echinococcus* sp. Tato laminární vrstva byla pozitivní na průkaz polysacharidů barvením PAS. Nález histologického vyšetření jsou identické s histopatologickou charakteristikou alveolární echinokokózy u typických mezipřenositelů. Dalším šetřením byla metodou PCR potvrzena DNA tasemnice *E. multilocularis* metodou PCR ve 3 vzorcích jater prasat. Nejpravděpodobnějším zdrojem infekce jatečných prasat je krmivo kontaminované liščím trusem s vajíčky *E. multilocularis*. Naše zjištění ukazuje, že veterinární prohlídka jatečných zvířat může poskytnout důležité informace o epidemiologii a pro stanovení rizika humánní alveolární echinokokózy.

Klíčová slova: alveolární echinokokóza, veterinární prohlídka jatečných prasat

Abstract

Alveolar echinococcosis is a serious zoonosis caused by the larval stage of *Echinococcus multilocularis*. Pigs, as humans, can play the role of non-specific intermediate hosts of this zoonotic parasite. By means of the official meat inspection of slaughtered pigs, livers affected by encapsulated nodules (3-5 mm) containing whitish to light yellow, viscous to pasty material (“microabscesses”) were detected. These pigs were raised on two different farms, being located in Olomouc region. Macroscopical and histological examination of livers revealed granulomatous to necrotizing hepatitis with attendance of numerous eosinophils. In lesions, eosinophilic, band-like acellular structures resembling the laminated layer of *Echinococcus* sp. were found. Moreover, histological examinations revealed a positive reaction of these structures with periodic acid-Schiff. Altogether, the findings were consistent with alveolar echinococcosis. Moreover, *Echinococcus multilocularis* DNA was demonstrated in selected samples by polymerase chain reaction. Epidemiological considerations suggest contamination of the forage with fox tapeworm eggs to be the most likely source of infection of pigs. The presented cases show that adequate mechanisms of meat inspection may provide important data for the purposes of surveillance and risk assessment of human alveolar echinococcosis.

Úvod

Tasemnice (Cestoda) patří mezi striktně parazitické helminty, kteří mohou u člověka vyvolávat onemocnění jako dospělí jedinci v trávicím traktu (střevní cestodózy, např. téniozy) i jako larvální stádia ve vnitřních orgánech (larvální cestodózy - hydatidóza, cysticercóza, coenuróza). Hydatidóza je způsobena larválními stádii tasemnic rodu *Echinococcus* (Gottstein a kol., 2015). K infekci člověka dochází po pozření vajíček tasemnic, která jsou vylučována s trusem masožravců. V posledních letech narůstá počet autochtonních případů alveolární (multilokulární) hydatidózy (alveokokózy), která je způsobena tasemnicí liščí *Echinococcus multilocularis* (Kolářová a kol., 2015). Dospělé tasemnice *E. multilocularis* žijí v tenkém střevě masožravců, především lišek, vzácněji psů a koček. Typickými mezipřehostiteli jsou drobní savci, hlavně hlodavci, u kterých se hydatidy vyvíjejí primárně v játrech. Člověk se může nakazit pozřením vajíček tasemnice *E. multilocularis* např. při sběru lesních plodů kontaminovaných liščím trusem; dalším zdrojem infekce člověka může být přímý styk se psy, případně a kočkami, kteří se nakazí pozřením infikovaných mezipřehostitelů-hlodavců ve volné přírodě (Gottstein a kol., 2015).

Jako ojedinělí mezipřehostitelé tasemnice *E. multilocularis* se uplatňují ve volné přírodě vedle hlodavců také divoká prasata, u kterých se larvocysty primárně nacházejí v játrech ve formě sterilních cyst bez germinativní vrstvy a divoká prasata tak představují aberantní mezipřehostitele bez možnosti dalšího vývoje tasemnice *E. multilocularis*. Nález larvocyst *E. multilocularis* u domácích prasat je vzácný a ojedinělé nálezy byly doposud popsány v Japonsku, v Polsku a v Německu (Kimura a kol., 2010; Karamon a kol. 2012; Böttcher a kol. 2013) a jsou všeobecně vnímány jako důsledek vysoké prevalence *E. multilocularis* u lišek jako definitivních hostitelů v dané oblasti. Obsahem tohoto příspěvku je popis prvního nálezu cyst v játrech jatečných prasat na území České republiky, jejichž původcem je tasemnice *E. multilocularis*.

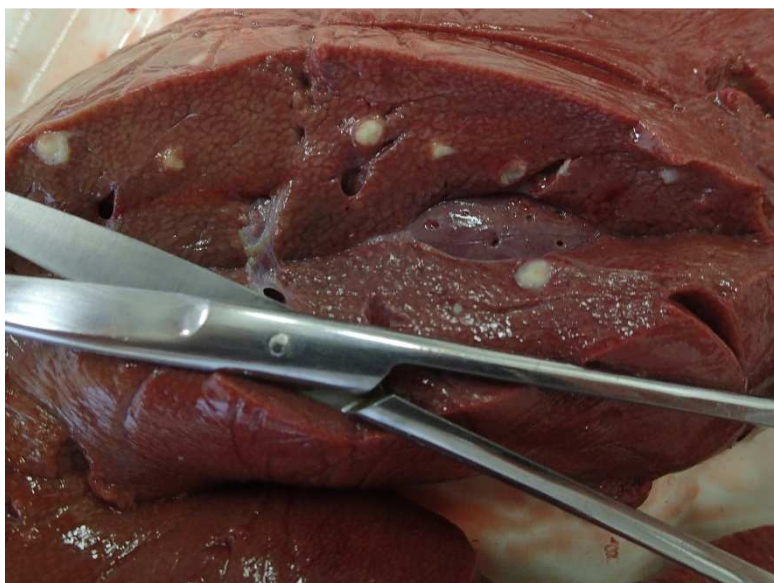
Materiál a metodika

Při veterinární prohlídce byly zjištěny v játrech jatečných prasat cystické nodulární útvary („mikroabcesy“). Játra s nodulárními změnami byla zaslána k dalšímu posouzení do SVÚ Olomouc a následně byl materiál zaslán na Ústav patologické morfologie a parazitologie VFU Brno. Nodulární útvary v játrech byly vyšetřeny histopatologickými a molekulárními metodami s cílem určit původce těchto změn.

Výsledky a diskuze

Při veterinární prohlídce byly zjištěny v játrech 11 kusů jatečných prasat ze dvou chovů v Olomouckém kraji cystické nodulární útvary o velikosti 3-5 mm („mikroabcesy“) obsahující bělavou až světle žlutou kaseózní hmotu (Obr. 1). Při histopatologickém posouzení těchto změn byla zjištěna granulomatózní nebo nekrotická hepatitida s četnými eozinofily. Cysty byly ohraničeny eosinofilní bezbuněčnou laminární stěnou, která je typická pro laminární membrány larválních stádií tasemnic rodu *Echinococcus* sp. Tato laminární vrstva byla pozitivní na průkaz polysacharidů barvením PAS. Nálezy histologického vyšetření se shodují s histopatologickou charakteristikou alveolární echinokokózy u typických mezipřehostitelů. Dalším šetřením byla metodou PCR potvrzena DNA tasemnice *E. multilocularis* metodou PCR ve 3 vzorcích jater prasat. Nejpravděpodobnějším zdrojem infekce jatečných prasat je krmivo kontaminované liščím trusem s vajíčky *E. multilocularis*. Naše zjištění ukazuje, že veterinární prohlídka

jatečných zvířat může poskytnout důležité informace o epidemiologii a stanovení rizika humánní alveolární echinokokózy.



Obr. 1. Nodulární útvary v játrech prasete

Závěr

Posouzením jaterních nodulárních změn zjištěných při veterinární prohlídce jatečných prasat jsme zjistili, že původcem těchto změn je tasemnice liščí *Echinococcus multilocularis*. Tento nález je nepředstavuje bezprostřední zdravotní riziko pro člověka jako konzumenta jater jatečných prasat, je však dokladem potenciálního rizika infekce člověka tasemnicí liščí *Echinococcus multilocularis* nejenom v lesních oblastech, v místech tradičního výskytu lišek, ale také v blízkosti chovů domácích zvířat.

Literatura

Böttcher D, Bangoura B, Schmäschke R, Müller K, Fischer S, Vobis V, Meiler H, Wolf G, Koller A, Kramer S, Overhoff M, Gawlowska S, Schoon HA (2013). Diagnostics and epidemiology of alveolar echinococcosis in slaughtered pigs from large-scale husbandries in Germany. *Parasitol Res* 112:629-636.

Deplazes P, Grimm F, Syder T, Tanner I, Kapel CMO (2005). Experimental alveolar echinococcosis in pigs, lesion development and serological follow up. *Vet Parasitol* 130:213-222.

Gottstein B, Stojkovic M, Vuitton DA, Millon L, Marcinkute A, Deplazes P (2015). Threat of alveolar echinococcosis to public health – a challenge for Europe. *Trends in Parasitology* 31:407-412.

Karamon J, Sroka J, Cencek T (2012). The first detection of *Echinococcus multilocularis* in slaughtered pigs in Poland. *Vet Parasitol* 185:327-329.

Kimura M, Toukairin A, Tatezaki H, Tanaka S, Harada K, Araiya J, Yamasaki H, Sugiyama H, Morishima Y, Kawanaka M (2010) *Echinococcus multilocularis* detected in slaughtered pigs in Aomori, the northernmost prefecture of mainland Japan. *Jpn Infect Dis* 63:80-81.

Kolářová L, Matějů J, Hrdý J, Kolářová H, Hozáková L, Žampachová V, et al.(2015) Human alveolar echinococcosis, Czech Republic, 2007–2014. *Emerg Infect Dis.* 21:2263-2265.

Poděkování

Tento výzkum byl finančně podpořen Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR v rámci projektu CEITEC 2020 (LQ1601). Poděkování patří Dr. Berit Bangoura, DipEVPC, Institute of Parasitology, Veterinary Faculty, University of Leipzig, Německo za spolupráci při molekulární detekci *E. multilocularis*.

Kontaktní adresa:

Prof. MVDr. Břetislav Koudela, CSc.

VFU Brno, Fakulta veterinární medicíny, Ústav patologické morfologie a parazitologie, Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno.

E-mail: koudelab@vfu.cz

Perzistence kočičího kaliciviru a bovinního enteroviru jako náhradních virů v tepelně neopracovaných masných výrobcích

Persistence of Feline Calicivirus and Bovine Enterovirus as Potential Surrogates for Foodborne Viruses in not heat-treated meat products

Lorencova, A.¹, Malenovska, H.¹, Prodelalova, J.¹, Kaspar, L.², Borilova, G.²

¹Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno

²Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Za použití náhradních virů k významným původcům virových alimentárních onemocnění (kočičí kalicivirus a bovinní enterovirus) byl studován vliv výroby tepelně neopracovaných masných výrobků (čajovka) na infekčnost virů. Byla zjištěna vysoká stabilita obou typů virů a infekční částice byly detekovány ve finálním výrobku, a to i po třech týdnech skladování při 4 °C. Výsledky poukazují na možné riziko konzumace tohoto typu masného výrobku v souvislosti s alimentárními virovými infekcemi.

Abstract

Using surrogates for important foodborne viruses (feline calicivirus and bovine enterovirus) the impact of production process of raw meat sausages (Teewurst) on virus infectivity has been investigated. High stability of both virus types has been observed and infectious particles could still be detected in the final product even after three weeks of storage at 4°C. Our results indicate the risk of foodborne virus infections after the consumption of such type of meat product.

Key words: *raw sausage, viral surrogates, virus survival, foodborne viruses*

Introduction

Enteric viruses, mainly norovirus (NoV) and hepatitis A virus (HAV), are the leading causes of foodborne diseases around the world. In 2014, foodborne viruses were even identified as the most common causative agents of foodborne outbreaks within the EU (EFSA, 2015). The major routes of food contamination are human faeces, infected food handlers, and animals and their products as a source of zoonotic viruses, e. g. hepatitis E virus - HEV (Koopmans and Duizer, 2004).

Due to a lack of appropriate cultivation systems for important foodborne viruses, cultivable viral surrogates with similar structural and resistance characteristics are usually used in experimental viability studies (Koopmans and Duizer, 2004; Baert et al., 2009). Feline calicivirus (FCV) and enteroviruses are commonly used (Cannon et al. 2006; Straube et al., 2011; Albert et al., 2012).

Although many studies about stability of viruses under different conditions were performed and reviewed by many authors (e.g. Koopmans and Duizer, 2004; Cannon et al. 2006; Baert et al., 2009; Straube et al., 2011), there are only limited data about the impact of processes in production of raw sausages on virus infectivity. The aim of this study was to determine the survival of FCV and bovine enterovirus (BEV) as foodborne viral surrogates during Teewurst (raw spreadable ready-to-eat meat sausage) production and storage.

Materials and methods

BEV (strain TL 14) and FCV (strain F-9; CAPM, CR) were propagated in MDBK and CRFK cells, respectively. Suspensions (75 ml) of both BEV and FCV in concentrations of 7.9 and 7.3 lg TCID₅₀/ml, respectively, were prepared. The Teewurst batter (2 kg) consisted of minced lean pork shoulder (0.78 kg), pork backfat (1.16 kg), AM8 spices mixture (10 g/kg) and 2.15% curing salt (sodium nitrite 0.3% and NaCl 98.0%). After mixing with 75 ml of virus suspension, the batter was stuffed into 50 mm diameter semipermeable casings in portions of ca. 80 g. Sausages were ripened and smoked at 18-20°C in an air-conditioned chamber for 48 h at a relative humidity of 80-90%. Water activity and pH at the end of the process were 0.93-0.95 and 4.9-5.2, respectively. The sausages were stored at 4°C for 3 weeks. For virus extraction, samples (20 g) in duplicate were taken immediately after grinding of the batter and during processing and storage of the product at intervals shown in Table 1. Samples were homogenised in 20 ml of DME medium and the supernatant was passed through a 0.22 µm filter to remove bacterial contamination. Serial ten-fold dilutions of the supernatant were prepared and inoculated (100 µl) to a microtitration plate with CRFK or MDBK monolayer. DME medium with 3% foetal bovine serum was added one hour after infection. The plates were incubated at 37°C/5 days under a 5% CO₂ atmosphere and then checked for virus cytopathic effect. The median tissue culture infective dose (lg TCID₅₀/ml) was calculated (Kaerber, 1931). No cytopathic effect was detected after using virus-free supernatant.

Results and Discussion

Meat and meat products, especially if consumed raw or without sufficient heat treatment, are frequently recorded as vehicles for various foodborne pathogens including viral agents (Mataragas et al., 2008; EFSA, 2015). Short fermented raw spreadable sausages are ready-to-eat products which were found to be associated with a high risk of gastroenteritis in a recent German study (Bremer et al., 2015). The consumption of short fermented products made from raw pig liver has also been described as a cause of hepatitis E cases (Garbuglia et al., 2015).

The results of our study focused on the survival of foodborne virus surrogates during Teewurst production and storage are shown in Table 1. During the ripening period, no decrease in virus titres was observed. Slight variations in virus titres could be due to the laboratory processing. During the subsequent storage at 4°C for 21 days, the titres of BEV and FCV decreased on average by 1.0 and 0.4 lg TCID₅₀, respectively.

Lower pH values related to the excretion of organic acids, mainly lactic acid, and the presence of NaCl seemed to be important antiviral factors during ripening processes in production of raw sausages (Straube et al., 2010; 2011). The relative acid stability of non-enveloped foodborne viruses can contribute to their survival in fermented and raw meat products (Baert et al., 2009; Straube et al., 2011). The study of Strauber et al. (2011) showed a high stability of enterovirus (ECHO virus) and FVC towards NaCl (2-20%) and sodium nitrite (10-200 ppm) in amounts commonly used during food processing. High salt and protein together even stabilized enteroviruses at pH 5.5 in the study of Cliver et al. (1970). The combination of these factors including a protective effect of high fat content (Bidawid et al., 2000) could contribute to the stability of viruses during Teewurst production in our study. Viruses generally survive better at refrigerator temperature (4 °C) than at room temperature (Cannon

et al., 2006; Baert et al., 2009) which corresponds with high stability of viral surrogates also during storage of Teewurst.

Table 1: Inactivation of BEV and FCV during Teewurst production and storage at 4°C.

	Bovine enterovirus		Feline calicivirus	
	Titre* (lg TCID ₅₀)	Virus inactivation** (Δ lg TCID ₅₀)	Titre* (lg TCID ₅₀)	Virus inactivation** (Δ lg TCID ₅₀)
Production process				
0 hours	5.8	-	5.1	-
24 hours	5.7	0.1	5.0	0.1
48 hours	5.6	0.2	4.8	0.3
72 hours	5.8	0	5.1	0
Storage				
3 days	5.8	0	4.8	0.3
6 days	5.6	0.2	5.3	-0.2
21 days	4.8	1.0	4.7	0.4

* mean virus titre

** a decrease in comparison with the initial mean virus titre

Our results are in accordance with previous studies (Herrman and Cliver, 1973; Panina et al., 1992; Urlings et al., 1993) confirming relative stability of viruses in different types of raw meat products, although the results of those studies are difficult to compare. The inactivation of viruses is greatly influenced by virus type, the composition of food matrix and steps of the manufacturing process. In a similar type of raw meat product, infectious particles of FCV and ECHO virus were still detected after 28 days from the beginning of the processing (Albert et al., 2012). On the other hand, rapid inactivation of avian influenza viruses was observed in Teewurst using a standard ripening temperature of 22°C (Straube et al., 2010).

Our results showed high stability of two virus surrogates during Teewurst production and storage which indicates the risk of foodborne viral infections after the consumption of such type of raw meat product. Because of the often low infectious doses of foodborne viruses, even a small amount of remaining infectious particles may pose a health risk.

References

- Albert, T., Straube, J., Manteufel, J. et al. Survival time of viruses in raw sausage Influence of ripening and storage temperature. *Fleischwirtschaft*, 2012, vol. 92, no. 7, s. 86-90.
- Baert, L., Debevere, J., Uyttendaele, M. The efficacy of preservation methods to inactivate foodborne viruses. *International Journal of Food Microbiology*, 2009, vol. 131, no. 2-3, s. 83-94.
- Bidawid, S., Farber, J. M., Sattar, S. A., Hayward, S. Heat inactivation of hepatitis A virus in dairy foods. *Journal of Food Protection*, 2000, vol. 63, no. 4, s. 522-528.
- Bremer, V., Bocter, N., Rehmet, S. et. al. Consumption, knowledge, and handling of raw meat: a representative cross-sectional survey in Germany, March 2001. *Journal of Food Protection*, 2005, vol. 68, no. 4, s. 785-789.

Cannon, J. L., Papafragkou, E., Park, G. W. et al. Surrogates for the study of norovirus stability and inactivation in the environment: A comparison of murine norovirus and feline calicivirus. *Journal of Food Protection*, 2006, vol. 69, no. 11, s. 2761-2765.

Cliver, D. O., Kostenbader, K. D., Vallenias, M. R. Stability of viruses in low moisture foods. *Journal of Milk and Food Technology*, 1970, vol. 33, no. 11, s. 484-491.

EFSA. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. *EFSA Journal*, 2015, vol. 13, no. 12:4329, 191 s. [cit. 2016-08-12] <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4329>

Garbuglia, A. R., Alessandrini, A. I., Pavio, N. et al. Male patient with acute hepatitis E in Genoa, Italy: figatelli (pork liver sausage) as probable source of the infection. *Clinical Microbiology and Infection*, 2015, vol. 21, no. 1, s. e4-6.

Herrmann, J. E., Cliver, D. O. Enterovirus persistence in sausage and ground beef. *Journal of Milk and Food Technology*, 1973, vol. 36, s. 426-428.

Kaerber, G. Beitrag zur kollektiven behandlung pharmakologischer reihenversuche. *Archiv for Experimentelle Pathologie und Pharmakologie*, 1931, vol. 162, no. 4, s. 480-487.

Koopmans, M., Duizer, E. Foodborne viruses: an emerging problem. *International Journal of Food Microbiology*, 2004, vol. 90, no. 1, s. 23-41.

Mataragas, M., Skandamis, P. N., Drosinos, E. H. Risk profiles of pork and poultry meat and risk ratings of various pathogen/product combinations. *International Journal of Food Microbiology*, 2008, vol. 126, no. 1-2, s.1-12.

Panina, G. F., Civardi, A., Cordioli, P. et al. Survival of hog-cholera virus (HCV) in sausage meat-products (Italian salami). *International Journal of Food Microbiology*, 1992, vol. 17, no. 1, s. 19-25.

Straube, J., Albert, T., Manteufel, J. et al. In vitro influence of D/L-lactic acid, sodium chloride and sodium nitrite on the infectivity of feline calicivirus and of ECHO virus as potential surrogates for foodborne viruses. *International Journal of Food Microbiology*, 2011, vol. 151, no. 1, s. 93-97.

Straube, J., Manteufel, J., Heinze, J. et al. Low pathogenic avian influenza viruses (H3N8, H5N6): in vitro influence of D,L-lactic acid and sodium chloride on infectivity and virus persistence in short fermented raw poultry sausage. *Food and Environmental Virology*, 2010, vol. 2, no. 2, s. 74-82.

Urlings, H. A. P., De Boer, G. F., Vanroozelaar, D. J. et al. Inactivation of chicken anaemia virus in chickens by heating and fermentation. *Veterinary Quarterly*, 1993, vol. 15, no. 3, s. 83-88.

Acknowledgments

This work was supported by grant QJ1210113 and project LO1218 (NPU I program). Ludmila Faldikova (VRI, Brno) is acknowledged for grammatical corrections.

Corresponding author:

Dr. Alena Lorencova, PhD

Department of Food and Feed Safety, Veterinary Research Institute, Hudcova 70, Brno 621 00.

E-mail: lorencova@vri.cz

Vláknité mikroskopické houby, potraviny a zdraví člověka

Microfungi, foodstuffs and human health

Ostrý, V.

Státní zdravotní ústav v Praze, Centrum zdraví, výživy a potravin v Brně

Souhrn

Vláknité mikroskopické houby (plísňe) patří mezi významné etiologické činitele způsobující alimentární onemocnění. Dosud bylo identifikováno několik významných nebezpečí výskytu plísni v potravinách. Jedná se o produkci mykotoxinů, rozkladné procesy a kažení potravin a přímý vznik alimentárních onemocnění. Identifikace nebezpečí je prvním krokem hodnocení zdravotního rizika. Více než 70 druhů plísni produkuje cca 400 mykotoxinů. K nejvýznamnějším mykotoxinům patří aflatoxiny, ochratoxin A, patulin, citrinin, fuzáriové mykotoxiny (fumonisiny, deoxynivalenol, zearalenon, T-2/HT-2 toxiny) a alternáriové mykotoxiny (např. alternariol, tenuazonová kyselina). Potraviny jsou vhodným substrátem pro plísňe. Po kontaminaci potravin spórami plísni dochází k aktivaci enzymového aparátu plísni a následně k rozkladným procesům a ke kažení potravin. Plísňe se dále podílejí na vzniku alimentárního onemocnění (intestinální a gastrointestinální zygomykózy /mukormykózy/) u osob se sníženou imunitou.

Klíčová slova: *plísňe, potraviny, mykotoxiny, bezpečnost potravin, hodnocení zdravotního rizika*

Abstract

Filamentous microfungi (moulds) are very important etiological agents of alimentary diseases. Hitherto a hazard identification of an occurrence of moulds in foodstuffs was identified as mycotoxin production, food decay and food spoilage, and alimentary diseases – direct acting. The hazard identification is the first step of Health Risk Assessment. More than 70 toxigenic moulds species produce cca 400 mycotoxins. The most important mycotoxins are aflatoxins, ochratoxin A, patulin, citrinin, *Fusarium* mycotoxins (fumonisins, deoxynivalenol, zearalenone, T – 2/HT-2 toxins) and *Alternaria* mycotoxins (e.g. alternariol, tenuazonic acid). The foodstuffs are very good substrate for moulds. After foodstuffs contamination by spores of moulds proceed an activation of enzymatic apparatus of moulds and follow food decay and food spoilage. Moulds participate hereinafter in direct acting of alimentary disease (intestinal and gastrointestinal zygomycosis /mucormycosis/) in persons with hypo-immunity.

Úvod

Vláknité mikroskopické houby (plísňe) jsou vícebuněčné eukaryontní organismy s heterotrofní výživou. Spóry plísni jsou jednobuněčné či vícebuněčné výtrusy sloužící k jejich rozmnožování, šíření a přežívání v nepříznivých podmínkách. V životním a pracovním prostředí člověka jsou plísňe přítomny v ovzduší, půdě, vodě, na povrchu živých a odumřelých organismů, na předmětech, na plochách, v krmivu, v potravinových surovinách, potravinách a pokrmech. Zvláště potraviny jsou z hlediska zdraví člověka velmi vhodným a potenciálně rizikovým substrátem pro osídlení, růst a rozmnožování plísni (Malíř a Ostrý, 2003).

Jaká nebezpečí výskytu plísní v potravinách byla identifikována?

Dosud bylo identifikováno několik významných nebezpečí výskytu plísní v potravinách. Jedná se o produkci mykotoxinů, rozkladné procesy a kažení potravin a vznik alimentárních onemocnění např. u osob se sníženou imunitou. Identifikace nebezpečí je prvním krokem při hodnocení zdravotního rizika (FAO/WHO, 2010). Jednotlivá nebezpečí výskytu plísní v potravinách, která byla identifikována, jsou dále seřazena v textu podle jejich závažnosti ve vztahu ke zdraví člověka.

Produkce mykotoxinů

Mykotoxiny jsou sekundární metabolity toxinogenních plísní. V současné době je známo přes 400 mykotoxinů. K nejvýznamnějším mykotoxinům patří aflatoxiny, ochratoxin A, patulin, citrinin, fuzáriové mykotoxiny (fumonisiny, deoxynivalenol, zearalenon, T-2/HT-2 toxiny) a alternáriové mykotoxiny (např. alternariol, tenuazonová kyselina). Mykotoxiny slouží plísním jako prostředek v boji o potravu a v boji o přežití. V potravinovém řetězci má význam asi 60 mykotoxinů, bezprostředně pro zdraví člověka asi 20 mykotoxinů. Mykotoxiny vykazují celou řadu významných toxických účinků a hrají významnou úlohu v patogenezi akutních a chronických alimentárních otrav člověka – mykotoxikóz. Některé mykotoxikózy jsou jasně prokázané (např. ergotismus, alimentární toxická aleukie, akutní kardiální beri-beri, primární jaterní karcinom, stachybotryotoxikóza), jiné jsou multifaktoriální, tzn. mykotoxiny mohou být jedním z možných etiologických činitelů (např. balkánská endemická nefropatie). Jiné mykotoxikózy, které se vyskytly endemicky jednou nebo vícekrát, byly prokázány nedostatečně (např. encefalopatie Udorn, onemocnění akakabi – byo, onemocnění onyalai, Kašin - Beckova nemoc) (Malíř a Ostrý, 2003).

Na základě zjištěných výsledků je v ČR nebezpečí akutního toxického účinku mykotoxinů obvykle považováno za minimální. Za významné se považují imunosupresivní účinky (snížení obranyschopnosti organismu a náchylnost k řadě onemocnění) a nebezpečí pozdních toxických účinků (zejména karcinogenní riziko a vývojová toxicita) po příjmu velmi nízkých jednorázových nebo opakovaných koncentrací mykotoxinů v potravinách. Např. v tuzemské studii bylo analyzováno na mykotoxin ochratoxin A (OTA) 236 vzorků 24-hod. močí mužů a žen ve věku 45-60 let. Mez stanovitelnosti metody byla 2 ng/l. Získaná data o exkreci OTA močí signalizují reálnou expozici OTA pro uvedené populační skupiny. Vysoké bylo také procento pozitivních vzorků moči na OTA u mužů (92 %) a žen (65 %) (Ostrý a kol., 2010).

Regulace mykotoxinů

Mykotoxiny jsou v potravinách limitovány v nařízení Komise (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách a v jeho dalších novelách (např. v nařízeních Komise 1126/2007, 565/2008, 629/2008, 105/2010, 165/2010, 594/2012 a 2015/1137 (European Union, 2006).

Producenti mykotoxinů

V potravinách bylo popsáno více než 70 druhů toxinogenních plísní – producentů mykotoxinů. V průběhu desetiletí byla v odborném tisku publikována celá řada misinformací o produkci jednotlivých významných mykotoxinů toxinogenními plísněmi.

V posledních letech dochází z hlediska výzkumu v oblasti producentů mykotoxinů k zajímavým a nečekaným zjištěním, která byla nezávisle konfirmována. Byl izolován např. kmen *Aspergillus niger*, který produkuje fumonisin B₂ (Frisvad a kol., 2007)

a kmen *Fusarium kyushuense*, který produkuje aflatoxin B₁ a G₁ (Schmidt-Heydt a kol., 2009). Tato zjištění mění dosavadní konzervativní pohled na toxinogenní plísně - producenty mykotoxinů.

Rozkladné procesy a kažení potravin

Potraviny jsou pro plísně vhodným živným substrátem. Po kontaminaci potravin spórami plísni dochází k růstu mycelia a k aktivaci enzymového aparátu plísni. Následně dochází ke kažení a rozkladu potravin, které se projeví plesnivěním potravin.

Jak posuzují plesnivé potraviny pracovníci dozorových organizací?

Plesnivé potraviny jsou posouzeny pracovníky dozorových organizací na základě nařízení EP a R (ES) č. 178/2002, článku 14 Požadavky na bezpečnost potravin, odst. č. 5 kde je uvedeno: „*Při rozhodování o tom, zda potravina není vhodná k lidské spotřebě, se bere v úvahu skutečnost, zda není potravina s ohledem na své zamýšlené použití nepříjemná pro lidskou spotřebu z důvodu hniloby, kažení nebo rozkladu*“.

Plesnivé potraviny mohou být také posouzeny pracovníky dozorových organizací jako jiné než zdravotně nezávadné. Toto posouzení vychází ze zákona č. 110/1997 Sb. v platném znění, kde je v § 10 odst. 1 písm. a) uvedeno: „*do oběhu je zakázáno uvádět potraviny jiné než zdravotně nezávadné*“.

Posouzení, zda potraviny jsou skutečně plesnivé, je někdy velmi obtížné a vyžaduje vynikající odborné znalosti a zkušenosti.

Regulace plísni v potravinách

Celkový počet plísni (KTJ/g) není v současné době v potravinách regulován.

Alimentární onemocnění

Účast plísni na vzniku alimentárních onemocnění u zdravé populace po konzumaci potravin kontaminovaných plísněmi je problematická. Patogenní potenciál saprobních plísni pro vznik alimentárního onemocnění u „zdravé“ populace je obvykle nízký.

Plísně, zejména někteří zástupci z řádu *Mucorales*, mohou způsobovat gastrointestinální mykózy u nemocných se sníženou imunitou (např. HIV pozitivních) nebo v důsledku působení jiné vážné choroby (např. leukemie, diabetes, lymfom), kdy je negativně ovlivněn imunitní systém či při užívání léku s imunosupresivními účinky. Vehikulem bývá nejčastěji kontaminovaná nemocniční dieta, ale také kontaminované léky ve formě tablet, sputum a sondy.

Plísně tzv. kulturní mykoflóry mají dlouhou historii bezpečného používání. Sýry roquefortského typu od dob říše římské, sýry camembertského typu od konce 18. století a asijské plísňové fermentované potraviny dokonce několik tisíc let. Plísňové potraviny jsou konzumovány bez viditelného dopadu na lidské zdraví. Jen pro představu při konzumaci 1 g plísňového sýru hermelínu se do organismu dostane $5 \cdot 10^4$ životaschopných kolonie tvořících jednotek (KTJ/g), při konzumaci 1 g sýru Nivy $1 \cdot 10^6$ KTJ/g.

Možná nebezpečí konzumace plísňových potravin vyplývají zejména z možnosti tvorby mykotoxinů (např. *Penicillium camemberti* Thom může produkovat kyselinu cyklopiazonovou) a jiných biologicky účinných látek u kmenů startovacích kultur plísni a možného narušení složení přirozené střevní mikrobioty (Le Bars, 1980).

Zatím není dostatečně objasněno, jaký je osud saprobních toxinogenních a netoxinogenních plísni (životaschopných spór a úlomků mycelia pocházejících z potravin) při průchodu trávicím traktem člověka.

Závěr

Toxinogenním plísním a mykotoxinům je věnována vzhledem k novým zjištěním i nadále značná pozornost. Aktuálními výzkumnými tématy v uvedené oblasti jsou:

- vliv změny klimatu a globálního oteplování na šíření toxinogenních a patogenních plísní a zvýšení produkce mykotoxinů v potravinách,
- vyhledávání „nových“ expozičních zdrojů mykotoxinů v potravinách,
- výzkum souběžného výskytu a dietární expozice („co-occurrence/co-exposure“) významných mykotoxinů v potravinách.

Literatura

European Union. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs (Text with EEA relevance). Off. J. Eur. Union 2006, **L364**, 5–24.

FAO/WHO. *Principles and Methods for the Risk Assessment of Chemicals in Food*. Environmental Health Criteria 240, IPCS, WHO, 2010, 690 pp.

Frisvad, J.C., Smedsgaard, J., Samson, R.A., Larsen, T.O., Thrane U. Fumonisin B₂ Production by *Aspergillus niger*. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, vol. **55**, p. 9727–9732.

Le Bars, J. Cyclopiazonic acid production by *Penicillium camemberti* Thom and natural occurrence of this in cheese. *Appl. Environ. Microbiol.* 1980, **38**(6), 1052-1055.

Malíř, F., Ostrý, V. (eds.) *Vláknité mikromycety (plísně), mykotoxiny a zdraví člověka*. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2003, 349 s.

Ostry, V., Skarkova, J., Kavrik, R., Ruprich, J. An occurrence of ochratoxin A and aflatoxin M₁ biomarkers in human urine. In *32th Mycotoxin Workshop*, Lyngby, Denmark, Society for Mycotoxin Research, 2010, p. 145.

Schmidt-Heydt, M., Rüfer, C.E. Abdel-Hadi, A., Magan, N., Geisen, R. A strain of *Fusarium kyushuense* is able to produce aflatoxin B₁ and G₁. *Mycotoxin Res.*, 2009, vol. **25**, no.3, p. 141-147.

Pozn: Další použitá a doporučená literatura je k dispozici u autora.

Poděkování

Podpořeno MZ ČR – RVO („Státní zdravotní ústav – SZÚ, IČ 75010330).

Kontaktní adresa:

Doc. MVDr. Vladimír Ostrý, CSc.

Státní zdravotní ústav v Praze, Centrum zdraví, výživy a potravin, Oddělení hodnocení zdravotních rizik a aplikované výživy, NRC pro mikroskopické houby a jejich toxiny v potravinových řetězcích, Palackého 3a, Brno, 612 42.

E-mail: ostry@chpr.szu.cz

Veterinární dozor a trh s potravinami živočišného původu z pohledu Státní veterinární správy

Semerád, Z.

Státní veterinární správa

Souhrn

„V průběhu roku 2016 bylo zemědělství EU zasaženo hlubokou krizí. Přednáška se věnuje příčinám této krize zejména v sektoru produkce a zpracování mléka. Pozornost je věnována pohledu na krizi z perspektivy státního veterinárního dozoru. Jsou uváděny konkrétní kroky, která státní veterinární správa podnikla pro podporu vývozu zemědělských produktů z ČR do třetích zemí a doloženy jsou i výsledky kontrol zásilek potravin ze zahraničí. Vývoj potravinářského sektoru je posuzován i z pohledu výsledků kontrol u českých zpracovatelů potravin a z dalších údajů, které Státní veterinární správa při své činnosti sbírá. Závěr přednášky je věnován připravovaným změnám ve veterinárním zákoně, které jsou cíleny zejména na podporu drobných zemědělců a podporují uplatňování jejich vlastních produktů na trhu.“

Kontaktní adresa:

MVDr. Zbyněk Semerád

ústřední ředitel Státní veterinární správy, Slezská 100/7, 120 56 Praha 2

Evropské značky kvality

Třísková, D.

Ministerstvo zemědělství

Souhrn

Kromě Klasy a „Regionální potraviny“, které mají význam zejména pro prodej potravin v České republice, mohou naši producenti využívat systémy platné a uznávané v celé Evropské unii. Z hlediska podpory výrobků na evropském trhu mohou naši producenti využít registraci produktů v systémech Zaručeně tradičních potravin, Chráněného označení původu a Chráněného zeměpisného označení. Označení napomáhají ke zvýraznění a zdůraznění kvality výrobků na trhu.

Ochrana stanovená systémem Chráněného zeměpisného označení a Chráněného označení původu spočívá v tom, že používání těchto označení původu a zeměpisných označení je vyhrazeno zemědělským produktům a potravinám vyprodukovaným nebo zpracovaným v oblastech nebo místech, označených těmito názvy, např. Žatecký chmel, Pohořelický kapr, Hořické trubičky, Pardubický perník, České pivo, Mariánskolázeňské oplatky, Jihočeská Niva, Olomoucké tvarůžky, Karlovarské oplatky atd.

Používání těchto označení původu je vyhrazeno zemědělským produktům a potravinám vyprodukovaným nebo zpracovaným v oblastech nebo místech, označených těmito názvy, za typických podmínek zpracování nebo přípravy. Přítomnost loga je také pro všechny evropské spotřebitele zárukou, že zvláštní povaha výrobku je dána jeho zeměpisným původem. Získáním tohoto označení mají naše výrobky šanci konkurovat na evropském trhu s potravinami, a tím vytvářet povědomí o produkci potravin v ČR, které mají přidanou hodnotu ve srovnání s běžně dostupným sortimentem.

Cílem značky Zaručená tradiční specialita (ZTS) je podpora rozmanitosti zemědělské produkce. Propagace tradičních produktů se zvláštní povahou může také představovat značný přínos pro hospodářství venkova, zejména ve znevýhodněných a odlehlých oblastech, a to zlepšením příjmů zemědělců a udržením venkovského obyvatelstva v těchto oblastech. Aby zemědělský produkt nebo potravina mohly být uvedeny v rejstříku ZTS, musí být buď vyprodukovány z tradičních surovin, nebo se musí vyznačovat tradičním složením nebo způsobem produkce nebo zpracování, který odráží tradiční druh produkce nebo zpracování. Aby mohl být výrobek označen značkou „Zaručená tradiční specialita“ je nutné prokázat tradičnost nejméně 30 let.

Tato značka funguje jako marketingový nástroj odlišující tradiční produkci doplněnou symbolem EU nebo textem „Zaručená tradiční specialita“ od ostatní produkce. Jde o označení výrobků, které splňují přesnou specifikaci (recepturu), která je registrovaná v Rejstříku EU. Jako příklad je možné uvést zapsané názvy pro „špekáček“, „lovecký salám“, „spišské párky“, „liptovský salám“. Jedná se o receptury, které vycházejí primárně z Českých technických norem ze 70. let. V současné době má Česká republika podánu žádost pro výrobek „Pražská šunka“.

Klíčová slova: *kvalita potravin, značky kvality, zaručená tradiční specialita*

Kontaktní adresa:

MVDr. Ing. Dana Třísková

Ministerstvo zemědělství, Odbor potravinářský, Těšnov 17, 110 00 Praha 1.

E-mail: dana.triskova@mze.cz

O kvalite mäsových výrobkov rozhoduje spotrebiteľ *The quality of the meat products decided the consumer*

Turek, P.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Súhrn

Zdravotná bezpečnosť potravín je prioritou Európskej únie. Kvalita potravín má niekoľko možností. Sú komodity, ktoré sa v oblasti kvality riadia harmonizovanou legislatívou spoločenstva (napr. čokoláda, med, cukor). Kvalita mnohých potravinových komodít sa uplatňuje v rámci národných právnych predpisov. Národné právne predpisy majú rôzne úrovne požiadaviek na kvalitu. Vo všeobecnosti sa v EÚ presadzuje liberálnosť úrovne kvality potravín a uplatňuje sa princíp nákupu potraviny na rozhodnutí spotrebiteľa s využitím poskytnutia informácií o potravině v rámci označovania.

Kľúčové slová: *bezpečnosť potravín, kvalita potravín, mäsové výrobky, právne predpisy, spotrebiteľ*

Abstract

Food safety is a priority for the European Union. Food quality has several options. There are the commodities, which are in the quality field, properly harmonized by Community legislation (e.g. chocolate, honey, sugar). The quality of many food commodities is applicable under national legislation. National legislations have different levels of quality requirements. In general, the EU promotes liberality of levels of food quality and applies the principle of buying food based on decision of the consumer, using the information provided on food within labelling.

Úvod

V Slovenskej republike sa odborníci pre oblasť výroby potravín zaoberajú predovšetkým sebestačnosťou produkcie potravín, konzumáciou potravín so zreteľom na doporučené dávky. Kvalita potravín a nadväzujúce právne predpisy, ktoré ju mali garantovať sa po roku 1990 a najmä pred vstupom do EÚ postupne zjednodušovali. Priorita bola postavená na zdravotnú bezpečnosť a voľný pohyb tovaru. Priorita EÚ voľný pohyb tovaru (obchodovanie bez prekážok) priniesla pre oblasť mäsa a mäsových výrobkov našim producentom a chovateľom veľmi málo pozitívneho.

V roku 2016 po prečítaní rozhovoru redaktora MFD (2016) s pánom Ladislavom Mikom, ktorý má v Bruseli na starosť bezpečnosť potravín v celej Európskej únii (EÚ) som definitívne pochopil, aký je prístup EÚ ku kvalite potravín. Vysoko postavený úradník európskej Komisie pri charakterizovaní kvality potravín v spoločenstve vyslovil nasledovnú myšlienku: „Bezpečnosť nie je kvalita. Bezpečnosť je len jeden druh kvality. To my garantujeme. **O tom, ako má ktorá potravina chutnať alebo vyzeráť, rozhoduje spotrebiteľ.** Ten by nemal kupovať to, čo nechce jesť. Tomu sa výrobca musí prispôbiť. Je to vidieť napríklad u palmového oleja, proti ktorému sa zdvihla vlna odporu a výrobcovia ho sťahujú. Problém je v tom, keď spotrebiteľia tlačia na to, aby bolo veľa potravín za málo peňazí“. Príspevok je zameraný na hlbšiu analýzu kvality mäsových výrobkov v SR a ČR cez tvorbu národných legislatív.

Kvalita mäsových výrobkov v duchu národnej legislatívy

Vývoj ostatných 25 rokov významne ovplyvnil poľnohospodársku a potravinársku výrobu, žiaľ v negatívnom zmysle. Vývoj predstavuje prvky pokroku, a tak to je aj v oblasti kvality produkovaných mäsových výrobkov. Otázne je či v danej oblasti pokrok znamená u nás pozitívnu zmenu alebo sme sa posunuli o krok späť. Pozitívum môže byť v oblasti výroby, jej rentability a efektívnosti. Je to terminológia ekonomická, ktorej sa nechcem venovať. Všeobecne vieme, že v postupnosti vývoja od čias nezáväznosti ČSN, STN, ON, PN (1993, 1994), ktoré v minulosti zaväzovali výrobcov vyrábať na základe THN a akostných noriem na jednotlivé druhy mäsových výrobkov sa kvalita mäsových výrobkov postupne menila. Tento stav vyplynul zo skutočnosti, že právne predpisy tvorené v Českej republike a Slovenskej republike nezachytili tento stav, aby vytvorili korektnú právnu bázu na pokračovanie aj v zahraničí uznávanej kvality československých mäsových výrobkov. Dokonca určité obdobie napr. v SR chýbal právny predpis 13 rokov a to čo následne vzniklo bolo veľmi ďaleko od požadovaných parametrov kvality poznaných z minulosti. Celá tvorba právnych predpisov bola dominantne postavená na zabezpečenie zdravotnej bezpečnosti produkovaných potravín, ako jedna zo základných požiadaviek prístupového procesu do EÚ a razantne požadovaná inšpekčnými misiami a rokovaniami v Európskej komisii. Zaujímavé je, že žiadny tlak nebol z danej strany vyvinutý na kvalitu potravín pre ochranu spotrebiteľa budúceho „občana“ Európskej únie. Ktovie prečo? Napr. Potravinové knihy Nemecka a Rakúska, ako základné právne predpisy na kvalitu sú platné už mnoho desaťročí s minimálnymi zmenami, ktoré vyvolal vedecký, technický pokrok a zmeny v legislatíve a čo je v nich aj povolené, tak to vyspelý spotrebiteľ mnoho krát neakceptuje.

Čo sa u nás vlastne stalo s kvalitou mäsových výrobkov? Jediným hmatateľným kladom je, že nám ostali pôvodné názvy mäsových výrobkov a vzniklo mnoho nových. Menej hmatateľným faktom je, že sme si vyčlenili skupinu vybraných mäsových výrobkov, do ktorých sa nesmie pridávať mechanicky separované mäso alebo vláknina, rastlinná bielkovina a žiaľ tie nevybrané majú smolu, môžu mať vo svojom zložení všetko povolené a dokonca aj mäso. Vymysleli sme šunku štandard pre chudobných, ktorá má o niečo viac ako 50 % mäsa doplnené škrobmi, koloidnými látkami, stimulátormi chutnosti atď. Naša kvalita sa v podstate v parametroch kvality posunula na percentuálny obsah mäsa povinne uvádzanom na etikete v rámci zloženia výrobkov, čo európska legislatíva (nariadenie ES č. 1169/2011) určila pre orientáciu spotrebiteľa. Určité výrobky (šunky, ZTŠ, vybrané trvanlivé výrobky v ČR) majú konkrétny, aj keď znížený akostný limit vyjadrený čistou svalovou bielkovinou. Máme veľmi širokú paletu kvality na názov výrobku (mimo určitých právnych obmedzení na niektoré názvy), čo výrobca to iná kvalita, ale rovnaký pôvodný alebo nový názov. Máme mnoho výhrad na aplikáciu prídavných látok do potravín všeobecne – zamorenie chémiou. Bruselský úradník uvádza (Palata, 2016), že tento stav je daňou za to, že sme ako spotrebiteľia veľmi zleniveli. Chceme to nepriamo my spotrebiteľia, nie výrobcovia. Nikomu sa nechce chodiť do obchodu každý deň. Keby sme to robili, tak by sa mnoho vecí do potravín nemuselo pridávať. Keď ale chceme mať niečo v chladničke dva týždne a chceme, aby to zostalo stále dobré, tak to výrobcovia musia nejako riešiť. Máme voľbu, buď nakupovať každý deň, alebo si kúpiť karé vo štvrtok na nedeľný obed. Tento názor je však jednostranný, pozabudlo sa aj na určitý diktát obchodných reťazcov, kvôli logistike ich predaja.

Mäsové výrobky patria do širokej škály potravín konzumovanej v Slovenskej republike a Českej republike. Ich výroba za ostatných 22 rokov, ale predovšetkým zrušením záväznosti noriem (ČSN, STN, ON, PN) – spoločný základ bývalého Československa, bola ovplyvňovaná množstvom faktorov a legislatívnych zmien. V roku 2016 v oboch krajinách boli vydané nové právne predpisy usmerňujúce kvalitu mäsových výrobkov. V ČR sú podchytené vo Vyhláške č. 69/2016 Sb. s účinnosťou od 1.8.2016 a v SR osobitným predpisom Vyhláškou MPA RV SR č. 83/2016 Z. z. s účinnosťou od 1.6. 2016.

Analýzou právnych predpisov je skutočnosť, že český predpis sa venuje mäsovým výrobkom a mäsovým polotovarom v 8. paragrafoch a slovenský v 19., ale nepozná pojem mäsový polotovar a vo všeobecnosti tento sortiment je uvádzaný ako mäsové prípravky s odkazom na Nariadenie EPAR č. 853/2004. Obe predpisy majú v úvode výklad pojmov pre účely predmetných predpisov. Rozdiel je v členení skupín mäsových výrobkov vid' tab. 1.

Tabuľka 1: Členenie na druhy a skupiny mäsových výrobkov v ČR a SR

Česká republika		Slovenská republika
Druh	Skupina	Skupina
Mäsový výrobok	<ul style="list-style-type: none"> - tepelne opracovaný - tepelne neopracovaný - tepelne neopracovaný pre tepelnú úpravu - trvanlivý tepelne opracovaný - trvanlivý fermentovaný - konzerva - polokonzerva 	<ul style="list-style-type: none"> - mäkký mäsový výrobok - trvanlivý mäsový výrobok - varený mäsový výrobok - pečený mäsový výrobok - solené mäso - mäsová polokonzerva a konzerva
Mäsový polotovar		-

Obe krajiny pristúpili na charakterizáciu výrobkov v jednotlivých skupinách (v tabuľkovej forme) pod pojmom „**vybrané**“, kde sú uvedené požiadavky na suroviny, zmyslové požiadavky, fyzikálno-chemické požiadavky. V Českej republike medzi vybrané tepelne opracované mäsové výrobky je zaradených 12 výrobkov; v Slovenskej republike ako mäkké mäsové výrobky 9 výrobkov. Tri výrobky (špekáčik, jemný párok a šunková saláma) sú rovnaké pre obe krajiny. Táto skupina má základný charakter, že sa pri ich výrobe zakazuje používať mechanicky separované mäso a mechanicky separované hydínové mäso. Určené sú základné suroviny (druhy mäsa), z ktorých sa dané výrobky môžu vyrábať, pričom Slovensko oproti Česku nemá začlenené tel'acie mäso ako možnú surovinu. Oproti vyspelým krajinám a bývalým normám už sa nepoužíva kvalitatívny stupeň výrobného mäsa. Na výrobu vybraných mäsových výrobkov sa použije jedna zo základných surovín alebo ľubovoľná kombinácia uvedených základných surovín. Pre danú skupinu mäsových výrobkov je v oboch krajinách uplatňovaný ukazovateľ fyzikálno-chemických parametrov *percento mäsa* (v reálnej praxi veľmi zložitý ukazovateľ) a *percento tuku*. Do kategórie vybrané hydínové tepelne opracované mäsové výrobky je v ČR zaradených 7 výrobkov a po prvý krát na Slovensku sa zaradili dva *určené* mäkké hydínové výrobky (hydínová šunková saláma a hydínové párky výberové).

Výrazná odlišnosť na parametre kvality a požiadavky je u vybraných trvanlivých mäsových výrobkov. Česká republika má postavený parameter na čistú svalovú bielkovinu a obsah tuku a pre všetky vybrané trvanlivé mäsové výrobky sa zakazuje

použitie vlákniny, mäso iných živočíšnych druhov než je uvedené v požiadavkách na základné suroviny, mechanicky separované mäso (MSM), mechanicky separované hydínové mäso (MSHM), bielkoviny iných živočíšnych druhov alebo rastlinných bielkovín. Slovenské kvalitatívne parametre kopírujú rakúsky model a u trvanlivých tepelne opracovaných MV (množstvo celkových bielkovín bez kolagénu, množstvo kolagénu z celkových bielkovín a hodnoty pomerov množstva vody a tuku k množstvu celkových bielkovín). U vybraných je zakázané pridávať MSM a MSHM. Česká republika má 3 vybrané MV tejto kategórie a SR 7 výrobkov. V ČR je stanovených 5 vybraných trvanlivých fermentovaných MV a SR má 7 vybraných trvanlivých tepelne neopracovaných MV (rozdelené do dvoch podskupín podľa hodnoty pH), do ktorých sa nesmie pridávať vláknina, nemäsovú bielkovinu a MSM. Rozdiel je v bezpečnostnom prvku t. j. hodnota aktivity vody, kde v ČR je pre obidve kategórie trvanlivých mäsových výrobkov stanovená max. na 0,93. V SR je pre trvanlivé tepelne opracované MV a_w najviac 0,95; pre trvanlivé tepelne neopracované MV a_w najviac 0,93 a pre sušené mäsa a_w najviac 0,90.

ČR nemá bližšie špecifikované solené mäsa. Jediným spoločným akostným kritériom v obidvoch krajinách sú z tejto oblasti tepelne opracované šunky - na 3 kategórie podľa obsahu čistej svalovej bielkoviny. Rozdielne je len pomenovanie v 1.kategórii; v ČR „šunka najvyššej akosti“, v SR „šunka špeciál“. SR (mimo konzerv) nemá oproti ČR chemické a fyzikálne ukazovatele na vybrané paštéty a rozdielna je požiadavka pre označenie „pečeňová – jätrová“ V ČR najmenej 20 % predmetnej suroviny a v SR aspoň 15 %. Medzi významné zmeny v SR patrí obsah vápnika v mäsovom výrobku. Ak je jeho obsah vyšší ako 250 mg/kg mäsového výrobku, nemožno ho označiť ako výrobok bez prídavku MSM.

Mäsové výrobky mimo vybraných nemajú stanovené žiadne parametre kvality a jej konečné posúdenie – porovnanie sa uplatňuje cez percentuálny obsah mäsa povinne uvádzanom na etikete v rámci zloženia výrobkov.

Mäsové výrobky dostali intenzívnejší farebný kolor, až neprirodzený od pôvodného mäsového. Vo výrobkoch nastal všeobecný úbytok mäsa a predovšetkým kvalitného výrobného mäsa. Takáto absencia potrebuje stimulátor chutnosti a farbu a možno aj tam, kde nie je potrebné. Mäsové výrobky sú zdravotne bezpečné i napriek neprirodzenému obsahu neuveriteľného množstva prídavných látok, ale to ukáže až budúcnosť.

Záver

Na vrátenie kvality aspoň o krok späť to vyzerá na veľmi dlhú cestu. Nedá sa to už urobiť národným právnym predpisom nakoľko by na spoločnom trhu znevýhodnil domácich výrobcov a harmonizovaný právny predpis EÚ neprichádza do úvahy, nakoľko staré členské krajiny s kvalitou nemajú výrazný problém, nakoľko desaťročia majú svoj národný predpis, ktorým garantujú svojim spotrebiteľom kvalitu na ktorú si tak časom zvykli, že už len malá odchýlka spôsobuje negatívnu reakciu. Celkový problém kvality v Českej republike a Slovenskej republike sa týmto dostáva do rúk spotrebiteľov v duchu čo sa nebude kupovať, to sa nebude vyrábať v intenciách proklamovaného trendu uvádzaného na úvod.

Literatúra

NARIADENIE EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (EÚ) č. 853/2004 z 29.apríla 2004, ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu. In Ú. v. EÚ L 139, 30.4.2004, s. 55 – 205.

NARIADENIE EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (EÚ) č. 1169/2011 z 25. októbra 2011 o poskytovaní informácií o potravinách spotrebiteľom, ktorým sa menia a dopĺňajú nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 a (ES) č. 1925/2006 a ktorým sa zrušuje smernica Komisie 87/250/EHS, smernica Rady 90/496/EHS, smernica Komisie 1999/10/ES, smernica Európskeho parlamentu a Rady 2000/13/ES, smernice Komisie 2002/67/ES a 2008/5/ES a nariadenie Komisie (ES) č. 608/2004. In: Ú. v. EÚ L 304, 22.11.2011, s. 18 – 63.

Palata L.: Brusel Česku nic nenařizuje. Ani nemůže. MFD, pátek 27.5.2016: 12

Slovenská republika. Vyhláška MPaRV SR č. 83/2016 Z. z. o mäsových výrobkoch. In zberka zákonov, 2016.

Česká republika. Vyhláška MZ ČR č. 69/2016 Sb. o požadavcích na maso, masné výrobky, produkty rybolovu a akvakultury a výrobky z nich, vejce, a výrobky z nich. In zbirka zákonů 2016, č. 26, s. 714-759.

Pod'akovanie

Táto práca bola podporená projektom APVV-14-0397 Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach.

Kontaktní adresa:

Prof. MVDr. Peter Turek, PhD.

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

E-mail: turek@uvlf.sk

Vliv kuchyňské technologie na sensorické vlastnosti zapečených těstovinových pokrmů

Effect of Kitchen Technology on Sensory Characteristics of Gratinated Pasta Dishes

Vinš, Z.¹, Zelený, J.^{1,2}

¹Vysoká škola hotelová v Praze

²Česká zemědělská univerzita v Praze

Souhrn

Možnosti přípravy těstovinových pokrmů z hlediska různých kuchyňských technologií a časové souslednosti jsou zásadní nejen pro firmy prodávající těstovinové pokrmy, ale i pro konečného spotřebitele. Tento příspěvek se zabývá tím, jaký má vliv na konečnou kvalitu pokrmu, hodnocenou sensoricky, použití rozdílných vstupních surovin a faktor času. Hlavním problémem je volba mezi domácími a kupovanými těstovinami, poté výběr mezi technologickým zpracováním v den konzumace, nebo s delším časovým předstihem. Výsledky ukazují, že zatímco čas přípravy hraje při hodnocení pokrmu zásadní roli, příprava domácích nebo použití kupovaných těstovin nemusí ve větší míře kvalitu pokrmu ovlivňovat.

Klíčová slova: *jakost potravin, lasagne, sensorický profil, tepelná úprava, těstoviny*

Abstract

The possibility of preparing pasta dishes in terms of different kitchen technology and the time sequence are crucial not only for companies selling pasta dishes, but also for the final consumer. This paper deals with the influence of different input raw materials and factor of time on the final quality of the food which is evaluated by sensory methods. The main problem is the choice between home-made pasta and purchased pasta, and selection of the technological processing which can be on the day of consumption or longer time in advance. The results show that whilst the time of processing of pasta plays a crucial role during the pasta evaluation, preparation of home-made pasta or usage of purchased pasta might not affect the quality of meal in a greater extent.

Keywords: *food quality, heat treatment, lasagne, pasta, sensory profile*

Úvod

Historie průmyslové výroby těstovin je spojena s technickým řešením důležitých výrobních zařízení, jako je například těstářenský lis. První výrobní linka byla patentovaná v Itálii v roce 1933. Spotřeba těstovin má v ČR substituční charakter v celkové spotřebě potravin, přičemž vývoj spotřeby vykazuje trvale zvyšující se úroveň.

Těstoviny lze dělit podle složení na vaječné a nevaječné (semolinové z tvrdé pšenice), podle použití na zavářkové a přílohové, podle tvaru na krátké a dlouhé, podle tvarování na lisované (protlačované) a válcované (řezané), podle sušení na sušené a nesušené (čerstvé). Nejčastěji se setkáváme s rozdělením na tzv. těstoviny z měkké pšenice, z měkké pšenice vaječné a z tvrdé pšenice (Kadlec et al., 2012). Na českém trhu se v absolutním objemu prodává více než polovina těstovin z měkké pšenice, důvodem je

zřejmě přetrvávající zvyk českého spotřebitele vařit těstoviny více naměkko. V restauracích a provozovnách orientovaných na italskou kuchyni se naopak používají výhradně těstoviny z tvrdé pšenice (semoliny). Těstoviny z tvrdé pšenice jsou obecně tmavší, obsahují více lepku, mají vyšší nutriční hodnotu a při správné úpravě nižší glykemický index než těstoviny z měkké pšenice.

U průmyslových těstovin většina výrobců sice na obalu udává zcela přesnou dobu vaření, přesto i po převaření nejsou mazlavé a jsou i nadále pevné na skus. Na rozdíl od předchozího druhu je domácí těstovina výsledkem práce každého jednotlivého kuchaře, přesto základní recept zůstává vždy stejný (Piras, 2006). Dříve než jsou těstoviny vařeny, je třeba vodu přivést k prudkému varu, přičemž po celou dobu přípravy těstovin musí voda vřít. Příležitostně promíchání zabezpečí, že budou všechny těstoviny stejně vařené. Obecně platí, že těstoviny z čerstvého těsta (domácí) potřebují kratší dobu na vaření. Zda jsou těstoviny vařené, je nejlépe zjistit sensoricky. Vařit na skus (al dente) znamená, že zvenku musí být těstoviny měkké a uvnitř mají mít pevné jádro.

Rozdíly v různých těstovinových pokrmech je možné provádět zmíněnou sensorickou zkouškou. Takovým hodnocením těstovin, konkrétně lasagní, se zabývali např. Farley a Reed (2005), kteří v Irsku zkoumali, jakým způsobem si konzumenti vybírají mezi již hotovými lasagnemi, prodávanými v supermarketech. Výsledky se výrazně lišily napříč jednotlivými hodnocenými vzorky. Obsahem studie byly však rozdíly v kvalitě ragú, bešamelu a sýru. Tento příspěvek se naproti tomu zabývá rozdíly v samotných těstovinách, lasagních, a to v lasagních domácích a kupovaných. Další zkoumání bylo u lasagní v minulosti zaměřeno na množství soli. Ta může v lasagních při odlišných koncentracích způsobovat rozdílnou percepci vlastností, jak prokázali Mitchell et al. (2009) u průmyslově vyráběných lasagní. Významný rozdíl je percipován při změně přesahující 29% redukcí soli v pokrmu. Častá volba lasagní jako předmětu zkoumání je vhodná i z toho důvodu, že patří k nejintenzivněji inovovaným těstovinovým pokrmům (Florence, 2015).

Rozdíl mezi domácími a kupovanými těstovinovými pláty (lasagne) je více znatelný v technologii výroby, naproti tomu použité suroviny mohou být zcela shodné. Technologický postup průmyslové výroby těstovin zahrnuje mísení, hnětení a lisování (těstářenský lis), ofukování, předsušení a sušení (sušicí linka), chlazení, skladování a balení. Mísení a hnětení spíše nesourodého těsta je prováděno v těstářenském lisu za vakua, v těstě se tak nemohou vytvářet mikroskopické bublinky, což zamezuje popraskání těsta při následném zpracování.

Ruční zpracování výroby těstovin zahrnuje mísení, hnětení a lisování. Ruční strojek se skládá ze dvou válců, které lze nastavit na požadovanou sílu, je možné ji upravovat postupným snižováním mezery mezi válci. Mouka je hlavní těstářenská surovina, která rozhodujícím způsobem ovlivňuje vzhled, sensorické a mechanické vlastnosti těstovin. Jakostní těstářenská mouka je vyrobena z kvalitní pšenice, která má sytě zbarvená sklovitá zrna s vysokým obsahem bílkovin. Voda se používá jako recepturní složka (26-38 % na mouku). Vejce jsou nezbytnou součástí u některých receptur těstovin vyráběných z polohrubé těstářenské mouky. Přidávají se v sušeném stavu v množství odpovídajícím 2-5 ks na 1 kg mouky, z hlediska mikrobiologického zajištění kvality výroby nejsou rizikovou surovinou jako čerstvá vejce (Kadlec et al., 2012). Při přípravě domácích těstovin se používají čerstvá vejce nebo tzv. tekutá pasterovaná vaječná melanz. Vejce působí po technologické i nutriční stránce na jakost těstovin příznivě: zlepšují barvu, zvětšují objem a pevnost při vaření. Mírně snižují průsvitnost

a v nesusušeném stavu zvyšují křehkost a lámavost. Těstoviny ze semolinové mouky se většinou vyrábějí jako bezvaječné (Teubner et al., 2007).

Průmyslově zpracované těsto má oproti ručně zpracovanému těstu hladší povrch, předností hrubšího povrchu je větší schopnost vstřebávat tekutinu a zároveň s tím snadněji ovlivnit chuť výsledného pokrmu. Při sušení těstovin v průmyslové výrobě teplota dosahuje až 100 °C, což se projeví tmavším zabarvením. U ruční výroby probíhá sušení nejčastěji při tzv. pokojové teplotě okolo 25 °C.

Samotný pokrm, nazývaný lasagne, se vyrábí střídáním vrstev těstovinového plátu, bešamelu a dušeného masa. V různých variacích se do lasagní přidávají odlišné sýry a zelenina. Lasagne se vždy pečou v troubě při teplotě 180 °C cca 35-40 minut (Pauli, 2009).

Materiál a metodika

Na základě požadavků cateringové společnosti a) senzorycky zhodnotit kvalitu zapečeného pokrmu s odlišnou časovou posloupností, b) senzorycky zhodnotit rozdílnou základní surovinu (těstovina), byl v laboratorní kuchyni na Vysoké škole hotelové v Praze uskutečněn experiment, umožňující rozhodnout, která varianta je ideální z pohledu přípravy, a také z pohledu spokojenosti konečného spotřebitele. Řešením, které je z pohledu cateringové společnosti nejméně náročné, je použití tzv. konvenience (chlazené, mražené), pokrmu určeného k přímé tepelné úpravě bez dalšího přípravného kroku, často označovaného jako polotovar. Za výhody lze u tohoto produktu považovat úsporu času, dlouhodobou dobu použitelnosti, zdravotní bezpečnost či nižší nároky na pracovní prostory. Z pohledu zákazníka je však na tyto produkty pohlíženo negativně jako na levnou náhražku čerstvě připraveného pokrmu, zejména při slavnostních gastronomických akcích. Časté jsou připomínky ke sporné chuti, vyššímu obsahu aditiv, použití méně vhodných tuků či ztrátě čerstvosti a nutričních hodnot. Z těchto důvodů tuto variantu cateringová společnost předem zamítla. Požadováno bylo naproti tomu zjištění senzoryckých vlastností u 4 rozdílných vzorků v závislosti na použití domácí nebo koupené těstoviny a v závislosti na době přípravy těstovinových pokrmů.

Pro experiment byly zvoleny lasagne, neboť tento pokrm svým složením a tepelnou úpravou nejlépe splňuje požadavky na zkoumanou problematiku. Konkrétně byly zkoumány 4 odlišné vzorky lasagní:

- 1) lasagne – koupená těstovina, připravované den předem;
- 2) lasagne – koupená těstovina, připravované před konzumací;
- 3) lasagne – domácí těstovina, připravované den předem;
- 4) lasagne – domácí těstovina, připravované před konzumací.

U dvou vzorků byla použita průmyslově vyrobená těstovina, u dalších dvou domácí (ručně) připravená. Rozměr a tloušťka (síla) byla shodná u všech těstovin. Druhý požadavek byl na časovou odlišnost v přípravě jednotlivých složek a jejich vrstvení do zapékacích misek. První možností (2 vzorky) bylo den předem připravit ragú, bešamel a předvařené těstoviny s následným vrstvením do zapékacích nádob. Všechny jednotlivé složky lasagní tak byly tepelně opracovány den předem. Takto připravené lasagne byly šokově zchlazeny na teplotu 4 °C, finální zapečení se uskutečnilo až následný den, hodinu před konzumací. Druhou možností (2 vzorky) byla příprava všech jednotlivých částí i tepelné úpravy v den konzumace, doba přípravy včetně zapečení trvala přibližně 5 hodin.

Zbýlý postup přípravy byl již stejný pro všechny 4 vzorky. Vycházel ze základní receptury, kterou lze rozdělit na přípravu boloňské omáčky, bešamelu s přidáním sýra, předvaření těstovinových lasagní a následné vrstvení do velikostně stejných zapékacích misek s keramickým povrchem.

Boloňská omáčka i následná sýrová omáčka byla připravena podle originální receptury (Piras, 2006). Zelenina, slanina a mleté hovězí maso byly zvolna opečeny na olivovém oleji. Byly zality bílým vínem a promíchány. Byl přidán rajčatový protlak, směs byla ochucena nasekanou bazalkou, pepřem a solí. Vaření probíhalo pozvolna 30 min. Suroviny byly použity v následujícím množství: olivový olej 50 g, cibule 100 g, česnek 20 g, mleté hovězí maso 500 g, slanina 100 g, rajčatový protlak 250 g, bílé víno 100 ml, bazalka čerstvá 20 g. Součástí receptury byl také strouhaný parmezán (100 g), kterým se rovnoměrně posypávala boloňská omáčka až při vrstvení před zapečením.

Sýrová omáčka (bešamel se sýrem) byla připravována tak, že byla v kastrole rozehřáta 1/3 másla, přisypána mouka, po krátkém míchání proběhlo odstavení, osolení a okoření. Postupně bylo přidáváno mléko. Po opětovném umístění na sporák se ingredience nechaly 5 minut povařit. Ke konci byl přidán strouhaný čedar. Množství surovin bylo následující: máslo 150 g (z toho 100 g na zapečení), hladká mouka 50 g, mléko 600 ml, sýr čedar 125 g, muškátový květ 2 g.

Třetí složka lasagne (těstovinové obdélníky) byly před vrstvením nejdříve tepelně zpracovány vařením, a to u všech vzorků lasagní jak domácích, tak kupovaných. Těstoviny byly nejdříve ponořeny do mírně osolené vody po 1 minutu a následně zprudka zchlazeny ve studené vodě.

Další postup přípravy pokrmu sestával z potření nádoby rozpuštěným máslem. Na dno nádoby byla položena první vrstva lasagní následovaná zalitím bešamelem, dále vrstvou boloňské omáčky, která se posypala parmezánem. Po vytvoření 5 vrstev byly na lasagne vkládány kousky zbylého másla. Samotná tepelná úprava (zapékání) byla jednotně stanovena na 180 °C po dobu 35 minut v konvektomu (horkovzdušná pec s regulací vlhkosti), vlhkost byla stanovena na 45 %. Všechny suroviny byly použity čerstvé, kromě rajčatového protlaku vzhledem nestabilní kvalitě čerstvých rajčat v prodejní síti. Teplota všech podávaných pokrmů byla v rozmezí 59-61 °C (změřeno jehlovým teploměrem).

K hodnocení rozdílů mezi jednotlivými vzorky byla sestavena odborná komise skládající se ze 2 kuchařů, jednoho odborníka vlastního senzorké zkoušky a 2 food kritiků. Hodnocení pokrmů probíhalo v dopoledních hodinách, v místnosti s dostatečným osvětlením a čerstvým vzduchem. Na stole měli hodnotitelé pouze hodnotící arch, pero a sklenici s vodou. Pro hodnocení každého vzorku měli 6 minut. Hodnotitelé měli zakázáno spolu komunikovat a nevěděli, jaký konkrétní vzorek budou hodnotit, ani co je účelem samotného hodnocení. Pro každý vzorek sloužil jeden hodnotící arch.

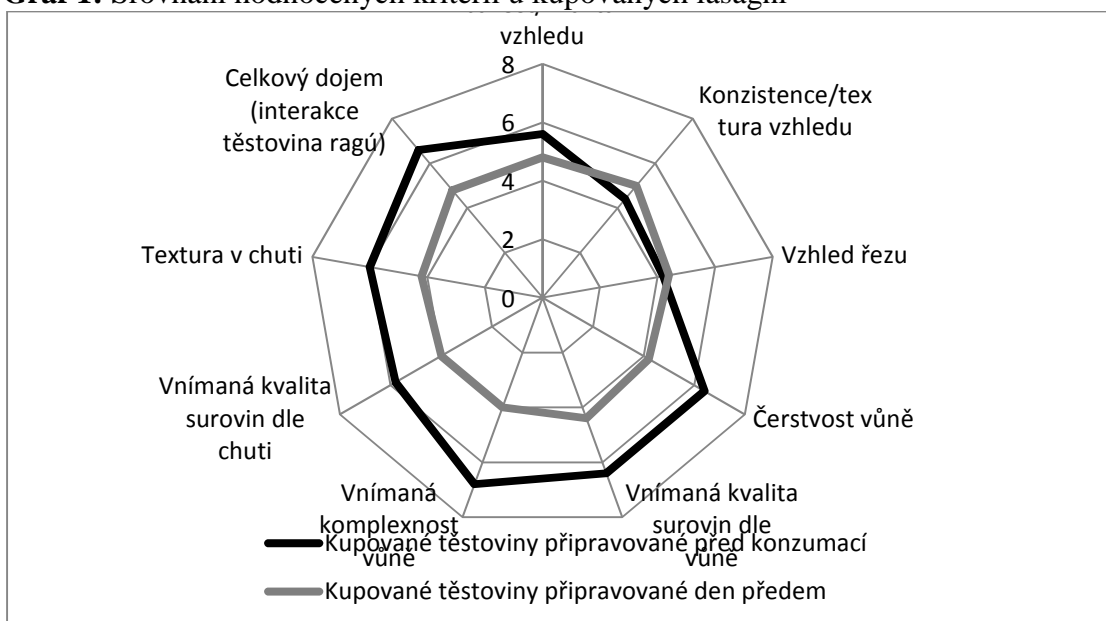
U vzhledu byly hodnoceny kritérii: jakost/kvalita vzhledu, konzistence/textura vzhledu, vzhled řezu. U vůně byla hodnocena její čerstvost, vnímaná kvalita surovin dle vůně, vnímaná komplexnost vůně. V chuti byla hodnocena vnímaná kvalita surovin, pozitivní textura pokrmu a celkový dojem odrážející pozitivní interakci chutí mezi těstovinou a ragú (resp. bešamelem). Hodnotitelé vybírali u každého kritéria počet bodů od 1 (nejméně jakostní, nejhorší) do 9 (nejvíce jakostní, nejlepší). Výsledný počet bodů u každého hodnoceného kritéria byl poté získán aritmetickým průměrem počtu bodů všech hodnotitelů.

Pro vyhodnocení byly použity paprskové grafy. Střed grafu reprezentuje nulovou průměrnou hodnotu, úplný okraj znázorňuje průměrnou známku 7 (u žádného vzorku nepřekročila průměrná známka tuto hodnotu, i když byl maximální možný počet bodů 9). Výsledky jsou nanášeny v 9 směrech, jelikož bylo použito 9 hodnotících kritérií. Výsledkem, neboli plochou, je takzvaný sensorický profil, znázornění jednotlivých složek vůní a chutí, který např. u vína používají Morozova et al. (2014), Kennedy et al. (2013), Arfelli et al. (2010), u listové zeleniny například Kala a Prakash (2004). Interpretace výsledků z paprskového grafu probíhá tak, že lepšího výsledku dosahuje pokrm s větší celkovou plochou ohraničenou úsečkami spojujícími výsledky jednotlivých kritérií.

Výsledky a diskuze

Nejdříve jsou graficky porovnávány kupované těstoviny připravované den předem a kupované těstoviny připravované před konzumací. Výsledky jsou znázorněny v Grafu 1. Body nanášené na osách u jednotlivých kritérií jasně znázorňují, že kupované těstoviny připravované den předem nedosahují takové celkové kvality, jako kupované těstoviny připravované čerstvě, těsně před konzumací. Bodový rozdíl je markantní a u některých kritérií přesahuje 2,5 bodu, a to zejména v třetinovém dolním sektoru grafu, který reprezentuje vůni. Výsledky naznačují, že kupované těstoviny během jednoho dne velmi rychle ztrácí svou kvalitu ve vůni i v chuti. Jediné kritérium, kde kupované lasagne připravované den předem dopadly lépe, byla textura vzhledu. Tento rozdíl je však natolik malý, že ho lze považovat za zanedbatelný.

Graf 1: Srovnání hodnocených kritérií u kupovaných lasagní

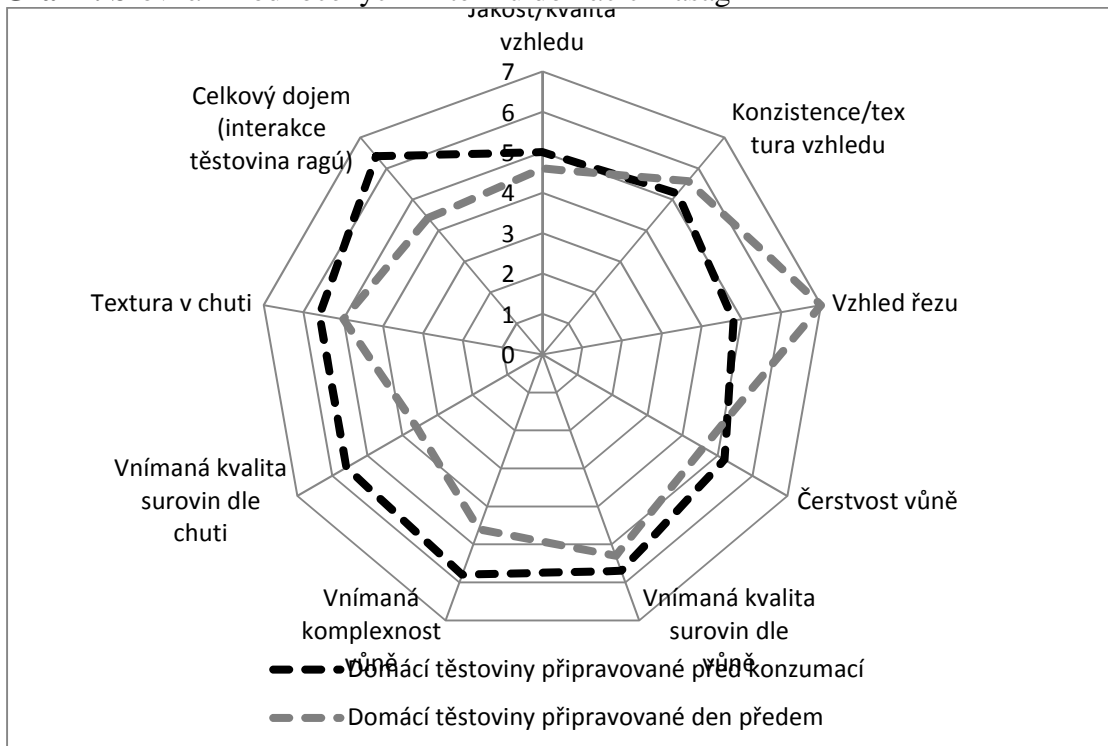


Zdroj: vlastní výzkum

Při porovnání domácích lasagní, konkrétně připravovaných den předem a těsně před konzumací, je výsledkem Graf 2. Stejně jako v předchozím příkladu lze konstatovat, že doba přípravy hraje opět zásadní roli. Domácí těstoviny připravované těsně před konzumací jsou lépe hodnoceny téměř u všech kritérií. V tomto případě je rozdíl významný zejména u levého sektoru grafu reprezentujícího chuť lasagní. Domácí

lasagne tedy rychle ztrácí kvalitu své chuti po jednom dni od přípravy, kvalita vůně je však oproti kupovaným lasagním relativně dobře zachována. Překvapivý je výsledek vzhledu řezu a textury vzhledu, kde jsou domácí těstoviny připravované den předem paradoxně lépe hodnoceny než domácí těstoviny připravované těsně před konzumací.

Graf 2: Srovnání hodnocených kritérií u domácích lasagní

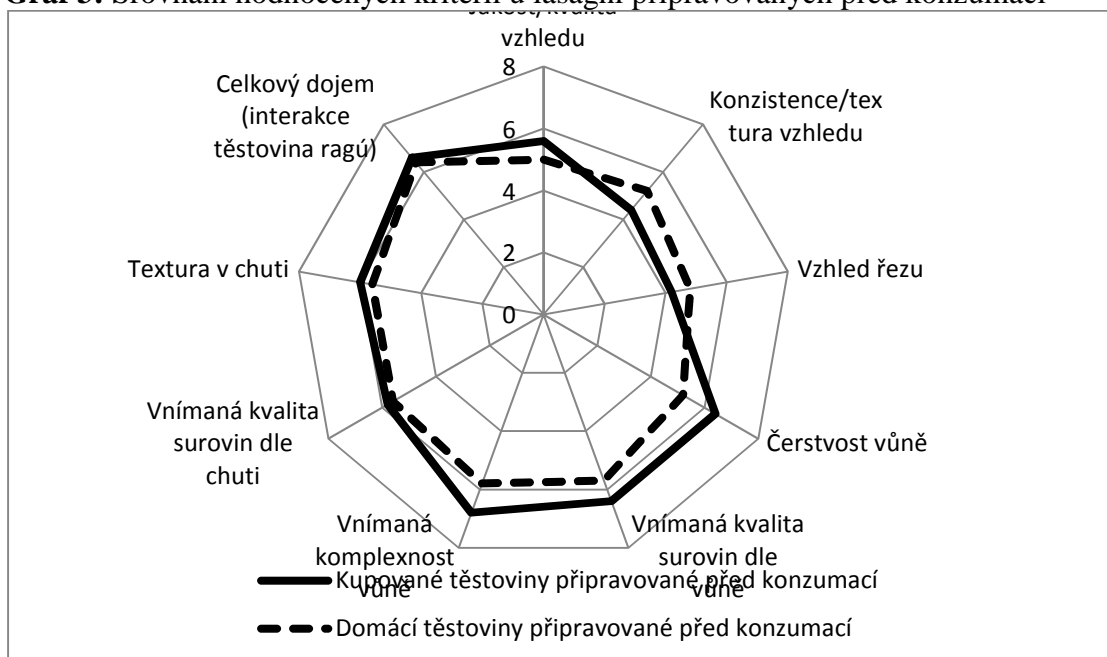


Zdroj: vlastní výzkum

Poslední Graf 3 srovnává lasagne, které jsou lépe hodnoceny z obou předchozích srovnání, tedy kupované těstoviny připravované před konzumací a domácí těstoviny připravované před konzumací. Srovnání ukazuje, že rozdíly v chuťových kritériích jsou zanedbatelné, u hodnocení vůně více bodů získaly těstoviny kupované připravované těsně před konzumací, u kritérií textura vzhledu a vzhled řezu jsou zase jakostnější domácí těstoviny. Rozdíl mezi těmito vzorky (domácí a kupované těstoviny) se nezdá být tak významný jako při srovnávání kategorií čerstvých a den předem připravených těstovin.

Na základě zjištěných výsledků lze konstatovat, že při výběru mezi těstovinami připravovanými těsně před konzumací a den předem je výhodné zvolit technologický postup zahrnující přípravu lasagní těsně před konzumací, ať už se jedná o těstoviny kupované nebo domácí výroby. Zaručí se tak vyšší jakost vůně i chuti. Jedinou výhodou lasagní připravovaných den předem může být jakostnější vzhled. Pokud je zachována podmínka přípravy lasagní těsně před konzumací, je téměř indiferentní, zda jsou k přípravě použity domácí lasagne nebo kvalitní kupované těstoviny, které mohou v mnoha ohledech dopadnout dokonce lépe než těstoviny domácí.

Graf 3: Srovnání hodnocených kritérií u lasagní připravovaných před konzumací



Zdroj: vlastní výzkum

Dobrá soudržnost pokrmu, jehož součástí je textura vzhledu a vzhled řezu, bývá často nejobtížnější požadavek u zapečených pokrmů během servírování. Z naměřených hodnot vyplývá, že lepších výsledků lze v tomto ohledu dosáhnout přípravou lasagní den předem. Pokrm tak vykazuje určité prvky konvence. Na rozdíl od většiny konvenčních však takto připravený pokrm neobsahuje žádné přídavné látky zlepšující jeho vlastnosti. Lze se domnívat, že soudržnost je způsobena delším časem, při kterém dochází k většímu vstřebávání tekutin z ragú a bešamelu. Při zchlazování na teplotu 4 °C také dochází k částečnému ztuhnutí a zmenšení objemu pokrmu.

Vnímaná komplexnost vůně a vnímaná kvalita surovin podle vůně může být sporným hodnotícím prvkem při porovnávání lasagní připravovaných den předem a těsně před konzumací. Důvodem je, že bešamel a ragú po delší době změni své sensorické vlastnosti a tím mohou zkreslit samotné sensorické hodnocení. Je totiž otázkou, zda jsou odborní hodnotitelé schopni odlišit čerstvost a komplexnost vůně těstovin a zbylých složek pokrmu. Jinými slovy, zda nebyla čerstvost a komplexnost vůně změněna spíše vlastnostmi jiných složek pokrmu než samotnými těstovinami. Tato problematika by jistě vyžadovala další zkoumání.

Návrhem, jak eliminovat ztrátu pozitivních sensorických vlastností, by mohlo být použití smíšeného přístupu k přípravě lasagní. Pracovníci výroby by v tomto případě mohli minimalizovat dobu přípravy lasagní v den konzumace tím, že by připravili ragú a bešamel s denním předstihem, kdežto vaření těstovin a jejich konečné vrstvení by probíhalo až před samotnou konzumací.

Závěr

Způsob kuchyňské technologie při zpracování těstovinových zapečených pokrmů má vliv na jejich sensorické vlastnosti. Při použití lasagní se ukázalo, že významným prvkem ovlivňujícím vnímanou kvalitu je především to, zda je těstovinový pokrm připravován den předem, nebo těsně před konzumací. V tomto směru lze

za nejvhodnější variantu označit čerstvě připravené těstoviny, ať už kupované nebo domácí. Výjimkou jsou v tomto ohledu kritéria hodnocení vzhledu, kde den předem připravené těstoviny dosahují lepších vizuálních vlastností. Pokud se však spotřebitel rozhoduje mezi těstovinami domácími a kupovanými, je obtížné jednoznačně určit vhodnější variantu. Při použití kvalitních zakoupených těstovin lze často dosáhnout stejných nebo lepších výsledků než při přípravě pokrmu s domácími těstovinami.

Literatura

Arfelli, Giuseppe, Elisa Sartini, Claudia Corzani a Alessandra Fabiani. Chips, lees, and micro-oxygenation: influence on some flavors and sensory profile of a bottled red Sangiovese wine. *European Food Research & Technology*. 2011, 233(1), 1-10. DOI: 10.1007/s00217-011-1480-2.

Farley, Heater A. a Zandra Reed. An integrated sensory study of selected chilled lasagne ready meals. *Food Service Technology*. 2005, 5(1), 35-45. DOI: 10.1111/j.1471-5740.2005.00111.x. ISSN 1471-5732.

Florence, Fabricant. Inventive, new lasagnas easily stack up against classic layered pasta dish. *Nation's Restaurant News*. 2005, 39(41), 34. ISSN 0028-0518.

Kadlec, Pavel, Karel Melzoch a Michal Voldřich. *Přehled tradičních potravinářských výrobních technologií potravin*. Ostrava: Key Publishing, 2012. Monografie (Key Publishing). ISBN 978-80-7418-145-0.

Kennedy, Ursula, Edward Horton a Dylan Rhymer. The influence of commercial hybrid yeast strains on the composition and sensory profile of Granite Belt Chardonnay. *Wine & Viticulture Journal*. 2013, 28(6), 34-37.

Mitchell, Michelle, Nigel P. Brunton a Martin G. Wilkinson. Sensory acceptability of a reformulated reduced salt frozen ready meal. *Journal of Foodservice*. 2009, 20(6), 298-308. DOI: 10.1111/j.1748-0159.2009.00154.x. ISSN 1748-0140.

Morozova, Ksenia, Oliver Schmidt a Wolfgang Schwack. Effect of headspace volume, ascorbic acid and sulphur dioxide on oxidative status and sensory profile of Riesling wine. *European Food Research & Technology*. 2015, 240(1), 205-221. DOI: 10.1007/s00217-014-2321-x.

Pauli, Philip. *Classical cooking the modern way: methods and techniques*. 3rd ed. New York: John Wiley, 1999. ISBN 0471-29187-0.

Piras, Claudia. *Culinaria Itálie: kulinární průvodce*. 2. vyd. Praha: Slovart, 2008. ISBN 978-80-7391-135-5.

Prakash, Jamuna a A. Kala. Nutrient Composition and Sensory Profile of Differently Cooked Green Leafy Vegetables. *International Journal of Food Properties*. 2004, 7(3), 659-669. DOI: 10.1081/JFP-120040218.

Teubner, Christian, Alexandra Cappel a Katrin Wittmann. *Food: všechno ze světa potravin: bible šéfkuchaře*. Praha: Svojtka, 2006. ISBN 978-80-7352-592-7.

Poděkování

Senzorické hodnocení proběhlo s přispěním Kristýny Jandáskové, studentky Vysoké školy hotelové v Praze. Poděkování jí patří za praktickou organizaci přípravy a degustace pokrmů.

Kontaktní adresa:

Ing. Jiří Zelený, odborný asistent na katedře hotelnictví, Vysoká škola hotelová v Praze 8, spol. s r. o., Svídnická 506, 181 00 Praha 8. E-mail: zeleny@vsh.cz

POSTERY

Effect of modified atmosphere packaging (MAP) on the colour indicators of organic chicken's meat

Abdullah, F.A.A., Buchtova, H, Đorđević, Đ.

University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno

Abstract

The aim is evaluation of the modified atmosphere packaging (MAP) effect observe air atmosphere packaging on colour indicators of organic chicken meat. 24 fresh samples (half carcasses) were packaged in MAP1 (80% O₂/20% CO₂), 24 samples in MAP2 (70% N₂/30% CO₂) and 24 samples were aerobically packaged (AIR). Detection of gases mixture in MAP and colour indicators (lightness, L*; redness, a*; yellowness, b*) of raw external surface (skin and muscle) of breast and thigh were measured. The experiment was conducted on 2nd day of storage and repeated on 7th, 10th and 14th days of storage. Results of present study indicated that applications of MAP had positive effect on the colour parameters of organic chicken meat, which could be influence on consumer buying decisions.

Key words: *colour, organic broiler, modified atmosphere packaging, meat, skin*

Introduction

Poultry meat is susceptible to oxidation processes due to high content of unsaturated fatty acid, also characterized by presence of specific microorganisms which could be under typical cold storage (+4 °C) proliferate (Kožačinski et al., 2012). For this reason, meat producers were interested about methods for prolongation the freshness of their products (Chiavaro et al., 2008). The main commonly applied method for extending the shelf life of meat is modified atmosphere packaging (MAP) (Paramithiotis et al., 2009). Colour of fresh meat is important quality character which has major influence on retail purchases decisions. Gases mixture in MAP has positive and negative effects on the meat colour. Advantage of high-oxygen atmosphere is preserves the bright red colour of meat (Lund et al., 2007), while low oxygen concentrations lead to oxidation of oxymyoglobin to metmyoglobin. In order to minimize formation of metmyoglobin, the oxygen percentage in MAP should by reduce to lower than 0.05% or be present in saturated level (Kerry et al., 2006). The main disadvantage of high CO₂ concentration was observed on the certain degree of darkening as a result of myoglobin formation (Luno et al., 1998). The aim of this study was to observe the effect of two types of MAP, observe air atmosphere on the colour indicators of poultry tissue (muscle and skin) from organic production system.

Material and methods

Half carcasses of fresh chicken including bone; muscle and skin were obtained from organic production farm (Biopark s. r. o., Lipova, Czech Republic), one day after slaughtering. The total number of obtained samples was 72 (half carcasses of chicken). 24 samples were packaged in MAP1 (80% O₂/20% CO₂), 24 samples in MAP2 (70% N₂/30% CO₂) and 24 samples were aerobically packaged (AIR) using polyolefin film

stretched over the tray. All the samples were stored at a temperature of $2 \pm 2^\circ\text{C}$ for 14 days. The experiment was conducted on 2nd day of storage and repeated on 7th, 10th and 14th days of storage. At each sampling day, three samples from each type of packaging were taken for analysis. Detection of gases mixture percentage in MAP and colour indicators of skin and muscle surface for breast and thigh were performed. Measurement of gases concentrations in MAP1 (O₂ and CO₂) and in MAP2 (N₂, CO₂ and O₂) were conducted by the incision of a probe inside the packaging atmosphere using a Check Point II gas analyser (PBI Dansensor AS, Ringsted, Denmark). Two measurements for each sample were performed. The colour indicators (lightness, L*; redness, a*; yellowness, b*) of raw external surface (skin and muscle) were measured according to the CIE L*a*b* system by using Minolta CM 2600d (Konica Minolta, Japan). Software (Spectra Magic 3.61) was used for calculation.

Results and discussion

The amount of O₂ MAP1 decreased significantly ($P < 0.05$) from 2nd day to 14th day of storage, on the contrary the percentage of CO₂ increased significantly ($P < 0.05$) from the 2nd day to 14th day of storage (Table 1). According to Balamatsia et al. (2007), there are many factors related to exhaustion of O₂ and conversion to CO₂ including to: rapid growth and metabolism of bacteria, enzymatic activity of muscle and decarboxylation of biogenic amines.

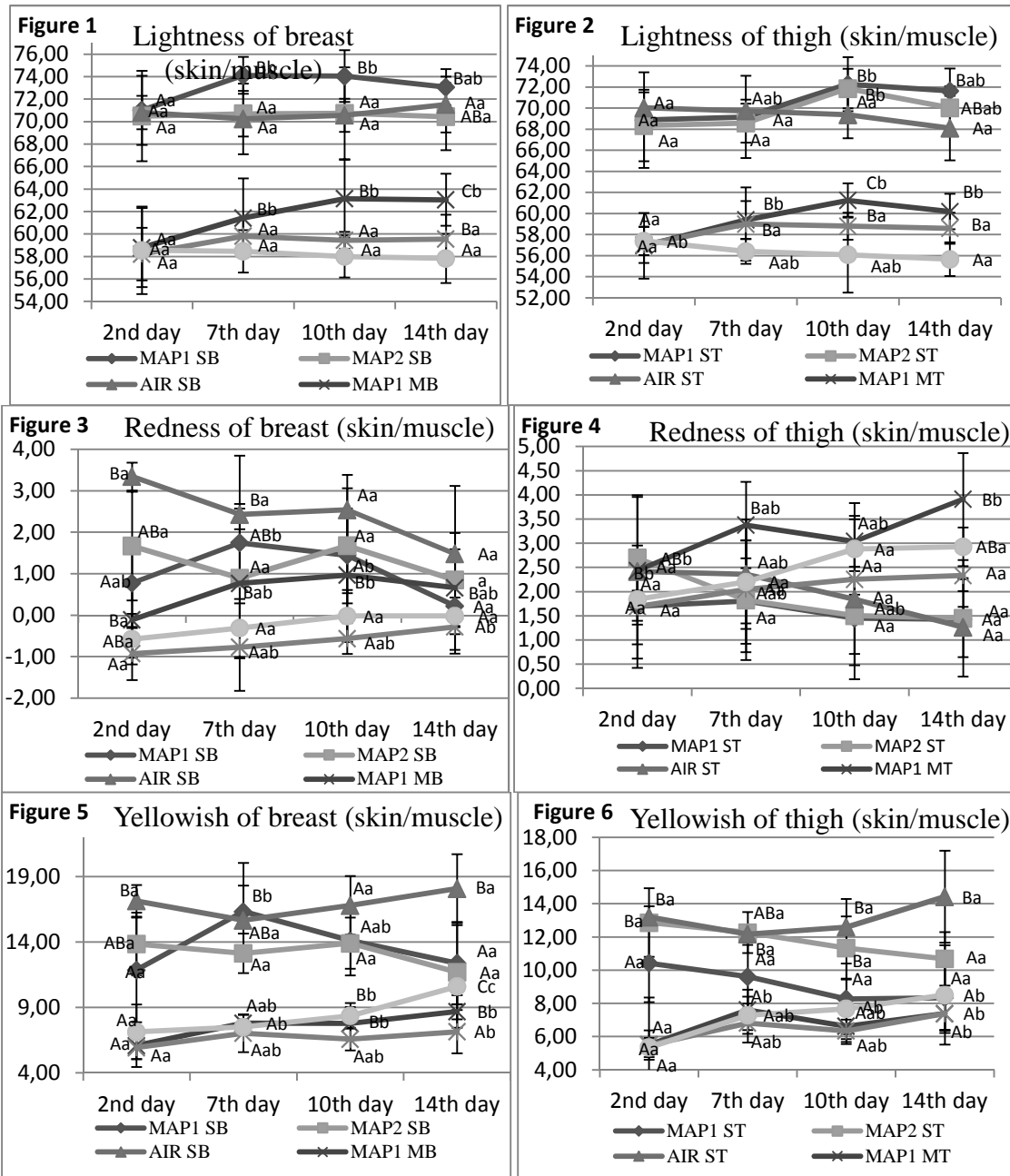
Table 1: percentage of gases composition in MAP

MAP1					
gases	2 nd day	7 th day	10 th day	14 th day	Stat. sign.
O ₂	81.53±2.06 ^c	79.53±3.25 ^{ab}	78.64±3.13 ^b	75.28±1.62 ^a	*
CO ₂	15.78±1.07 ^a	17.18±1.74 ^{ab}	18.41±2.07 ^b	21.76±1.23 ^c	*
remain gases	2.69±1.01 ^a	3.28±1.25 ^a	2.94±1.09 ^a	2.92±0.75 ^a	NS
MAP2					
N ₂	72.12±0.47 ^a	79.43±1.40 ^b	79.23±1.40 ^b	78.56±0.71 ^b	*
CO ₂	27.53±0.60 ^b	20.06±1.58 ^a	20.72±1.49 ^a	21.42±0.72 ^a	*
O ₂	0.33±0.23 ^b	0.29±0.26 ^b	0.05±0.09 ^a	0.02±0.03 ^a	*

*Stat. sign. Statistical significance, values in the same row with different letters^{a, b, c} are significantly different among 2nd, 7th, 10th, 14th, * $P < 0.05$, NS No significance.*

The lightness values (L*) for chicken skin and muscle in MAP1 increased during storage period and significantly ($P < 0.05$) was higher than samples in MAP2 and AIR (Figures 1 and 2). Lower (L*) values of chicken meat in MAP2 is could be due negative effect (colour deterioration) of CO₂ as a result of metmyoglobin formation (Hur et al., 2013). Redness (a*) values of chicken muscle in MAP1 ($P < 0.05$) significantly increased on the 10th day for breast and the 14th day for thigh, and significantly ($P < 0.05$) higher than samples in MAP2 and AIR (Figures 3 and 4). Significant ($P < 0.05$) increase was noted in the value of b* parameter during storage period for muscles of breast and thigh in MAP1, MAP2 and AIR (Figures 5 and 6). Increase in b* parameter value during cold storage could be due to changes in meat pigmentation resulting from metmyoglobin synthesis (Jouki and Khazaei, 2012). Saucier et al. (2000) indicated

that increase yellowish (b*) parameter of stored poultry meat is due to progressing processes of meat spoilage and especially oxidative processes which occur in meat of chicken in spite of use oxygen-free MAP packaging.



SB, skin of breast, MB, muscle of breast, ST, skin of thigh, MT, muscle of thigh, values in the same line with different letters ^{a, b, c} are significantly among 2nd, 7th, 10th, 14th day of storage, values among lines with different letters A, B, C are significantly different among MAP1, MAP2, AIR, *P < 0.05.

Conclusion

Colour of is one of the essential sensorial characters of fresh meat and play an important role in buying decisions of consumers. Prolongation of meat fresh colour is from the aim of MAP applications. The results of present study indicated the positive effects of MAP on the colour parameters of organic chicken meat.

References

- Balamatsis, C.C., Patsias, A., Kontominas, M.G., Savvaidis, I.N. Possible role of volatile amines as quality-indicating metabolites in modified atmosphere packaged chicken fillets: Correlation with microbiological and sensory attributes. *Food Chem.* 2007, Vol. 104, pp. 1622–1628.
- Chiavaro, E., Zanardi, E., Bottari, B., Ianieri, A. Efficacy of different storage practices in maintaining the physicochemical and microbiological properties of fresh pork sausage. *J Muscle Foods.* 2008, Vol. 19, pp. 157–174.
- Hur, S. J., Jin, S. K., Park, J. H., Jung, S. W., Lyu, H. J.. Effect of Modified Atmosphere Packaging and Vacuum Packaging on Quality Characteristics of Low Grade Beef during Cold Storage. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 2013, Vol. 26 (12), pp. 1781-1789.
- Jouki, M., Khazaei, N. Lipid oxidation and color changes of fresh camel meat stored under different atmosphere packaging systems. *J Food Process Technol.* 2012, Vol. 3, pp. 11–14.
- Kerry, J.P., O'grady, M.N., Hogan, S.A. Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review. *Meat Sci.* 2006, Vol. 74, pp. 113-130.
- Kozacinski, L., Cvrtila Fleck, Ž., Kozacinski, Z., Filipovic, I., Mitak, M., Bratulic, M., Mikus, T. Evaluation of shelf life of prepacked cut poultry meat. *Veterinarski Arhiv.* 2012, Vol. 82, pp. 47–58.
- Lund, M.N., M.S. Hviid, L.H. Skibsted. The combined effect of antioxidants and modified atmosphere packaging on protein and lipid oxidation in beef patties during chill storage. *Meat Sci.* 2007, Vol. 76, pp. 226-233.
- Luno, M., Beltran, J.A., Roncales, P. Shelf-life extension and color stabilization of beef packaged in a low O₂ atmosphere containing CO: loin steaks and ground meat. *Meat Sci.* 1998, Vol. 48, 75–84.
- Paramithiotis, S., Skandamis, P.N., Nychas, G.J.E. (2009). Insights into fresh meat spoilage. In F. Toldra (Ed.), *Safety of meat and processed meat* (pp. 55–82). New York, NY: Springer.
- Saucier, L., Gendron, C., Gariépy, C. Shelf life of ground poultry meat stored under modified atmosphere. *Poultry Science.* 2000, Vol. 79, pp. 1851–1856.

Acknowledgement

Financial support for this study was provided by the University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Palackeho tr. 1946/1, 612 42 Brno, Czech Republic (IGA VFU Brno: 208/2016/ FVHE).

Contact address:

Fouad Ali Abdullah ABDULLAH, Ing., Department of Meat Hygiene and Technology, FVHE VFU Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Czech Republic. E-mail: H13001@vfu.cz

Vliv snížení obsahu sodných iontů na údržnost a vlastnosti masných výrobků

The effect of sodium ions reduction on the shelf-life and properties of meat products

Adamcová, M., Škorpilová, T., Pipek, P.
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

Souhrn

Chlorid sodný přispívá k mikrobiální stabilitě, má pozitivní vliv na strukturu masných výrobků a působí slanou chuť. Nadbytek sodíku však má negativní vliv na lidské zdraví, proto se hledají možnosti snížení jeho obsahu v masných výrobcích. Cílem práce bylo prozkoumat vliv částečného nahrazení chloridu sodného draselnými solemi na údržnost, technologické a organoleptické vlastnosti. Vliv na údržnost byl sledován v originálních výrobcích, i ve vzorcích kontaminovaných známým počtem mikroorganismů. Oxidace lipidů byla hodnocena pomocí TBARS a textura stlačovací metodou; výrobky byly zhodnoceny rovněž senzorycky. Ukázalo se, že chlorid sodný lze v masných výrobcích částečně nahradit draselnými solemi bez výrazného negativního ovlivnění jakosti.

Klíčová slova: *masné výrobky, snížení obsahu sodíku, údržnost, technologické a organoleptické vlastnosti*

Abstract

Sodium chloride contributes to achievement of a microbial stability, has a positive effect on structure of meat products and is responsible for their salty taste. However, the excessive intake of sodium from sodium chloride has a negative influence on human health. Therefore different options on how to decrease its content in food have been inspected. The objective of this study was to evaluate the possibilities of a partial replacement of sodium chloride by potassium salts and to examine its influence on shelf life, technological and organoleptic properties. The effect on shelf life was established through microbiologic analysis for both original products as well as samples that were contaminated by known counts of microorganisms. Additionally, oxidation of lipids bases on TBARS and texture estimation were subjects to an observation through the compression method. Meat products were also sensorically analysed. The conclusion of this study is that sodium chloride can be partially replaced by potassium salts without negatively affecting the quality of the final product.

Úvod

Chlorid sodný se v masné výrobě používá pro vytvoření struktury, zajištění údržnosti a dosažení požadované chuti (Puolanne a Ruunusen, 2005). Vysoký příjem sodíku z potravin však může působit zdravotní komplikace, např. hypertenzi, kardiovaskulární onemocnění, aj. (Higdon et al., 2008). Proto se usiluje o snižování obsahu chloridu sodného, případně o jeho náhradu za soli jiné (Puolanne a Ruunusen, 2005).

Chlorid sodný se přímo podílí na tvorbě struktury masného výrobku, zvyšuje se vaznost a snižují se ztráty vody (Desmond, 2006). Snižením obsahu chloridu sodného může dojít k negativnímu ovlivnění struktury masného výrobku, proto je třeba tvorbu gelu podpořit přidavkem jiných látek, např. polyfosfátů (Ruunusen et al., 2005).

Chlorid sodný má výraznou slanou chuť, která v závislosti na příměsích může získávat i nahořklou či kovovou příchut' (Opletal et al., 2011; Desmond, 2006). Slaná chuť chloridu sodného je způsobena především sodíkovým kationtem, přičemž chloridový anion slanost sodíku zvýrazňuje (Puolanne a Ruunusen, 2006).

Snižení obsahu sodíku v masných výrobcích lze dosáhnout řízeným snižováním obsahu chloridu sodného na úroveň, která neovlivní negativně údržnost ani technologické vlastnosti. Jinou možností je částečné či úplné nahrazení jinými chloridy (draselným, hořečnatým, vápenatým) a mléčnany (Kloss, et al., 2015; Desmond, 2006). Neexistuje však látka, která by plně nahradila chlorid sodný z hlediska technologických a organoleptických vlastností v potravinách (Kloss et al., 2015).

Materiál a metodika

Ve vlastní práci bylo ověřováno, zda je možné v masných výrobcích částečně nahradit chlorid sodný chloridem draselným a mléčnanem draselným (komerční produkty Purasal Hi Pure P Plus a PuraQ® Arome NA4) bez významných negativních vlivů na kvalitu produktů.

Měkké jemně mělněné salámy byly vyrobené v provozních podmínkách a skladované 23 dní při teplotě 5 °C. Během skladování byl sledován vliv solicích směsí na údržnost, oxidaci lipidů, texturu a organoleptické vlastnosti výrobků. Výčet a podíly solicích směsí ve vzorcích jsou uvedeny v tab. 1.

Tabulka 1: Složení solicích směsí pro jednotlivé vzorky

Vzorky	NaCl		KCl		Purasal Hi Pure P Plus		PuraQ® Arome NA4	
	n [mol]	hm. %	n [mol]	hm. %	n [mol]	hm. %	n [mol]	hm. %
A	17,11	2,0	0	0	0	0	0	0
B	12,83	1,5	4,28	0,6	0	0	0	0
C	8,56	1,0	8,56	1,3	0	0	0	0
D	8,56	1,0	0	0	8,56	2,8	0	0
E	8,56	1,0	0	0	0	0	8,56	4,0
F	17,11	2,0	0	0	7,00	2,30	0	0

Pro mikrobiologický rozbor byla použita metoda přelivu na půdě PCA. Inkubace následně probíhala ve 30 °C po dobu 72 hodin. Část vzorků byla naočkována známým počtem bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* a směsnou kulturou bakterií běžně se vyskytujících na masných výrobcích. Následně byl sledován nárůst mikroorganismů v naočkovaných i nenaočkovaných vzorcích během skladování.

Míra oxidace lipidů byla stanovována na základě thiobarbiturového čísla.

Textura byla měřena na texturometru Instron (model 5544) na základě síly potřebné ke stlačení vzorku (válec o výšce 25 mm a průměru 15 mm) na 20 % původní výšky vzorku.

Vzorky byly v rámci sensorického hodnocení předloženy 33 hodnotitelům, kteří hodnotili několik deskriptorů pomocí 10 cm úsečky. Krajiní hodnoty intenzit byly následující: 0 – málo intenzivní, 10 – velmi intenzivní. Optimální hodnota pro slanou chuť byla rovna 5.

Výsledky a diskuse

Senzorické hodnocení ukázalo, že vzorky s přídavkem chloridu draselného mají mírně intenzivnější slanou chuť než standard, zatímco vzorky s přídavkem mléčnanů se hodnotitelům zdály slané méně. Přídavek náhrad jedlé soli rovněž vedl k mírnému zvýšení intenzity nežádoucích příchutí.

Z výsledků měření textury je patrný rozdíl mezi vzorky s chloridem sodným a vzorky s mléčnanem draselným, které jsou až o 15 % měkčí.

Celkové počty mikroorganismů v originálních vzorcích nepřekročily během skladování 10 KTJ/g výrobku. Celkové počty mikroorganismů ve vzorcích naočkovaných směsnou kulturou bakterií běžně se vyskytujících na maso i masných výrobcích velmi rychle překročily hygienickou mez stanovenou vyhláškou 132/2004 Sb. (dnes již neplatná). Mléčnany zde mírně zpomalily nárůst mikroflóry. Ve vzorcích naočkovaných enterobakteriemi byl antimikrobiální účinek mléčnanů výraznější. Chlorid draselný pak měl v obou případech srovnatelné antimikrobiální účinky jako chlorid sodný.

Thiobarbiturové číslo rostlo u všech vzorků po celou dobu skladování. Vzorky s přídavkem mléčnanů byly mírně méně zoxidované, rozdíl oproti vzorkům s přídavkem chloridu sodného a draselného však nebyly příliš výrazné.

Závěr

Bylo prokázáno, že chlorid sodný lze částečně nahradit chloridem draselným nebo mléčnanem draselným bez výrazného negativního ovlivnění údržnosti, technologických a organoleptických vlastností vzorků. Použití mléčnanů vedlo k prodloužení údržnosti, mělo však mírný vliv na změkčení struktury. Chlorid draselný mírně zvyšuje slanost výrobků, zatímco mléčnan draselný se hodnotitelům zdál slaný méně.

Literatura

Brewer, M., S.: Traditional Preservatives – Sodium Chloride. *Encyclopedia of Food Microbiology*. 1. ed., Cambridge, Academic Press, 1999, 1723 – 1727, 2372 s., ISBN: 978 – 0 – 080 – 52359 – 0.

Desmond, E.: Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat Science*. 2006, vol. 74, p. 188-196.

Higdon, J., Drake, V., J., Obarzanek, E.: Sodium (Chloride).

<http://ipi.oregonstate.edu/mic/minerals/sodium>; Staženo 3. 4. 2016.

Kloss, L., Meyer, J., D., Graeve, L., Vetter, W.: Sodium intake and its reduction by food reformulation in the European Union – A review. *NFS Journal*, 2015, vol. 1, p. 9 – 19.

Opletal, L., Wimmer, Z., Čopíková, J., Lapčík, O., Moravcová, J., Cahlíková, L., Drašar, P.: Slaná chuť přírodních látek a jejich derivátů. *Chemické listy*, 2011, roč. 105, s. 761 – 765.

Puolanne, E., Ruusunen, M.: Reducing sodium intake from meat products. *Meat Science*. 2005, vol. 70, p. 531-541.

Ripollés, S., Campagnol, P., C., B., Armenteros, M., Aristoy, M, C., Toldrá, F.: Influence of partial replacement of NaCl with KCl, CaCl₂ and MgCl₂ on lipolysis and lipid oxidation in dry-cured ham. *Meat Science*, 2011, vol. 89, p. 58 – 64.

Ruunusen, M., Vainionpää, J., Lyly, M., Lähteenmäki, L., Niemistö, M., Ahvenainen, R., Puolanne, E.: Reducing the sodium content in meat products: The effect of the formulation in low-sodium ground meat patties. *Meat Science*, 2005, p. 53 – 60.

Poděkování

Tento výzkum probíhal v rámci hospodářské smlouvy č. 324615191.

Kontaktní adresa:

Ing. Markéta Adamcová

VŠCHT v Praze, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Ústav konzervace potravin, Technická 3, 166 28 Praha 6 – Dejvice.

E-mail: adamcovamarketa@email.cz

Kvalita chleba versus kvalitatívne parametre použitej múky *Quality of bread versus qualitative parameters of used flour*

Baranová, M., Strapáč, I., Mikolajová, I.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Súhrn

Chlieb patrí k základným pekárskym výrobkom. Tradície pečenia chleba na Slovensku sú zrejme rovnako staré ako samotné osídlenie územia ľuďmi. Vzhľad, chuť a technológia výroby chleba sa menili v jednotlivých historických etapách avšak chlieb, ako základný potravinový článok, bol vždy veľmi cenený. Vyhláška Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky č. 24/2014, o pekárskych výrobkoch, cukrárskych výrobkoch a cestovinách definuje chlieb ako pekársky výrobok s hmotnosťou viac ako 400 g nakyprený kvasom alebo droždím. Najpoužívanejšou a najdôležitejšou surovinou pri výrobe chleba je pšeničná a čiastočne aj ražná múka. V práci sme sa zamerali na stanovenie kvality chleba v závislosti od kvalitatívnych parametrov použitej múky (T650 a T1050). Stanovenie fyzikálno-chemických vlastností vybraných trhových druhov pšeničných múk poukázalo na rozdiely v jednotlivých kvalitatívnych ukazovateľoch čerstvo zomletých a skladovaných múk. Po dvoch rokoch skladovania múky mali fyzikálno-chemické vlastnosti, ktoré neboli optimálne pre pekársku výrobu. Reologické vlastnosti cesta stanovené Amylografom boli potvrdené aj pekárskym pokusom. Dlhodobé skladovanie múk sa tak negatívne prejavilo v kvalite chleba.

Kľúčové slová: *pekáreň, chlieb, pečivo, špecifické riziká pekárskej výroby*

Abstract

Bread one of the basic bakery products. The traditions of baking bread in Slovakia are probably as old as the very people inhabited territory. Appearance, taste and manufacturing technology of bread were changed during historical periods but bread as a basic food article was always very valuable. Regulation of the Ministry of Agriculture and Rural Development of the Slovak Republic No. 24 / 2014 of bakery products, pastries and pasta defines the bread as a bakery product with weight more than 400 g, made with the aid of culture yeasts. The most used and most important raw material in the production of bread is wheat flour and partly also rye flour. In this work we evaluated quality of bread depends on qualitative parameters of used flour (T650 and T1050). There were differences in physico-chemical properties between freshed and stored flours. The physico-chemical properties of flours after two years of storage in laboratory conditions at room temperature were not optimal for bakery production. Rheological properties of dough obtained by Amylograph were compared with properties of bread made from the flour. Long-term storage of flour had negative impact on the quality of the bread.

Keywords: *bakery, bread, bakery products, specific risks of bakery*

Úvod

Vyhláška Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky č.24/2014, o pekárskech výrobkoch, cukrárskych výrobkoch a cestovinách vymedzuje pekárske výrobky ako potraviny vyrábané tepelnou úpravou rôzne tvarovaného cesta z mlynských výrobkov, vody a iných surovín podľa receptúry. Chlieb je podľa vyhlášky pekárske výrobky s hmotnosťou viac ako 400 g nakyprený kvasom alebo droždím (Baranová, 2013).

Základné suroviny potrebné na výrobu chleba sú múka, soľ, voda a podľa spôsobu technológie aj kvasné koncentráty s obsahom kvasiniek alebo vyzretý kvas s rozmanitou kultúrou mikroorganizmov (Szemes a Mainitz, 1999).

Presný a jednoznačný ukazovateľ kvality používanej múky neexistuje, a preto je potrebné opierať sa o výsledky viacerých ukazovateľov (Šedivý a Albrecht, 2014). Pri dodávke múk do prevádzky pekárne sa začína jej senzorické hodnotenie. K prvotným hodnoteniam múky patrí posúdenie farby a prítomnosť nečistôt. Vlhkosť múky je sledovaný a kontrolovaný parameter a hodnota by nemala prekročiť 15%. Pri zvýšenej vlhkosti hrozí zaplesnivenie, skazenie a zhrudkovatenie múky. Takáto múka už nie je vhodná na pekárne účely (Mainitz a kol.2002).

Čerstvosť múky sa hodnotí po určení kyslosti múky. Kyslosť múky hovorí o obsahu mastných kyselín, ktoré vznikli rozkladom tukov. Hodnota kyslosti pšeničnej múky je do 40 - 60 mmol/kg u ražných múk je to do 100 mmol/kg. Základným kvalitatívnym znakom pri posudzovaní pšeničnej múky je obsah lepku, pri hodnotení ražnej múky je to obsah maltózy a škrobovoamylázového komplexu. Obsah lepku v potravinárskej pšenici by nemal klesnúť pod 23% (Baranová, 2013). Ďalšie pekárske vlastnosti múky sa posudzujú na základe fyzikálnych vlastností cesta, ktoré sa určujú pomocou reologických prístrojov, napr.:

- Farinograf – zisťuje časové zmeny konzistencie pšeničného cesta pri miesení,
- Extenzograf – meria ťažnosť, energiu a odpor pšeničného cesta,
- Maturograf – sleduje proces dokysnutia,
- Amylograf – zisťuje viskozitu suspenzie múky pri mazovaní v procese miesenia (Baranová, 2013).

Cieľom tejto práce bolo stanovenie kvality chleba v závislosti od kvalitatívnych parametrov použitej múky.

Materiál a metodika

Kvalitu chleba sme sledovali v závislosti od kvalitatívnych parametrov použitých múk:

1. pšeničná múka T650 čerstvo zomletá,
2. pšeničná múka T650 uskladnená 2 roky,
3. pšeničná múka T1050 čerstvo zomletá,
4. pšeničná múka T1050 uskladnená 2 roky.
- 5.

Pri stanovení vlastností múk sme sa rozhodli iba pre niektoré z analýz, ktoré majú výrazný vplyv na kvalitu vyrábaného chleba:

- stanovenie lepku, vlhkosti a popola (NIR analyzátor),
- stanovenie pružnosti a ťažnosti mokrého lepku (STN 56 05122),
- stanovenie titračnej kyslosti,

- stanovenie čísla poklesu prístrojom Falling Number (STN ISO 3093),
- stanovenie väznosti múk – výťažnosť cesta,
- stanovenie plošnej deformácie cesta Alveografom,
- stanovenie vlastností chleba – pekársky pokus.

Výsledky a diskusia

Výsledky stanovenia kvalitatívnych parametrov čerstvo zomletých a dva roky skladovaných múk a kvality chleba v závislosti od použitej múky sú uvedené v tabuľkách 1 až 3; obrázkoch 1 až 4.

Tabuľka 1: Kvalitatívne parametre múk T650 a T1050 stanovené NIR analyzátorom

parametre NIR analyzátoru	múka T650		múka T1050	
	dva roky skladovaná	čerstvo zomletá	dva roky skladovaná	čerstvo zomletá
lepok (%)	32	37	29,5	36,5
vlhkosť (%)	12,6	13,3	6,8	13,4
popol (%)	0,7	0,64	0,92	0,96

Zdroj: vlastná tabuľka

Obsah mokrého lepku bol nižší v skladovaných múkach. K nižšiemu obsahu mokrého lepku v skladovaných múkach sme dospeli aj pri stanovení lepku ručným vypieraním (Tabuľka 2). Vlhkosť skladovaných múk bola nižšia čo mohlo súvisieť s nízkou relatívnou vlhkosťou v laboratórnych priestoroch, kde boli múky skladované.

Vplyv skladovania na kvalitatívne parametre múk sme sledovali aj stanovením pádového čísla prístrojom Falling Number. Výsledky stanovenia pádového čísla poukázali na rozdiely škrobamylázového komplexu čerstvo zomletých a skladovaných múk. Počas skladovania došlo pravdepodobne k rozkladu škrobu aktivitou amyláz, čo sa prejavilo výrazne nižšou hodnotou pádového čísla skladovanej múky oproti čerstvo zomletej múke.

Tabuľka 2: Väznosť vody, titračná kyslosť, obsah a kvalita mokrého lepku múk T650 a T1050.

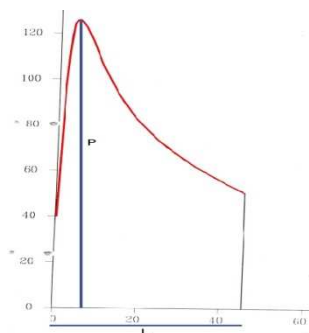
vzorka múky	pádové číslo (s)	väznosť vody (%)	titračná kyslosť (%)	mokrý lepok (%)	ťažnosť lepku	pružnosť lepku
T650 dva roky skladovaná	350	69,12	88,2	28,7	1	3-4
T650 čerstvo zomletá	593	66,94	47,4	34,7	4	2-3
T1050 dva roky skladovaná	269	68,12	92,91	31,4	3	3
T1050 čerstvo zomletá	380	66,10	65,86	38,2	3	3

Zdroj: vlastná tabuľka

Čerstvo zomleté múky mali o málo nižšiu väznosť vody ako skladované múky, čo je v súlade aj s rozdielnou vlhkosťou múk stanovenou NIR analyzátorom (Tabuľka 1). Vyššia titračná kyslosť skladovaných múk oproti titračnej kyslosti čerstvo zomletých múk, podobne ako aj pádové číslo, poukazuje na zmeny v zložení múky počas skladovania (Tabuľka 2). Rovnako nižší obsah mokrého lepku v skladovaných múkach,

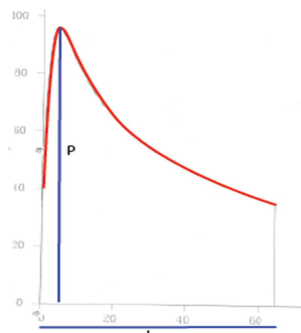
jeho veľmi malá ťažnosť a stredná až malá pružnosť poukazuje na hydratáciu lepkových bielkovín počas skladovania múky.

Pekárskú kvalitu skladovaných a čerstvo zomletých sme stanovili na základe reologických vlastností cesta Alveografom (obr. 1 až 4).



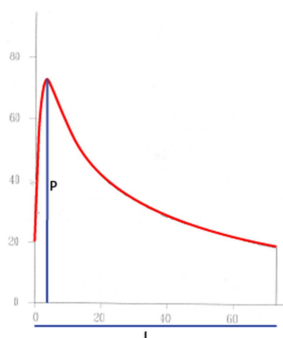
Obr. 1: Alveografická krivka skladovanej múky T650

Zdroj: vlastný obrázok



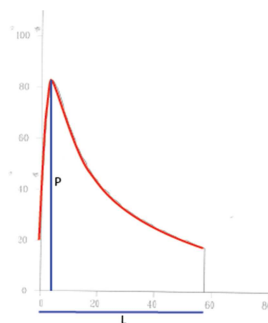
Obr. 2: Alveografická krivka čerstvo zomletej múky T650

Zdroj: vlastný obrázok



Obr. 3: Alveografická krivka skladovanej múky T1050

Zdroj: vlastný obrázok



Obr. 4: Alveografická krivka čerstvo zomletej múky T1050

Zdroj: vlastný obrázok

Alveografické krivky (obr. 1 a 3) poukazujú na to, že cesto vyrobené zo skladovaných múk je málo ťažné a tuhé a striedka pekárského výrobku bude tuhá s malými nerovnomernými pórmí. Výsledky pekárskej kvality skladovaných a čerstvo zomletých múk zistené alveografom sme doplnili pekárskym pokusom (tabuľka 3).

Tabuľka 3: Vlastnosti chleba upečeného zo skladovaných a čerstvo pomletých múk

chlieb upečený z múky	vlastnosti chleba			
	objem (ml)	hmotnosť (g) pred pečením	hmotnosť (g) po upečení	prepek (%)
T650 dva roky skladovaná	650	404	390	13,61
T650 čerstvo pomletá	1000	349	336	13,81
T1050 dva roky skladovaná	700	416	361	13,22
T1050 čerstvo pomletá	1100	398	345	13,31

Zdroj: vlastná tabuľka

Z tabuľky je vidieť že, pšeničný chlieb pripravený zo skladovaných múk počas kysnutia a počas pečenia dosiahol menší objem ako chlieb pripravený z čerstvo zomletých múk.

Rozdiel vo väznosti vody odráža rozdiel hmotností ciest pred upečením. Vyššia väznosť skladovaných múk podnietila vyššiu hmotnosť chlebového cesta pred pečením ale objemovo bol chlieb menší. Hodnota prepeku sa zásadne nezmenila (Tabuľka 3).

Laboratórne upečené chleby zo skladovaných aj čerstvo pomletých múk mali uzavretú, neporušenú kôrku. Zmeny v kvalite použitých múk sa prejavili v kvalite striedky. Striedka chleba upečeného z čerstvo pomletých múk bola pružná s rovnomernými pórmami, pričom striedka chleba upečeného zo skladovaných múk bola tuhá s malými nerovnomernými pórmami.

Pre pekárskú výrobu sa v mlynoch spracováva potravinárska pšenica a raž, t.j. pšenica a raž, ktoré spĺňajú určité predpoklady pre výrobu múk dobrej pekárskej kvality so zodpovedajúcimi fyzikálno-chemickými vlastnosťami (Baranová, 2011). Odroda pšenice je určitým nositeľom kvality ale to nie je postačujúce pre výrobu múky s kvalitnými pekárskymi vlastnosťami. Okrem odrody sa na kvalite pšenice podieľajú aj ďalšie faktory – miesto pestovania, kvalita pôdy, klimatické podmienky a pod. Pekárske vlastnosti pšenice sa dajú čiastočne korigovať aj úpravou technológie v mlyne pri zostavovaní jednotlivých typov múk i priamo v pekárni. Technologická kvalita pšeničnej múky súvisí predovšetkým s viskoelastickými vlastnosťami cesta, ktoré sú podmienené kvantitatívnym, ale aj kvalitatívnym zastúpením zásobných bielkovín pšeničného zrna a dobrým stavom škrobovoamylázového komplexu (Mikolajová, 2016).

Pekárske vlastnosti pšeničnej ale aj ražnej múky závisia a menia sa tiež podľa podmienok a dĺžky skladovania. Kvalita múky sa ustáľuje za určitý čas. Múka po zomletí mení svoje vlastnosti, postupne vyzrieva a zvyšuje pekársku silu lepku, to prináša zvýšenie kvality pre pekársku výrobu. Veľmi dôležitým faktorom pre dodržanie kvality múky je spôsob skladovania (Horvátová a kol., 2003). Garančná doba pre skladovanie múky je pomerne krátka a jej nevhodným uskladnením môže dôjsť k znehodnoteniu už vo veľmi krátkom čase. Vyskytujú sa najmä zmeny senzorických vlastností, ktoré sú sprevádzané i zmenami v chemickom zložení a tým aj zmenou pekárskej kvality (Wang a Flores, 2003; Mis, 2003).

Záver

Stanovenie fyzikálno-chemických vlastností vybraných trhových druhov pšeničných múk poukázalo na rozdiely v jednotlivých kvalitatívnych ukazovateľoch čerstvo zomletých a skladovaných múk. Po dvoch rokoch skladovania múky mali fyzikálno-chemické vlastnosti, ktoré neboli optimálne pre pekársku výrobu. Dlhodobé skladovanie múk sa tak negatívne prejavilo v hodnotách všetkých kvalitatívnych ukazovateľov. Reologické vlastnosti cesta stanovené Amylografom boli potvrdené aj pekárskym pokusom.

Literatúra

Baranová, M. Hygiena a technológia cereálií – Hygiena a technológia mlynských obilných výrobkov Praktické cvičenie. 1.vyd. Košice : UVLF, 2013. 152 s. ISBN 978-80-8077-344-1.

Baranová, M. Hygiena a technológia cereálií. 1.vyd. Košice : UVLF, 2011. 147 s. ISBN 978-80-8077-243-7.

Dodok, L., Szemes, V. Laboratórne metódy skúšania pre pekársku a cukrársku prax. Pezinok : Gomini, 1998. 77 s.

Horvátová, V., Kubíčková, K., Malovcová, J. Hodnotenie pekárskych vlastností pšeničnej múky. In: Nova Biotechnologica, roč. 3, 2003, č.1, s. 33-45.

Mainitz, R. a kol. *Technológia pekárskej výroby*. 2. vyd, Bratislava: Promp, 2002. 239 s. ISBN: 80-968366-4-1.

Mikolajová, I. Kvalitatívne hodnotenie chleba a vybraných pekárskych výrobkov. Diplomová práca, UVLF Košice, 2016, 80s.

Mis, A. Influence of the storage of wheat flour on the physical properties of gluten. In *Agrophysics*. 2003, vol. 17, p. 71-75. ISSN 0236-87.

Szemes, V., Mainitz, R. *Technológia pekárskej výroby*. 1.vyd. Pezinok: Cech pekárov a cukrárov regiónu západného Slovenska, 1999. 156 s.

Vyhláška Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky č.24/2014 z 23. januára 2014 o pekárskych výrobkoch, cukrárskych výrobkoch a cestovinách.

Wang, L.F., Flores, R.A. The effect of storage on flour quality and baking performance. In *Food Reviews International*. ISSN 8755-9129, 1999. vol. 15, no. 2. p. 215-234.

Poděkování

Práca bola realizovaná za podpory grantu KEGA č.005UVLF-4/2015.

Kontaktná adresa:

doc. RNDr. Mária Baranová, PhD.

UVLF Košice, Ústav hygieny a technológie mlieka, Komenského 73, 041 81 Košice.

E-mail: maria.baranova@uvlf.sk

Faktory ovlivňující obsah mastných kyselin v kozím a ovčím mléce

Factors Influencing Fatty Acid Content in Goat and Sheep Milk

Bartáková, K., Pospíšil, J., Vorlová, L.
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Obsah mastných kyselin (MK) v kozím a ovčím mléce byl stanoven s využitím plynové chromatografie s plamenově ionizační detekcí, kdy po odstředění mléčného tuku byly mastné kyseliny stanoveny jako methylestery. Analyzované vzorky mléka (celkem 109) byly odebírány z kozích a ovčích farem v České republice během sezóny 2014 a 2015. V ovčím mléce jsme zjistili statisticky významně vyšší obsah nasycených (SFA – $596,4 \pm 99,7$ mg/g mléčného tuku), mononenasycených (MUFA – $225,7 \pm 49,4$ mg/g tuku) i polynenasycených (PUFA – $28,9 \pm 7,2$ mg/g tuku) mastných kyselin než v mléce kozím (SFA – $527,9 \pm 104,7$ mg/g tuku; MUFA – $192,5 \pm 45,2$ mg/g tuku; PUFA – $25,3 \pm 7,1$ mg/g tuku). Dále bylo zjištěno, že ovčí i kozí biomléko obsahuje statisticky významně ($P < 0,05$) méně PUFA než mléko odebrané z konvenčních farem, zatímco obsah MUFA je v ovčím biomléce statisticky významně vyšší než v mléce konvenčním. Také jsme zjistili statisticky významný ($P < 0,05$) vliv plemene na obsah PUFA a SFA u ovčího mléka.

Klíčová slova: SFA, MUFA, PUFA, biofarma, konvenční, plemeno

Abstract

The fatty acid content of caprine and ovine milk was determined by gas chromatography with flame ionization detector. After milk fat centrifugation fatty acids were determined as methylesters. The milk samples (total 109) were collected from goatish and sheepish farms in the Czech Republic during season 2014 and 2015. We found out statistically significant higher content of saturated fatty acid (SFA – 596.4 ± 99.7 mg/g milk fat), monounsaturated fatty acid (MUFA – 225.7 ± 49.4 mg/g fat) and polyunsaturated fatty acid (PUFA – 28.9 ± 7.2 mg/g fat) in ovine milk than in caprine milk (SFA – 527.9 ± 104.7 mg/g fat; MUFA – 192.5 ± 45.2 mg/g fat; PUFA – 25.3 ± 7.1 mg/g fat). Ovine and caprine organic milk contains statistically significant ($P < 0.05$) less PUFA than conventional milk, while MUFA content in ovine organic milk is statistically significant higher than in conventional milk. We found out also breed effect on PUFA and SFA content at ovine milk.

Úvod

Chov ovcí a koz, produkce mléka těchto zvířat a jeho zpracování především na sýry má v řadě oblastí světa velmi dlouhou historii. Celosvětová produkce mléka těchto hospodářských zvířat je značná a v posledních letech dochází k výraznému rozšiřování chovů i produkce mléka nejen v rozvojových zemích, ale i v zemích s vyspělým zemědělstvím, kde byl chov ovcí a koz na okraji zájmu. Důvodem zvýšeného zájmu především o kozí mléko a výrobky z něj jsou publikované poznatky o jeho příznivých dietetických i léčebných účincích. Ovčí mléko má vyšší obsah tuku ve srovnání

s mlékem jiných přežvýkavců, což je významné z hlediska výživové hodnoty, ale také významně ovlivňuje fyzikálně-chemické či sensorické vlastnosti mléčných výrobků. Profil mastných kyselin mléčného tuku je ovlivněn mnoha faktory, ať už genetickými (plemeno, genotyp), fyziologickými (věk, stadium laktace, sezóna) nebo environmentálními (krmivo, pastva) a jejich vzájemnými interakcemi. Většina studií je zaměřena na kravské mléko, a to zejména na vliv diety na profil mastných kyselin. Ostatní faktory (např. plemeno nebo stadium laktace) jsou studovány méně (Sinanoglou et al., 2015).

V této práci byl stanoven obsah nasycených (SFA), mononenasycených (MUFA) a polynenasycených (PUFA) mastných kyselin v ovčím a kozím mléce odebraném z českých farem a zjišťovány parametry, které zastoupení mastných kyselin v jednotlivých druzích mléka významně ovlivňují.

Materiál a metodika

V rámci této práce bylo analyzováno celkem 52 vzorků ovčího mléka a 57 vzorků kozího mléka, které byly odebírány z různých farem v České republice v průběhu roku 2014 a 2015. Mezi plemeny ovcí byly zastoupeny zejména Východofříská ovce a Lacaune a jejich kříženci, v menší míře pak Romanovská ovce či Cigája. U koz to byly na většině farem koza bílá krátkosrstá a koza hnědá krátkosrstá a případně jejich kříženci, v menší míře pak koza anglonubijská či koza sánská.

Mastné kyseliny byly v mléčném tuku stanoveny na základě metody popsané v publikaci autorů Feng et al. (2004). Vzorek mléka byl nejprve opakovaně centrifugován za účelem získání mléčného tuku. Mastné kyseliny z mléčného tuku byly zmýdlením pomocí methanolického roztoku KOH a následnou reesterifikací převedeny na methylestery, které byly vyextrahovány do hexanu. Získaný hexanový roztok vzorku byl podroben chromatografické separaci pomocí plynového chromatografu HP 6890 (Agilent, USA) na 100 m dlouhé koloně HP-88 (Agilent, USA) s následnou detekcí plamenově ionizačním detektorem (FID). Nosným plynem bylo helium, celková doba analýzy byla 35 min. Identifikace a kvantifikace mastných kyselin byla provedena na základě srovnání se standardem 37 mastných kyselin FAME Reference Standard (AccuStandard, USA). Konečné množství mastných kyselin ve vzorcích mléka bylo vyjádřeno v jednotkách mg/g mléčného tuku.

Obsah mastných kyselin byl vzájemně porovnáván pomocí statistického programu Unistat (Londýn, UK), a to Mann-Whitneyovým neparametrickým testem.

Výsledky a diskuze

Tabulka 1 ukazuje, že ovčí mléko celkově obsahuje statisticky významně více SFA ($P < 0,001$), MUFA ($P < 0,001$) i PUFA ($P < 0,05$) než mléko kozí. Podobně autoři Devle et al. (2012) uvádí, že ovčí mléko obsahuje více PUFA a MUFA než mléko kozí, zatímco obsah SFA je vyšší u mléka kozího.

Analyzované vzorky ovčího a kozího mléka byly rozděleny do dvou skupin podle typu farmy na vzorky bio a konvenční. Z výsledků uvedených v tabulce 1 vyplývá, že obsah PUFA v ovčím i kozím biomléce je statisticky významně ($P < 0,05$) nižší než v mléce pocházejícím z konvenční ovčí či kozí farmy. Podobně byl zjištěn nižší obsah SFA v ovčím i kozím biomléce než v mléce z konvenčních farem, ovšem tyto rozdíly nejsou statisticky významné. Taktéž zastoupení MUFA v kozím biomléce je nižší než

v konvenčním kozím mléce. Pouze u ovčího mléka byla zjištěna opačná situace, kdy zastoupení MUFA v ovčím biomléce je statisticky významně ($P < 0,05$) vyšší než v mléce z konvenčních farem. Naše výsledky částečně korespondují s výsledky studie autorů Revilla et al. (2009), kteří porovnávali obsah mastných kyselin v bio a konvenčním ovčím mléce. Autoři podobně s našimi výsledky zjistili nižší obsah SFA a vyšší obsah MUFA v ovčím biomléce oproti konvenčním vzorkům. Zastoupení PUFA zjistili tito autoři vyšší v ovčím biomléce. Rozdílný výsledek však může být způsoben nižším počtem identifikovaných PUFA v práci těchto autorů.

Tabulka 1: Obsah nasycených (SFA), mononenasycených (MUFA) a polynenasycených (PUFA) mastných kyselin (průměr \pm SD) v analyzovaných vzorcích ovčího a kozího mléka rozdělený dle typu farmy

Druh mléka	Typ farmy	SFA	MUFA (mg/g mléčného tuku)	PUFA
ovčí	celkem	596,4 \pm 99,7 ^A	225,7 \pm 49,4 ^A	28,9 \pm 7,2 ^a
	bio	590,3 \pm 118,2	237,9 \pm 55,5 ^a	27,7 \pm 8,0 ^{abcd}
	konvenční	607,1 \pm 55,8	204,6 \pm 26,1 ^b	30,8 \pm 4,9 ^{abcd}
kozí	celkem	527,9 \pm 104,7 ^B	192,5 \pm 45,2 ^B	25,3 \pm 7,1 ^b
	bio	513,2 \pm 105,4	190,4 \pm 41,6	23,5 \pm 6,8 ^{cab}
	konvenční	550,5 \pm 101,6	195,7 \pm 51,1	28,7 \pm 6,7 ^{dab}

^{aA...} Průměrné hodnoty v rámci sloupce u konkrétního druhu mléka mající rozdílné horní indexy se statisticky významně liší na hladině významnosti: malá písmena $P < 0,05$; velká písmena $P < 0,001$

Tabulka 2: Obsah nasycených (SFA), mononenasycených (MUFA) a polynenasycených (PUFA) mastných kyselin (průměr \pm SD) v analyzovaných vzorcích ovčího a kozího mléka rozdělený dle plemene

Druh mléka	Plemeno	SFA	MUFA (mg/g mléčného tuku)	PUFA
ovčí	VF	659,0 \pm 157,2 ^a	247,3 \pm 99,9	37,3 \pm 8,9 ^{Aa}
	Lacaune	633,1 \pm 61,7 ^A	212,4 \pm 18,5	30,4 \pm 3,2 ^{bAC}
	VF + Lac.	548,6 \pm 67,5 ^{bB}	226,8 \pm 30,6	24,3 \pm 4,0 ^{BC}
	Cigája	585,8 \pm 51,8	219,8 \pm 15,0	28,8 \pm 5,5 ^b
	R	574,5 \pm 107,4	229,0 \pm 33,0	23,8 \pm 5,3 ^B
kozí	BK	532,8 \pm 78,1	184,1 \pm 38,6	24,8 \pm 7,5
	HK + BK	511,0 \pm 121,2	187,2 \pm 46,4	23,8 \pm 6,9
	Anglonubijská	530,5 \pm 87,4	197,7 \pm 36,7	24,9 \pm 6,7
	Sánská	581,4 \pm 161,0	234,5 \pm 73,3	30,8 \pm 9,8

VF = Východofríská ovce; R = Romanovská ovce

BK = Koza bílá krátkosrstá; HK = Koza hnědá krátkosrstá

^{aA...} Průměrné hodnoty v rámci sloupce u konkrétního druhu mléka mající rozdílné horní indexy se statisticky významně liší na hladině významnosti: malá písmena $P < 0,05$; velká písmena $P < 0,01$

V tabulce 2 je obsah SFA, MUFA i PUFA rozdělen dle plemene ovcí a koz. Z výsledků je zřejmé, že statisticky významné rozdíly ($P < 0,05$) byly zjištěny pouze u ovčího mléka, a to konkrétně v zastoupení PUFA a SFA. U kozího mléka nebyly zjištěny žádné statisticky významné rozdíly v zastoupení SFA, MUFA a PUFA u jednotlivých plemen. Podobně autoři Mayer a Fiechter (2012) nenašli statisticky významné rozdíly v obsahu mastných kyselin u šesti různých plemen koz.

V předchozí práci (Bartáková et al., 2016) byla zjištěna také závislost obsahu mastných kyselin na stadiu laktace. U ovčího mléka byl zjištěn zvýšený obsah mastných kyselin v letních měsících (červen, červenec) a postupně došlo k poklesu (v září). U kozího mléka naopak došlo v září k nárůstu obsahu mastných kyselin.

Závěr

Naše výsledky ukázaly, že ovčí mléko z českých farem obsahuje statisticky významně více SFA, MUFA i PUFA než mléko kozí. Zjistili jsme, že ovčí i kozí biomléko obsahuje statisticky významně méně PUFA než mléko odebrané z konvenčních farem, zatímco obsah MUFA je v ovčím biomléce statisticky významně vyšší než v mléce konvenčním. Dále jsme zjistili statisticky významný vliv plemene na obsah PUFA a SFA u ovčího mléka.

Literatura

Bartáková, K., Pospíšil, J., Vorlová, L. Obsah mastných kyselin v kozím a ovčím mléce v průběhu laktace. In *Sborník XLII. konference o jakosti potravin a potravinových surovin – Ingrový Dny 2016*, Brno: Mendelova Univerzita v Brně, 2016, p. 76-81, ISBN 978-80-7509-405-6.

Devle, H., Vetti, I., Naess-Andersen, C.F., Rukke, E.O., Vegarud G., Ekeberg, D. A comparative study of fatty acid profiles in ruminant and non-ruminant milk. *European journal of lipid science and technology*, 2012, vol. 114, p. 1036-1043.

Feng, S., Lock, A.L., Garnsworthy, P.C. A rapid lipid separation method for determining fatty acid composition of milk. *Journal of Dairy Science*, 2004, vol. 87, p. 3785-3788.

Mayer, H.K., Fiechter, G. Physicochemical characteristics of goat's milk in Austria – seasonal variations and differences between six breeds. *Dairy Science & Technology*, 2012, vol. 92, p. 167-177.

Revilla, I., Luruena-Martínez, M.A., Blanco-Lopez, M.A., Vinuela-Serrano, J., Vivar-Quintana, A.M., Palacios, C. Changes in Ewe's Milk Composition in Organic versus Conventional Dairy Farms. *Czech Journal of Food Sciences*, 2009, vol. 27, p. S263-S266.

Sinanoglou, V.J., Koutsouli, P., Fotakis, Ch., Sotiropoulou, G., Cavouras, D., Bizelis, I. Assessment of lactation stage and breed effect on sheep milk fatty acid profile and lipid quality indices. *Dairy Science & Technology*, 2015, vol. 95, p. 509-531.

Poděkování

Práce byla financována z prostředků projektu NAZV KUS QJ1230044.

Kontaktní adresa:

Ing. Klára Bartáková, Ph.D. VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie mléka, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno.

E-mail: bartakovak@vfu.cz

Zhodnotenie texturálnych vlastností bryndze *Evaluation of the textural properties of Bryndza cheese*

Belej, L., Golian, J., Šnirc, M., Čurlej, J.
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Súhrn

Naša práca je zameraná na sledovanie dvoch texturálnych vlastností: tvrdosti a lepivosti, pomocou textúrometra TA.XT Plus, u jednotlivých vzoriek a skúmaním rozdielov v tvrdosti a lepivosti medzi bryndzami zakúpenými v obchodnej sieti a bryndzami získanými zo salašnickej výroby. Získané výsledky sú štatisticky spracované a vzájomne zhodnotené. Medzi jednotlivými vzorkami boli preukázané rozdiely v tvrdosti. Výrazne vyššia tvrdosť bola pri vzorkách, ktoré obsahovali 100 % ovčieho hrudkového syra. Namerané priemerné hodnoty tvrdosti bryndze boli v rozmedzí od 0,40 do 1,09 kg. Rozdiely v lepivosti medzi jednotlivými vzorkami boli menšie ako v prípade tvrdosti. Priemerná lepivosť vzoriek bola od 0,06 do 0,17 kg.

Kľúčové slová: *bryndza, textúra, tvrdosť, lepivosť*

Abstract

Our work is focused on monitoring of two textural properties: hardness and adhesiveness with texturometer TA.XT Plus, in individual samples and examining differences in hardness and adhesiveness between bryndza cheese purchased in trade network and bryndza cheese obtained from the sheep farm and home production. The acquired results are statistically processed and evaluated to each other. Between individual samples were demonstrated differences in hardness. Hardness was significantly higher in samples containing 100 % lump sheep cheese. Measured values of hardness in bryndza cheese were in the range from 0.40 to 1.09 kg. The differences in the adhesiveness between the various samples were smaller than those of the hardness. The average adhesiveness in samples was 0.06 to 0.17 kg.

Úvod

Bryndza, ako tradičná syrárska špecialita je mikrobiálny fenomén, ktorý zachováva všetky pôvodné zložky ovčieho mlieka. Proces kysnutia a zrenia na salaši, alebo aj v syrárni spôsobí, že sa v nej doslova premnožia baktérie mliečného kysnutia, tzv. probiotiká, ktorých blahodarné účinky na ľudský organizmus čoraz častejšie odporúčajú vedci i lekári (Keresteš, 2009).

Slovenská ovčia bryndza je prírodný biely, jemne roztierateľný zrejúci syr s krupičkami, ktorý sa vyrába tradičným spôsobom, a to mletím vyzretého ovčieho hrudkového syra alebo zmesi ovčieho a kravského hrudkového syra (Burdová, 2001).

Hlavnou surovinou na výrobu bryndze je surové alebo pasterizované ovčie mlieko. Pokiaľ sa na výrobu používa pasterizované mlieko, je potrebná inokulácia mlieka tým, že sa pridáva zákvas. Mikroorganizmy sú izolované z kvalitného sudovaného ovčieho syra, z pôvodného nepasterizovaného ovčieho mlieka alebo ich zmesí. Je treba, aby sa plnohodnotne nahradila prirodzená mikroflóra. Bryndza, ktorá je vyrobená

z pasterizovaného mlieka má lepšiu chuť ako bryndza z nepasterizovaného mlieka. Je to spôsobené tým, že štartovacie kultúry obsahujú len niektoré kmene obsiahnuté v prirodzenej mikroflóre surového mlieka (Matulová, 2008).

Potraviny, ktoré sú ponúkané v súčasnosti, musia spĺňať celý rad požiadaviek na to, aby boli akceptované spotrebiteľom. Okrem charakteristickej chuti, vône a farby, musí byť potravina nositeľom adekvátnych texturálnych parametrov. Z tohto hľadiska je textúra významným atribútom pre stanovenie kvality potravín (Čurlej et al., 2013). Na posúdenie kvality, či hodnoty výrobku existuje viacero metód. Medzi najbežnejšie metódy, ktoré sú aplikované v praxi radíme senzorické posudzovanie, teda hodnotenie vlastností výrobkov pomocou zmyslových orgánov hodnotiteľov. Pomerne novým trendom, ktorý sa v súčasnosti čoraz viac stáva akýmsi štandardom, dopĺňujúcim spomínané senzorické testy, je využitie inštrumentálnych analýz. Ich najväčšou prednosťou je predovšetkým opakovateľnosť a presnosť pri hodnotení. Zariadenia, ktoré sú určené na analýzu textúry, takzvané textúrometre, umožňujú vzorku, ktorá sa posudzuje stlačiť, pritiahnuť, prepichnúť, rozpučiť, pretočiť a rozdrviť spôsobom imitujúcim podmienky reálneho správania sa spotrebiteľa pri manipulácii, príprave či konzumácii výrobku. (Nollet a Toldra, 2008).

Tieto metódy poskytujú dobre opakovateľné a ľahko reprodukovateľné výsledky. Prevedenie je jednoduchšie a často automatizované. Celková analýza je tiež málo časovo náročná a výsledky je možné spracovať štatistickými parametrickými metódami. Výhodou je aj cena analýzy, ktorá je pomerne nízka (Kinclová et al., 2004).

Materiál a metodika

Rozdelenie vzoriek

Za účelom sledovania texturálnych vlastností, bolo vybraných a použitých desať druhov ovčej bryndze. Z toho päť druhov boli bryndze zakúpené v obchodných sieťach a päť druhov predstavovali bryndze vyrobené na salaši, všetko pôvodom zo Slovenskej republiky.

Vzorky zakúpené v obchodných sieťach:

Vzorka č. 1:

Popis výrobku: Syr vyrobený zo zmesi skladovaného ovčieho syra a kravského hrudkového syra, ručne balený. Tuk v sušine min. 48 % hmot., sušina min. 44 % hmot., soľ max. 3 % hmot., hmotnosť 250 g.

Zloženie: Skladovaný ovčí hrudkový syr vyrobený z nepasterizovaného mlieka min. 50 %

hmot., kravský hrudkový syr vyrobený z pasterizovaného mlieka, voda, jedlá soľ.

Vzorka č. 2:

Popis výrobku: Plnotučná bryndza. Tuk v sušine min. 48 % hmot., sušina min. 44 % hmot., soľ max. 2,5 % hmot., hmotnosť 125 g.

Zloženie výrobku: Skladovaný ovčí syr min. 50 %, kravský hrudkový syr, voda, jedlá soľ.

Vzorka č. 3:

Popis výrobku: Plnotučná bryndza. Tuk v sušine min. 48 % hmot., sušina min. 44 % hmot., hmotnosť 125 g.

Zloženie: Skladovaný ovčí syr min. 50 %, kravský hrudkový syr, voda, soľ.

Vzorka č. 4:

Popis výrobku: Slovenská bryndza chránená. Tuk v sušine min. 48 % hmot., sušina min. 44 % hmot., obsah soli max. 2,5 % hmot., hmotnosť 125 g.

Zloženie: Skladovaný ovčí syr vyrobený zo surového mlieka min. 50 %, kravský hrudkový syr vyrobený z pasterizovaného mlieka, soľ.

Vzorka č. 5:

Popis výrobku: Plnotučný čerstvý syr. Tuk v sušine min. 48 % hmot., sušina min. 44 % hmot., soľ max. 3 % hmot., hmotnosť 125 g.

Zloženie: Skladovaný ovčí hrudkový syr vyrobený z nepasterizovaného mlieka min. 50 %, kravský hrudkový syr, voda, soľ.

Vzorky zo salašov:

Vzorka č. 6:

Popis výrobku: Plnotučná bryndza. Tuk v sušine min. 48 % hmot., sušina min. 44 % hmot., soľ max. 3 % hmot., hmotnosť: 250 g.

Zloženie: Skladovaný ovčí syr min. 50 %, kravský hrudkový syr, voda, soľ.

Vzorka č. 7:

Popis výrobku: Domáca bryndza.

Zloženie: Ovčí hrudkový syr 100 %, voda, soľ.

Vzorka č. 8:

Popis výrobku: Bryndza.

Zloženie: Ovčí hrudkový syr vyrobený z nepasterizovaného mlieka min. 50 %, kravský hrudkový syr, voda, soľ.

Vzorka č. 9:

Popis výrobku: Zimná bryndza. Tuk v sušine min. 38 % hmot., sušina min. 44 % hmot., soľ max. 3 % hmot.

Zloženie: Skladovaný ovčí syr vyrobený z nepasterizovaného ovčieho mlieka min. 50 %,

kravský hrudkový syr, voda, soľ.

Vzorka č. 10:

Popis výrobku: Ovčia bryndza. Tuk v sušine min. 43 % hmot.

Zloženie: Ovčí hrudkový syr vyrobený z nepasterizovaného ovčieho mlieka 100 %, voda, soľ.

Prístrojové vybavenie

Meranie textúry bryndze sme uskutočnili pomocou prístroja Texturometer TA.XT Plus. Prístroj nám slúži na meranie textúry a na kvantifikovanie fyzikálnych vlastností výrobku alebo skúšaného materiálu prostredníctvom tlakovej skúšky. Prístroj zaznamenáva silu, dráhu a čas za súčasnej deformácie materiálu v ťahu alebo tlaku.

TA. XT Plus používa rad rôznych sond a prípravkov podľa požadovanej skúšobnej metódy (Zeľňáková et al., 2012).

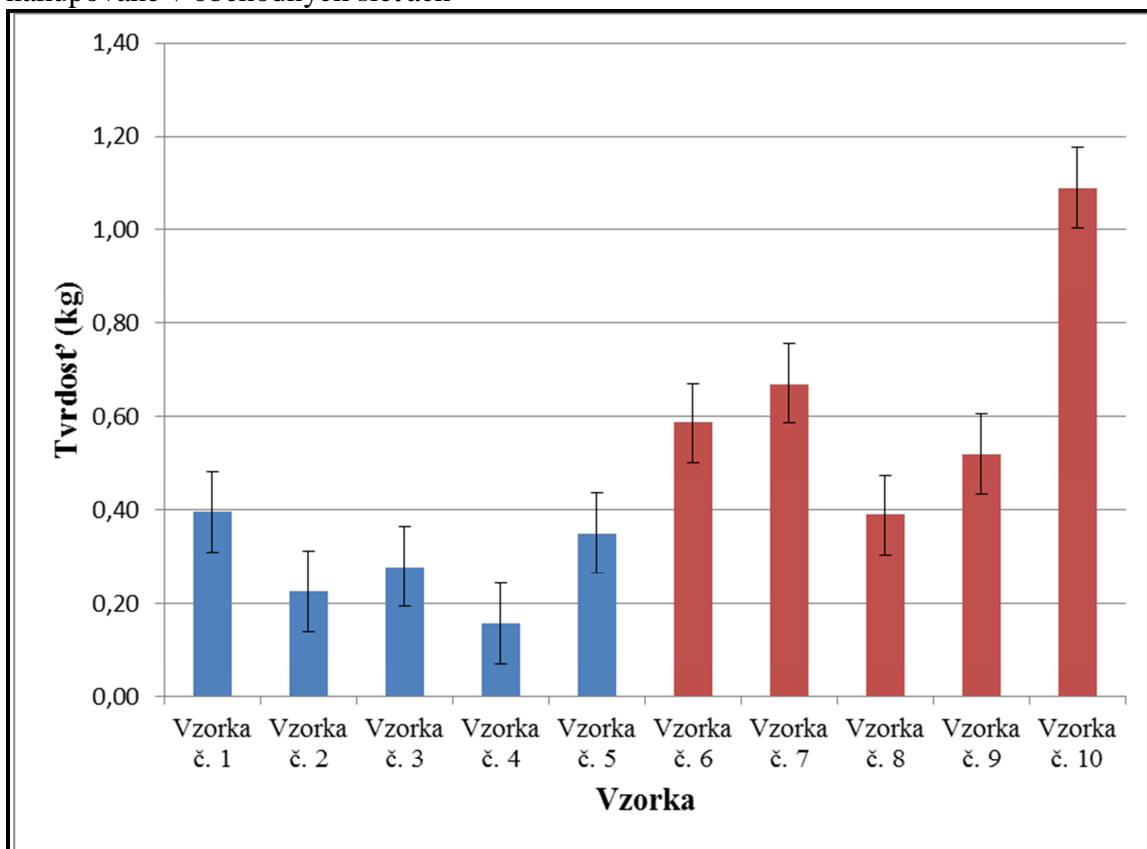
Priebeh analýz

Pred samotným meraním sme vzorky vtláčili do skúmavky o priemere 4 cm tak, aby nevznikali vzduchové bubliny. Po naplnení sme označené skúmavky so vzorkami dali na 30 min. do chladničky s teplotou do 8 °C. Po schladení sme ich nakrájali na kolieska

s priemerom 4 cm a výškou cca 1cm. Nakrájanú vzorku sme uložili do centrálnej polohy podstavca textúrometra. Meranie všetkých vzoriek prebehlo pri teplote prostredia. Na meranie textúry bryndze sme použili sférickú sondu. Meranie jednej vzorky sme opakovali 5 krát. Textúrometer TA.XT Plus a jeho testovací program sme nastavili podľa nasledujúcich údajov. Nastavené parametre textúrometra TA.XT Plus: - Mód: meranie sily kompresie - Kapacita tenzometra: 5 kg - Rýchlosť pohybu ramena pred testom: 1,00 mm.s⁻¹ - Prienik sondy do vzorky: 2,00 mm.s⁻¹ - Rýchlosť pohybu sondy po ukončení merania: 10,00 mm.s⁻¹ - Hĺbka preniknutia sondy do výrobku: 5 mm.

Výsledky a diskusia

Na grafe č.1 sa nachádzajú priemerné hodnoty stanovených tvrdostí všetkých meraných vzoriek aj s chybovými úsečkami. Chybové úsečky znázorňujú smerodajnú odchýlku jednotlivých vzoriek. Modrou farbou sú uvádzané vzorky z obchodných sietí a červenou farbou vzorky zo salašov. Z grafu je možno vidieť, že niektoré bryndze vyrábané na salašoch a v domácich podmienkach majú tvrdosť podstatne vyššiu ako bryndze nakupované v obchodných sieťach



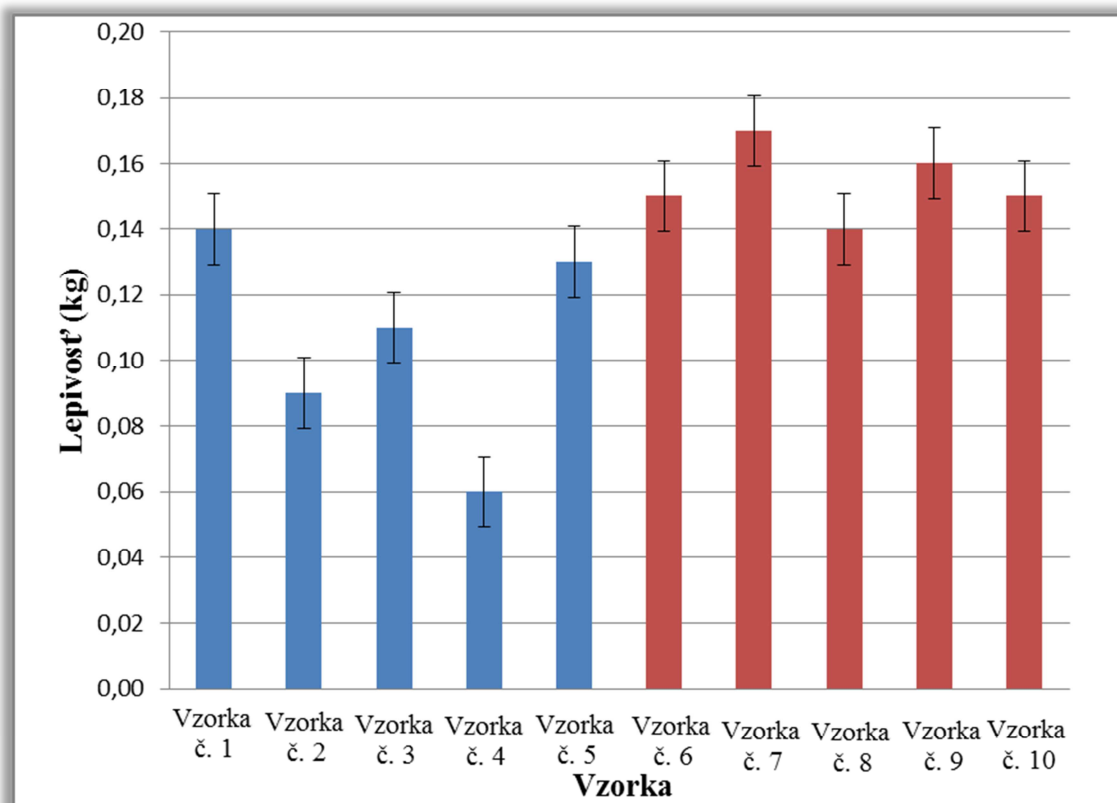
Graf 1: Porovnanie priemerných hodnôt stanovených tvrdostí vzoriek bryndze s obchodných sietí so vzorkami bryndze zo salašov

Tvrdosť môže ovplyvňovať predovšetkým obsah tuku v sušine. Vzorky s vyšším obsahom tuku majú vyššiu tvrdosť, a naopak vzorky s nižším obsahom tuku majú

tvrdosť nižšiu. Vzorka č. 7 a vzorka č. 10, ktoré mali najvyššiu tvrdosť obsahovali 100 % ovčieho hrudkového syra.

Môžeme konštatovať, že tvrdosť bryndze závisí najmä od technológie výroby a od samotného zloženia, najmä od obsahu tuku. Čurlej et al. (2015) pri sledovaní tvrdosti vzoriek bryndze zaznamenali najnižšiu priemernú hodnotu 0,25 kg a najvyššia tvrdosť vzorky bola 1,55 kg. Priemerné hodnoty našich nameraných tvrdostí sa pohybovali v rozpätí od 0,40 kg do 1,09 kg. Najvyššia priemerná hodnota bola nameraná pri vzorkách, ktoré boli vyrobené na salaši a obsahovali 100 % ovčieho hrudkového syra.

Na grafe č. 2 sa nachádzajú priemerné hodnoty stanovenej lepivosti všetkých meraných vzoriek aj s chybovými úsečkami. Modrou farbou sú opäť znázornené vzorky bryndze z obchodných sietí, červenou bryndze zo salašov. Hodnoty lepivosti jednotlivých vzoriek sa pohybujú v rozpätí od 0,06 kg do 0,17 kg. Najnižšia lepivosť 0,06 kg bola pri vzorke č. 4 a najvyššia 0,17 kg pri vzorke č. 7. Možno vidieť, že hodnoty lepivosti medzi jednotlivými vzorkami nie sú až tak rozdielne. O výrazne nižšej lepivosti sa dá hovoriť pri vzorke č. 4.



Graf 2: Porovnanie priemerných hodnôt stanovenej lepivosti vzoriek bryndze s obchodných sietí so vzorkami bryndze zo salašov

Záver

Sledovanie texturálnych vlastností potravín použitím inštrumentálnych metód sa stáva významným prvkom hodnotenia kvality potravín. Pri vyhodnotení tvrdosti analyzovaných vzoriek bryndz sme zistili značné rozdiely medzi jednotlivými vzorkami. Boli preukázané aj rozdiely medzi vzorkami z bryndze kupovanej v obchodnej sieti a bryndze zo salaša. Salašníci vykazovali vyššiu tvrdosť pričom najväčšia tvrdosť bola zaznamenaná práve pri výrobkoch vyrobených zo 100 % ovčieho hrudkového syra. Pri meraní lepivosti už rozdiely medzi jednotlivými vzorkami neboli až tak veľké ako pri tvrdosti. V priemere však vyššia lepivosť vyšla u bryndze zo salašov.

Literatúra

- Burdová, O. 2001. Hygiena a technológia mlieka a mliečnych výrobkov. 1.vyd. Košice: Vienala. 342 s. ISBN 80-88985-58-7.
- Čurlej, J. *et al.* 2013. Comparision of textural atributes of selected meat sausages using Instrumental analysis. In *Potravinárstvo*, roč. 5, č. 1, s. 67-70, ISSN 1337-0960.
- Čurlej, J. *et al.* 2015. Texture properties of Slovak Bryndza measures by instrumental analysis. In *Asian Journal Of Dairy and Food Research*. roč. 34, č. 4, s. 290- 293. ISSN 097- 0563.
- Kinclová, V.- Jarošová, A.- Tremlová, B. 2004. Senzorická analýza potravín. In *Zpravodaj časopisu veterinárství*. [online], roč. 1, č. 54, s. 362- 364, Dostupné na: <http://vetweb.cz/senzoricka-analyza-potravin/>.
- Matulová, M. 2008. Slovenská bryndza- druhá v poradí, nie však vo význame. In *Trendy v potravinárstve*. roč. 15, č.2, s. 12. ISSN 1336-085X.
- Nollet, L. M. L.- Toldra, F. 2008. Handbook of Muscle Foods Analysis. 1. vyd. Boca Ranton: Crc Press, 984 s. ISBN 1420045296.
- Zeleňáková, L. *et al.* 2012. Comparison of the quality of vegetable oils designes for the frying food. In *Potravinárstvo*. roč. 6, č. 4, s. 45-51. ISSN 1337-0960.

Kontaktná adresa:

Ing. Ľubomír Belej, PhD.

Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. Andreja Hlinku 2, 949 01 Nitra.

E-mail: xbelej@uniag.sk

Mikrobiologická kvalita vybraných pekárenských výrobkov a hygiena prostredia pri ich výrobe
Microbiological quality of selected bakery products and enviromental hygiene in the manufacture

Bobková, A., Golian, J., Belej, L., Bobko, M., Šnirc, M.
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Súhrn

V práci sme sa zamerali na hodnotenie mikrobiologických ukazovateľov vybraných druhov pekárenských výrobkov zaradených do dvoch skupín. Prvú skupinu tvorilo *jemné pečivo* a druhú skupinu *chlieb*. Sledovali sa ukazovatele, ako počet koliformných baktérií (PKB), vláknitých mikroskopických húb (VMH) a celkový počet mikroorganizmov (CPM). V danej súvislosti nás zaujímala aj mikrobiologická čistota prostredia danej prevádzky a preto sme v rámci vybraných odberových miest sledovali PKB a VMH. Rovnako sme svoju pozornosť zamerali aj na zamestnancov danej prevádzky a odoberali sme stery z rúk a pracovného odevu, pričom sme stanovovali PKB a baktérie *Staphylococcus aureus*.

Kľúčové slová: *pekárenské výrobky, mikrobiologické požiadavky, hygiena výroby a osôb*

Abstract

The purpose of this work was to evaluation of microbiological elements present in selected bakery products which were divided into two group categories (soft pastry and breads). Also part of this evaluation is cleanliness of all machinery, tools and containers that were used during preparation, actual making and expediting of final products. Personal hygiene of all employees was also closely monitored. We were monitoring presence of coliform bacteria, microscopic filamentou fungi and total number of microorganisms and staphylococcus. PKB shown in all samples of soft pastry was 10 KTJ.g⁻¹. Increased amount of KB was noticed when samples were taken from wooden table located close to divider – amount was 160 KTJ.ml⁻¹ sample. Also on metal table next to the mixer we have found the amount 200 KTJ.ml⁻¹ sample which means that microbiological requirements were not met. Fulfilled requirements are also found in coefficient – CPM, even though we have noticed slight increase in samples of corn bread (freshly baked) in July and Spiš potato bread (sliced and wrapped). Presence of VMH met requirement in samples of soft pastry. In May, July and August we took samples from bread basket (used for making a bread) and discovered amount of VMH was 150 KTJ.ml⁻¹ sample. This means that once again microbiological and hygiene requirements were not met. On the other hand samples taken from employees hand and their clothing came back within required norms.

Úvod

Výrobcovia sú povinní zabezpečiť výrobu kvalitnej a zdravotne neškodnej potraviny, bez rizika ohrozenia zdravia spotrebiteľa po jej následnej konzumácii (Kľučka, 1999). Každý pekársky podnik môže vyrábať rôzne druhy pekárskych výrobkov podľa svojich receptúr, pokiaľ je prihlásený a schválený Slovenskou poľnohospodárskou a potravinárskou inšpekciou (Krkošková, 2002). Suroviny na výrobu pekárskych výrobkov musia byť bezpečné, požívateľné, v požadovanej kvalite, čerstvosti a zrelosti, zbavené nečistôt a ak je to nevyhnutné, zbavené aj nejedlých častí a poškodených kusov (Výnos MP a MZ SR č. 2745/2002 – 100). Pekárske výrobky patria najčastejšie konzumovaným potravinám, ktoré sa vyrábajú z mlynských produktov (pšeničných, ražných a celozrnných múk) s prídavkom vody, droždia a ďalších surovín, prísad a prídavných látok. Medzi pekárske výrobky zaradíme chlieb, bežné pečivo, jemné pečivo a pekárske trvanlivé pečivo (Muchová et al. 2007). Podľa Výnosu MP a MZ SR č. 2657/2004 – 100 je chlieb charakterizovaný ako pekársky výrobok, vyrábaný len biologickým kyprením z múky, vody, droždia a ďalších prísad v tvare veku alebo bochníka s hmotnosťou viac ako 400 g. Podľa množstva a druhu použitej múky a ostatných zložiek sa člení na chlieb pšeničný, ražný, pšenično – ražný alebo ražno – pšeničný, alebo iné, napr. celozrnný, viaczrnný, špeciálny. Výnos MP a MZ SR č. 2657/2004 – 100 charakterizuje jemné pečivo a následne ho člení na jemné pečivo z kysnutého cesta (vianočka, závin, bábovka, brioška, koláče s náplňou), jemné pečivo z lístkového cesta (nekysnutého alebo kysnutého – croissant) a jemné pečivo z chemicky kypreného cesta. Guy Not (2006) uvádza, že najzávažnejším problémom, ktorý obmedzuje trvanlivosť pekárskych výrobkov je plesňová kontaminácia. MVH môžu byť súčasťou mikroflóry vzduchu pekárne odkiaľ sekundárne kontaminujú chlieb tak, že cez trhliny v kôrke sa dostávajú bližšie k striedke, kde sa vo vlhšom prostredí rýchlo rozmnožujú. Po vypečení nastáva kontaminácia spórmi nielen zo vzduchu, ale aj z povrchu náradí a zariadení. Aby sa predišlo sekundárnej kontaminácii pekárskych výrobkov plesňami, treba udržiavať výrobné a skladovacie priestory pekárne v dostatočnej čistote. Podľa Smith et al. (2004) pekárske výrobky najčastejšie znehodnocujú zástupcovia rodov *Rhizopus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*. Najkratší interval, za ktorý je mikroskopická huba schopná na pekárskom výrobku viditeľne vyrásť, sú 2 až 3 dni. Chlieb kontaminovaný vláknitými mikroskopickými hubami produkuje mykotoxíny. Hlavní producenti mykotoxínov vyskytujúci sa u chleba sú *Aspergillus flavus* (aflatoxíny), *Aspergillus ochraceus* (ochratoxín A), *Penicillium expansum* (patulín) a *Aspergillus versicolor* (sterigmatocystín). Görner a Valík (2004) ďalej uvádzajú, že pekárske výrobky znehodnocujú aj baktérie rodu *Bacillus*, ktorých spóry môžu prežiť proces pečenia. *Bacillus subtilis* produkuje do striedky pekárskych výrobkov sliz polypeptidovej povahy. Medzi kvasinky, ktoré sa vyskytujú na povrchu pečiva a prejavujú sa ako malé biele škvrny patria *Zygosaccharomyces bailii*, *Saccharomycopsis fibuligera*, *Pichia burtonii* a *Pichia anomala*. Tančinová et al., (2008) uvádza, že v múke prevláda baktéria druhu *Erwinia herbicola*. V produktoch s vysokou koncentráciou cukru sa vyskytujú kvasinky, ktoré produkujú pachy napr. *Pichia burtonii* môže produkovať styrén a *Pichia anomala* produkuje etyl acetát v prítomnosti vysokej koncentrácie glukózy alebo etanolu (Legras et al., 2007).

Materiál a metodika

Mikrobiologické ukazovatele sme hodnotili počas piatich mesiacov v rámci dvoch vybraných skupín pekárskych výrobkov, a to jemné pečivo (25 vzoriek) a chlieb (15 vzoriek). Vzorky pochádzali z mlynsko – pekárenského podniku na území východného Slovenska. Taktiež sme sa zamerali na hodnotenie dodržiavania hygienických požiadaviek kladených na prostredie, odoberali sme stery z rúk pracovníkov, z ich pracovného odevu, z pracovných strojov, z baličky chleba (pred nožmi, nože a za nožmi), zo 4 pracovných stolov (drevený stôl pri vygulovači, drevený stôl pri deličke, plechový stôl pri okne, plechový stôl pri miesičke), z prepravy a z ošatky. V rámci hodnotenia mikrobiologických ukazovateľov sme sa zamerali na stanovenie mikroskopických vláknitých húb (STN ISO 7954), stanovenie počtu koliformných baktérií (STN ISO 4832), stanovenie celkového počtu mikroorganizmov (STN ISO 4833) a stanovenie baktérie *Staphylococcus aureus* (STN EN ISO 6888 – 1).

Tabuľka 1: Mikrobiologické požiadavky na chlieb (Beňová, 2011)

Rôzne druhy chleba	
CPM	maximálne 200 KTJ.g ⁻¹ výrobku

Tabuľka 2: Mikrobiologické požiadavky na jemné pečivo (Výnos MP a MZ SR č. 06267/2006)

Kritéria hygieny procesu výroby Pekárenských výrobkov				
Jemné pečivo bez náplne a s prepečenou náplňou (vianočky, bábovky, tlačené koláče, štrúdl'a, croissant)				
	n	c	m	M
Koliformné baktérie	5	2	0 _b	10 ²
Plesne	5	2	10 ²	10 ³
Jemné pečivo s neprepečenou náplňou určené na priamu ľudskú spotrebu napr. croissanty plnené až po upečení nastrekovaním náplne				
	n	c	m	M
Koliformné baktérie	5	2	10 ²	10 ³
Plesne	5	2	10 ²	10 ³
Koagulázopozitívne stafylokoky	5	2	10 ²	10 ³

„n“ – počet vzoriek určených na mikrobiologické vyšetrenie,

„m“ – množstvo mikroorganizmov, ktoré sa pripúšťa v rozsahu výberu (n) v ustanovenom množstve vzorky,

„M“ – medzná hodnota počtu mikroorganizmov v ustanovenom množstve vzorky, ktorý sa ešte pripúšťa, ale len v počte vzoriek, ktorý je menší ako c alebo sa rovná c,

„c“ – počet vzoriek v rozsahu výberu n, v ktorých sa pripúšťa najviac medzná hodnota M, pričom platí, že vo vzorkách v počte „n“ mínus „c“ môže byť najviac hodnota „m“,

„0_b“ – znamená, že mikroorganizmy nesmú byť preukázateľné pri zaliatí alebo v roztere 1,0 ml riedenej vzorky riedenia 10⁻¹.

Tabuľka 3: Mikrobiologické požiadavky na prepravky (Výnos MP a MZ SR č. 06267/2006)

Kritéria procesu výroby Obaly a obalové materiály				
Prepravky kovové alebo z plastov prichádzajúce do priameho styku s nebalenými potravinami (na 100 cm ²)				
	n	c	m	M
Koliformné baktérie	5	1	0	10
Vláknité mikroskopické huby	5	2	0	20

Ošatka na chlebové cesto

Po čistení ošatiek, formou sterov sa stanovovali mikrobiologické ukazovatele – počet koliformné baktérie 15 – 150 KTJ.1 ml⁻¹ vzorky podľa STN ISO 4832 a vláknitých mikroskopických húb s počtom 10 – 150 KTJ.1 ml⁻¹ vzorky podľa STN ISO 7954.

Balička chleba

Po čistení baličiek, formou sterov sa stanovovali mikrobiologické ukazovatele – počet koliformné baktérie 15 – 150 KTJ.1 ml⁻¹ vzorky podľa STN ISO 4832 a vláknitých mikroskopických húb s počtom 10 – 150 KTJ.1 ml⁻¹ vzorky podľa STN ISO 7954.

Pracovné stoly

Po očistení pracovných stolov, formou sterov sa stanovovali mikrobiologické ukazovatele – počet koliformné baktérie 15 – 150 KTJ.1 ml⁻¹ vzorky podľa STN ISO 4832 a vláknitých mikroskopických húb s počtom 10 – 150 KTJ.1 ml⁻¹ vzorky podľa STN ISO 7954.

V rámci kontroly osobnej hygieny pracovníkov výroby sa odoberali jedenkrát za mesiac stery z rúk a pracovného odevu pracovníka a stanovovali sme počet koliformných baktérií a počet *Staphylococcus aureus*.

Výsledky

Analyzované vzorky jemného pečiva v mikrobiologických ukazovateľoch počas sledovaného obdobia spĺňali všetky kritéria stanovené legislatívou a ani v jednej vzorke nebol PKB a VMH vyšší ako 10 KTJ.g⁻¹. Vybrané druhy chlebov sme hodnotili na základe požiadavky na stanovenie celkového počtu mikroorganizmov, ktorý je maximálne 200 KTJ.g⁻¹ výrobku. Najvyššie hodnoty CPM v jednotlivých vzorkách chleba sme zaznamenali vo vzorke zemiakového chleba (16.10¹ KTJ.g⁻¹), kukuričného chleba (12.10¹ KTJ.g⁻¹) a chleba Čingov (8.10¹ KTJ.g⁻¹), ale napriek tomu je možné konštatovať, že všetky vzorky vyhovovali požiadavkám STN ISO 4833. Vzorky sterov z jednotlivých pracovných stolov, strojov, pomôcok a prepraviek za dané obdobie spĺňali limity na počet koliformných baktérií, ktorý je menej ako 10 KTJ.ml⁻¹, čo teda vyhovovalo požiadavkám STN ISO 4832. Opakovane problematický bol ster odobratý z ošátky na chlieb, ktorý vykazoval počas sledovaného obdobia počet VMH od 12.10¹ KTJ.ml⁻¹ až po 35.10¹ KTJ.ml⁻¹, čo nevyhovuje požiadavkám STN ISO 7954. Zvýšený počet koliformných baktérií bol aj pri vzorke odobratej z dreveného stola pri vyguľovači (12.10¹ KTJ.ml⁻¹) a z dreveného stola pri deličke (16.10¹ KTJ.ml⁻¹), čo taktiež nespĺňa požiadavky STN ISO 4832. Podobná situácia bola aj pri analýze vzoriek sterov z plechového stola pri miešačke (20.10¹ KTJ.ml⁻¹). Pri všetkých

analyzovaných vzorkách sterov, ktoré sme odoberali z rúk a pracovného odevu pracovníkov výroby, sme nezaznamenali výskyt koliformných baktérií ani stafylokokov, čím boli splnené aj definované limity (menej ako 10 KTJ.ml⁻¹).

Záver

Kvalita pekárenských výrobkov je ovplyvnená viacerými faktormi. Je preto potrebné dodržiavať opatrenia, ktorými je možné zabrániť kontaminácií pekárenských výrobkov mikroorganizmami, ktoré môžu byť súčasťou či už pracovných stolov, strojov, pomôcok, prepraviiek. Pekárenské výrobky môže kontaminovať aj zamestnanec, a to nedodržiavaním zásad osobnej hygieny. Na základe nami dosiahnutých výsledkov je možné konštatovať, že hodnotené čerstvé pekárenské výrobky z mikrobiologického hľadiska nepredstavovali pre spotrebiteľa vážnejšie riziko a väčšina vzoriek spĺňala stanovené požiadavky. Z hľadiska hygieny výroby pekárenských výrobkov je ale potrebné predchádzať krížovej kontaminácií medzi čistou a nečistou časťou prevádzky a prísnejšie kontrolovať osobnú hygienu zamestnancov pracujúcich vo výrobe. Taktiež je žiaduce, aby materiály a zariadenia používané v pekárni, hlavne tie, ktoré sú v priamom kontakte s potravinami, boli navrhnuté tak, že budú ľahko čistiteľné a udržiavateľné, budú poskytovať ochranu pred patogénnymi mikroorganizmami, kontamináciou cudzími predmetmi a nebudú umožňovať prístup ani úkryt pre škodcov.

Literatúra

- Beňová, B. 2011. Plán kontroly kvality pre pekárenské výrobky, 2011.
- Görner, R, F. – Valík, L. 2004. Aplikovaná mikrobiológia požívatín. 1. vyd. Bratislava: Malé centrum, 2004. 528 s. ISBN 80 – 967064 – 9 – 7.
- Guy Not T, M. E. Mold – free Shelf – life Extension of Bakery Products by Active Packaging. In *Journal of Food Science*. 2006, vol. 68, s. 2547 – 2552.
- Kľučka, M. 1999. Kvalita len cez realizáciu hygienickej slučky. In *Alimentorum XX: Vývoj a perspektívy v hygiene a technológií potravín: Zborník prednášok a posterov*. Košice: Univerzita veterinárneho lekárstva, 1999. s. 108 – 110.
- Krkošková, B. Obilniny a pekárske výrobky majú nezastupiteľné miesto v našej výžive. In *Rolnícke noviny*, 2002, č. 9, s. 3.
- Legras, J. L. – Merdinoglu, D. – Cornuet, J. M. – Karst, F. Molecular Ecology. In *Bread, beer and wine. Saccharomyces cerevisiae diversity reflects human history*. 2007, vol. 16, p. 2091 – 2102.
- Muchová, Z. Technológia spracovania cereálií. 2. vyd. Nitra: SPU, 2007. s. 194. ISBN 978 - 80 – 8069 – 980 – 2.
- Smith, J.P. et al. Shelf life and safety concerns of bakery products – A review. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2004, vol. 44, p. 19 – 55.
- STN ISO 4832:2006 (56 0085) Horizontálna metóda na stanovenie počtu koliformných baktérií. Metóda počítania kolónií
- STN ISO 4833-1:2014 (56 0083) Horizontálna metóda na stanovenie počtu mikroorganizmov. Metóda počítania kolónií kultivovaných pri 30 °C
- STN ISO 7954:1997-09 (56 0087) Všeobecné pokyny na stanovenie počtu kvasiniek a plesní. Technika počítania kolónií kultivovaných pri 25°C
- STN EN ISO 6888 – 1 Horizontálna metóda stanovenia počtu koagulázopozitívnych stafylokokov (*Staphylococcus aureus* a ďalšie druhy)

Výnos MP SR a MZ SR z 28. októbra 2002 č. 2745/2002 – 100, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky upravujúca označovanie potravín

Výnos MP SR a MZ SR zo 6. februára 2006 č. 06267/2006 – SL, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky upravujúca mikrobiologické požiadavky na potraviny a obaly na ich balenie.

Výnos MP SR a MZ SR zo 21. októbra 2004 č. 2657/2004 – 100, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky upravujúca jedlé obilie a výrobky z obilia.

Kontaktná adresa:

Ing. Alica Bobková, PhD.

Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre.

E-mail: alica.bobkova@uniag.sk

Profil syrovátkových proteinů v kozím a ovčím mléce *Profile of whey proteins in goat's and ewe's milk*

Borkovcová, I., Králová, M., Vorlová, L.

Ústav hygieny a technologie mléka, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Tato práce byla zaměřena na izolaci a stanovení syrovátkových bílkovin v syrovém kozím ($n = 45$) a ovčím mléce ($n = 43$), které bylo odebíráno z farem ČR v roce 2015. Po odstranění tukové frakce, vysrážení proteinů kyselinou octovou na hodnotu pH 4,6 a centrifugaci bylo v supernatantu provedeno stanovení syrovátkových proteinů iontově párovou kapalinovou chromatografií na reverzní fázi (IP RP-HPLC) v UV oblasti při 205 nm. Vyhodnocení bylo provedeno metodou kalibrační přímky porovnáním se standardy proteinů kravského mléka. Nalezené průměrné hodnoty majoritních syrovátkových proteinů byly pro α -LA 1,23 mg.l⁻¹ v kozím a 1,31 mg.l⁻¹ v ovčím mléce a pro β -LG 2,04 mg.l⁻¹ v kozím a 6,31 mg.l⁻¹ v ovčím mléce. Poměr β -LG A ku β -LG B se pohyboval od hodnot 0,31 po 3,72 u ovčího mléka, v kozím mléce nebyl β -LG B nalezen.

Klíčová slova: HPLC, syrovátkové bílkoviny, kozí a ovčí mléko

Abstract

This work was focused on the isolation and determination of whey proteins in goat's ($n = 45$) and ewe's milk ($n = 43$) collected in the farms of the Czech Republic in the year 2015. After removing the fat fraction, protein precipitation with acetic acid to the value of pH = 4.6 and centrifugation the determination of whey proteins in the supernatant by the ion pair reverse-phase liquid chromatography (IP RP-HPLC) in UV range at 205 nm was performed. The external standard method for data processing was used. Average values of major whey proteins were for α -LA 1.23 mg.l⁻¹ in goat's and 1.31 mg.l⁻¹ in ewe's milk and for β -LG 2.04 mg.l⁻¹ in goat's and 6.31 mg.l⁻¹ in ewe's milk. The ratio of β -LG A and β -LG B was in range from 0.31 to 3.72 in ewe's milk, in goat's milk was not β -LG B found.

Úvod

Mléko a mléčné výrobky od malých přežvýkavců představují významnou část zemědělské produkce na celém světě. Zájem o nebovinní mléka, zejména kozí a ovčí a o výrobky z nich v posledních letech stoupá. Tato mléka jsou využívána hlavně na produkci sýrů a jogurtů (Selvaggi et al., 2015; Pandya a Ghodke, 2007; Hernandez-Ledesma et al., 2011).

Mléko představuje významný zdroj bílkovin. Vyšší obsah bílkovin se nachází v ovčím mléce ve srovnání s mlékem kozím a kravským (Jandal, 1996; Pesic et al., 2011). Syrovátkové bílkoviny mají vysokou nutriční hodnotu, jedná se o cenný zdroj stravitelných bílkovin. Hlavní syrovátkovou bílkovinou je β -laktoglobulin. Jeho biologická role spočívá pravděpodobně v transportu vitamínu A, retinolu, mastných

kyselin a jiných nízkomolekulárních sloučenin (Selvaggi et al., 2015; Kusza et al., 2015). Cílem práce bylo stanovení profilu syrovátkových bílkovin β -laktoglobulinu a α -laktalbuminu metodou IP RP-HPLC v ovčím a kozím mléce.

Materiál a metodika

Vzorky:

Byly vyšetřeny bazénové vzorky kozího ($n = 45$) a ovčího ($n = 43$) mléka, které pocházely z farem České republiky. Vzorky mléka byly odebírány v období od dubna do září 2015. Převažující ovčí plemena byla Lacaune a Východofříská ovce, plemena koz byla Bílá krátkosrstá koza, Hnědá krátkosrstá koza a Sánská koza.

Chemikálie:

Acetonitril (Merck, Německo), kyselina trifluoroctová a standardy α -laktalbumin a β -laktoglobulin A a B (Sigma Aldrich, Německo), kyselina octová (Penta, ČR), kyselina trichloroctová (Roth, Německo).

Příprava vzorků:

Vzorky mléka byly dvakrát odstředěny (5 000 ot./10 min/5 °C) a po odebrání tuku byly vysráženy 10% kyselinou octovou na pH 4,6. Po následném odstředění (5 000 ot./10 min/5 °C) byl supernatant přefiltrován přes nylonový filtr 0,22 μm do chromatografické vialky (Ruprichová, 2014).

Podmínky HPLC stanovení:

Ke stanovení α -laktalbuminu a β -laktoglobulinu (A a B) byl použit kapalinový chromatograf Alliance 2695 s PDA 2996 detektorem (Waters, USA) a kolonou Poroshell 300SP C8, 2,1 x 75 mm, 5 μm (Agilent, USA). Teplota kolony byla 45 °C. Mobilní fáze A obsahovala vodu/acetonitril/trifluoroctovou kyselinu (95/5/0,1) (v/v/v) a mobilní fáze B vodu/acetonitril/TFA (5/95/0,1) (v/v/v). Bylo použito gradientové eluce a průtoku mobilní fáze 1,0 ml.min⁻¹. Detekce byla prováděna při 205 nm. Analýza probíhala 25 minut. Velikost nástřiku byla 5 μl . Sběr a vyhodnocení dat u metody RP-HPLC byly provedeny v programu Empower2 (Waters, USA).

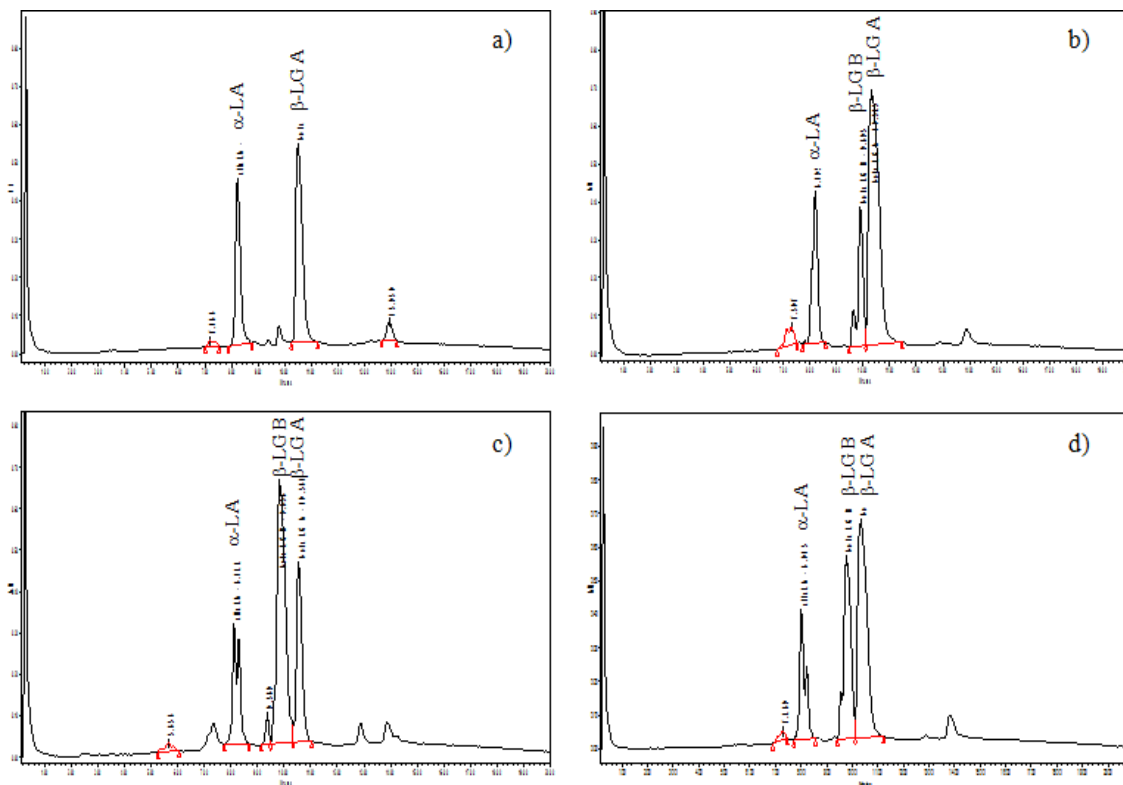
Validace a optimalizace metody RP-HPLC pro syrovátkové bílkoviny:

Optimalizace HPLC analýzy byla provedena pomocí standardních roztoků α -laktalbuminu a β -laktoglobulinu. Kalibrační křivka byla pro α -laktalbumin sestrojena v koncentračním rozsahu 0,404–1,571 mg.ml⁻¹ ($y = 0,5835x - 0,215$; $R^2 = 0,989$), pro β -laktoglobulin v rozsahu 0,406–1,133 mg.ml⁻¹ ($y = 0,3635x + 0,076$; $R^2 = 0,9752$). Citlivost metody byla zjištěna pomocí směrnice kalibrační přímky. Nejistota měření vyjádřena jako RSD ($n = 7$) byla 2,53 % u α -laktalbuminu a 2,40 % u β -laktoglobulinu.

Limit detekce byl stanoven jako 3 S/N (poměr signál/šum) 0,0045 mg.ml⁻¹ pro α -laktalbumin i β -laktoglobulin. Mez stanovitelnosti (určena jako 10 S/N) byla 0,015 mg.ml⁻¹ pro α -laktalbumin i β -laktoglobulin. Vyhodnocení bylo provedeno metodou kalibrační přímky.

Výsledky a diskuze

Ovčí a kozí mléko bylo vysráženo na hodnoty pH 4,6. Takto upravené vzorky byly analyzovány pomocí metody RP-HPLC. Chromatogramy syrovátkových bílkovin některých plemen kozího a ovčího mléka jsou uvedeny na obrázku 1 (a-d).



Obrázek 1: Chromatogram syrovátkových bílkovin

- a) kozí mléko (plemeno Sánská koza)
- b) ovčí mléko (plemeno Východofříská ovce)
- c) ovčí mléko (plemeno Cigája)
- d) ovčí mléko (plemeno Lacaune)

Pozn: α -LA – α -laktalbumin; β -LG A – β -laktoglobulin A; β -LG B – β -laktoglobulin B

Obsah hlavních syrovátkových bílkovin β -laktoglobulinu (β -LG) a α -laktalbuminu (α -LA) je uveden v tabulce č. 1. Sztankóová (2006) zjistila u ovčího mléka průměrné hodnoty pro α -LA $1,2 \text{ g.l}^{-1}$ a pro β -LG $6,6 \text{ g.l}^{-1}$, to odpovídá námi zjištěným hodnotám. U ovčího mléka byl stanoven vzájemný poměr β -LG A/ β -LG B, který se pohyboval v rozmezí od 0,31 do 3,72. Tento rozptyl je spojován s genetickým polymorfismem bílkovin. Je nutné brát v úvahu také velkou genetickou biodiverzitu plemen ovcí (Selvaggi et al., 2015; Kusza et al., 2015). U ovcí byl polymorfismus β -laktoglobulinu zkoumán u mnoha plemen na celém světě. Byly zaznamenány 3 dominantní alely (A, B a C). Nejvíce je zastoupena varianta A, která je využívána jako indikátor kvalitativní i kvantitativní produkce ovčího mléka (Ruprichová, 2014). Varianta C je

vzácná a je popisována jen u některých plemen např. Merinolandschaft a Španělské merino (Selveggi et al., 2015; Kusza et al., 2015).

Problematikou syrovátkových bílkovin kozího mléka se zabývali např. Miranda et al. (2004), kteří zaznamenali hodnoty α -LA 1,2 g.l⁻¹ a β -LG 2,1 g.l⁻¹. Podobné hodnoty byly zjištěny i v naší práci. U kozího mléka jsou popisovány dvě genetické varianty A a B (Moioli et al., 1998). Obě genetické varianty popsal také Pena et al. (2000). V naší práci nebyl ve vzorcích kozího mléka β -LG B nalezen, což může být ovlivněno plemeny koz, která byla do pokusu zařazena. Výskyt jedné varianty popisuje např. Rotkāja et al. (2016).

Tabulka 1: Obsah syrovátkových bílkovin v mléce (g.l⁻¹)

	Kozí mléko		Ovčí mléko			
	α -LA	β -LG A	α -LA	β -LG B	β -LG A	β -LG
Průměr	1,23	2,04	1,31	2,75	3,56	6,31
Medián	1,17	2,01	1,30	2,46	3,63	6,08
s	0,23	0,39	0,30	1,16	0,98	1,31
Minimum	0,84	1,29	0,69	1,11	1,34	4,10
Maximum	1,71	2,93	2,03	6,05	5,93	11,01

Pozn: α -LA - α -laktalbumin; β -LG - β -laktoglobulin suma; β -LG A a B - β -laktoglobulin A a B; s – odchylka jednotlivých vzorků od průměrné hodnoty

Závěr

Metodou kapalinové chromatografie byly stanoveny majoritní syrovátkové proteiny α -laktalbumin a β -laktoglobulin ve vzorcích kozího a ovčího mléka z farem ČR. Nalezené koncentrace α -laktalbuminu kozího a ovčího mléka byly obdobné, výrazně vyšší byly koncentrace β -laktoglobulinu v ovčím mléce. Poměr genetických variant A a B β -laktoglobulinu v ovčím mléce byl závislý na typu plemene, během laktace zůstával konstantní. V kozím mléce byla nalezena jen jedna genetická varianta β -laktoglobulinu.

Poděkování

Práce vznikla za finanční podpory projektu NAZV KUS QJ1230044.

Literatura

Literatura u autora.

Kontaktní adresa:

RNDr. Ivana Borkovcová, Ph.D.

VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie mléka, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno.

E-mail: borkovcovai@vfu.cz

Mikrobiologické parametry vybraných čajů *Microbiological parameters of selected tea*

Burdová, E., Kalhotka, L.
Mendelova univerzita v Brně

Souhrn

Experiment byl zaměřen na mikrobiologické parametry vybraných čajů. V ovocném a bylinném čaji a ve dvou čajových směsích určených k zalití studenou vodou byly stanovovány významné skupiny mikroorganismů. V suchém materiálu byl celkový počet mikroorganismů řádově 10^3 až 10^4 KTJ/g. V žádném ze vzorků nebyla detekována *Escherichia coli*. Z mikromycet převažovaly plísňe. Největší kontaminaci vykazoval bylinný čaj, všechny vzorky však byly dobré mikrobiologické kvality. Při dodržení správné hygienické praxe během pěstování, sklizně, dalšího zpracování a skladování rostlinného materiálu, mohou dobrou mikrobiologickou kvalitu vykazovat i čaje zalité studenou vodou.

Klíčová slova: čajová směs, plísňe, *Escherichia coli*, *Salmonella*, studený výluh

Abstract

The experiment was focused on the microbiological parameters of selected teas. Significant groups of microorganisms were determined in the fruit and herbal tea and two tea mixtures intended for cold water leaching. In the dry material was the aerobic plate count approximately 10^3 to 10^4 CFU/g. *Escherichia coli* was not detected in any sample. Molds prevailed against yeasts. Most contaminated tea was herbal tea, but all samples were good microbiological quality. Tea mixtures intended for leaching in cold water can exhibit (in compliance with good hygienic practices during cultivation, harvest, storage and further processing of plant materials) good microbiological quality.

Úvod

Čaj patří mezi nejoblíbenější nápoje v Evropě. Sortiment čajů a čajových směsí je velmi široký. Mezi nejoblíbenější čaje patří černý a zelený čaj, které se připravují z listů jednoho druhu rostliny (*Camellia sinensis*). Kromě toho je však v nabídce nepřehledné množství dalších čajů vyráběných z kořenů, kůry, květů, plodů nebo semen nejrůznějších rostlin. Tomu odpovídá i rozmanitost mikrobiálních kontaminantů. Čaje mohou být kontaminovány mikroorganismy do různé míry. To vychází zejména z odlišného pěstování a následného zpracování jednotlivých rostlinných složek (Mabbett, 2008). Vzhledem k tomu, že jsou čaje konzervovány sušením, nepředstavují pro mikroorganismy ideální prostředí. Některé mikroorganismy však mohou přežívat i při nízkých hodnotách aktivity vody a v příznivějších podmínkách se mohou začít rozmnožovat (Konečná, Kalhotka, 2009).

Cílem této práce bylo stanovit významné skupiny mikroorganismů ve vzorcích čajů, a to jak v suchém materiálu, tak v čerstvém výluhu.

Materiál a metodika

K mikrobiologickému rozboru byly použity vzorky ovocného a bylinného čaje a dvě čajové směsi určené k přípravě za studena. Pro vstupní rozbor suchého materiálu bylo 10 g čaje smícháno s 90 ml sterilního fyziologického roztoku a třepáno na třepačce (200 rpm, Biosan) po dobu 10 minut. Ve vzorcích čajů byly plotnovou metodou standardními postupy stanoveny následující skupiny mikroorganismů: celkový počet mikroorganismů (CPM), mikromycety, bakterie čeledi *Enterobacteriaceae*, termorezistentní anaerobní a aerobní bakterie a *Escherichia coli*. Přítomnost salmonel byla stanovována po předchozím pomnožení na půdě Rapid *Salmonella* Agar (Bio-Rad, Francie) při 37 °C za 24 hodin. Následně byl ze vzorků čajů připraven podle návodu výrobce výluh z 5 g čaje a 500 ml horké (ovocný, bylinný) nebo studené (čajová směs určená k zalití studenou vodou 1 a 2) vody. Ve výluzích bylo stanovováno stejné spektrum mikroorganismů jako u suchého materiálu.

Výsledky a diskuze

Ve vzorcích čajů byly stanovovány významné skupiny mikroorganismů. Výsledky rozborů jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1: Počty významných skupin mikroorganismů stanovené v suchém materiálu příslušných vzorků čajů v KTJ/g

Čaj	ENTB	E.c./koli	TMR _{AE}	TMR _{AN}	CPM	PLÍSNĚ
Ovocný	<10 ¹	<10 ¹	9.10 ¹	3,3.10 ¹	5,9.10 ³	2,8.10 ²
Bylinný	7,1.10 ³	<10 ¹ /1,3.10 ⁴	7,8.10 ³	6,9.10 ³	2,7.10 ⁴	<10 ³
Čajová směs určená k zalití studenou vodou 1	<10 ¹	<10 ¹	1,4.10 ²	<10 ¹	1,4.10 ⁴	1,7.10 ⁴
Čajová směs určená k zalití studenou vodou 2	<10 ¹	<10 ¹	2,6.10 ¹	<10 ¹	6,9.10 ³	4,7.10 ²

Vysvětlivky: ENTB...bakterie č. Enterobacteriaceae, E.c./koli...Escherichia coli/koliformní bakterie, TMR_{AE}...termorezistentní aerobní mikroorganismy, TMR_{AN}...termorezistentní anaerobní mikroorganismy, CPM...celkový počet mikroorganismů.

Nejlepší představu o celkové kontaminaci čaje poskytuje celkový počet mikroorganismů. Hodnoty CPM byly řádově 10³ KTJ/g u ovocného čaje a čajové směsi určené k zalití studenou vodou č. 2, a 10⁴ KTJ/g u čaje bylinného a čajové směsi určené k zalití studenou vodou č. 1. CPM se u výluhů pohyboval řádově v desítkách KTJ/ml, u ovocného čaje byl ještě nižší. Zjištěné počty odpovídají údajům uváděným dalšími autory, například Polášek (2014) zjistil CPM v černých a zelených čajích řádově od 10¹ do 10⁵ KTJ/g. Šourková (2013) stanovila v dětských čajích CPM průměrně 10³ KTJ/g. Konečná a Kalhotka (2009) zjistili ve vzorcích ovocných čajů, z nichž jeden byl z ekologického zemědělství, CPM řádově 10² KTJ/g. Ve studii zabývající se mikroflórou nezpracovaného a zpracovaného rostlinného materiálu (řezání, mletí apod.) provedené Vidović a kol. (2013) přesahovalo 67 % vzorků 10⁶ KTJ/g, přičemž nejvíce kontaminované byly listy *Mentha piperita*. Nejnižší CPM měl plod *Rosa*

canina, ale jako u jediného ze vzorků u něj došlo k významnému zvýšení CPM během zpracování. K nejvýznamnějším skupinám mikroorganismů kontaminujících čajové směsi patří mikromycety. Z mikromycet převažovaly ve vzorcích plísňe. Nejvyšší počet plísni (1,7.10⁴ KTJ/g) obsahovala čajová směs určená k zalití studenou vodou č. 1. Ovocný čaj a čajová směs určená k zalití studenou vodou č. 2 obsahovaly plísni řádově 10² KTJ/g. V bylinném čaji převažoval rod *Rhizopus* spp. (10³ KTJ/g). Čaje obsahují malé množství vody a rozpustných cukrů, proto jsou náchylné zejména ke kolonizaci osmotolerantními plísněmi, včetně potenciálně toxinogenních druhů (Řezáčová, Kubátová, 2005). Ke kontaminaci čajů plísněmi dochází už u rostlin na poli, dále při sklizni nebo během skladování a přepravy, a to zejména při nevhodných podmínkách, jako jsou vysoká vlhkost a teplota. Nebezpečí pro spotřebitele představují zejména mykotoxiny, které mohou některé druhy plísni produkovat (Mabbett, 2008). Ve studii Vidović a kol. (2013) se počet plísni pohyboval od 1,4.10³ do 2,6.10⁴ KTJ/g, což je řádově shodné s našimi výsledky pro čajovou směs určenou k zalití studenou vodou č. 1 a bylinný čaj. Konečná a Kalhotka (2009) stanovili v ovocném čaji počty plísni v množství řádově 10² KTJ/g. Řezáčová a Kubátová (2005) sledovaly kvalitu různých typů čajů pocházejících z pražských obchodů z hlediska kontaminace mikroskopickými houbami. Ve 40 vzorcích černých, zelených a bylinných čajů byl nejrozšířenějším druhem *Aspergillus niger*. Některé druhy plísni byly termofilní nebo termotolerantní (*Rhizomucor pusillus*, *Aspergillus fumigatus*) nebo termorezistentní (*Eurotium* spp.). Žádný ze zkoumaných kmenů hub neprodukoval aflatoxiny. Dnes zrušená vyhláška č. 132/2004 Sb. udávala jako přípustnou hodnotu pro potenciálně toxinogenní plísně (*Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. niger*) 5.10³ KTJ/g. Při překročení této hodnoty je pro posouzení rozhodující zjištěný obsah aflatoxinů. Z termorezistentních mikroorganismů převažovaly aerobní. V ovocném čaji a čajové směsi určené k zalití studenou vodou č. 2 jich bylo řádově 10¹ KTJ/g, v čajové směsi určené k zalití studenou vodou č. 1 to bylo 10² a nejvyšší počet obsahoval čaj bylinný (10³ KTJ/g). U výluhů byly tyto mikroorganismy detekovány pouze ve velmi nízkém množství (do 10 KTJ/ml), s výjimkou čaje bylinného (8,2.10¹ KTJ/g). Termorezistentních anaerobních mikroorganismů byly v čajích řádově desítky s výjimkou bylinného čaje, u nějž bylo zjištěno řádově 10³ KTJ/g. Konečná a Kalhotka (2009) v ovocném čaji žádné termorezistentní anaerobní mikroorganismy nedetekovali. Bakterie čeledi *Enterobacteriaceae* se obecně používají jako hygienické indikátory zpracování než jako indikátory fekální kontaminace. U ovocného čaje a obou čajových směsí určených k zalití studenou vodou byl jejich počet pod 10¹ KTJ/g. Bylinný čaj obsahoval 7,1.10³ KTJ/g. Ve studii Vidović a kol. (2013) v nezpracovaných vzorcích nepřesahoval počet *Enterobacteriaceae* 5.10⁴ KTJ/g, přičemž u *Rosa canina* a *Uva ursi* nebyly tyto bakterie detekovány vůbec. Všechny zpracované vzorky obsahovaly 4,0.10² až 1,4.10⁵ KTJ/g. I přesto, že byl u bylinného čaje počet bakterií z čeledi *Enterobacteriaceae* vyšší, *Escherichia coli* nebyla v ředění 10⁻¹ detekována v žádném ze vzorků suché čajové směsi nebo výluhu. Konečná a Kalhotka (2009) nedetekovali v ovocném čaji žádné koliformní mikroorganismy. Právně nezávazná ČSN 56 9609 udává přípustné množství *E. coli* 10², přičemž ve dvou z pěti vzorků může být 10³ KTJ/g. Dnes zrušená vyhláška č. 132/2004 Sb. udávala jako přípustnou hodnotu pro tuto bakterii 10³ KTJ/g, stejně jako pro koagulázopozitivní stafylokoky a *Clostridium perfringens*.

Salmonela je další bakterie významná ze zdravotního hlediska, která může být přítomna v rostlinném materiálu a mohla by tak být potenciálně původcem alimentárního onemocnění. Salmonela nebyla detekována v čajových směsích určených k použití za studena. Analýza ovocného a bylinného čaje na přítomnost salmonely nebyla vzhledem k tomu, že jsou tyto čaje určeny k zalití vroucí vodou, při kterém dojde k likvidaci přítomných salmonel, provedena. Ve studii Vidović a kol. (2013) salmonela nebyla detekována v žádném z 12 vzorků nezpracovaného a zpracovaného rostlinného materiálu. Dle zrušené vyhlášky č. 132/2004 Sb. a právně nezávazné ČSN 56 9609 nesmí být *Salmonella* spp. přítomna v 10 g vzorku.

Závěr

Vzorky analyzovaných čajů byly dobré mikrobiologické kvality, což naznačuje, že byla aplikována správná hygienická praxe během pěstování, sklizně, dalšího zpracování a skladování rostlinného materiálu. Pokud jsou tyto podmínky dodrženy, mohou dobrou mikrobiologickou kvalitu vykazovat i čaje zalité studenou vodou. Nejhorší parametry vykazoval bylinný čaj, který se připravuje z většího množství rostlin a jejich částí. Relativně vyšší zjištěné počty mikroorganismů v případě klasického postupu přípravy zalitím vroucí vodou však v tomto případě nepředstavují větší riziko.

Literatura

Česká Republika. Vyhláška č. 132/2004 Sb. ze dne 12. března 2004 o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení.

ČSN 56 9609 Pravidla správné hygienické a výrobní praxe - Mikrobiologická kritéria pro potraviny.

Konečná, H., Kalhotka L. Mikrobiologická kontaminace ovocných čajů. In *MendelNet 2009*. 1. vyd. Brno: MZLU, 2009, s. 105. ISBN 978-80-7375-351-1.

Mabbett, T. Mold and mycotoxin contamination of tea. *Tea and Coffea Trade Journal* [online]. 2008 [cit. 2016-08-16]. Dostupné z:

<http://www.thefreelibrary.com/Mold+and+mycotoxin+contamination+of+tea%3A+contamination+of+processed...-a0183311855>

Polášek, V. Mikrobiální kontaminace čajů. Závěrečná práce, 2014. Mendelova univerzita v Brně.

Řezáčová, V., Kubátová, A. Saprobic microfungi in tea based on *Camellia sinensis* and on other dried herbs. *Czech Mycol.*, 2005, 57 (1-2): 78-89.

Šourková, A. Mikrobiální kontaminace dětských čajů. Závěrečná práce, 2013. Mendelova univerzita v Brně.

Vidović, S., Cvetkovic, D., Ramić, M., a kol. Screening of changes in content of health benefit compounds, antioxidant activity and microbiological status of medicinal plants during the production of herbal filter tea. *Industrial Crops and Products* [online]. 2013, 50, 338-345 [cit. 2016-08-16]. DOI: 10.1016/j.indcrop.2013.08.005. ISSN 09266690. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669013004172>

Poděkování

Práce vznikla s podporou projektu IGA IP_13/2016.

Kontaktní adresa:

Burdová Eva, Ing., Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin. Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00, Brno. E-mail: xburdov2@node.mendelu.cz

Hodnocení růstu toxigenních kmenů *Bacillus cereus* v kojeneckém mléce

Evaluation of the growth of toxigenic Bacillus cereus strains in infant milk

Bursová, Š., Necidová, L., Chudová D.
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Cílem studie bylo sledování růstu a produkce toxinů u sbírkových kmenů *Bacillus cereus* v počátečním kojeneckém mléce při teplotě 8 °C, 15 °C a 24 °C. Počet *B. cereus* byl stanoven plotnovou metodou na Mannitol, Yolk, Polymyxine B agaru (30 °C, 24 h). K detekci přítomnosti bakteriálních toxinů byl použit imunochromatografický test. *B. cereus* se v obnoveném mléce množil a produkoval toxiny při teplotách 15 °C a 24 °C. Detekovatelné množství toxinů vzniklo při pomnožení bakterie řádově na 10^6 KTJ.ml⁻¹ (nehemolytický enterotoxin, NHE), 7×10^7 KTJ.ml⁻¹ (hemolysin BL) či 10^8 KTJ.ml⁻¹ (emetický toxin). Pro zajištění bezpečnosti není vhodné kojenecké mléko po obnovení uchovávat při teplotách vyšších než 15 °C.

Klíčová slova: *diarhogenní enterotoxiny, emetický toxin, GLISA*

Abstract

The aim of the study was to evaluate the growth and toxin production of strains *B. cereus* in initial infant milk at 8 °C, 15 °C and 24°C. Count of *B. cereus* was determined by plating method on Mannitol, Yolk, Polymyxine B agar (30°C, 24 hrs). To detect the presence of bacterial toxins the immunochromatographic test was used. In reconstituted milk *B. cereus* multiplied and formed toxins at 15 °C and 24 °C. Detectable amounts of toxins were created during the growth of bacteria of the order of 10^6 CFU.ml⁻¹ (non-hemolytic enterotoxin, NHE), 7×10^7 CFU.ml⁻¹ (hemolysin BL) or 10^8 CFU.ml⁻¹ (emetic toxin). To ensure the safety there is not appropriate to store infant milk after reconstitution at temperatures higher than 15 °C.

Úvod

Bacillus cereus je široce rozšířený půdní mikroorganismus. Tvoří odolné spory, které mohou v prostředí i potravinách, včetně sušených, přežívat po dlouhou dobu. Je významným původcem kažení potravin, toxigenní kmeny mohou vyvolat dvě odlišné formy alimentárního onemocnění – diarhogenní a emetický syndrom. *B. cereus* produkuje 5 rozdílných enterotoxinů, z nichž tři – komplex hemolysinu BL, komplex nehemolytických enterotoxinů a cytotoxin BceT jsou přímo zodpovědné za vznik diarhogenní formy onemocnění u lidí. Emetickou formu onemocnění vyvolává emetický toxin, označovaný též jako cereulid. Cereulid je produkován v potravině, po její konzumaci vyvolává alimentární intoxikaci (Hwang and Park, 2015).

B. cereus je často izolován z mléka, mléčných výrobků, cereálií a dalších potravin. Sušené mléko, bývá poměrně často kontaminováno jeho spory (Shaheen et al., 2006). Po rekonstrukci sušeného mléka může při vhodné teplotě dojít k vyklíčení spor,

následnému množení vegetativních buněk a k produkci toxinů. Psychrotrofní kmeny *B. cereus* mohou růst i při teplotách pod 8 °C (Di Pinto et al., 2013). Cílem uvedené studie bylo sledování růstu a produkce toxinů u sbírkových kmenů *B. cereus* v počátečním kojeneckém mléce při různých skladovacích teplotách.

Materiál a metodika

K zaočkování sušeného kojeneckého mléka (Sunar komplex 1, výrobce Hero, tržní síť) byly použity 3 toxigenní sbírkové kmeny *B. cereus* – kmeny CCM 2010 a CCM 869 produkující pouze diarhogenní toxiny (CCM Brno, Česká republika) a kmen DSM 4312 produkující současně i emetický toxin (DSMZ, Braunschweig, Německo).

Při přípravě sporové suspenze byl nejprve každý kmen kultivován v Roux lahvi na živném agaru (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, Indie) s přidavkem glukosy a $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, a to při teplotě 30 °C po dobu 6 dní. Vysporulovaná kultura byla asepticky přenesena do sterilního fyziologického roztoku a odstředěna 10 minut při 4 400 rpm. Vzniklý sediment byl 2x promyt fyziologickým roztokem a odstředěn. Získaná sporová suspenze byla naředěna fyziologickým roztokem na koncentraci cca 10^8 KTJ v 1 ml a ošetřena po dobu 10 minut ultrazvukem. Před inokulací byly případné vegetativní formy inaktivovány záhřevem sporové suspenze při teplotě 85 °C po dobu 10 minut.

Sušené kojenecké mléko bylo sporovou suspenzí zaočkováno tak, aby výchozí počet spor byl 10^1 KTJ.g⁻¹, resp. 10^3 KTJ.g⁻¹. Následně bylo sušené mléko rekonstituováno podle pokynů výrobce. Po promíchání bylo mléko rozděleno v množství 100 ml do sterilních lahví a skladováno při teplotě 8 °C, 15 °C a 24 °C po dobu 48 hodin. Odběr vzorků pro stanovení počtu *B. cereus* a detekci toxinů byl prováděn v pravidelných intervalech (celkem 14 dílčích vzorků). Současně byla měřena hodnota pH. Paralelně bylo provedeno kontrolní stanovení s nezaočkovaným mlékem.

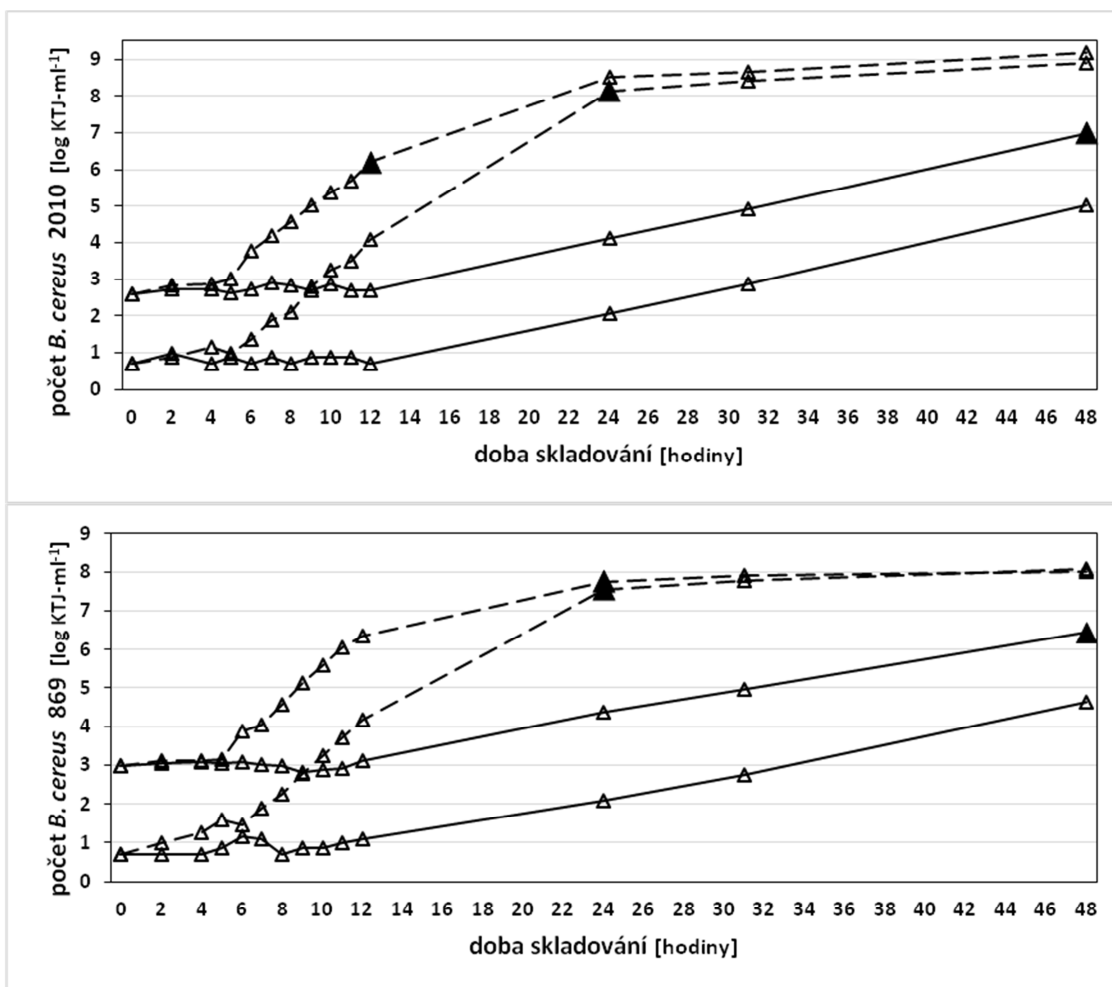
Dílčí vzorky byly zpracovány v souladu s ČSN EN 6887-1 (1999). Vybraná ředění byla rozetřena v množství 0,2 ml na Mannitol, Yolk, Polymyxine B agar (MYP). Naočkované Petriho misky byly inkubovány aerobně 24 hodin při 30 °C.

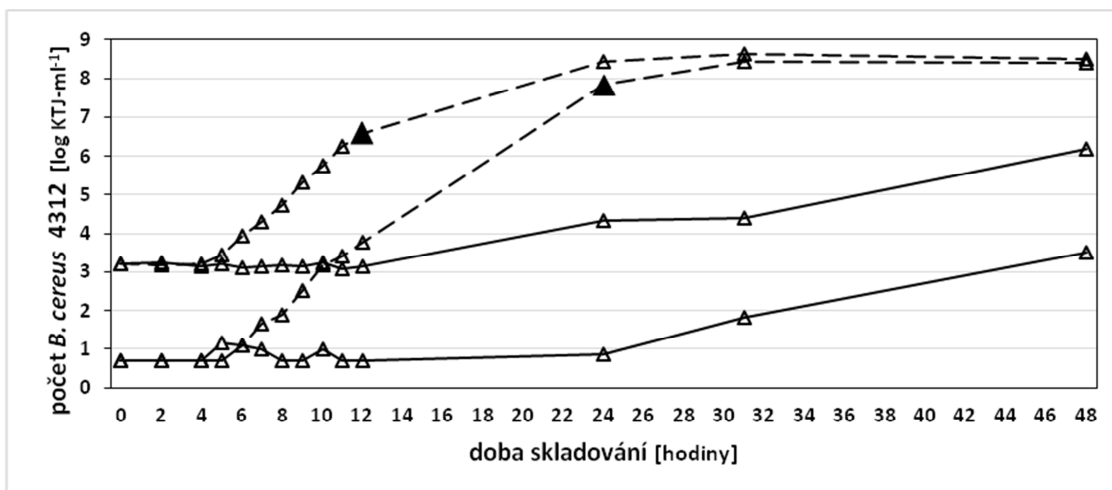
K detekci přítomnosti bakteriálních toxinů byl použit imunochromatografický test (GLISA). Před vlastním stanovením byl vzorek mléka odstředěn 5 minut při 13 000 rpm, k analýze byla použita střední část supernatantu. Detekce vybraných komponent hemolytických a nehemolytických enterotoxinů byla provedena testem Duopath® *Cereus* Enterotoxins (Merck KGaA, Darmstadt, Německo). Detekce přítomnosti emetického toxinu byla provedena nepřímo testem Singlepath® Emetic Tox Mrk (Merck), který detekuje markerový protein současně exprimovaný během syntézy emetického toxinu.

Výsledky a diskuse

Při teplotě 8 °C nebyl růst *B. cereus* pozorován. Růstové křivky jednotlivých kmenů *B. cereus* při teplotě skladování 15 °C a 24 °C jsou uvedeny na Obrázku č. 1. Při teplotě 15 °C byl růst *B. cereus* výrazně zpomalený (délka lag fáze cca 12 hodin), k produkci detekovatelného množství nehemolytických enterotoxinů (NHE) došlo za 48 hodin inkubace, emetický toxin ani hemolysin BL (HBL) detekovány nebyly.

Při teplotě skladování 24 °C došlo během 48 hodin k vytvoření kompletních růstových křivek, délka lag fáze se pohybovala okolo 5 hodin (Obrázek č. 1). Detekovatelné množství NHE bylo zaznamenáno po 12, resp. 24 hodinách inkubace (v závislosti na výchozí koncentraci spor), a to při počtu minimálně $1,6 \times 10^6$ KTJ *B. cereus* v 1 ml. Po 24 hodinách došlo v případě kmene *B. cereus* CCM 2010 k vytvoření detekovatelného množství HBL (počet $6,9 \times 10^7$ KTJ.ml⁻¹, resp. $2,7 \times 10^8$ KTJ.ml⁻¹). Emetický toxin byl u kmene *B. cereus* DSM 4312 detekován po 24 hodinách inkubace vzorku při počtu řádově 10^8 KTJ.ml⁻¹.





Obrázek 1: Růst *B. cereus* v obnoveném počátečním kojeneckém mléce, výchozí počet spor 10^1 KTJ.g⁻¹ a 10^3 KTJ.g⁻¹; - teplota skladování 15 °C, - teplota skladování 24 °C, ▲ první detekce toxinů.

V kontrolních vzorcích (nezaočkované mléko) byl ve všech případech stanoven počet *B. cereus* odhadem < 5 KTJ.ml⁻¹, tj. pod mezí detekce použité plotnové metody, toxiny detekovány nebyly. Hodnota pH se pohybovala ve všech případech v rozmezí 6,6 – 6,7. Hodnocením růstu toxigenních kmenů *B. cereus* v obnoveném kojeneckém mléce se zabývali také další autoři. Např. Rowan and Anderson (1998) prokázali, že se psychrotrofní kmeny *B. cereus* mohou množit a produkovat diarhogenní toxiny i při teplotách 8 °C a méně, ale až po více než 10 dnech. Produkci cereulidu v kojeneckém mléce uchovávaném při 21 – 23 °C po dobu 24 hodin potvrdili Shaheen et al. (2006).

Závěr

B. cereus se v obnoveném kojeneckém mléce při vyšších teplotách (15 °C a 24 °C) množí a produkuje toxiny. Detekovatelné množství toxinů vzniká při pomnožení bakterie v mléce řádově na 10^6 KTJ.ml⁻¹ (nehemolytický enterotoxin), 7×10^7 KTJ.ml⁻¹ (hemolysin BL) či 10^8 KTJ.ml⁻¹ (emetický toxin). Produkce nehemolytického enterotoxinu byla zaznamenána také při teplotě 15 °C. Pro zajištění bezpečnosti není vhodné kojenecké mléko po obnovení uchovávat při teplotách vyšších než 15 °C.

Literatura

ČSN EN ISO 6887-1 Mikrobiologie potravin a krmiv – Úprava analytických vzorků, příprava výchozí suspenze a desetinasobných ředění – Část 1: Všeobecné pokyny pro přípravu výchozí suspenze a desetinasobných ředění. Praha: Český normalizační institut. 1999. 12 s.

Di Pinto, A., Bonerba, E., Bozzo, G., Ceci, E., Terio, V., Tantillo, G. Occurrence of potentially enterotoxigenic *Bacillus cereus* in infant milk powder. *European Food Research and Technology*, 2013, vol. 237, no. 2, s. 275-279.

Hwang, J-Y., Park, J-H. Characteristics of enterotoxin distribution, hemolysis, lecithinase, and starch hydrolysis of *Bacillus cereus* isolated from infant formulas and ready-to-eat foods. *Journal of Dairy Science*, 2015, vol. 98, no. 3, s. 1652-1660.

Rowan, N.J., Anderson, J.G. Diarrhoeal enterotoxin production by psychrotrophic *Bacillus cereus* present in reconstituted milk-based infant formulae (MIF). *Letters in Applied Microbiology*, 1998, vol. 26, no. 2, s. 161-165.

Shaheen, R., Andersson, M.A., Apetroaie, C., Schulz, A., Ehling-Schulz, M., Ollilainen, V-M., Salkinoja-Salonen, M.S. Potential of selected infant food formulas for production of *Bacillus cereus* emetic toxin, cereulide. *International Journal of Food Microbiology*, 2006, vol. 107, s. 287-294.

Poděkování

Studie vznikla za finanční podpory IGA VFU Brno, projekt č. IGA 213/2016/FVHE.

Kontaktní adresa:

MVDr. Šárka Bursová, Ph.D.

VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie mléka, Palackého tř. 1/3, Brno, 612 42.

E-mail: bursovas@vfu.cz

Stanovenie vybraných fyzikálno-chemických parametrov srvátky *Determination of selected physicochemical parameters of whey*

Dičáková, Z., Gergel', R., Dudriková, E., Výrostková, J.
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Súhrn

V piatich rôznych druhoch srvátkových práškových produktov bola stanovená aktivita vody, vlhkosť, pH, hydroxymetylfurfural a kyselina mliečna. Obsah celkových bielkovín a tuku bol porovnaný s údajmi deklarovanými na obale. Hodnoty vodnej aktivity a vlhkosti boli nízke, priemerné hodnoty a_w boli 0,240 a priemerný obsah vody bol 3,68 %, obsah kyseliny mliečnej 0,175 %. Hydroxymetylfurfural bol nameraný vo vzorke Amálka Bio v hodnote 1,57 mg v 100 g prášku. Pri porovnaní obsahu celkových bielkovín a tuku s údajmi výrobcu bol vo vzorke srvátkového koncentráту Impact Whey zistený rozdiel. Bielkovín bolo stanovených 75,65 namiesto deklarovaných 82 % a tuku 3 % namiesto 7,5 %. V ostatných vzorkách boli rozdiely minimálne.

Kľúčové slová: *srvátka, zloženie, fyzikálno-chemické vlastnosti*

Abstract

In five different types of whey powder products were determined water activity, moisture, pH, lactic acid and hydroxymethylfurfural. The content of total protein and fat was compared to those declared on the packaging. Water activity and moisture content were low, a_w average values of 0.240, and the average water content was 3.68%, the lactic acid content of 0.175%. Hydroxymethylfurfural was obtained in one sample Amalka Bio with a value of 1.57 mg per 100 g of powder. Comparing the analysed content of total protein and fat with the manufacturers' information it was a difference in Impact Whey concentrate observed. Protein was established 75.65 instead of declaring 82% and fat content of 3% instead of 7.5%. In other samples, the differences were minimal.

Úvod

Srvátkové bielkoviny tvoria po kazeíne druhú hlavnú zložku kravského mlieka. Srvátkové bielkoviny majú mimoriadnú biologickú hodnotu, sú bohatým zdrojom najmä esenciálnych aminokyselín (ako leucín, izoleucín a valín), dôležitých pre stavbu svalov a preto sú vyhľadávaným výživovým doplnkom športovcov. Z ďalších pozitív srvátky a jej peptidov možno spomenúť jej účinky hypotenzné, protirakovinové, imunomodulačné, antibakteriálne, povzbudzujúce zdravie čriev, hypocholesterolemické, inzulinotroficke a psychomodulačné. Medzi najvýznamnejšie srvátkové bielkoviny patrí β -laktoglobulín, α -laktalbumín, imunoglobulíny, laktoferín, glykomakropeptidy a laktoperoxidázy (Ha and Zemel, 2003).

Do sedemdesiatych rokov 19. storočia bol srvátkový proteín dostupný iba v tepelne denaturovanej podobe, pričom jeho využiteľnosť bola veľmi limitovaná. Až membránová filtrácia umožnila separáciu a frakcionáciu srvátkových bielkovín

zachovávajúc ich rozpustnosť. Komerčne sú k dispozícii rôzne typy srvátkových práškov. Medzi najdôležitejšie produkty patria srvátkové proteínové koncentráty a srvátkové proteínové izoláty. Srvátkové bielkoviny, a ich jednotlivé vyššie spomínané frakcie, poskytujú telu množstvo zdraviu prospešných benefitov i mimo športového prostredia (Jelen, 2003). Sušená demineralizovaná srvátka je aj prvou ingredienciou Nutrilonu (dojčenského mlieka), ktoré sa môže podávať od prvého dňa narodenia dieťaťa.

Cieľom práce bolo stanoviť vybrané fyzikálno-chemické parametre v rôznych druhoch práškových srvátkových výrobkov ako koncentrovaných doplnkov výživy vhodných aj mimo športového prostredia.

Materiál a metódy

Analyzovaných bolo spolu 5 druhov vzoriek srvátkových prípravkov bez príchutí, ktoré sa navzájom odlišovali koncentráciou srvátkových bielkovín, obsahom tuku, laktózy i minerálnych látok a boli vyrobené v rôznych krajinách :

1. srvátkový koncentrát s 82% obsahom bielkovín (Anglicko)
2. sušená srvátka s 12% obsahom bielkovín - v bio kvalite (Česko)
3. srvátkový koncentrát s 77,5% obsahom bielkovín - nenedenaturovaný, spracovaný za nízkych teplôt (USA)
4. srvátkový izolát s 96% obsahom bielkovín (Švédsko)
5. dojčenská výživa Nutrilon s 9,6% obsahom bielkovín (Holandsko)

Vo vzorkách bol stanovený obsah vlhkosti metódou sušenia do konštantnej hmotnosti pri $102 \pm 2^\circ\text{C}$, aktivita vody (a_w) prístrojom Novasina-aw. Na analýzu tuku bola použitá Gerberova metóda a celkové bielkoviny boli stanovené prístrojom Tecator.

Na stanovenie hodnôt pH, titračnej kyslosti a hydroxyfurfuralu boli použité 10% roztoky pripravené rozpustením 10 g vzorky v destilovanej vode a doplnením na objem 100 ml (Dudriková a Pažáková, 2009; FSSAI, 2015). Hydroxymetylfurfural bol stanovený fotometricky podľa Winklera (Baranová, 2014).

Výsledky a diskusia

Priemerné hodnoty z troch meraní sledovaných parametrov sú uvedené v tabuľkách 1 a 2.

Hodnoty vodnej aktivity sa pohybovali od 0,157 (Premium Whey) do 0,336 (Amálka Bio). Najvyššia hodnota pH 7,054 bola nameraná v Nutrilone, najnižšie pH 6,302 mal izolát Premium Whey. Najvyššia vlhkosť, 5,06 %, bola stanovená v koncentráte Impact Whey, najsuchšou vzorkou s vlhkosťou 1,62 % bol Nutrilon. Najvyššia titračná kyslosť bola zistená v Premium Whey $1,73^\circ\text{SH}$ čo po prepočítaní predstavuje 0,386 % kyseliny mliečnej. Desiatkrát nižšia kyslosť bola nameraná v Nutrilone. Stanovené rozpätie kyseliny mliečnej vo vzorkách spadá do limitov pre sušenú srvátku uvedeným v potravinových tabuľkách - od 0,070 po 1,067 mg na 100 g výrobku (Vojtaššáková a kol., 2000). Pozitívny nález pri vyšetrení hydroxymetylfurfuralu bol zaznamenaný iba vo vzorke srvátky Amálka Bio pričom dosahoval iba 1,57 mg v 100 g prášku a nepredstavuje zdravotné riziko. Napriek tomu je dôležité hydroxymetylfurfural sledovať nielen v mede ale aj iných potravinách ako monitorovali aj Vorlová et al. (2006).

Tabuľka 1: Základné fyzikálno-chemické parametre srvátkových preparátov

vzorka	a _w	pH	voda	titračná kyslosť	kyselina mliečna
			%	°SH	%
Impact Whey	0,253	6,772	5,06	0,68	0,153
Amalka Bio	0,336	6,460	4,55	0,56	0,126
Warrior Whey	0,291	6,678	4,93	0,75	0,169
Premium Whey	0,157	6,302	2,25	1,73	0,386
Nutrilon	0,161	7,054	1,62	0,17	0,038
<i>priemer</i>	<i>0,240</i>	<i>6,653</i>	<i>3,68</i>	<i>0,78</i>	<i>0,175</i>
<i>min</i>	<i>0,157</i>	<i>6,302</i>	<i>1,62</i>	<i>0,17</i>	<i>0,038</i>
<i>max</i>	<i>0,336</i>	<i>7,054</i>	<i>5,06</i>	<i>1,73</i>	<i>0,389</i>

Zastúpenie tuku v sledovaných vzorkách bolo stanovené priamo v butyrometroch určených na sušené mlieko podľa Teicherta, ako aj v 10% roztokoch srvátok meraných v klasických Gerberových butyrometroch. Najnižšia hodnota 0,3 % tuku bola nameraná v roztoku pripravenom zo vzorky Amalka Bio, zatiaľ čo výrobca udáva 1,5 %. Najvyššia hodnota 25 % bola nameraná ako v suchej, tak aj tekutej vzorke produktu Nutrilon, čo je zhodné s deklaroványm obsahom na obale. Pre športovcov je najzaujímavejšia na srvátkových preparátoch informácia o obsahu proteínov. Pri porovnaní stanovených celkových bielkovín s oficiálnymi údajmi na obaloch produktov bolo zistené, že výsledky sú veľmi podobné. Najväčší rozdiel medzi uvádzanou hodnotou a nami zistenými obsahom bol v prášku Impact Whey, kde výrobca udáva 82% obsah bielkovín, no nami zistená skutočnosť bola 75,65 %. S podobnými rozdielmi v deklarovaniach údajoch o obsahu bielkovín v 4 vzorkách z USA a 7 z Brazílie z 20 analyzovaných rôznych srvátkových doplnkov výživy sa možno stretnúť aj v literatúre (Almeida et al., 2016).

Tabuľka 2: Porovnanie stanoveného obsahu bielkovín a tuku s údajmi na obale

vzorka	tuk v suchej vzorke	tuk v roztoku	tuk deklarovany	bielkoviny	bielkoviny deklarovane
	%	%	%	%	%
Impact Whey	3,0	4,0	7,5	75,65	82,0
Amalka Bio	0,8	0,3	1,5	11,28	12,0
Warrior Whey	4,0	4,0	7,5	75,86	77,5*
PremiumWhey	1,0	2,0	0,0	96,02	96,0
Nutrilon	25,0	25,0	25,0	11,1	11,11*
*údaje prepočítané na 100 g					

Záver

Stanovenie vlhkosti a aktivity vody ukázalo, že oba parametre dosahujú veľmi nízke hodnoty z čoho vyplýva, že analyzované vzorky nie sú vhodnou živnou pôdou pre rast a množenie baktérií, kvasiniek, či mikroskopických vláknitých húb. Množstvo kyseliny mliečnej zodpovedá údajom v potravinových tabuľkách. Pozitívny nález hydroxymetylfurfuralu v srvátke Amálka Bio bol nízky a svojou hodnotou 1,57 mg na 100 g prášku nepredstavoval zdravotné riziko (povolený limit hydroxymetylfurfuralu v mede je do 40 mg na 100g). Komparácia obsahu celkových bielkovín a tuku v porovnaní s deklarovanými údajmi na obale naznačila, že vo vzorke Impact Whey by mohlo ísť o zavádzanie spotrebiteľa, keďže obe stanovené hodnoty najvýznamnejších nutričných zložiek boli nižšie. V suchom srvátkovom koncentráte boli stanovené 3 % tuku namiesto 7,5 % a iba 75,65 % bielkovín namiesto 82 %. Hodnoty v ostatných vzorkách sa výrazne nelíšili od informácií na obale.

Literatúra

- Ha, E. - Zemel, M.B. Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people. In *J. Nutr. Biochem.* 2003, 14(5), pp. 251–258
- Jelen, P. Whey processing: Utilization and products. In *Encyclopedia of Dairy Sciences*, London: Academic Press. 2003, ISBN 978-0-12-227235-6. pp. 2739–2745.
- Dudriková, E., Pažáková, E. Hygiena a technológia mlieka a mliečnych výrobkov, Praktické cvičenia, 2. časť. UVLF v Košiciach, Košice, 2009, ISBN 978-80-8077-134-8, 82 s.
- FSSAI (Food Safety and Standards Authority of India): Manual of Methods of Analysis of Foods. Lab. Manual 1. Milk and Milk Products. New Delhi, India, 2015, 200 pp.
- Baranová, M.: Technológia sacharidov, čokolády a cukrovínok, Praktické cvičenia. Vysokoškolská učebnica UVLF v Košiciach, Košice, 2014, ISBN 978-80-8077-410-3, 70 s.
- Vojtaššáková a kol. Mlieko a vajcia, potravinové tabuľky. NOI-ÚVTIP, Bratislava, 2000, 188s, ISBN 80-85330-76-8
- Vorlová, L. et al. Hydroxymetylfurfural contents in foodstuffs determined by HPLC method. In *Journal of Food and Nutrition Research.* 2006; 45(1), pp. 34-38.
- Almeida, C. et al. Protein and Amino Acid Profiles of Different Whey Protein Supplements. In *J Diet Suppl.* 2016; 13(3), pp. 313-23.

Podakovanie

Práca bola podporená grantom Kega 005-UVLF-4/2015.

Kontaktná adresa:

RNDr. Zuzana Dičáková, PhD.

Katedra hygieny a technológie potravín, Ústav hygieny a technológie mlieka, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, Komenského 73, 041 81 Košice.

E-mail: zuzana.dicakova@uvlf.sk

Stabilita tetracyklinových antibiotik v medu *Stability of Tetracycline Antibiotics in Honey*

Dluhošová, S., Kaniová, L., Borkovcová, I., Vorlová, L.
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Naše práce byla zaměřena na sledování stability tetracyklinových antibiotik oxytetracyklinu, tetracyklinu a chlortetracyklinu během zpracování vzorku a optimalizace analytického postupu stanovení tetracyklinových antibiotik v medu. Stabilita byla testována na roztocích standardů tetracyklinů v nejčastěji používaných rozpouštědlech – vodě, methanolu a Na₂EDTA-McIlvaine pufru (citráto-fosfátovém pufru s kompletačním činidlem). Následně byl optimalizován postup přípravy na modelových vzorcích medu obohacených tetracyklinovými antibiotiky na koncentračních úrovních 1, 2 a 4 mg/l za použití Na₂EDTA-McIlvaine pufru jako rozpouštědla. Stabilita tetracyklinových antibiotik byla sledována po dobu třiceti dní v intervalu 3x týdně. Antibiotika byla stanovena vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií na reverzní fázi s UV detekcí. Degradace směšného standardu tetracyklinových antibiotik ve vodě byla 69 – 85 %, v methanolu 28 – 61 % a v Na₂EDTA-McIlvaine pufru 46 – 53 %. Degradace směšného standardu tetracyklinů ve vzorku medu ve zvolených koncentracích byla 2 – 61 %.

Klíčová slova: *oxytetracyklin, tetracyklin, chlortetracyklin, HPLC, SPE*

Abstract

Our work was focused on monitoring of the stability of tetracycline antibiotics oxytetracycline, tetracycline and chlortetracycline during sample processing and optimizing of the analytical procedure for the determination of tetracycline antibiotics in honey. Stability was tested on standard solutions of tetracyclines in most commonly used solvents - water, methanol and Na₂EDTA-McIlvaine buffer (citrate phosphate buffer). Subsequently, the preparation procedure was optimized to model honey's samples spiked with tetracycline antibiotics at concentration levels 1, 2 and 4 mg/l using Na₂EDTA-McIlvaine buffer as solvent. The stability of the tetracycline antibiotics was monitored for thirty days in the interval 3 times a week. Tetracycline antibiotics were determined by high performance reverse phase liquid chromatography with UV detection. Degradation of tetracycline antibiotics was 69 to 85% in water, 28 to 61% in methanol and from 46 to 53% in Na₂EDTA-McIlvaine buffer. Degradation of tetracycline antibiotics was from 2 to 61 % in spiked honey samples at selected concentrations.

Úvod

Tetracykliny jsou antibiotika s širokým spektrem účinku a používají se jako veterinární léčiva i doplňkové látky. V Evropské unii není jejich použití pro prevenci a léčbu ve včelařství povoleno. Přítomnost reziduí těchto látek v medu je z důvodu použití v zemích mimo Evropskou unii, kde slouží k prevenci a léčbě moru včelího plodu

(*Paenibacillus larvae*) a hnilobě včelího plodu (*Melissococcus plutonius*) (Peres *et al.*, 2010; Reybroeck *et al.*, 2012). Tato rezidua mohou být rizikem pro spotřebitele projevujícím se alergiemi, toxickými účinky a bakteriální rezistencí (Yang *et al.*, 2014). Na základě poznatků o špatné stabilitě tetracyklinů (degradace, tvorba inaktivních komplexů a epimerizace) (Peres *et al.*, 2010; Oka *et al.*, 2000; Pena *et al.*, 2005) jsme se rozhodly porovnat jejich stabilitu ve směsných standardech v různých rozpouštědlech a v medu. Pro stabilitu v medu bylo použito rozpouštědlo Na₂EDTA-McIlvaine pufr. Tento pufr je nejvhodnějším rozpouštědlem medu z důvodu jeho nejlepší výtěžnosti tetracyklinů při přečišťování medové matrice pomocí extrakce na tuhou fázi (SPE).

Materiál a metodika

Chemikálie:

Chemikálie byly analytického stupně čistoty. Methanol HPLC a acetonitril HPLC (Merck, Německo), kyselina šťavelová dihydrát, kyselina citrónová monohydrát, komplexon III a hydrogenfosforečnan sodný dihydrát (Penta, ČR). Standardy tetracyklin hydrochlorid, oxytetracyklin hydrochlorid a chlortetracyklin hydrochlorid (Sigma-Aldrich, Německo). SPE kolona HLB Oasis 500 mg, 6 ml, chromatografická kolona Nova-Pak C8, 3,9 x 150 mm, 4 µm (Waters, Irsko). Voda HPLC čistoty byla připravena použitím Aqua Osmotic 03 device (Tišnov, ČR).

Jako modelový med byl použit květový med bez obsahu tetracyklinových antibiotik.

Pracovní roztoky tetracyklinů:

Byl připraven směsný roztok tetracyklinových antibiotik (TCs) obsahující oxytetracyklin (OTC), tetracyklin (TC) a chlortetracyklin (CTC) o koncentraci 2 mg/l. Pro rozpuštění byla použita voda HPLC čistoty, methanol a McIlvaine pufr o pH 4,0 s přídatkem Na₂EDTA. Roztoky byly přefiltrovány membránovým filtrem 0,45 mm do tmavých (amber) vialek a uchovány ve tmě při teplotě 6 °C. Byla měřena stabilita TCs po dobu jednoho měsíce v intervalu 3x týdně.

Příprava vzorku:

10 g medu bylo rozpuštěno v 30 ml Na₂EDTA-McIlvaine pufru. K tomuto roztoku byly přidány standardy TCs rozpuštěných v Na₂EDTA-McIlvaine pufru tak, že vznikly roztoky o koncentracích 1, 2 a 4 mg/l. Vše bylo doplněno na objem 50 ml Na₂EDTA-McIlvaine pufr. Vzorky medů obohacené o TCs byly odstředěny při 5000 otáčkách po dobu 5 minut a přečištěny pomocí SPE dle dřívější studie (Dluhošová *et al.*, 2016). Vzorky byly po eluci vysušeny na vakuové odparce, rekonstituovány ve 2 ml mobilní fáze (12 mM kyselina šťavelová) a přefiltrovány přes membránové filtry 0,45 mm do amber vialek. Takto připravené vzorky byly uchovány ve tmě při 6 °C a stabilita TCs byla sledována po dobu jednoho měsíce v intervalu 3x týdně.

HPLC stanovení:

TCs byly stanoveny metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie na reverzní fázi (RP-HPLC) s gradientovou elucí. Analýza byla provedena pomocí separačního modulu Alliance 2695 s PDA detektorem 2996. Separace probíhala na koloně Nova-Pak C8, 150 x 3,9 mm, 4 µm. Jako mobilní fáze byly použity 12 mM kyselina šťavelová a methanol:acetonitril (50:50). Podmínky pro chromatografii byly: průtok 0,8 ml/min, teplota kolony 35 °C, velikost nástřiku 30 µl. Detekce probíhala v UV oblasti při vlnové

délce 355 nm. K vyhodnocení byla použita metoda kalibrační přímky pomocí softwaru Empower 2.

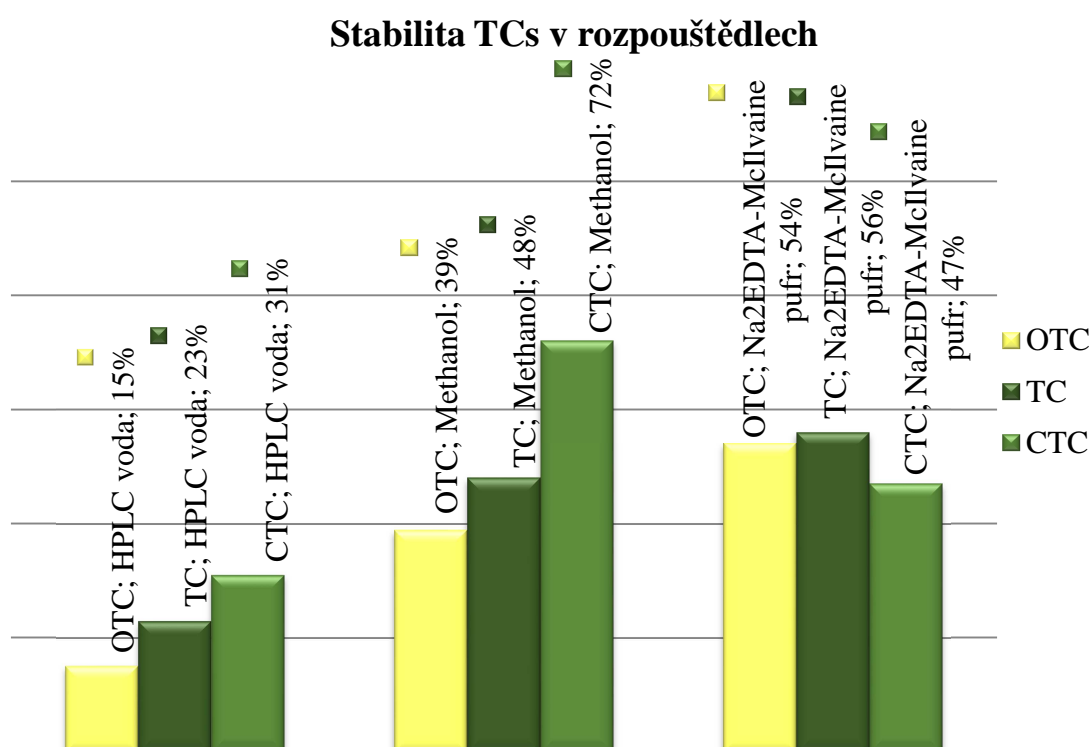
Výsledky a diskuze

Stabilita tetracyklinových antibiotik v různých rozpouštědlech

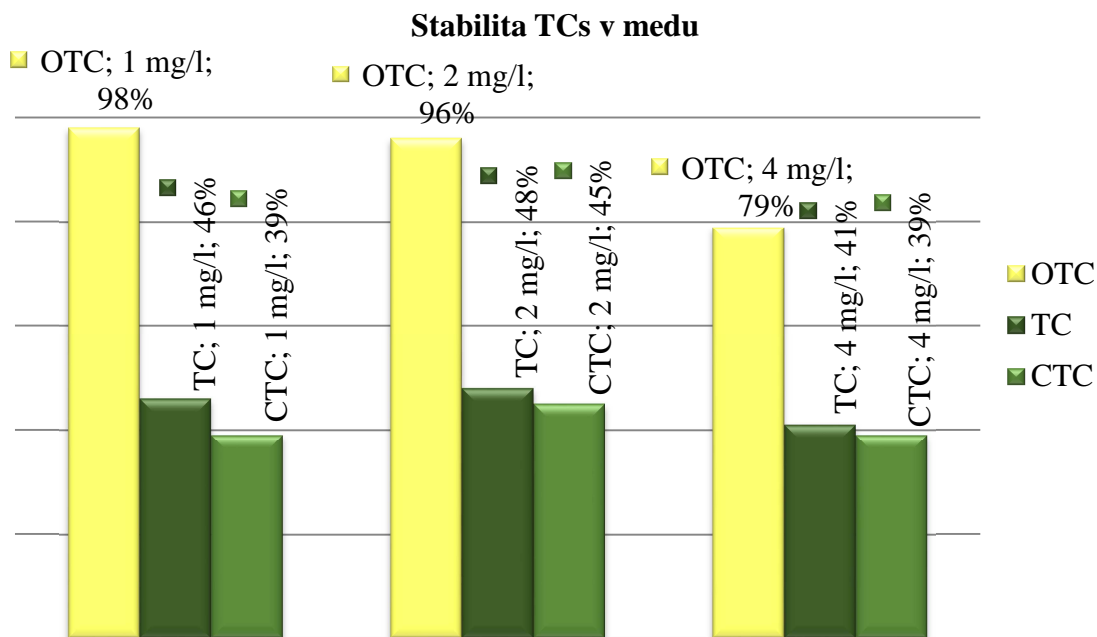
Ve směsném standardu TCs v koncentraci 2 mg/l byla zaznamenána variabilní stabilita tetracyklinů v závislosti na použitém rozpouštědle, jak je znázorněno v grafu 1.

Stabilita tetracyklinových antibiotik v medu

Směsný standard TCs v medu za použití Na₂EDTA-McIlvaine pufru jako rozpouštědla byl hodnocen v koncentracích 1, 2 a 4 mg/l. Ve všech uvedených koncentracích byl nejstabilnější OTC. Stabilita TCs v medu je znázorněna v grafu 2.



Graf 1. Stabilita směsného standardu TCs v rozpouštědlech



Graf 2. Stabilita směšného standardu TCs v medu

Tetracyklinová antibiotika v roztoku jsou obecně považována za velmi málo stabilní, proto se vždy před analýzou připravují čerstvé pracovní roztoky. Stabilita tetracyklinů je ovlivněna postupem v přípravě vzorků a použitím laboratorního skla, protože podléhají fotodegradaci (Gajda *et al.*, 2013; Viñas *et al.*, 2003; Carrasco-Pancorbo *et al.*, 2008). Z našich výsledků je patrná klesající stabilita tetracyklinů, proto je příprava čerstvých pracovních roztoků před analýzou velmi důležitá. Peres *et al.* (2010) hodnotili stabilitu TCs v medu a zjistili stabilitu < 5 % pro OTC, 24 % pro TC a 29 % pro CTC v obohaceném vzorku medu po šedesáti dnech skladování při teplotách 20 - 30 °C.

Závěr

Cílem práce bylo zhodnotit stabilitu směšného standardu tetracyklinových antibiotik v různých rozpouštědlech používaných při stanovení TCs a následně optimalizovat analytický postup na vzorku medu s přídatkem TCs. Byla zjištěna nízká stabilita TCs v HPLC vodě a vysoká stabilita v Na₂EDTA-McIlvaine pufru a methanolu. Degradace směšných standardů tetracyklinů se v závislosti na použitém rozpouštědle pohybovala od 28 do 85 %. Naopak byla zjištěna dobrá stabilita OTC v medu při použití Na₂EDTA-McIlvaine pufru jako rozpouštědla. Degradace směšných standardů tetracyklinů v medu pro zvolené koncentrace byla v rozmezí 2 až 61 %.

Poděkování

Tato práce byla podpořena projektem IGA 214/2016/FVHE VFU Brno.

Literatura

Carrasco-Pancorbo, A., Casado-Terrones, S., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. Reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled to ultraviolet and electrospray time-of-flight mass spectrometry on-line detection for the separation of eight tetracyclines in honey samples. *Journal of Chromatography A*, 2008, vol. 1195, s. 107-116.

Dluhošová, S., Borkovcová, I., Kaniová, L., Vorlová, L. Stanovení tetracyklinových antibiotik v medu pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie. In: *Sborník příspěvků XVIII. Konference mladých vědeckých pracovníků s mezinárodní účastí, 25. května 2016, Brno, Česká republika, VFU Brno, 2016, s. 31-33. ISBN: 978-80-7305-772-5.*

Gajda, A., Posyniak, A., Bober, A., Bladek, T., Zmudzki, J. Oxytetracycline residues in honey analyzed by liquid chromatography with UV detection. *Journal of Apicultural Science*, 2013, vol. 57, s. 25-32.

Oka, H., Ito, Y., Matsumoto, H. Chromatographic analysis of tetracycline antibiotics in foods. *Journal of Chromatography A*, 2000, vol. 882, s. 109-133.

Pena, A., Pelantova, N., Lino, C. M., Silveira, M. I. N., Solich, P. Validation of an analytical methodology for determination of oxytetracycline and tetracycline residues in honey by HPLC with fluorescence detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, vol. 53, s. 3784-3788.

Peres, G. T., Rath, S., Reyes, F. G. A HPLC with fluorescence detection method for the determination of tetracyclines residues and evaluation of their stability in honey. *Food Control*, 2012, vol. 21, s. 620-625.

Reybroeck, W., Daeseleire, E., De Brabander, H. F., Herman, L. Antimicrobials in beekeeping. *Veterinary Microbiology*, 2012, vol. 158, s. 1-11.

Viñas, P., Balsalobre, N., López-Erroz, C., Hernández-Córdoba, M. Liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection for the analysis of tetracycline residues in honey. *Journal of Chromatography A*, 2004, vol. 1022, s. 125-129.

Yang, X., Zhang, S., Yu, W., Liu, Z., Lei, L., Li, N., Zhang, H., Yu, Y. Ionic liquid-anionic surfactant based aqueous two-phase extraction for determination of antibiotics in honey by high-performance liquid chromatography. *Talanta*, 2014, vol. 124, s. 1-6.

Kontaktní adresa:

MVDr. Sandra Dluhošová

VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie mléka, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno.

E-mail: h14015@vfu.cz

Stanovení barvy másla

Determination of color butter

Doležalová, J., Slámová, A.

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

V systému CIELAB byly u másla stanoveny barevné parametry $L^*a^*b^*C^*h$. Máslo bylo od čtyř různých výrobců. Během měření, které trvalo pět dní, bylo skladováno v chladničce. Mezi druhy másel byl prokázán statisticky významný rozdíl u všech parametrů. V závislosti na době skladování byl výsledek podobný, tedy až na parametr L^* , u kterého průkaznost nebyla nalezena.

Klíčová slova: *CIELab, CIELCh*

Abstract

Color parameters $L^*a^*b^*C^*h$ for butter were determined. Butter was made by four different producers. During the measurements, which took five days, butter was stored in the refrigerator. Between the types of butter were found a statistically significant differences in all parameters. Depending on the storage time the results were similar, except for the parameter of L^* .

Úvod

Pro udržení stálé barevnosti másla a zároveň barvy akceptovatelné konzumentem, potřebuje výrobce objektivně zhodnotit barvu svých výrobků a následně ji porovnávat se standardem, popř. s konkurenčním produktem, čehož dosáhne při použití jedné ze zavedených metod měření barvy.

Barva másla jako parametr kvality není určována žádným závazným předpisem, avšak její měření je rychlým a zcela průkazným ukazatelem dobré a stálé jakosti výrobku.

Materiál a metodika

Vzorky másla byly rozděleny nožem na 20 přibližně stejných dílků a každý z nich byl umístěn do Petriho misky o průměru 50 mm a překryt potravinářskou folií. Jednalo se o máslo od výrobců Olma, Tradiční máslo, Bokada s.r.o a Madety.

Stanovení barvy se provádělo spektrofotometricky dle systému CIELAB(CIE 1986) pomocí přenosného spektrofotometru Color Guide Sphere Spex od firmy BYK Gardner. Před každým měřením by přístroj nakalibrovan příložením přístroje kolmo na černý standard a následně i na standard bílý. Kontrola kalibrace se prováděla na zelený standard. Podobná metodika jako u vaječného žloutku (Dvořák et al., 2009).

Každý vzorek byl změřen třikrát a to na třech různých místech. Výsledná hodnota je průměrem těchto tří měření. Laboratorní teplota se pohybovala v rozmezí $23 \pm 2^\circ\text{C}$.

Měření vzorků bylo prováděno pět po sobě následujících dní, vždy ve stejnou dobu a za stejných podmínek. Mezi měřeními byly vzorky uchovávány v chladničce při teplotě 8°C .

Naměřené hodnoty byly vyhodnoceny v programu Excel, dvoufaktorovou analýzou variance bez opakování (ANOVA). Vyhodnocovány byly průměrné hodnoty z 15 měření.

Výsledky a diskuze

Hodnoty výsledných parametrů jsou uvedeny v tabulce 1. U parametru L*, který představuje měrnou světlost, byl nalezen průkazný rozdíl pouze mezi druhy másel.

Tabulka 1: Výsledné parametry L*, a*, b*, C* a h

		1. den	2. den	3. den	4. den	5. den	F	F _{krit(4,76)}
L*	Olma	88,04	88,81	88,56	88,57	88,15	0,682	3,259
	Tradiční máslo	90,36	89,85	89,95	89,10	90,98		
	Bokada	89,77	89,23	88,49	88,13	88,04		
	Madeta	89,49	89,40	89,74	89,44	89,48		
	F	8,669						
a*	Olma	1,99	2,30	1,90	1,91	1,55	3,416	F
	Tradiční máslo	1,53	1,77	1,39	1,19	1,28		
	Bokada	2,06	2,57	2,51	2,26	2,14		
	Madeta	2,01	1,76	2,02	1,87	1,71		
	F	21,314						
b*	Olma	21,80	22,40	22,25	22,72	22,62	10,082	F
	Tradiční máslo	20,85	21,12	21,26	21,50	22,40		
	Bokada	24,92	24,98	26,68	26,68	26,92		
	Madeta	22,13	22,36	23,18	23,75	23,68		
	F	128,182						
C*	Olma	21,90	22,52	22,33	22,80	22,68	9,34	F
	Tradiční máslo	20,91	21,20	21,31	21,54	22,44		
	Bokada	25,01	25,12	26,80	26,77	27,00		
	Madeta	22,22	22,43	23,27	23,83	23,74		
	F	125,996						
h	Olma	84,79	84,12	85,14	85,20	86,11	6,443	F
	Tradiční máslo	85,82	85,19	86,24	86,81	86,73		
	Bokada	85,28	84,14	84,61	85,16	85,45		
	Madeta	84,81	85,51	85,02	85,49	85,87		
	F	9,798						
	F _{krit(19,76)}	3,49						

Mezi druhy másel byl u všech parametrů L*a*b*C*h prokázán statisticky významný rozdíl. U skladování tomu bylo stejně až na parametr L*.

Parametr b^* , který představuje část spektra odpovídající barvám od modré po žlutou, se v průběhu měření zvyšoval. Máslo bylo po pěti dnech více žluté než na začátku měření, což může být způsobeno oxidací na povrchu. Nejvíce žluté bylo máslo Bokada, což je patrné i v tabulce. Má nejvyšší hodnotu 24,92, nejnižší má Tradiční máslo 20,85. Rozdíl byl zřejmý i při vizuálním porovnání.

Barva másla může být ovlivněna řadou intravitálních faktorů. Vliv může mít třeba například diverzita rostlin na dané lokalitě při pasení krav, které může ovlivnit barvu mléka a následně i barvu másla (Solah et al., 2007).

Závěr

Na základě výsledků lze říci, že na změnu barvy másla má vliv doba skladování, kde kromě parametru L^* byl u ostatních parametrů statisticky významný rozdíl. Mezi jednotlivými druhy másel je statisticky významný rozdíl u všech parametrů a je jen na konzumentovi, jaké máslo preferuje.

Literatura

CIE Colorimetry, 2nd edn., CIE Publications No. 15.2 Commission Internationale de l'Eclairage, Vienna, 1986.

Dvořák, P., Doležalová, J., Suchý, P. Photocolorimetric determination of yolk colour in relation to selected quality parameters of eggs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2009, 89: 1886-1889.

Solah, V.A., Staines, V., Honda, S., Limley, H.A. Measurement of Milk Color and Composition: Effect of Dietary Intervention on Western Australian Holstein-Friesian Cow's Milk Quality. *Journal of Food Science*, 2007, 72, 560-566.

Kontaktní adresa:

Ing. Jana Doležalová, Ph.D.

VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav gastronomie, Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno.

E-mail: dolezalovaj@vfu.cz

Senzorické vlastnosti vybraných druhů kuchyňských solí

Sensory Characteristics of Selected Cooking Salts

Dorđević, Đ., Buchtová, H., Abdullah, F.A.A.
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Abstract

The aim of the work was to establish sensory characteristics of 5 different salts by subjective panelists' perception and color analyzer. Sensory properties of two salt substitutes, with lower sodium content, potassium chloride (Mary) and salt crystals with hollow microsphere (Soda-Lo) were compared with table salt with iodine, fluoride and with sea salt. The evaluation of panelists is indicating that Soda-Lo as new product has very good potential to replace ordinary salts and lower sodium intake of consumers without violation of sensory properties.

Key words: *salt intake, salt substitutes, Soda-Lo*

Introduction

The main source of sodium in diet is sodium chloride. There are several functions of sodium chloride inclusion in food. It serves as ingredient flavor, processing aid and it also influences food safety profile (Fulgoni et al., 2014). Besides positive effects of sodium chloride (table salt: NaCl), there are numerous studies indicating negative aspects of higher sodium intake such as worldwide spread hypertension in adults due to higher salt intake, over recommended limits (sodium: <2 g/day; salt: <5g/day). Opposite from these limits, it has been calculated that average sodium daily intake in Western Europe is 3.8 g/day and 5.5 g/day in Asia (WHO, 2012; Mueller et al., 2016). There have been many efforts for findings salt substitute which would lower sodium intake without violation of sensory properties. Potassium chloride (KCl) has been used widely, mostly as mixture with NaCl (up to 50 %) due to bitter taste of this salt substitute. Certain people can sense bitter taste even in lower concentrations of KCl (Guardia et al., 2006). The aim of the study was comparison of selected salt samples' sensory characteristics, especially salt substitutes (Mary and Soda-Lo) with ordinary used salts (table salt with iodine and sea salt).

Materials and methods

Following salts samples were used for the evaluation of sensory characteristics: table salt with iodine (TI), table salt with fluoride (TF), sea salt (SS), Mary (MA) and Soda-Lo (SL). Chemical composition of salts are provided by producers and shown in Table 1.

16 panelists were instructed to evaluate sensorially following parameters of salts samples: whiteness, finest and smell. The saltiness and the presence of foreign taste panelists evaluated in salts' distilled water solutions prepared with 2 % (TI, TF, SS, MA, producer: K+S Czech Republic a.s., Olomouc, Czech Republic) and 1.75 % (SL, producer: TATE & LYLE, Fredericksburg, Iowa, USA). The saltiness was graded in

two ways: 1. categorizing salts in three groups: less salty, same salty and more salty; 2. Comparing with two standards: without salt and 3 % table salt (TI) solution.

The color indicators, lightness (L), redness (a) and yellowness (b) were measured according to CIE-L*A*B* system with the usage of Minolta CM 2600d (Konica Minolta, Japan). Spectra Magic 3.61 Software was used for parameters' calculation and mean (\pm SD) of five measurements of each sample was reported.

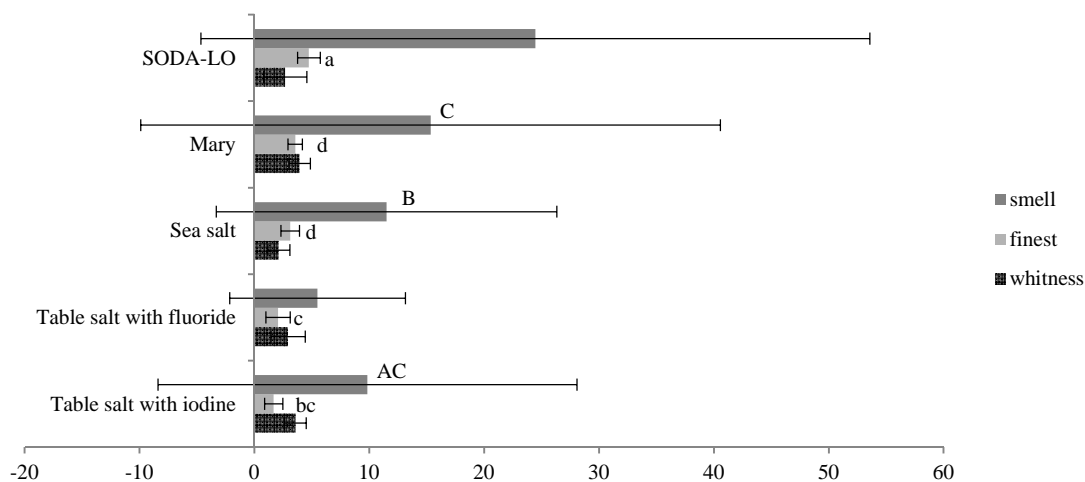
The statistical analysis was done using statistical software SPSS Version 20 for windows (SPSS IBM Corporation, Armonk, USA). The comparison of data was based on one way-ANOVA test. Significant different was determined at a significance level of $p < 0.05$.

Table 1. Chemical composition of examined salts

	Minimal NaCl content (%)	Minimal KCl content (%)	Iodide content (mg/kg)	Fluoride content (mg/kg)	Moisture (%)
TI	98	-	20 – 34	-	<80
TF	98	-	20 – 34	250	<80
SS	98	-	20 – 34	-	<80
MA	58	38	20 – 34	-	<80
SL	87 - 99	-	-	-	<1.75

Results and discussion

Panelists sensory perceptions (smell, finest, whiteness) are show in Figure 1 and 4.

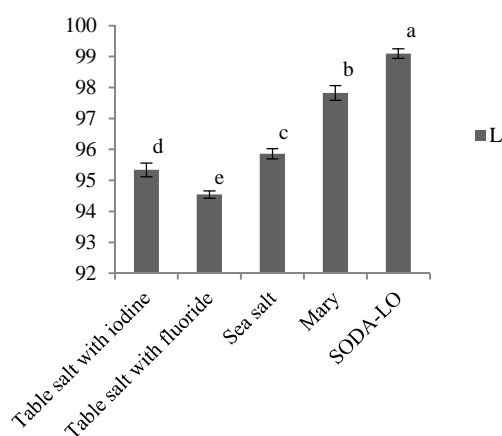


*different lowercase letters (a, b, c, d) indicate significant statistical ($p < 0.05$) difference between salt finest; different uppercase letters (A, B, C) indicate significant statistical ($p < 0.05$) difference between salt smell

Figure 1. Panelists' sensory perception (smell, finest, whiteness) toward 5 different salts.

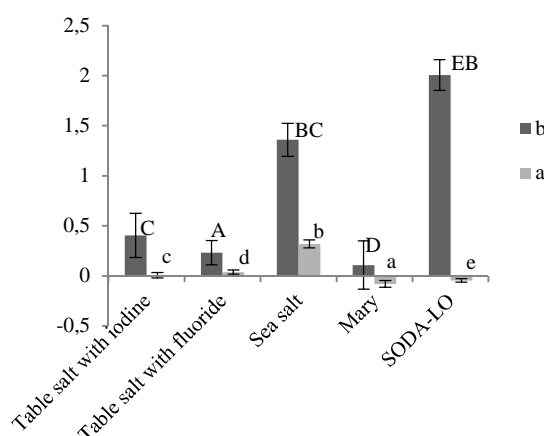
The most white salts according to panelists were MA and TI, though without significant difference ($p < 0.05$). SL was evaluated as the finest salt. The main reduction of sodium

in diet have been attended to be done by replacement of sodium chloride (NaCl) with potassium chloride (KCl) (certain cheese and sausages types can have up to 50 % of NaCl replaced by KCl without significant sensory changes), but certain sensoric differences are obvious between examined salt types, including KCl. Different of chemical composition of sea food certainly can contribute to different sensory properties. Sea salt contains different minerals such as: magnesium, calcium, sulfur, potassium, iron, copper, fluorine, molybdenum, phosphorus, iodine, manganese, zinc and cobalt. Beside sodium chloride (98 %), sea salt usually contains 2 % different minerals portions (magnesium, calcium, sulfur, potassium, iron, copper, fluorine, molybdenum, phosphorus, iodine, manganese, zinc, cobalt) which affect significantly its sensory properties (whiteness, finest, smell and saltiness). The presence of these minerals in sea salts is in dependence with salt production procedure region and type of harvesting (Quick, 2003; Guardia et al., 2006; Drake and Drake, 2011).



*different lowercase letters (a, b, c, d, e) indicate significant statistical ($p < 0.05$) difference between salts' L color characteristic

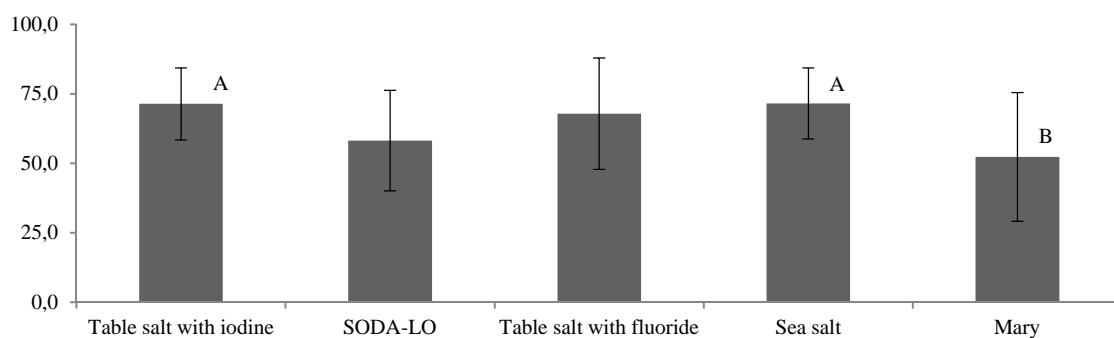
Figure 2. Color characteristic (L) of selected salts



*different lowercase letters (a, b, c, d, e) indicate significant statistical ($p < 0.05$) difference between salts' a color characteristic; different uppercase letters (A, B, C, D, E) indicate significant statistical ($p < 0.05$) difference between salts' b color characteristic

Figure 3. Color characteristics (a, b) of selected salts

Panelists perceived the whiteness of SL as not significantly different from other examined salt samples. Measured by color analysis device, (Figure 2) lightness (L) of SL appeared to be significantly ($p < 0.05$) the highest, while significant differences ($p < 0.05$) were noticed between all examined samples. Iron traces in sea salt can be possible reason for higher yellowness (b) (Figure 3) (Grimes, 2009).



*different uppercase letters (A, B,) indicate significant statistical ($p < 0.05$) difference between salts' saltiness

Figure 4. Panelists' saltiness perception of different salt types

MA according to panelists' saltiness evaluation was the least salty type ($p < 0.05$) of salt (Figure 4), compared with TI and SS. Previous experiments have found positive correlation between sodium content and salty taste (salty taste perception is higher in salts with higher sodium content) (Bradbury, 2004). Different results were gained from panelists when they categorized salts in three groups. The majority of panelists grouped MA as the same salty and more salty in comparison with 2 % solution of table salt with iodine, though their grouping was not statistically significant ($p < 0.05$) different. SL is the product which allows lesser usage of salt (-25 %) due to the technology of SL production that out of standard salt crystals makes hollow microsphere and in that way increases surface area (Fulgoni et al., 2014). Panelists connected bitter taste mostly with MA sample, due to potassium content in this salt substitute. It is the main problem and reason for not wider usage of potassium chloride in food industry. Producers are mixing potassium chloride with table salt usually in concentrations not higher than 50 % to reduce bitterness but also to reduce sodium content in product (Guardia et al., 2006).

Conclusion

Our results are emphasizing the possibility of using Soda-Lo as salt substitutes due to its sensory properties which do not differ significantly from ordinary used salts (table salt with iodine and sea salt). Though, the color of Soda-Lo measured by analyzer differs significantly. The most important sensory characteristic, saltiness, do not differ from other measured salts and by panelists Soda-Lo was characterized the same salty as table salt.

Acknowledgment

Financial support for the study was provided by the Internal Grant Agency of the University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Czech Republic, Project No. 201/2016/FVHE.

References

- Bradbury, J. Taste perception: Cracking the code. *PLoS Biology*, 2004, 2 295–298.
 Drake, S. L., Drake, M. A. Comparison of salty taste and time intensity of sea and land salts from around the world. *Journal of Sensory Studies*, 2011, 26, 25-34.

Fulgoni, V. L., Agarwal, S., Spence, L., Samuel, P. Sodium intake in US ethnic subgroups and potential impact of a new sodium reduction technology: NHANES dietary modeling. *Nutrition Journal*, 2014, 13, 120.

Grimes, W. Salt and pepper. *Living*, 2009, 191, 144–151.

Guardia, M. D., Guerrero, L., Gelabert, J., Gou, P., Arnau, J. Consumer attitude towards sodium reduction in meat products and acceptability of fermented sausages with reduced sodium content. *Meat Science*, 2006, 73, 484–490.

Mueller, E., Koehler, P., Scherf, K. A. Applicability of salt reduction strategies in pizza crust. *Food Chemistry*, 2016, 192, 1116–1123.

Organization (WHO), 2012.

Quick, S. Sea salt: True flavor in a pinch. *Health*, 2003, 17, 172.

WHO. Guideline: Sodium intake for adults and children. Geneva: World Health

Contact address:

Dani Đorđević, MSc.

FVHE VFU Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno.

E-mail: dani_dordevic@yahoo.com

**Využitie vplyvu *Lactobacillus reuteri*
pri výrobe ekologickej potraviny z prasiat**
*Utilization of *Lactobacillus reuteri* influence for production
of ecological food from pigs*

Dudriková E., Húska, M., Kyzeková P., Hatalová E.
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Súhrn

Cieľom práce bolo zistiť vplyv kmeňa *Lactobacillus Reuteri* na imunitnú odpoveď tráviaceho traktu odstavčiat v prítomnosti bakteriálneho patogénu *E. coli*. V dvoch modeloch experimentu boli použité dve skupiny odstavčiat: E – experimentálna skupina (n = 10) a K – kontrolná skupina (n = 10). Na 49. deň experimentu desiatim kusom zvierat skupiny E bol podaný per orálne *Lact. Reuteri* v dávke 3 ml počas piatich dní (1 ml bujónu obsahoval 10^8 *Lact. Reuteri*). Na 54. deň experimentu, bol jednorazovo všetkým zvieratám perorálne aplikovaný enteropatogén *E. coli* 08:K88 v množstve 3 ml na jedno zviera (10^8 baktérií/ml). Za účelom stanovenia hematologického, enzymatologického, bielkovinového a imunologického profilu bola všetkým zvieratám odobratá z očného venózneho splavu v deň odstavu, na 49. deň pred aplikáciou *Lact. Reuteri*, na 54. deň pred aplikáciou *E. coli* a na 59. deň experimentu. Už 24 hod. po aplikácii *E. coli* v skupine K boli zaznamenané prvé klinické príznaky, ako zvýšená telesná teplota a v jednom prípade uhynutie zvierat. V experimentálnej skupine zvierat (skupina E) nedošlo k uhynutiu ani jedného kusa zvierat. Na 59. deň veku odstavčiat všetky namerané krvné hodnoty boli vyššie ($p < 0,01$) u zvierat skupiny E. Elektronovým mikroskopom bola dokázaná adherencia *Lact. Reuteri* na sliznicu tenkého čreva odstavčiat.

Kľúčové slová: ošípané, probiotiká, *Lactobacillus reuteri*, *E. coli*

Abstract

The aim of our study was to obtain more information about the influence of *Lactobacillus Reuteri* on the systemic immunity response in relationship to bacterial pathogen *E. coli* in the digestive tract of piglets. In two model experiments, 18 pigs in each group - experimental (E) and control (C) - were used. For 49 days, 10 animals in group E were given 3 ml of *Lact. Reuteri* oral for 5 days. Each animal was applied with 3 ml *E. coli*. Blood collection was from eyes, through the venous circulation on the 49, 54 and 59 days of age. To realize the aim, we determined phagocytic activity of neutrophils (FA Ne) and leukocytes (FA Lc), the phagocytic activity index of neutrophils (IFA Ne) and leukocytes (IFA Lc), reduction of tetrazolium salt (INT Test) and concentration of total immunoglobulins- (Tlg). 24 hours after application of *E. coli* in group C, first clinical changes, such as increased temperature and, in one case, death, appeared. In group E no death was recorded. Obtained values were highest in group E on 59 day of age ($p < 0.01$). Adherence of *Lact. Reuteri* on to the jejunum epithelium was recorded by electron microscopy.

Úvod

V súčasnom období mnohí spotrebitelia dávajú prednosť nákupu potravín vyprodukovaných v rámci ekologického poľnohospodárstva. Ekologické poľnohospodárstvo už aj na Slovensku zaznamenáva vzostupný trend. Rezervy sú v chove ošípaných, nakoľko záujem spotrebiteľskej verejnosti je o bravčovinu v kvalite BIO veľký. Pri ekologickom chove ošípaných sa musia dodržiavať určité zásady, ktoré okrem iného musia garantovať aj dobrý zdravotný stav zvierat určených na výživu ľudí. Práve ochorenia gastrointestinálneho traktu (GIT) majú najväčší podiel na morbiditu a mortalitu prasiatok v rannom veku. Veľmi častým pôvodcom hnačkových ochorení prasiatok infekčnej etiológie sú rôzne kmene *E. coli* (Amara a Shibl, 2005). Aplikácia probiotík predstavuje jednu z efektívnych metód prevencie ochorení tráviaceho traktu (Atia et al., 2016). Probiotikum ako prirodzený bioregulátor napomáha udržiavať rovnováhu črevnej mikroflóry a bráni kolonizácii GIT-u patogénnymi baktériami (Forsythe, 2016). Pre probiotické účely sa z mikroorganizmov najčastejšie používajú laktobacily (Hou et al., 2015), ktoré tvoria dôležitú súčasť normálnej gastrointestinálnej a aj urogenitálnej mikroflóry ako u ľudí tak aj u zvierat (Straková, 2016). Preto cieľom práce, bolo stanoviť vplyv *Lactobacillus Reuteri* na zdravie prasiat, krížencov plemien slovenskej bielej ušľachtilej - 75% x Landras - 25% odstavených na 42. deň po pôrode a pomocou elektrónovej mikroskopie zistiť adhérenciu *Lact. Reuteri* na sliznicu tenkého čreva odstavčiat.

Materiál a metódy

V dvoch modelových pokusoch bolo použitých 20 ks odstavčiat, kríženci plemien slovenskej bielej ušľachtilej - 75% x Landras - 25% odstavených na 42. deň. Odstavčatá použité v každom pokuse pochádzali z jedného vrhu, rovnakého genetického pôvodu, veku, približne rovnakej hmotnosti. V každom pokuse boli vytvorené dve skupiny - experimentálna (E - 5 zvierat) a kontrolná (K - 5 zvierat) oboch pohlaví. Na 49. deň veku prasiat bol 10 zvieratám v experimentálnej skupine aplikovaný perorálne *Lact. Reuteri* (Wegmann et al., 2015) počas piatich dní v množstve 3 ml na jedno zviera (1 ml bujónu obsahoval 10^8 *Lact. Reuteri*). Na 54. deň bol jednorazovo všetkým zvieratám perorálne aplikovaný enteropatogén *E. coli* 08:K88 v množstve 3 ml na jedno zviera (10^8 baktérií/1 ml). Za účelom stanovenia hematologického, enzymatologického, bielkovinového a imunologického profilu bola všetkým zvieratám odobratá krv z očného venózneho splavu v nasledujúcich intervaloch: v deň odstavu (42. deň), na 49. deň (pred aplikáciou *Lact. Reuteri*), na 54. deň pred aplikáciou *E. coli* a 59. deň pokusu. Pred každým odberom krvi boli zvieratá vážené. Po ukončení experimentu na 59. deň sa deväť zvierat odporazilo za účelom stanovenia pH v žalúdku, duodene, jejune, ileu, coecu a kolóne. Zároveň boli odobraté vzorky čreva na potvrdenie adhérencie aplikovaných *Lact. Reuteri* na sliznicu tenkého čreva elektrónovým mikroskopom.

Stanovenie počtu Er, Lc, koncentrácie Hb, hodnôt Hk, MCV bolo vykonané a vyhodnotené analyzátorom krviniek Serono 150 a Dilutor 106 PLUS. Test FA Ne, IFA Ne, FA Lc, IFA Lc bol prevedený pomocou HEMA častí. Kvantitatívne stanovenie tetrazolium reduktázovej aktivity (INT-test) bolo urobené modifikovanou metódou so

škrobom. Koncentrácia sérových imunoglobulínov (CIg) bola stanovená turbidimetrickou metódou, CB, Alb, Gluk, BIOLA testy (Lachema Brno).

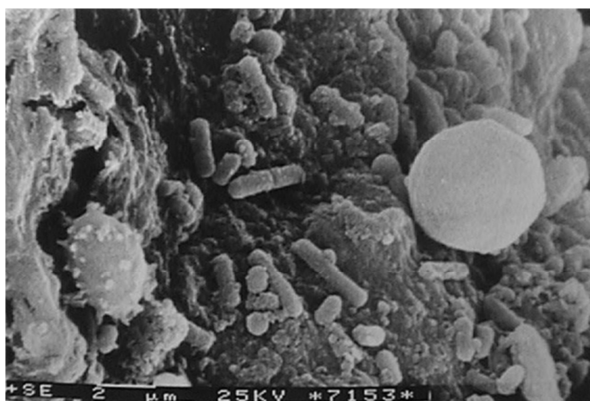
Výsledky a diskusia

Počty leukocytov vykazovali postupný nárast v E skupine odstavčiat, najvyššie boli na 59. deň veku $18,69 \pm 0,70$ g/l, bez významného štatistického rozdielu medzi skupinami. Počas celého experimentu boli počty Lc v rozmedzí fyziologického optima (Yang et al., 2015). Test fagocytárnej aktivity s prítomnosťou HEMA častíc potvrdil nárast na 59. deň FANe u E skupiny $37,80 \pm 0,44\%$ oproti K skupine ($33,69 \pm 1,53\%$), IFANe u E skupiny $3,87 \pm 0,01\%$ oproti K skupine ($3,56 \pm 0,20\%$), FALc u E skupiny $34,0 \pm 1,00\%$ ku K skupine ($29,50 \pm 0,50\%$) a IFALc $3,87 \pm 0,08\%$ v E skupine ku K skupine ($3,03 \pm 0,36\%$). Všetky tieto ukazovatele boli štatisticky významné ($p < 0,01$). Kvantitatívne stanovenie tetrazolium reduktázovej aktivity (INT test) korelovalo s výsledkami testu fagocytárnej aktivity (HEMA častíc). Nárast metabolickej aktivity fagocytov bol na 59. deň $1,94 \pm 0,04\%$ v E skupine ku $1,38 \pm 0,11\%$ v K skupine. Bilancia dusíkového (bielkovinového) profilu zastúpená koncentraciami celkových bielkovín a albumínov, vykazovala vzácnu rovnováhu medzi skupinami. Koncentrácie CB a ALB sa pohybovali v rámci udávaných referenčných hodnôt v oboch skupinách odstavčiat. V našom experimente došlo na 59. deň experimentu k nárastu koncentrácie CIg u E skupiny zvierat ($21,79 \pm 0,99$), u ZST ku K skupine $19,49 \pm 0,80$ u ZST, čo priaznivo ovplyvnilo zdravotný stav experimentálnych zvierat pri ukončení pokusu a pozitívne ovplyvnilo aj hmotnosť v tejto skupine. Po odporazení zvierat bol v tráviacom aparáte zistený negatívny patologickoanatomický nález. Hodnoty pH v daných úsekoch GITu boli v E skupine nižšie, čo mohlo byť ovplyvnené prítomnosťou probiotika, ale štatisticky významný rozdiel medzi porovnanými úsekmi GITu a skupinami nebol preukázaný.

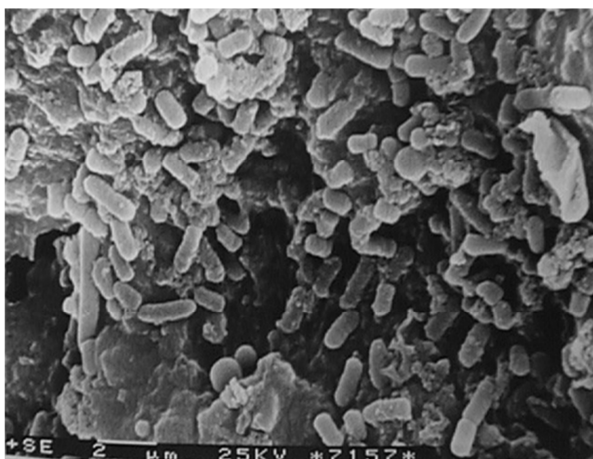
Záver

Pri perorálnej aplikácii *Lactobacillus Reuteri* a *E. coli* sa u odstavčiat zistilo, že: (1) testovaný kmeň neovplyvnil hematologický profil (počet Ec, Lc, koncentráciu Hb, Hk a MCV), štatistický významný efekt ($p < 0,01$) bol zaznamenaný na 59. deň experimentu, pri dynamike schopnosti aktivácie oxidačného metabolizmu fagocytov (INT), hodnotami FANe, IFANe, FALc a IFALc v prospech E skupiny, koncentrácia CIg vykázala na 59. deň pokusu štatistický významný rozdiel ($p < 0,01$), (2) neovplyvnil dusíkový (bielkovinový) profil, koncentrácie CB a ALB boli v oboch skupinách vyrovnané, neovplyvnil koncentráciu glukózy v sére, priaznivo ovplyvnil zdravotný stav zvierat v E skupine, kde nedošlo k úhynom, ani k stratám na hmotnosti, (3) znížil hodnoty pH v GITe u E zvierat, hoci nebola preukázaná štatistická významnosť medzi skupinami a (4) elektrónovou mikroskopiou bola dokázaná adhérenca použitého probiotického kmeňa *Lactobacillus Reuteri* na sliznicu tenkého čreva (Obr. 1, 2) odstavčiat. Z nami dosiahnutých výsledkov vyplýva, že aplikácia použitého kmeňa *Lactobacillus Reuteri* odstavčiat na 49. deň veku *per os* sa môže podieľať na výrobe ekologickej potraviny bez použitia iných prípravkov, ako sú napr. antibiotiká. To má za následok vylúčenie rezíduí antibiotík v mäse týchto zvierat, vylúčenie vzniku antibiotickej rezistencie na patogény prítomné v organizme ošípaných.

Týmto dochádza k znižovaniu ekonomických nákladov pri chove ošípaných a k výrobe ekologickej potraviny pre výživu ľudí.



Obrázek1: Adherencia *Lactobacillus reuteri* na sliznici ilea odstavčiat po 10 dňovej perorálnej aplikácii. Zväčšenie 13 000 x. (zdroj: vlastný obrázok)



Obrázek2 : Adherencia *Lactobacillus reuteri* na sliznici ilea odstavčiat po 10 dňovej perorálnej aplikácii. Zväčšenie 13 000 x. (zdroj: vlastný obrázok)

Literatúra

- Amara A.A., Shibl A. 2015. Role of probiotics in health improvement infection control and disease treatment and management. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 23, 107-114.
- Atia A., Gomma A., Ftiss I., Beysaca E., Garrail G., Subirade M. 2016. A prebiotic matrix for encapsulation of probiotics physicochemical and microbiological study. *European Journal Pharmacology*, 89-101.
- Forsythe, P. 2016. Microbes taming mast cells. Implications for allergic inflammation and beyond *European Journal Pharmacology*, 169-175.
- Hou Cl., Zeng XF., Yang FJ., Liu H., Qiao SY. 2015: Study and use of the probiotic *Lactobacillus reuteri* in pigs. A review. *Journal Animal Science and Biotechnology*, 14, 9-23.
- Straková, E. 2016. Funkčné vlastnosti laktobacilov. Autoreferát dizertačnej práce. Košice, 15s.

Wegmann U., MacKenzie DA., Zheng J., Goesmann A., Roos S., Swarbreck D., Walter J., Crossman LC., Narhale J. 2015. The pan-genome of *Lactobacillus reuteri* strains originating from the pigs gastrointestinal tract. *BMC Genomics*, 2-9.

Yang Y., Zhao X., Minh H.A. Le, Zijlstra Ruurd T., Ganzle Michael G. 2015. Reutericyclin producing *Lactobacillus reuteri* modulates development of fecal microbiota in weanling pigs. *Frontiers Microbiology*, 762, 78-81.

Pod'akovanie

Táto práca bola realizovaná z projektu KEGA č. 005 UVLF 4/2015 a VEGA-1/0476/16.

Kontaktná adresa:

Doc. MVDr. Eva Dudriková, PhD.

UVLF v Košiciach, Ústav hygieny a technológie mlieka, Komenského 73, 041 81 Košice, SR.

E-mail: eva.dudriková@uvlf.sk

**Hygienické aspekty získavania surového mlieka z mliečneho automatu
v kontexte jeho kvality a bezpečnosti**
*Hygienic aspects of milk production from vending machine in the context
of its quality and safety*

Dudriková, E., Lovayová, V.*, Brňáková, E., Výrostková, J., Dičáková, Z.,
Húska, M.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, *UPJŠ Košice

Súhrn

Cieľom práce bolo zo vzoriek surového mlieka zakúpených z mliečneho pojazdného automatu v Košiciach zistiť obsah základných zložiek mlieka, zvodnenie mlieka a mikrobiologickú kvalitu z hľadiska jeho bezpečnosti. Najvyšší celkový počet mikroorganizmov pri 30 °C v mlieku bol v mesiaci január $5,20 \cdot 10^5$ KTJ/ml, najvyšší počet koagulázapozitívnych stafylokokov bol v mesiaci jún $8,30 \cdot 10^3$ KTJ/ml, najvyšší počet koliformných baktérií bol v mesiaci máj $5,50 \cdot 10^3$ KTJ/ml a najvyšší počet enterokokov bol v mesiaci apríl $6,80 \cdot 10^2$ KTJ/ml. Pasterizačný efekt pri teplote 72 °C/15s a 100 °C/1s sa pohyboval od 99,99% do 100,00% pre celkový počet mikroorganizmov a 100,00% pre ostatné sledované mikroorganizmy. V mlieku bola vylúčená prítomnosť *Listeria monocytogenes* počas celého sledovaného obdobia. Mlieko bolo vyšetrené aj na obsah jeho základných zložiek, ktoré predstavovali nasledovné priemerné hodnoty: tuk (3,99%), bielkoviny (3,76%), laktóza (5,51%), beztuková sušina (9,99%) a merná hmotnosť ($1,034 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$).

Kľúčové slová: mlieko, mobilný automat, kvalita, bezpečnosť

Abstract

The goal of this work was to determine the content of basic milk constituents, adulteration of milk with water and microbiological quality from the viewpoint of its safety in the raw milk from vending machine purchased in Košice. Pasteurisation effect of the milk heat treatment at the temperatures of 72 °C/15s and 100 °C/1s was also detected. The highest total number of detected microorganisms in milk samples was as follows: total bacteria count at 30 °C in January ($5.20 \cdot 10^5 \text{ CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$), coagulase positive staphylococci in June ($8.30 \cdot 10^3 \text{ CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$), coliform bacteria in May ($5.50 \cdot 10^3 \text{ CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$) and enterococci in April ($6.80 \cdot 10^2 \text{ CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$). Pasteurisation effect ranged from 99.99 % to 100.00 % for total bacteria count at 30 °C and for other tested microorganisms. In milk during experimental period was excluded the presence of *Listeria monocytogenes*. The milk samples were also tested for the content of milk basic constituents and their mean values were: fat (3.99%), protein (3.76%), lactose (5.51%), solids non-fat content (9.99%) and density ($1.034 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$).

Úvod

Aj keď sa mliekarstvo v súčasnosti nachádza vo vážnej situácii, nie je možné spochybňovať jeho význam vo výžive ľudí zdravej populácie. Základnými benefitmi je jeho jedinečné zloženie a obsah výživových faktorov (bielkoviny, tuk, laktóza, Ca, P, K,

Zn, vitamíny B2, B12, A, anorganické substráty ako Na, K, Cl, Mg, P a anorganické biokatalyzátory - Se, Cr, Zn, Cr, Mn, Fe, Mo, Ni, Sr, B, As), čím mlieko predstavuje jednu z najlepšie vyvážených potravín (Vorlová et al., 2010; Loss et al., 2011). V posledných rokoch (Oliver et al., 2009) na Slovensku narastá záujem spotrebiteľov o nákup surového mlieka z mliečnych automatov, aj keď v čase riešenia uvedenej problematiky v Košiciach túto činnosť prevádzkoval len jeden prevádzkovateľ. Predaj surového mlieka cez mliečny automat sa na jednej strane vyznačuje hlavne v zjednodušení prístupu pre spotrebiteľa k surovému kravskému mlieku aj v centre mesta, na strane druhej z neho vyplýva aj riziko pri konzumácii surového mlieka, a to jeho možnou mikrobiálnou kontamináciou nežiaducimi mikroorganizmami vrátane patogénnych baktérií, parazitov a vírusov a následným vznikom ochorení z potravín (Hunt et al., 2012; Gaulin et al., 2012; Serraino et al., 2013; Puchałska et al., 2016). Narastať môže aj vznik rezistencie voči antimikrobiálnym látkam (Vrabec et al., 2015; Lovayová et al., 2016; Bogdanovičová a Karpíšková, 2016). Preto cieľom práce bolo vyhodnotiť kvalitu a mikrobiologickú bezpečnosť surového mlieka zakúpeného v mobilnom mliečnom automate v Košiciach, počas jedného roka na: (a) celkový počet mikroorganizmov pri 30 °C, (b) počet koliformných baktérií, (c) počet koagulázapozitívnych stafylokokov a ich druhové zastúpenie, (d) prítomnosť *Listeria monocytogenes* a (d) obsah základných zložiek mlieka a zvodnenie mlieka.

Materiál a metódy

Na stanovenie mikrobiologickej kvality a bezpečnosti vzoriek surového mlieka zakúpených do sterilných fliaš v Košiciach z mliečneho automatu počas jednoročného obdobia boli použité príslušné STN EN ISO normy: STN EN ISO 4833 (počet mikroorganizmov rastúcich pri teplote 30 °C za aeróbných podmienok), STN ISO 6888/1/A1 (stanovenie počtu koagulázapozitívnych stafylokokov horizontálnou metódou použitím agarovej pôdy podľa Baird-Parkera), STN ISO 4832 (stanovenie počtu koliformných baktérií na pevných pôdach), STN EN ISO 11290-1/A1 (metóda dôkazu *Listeria monocytogenes*). Na presnú identifikáciu izolátov stafylokokov po prečistení na krvnom agare sa tieto uchovávali v BHI bujóne s 30 % glycerolom v ITEST kryobankách B (ITEST plus, Hradec Králové, ČR) pri teplote -20 °C až do doby použitia. Fenotypová identifikácia stafylokokov bola vykonaná hmotnostným spektrofotometrom (Bruker Daltonik, Leipzig, Nemecko) v súlade s odporúčaním výrobcu zariadenia a pomocou softvéru BioTyper verzia 2,00 (Bruker Daltonick) (Brňáková, 2016).

Množstvo základných zložiek mlieka (tuk, bielkoviny, laktóza, sušina, merná hmotnosť, percenta pridanej vody do mlieka) sa stanovilo prístrojom LactiCheck (USA) podľa priloženého návodu od výrobcu. Hodnotený bol aj pasterizačný efekt pri rôznej tepelnej úprave vzoriek zakúpeného mlieka v laboratórnych podmienkach. pri teplote 72 °C po dobu 15 sekúnd a pri teplote 100 °C po dobu 1 sekundy (imitácia prevarenia mlieka v domácich podmienkach). Na dosiahnutie danej teploty sa použil vodný kúpeľ. Pasterizačný efekt sa vyjadril ako percento usmrtených mikroorganizmov v procese pasterizácie vzhľadom k ich pôvodnému počtu v surovom kravskom mlieku (Dudriková et al., 2016). Vždy bol zakúpený jeden liter mlieka, pričom pri odbere vzoriek mlieka sa odmerala teplota vpichovým prenosným teplomerom a vzorky sa odniesli do laboratória

v chladiacom boxe pri teplote (+ 4 °C ± 0,5 °C) a analyzované do dvoch hodín od zakúpenia.

Výsledky a diskusia

Vo všetkých nami odobraných vzoriek surového kravského mlieka zakúpeného prostredníctvom mobilného mliečného automatu kritérium (najviac 100 000.ml⁻¹; nariadenie (EP) a Rady 853/2004) stanovujúce celkový počet mikroorganizmov pri 30 °C v surovom kravskom mlieku nebolo splnené. Priemerná hodnota celkového počtu mikroorganizmov v surovom kravskom mlieku z mobilného mliečného automatu počas sledovaného obdobia (Tab. 1) bola 4,86.10⁵ KTJ.ml⁻¹mlieka, priemerný počet koagulázapozitívnych stafylokokov (7,93.10² KTJ.ml⁻¹), koliformných baktérií (5,05.10³ KTJ.ml⁻¹) a enterokokov (6,29.10² KTJ.ml⁻¹). Ani jedna vzorka mlieka nebola pozitívna na výskyt *Listeria monocytogenes* počas celého experimentálneho obdobia. Najvyšší počet koagulázapozitívnych stafylokokov v nami odobranej vzorke surového kravského mlieka z mobilného mliečného automatu bol v mesiaci jún (8,3.10³ KTJ.ml⁻¹) a naopak najnižší počet koagulázapozitívnych stafylokokov bol v mesiaci február (7.10³ KTJ.ml⁻¹) (Tab. 1). Pasterizačný efekt na úrovni 100% bol počas celého roka 2014 za použitia oboch pasterizačných teplôt (72 °C/15 s a 100 °C/1). Limit stanovený pre *Staphylococcus aureus* v mlieku pri odbere jednej vzorky je 500 KTJ.ml⁻¹ („m“). Prekročenie tohto limitu bolo detegované u všetkých vzoriek surového kravského mlieka. Fenotypovou identifikáciou pomocou prístroja MALDI TOF MS, boli zistené nasledovné druhy stafylokokov: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. hemolyticus*, *S. simulans* a *S. aureus* spp. *aureus*. Pasterizačný efekt sa pohyboval od 99,99% do 100,00% pre celkový počet mikroorganizmov a 100,00% pre ostatné sledované mikroorganizmy. Podobné výsledky mikrobiologickej kvality surového mlieka uvádzajú vo svojej práci aj iní autori (Giacometti et al., 2012; Tremonte et al., 2014; Rahamtalla et al., 2016).

Priemerné hodnoty sledovaných základných zložiek mlieka v sledovanom období (Tab. 2) boli pre obsah tuku 3,99%, obsah bielkovín 3,76%, laktóza 5,51%, beztuková sušina 9,99%. Priemerná hodnota mernej hmotnosti mlieka bola 1,034 g.cm⁻³ v rozpätí od 1,030 do 1,034 g.cm⁻³, čo poukazuje na to, že mlieko nebolo zvodnené. Nami detegovaný obsah zložiek vo vzorkách mlieka zakúpených v mliečnom automate bol vyšší, ako vo svojej práci uvádzajú Kozačinski et al. (2016). Rozdiely v obsahu základných zložiek mlieka počas sledovaného obdobia možno dať do súvislosti s pôsobením rôznych faktorov, ako napr. zdravotný stav mliečnej žľazy, poradie a štádium laktácie dojníc, celkový zdravotný stav dojníc (Mudroň a Bielik, 2016), kvalita krmiva, sezónnosť atď. Odborná a vedecká literatúra poskytuje dostatok informácií o vplyve uvedených faktorov na zloženie mlieka, jeho fyzikálno-chemické a nakoniec aj mikrobiologické vlastnosti mlieka (Dražetič et al., 2013; Claves et al., 2013, 2014; Zajác et al., 2015; Zarzyńska et al., 2016). Významný vplyv má aj dodržiavanie zásad hygienického získavania a prvotného ošetrenia mlieka, ako aj vplyv hygieny maštalného prostredia na zdravotný stav, welfare a kvalitu mlieka v chove dojníc (Gregová a kol., 2016). Opomenúť nemožno ani dodržanie hygienických pravidiel počas nákupu mlieka konečným spotrebiteľom, na čo poukazuje zvýšenie počtu sledovaných mikroorganizmov nad súčasnú legislatívnu úpravu v nami odobratých vzorkách mlieka z mliečného automatu.

Tabuľka 1: Mikrobiologická kvalita vzoriek mlieka odobratých z mliečneho automatu v Košiciach počas roku 2014

mesiac	počty mikroorganizmov v 1 ml mlieka				
	CPM	koaguláza pozitívne stafylokoky	koliformné baktérie	enterokoky	<i>Listeria monocytogenes</i>
	x 10 ⁵	x 10 ²	x 10 ³	x 10 ²	
január	5,20	7,40	5,00	600	N
február	4,90	7,00	5,20	6,20	N
marec	5,00	8,10	480	6,40	N
apríl	4,80	8,20	5,20	6,80	N
máj	4,90	8,00	5,50	6,50	N
jún	5,00	8,30	5,00	6,50	N
júl	4,80	8,00	5,20	6,30	N
august	4,90	8,10	5,10	6,80	N
september	4,80	7,90	4,90	5,80	N
október	4,60	8,20	5,00	6,30	N
november	4,80	8,10	5,10	6,00	N
december	4,70	7,80	4,70	5,90	N

CPM-celkový počet mikroorganizmov pri 30 °C; N-nepreukázané

Tabuľka 2: Obsah základných zložiek mlieka a merná hmotnosť mlieka v sledovanom experimentálnom období (výsledky sú vyjadrené ako aritmetický priemer troch meraní)

mesiac	obsah základných zložiek mlieka (g.l ⁻¹)				merná hmotnosť (g.cm ⁻³ .)
	bielkoviny	tuk	laktóza	beztuková sušina	
január	3,73	4,05	5,47	9,89	1,030
február	3,75	4,01	5,50	9,96	1,032
marec	3,74	4,00	5,49	10,01	1,032
apríl	3,78	4,09	5,51	9,98	1,031
máj	3,77	3,99	5,55	9,99	1,033
jún	3,79	3,91	5,50	10,10	1,034
júl	3,76	3,89	5,46	9,92	1,031
august	3,78	3,95	5,54	10,11	1,033
september	3,75	4,01	5,50	10,02	1,033
október	3,78	4,08	5,49	9,99	1,032
november	3,78	3,96	5,55	9,99	1,033
december	3,76	3,93	5,51	10,01	1,032

Záver

Z výsledkov našej práce vyplýva, že predaj surového mlieka prostredníctvom mliečneho automatu má svoje opodstatnenie a bude pokračovať aj v budúcnosti. Na dosiahnutie štandardnej kvality a bezpečnosti surového mlieka konečnému spotrebiteľovi však bude potrebné zo strany dodávateľa obrátiť pozornosť na hygienu dojenja a prvotné ošetrenie mlieka po nadojení, resp. na stále dodržiavanie hygieny pri vlastnom predaji mlieka z mliečneho automatu konečnému spotrebiteľovi, aby nedochádzalo k zvýšeniu

celkového počtu mikroorganizmov v surovom mlieku, resp. ostatných mikroorganizmov, ktoré sa v mlieku nachádzajú. Prevarenie mlieka konečným spotrebiteľom je v súčasnom období nevyhnutnosťou, z čoho vyplýva aj informovanie konzumentov, prečo sa má v domácich podmienkach mlieko prevariť.

Literatúra

Bogdanovičová, K., Karpíšková, R. 2016. Charakteristika a antimikrobiálna rezistencia *Staphylococcus aureus* zo surového mlieka v Českej republike. In *Zb. "Hygiena alimentorum XXXI"*, Štrbské Pleso-Vysoké Tatry, 18. 20. mája 2016, 156-160.

Claeys, W.L., Cardoen, S., Daube, G., De Block, J., Dewettinck, K., Dierick, K., De Zutter, L., Huyghebaert, A., Imberechts, H., Thiange, P., Vandendriessche, Y., Herman, L. 2013. Raw or heated cow milk consumption: Review of risks and benefits. *Food Control*, vol. 31, p. 251-262.

Clayes, W.L., Verraes, C., Cardoen, S., De Block, J., Huyghebaert, A., Raes, K., Dewettinck, K., Herman. Consumption of raw or heat treated milk from different species: An evaluation of the nutritional and potential health benefits. *Food Control*, 2014, vol. 42, p. 188-201.

Dražetić, D., Antunac, N., Samaržija, D., Kalit, S. Kvaliteta mliejeka pojedinih otkupnih područja u Republici Hrvatskoj. *Mljekarstvo*, 2013, roč. 53,č. 3,s. 227-234.

Dudriková, E., Brňáková, E., Výrostková, J., Lovayová, V., Vrabc, M. 2016, Antibiotická rezistencia *S. aureus* izolovaných zo surového kravského mlieka z mobilného automatu. In *Zb. "Hygiena alimentorum XXXI"*, Štrbské Pleso- Vysoké Tatry, 18. 20. mája 2016, 187-190.

Gaulin, C., Levac, E., Ramsay, D., Dion, R., Ismail, J., Gingras, S., Lacroix, C. *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks linked to raw milk cheese in Quebec, Canada: Use of exact probability calculation and case-case study approaches to foodborne outbreaks investigation. *J. Food Protection*, 2012, vol. 75,p. 812-818.

Giacometti, F., Serraino, A., Finazzi, G., Daminelli, P., Losio, M.N., Bonilauri P, Arrigoni, N., Garigliani A, Mattioli R, Alonso S, Piva S, Florio D, Riu R, Zanoni RG. Foodborne pathogens in in-line milk filters and associated on-farm risk factors in dairy farms authorized to produce and sell raw milk in northern Italy. *J. Food Protection*, 2012, vol. 75, no. 7, p. 1263-1269.

Gregová, G., Venglovský, J., Čornejová, T., Sasáková, N., Hromada, R., Kormošová, L. 2016. Vplyv hygieny maštalného prostredia na zdravotný stav, welfare a kvalitu mlieka v chove dojníc. In *Zb. "Hygiena alimentorum XXXI"*, Štrbské Pleso- Vysoké Tatry, 18. 20. mája 2016, 205-208.

Hunt, K., Drummond, N., Murphy, M., Butler, F., Buckley, J., Jordan, K. A case of bovine raw milk contamination with *Listeria monocytogenes*. *Irish Veterinary J.*, 2012, vol. 65,p. 13.

Kozačinski, L., Gross Boškovič, A., Humski, A. et al. 2016. Chemical quality parameters of raw milk from vending machines in Croatia. In *Zb. "Hygiena alimentorum XXXI"*, Štrbské Pleso- Vysoké Tatry, 18. 20. mája 2016, 69-73.

Loss, G., Apprich, S., Waser, M., Kneifel, W., Genuneit, J., Büchele G. Et al. The protective effect of farm milk consumption on childhood asthma and atopy: The GABRIELA study. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011, vol. 128, p. 766-773.

- Lovayová, V., Vargová, L., Nagyová, M., Dudriková, E., Dorko, E., Siegfried, L. Extended-Spectrum β -lactamases producing *Escherichia coli* strains monitored over 4 years in the University Hospital in Košice, Slovakia. *American J. Microbiol.*, 2016, vol. 7, no. 1, p. 32-38. DOI: 10.3844/ajmsp.2016.32.38.
- Mudroň, P., Bielik, B. 2016. Štúdium vplyvu chorôb paznechtov na pôdoj a kvalitu mlieka dojníc. In *Zb. "Hygienu alimentorum XXXI"*, Štrbské Pleso-Vysoké Tatry, 18. 20. mája 2016, 134-137.
- Oliver, S.P., Boor, K.J., Murphy, S.C., Murinda, S.E. 2009. Food safety hazards associated with consumption of raw milks. *Foodborne Pathogen Dis.* 6, 793-806.
- Puchalska, M., Wiśniewski, J., Nowicki, M., Orłowska, B., Anusz, K. 2016. Q fever - a dangerous zoonosis transmitted by milk. In *Zb. "Hygienu alimentorum XXXI"*, Štrbské Pleso-Vysoké Tatry, 18. 20. mája 2016, 300-303.
- Rahamtalla, S.H., Nahla, A., Elsheikh, H., Abdalla, M.O.M. Microbiological quality of raw milk produced and distributed in KHARTOUM state, SUDAN. *ARPN J. Agricultural Biological Sci.* 2016, vol.11, no. 1, p. 1990-6145.
- Serraino, A., Florio, D., Giacometti, F., Piva, S., Mion, D., Zanoni, R.G. 2013. presence of campylobacter and Arcobacter species in inline-milk filters of farms authorized to produce and sell raw milk and of a water buffalo dairy farm in Italy. *J. Dairy Sci.* 2013, vol. 96, p. 2801-2807.
- Tremonte, P., Tiplaldi, L., Succi, M., Pannella, G., Falasca, I., Capilongo, V., Coppola, R., Sorrentino, E. Raw milk from vending machines: Effects of boiling, microwave treatment, and refrigeration on microbiological quality. *J. Dairy Sci.*, 2014, vol. 97, no. 1-8.
- Vorlová, L., Borkovcová, J., Dračková, M., Janštová, B., Navrátilová, P., Standarová, E., Batelková, P., Procházková, Z., Přidalvá, H., Štoudková, H. 2010. Stanovení významných látek v mléce a mléčných výrobcích s ohledem na požadavky a zdraví spotřebitele 21.století. In *Zb. "Hygienu alimentorum XXXI"*, Štrbské Pleso-Vysoké Tatry, 5.-7. mája 2010, 58-62.
- Vrabec, M., Lovayová, V., Dudriková, K., Gallo, J., Dudriková, E. 2015. Antibiotic resistance and prevalence of *Enterococcus* spp. and *Escherichia coli* isolated from bryndza cheese. *Italian J. Animal Sci.*, 14, 4, 3968, DOI: 10.4081/ijas.2015.3968.
- Zajác, P., Čapla, J., Vietoris, V., Zubrická, S., Čurlej, J. Effects of storage on the major constituents of raw milk. *Potravinárstvo*, 2015, vol. 9, no. 1, p. 375-381.
- Zarzyńska, J., Bogdan, J., Plawińska-Czarnak, J. 2016. The specificity of milk. In *Zb. "Hygienu alimentorum XXXI"*, Štrbské Pleso-Vysoké Tatry, 18. 20. mája 2016, 385-389.

Pod'akovanie

Táto práca bola realizovaná z projektu KEGA č. 005 UVLF 4/2015.

Kontaktná adresa:

Doc. MVDr. Eva Dudriková, PhD.

UVLF v Košiciach, Ústav hygieny a technológie mlieka, Komenského 73, 041 81 Košice, SR.

E-mail: eva.dudriková@uvlf.sk

Vplyv selénových doplnkov krmiva na vybrané vlastnosti vajec *Effect of Selenium Dietary Supplementation on Certain Egg Properties*

Fašiangová, M.^{1,2}, Bořilová, G.^{1,2}, Steinhauserová, I.^{1,2}, Kumprechtová, D.³

¹Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

²CEITEC - Central European Institute of Technology, University of Veterinary and
Pharmaceutical Sciences Brno

³Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Praha, Uhřetěves

Souhrn

V súčasnosti si nachádzajú na trhu svoje uplatnenie funkčné potraviny. Selénové vajcia sú ako funkčné potraviny schopné zvýšiť u konzumenta príjem selénu a tak zvýšiť obsah selénu v jeho organizme. Svetové štúdie navyše potvrdili, že selén prispieva k oxidačnej stabilite vajec. Cieľom nášho výskumu bolo potvrdiť antioxidačnú funkciu selénu sledovaním oxidačnej stability tukov v priebehu skladovania skupiny vajec so zvýšeným obsahom selénu a skupiny vajec bez suplementácie. Oxidačná stabilita tukov vaječného žltka bola charakterizovaná obsahom malondialdehydu. Pokus bol ďalej zameraný na stanovenie profilu mastných kyselín žltka vajec oboch skupín. Výsledky nášho výskumu potvrdili, že vajcia s prídavkom selénu majú v priebehu skladovania vyššiu oxidačnú stabilitu tukov žltka a teda nižší obsah malondialdehydu ako vajcia bez selénového prídavku. Koncentrácia mastných kyselín bola u selénových vajec celkovo vyššia ako u vajec bez suplementácie. To opäť potvrdzuje vyššiu stabilitu tukov voči oxidácii u vajec so zvýšeným podielom selénu.

Klíčová slova: *selén, vajcia, suplementácia, oxidácia tukov, antioxidant*

Abstract

Nowadays, functional food has an important role in the food market. Selenium-enriched eggs are as functional food able to increase the human selenium intake and thus the selenium amount in the human organism. Additionally, results from various studies showed that selenium contributes to the oxidation stability of eggs. The aim of our study was to observe the lipid oxidation stability of the selenium-enriched eggs and eggs without supplementation during storage to confirm the antioxidation function of selenium. Oxidation stability was characterized by the malondialdehyde concentration. In addition, the study was focused on the determination of yolk fatty acids profile of both egg groups. A higher lipid oxidation stability and thus a lower malondialdehyde concentration were confirmed in a group with selenium-enriched eggs. Higher fatty acids concentration was observed in eggs with selenium added, which shows their higher lipid stability against oxidation.

Úvod

Záujem spotrebiteľov o zdravú stravu a vedenie zdravého životného štýlu v súčasnosti čoraz viac stúpa. Vďaka tomu si dnes funkčné potraviny nachádzajú na trhu svoje miesto. Spotrebiteľ si môže zvýšiť hladinu nutrične významných látok konzumáciou

obohatených potravín. Jednou z možností ako doplniť deficitný selén, je jeho príjem prostredníctvom selénových vajec.

Je všeobecne známe, že sa rastliny a pôdy na území Európy vyznačujú nízkym obsahom selénu. To sa následne odráža na zníženej hladine selénu vo výžive ľudí a zvierat (Skřivan, 2009). Aj vďaka tomu si v posledných rokoch nachádzajú v chove zvierat svoje uplatnenie selénové kŕmne doplnky. Kŕmne zmesi je možné suplementovať selénovými doplnkami anorganickej a organickej formy. Najčastejšie využívaným zdrojom selénu je anorganický seleničitan sodný (Skřivan et al. 2010; Jing et al 2015).

Podľa výsledkov svetových štúdií sú vajcia obohatené o selén navyše odolnejšie proti účinku voľných radikálov a teda proti starnutiu a kazeniu počas skladovania (Surai, 2002; Wang et al., 2010). Dôvodom je zvýšený obsah a aktivita antioxidantného enzýmu GSH-Px (gluthation peroxidáza) u obohatených vajec, ktorého je selén esenciálnou súčasťou (Pappas et al., 2005; Wang et al., 2010).

Antioxidačný efekt selénu je možné u obohatených vajec overiť sledovaním profilu mastných kyselín a sledovaním koncentrácie malondialdehydu ako ukazovateľa oxidácie lipidov (Mohiti-Asli et al., 2008).

Materiál a metodika

U vzoriek vajec od nosníc kŕmených bazálnym kŕmivom (skupina K) a vajec od nosníc kŕmených kŕmivom s doplnkom anorganického selénu (skupina S) bola sledovaná oxidačná stabilita lipidov a profil mastných kyselín. K hodnoteniu oxidačnej stability bola použitá analýza tiobarbiturového čísla (TBA). Analýza TBA bola vykonaná u čerstvých vajec a u 14, 28 a 35-dňových vajec skladovaných pri teplote 18°C. Tiobarbiturové číslo bolo vyjadrené ako obsah malondialdehydu (g) na gram žltka slepačieho vajca. Malondialdehyd bol zo vzoriek žltkov slepačích vajec izolovaný destiláciou. Po reakcii s kyselinou 2-tiobarbiturovou poskytol ružové sfarbenie, ktorého intenzita bola stanovená spektrofotometricky pri vlnovej dĺžke 532 nm.

Obsah mastných kyselín bol stanovený vo vzorkách žltkov slepačích vajec oboch skupín. Princípom analýzy mastných kyselín bola extrakcia lipidov skúmaných vzoriek s následnou reesterifikáciou mastných kyselín. Ich identifikácia a kvantifikácia bola vykonaná pomocou plynovej chromatografie v kombinácii s hmotnostným spektrometrom typu iónovej pasty Saturn 2100T GC/MS System. Všetky mastné kyseliny boli kvantifikované pomocou autentických štandardov.

Výsledky analýz boli k porovnaniu skupín štatisticky spracované v programe Microsoft Excel 2010 podľa T-testu. Štatisticky významný rozdiel bol stanovený pri hladine pravdepodobnosti $P < 0,001$, $P < 0,01$ a $P < 0,05$.

Výsledky a diskusia

Z analýzy tiobarbiturového čísla vyplýva, že u oboch skupín vajec prebiehali počas skladovania oxidačné zmeny lipidov. Výsledkom zmien bol nárast obsahu malondialdehydu (MDA), sekundárneho produktu oxidácie tukov. U 35-dňových vajec oboch skupín však obsah malondialdehydu mierne klesol. Tento pokles môže byť vysvetleným tým, že malondialdehyd tiež reaguje s množstvom ďalších zlúčenín (amíny, aminokyseliny, aminosaharidy, proteíny a iné), čím sa môže znížiť množstvo malondialdehydu schopného reakcie s kyselinou tiobarbiturovou (Hayat et al., 2010). Výsledky tejto analýzy však potvrdili, že oxidačná stabilita lipidov vajec obohatených

o selén je štatisticky významne vyššia ako u vajec bez suplementácie. Tiobarbiturové číslo bolo v porovnaní so skupinou S vyššie u skupiny K počas celej doby skladovania. To poukazuje na rýchlejší priebeh oxidačných procesov u skupiny K. Dôvodom je pravdepodobne zvýšenie obsahu a aktivity GSH-Px, ktorého je selén pridaný do krmiva esenciálnou súčasťou. Nižšie hodnoty MDA u vajec suplementovaných selénom zaznamenali aj autori Mohiti-Asli et al. (2008).

Tabuľka 1: TBA číslo vyjadrené ako obsah MDA (g/g) v žĺtku vajec obohatených o selén a vajec bez suplementácie počas skladovania

Čerstvosť vajec	Skupina		Hladina pravdepodobnosti
	S	K	
čerstvé	1,1694±0,07 ^a	1,3616±0,10	P < 0,001
14-dňové	1,3665±0,12 ^a	1,5416±0,15	P < 0,01
28-dňové	1,6219±0,15 ^a	1,7611±0,49	P < 0,05
35-dňové	1,4564±0,11 ^a	1,7384±0,48	P < 0,001

^a = štatisticky významný rozdiel oproti skupine K

Tabuľka 2: Prehľad koncentrácie rôznych typov mastných kyselín (mg/g) v žĺtku vajec obohatených o selén a vajec bez suplementácie

	Skupina		Hladina pravdepodobnosti
	S	K	
Σ FA	224,59±13,58 ^a	188,07±21,01	P < 0,05
Σ SFA	72,16±5,80	63,67±13,14	N
Σ USFA	152,43±9,44 ^a	124,42±17,34	P < 0,05
Σ MUFA	92,81±6,07	79,77±12,30	N
Σ PUFA	59,62±8,56 ^a	44,65±8,58	P < 0,05
SFA/USFA	0,47±0,03	0,51±0,06	N

^a = štatisticky významný rozdiel oproti skupine K; Σ FA = suma mastných kyselín; Σ SFA = suma nasýtených mastných kyselín; Σ USFA = suma nenasýtených mastných kyselín; Σ MUFA = suma mononenasýtených mastných kyselín; Σ PUFA = suma polynenasýtených mastných kyselín; SFA/USFA = pomer nasýtených mastných kyselín a nenasýtených mastných kyselín

Pri sledovaní profilu mastných kyselín počas celého pokusu bola zistená vysoká variabilita výsledkov obsahu jednotlivých mastných kyselín medzi vzorkami rovnakej skupiny. Suma všetkých mastných kyselín a sumy nenasýtených a polynenasýtených mastných kyselín boli však u skupiny K štatisticky významne rozdielne ako u skupiny S. Selénom obohatené vajcia boli na mastné kyseliny bohatšie. Tento výsledok opäť potvrdzuje antioxidačnú funkciu selénu. Selén chráni lipidy pred oxidáciou a pred redukciami obsahu niektorých nenasýtených mastných kyselín. S výsledkami vyššej hladiny mastných kyselín u vajec so selénovou suplementáciou sa zhodujú výsledky pokusu Mohiti-Asli et al. (2008). Pappas et al. (2005) navyše uvádzajú, že prídavok selénu do krmenej zmesi obohatenej o polynenasýtené mastné kyseliny vedie k zvýšeniu koncentrácie kyseliny dokosahexaenovej (DHA) vo vaječnom žĺtku. Naopak koncentrácia kyseliny arachidonovej sa po prídavku selénu zníži. Autori

naznačujú, že selén môže reagovať s polynenasýtenými kyselinami prostredníctvom enzýmu GSH-Px, ktorý hrá dôležitú úlohu v regulácii biosyntézy prostaglandínu, ktorého je kyselina arachidonová prekursorom. V našom pokuse je však obsah kyseliny arachidonovej vyšší u selénových vajec, čo sa s tvrdením autorov Pappas et al. (2005) nezhoduje. Napriek tomu tvrdenie týchto autorov o zvýšení koncentrácie DHA po selénovej suplementácii súhlasí s našimi výsledkami, no štatisticky významný rozdiel zistený nebol.

Záver

Výsledky našej štúdie poukázali na antioxidačný význam selénu obohacujúceho vajcia formou doplnku kŕmnej zmesi nosníc. Antioxidačná funkcia selénu sa potvrdila pri sledovaní koncentrácie sekundárneho produktu oxidácie lipidov vo vajciach priebehu ich skladovania. Obsah polynenasýtených mastných kyselín náchylných na oxidáciu je vo vaječnom žĺtku veľmi vysoký. Aj v tomto smere sa antioxidačný účinok selénu potvrdil. U skupiny vajec s vyšším obsahom selénu bol obsah mastných kyselín, predovšetkým nenasýtených vyšší.

Literatúra

- HAYAT, Z., CHERIAN, G., PASHA, T. N., KHATTAK, F. M., JABBAR, M. A. Oxidative stability and lipid components of eggs from flax-fed hens: Effect of dietary antioxidants and storage. *Poultry Science*. 2010, **89**, 1285-1292.
- JING, C. L., DONG, X. F., WANG, Z. M., LIU, S., TONG, J. M. Comparative study of DL-selenomethionine vs sodium selenite and seleno-yeast on antioxidant activity and selenium status in laying hens. *Poultry Science*. 2015, **94**: 965-975.
- MOHITI-ASLI, M., SHARIATMADARI, F., LOTFOLLAHIAN, H., MAZUJI, M. T. Effects of supplementing layer hen diets with selenium and vitamin E on egg quality, lipid oxidation and fatty acid composition during storage. *Canadian Journal of Animal Science*. 2008, **88**, 475-483.
- PAPPAS, A. C., ACAMOVIC, T., SPARKS, N. H. C., SURAI, P. F., MCDEVITT, R. M. Effects of supplementing broiler breeder diets with organic selenium and polyunsaturated fatty acids on egg quality during storage. *Poultry Science*. 2005, **84**, 865-874.
- SKŘIVAN, M. Zvýšení obsahu selenu ve vejcích. Metodika. 2009, Výzkumný ústav živočišné výroby. Praha, Uhřetěves.
- SKŘIVAN, M., BUBANCOVÁ, I., MAROUNEK, M., DLOUHÁ, G. Selenium and α -tocopherol content in eggs produced by hens that were fed diets supplemented with selenomethionine, sodium selenite and vitamin E. *Czech Journal Animal Science*. 2010, **55**, 388-397.
- SURAI, P. F. Selenium in poultry nutrition: 2.Reproduction, egg and meat quality and practical applications. *World's Poultry Science Journal*. 2002, **58**, 431-450.
- WANG, Z. G., PAN, X. J., ZHANG, W. Q., PENG, Z. Q., ZHAO, R. Q., ZHOU, G. H. Methionine and selenium yeast supplementation of the maternal diets affects antioxidant activity of breeding eggs. *Poultry Science*. 2010, **89**, 931-937.

Pod'akovanie

Táto práca bola finančne podporená projektom CEITEC 2020 (LQ1601).

Kontaktná adresa:

Ing. Miroslava Fašiangová

VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie masa, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno.

E-mail: fasiangovam@vfu.cz

Kvalita vín odrody Rulandské šedé rôzneho geografického pôvodu a enogastronómia

Wine quality of Pinot Gris variety of different geographic origin and enogastronomy

Fikselová, M., Czako, P., Červenková, M., Zeleňáková, L., Golian, J.
Slovenská poľnohospodárska univerzita Nitra

Súhrn

Slovenské akostné vína odrody Rulandské šedé (2013) pochádzajúce z rôznych lokalít Slovenska boli sledované pre stanovenie vybraných chemických parametrov, ako sú celková kyslosť, obsah cukru (FTIR spektroskopiou) a senzorické hodnotenie vín. Obsah kyselín vo vzorkách sa pohyboval od 4,3 g.l⁻¹ do 6,8 g.l⁻¹. Celková kyslosť bola porovnaná s Nariadením Rady (ES) č. 491/2009, výsledky sú v súlade s jeho požiadavkami. Obsah zvyškového cukru vo vzorkách vín sa pohyboval od 0 do 13,9 g.l⁻¹, výsledky boli vyhodnotené v súlade s Nariadením Komisie (ES) č. 607/2009. Senzorické hodnotenie sa vykonalo 100 bodovým systémom (OIV), vína boli klasifikované ako veľmi dobré až v dobrej kvalite. Môžeme konštatovať, že oblasť pôvodu mala vplyv na sledované parametre kvality vína. V neposlednom rade boli vykonané enogastronomické odporúčania sledovaných vzoriek vín.

Kľúčové slová: *víno, senzorické hodnotenie, kyslosť, cukornatosť, enogastronómia*

Abstract

Slovak wines of variety Pinot Gris (2013) from different places in Slovakia were selected for determination of chemical parameters such as total acidity, sugar content performed by FTIR spectroscopy and sensory evaluation. Acid content in the samples of Pinot Gris wines varied from 4.3 to 6.8 g.l⁻¹. Total acidity was compared to the Council Regulation (EC) No. 491/2009 and the results were found to be in accordance with the given requirements. Residual sugar content in the samples of wine varieties Pinot Gris varied from 0 to 13.9 g.l⁻¹. Residual sugar content was compared to the Commission regulation (EC) No 607/2009. Sensory evaluation was performed by the 100 point rating system, the wines showed very good to good quality. We can conclude that place of origin affected the observed parameters of wine quality. Finally some enogastronomy recommendations were done.

Úvod

Cieľom každého vinára je vyrobiť zdravé a kvalitné víno. Medzi podmienky ovplyvňujúce chuť a kvalitu vína patrí najmä odroda viniča - každá odroda má svoju vlastnú chuť, arómu, prípadne korenitosť, ktoré potom prechádzajú do vína a dávajú mu odrodový charakter (Jackson et al., 2009). Hrozno musí byť zdravé, dobre vyzreté, preto sa musí vinič počas vegetácie ošetrovať povolenými prostriedkami. Nahnité alebo inak poškodené hrozno stratí charakteristickú chuť a vôňu odrody. Doba zberu je veľmi dôležitá a pre vinohradníka je výhodné, ak zberá hrozno čo najneskôr, aby dosiahlo čo najvyššiu cukornatosť. Teplo vplýva na veľkosť úrody hrozna, akumuláciu cukrov

a redukciu kyselín v bobuliach, tvorbu prekurzorov a samotných aromatických látok v hrozne (SVA, 2009). Čím je nižšia úroda na jednom kre, tým má víno viac charakteristických vlastností, lepšiu chuť a kvalitu. Pri nadmerných úrodách sa zníži charakter odrody vína (Jackson et al., 2009).

Pod pojmom "víno", možno rozumieť rozmanitosť kvality, ktorá je jedinečná a daná hlavne interakciou medzi hroznom, kvasinkami a technológiou. Jedná sa o prírodný produkt vyplývajúci z celej rady biochemických reakcií, ktoré začínajú v priebehu dozrievania hrozna, pokračujú pri zbere, prebiehajú počas celej doby alkoholového kvasenia, čírenia a aj po plnení do fliaš (Torija et al., 2001). Existujú dva základné princípy pre splynutie vína s pokrmom. Prvý z nich spočíva vo vzájomnom splynutí vína s pokrmom, s vytvorením harmónie pričom cieľom je, aby sa výrazné chute navzájom doplnili alebo zjemnili. Druhý využíva kontrast medzi vínom a pokrmom, ide o súperenie a diametrálny rozdiel medzi vínom a pokrmom (Fic et al., 2015). Umenie alebo vedu dobrého jedla a pitia možno charakterizovať ako enogastronómiu.

Cieľom práce bolo vyhodnotiť vybrané chemické a senzorické parametre kvality vína odrody Rulandské šedé z ročníka 2013 rôzneho pôvodu a odporúčať na základe rôznej kvality jeho enogastronomické využitie.

Materiál a metodika

Analyzovaných bolo 8 vzoriek akostných vín, s chráneným označením pôvodu (okrem vz.1 a 6), odrody Rulandské šedé od rôznych výrobcov, z ročníka 2013. Vzorky pochádzali z troch vinohradníckych oblastí: Malokarpatskej (vz. 6 a 8), Južnoslovenskej (vz. 1-5) a Východoslovenskej (vz. 7).

Vo vínach sa hodnotilo z chemických parametrov stanovenie obsahu celkových kyselín a obsah zvyškových cukrov, FTIR spektroskopiou.

Senzorické hodnotenie vín sa uskutočnilo 100 bodovým testom (OIV). Senzorickej analýzy sa zúčastnilo 5 nezávislých hodnotiteľov. Na analýzu sme použili 100 bodovú metódu, pri ktorej sa hodnotili jednotlivé parametre od vynikajúceho po nedostatočný. Vzorky vín boli vyhodnotené nasledovne: 100 – 87 bodov – vynikajúce vína, 86 – 73 bodov – veľmi dobré vína, 72 – 57 bodov – dobré vína, 56 – 41 bodov – uspokojivé vína, menej ako 40 bodov – nedostatočné vína.

Výsledky a diskusia

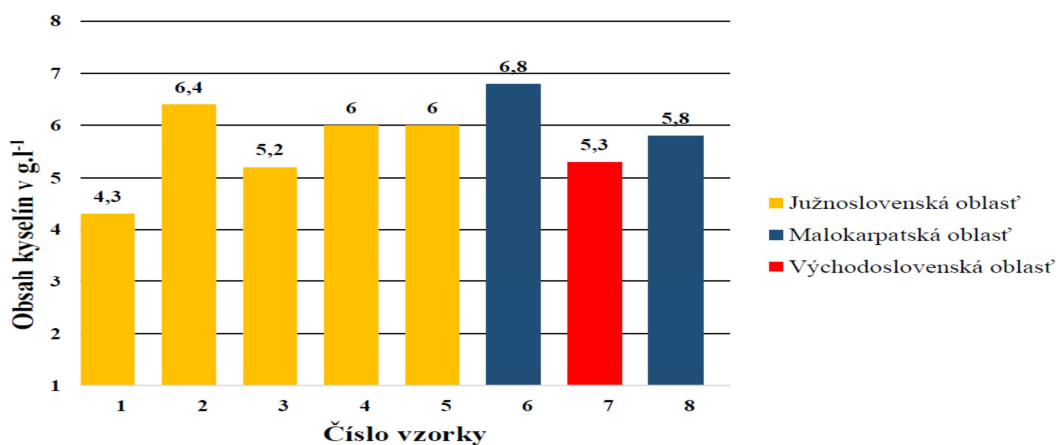
Hodnotenie kvality vína je založené predovšetkým na ochutnávke vín. Vzťah medzi senzorickým hodnotením a chemickým zložením vína je kritickým predmetom výskumu vo vinárstve (Chira, 2011).

Obsah kyselín vo vzorkách vín odrody Rulandské šedé sa pohyboval od 4,3 do 6,8 g.l⁻¹. Hodnoty obsahu celkových kyselín v našich vínach vyhovel požiadavke legislatívy na minimálny obsah kyselín. Podľa Nariadenia Rady (ES) č. 491/2009 má mať víno celkový obsah kyselín vyjadrený ako kyselina vínna najmenej 3,5 g.l⁻¹.

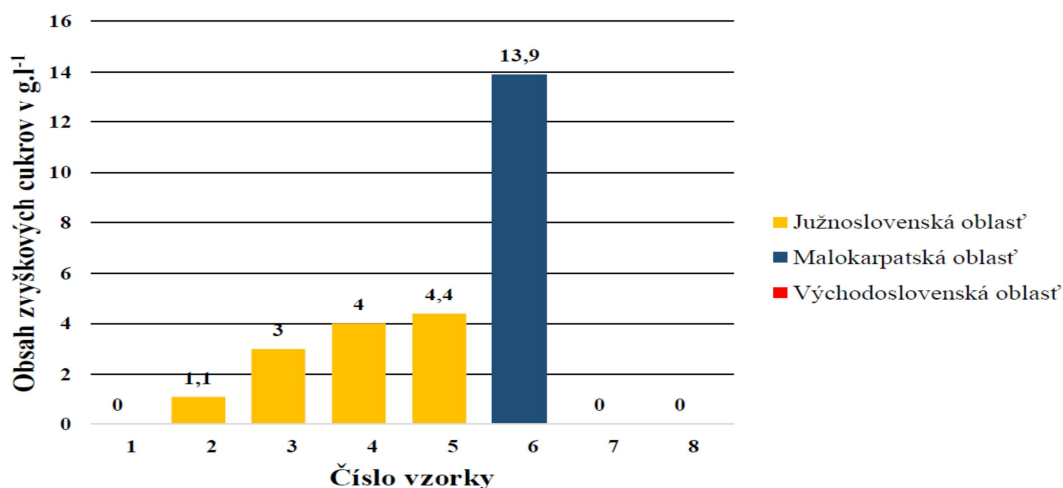
Vzorka 1 s najnižšou hodnotou celkových kyselín (4,3 g.l⁻¹) pochádzala z Južnoslovenskej oblasti (obr.1a), vzorka č. 6 s najvyšším obsahom celkových kyselín 6,8 g.l⁻¹ pochádzala z Malokarpatskej oblasti. Vzorky č. 6 a 8 pochádzajúce z Malokarpatskej oblasti mali vyšší obsah celkových kyselín od 5,8 g.l⁻¹ do 6,8 g.l⁻¹.

V Malokarpatskej oblasti spadol vyšší úhrn zrážok ako v Južnoslovenskej oblasti. Teploty vzduchu boli približne rovnaké.

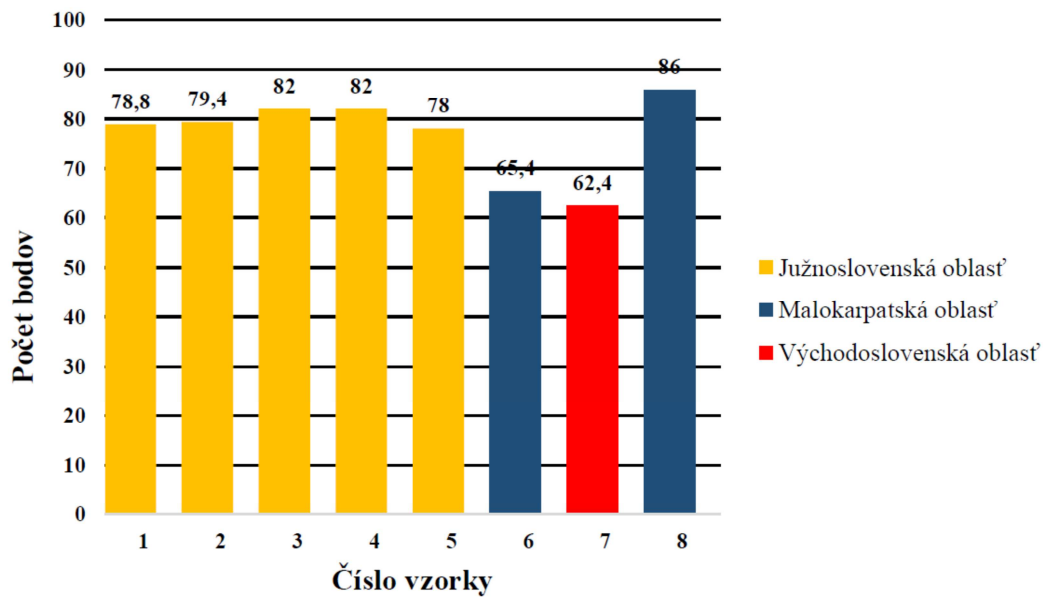
Obrázok 1 (a-b): Obsah kyselín (a) a zvyškových cukrov (b) v sledovaných vínach
1a)



1b)



Sacharidy sú prirodzenou súčasťou vína a neprekvasené zvyškové sacharidy sa podieľajú na sladkej chuti vína. Na ich základe možno vína takto rozdeliť na suché: 0 – 4 g.l⁻¹ cukru, polosuché: 4 – 12 g.l⁻¹ cukru, polosladké: 12 – 45 g.l⁻¹ cukru, sladké: 45 a viac g.l⁻¹ cukru. Presné požiadavky a kategorizáciu vín ustanovuje Nariadenie Komisie (ES) č. 607/2009 v prílohe 14. Obsah zvyškových cukrov je znázornený na obrázku 1b. Vo vzorke č. 1, 7 a 8 zvyškové cukry neboli zistené, čím sú vzorky zaradené do kategórie suchých vín spolu so vzorkami 2,3,4. Vo vzorke č. 6, bol obsah zvyškových cukrov 13,9 g.l⁻¹. Podľa Nariadenia Komisie (ES) č. 607/2009 ak je obsah cukru vyšší ako 12 g.l⁻¹, daná vzorka by mala byť označená ako polosladká.



Obrázok 2: Sensorické hodnotenie vín podľa OIV

Senzorickým hodnotením podľa pravidiel 100-bodového testu bola najlepšie ohodnotená s najvyšším počtom bodov 86 vzorka č. 8 (obr. 2) a zároveň klasifikovaná ako veľmi dobrá. Pochádzala z Malokarpatskej oblasti. Najvyšší počet bodov získala za farbu a harmóniu vône. Aromatické zlúčeniny, vďaka ich charakteristickej aróme, sú považované za meradlo odrodovej charakteristiky hrozna, klasifikácie vín, kontroly ich kvality alebo falšovania vína. Odrodová aróma pozostáva z voľných aromatických zlúčenín a viazanej arómy prekurzorov. Hlavným zdrojom vône sú rôzne druhy a množstvá aromatických prekurzorov, ktoré dávajú odlišnosť odrodám viniča hroznorodého. Je známe, že tieto prekurzory sú syntetizované počas dozrievania hrozna (Lakatošová, 2010). Vzorky č. 1, 2, 3, 4, 5 boli ohodnotené ako veľmi dobré, v rozpätí pridelených bodov 78 – 82, všetky pochádzali z jednej oblasti a to Južnoslovenskej.

Vzorky č. 6 a 7 pochádzajúce z Malokarpatskej a Východoslovenskej oblasti boli ohodnotené ako dobré, pričom najhoršie bola ohodnotená vzorka č. 7 (Východoslovenská oblasť). Získala najnižší počet bodov (62,4) za intenzitu vône, harmóniu chuti a za celkový dojem. V chemických parametroch preukázala nulový zvyškový cukor a vyšší obsah kyselín. Hodnotitelia potvrdili sensorickým hodnotením príliš kyslú chuť a cudziu príchuť vína. Z hľadiska farby vykazovala mierny zákal.

Vzorky odrody Rulandské šedé z ročníkov 2012 a 2013 z Južnoslovenskej vinohradníckej oblasti sledovali Fikselová et al. (2015). Päť vzoriek zo 6 ohodnotili v rozsahu bodov 76-84, čím boli klasifikované ako veľmi dobré, v súlade s našimi zisteniami a jedna vzorka bola ohodnotená ako výborná.

Farba a čírosť vín sú prvé sensorické vlastnosti, ktoré sú oceňované zo strany spotrebiteľov, predisponujúce ich akceptáciu alebo odmietnutie. Dobré odporúčanie párovania jedál a nápojov môže byť rozhodujúce pre úspech servírovania. Párovanie potravín s nápojmi je často prezentované kulinárskymi odborníkmi, ako sú kuchári

a someliéri, avšak malý dôraz je kladený na vnímanie spotrebiteľov (Paulsen et al., 2015).

Je dôležité, aby boli servírované správne potraviny so správnym vínom, napr. pokiaľ ide o aktuálnu sladkosť a kyslosť.

V prípade, že Rulandské šedé je z kategórie suchých vín, morské plody (grilovaná chobotnica) s paprikovou omáčkou môžu byť servírované ako príloha.

Polosuché vína je vhodné kombinovať so sladkými alebo krémovými potravinami. Zrejúci syr s orechami, liči a hruškami na horčičnej omáčke s medom a limetkou je jednou z možností.

Pečená červená repa s kozím syrom na portskom víne a mede môžu byť servírované s petržlenovým pyré, grilovanou cuketou a v kombinácii so sladkým vínom (Mikula, 2014).

Záver

Degustácie vína môžu byť spojené s exkurziou do podnikov alebo prehliadok ako sú prezentácie miestnych výrobkov či agroturistika. Je to jeden z prvkov v trende autenticity, ochrany životného prostredia a potreby mať nové skúsenosti. Dobré párovanie jedla a nápojov môže byť rozhodujúce v úspechu servírovania a gastronómie.

Literatúra

Európska únia. Nariadenie Komisie (ES) č. 607/2009 z 14. júla 2009, ktorým sa ustanovujú určité podrobné pravidlá vykonávania nariadenia Rady (ES) č. 479/2008, pokiaľ ide o chránené označenia pôvodu a zemepisné označenia, tradičné pojmy, označovanie a obchodnú úpravu určitých vinárskych výrobkov. In Úradný vestník EÚ, L 193, 24/7/2009, S. 177 – 256.

Európska únia. Nariadenie rady (ES) č. 491/2009 z 25. mája 2009, ktorým sa mení a dopĺňa nariadenie (ES) č. 1234/2007 o vytvorení spoločnej organizácie poľnohospodárskych trhov a o osobitných ustanoveniach pre určité poľnohospodárske výrobky. In Úradný vestník EÚ, L 154, 17/6/2009, S. 121 - 176.

Fic, V. 2015. Víno: analýza, technológie, gastronómie, Václav Helán-2 Theta, Český Tešín.

Fikselová, M.- Krvavá, Z.- Czakó, P. 2015. Vybrané parametre kvality a bezpečnosti vín odrody Rulandské šedé. In Zborník vedeckých prác: Slovenská spoločnosť pre poľnohospodárske, lesnícke, potravinárske a veterinárske vedy pri SAV v Bratislave. Zvolen : Ústav ekológie lesa SAV, s. 88--92.

Chira, K., et al. 2011. Chemical and sensory evaluation of Bordeaux wines (Cabernet-Sauvignon and Merlot) and correlation with wine age. In Food Chemistry. 126, 4, 1971-1977.

Jackson, S. J. 2009. Nature and Origins of Wine Quality. Wine Tasting, 387-426 s. ISBN 970-0-12-374181-3.

Lakatošová, J. 2010. Stanovenie aromatických zlúčenín. In Vinič a víno, 10, č. 6, s. 200-201.

Mikula, J. 2014. Syry. Vinotéka, no. 1, p. 62-63

SVA – Slovenská Vinárska Akadémia Pezinok. 2009. Vinohradníctvo a vinárstvo. [online]. cit. [26.6.2014]. 50 s. Dostupné na internete:

[http://svapezinok.sk/files/gallery/20100303133821 WEB_SVA%20Zakladny%20seminar_SK_01.pdf](http://svapezinok.sk/files/gallery/20100303133821_WEB_SVA%20Zakladny%20seminar_SK_01.pdf)

Paulsen, M. T.- Rognså, G. H.- Hersleth, M. 2015. Consumer perception of food–beverage pairings: the influence of unity in variety and balance. In International Journal of Gastronomy and Food Science. 2, 2, 83–92.

Toriya, N.- Rozès et al. 2001. Yeast population dynamics in spontaneous fermentations: Comparison between two different wine-producing areas over a period of three years. In International Journal of General and Molecular Microbiology. 79, 3-4, 345-352.

Pod'akovanie

Práca vznikla s podporou Európskeho spoločenstva v rámci projektu: Vybudovanie výskumného centra „AgroBioTech“, projekt číslo 26220220180.

Kontaktná adresa:

Doc. Ing. Martina Fikselová, PhD.

Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra.

E-mail: martina.fikselova@uniag.sk

Kontrola obsahu gluténu vo vybraných potravinách rastlinného pôvodu

Control of gluten content in selected food plant origin

Golian, J., Šnirc, J., Belej, J., Bobková, A.

Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva,
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Súhrn

V práci sme hodnotili obsah gluténu vo vybraných potravinách rastlinného pôvodu. Analyzované vzorky pochádzali z obchodnej siete z obdobia rokov 2014 a 2015. Analyzované boli bezlepkové pekárenské výrobky a trvanlivé pekárenské výrobky. Obsah gluténu sme analyzovali pomocou enzýmovej imunoanalýzy pre kvantitatívnu analýzu gluténu pomocou testu Ridascreen Gliadin. Celkovo bolo analyzovaných 176 vzoriek. Obsah gluténu vo vybraných bezlepkových potravinách v roku 2014 bol pomerne vyrovnaný s variabilitou v intervale od 5,73 – 11,35 %.

Kľúčové slová: *glutén, potraviny rastlinného pôvodu, analýzy, ELISA test, potravinová alergia*

Abstract

In this work we evaluated the gluten content in selected foods of plant origin. The samples analysed were from the business network from 2014 and 2015. We analysed gluten-free bakery products and durable bakery products. Gluten was analysed by enzyme immunoassay for the quantitative analysis using gluten gliadin test Ridascreen Gliadin. Total of 176 samples were analysed. Gluten in gluten-free products selected in 2014 was relatively balanced with the variability in the interval from 5.73 to 11.35 %.

Key words: *gluten, food of plant production, analysis, ELISA kit, food allergy*

Úvod

Glutén (lepok) je zmes bielkovín glutenínu a gliadínu. V pšeničnom zrne predstavuje gliadín a glutenín približne 80 % všetkých proteínov. Už malé množstvo gluténu obsiahnutého v strave môže celiatikovi vyvolať tráviace ťažkosti. Výrobky určené pre pacientov trpiacich celiakiou sú označované ako bezlepkové a sú vyrábané zo surovín, ktoré prirodzene neobsahujú lepok. K takýmto surovinám zaraďujeme ryžu, pohánku, pšeno, kukuricu, amarant, slzovku a múky vyrobené z týchto surovín. V prípade obilnín ako ryža, kukurica a pohánka môže byť označenie ako bezlepkové plodiny chybné, pretože tieto neodmysliteľne bezlepkové obilniny môžu byť lepkom kontaminované.

Keďže údaje z viacerých štúdií naznačujú, že viac ako polovica predpokladaných potravinových alergií nie sú alergie, je dôležitá dôkladná diagnóza, aby sa zabránilo zbytočnému vyhýbaniu sa niektorým potravinám (Boyce et al., 2010). Symptómy potravinovej alergie sa zvyčajne vyvíjajú rovnomerne po požití spúšťacieho jedla. Avšak, pri tvorbe anamnézy je dôležité brať do úvahy, že menšie dávky potravinových

alergénov alebo potraviny výrazne prepečené, tepelne denaturované alebo fermentované (napr. mlieko, vajcia, sója) sú často konzumované bez vzniku symptómov. U malých detí sa môže potravinová alergia javiť ako odmietanie jedla, pretože deti nevedia pomenovať symptómy, ako napr. orofaryngeálne brnenie a pálenie, kovová chuť, problémy s prehĺtaním, bolesť brucha alebo nevoľnosť (Burks et al., 2012).

Pre IgE-sprostredkované potravinové alergie sú potrebné dodatočné testy na prítomnosť sIgE, aby potvrdili diagnózu. Neexistujú žiadne potvrdené laboratórne testy, ktoré môžu pomôcť pri diagnostike IgE-nesprostredkovaných alebo kombinovaných potravinových alergií (Burks et al., 2012).

Permanentná potravinová intolerancia na glutén sa nazýva celiakia. Glutén (lepok) je bielkovina, ktorá je prirodzene prítomná v obilninách ako pšenica, jačmeň a raž (Petr et al., 2003). Ovos obsahuje bielkoviny, o ktorých sa z hľadiska bezpečnosti pre celiatikov vedú stále otvorené debaty (Black a Orfila, 2011). Celiakia je abnormálny stav organizmu, kedy dochádza k splošteniu črevných klkov v sliznici tenkého čreva. Tento stav je možné upraviť len dodržiavaním bezlepkovej diéty, tzn. vylúčením gluténu zo stravy (Abdulkarim a Murray, 2003). Už v roku 1880 sa objavili vo Veľkej Británii prvé zmienky o celiakii, ktoré popísal Samuel Gee (Walker a Murray, 2010). V súčasnosti sa toto ochorenie vyskytuje približne u jedného človeka zo 100, pričom sa na celiakiu lieči asi len 5 % pacientov (Sollid a Koshla, 2011). Celiakia sa najčastejšie prejavuje hnačkami, bolesťami brucha, tráviacimi ťažkosťami a stratou hmotnosti (Olén et al., 2011). Ako dôsledok nedostatočného vstrebávania živín počas trávenia sa prejavujú aj ďalšie príznaky ako bolesti kĺbov, osteoporóza, anémia, chronická únava a mnohé iné (Fasano, 2009). Pri dodržiavaní bezlepkovej diéty sa výrazné histologické zlepšenie môže prejaviť už po 3 mesiacoch, pričom po dvojročnej bezlepkovej diéte sú celiatici takmer asymptomatickí (Anderson, 2008). Celiakia sa môže prejaviť v akomkoľvek veku, no postihuje najmä deti a dospelých okolo štyridsiateho roku života (Mukherjee et al., 2010; Petr et al., 2003). Najčastejšou a najspolahlivejšou diagnózou celiakie je biopsia tenkého čreva, ktorá sa vykonáva na základe výsledkov sérologických testov (Ludvigsson a Green, 2011). Príčiny vzniku tohto ochorenia sú stále skúmané. Podľa mnohých vedeckých štúdií sa najväčší vplyv na vznik celiakie prikladá genetickej predispozícii (Gutierrez-Achury et al., 2011).

Potravinové zdroje gluténu môžeme rozdeliť na hlavné a skryté. Medzi hlavné potravinové zdroje gluténu zaradíme chlieb, pečivo, buchty, koláče, cereálie, cestoviny, sušienky, bulgur, kuskus, slad a pivo. Za skryté potravinové zdroje gluténu považujeme instantné polievky, horčicu, kečup, omáčky, údené výrobky, mliečne polotovary, kávoviny a všetky ostatné výrobky, pri ktorých bol v procese výroby pridaný glutén vo forme prídavných látok (Příbylová, 2012).

Všetky špeciálne bezlepkové potraviny, ako sú raňajkové cereálie a chlieb, môžu byť kontaminované v priebehu spracovania, pretože výrobcovia potravín často používajú spoločné zariadenia na výrobu bezlepkových potravín a potravín s obsahom lepku. Ak nastane takáto skrížená kontaminácia v ktoromkoľvek štádiu spracovania obilnín, alebo výroby daného produktu, tak následné nenahlásenie tejto kontaminácie vedie k uvedeniu kontaminovanej bezlepkovej potraviny do obchodnej siete. Jednorazové požitie nízkeho množstva gluténu u pacientov trpiacich celiakiou by nemalo spôsobiť závažné zmeny na sliznici tenkého čreva. Ale v prípade, ak sa takéto náhodné požitie

stáva častejším, vyžaduje sa zvýšená pozornosť a preventívne testovanie obsahu lepku aj u bezpečkových potravín (Lee et al., 2014).

Cieľom práce bolo analyzovať v jednotlivých výrobkoch rastlinného pôvodu z obchodnej siete obsah gluténu a zhodnotiť rozdiely medzi skupinami jednotlivých výrobkov.

Materiál a metodika

Vzorky potravín rastlinného pôvodu pochádzali z obchodnej siete a boli odoberané v jednotlivých štvrťrokoch rokov 2014 a 2015. Vzorky sme rozdelili do dvoch skupín – bezpečkové pekárenské výrobky a trvanlivé pekárenské výrobky.

Obsah gluténu sme analyzovali pomocou enzýmovej imunoanalýzy pre kvantitatívnu analýzu gluténu pomocou testu Ridascreen Gliadin.

Ridascreen Gliadin (R70001) je sendvičová enzýmová imunoanalýza pre kvantitatívnu analýzu prolaminu z pšenice (gliadín), raže (sekalín) a jačmeňa (hordeín) v potravinách označených ako bezpečkové (glutén-free food). Všetky reagenty na enzýmovú imunoanalýzu (vrátane štandardov) sú dodávané v testovacej súprave. Testovacia súprava postačuje na 96 stanovení (vrátane štandardov). Na kvantifikáciu je potrebný spektrofotometer na mikrotitračné platničky. Základné variačno-štatistické charakteristiky (aritmetický priemer, smerodajná odchýlka, variačný koeficient, minimum, maximum) sme vypočítali v programe Microsoft Excel 2010. Na štatistické zisťovanie rozdielov v obsahu gluténu v rámci jednotlivých skupín výrobkov sme použili Wilcoxon Signed Ranks Test v programe Tanagra 1.4.50 (2012). Dáta nemali gausovskú distribúciu.

Výsledky práce

V tabuľkách 1-2 uvádzame vypočítané hodnoty základných variačno-štatistických ukazovateľov obsahu gluténu vo vybraných skupinách výrobkov. Pomocou programu Microsoft Excel 2010 sme vypočítali aritmetický priemer, smerodajnú odchýlku, variačný koeficient a zistili minimálnu a maximálnu nameranú hodnotu obsahu gluténu v jednotlivých vybraných výrobkoch rastlinného pôvodu.

Tabuľka 1: Základné variačno-štatistické ukazovatele obsahu gluténu vo vybraných bezpečkových pekárenských výrobkoch v roku 2014

Názov vzorky	Aritmetický priemer (mg.kg ⁻¹)	Smerodajná odchýlka	Variačný koeficient (%)	Minimum (mg.kg ⁻¹)	Maximum (mg.kg ⁻¹)
Bezpečkový chlieb tmavý	4,67	0,53	11,35	4,21	5,52
Bezpečkový chlieb tmavý amarantový	4,89	0,35	7,16	4,52	5,24
Bezpečkový chlieb biely	3,45	0,48	13,91	4,18	5,36
Bezpečkový chlieb tmavý viacvrstvný	4,64	0,79	17,03	3,69	5,65
Bezpečkové linecké pečivo	4,36	0,25	5,73	4,16	4,78

V tabuľke 1 uvádzame základné variačno-štatistické ukazovatele obsahu gluténu vo vybraných bezlepkových pekárenských výrobkoch v roku 2014. Priemerný obsah gluténu sa pohyboval v rozmedzí od 3,45 – 4,89 mg.kg⁻¹. Najvyšší obsah gluténu sme zistili u Bezlepkového chleba tmavého amarantového a najnižší u Bezlepkového chleba tmavého bieleho. Variačný koeficient obsahu gluténu sme zistili v rozmedzí od 5,73 (Bezlepkové linecké pečivo) – 17,03 % (Bezlepkový chlieb tmavý viacvrstvý). Keďže najvyššia nameraná hodnota obsahu gluténu v skupine bezlepkových pekárenských výrobkov je 5,65 mg.kg⁻¹ u Bezlepkového chleba tmavého amarantového, môžeme zhodnotiť, že tieto výrobky sú označované ako bezlepkové právom. Výsledky dokazujú, že nebola prekročená maximálna hodnota 20 mg.kg⁻¹ obsahu gluténu v bezlepkových potravinách, čo pre konzumenta s celiakou nepredstavuje žiadne riziko vzniku alergickej reakcie na lepok.

Tabuľka 2: Základné variačno-štatistické ukazovatele obsahu gluténu vo vybraných trvanlivých pekárenských výrobkoch v roku 2014

Názov vzorky	Aritmetický priemer (mg.kg ⁻¹)	Smerodajná odchýlka	Variačný koeficient (%)	Minimum (mg.kg ⁻¹)	Maximum (mg.kg ⁻¹)
Pepe chrumky arašidové, slané	5,22	1,01	19,35	4,29	6,85
Crispies ryžové	5,35	1,14	21,31	4,18	6,71
Pohánkové sušienky	6,10	0,82	13,44	5,26	6,95
Bio tyčinka s agávovým sirupom	6,61	1,51	22,84	4,28	8,27
Proteín keks vanilka	6,22	0,22	3,54	5,95	6,54
Proteín keks kakao	6,38	0,41	6,43	5,71	6,85
Proteín keks oriešok	6,71	1,39	20,72	4,65	8,11
Piškóty	5,21	0,94	18,04	4,23	6,63

V tabuľke 2 uvádzame základné variačno-štatistické ukazovatele obsahu gluténu vo vybraných trvanlivých pekárenských výrobkoch v roku 2014. Priemerný obsah gluténu sa pohyboval v rozmedzí od 5,21 – 6,71 mg.kg⁻¹. Najvyšší obsah gluténu sme zistili u Oriekového proteínového keksu a najnižší u Piškót. Variačný koeficient obsahu gluténu sme zistili v rozmedzí od 3,54 (Proteínový keks vanilka) – 22,84 % (Bio tyčinka s agávovým sirupom). Na základe získaných výsledkov môžeme konštatovať, že obsah gluténu v nami sledovaných trvanlivých pekárenských výrobkoch nevykazoval vysoké rozdiely medzi jednotlivými výrobkami. Z technologického hľadiska to dokazuje kvalitu vstupných surovín a dodržiavanie požadovaného technologického postupu.

Tabuľka 3: Základné variačno-štatistické ukazovatele obsahu gluténu vo vybraných bezlepkových pekárenských výrobkoch v roku 2015

Názov vzorky	Aritmetický priemer (mg.kg ⁻¹)	Smerodajná odchýlka	Variačný koeficient (%)	Minimum (mg.kg ⁻¹)	Maximum (mg.kg ⁻¹)
Bezlepkový chlieb tmavý	4,42	0,29	6,56	4,14	4,86
Bezlepkový chlieb tmavý amarantový	4,37	0,17	3,89	4,23	4,65
Bezlepkový chlieb biely	4,59	0,41	8,93	4,27	4,51
Bezlepkový chlieb tmavý viacvrnný	5,06	0,46	9,09	4,35	5,61
Bezlepkové linecké pečivo	4,80	0,12	2,50	4,61	4,94

V tabuľke 3 uvádzame základné variačno-štatistické ukazovatele obsahu gluténu vo vybraných pekárenských výrobkoch. Priemerný obsah gluténu sa pohyboval v rozmedzí od 4,37 – 5,06 mg.kg⁻¹. Najvyšší obsah gluténu sme zistili u Bezlepkového chleba tmavého viacvrnného a najnižší u Bezlepkového chleba tmavého amarantového. Variačný koeficient obsahu gluténu sme zistili v rozmedzí od 2,50 (Bezlepkové linecké pečivo) – 9,09 % (Bezlepkový chlieb tmavý viacvrnný). Keďže v nami sledovaných bezlepkových pekárenských výrobkoch glutén nevykazoval vysoké rozdiely medzi jednotlivými výrobkami a maximálny obsah gluténu v jednotlivých výrobkoch bol 5,61 mg.kg⁻¹ (Bezlepkový chlieb tmavý viacvrnný), môžeme skonštatovať, že vybrané bezlepkové pekárenské výrobky z hľadiska obsahu gluténu nepredstavujú pre spotrebiteľa s celiakiou žiadne riziko.

V tabuľke 4 uvádzame základné variačno-štatistické ukazovatele obsahu gluténu vo vybraných trvanlivých pekárenských výrobkoch v roku 2015. Priemerný obsah gluténu sa pohyboval v rozmedzí od 5,12 – 6,69 mg.kg⁻¹. Najvyšší obsah gluténu sme zistili u Oriškového proteínového keksu a najnižší u Piškót. Variačný koeficient obsahu gluténu sme zistili v rozmedzí od 3,36 (Pohánkové sušienky) – 20,03 % (Proteín keks oriešok). Keďže obsah gluténu medzi sledovanými výrobkami nevykazoval vysoké rozdiely a namerané hodnoty v roku 2015 sa takmer zhodujú s nameranými hodnotami v roku 2014, môžeme konštatovať, že výrobca zabezpečoval vyrovnaný a kvalitný výber vstupných surovín na výrobu trvanlivých pekárenských výrobkov. Zo spotrebiteľského a technologického hľadiska hodnotíme túto skutočnosť ako pozitívnu. V ďalšej časti práce sme pomocou Wilcoxonovho Signed Ranks Testu v programe Tanagra 1.4.50 (2012) zisťovali preukazné rozdiely v obsahu gluténu v rámci jednotlivých skupín výrobkov rastlinného pôvodu. V skupine bezlepkových pekárenských výrobkov a v skupine vybraných trvanlivých pekárenských výrobkov z odberov v roku 2014 sme pomocou Wilcoxonovho testu nezistili preukazný rozdiel medzi jednotlivými výrobkami. V roku 2015 sme zistili preukazné rozdiely len v skupine vybraných bezlepkových pekárenských výrobkov. Bezlepkový chlieb tmavý a Bezlepkový chlieb tmavý viacvrnný, Bezlepkový chlieb tmavý a Bezlepkové linecké

pečivo, Bezlepkový chlieb tmavý amarantový a Bezlepkový chlieb tmavý viacvrnný, Bezlepkový chlieb tmavý amarantový a Bezlepkové linecké pečivo a medzi Bezlepkovým chlebom bielym a Bezlepkovým chlebom tmavým viacvrnným. Na základe zistených výsledkov môžeme konštatovať, že v daných výrobkoch bolo pridané určité množstvo inej suroviny s obsahom gluténu.

Tabuľka 4: Základné variačno-štatistické ukazovatele obsahu gluténu vo vybraných trvanlivých pekárenských výrobkoch v roku 2015

Názov vzorky	Aritmetický priemer (mg.kg ⁻¹)	Smerodajná odchýlka	Variačný koeficient (%)	Minimum (mg.kg ⁻¹)	Maximum (mg.kg ⁻¹)
Pepe chrumky arašidové, slané	5,40	0,59	10,93	4,52	6,12
Crispies ryžové	5,28	0,96	18,18	4,28	6,34
Pohánkové sušienky	6,25	0,21	3,36	5,91	6,44
Bio tyčinka s agávovým sirupom	6,41	1,05	16,38	4,67	7,25
Proteín keks vanilka	6,11	0,49	8,02	5,28	6,58
Proteín keks kakao	6,56	0,65	9,91	5,61	7,35
Proteín keks oriešok	6,69	1,34	20,03	4,58	8,24
Pišškóty	5,12	0,71	13,87	4,28	6,17

Diskusia

Lee et al. (2014) v americkej štúdií analyzovali obsah gluténu v potravinách, ktoré boli označené ako bezlepkové. Zo 78 skúmaných produktov 48 (61,5 %) obsahovalo menej ako 10 mg.kg⁻¹ gluténu. 14 výrobkov (17,9 %) obsahovalo glutén v rozmedzí od 10,9 do 18,7 mg.kg⁻¹. 16 produktov (20,5 %) by podľa pravidiel FDA (U. S. Food and Drug Administratin) nemalo byť označovaných ako bezlepkové.

Podľa Nariadenia 41/2009/EK zo dňa 20. januára 2009, ktoré určuje pravidlá pre obsah a označenie potravín pre celiatikov, potraviny musia obsahovať menej ako 20 ppm gluténu, aby mohli byť označené ako bezlepkové.

V štúdií Lee et al. (2014) boli gluténom najviac kontaminované raňajkové cereálie (62,5 %), za nimi nasledoval chlieb (37,5 %), cestoviny (23,1 %), „snacky“ (13,3%) a sušienky (11,1 %). V nami sledovaných vzorkách potravín rastlinného pôvodu sme zistili najviac gluténu v trvanlivých pekárenských výrobkoch, kde Bio tyčinka s agávovým sirupom obsahovala 8,27 mg.kg⁻¹ gluténu.

V európskej štúdií Valdésa et al. (2003), kde bolo skúmaných viac ako 3 000 bezlepkových produktov sa zistilo, že viac ako tretina týchto potravín obsahovala glutén v koncentrácii vyššej ako 20 mg.kg⁻¹, čo prevyšuje bezlepkový prah.

V Kanadskej štúdií, kde sa skúmal obsah gluténu v 77 cereálnych potravinách sa glutén vyskytoval v 10 % (Gélinas et al., 2008).

V nami sledovaných bezlepkových pekárenských výrobkoch sme zvýšený obsah gluténu nezistili. Hodnotili sme obsah gluténu v Bezlepkovom chlebe tmavom, Bezlepkovom chlebe tmavom amarantovom, Bezlepkovom chlebe bielom, Bezlepkovom chlebe tmavom viacvrstvom a Bezlepkovom lineckom pečive. Vykonali sme štyri odbery z každej vzorky v roku 2014 a štyri odbery z každej vzorky v roku 2015. V roku 2014 maximálna nameraná hodnota u bezlepkových pekárenských výrobkoch bola $5,24 \text{ mg.kg}^{-1}$ u Bezlepkového chleba tmavého amarantového. V roku 2015 bola maximálna nameraná hodnota $5,25 \text{ mg.kg}^{-1}$ u Bezlepkového chleba viacvrstvého. Ani v jednom prípade nebol prekročený maximálny obsah gluténu 20 mg.kg^{-1} v potravinách označovaných ako bezlepkové.

Pri hodnotení obsahu gluténu vo vybraných trvanlivých pekárenských výrobkoch za rok 2014 a 2015 sme tiež nezaznamenali prekročenie maximálneho povoleného obsahu gluténu, pričom tieto výrobky neboli označené ako bezlepkové. Najvyšší obsah gluténu u trvanlivých pekárenských výrobkov počas meraní v rokoch 2014 a 2015 sme zistili u Proteínového keksu orieškového ($8,24 \text{ mg.kg}^{-1}$). Ak by boli tieto jednotlivé výrobky označované ako „bezgluténové“, určite by sa tým celiatikom uľahčil prehľad v sortimente výrobkov dostupných v obchodných sieťach.

Záver

V práci sme hodnotili obsah gluténu v jednotlivých skupinách výrobkov rastlinného pôvodu, odoberaných štvrťročne počas rokov 2014 a 2015, pričom jeho obsah sa v jednotlivých výrobkoch pohyboval v intervale od $3,31 - 8,27 \text{ mg.kg}^{-1}$. Ani v jednej analyzovanej vzorke sme nezistili obsah gluténu vyšší ako 10 mg.kg^{-1} , čo svedčí o vyrovnanosti a kvalite vstupných surovín použitých na výrobu jednotlivých výrobkov rastlinného pôvodu.

Hodnotenie obsahu gluténu v potravinách je pre spotrebiteľa, najmä s celiakiou, veľmi dôležitým ukazovateľom zdravotnej bezpečnosti. Na základe výsledkov môžeme teda konštatovať, že sme nezistili prekročenie povoleného obsahu gluténu u bezlepkových pekárenských výrobkov, ale ani v ostatných analyzovaných skupinách výrobkov rastlinného pôvodu, pričom tieto výrobky neboli označené ako bezlepkové.

Literatúra

- Abdulkarim, A. S. – Murray, J. A. 2003. Review article: the diagnosis coeliac disease. In *Aliment. Pharmacol. Ther.*, vol. 17, no 8, p. 987.
- Anderson, R. P. 2008. Coeliac disease: current approach and future prospects. In *Internal Medicine Journal*, vol. 38, no. 10, p. 792.
- Boyce, J. A. - Assa'ad, A. - Burks, A. W. - Jones, S. M. - Sampson, H. A. - Wood, R. A. 2010. Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: report of the NIAID-sponsored expert panel. In *J Allergy Clin Immunol*, vol. 126, p. 1-58.
- Burks, A. W. – Tang, M. – Sicherer, S. – Muraro, A. – Eigenmann, P. A. – Ebisawa, M. – Fiocchi, A. – Chiang, W. – Beyer, K. – Wood, R. – Hourihane, J. – Jones, S. M. – Lack, G. – Sampson, H. A. 2012. ICON: Food allergy. In *J Allergy Clin Immunol*, vol. 129, no. 4, p. 906-920.
- Black, J. L. – Orfila, C. 2011. Impact of coeliac disease on dietary habits and quality of life. In *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, vol. 24, no. 6, p. 582.

- Fasano, A. 2009. Surprises from Celiac Disease. In *Scientific American*, vol. 301, no. 2, p. 54 – 61.
- Gélinas, P. – Mckinnon, C. M. – Mena, M. C. – Médez, E. 2008. Gluten contamination of cereal foods in Canada. In *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 43, p. 1245 – 1252.
- Gutierrez-Achury, J. – Coutinho De Almeida, R. – Wijmenga, C. 2011. Shared genetics in coeliac disease and other immunemediated diseases. In *Journal of Internal Medicine*, vo. 269, no. 6, p. 591.
- Lee, H. J. – Anderson, Z. – Ryu, D. 2014. Gluten contamination in foods labeled as „Gluten Free“ in the United States. In *Journal of Food Protection*, vol. 77, no. 10, p. 1830 – 1833.
- Ludvigsson, J. F. – Leffler, D. A. – Bai, J. C. – Biagi, F. – Fasano, A. – Green, P. H. – Hadjivassiliou, M. – Kaukinen, K. – Kelly, C. P. – Leonard, J. N. 2013. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. In *Gut*, vol. 62, p. 43 - 52.
- Mukherjee, R. – Egbuna, I. – Brar, P. – Hernandez, L. – McMahon, D. J. – Shane, E. J. – Bhagat, G. – Green, P. H. 2010. Celiac Disease: Similar Presentations in the Elderly and Young Adults. In *Digestive and Liver Disease*, vol. 55, no. 11, p. 3147.
- Olén, O. – Askling, J. et al. 2011. Coeliac disease characteristics, compliance to a gluten free diet and risk of lymphoma by subtype. In *Digestive and Liver Disease*, vol. 43, no. 11, p. 865.
- Petr, J. – Michalik, I. – Tlaskalová, H. – Capouchová, L. – Faměra, O. – Urminská, D. – Tučková, L. – Knoblochová, H. 2003. Extention of the Spectra of Plant Products for the Diet in Coeliac Disease. In *Czech Journal of Food Science*, vol. 21, no. 2, p. 59.
- Příbylová, P. 2012. Bezlepková dieta pro praxi. In *Medicína pro praxi*, vol. 9, no. 2, p. 78 – 81.
- Sollid, L. M. – Koshla. 2011. Novel therapies for coeliac disease. In *Journal of Internal Medicine*, vol. 269, no. 6, p. 604.
- Valdés, I. – García, E. – Llorente, M. – Méndez, E. 2003. Innovative approach to low-level gluten determination in foods using a novel sandwich enzyme-linked immunosorbent assay protocol. In *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, vol. 15, p. 465 – 474.
- Walker, M. M. – Murray, J. A. 2010. An update in the diagnosis of coeliac disease. In *Histopathology*, vol. 59, no. 2, p. 166.

Kontaktná adresa:

prof. Ing. Jozef Golian, Dr.

Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, FBP SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 01 Nitra.

E-mail: Jozef.Golian@uniag.sk

Zmeny vlastností tukov v závislosti od rôznej teploty úpravy pokrmov *Changes in the properties of fats by varying the temperature of cooking*

Golian, J., Šnirc, J., Čurlej, J., Belej, J., Fech, R.

Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva,
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Súhrn

V práci sme analyzovali osem druhov olejov a tukov používaných pri kuchynskej úprave jedál. Tuky a oleje sme hodnotili pred použitím (variant 1) a v závislosti od rôznej teploty prípravy pokrmov (variant 2 a 3). Použili sme zahriate tuky a oleje pri teplotách 82 °C a 100 °C. Variant 2 bol tuk, v ktorom sa zrejúce hovädzie mäso tepelne upravovalo pri teplote 82 °C. Variant 3 bol tuk, v ktorom sa tepelne upravovalo zrejúce hovädzie mäso pri teplote 100 °C. U všetkých troch variant sme hodnotili senzorické vlastnosti, ktoré hodnotil sedem členný panel hodnotiteľov. Taktiež sme hodnotili množstvo polárnych zložiek v tukoch pomocou prístroja Testo 265 a texturometrické vlastnosti tukov pomocou textúrometra TA.XT Plus 265. Senzorické vlastnosti tukov a olejov pred ich použitím boli štandardné, typické pre daný druh. Vyššia teplota olejov a tukov počas prípravy pokrmov (100 °C) mala vyšší vplyv na ich senzorické vlastnosti ako teplota 82 °C. Najväčšie rozdiely sme zistili v zmenách farby repkového oleja, zmenách chuti extra panenského olivového oleja a zmenách vône v miešanom slnečnicovo-repkovom oleji a zmenách konzistencie v extra panenskom olivovom oleji. Pri hodnotení množstva polárnych zložiek v olejoch a tukoch sme najvyššiu hodnotu zaznamenali v kokosovom tuku. Nižšia teplota pri príprave pokrmov (82 °C) predstavovala zvýšenie množstva polárnych zložiek do 2 %. Pri hodnotení texturometrických vlastností tukov a olejov sme nezistili významné zmeny po ich tepelnej úprave. Tepelná úprava ani zrejúce hovädzie mäso nemali významný vplyv na viskózne vlastnosti použitých tukov a olejov.

Kľúčové slová: *tuky a oleje, senzorická analýza, polárne zložky, textúra, hodnotenie*

Abstract

In this work, we analyzed eight kinds of oils and fats used in kitchen preparation of food. Fats and oils were evaluated before they were used (variant 1), and by varying the temperature of food preparation (variant 2 and 3). We used heated fats and oils at 82 °C and 100 °C. Variant 2 was fat in which the matured beef was regulated at 82 °C heat. Variant 3 was fat in which the matured beef was regulated at 100 °C heat. In all three variants, we evaluated the sensory properties which were valued by seven-member panel of evaluators. We also evaluated the amount of polar components in fat by using Testo 265 appliance and texture-metrical properties of fats by using of Texturemeter TA.XT Plus 265. The sensorial properties of fats and oils before they were used, were standard, typical for the given sort. Higher temperature of oils and fats during preparing meals (100 °C) had a greater effect on their sensory properties than temperature of 82 °C. The biggest differences were found in changing the colour of rapeseed oil, changing of taste of extra virgin olive oil and aroma changes in stirred-sunflower

and rapeseed oil, and the consistency changes in extra virgin olive oil. When evaluating the amount of polar components of oils and fats we recorded the highest value in coconut fat. The lower temperature in the preparation of food (82 °C) was an increase in the polar components up to 2%. When evaluating texture-metrical properties of fats and oils we haven't found out significant changes after their cooking. Heat treatment or ripened beef did not have a significant effect on the viscous properties of used fats and oils.

Keywords: *fats and oils, sensory analysis, polar components, texture, evaluation*

Úvod

Tuky obsahujú viac ako dvojnásobok energie v porovnaní so sacharidmi a bielkovinami. Príjem tukov v nadbytku sa prejavuje nadmerným ukladaním v ľudskom organizme, čo spôsobuje obezitu, zvýšený podiel cholesterolu a kardiovaskulárne ochorenie. Tieto ochorenia nie sú spôsobené iba nadmerným príjmom tuku, ktoré sú súčasťou potravín, ide hlavne o zastúpenie nasýtených a nenasýtených mastných kyselín.

Počas technologickej prípravy pokrmov v oleji sa časť vlhkosti, ktorú potravina obsahuje nahradí použitým olejom. A keďže je olej pochutinou, tuk absorbovaný potravinou ju robí chutnejšou. Účinkom vysokých teplôt počas prípravy pokrmu sa olej môže znehodnocovať (tvoria sa degeneračné produkty tukov), čo často znamená tenkú hranicu medzi zdravou a nezdravou prípravou pokrmov. Práve preto nás najviac zaujíma druh použitého oleja a jeho kvalita.

Lipidy patria k významným zložkám potravy a vo výžive človeka tvoria jednu z hlavných živín nevyhnutnú pre zdravie a vývoj organizmu. Napriek tomu nepredstavujú jednotne definovanú skupinu zlúčenín, pretože hlavným kritériom zaradenia zlúčenín do tejto skupiny býva ich hydrofóbnosť a nie chemické vlastnosti (Velíšek, 2009).

Z hľadiska výživového je negatívny vysoký obsah nasýtených mastných kyselín, okolo 90 %, veľmi nízky obsah polyenových mastných kyselín 1 - 2 % a prakticky nulový obsah kyseliny linolénovej (Brát a Dostalova, 2016).

Cieľom práce bolo zhodnotiť zmeny vlastností vybraných tukov a olejov po ich zahriatí na 82 °C a 100 °C, v ktorom bolo 3 hodiny upravované zrejúce hovädzie mäso

Materiál a metodika

V práci sme skúmali zmeny vlastností tukov v závislosti od rôznej teploty pri úprave pokrmov. V pokuse sme použili bio slnečnicový olej, slnečnicový olej, repkový olej, miešaný slnečnicovo-repkový olej, extra panenský olivový olej, olivový olej, kokosový tuk a bravčovú masť. Tuky zakúpené v obchodnej sieti pochádzali od rôznych výrobcov a vyznačovali sa rôznym zložením. V pokuse sme sledovali vlastnosti tukov pred tepelnou úpravou (var. 1) a po tepelnom použití; pri dvoch rôznych teplotách 82 °C a 100 °C. Variant 2 bol tuk, v ktorom sa zrejúce hovädzie mäso tepelne upravovalo pri teplote 82 °C. Variant 3 bol tuk v ktorom sa tepelne upravovalo zrejúce hovädzie mäso pri teplote 100 °C. Na pokus sme použili hovädzie mäso s kosťou (rebro), ktoré pochádzalo z Rakúska. Toto mäso 10 dní zrelo na háku, následne bolo vákuovo balené. Ďalších 20 dní bolo skladované v chladničke pri teplote 2 °C. Dátum spotreby mäsa bol

7 dní. Vzorky na tepelnú úpravu sme si pripravili nasledovne. Hovädzie mäso s hmotnosťou cca 300 g a teplotou 2 °C sme dali do nerezovej nádoby s objemom 1,2 l, ktoré sme zaliali 700 ml oleja, alebo tuku. Takto 8 pripravených a označených nádob sme na 3 hodiny vložili do profesionálnej rúry, tzv. konvektomatu. Konvektomat bol už predhriaty na danú teplotu.

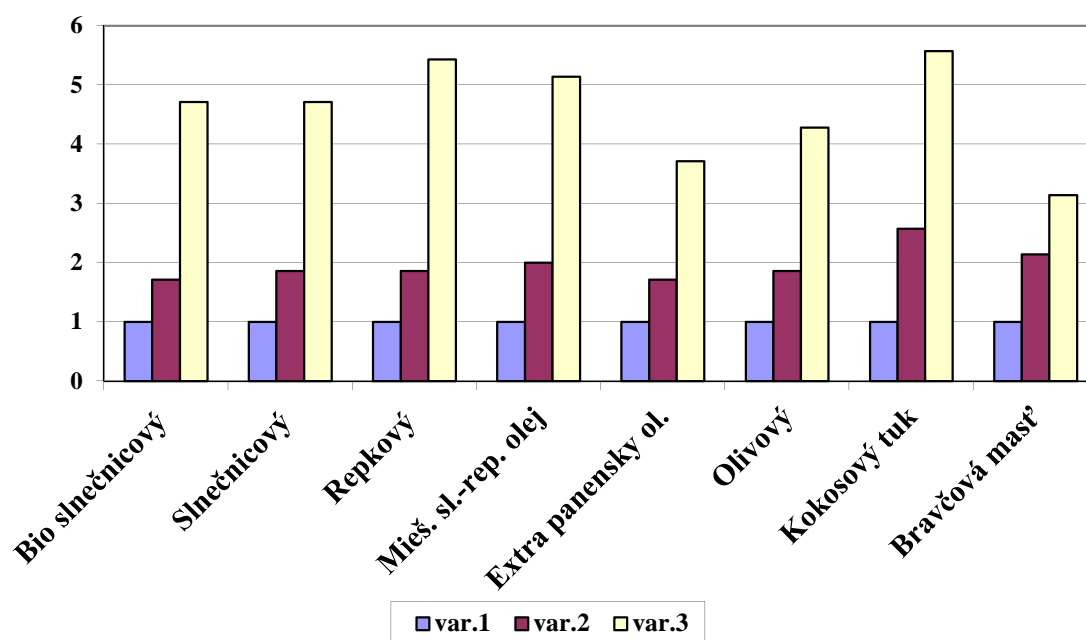
Po 3 hodinách sme mäso vybrali z oleja. Hrubé nečistoty sme z oleja odstránili precedením. Olej sme naliali do označených, čistých, sterilizovaných sklenených fliaš s objemom 0,25 l. Olej sme šokovo vychladili na teplotu 15 °C. U vzoriek sme hodnotili senzorické vlastnosti, merali sme obsah TPM (total polar materials) a merali sme textúru vzoriek tukov a olejov. Na meranie množstva polárnych zložiek (TPM) v tukoch sme použili elektronický prístroj Testo 265, tzv. indikátor starnutia oleja. Na meranie textúrometrických vlastností olejov sme použili prístroj Texturometer TA.XT Plus.

Výsledky a diskusia

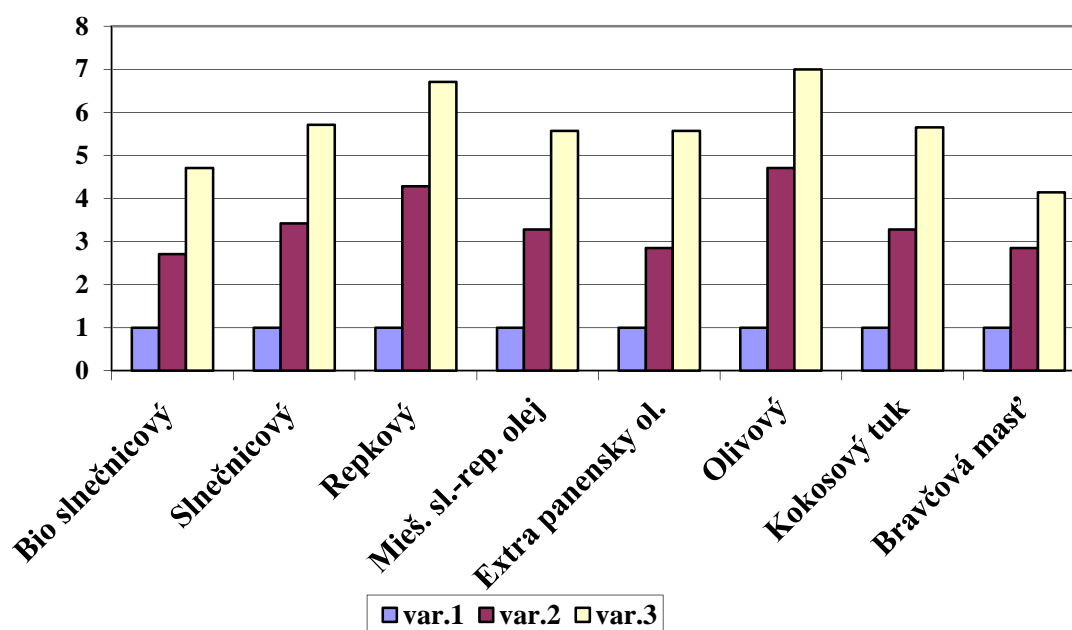
Pri hodnotení senzorických vlastností nami vybraných tukov a olejov môžeme konštatovať, že všetky tuky a oleje mali organoleptické vlastnosti v súlade s požiadavkami na tuky a oleje, ktoré udáva Potravinový kódex SR. Bio slnečnicový olej mal syto žltú farbu, chuť a vôňu výraznú po slnečnici bez cudzieho pachu a cudzej príchute. Olej mal dobrú hustotu (konzistenciu). Slnečnicový olej mal slabo žltú, priesvitnú farbu. Chuť a vôňu mal dosť nevýraznú. Olej mal redšiu konzistenciu. Repkový olej mal slabo žltú, priesvitnú farbu. Chuť a vôňa veľmi jemná po repke bez cudzieho pachu a cudzej príchute s redšou konzistenciou. Miešaný slnečnicovo-repkový olej mal slabo žltú farbu. Chuť a vôňu mal neutrálnu s dobrou konzistenciou. Extra panenský olivový olej mal výrazne tmavo zelenú farbu, chuť a vôňu horkú a silnú po olivách bez cudzieho pachu a cudzej príchute. Olej mal dobrú hustotu (konzistenciu). Olivový olej mal jasno tmavo zelenú farbu. Chuť a vôňu mal dosť nevýraznú. Olej mal dobrú konzistenciu. Kokosový tuk mal bielu farbu s jemne žltým nádychom. Chuť a vôňu mal neutrálnu. Tuk mal veľmi tuhú konzistenciu. Bravčová masť mala bielu farbu. Chuť po bravčovine a vôňu nevýraznú. Tuk mal tuhú, ale roztierateľnú konzistenciu.

Na úpravu pokrmov sa v súčasnom období používa široký sortiment tukov a olejov. Pri úprave rôznych pokrmov sa používajú rozdielne teploty, ktoré v závislosti od použitej suroviny majú v konečnom dôsledku rôzny vplyv na senzorické ale aj nutričné vlastnosti pokrmov.

Pri hodnotení senzorickej analýzy môžeme konštatovať pri všetkých olejoch a tukoch zmenu farby, chute, vône a konzistencie vplyvom teploty (obr. 1, 2, 3, 4). Najväčšie rozdiely v zmene farby boli zaznamenané v kokosovom tuku. Chuť bola najviac zmenená v olivovom oleji. Nižšia teplota pri príprave pokrmov (82 °C) najviac ovplyvnila vôňu olivového oleja a vyššia teplota (100 °C) najviac ovplyvnila vôňu slnečnicového oleja. Teplota tuku najviac ovplyvnila konzistenciu v repkovom oleji.



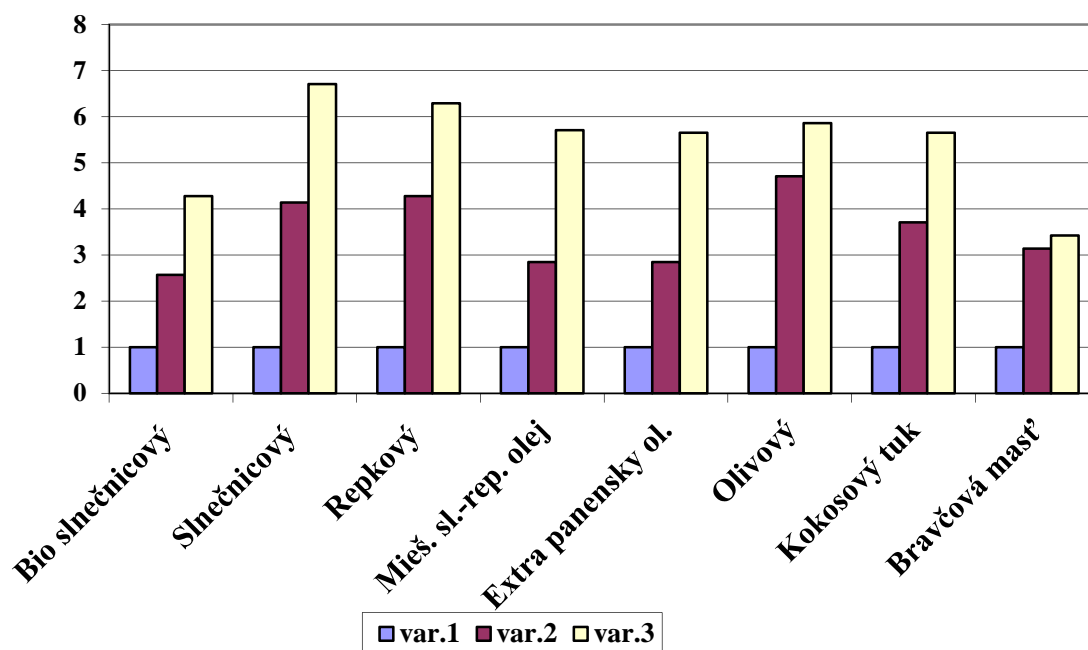
Obrázok 1: Priemerné hodnoty senzorickej analýzy farby olejov a tukov



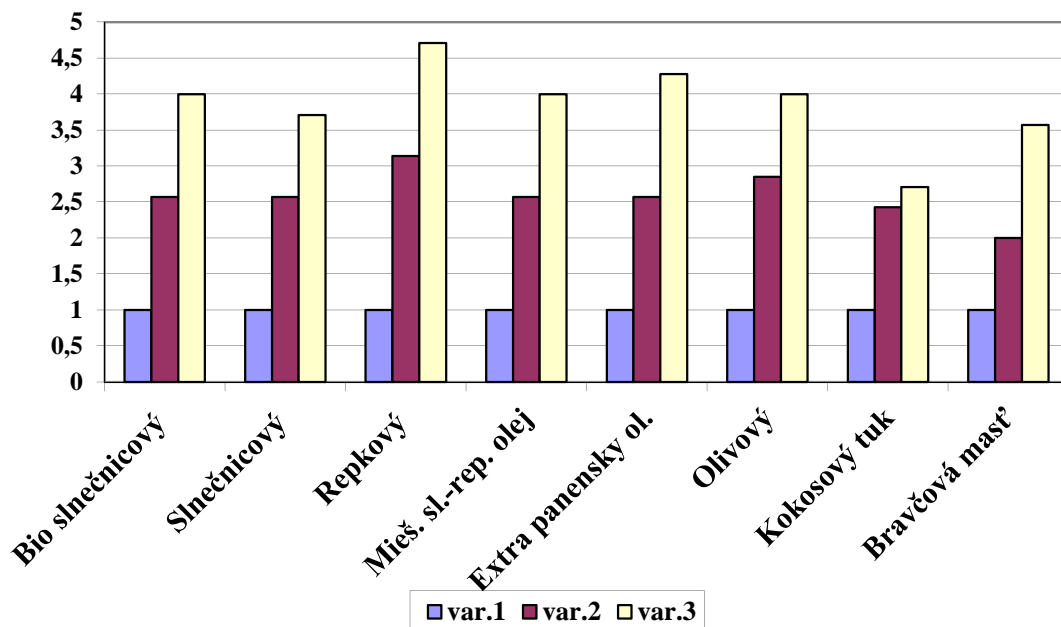
Obrázok 2: Priemerné hodnoty senzorickej analýzy chuti olejov a tukov

Vyššia teplota olejov a tukov počas prípravy pokrmov (100 °C) ovplyvnila senzoricke faktory viac ako nižšia teplota olejov a tukov počas prípravy pokrmov (82 °C). Najmenšie rozdiely senzoricých faktorov vplyvom teploty mala bravčová masť. Vo farbe, chuti, vône a konzistencii boli bodové rozdiely medzi variantmi 2 a 3 od 1 po 1,55 bodu. Vyššia teplota počas prípravy pokrmov v porovnaní s nižšou teplotou prípravy pokrmov ovplyvnila najviac zmenu farby v repkovom oleji, zmenu chute

v extra panenskom olivovom oleji, zmenu vône v miešanom slnečnicovo-repkovom oleji a zmenu konzistencie v extra panenskom olivovom oleji.



Obrázok 3: Priemerné hodnoty senzorickej analýzy vône olejov a tukov



Obrázok 4: Priemerné hodnoty senzorickej analýzy konzistencie olejov a tukov

Pri analyzovaní vybraných druhov olejov a tukov z hľadiska obsahu množstva polárnych zložiek môžeme konštatovať, že teplota olejov pri príprave pokrmov zvýšila množstvo polárnych zložiek (graf 1). Namerané hodnoty v olejoch a tukoch po jednorázovej tepelnej úprave pokrmov nedosiahli hodnotu 24 % , t.j. oleje a tuky neboli opotrebované. Môžeme konštatovať, že teploty 82 °C a 100 °C sú vhodné na prípravu pokrmov v oleji.

Namerané hodnoty TPM v olejoch a tukoch pred tepelným použitím sa pohybovali od 5 do 14,5 %. Najnižšia hodnota bola nameraná v olivovom oleji a najvyššia hodnota TPM bola v kokosovom tuku. Celkovo najvyššia hodnota TPM, 19 %, bola nameraná v kokosovom tuku, var. 3. Nižšia teplota pri príprave pokrmov (82 °C) zvyšovala množstvo TPM do 2 %. Väčší nárast množstva TPM do 5 % bol zaznamenaný pri vyššej teplote pri príprave pokrmov.

Tabuľka 1: Hodnoty polárnych zložiek v olejoch a tukoch v %

Druh použitého oleja/tuku	Var.1	Var. 2	Var. 3
Bio slnečnicový olej	7,0	7,0	10,5
Slnečnicový olej	7,0	9,0	9,5
Repkový olej	6,0	5,5	9,0
Miešaný slnečnicovo-repkový olej	6,0	8,0	10,0
Extra panenský olivový olej	6,5	5,5	6,0
Olivový olej	5,0	8,0	9,5
Kokosový tuk	14,5	14,5	19,0
Bravčová masť	8,0	8,0	13,0

Z výsledkov merania viskozity sme zistili, že oleje a tuky vplyvom teploty takmer nemenili svoju textúru (tab.2). Z uvedených výsledkov merania nemožno jednoznačne určiť nárast, alebo pokles sily potrebnej na ponorenie sondy textúrometra do olejov a tukov, a naopak spätnej sily na jej vytlačenie. Tepelná úprava ani zrejúce hovädzie mäso nemali významný vplyv na viskózne vlastnosti použitých tukov a olejov. Podobné výsledky dosiahla Zeleňáková, et al., (2012), ktorá konštatuje, že zmeny v textúre olejov nie sú ovplyvnené ich tepelno-oxidačnými vlastnosťami. V pokuse sledovala zmeny v textúre olejov po vypražení hranolčekov v zmiešanom rastlinnom oleji a repkovom oleji. Naopak Neureddini, et al., (1992), ktorý merali viskozitu v olejoch zahriatych na rôzne teploty zistili, že zvyšovaním teploty oleja (24 – 110 °C) sa znižovala viskozita v repkovom a kukuričnom oleji, sójovom a kokosovom tuku. Rovnako aj Diamonte a Lan (2014) zistili, že v rastlinných olejoch sa celková viskozita znižovala vplyvom zvyšovania teploty, avšak toto zvýšenie nebolo štatisticky významné. Exponenciálne klesanie viskozity vplyvom zvyšujúcej sa teploty zaznamenali aj Fasinda a Colley (2008).

Záver

V práci sme sa zamerali na sledovanie vlastností vybraných siedmich tukov a olejov, ktoré sa používajú v gastronomických prevádzkach na prípravu pokrmov v čerstvom stave a po rôznej tepelnej úprave. Vlastnosti tukov a olejov majú významný vplyv na pripravované jedlo tak v studenom stave ako aj po jeho tepelnej úprave a významným

spôsobom ovplyvňujú preferencie zákazníkov. Vplyvom teploty došlo prakticky u všetkých tukov a olejov k zmenám farby, chuti, vône a konzistencie. Teplota prípravy pokrmov 82 °C mala najvyšší vplyv na vôňu olivového oleja. Teplota prípravy pokrmov 100 °C mala najvyšší vplyv na vôňu slnečnicového oleja. Teplota tuku najviac ovplyvnila konzistenciu v repkovom oleji. Hodnoty obsahu polárnych zložiek po jednorázovej tepelnej úprave pokrmov nepresiahli hodnotu 24 %.

Tabuľka 2: Hodnoty merania textúry tukov a olejov

	Varianty	Priemerná sila ponoru v kg	Priemerný čas ponoru v N.s-1
Bio slnečnicový olej	var. 1	0,012	0,037
	var. 2	0,012	0,037
	var. 3	0,013	0,038
Slnečnicový olej	var. 1	0,012	0,038
	var. 2	0,012	0,038
	var. 3	0,013	0,037
Repkový olej	var. 1	0,012	0,037
	var. 2	0,013	0,037
	var. 3	0,013	0,037
Miešaný slnečnicovo-repkový olej	var. 1	0,012	0,037
	var. 2	0,012	0,037
	var. 3	0,013	0,038
Extra panenský olivový olej	var. 1	0,012	0,038
	var. 2	0,012	0,037
	var. 3	0,012	0,036
Olivový olej	var. 1	0,012	0,038
	var. 2	0,012	0,037
	var. 3	0,013	0,037
Kokosový tuk	var. 1	0,012	0,086
	var. 2	0,012	0,087
	var. 3	0,013	0,081
Bravčová masť	var. 1	0,014	0,080
	var. 2	0,014	0,081
	var. 3	0,014	0,082

Literatúra

Diamonte, L. M., Lan, T. 2014. Absolute Viscosities of Vegetable Oils at Different Temperatures and Shear Rate Range of 64.5 to 4835 s⁻¹. In *Journal of Food Processing* vol. 2014, p.57-64.

Fasinda, O., Colley, Z. 2008. Viscosity and specific heat of vegetable oils as a function of temperature: 35 °C to 180 °C. In *International Journal of Food Properties*, vol. 11, no. 4, pp. 738–746.

Neureddini, B. C. T., Clements, L. D. 1992. Viscosities of vegetable oils and fatty acids, In *Journal of the American Oil Chemists Society*, vol. 69, p. 1189–1191.

Barát, J., Dostálova, J. 2016. Je kokosový tuk skutočne superpotravina? In *Výživa a potraviny*, vol. 71, no. 2, p. 33-37.

Velíšek, J., Hajšlová, J. 2009. *Chemie potravín 1*. 3. vyd., Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-15-2.

Zeleňáková, L. et al. 2012. Comparison of the quality of vegetable oils designed for the frying food. In *Potravinárstvo*, vol. 6, no. 4, p.45-51.

Kontaktná adresa:

prof. Ing. Jozef Golian, Dr.

Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, FBP SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 01 Nitra.

E-mail: Jozef.Golian@uniag.sk

Sledování koncentrace selenu v mléce *The Selenium concentration in milk monitoring*

Holasová, M., Volný, A., Nečasová, A., Pechová, A.
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Cílem naší práce bylo sledování obsahu selenu v různých vzorcích mléka z tržní sítě a vyhodnocení různých vlivů, které by mohly koncentraci selenu v mléce ovlivňovat. Celkem bylo sledováno 36 vzorků mléka z tržní sítě. Selen byl ve vzorcích mléka stanoven po zmineralizování pomocí hydridové techniky atomové absorpční spektrometrie (HG - AAS). Průměrné hodnoty selenu v mléce byly $19,34 \pm 4,03 \mu\text{g/l}$, přičemž nejnižší zjištěné hodnoty byly $8,96 \mu\text{g/l}$ a ty nejvyšší $26,98 \mu\text{g/l}$. Nebyl zjištěn signifikantní vliv tepelného ošetření či obsahu tuku v mléce na koncentraci selenu v mléce. Na druhé straně jako důležitý faktor ovlivňující koncentraci selenu v mléce byl zjištěn výrobce, zde byly zjištěny výrazné rozdíly v koncentracích selenu mezi různými výrobci mlék.

Klíčová slova: *selen, mléko, HG – AAS*

Abstrakt

The aim of the present work was a selenium monitoring in different market network milk samples. We evaluated the aspects that might influenced the selenium concentration of milk in distinct samples. The total amount was 36 of observed samples. Selenium was determined by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry (HG - AAS) after the sample mineralization. Mean values of selenium in milk were $19.34 \pm 4.03 \mu\text{g/l}$, whereas the lowest and highest values were $8.96 \mu\text{g/l}$ and $26.98 \mu\text{g/l}$, respectively. We find out neither heat treatment nor fat amount had a significant influence on levels of selenium in milk. Amounts of selenium concentrations were markedly influenced by the milk producers themselves on the other hand.

Úvod

Selen je esenciálním stopovým prvkem pro zvířata i pro lidi. Tento ve vysokých koncentracích toxický prvek je nedílnou součástí při procesech růstu a vývoje a obranyschopnosti organismu. U hospodářských zvířat jsou deficity selenu spojeny se zhoršeným růstem a poruchami plodnosti (Schwarz a Foltz, 1957; Weis et al., 1990). U zvířat i u lidí mohou nedostatečné hladiny selenu v organismu vést ke svalovým dystrofiím a závažným kardiomyopatiím (Phipps, 2008). Naopak při zvýšeném příjmu selenu může docházet k akutním i chronickým otravám, kdy selen reaguje s glutathionem za vzniku supeoxidového radikálu. Následná oxidace biogenních molekul je pokládána za molekulární základ toxického účinku určitých forem selenu (Dastych, 2004). Jako koenzym glutathionperoxidasy je nenahraditelnou součástí antioxidantních mechanismů organismu. Je obsažen i v aktivním místě některých oxidoreduktáz a je součástí některých sirných aminokyselin - selenocystein

a selenomethionin (Fuchs, 1996; Dastych, 2004). Hladiny selenu v organismu jsou závislé na příjmu z potravy. Obsah selenu v rostlinách se u různých druhů značně liší. Existují rostliny selenofilní, které obsahují přirozeně velká množství selenu. Nicméně množství selenu v rostlinách je závislé na obsahu selenu v půdě. Česká republika patří mezi země s půdami chudými na selen. Proto chronické otravy selenem nepřichází do úvahy, naopak je u hospodářských zvířat nutná suplementace krmiva selenem. Minimální denní potřeba selenu v potravě činí 0,05 až 0,1 mg/kg potravy u hospodářských zvířat i u lidí.

Materiál a metodika

Byla sledována koncentrace selenu ve 36 vzorcích mléka z tržní sítě. Vzorky mléka byly odebrány do plastových zkumavek, poté byly zamraženy na -18°C a transportovány do laboratoře. Odebrané vzorky se skládaly z různých druhů originálních balení UHT nebo pasterovaného mléka o různé tučnosti a od různých výrobců. U každého vzorku byly zaznamenány údaje o složení jednotlivých látek, datum spotřeby a výrobce či země původu dle obalu. Vzorky pocházely z tržní sítě České a Slovenské republiky z jara roku 2014. Měření bylo zaměřeno na stanovení koncentrace selenu a ostatní parametry byly převzaty z informací na obalu deklarovaných výrobcem. Vzorky byly nejprve zmineralizovány v mikrovlnné peci ETHOS SEL (Milestone, Itálie), byly použity vždy 3 ml vzorku mléka spolu s 6 ml HNO_3 a 1 ml H_2O_2 . Samotná mineralizace probíhala při 200°C po dobu 35 minut při maximálním výkonu 1000 W. Po mineralizaci byly vzorky mléka ještě odpařeny pomocí odpařovací jednotky VAC-1000 Acid Scrubber Module (Milestone, Itálie). Po odpaření vzorku byla provedena redukce Se^{6+} na Se^{4+} , k té dojde pomocí 6M HCl během 20-24 hodin při pokojové teplotě ve tmě (Pechová et al., 2005). Vlastní stanovení koncentrace selenu ve vzorcích mléka bylo provedeno pomocí atomového absorpčního spektrometru contrAA 700 s plně automatizovanou jednotkou na generování hydridů HS 600. Naměřené hodnoty byly statisticky zpracovány pomocí programu Microsoft Excel a UNISTAT. Byly zpracovány základní statistické charakteristiky, dále byly vyhodnoceny rozdíly mezi dvěma skupinami za pomocí F-testu pro zhodnocení rozptylů výběrových souborů a podle výsledku byl využit T-test pro soubory se shodným nebo různým rozptylem. Při srovnání více než dvou souborů bylo hodnocení provedeno analýzou rozptylu testem ANOVA. Výsledky jsou uvedeny jako průměry se směrodatnou odchylkou.

Výsledky a diskuze

Koncentrace selenu v $\mu\text{g/l}$ byla změřena celkem ve 36 vzorcích mléka. Naměřené hodnoty byly podrobeny statistické analýze dat, základní přehled hodnot viz tabulka 1.

Tabulka 1: Základní statistické charakteristiky vzorků mléka

<i>Počet vzorků</i>	36
<i>Průměr</i>	19,34 µg/l
<i>Směrodatná odchylka</i>	4,03 µg/l
<i>Medián</i>	19,95 µg/l
<i>Minimum</i>	8,96 µg/l
<i>Maximum</i>	26,98 µg/l

Vliv tepelného ošetření na koncentraci selenu v mléce

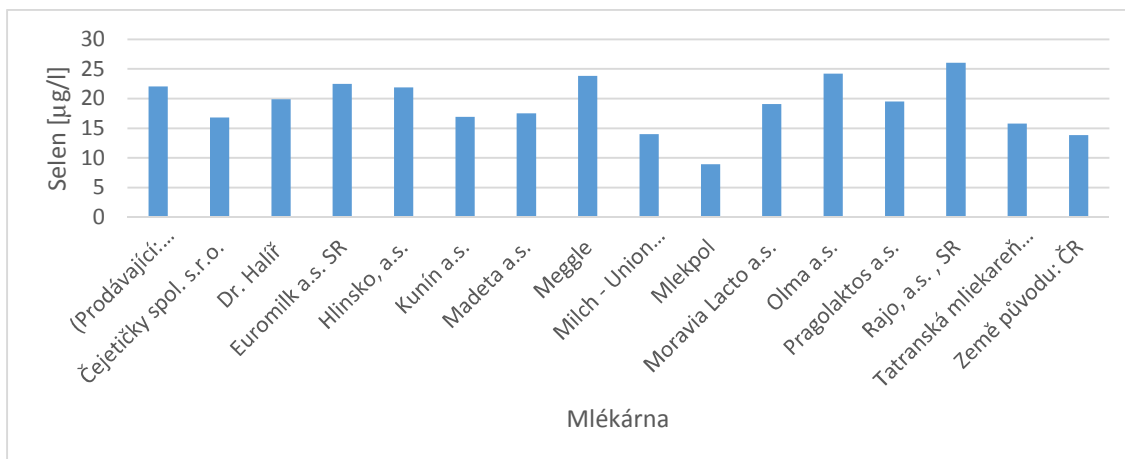
Byl sledován vliv různého způsobu tepelného ošetření na koncentraci selenu v mléce. Vzorky byly upraveny pasterací a vysoko tepelným ošetřením tzv. UHT. Způsob zpracování neovlivnil koncentraci selenu v mléce, mezi oběma skupinami nebyly zjištěny signifikantní rozdíly ($P > 0,05$). Průměrná koncentrace selenu u pasterizovaných mlék byla $18,2 \pm 3,46$ µg/l a ve skupině UHT ošetřených mlék $19,61 \pm 3,46$ µg/l.

Vliv obsahu tuku na koncentraci selenu v mléce

Dále byl sledován vliv různé tučnosti na koncentraci selenu v mléce. Srovnávali jsme mezi sebou mléka plnotučná (s obsahem tuku nejméně 3,5 %), polotučná (s obsahem tuku 1,5 - 2 %) a odtučněná (s obsahem tuku nejméně 0,5 %). Tučnost neovlivnila koncentraci selenu v mléce, mezi skupinami nebyly zjištěny signifikantní rozdíly ($P > 0,05$). Průměrná koncentrace selenu u plnotučných mlék byla $19,73 \pm 4,55$ µg/l, u polotučných mlék $18,81 \pm 3,54$ µg/l a ve skupině odtučněných mlék $19,42 \pm 4,09$ µg/l.

Vliv výrobce na koncentraci selenu v mléce

Byl sledován i vliv výrobce na koncentraci selenu v mléce. Srovnávali jsme mezi sebou mléka od jednotlivých výrobců. Při vyhodnocení koncentrace podle jednotlivých výrobců byly zjištěny poměrně velké rozdíly. Výsledky jsou přehledně zpracovány v grafu 1. Například nejnižší koncentrace 8,96 µg/l byla zjištěna u výrobce Mlekpól. Nejvyšší koncentrace 26,98 µg/l byla zjištěna u výrobce Rajo, a.s. ze Slovenské republiky. Vzhledem k malému počtu vzorků v jednotlivých skupinách jsme statistické vyhodnocení výsledku neprováděli.



Graf 1: Vliv výrobce na koncentraci selenu v mléce

Námi zjištěné koncentrace selenu ve vzorcích mléka z tržní sítě byly průměrně $19,34 \pm 4,03 \mu\text{g/l}$, hodnoty jsou srovnatelné s publikovanými údaji. Například Giri et al. (1988) uvádí ve své studii hodnoty $20,0 \pm 9,3 \mu\text{g/l}$, Rodriguez et al. (2001) $16,44 \pm 4,41 \mu\text{g/l}$ a o něco vyšší hodnoty uvádí Benemariya et al. (1993) $25,9 \pm 5,4 \mu\text{g/l}$. Nejvyšší koncentraci selenu v mléce uvádí Pechová et al. (2008) $28,59 \pm 7,12 \mu\text{g/l}$. Na koncentraci selenu v mléce má vliv řada faktorů, z nichž nejvýznamnější je aktuální příjem selenu. Haug et al. (2007) uvádí, že koncentrace selenu v kravském mléce souvisí s koncentrací selenu v krmivu. V naší práci jsme nepotvrdili vliv tepelného ošetření ani vliv obsahu tuku v mléce na koncentraci selenu v mléce. Na rozdíl od nás Zamberlin et al. (2012) uvádí, že tepelné zpracování mléka může mít vliv na snižování koncentrace selenu. Jensen (1995) uvádí, že se většina selenu nachází v odstředěném mléce a pouze 2 – 10 % ve frakci tuku. Také Knowles et al. (1999) uvádí, že z celkového selenu v mléce je většina ve frakci kaseinu a asi jen 7 % vázáno na tuk. Při vyhodnocení koncentrace selenu podle výrobců byly zjištěny poměrně velké rozdíly. Nejvyšší koncentrace $26,98 \mu\text{g/l}$ byla zjištěná u výrobce Rajo, a.s. ze Slovenské republiky. Světová zdravotnická organizace stanovila doporučenou denní dávku selenu na 55 až 200 $\mu\text{g}/\text{den}$, Mosnáčková (2011) popisuje optimální denní příjem selenu na 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ hmotnosti. Také Krzyzewski et al. (2014) uvádí, že fyziologická potřeba selenu dospělého člověka je 55 $\mu\text{g}/\text{den}$, ale také dodává, že z hlediska zdraví a prevence by množství selenu mělo činit 150 – 200 $\mu\text{g}/\text{den}$. Pro stanovení doporučených denních dávek selenu v mléce byla použita průměrná hodnota vypočítaná z hodnot měření ($19,34 \mu\text{g/l}$). V tabulce 2 je uvedeno, jak mléko splňuje v % doporučenou denní dávku a také kolik by musela daná kategorie vypít, aby doporučená denní dávka byla dodržena. Podle jednotlivých věkových kategorií představuje 1 litr mléka zdroj 28 – 97 % doporučené denní dávky selenu. Přestože 1 litr mléka je poměrně velké množství, lze z tohoto pohledu hodnotit mléko jako vhodný zdroj selenu pro lidskou výživu. Caballos et al. (2009) uvádí, že mléko pocházející od pastevně chovaného skotu přispívá k dennímu příjmu selenu lidmi, protože denní spotřeba 100 g mléka poskytne nejméně 10 % doporučené denní dávky pro dospělého člověka.

Tabulka 2: Doporučené denní dávky Se v % na 1l mléka a množství v litrech pro jednotlivé věkové skupiny populace

	<i>Děti předškolního a školního věku</i>			<i>Dospívající</i>	<i>19-59 let</i>		<i>60 a více let</i>		<i>Těhotné a kojící</i>	
	3-6 let	7-10 let	11-14 let		chlapci / dívky	muži	ženy	muži	ženy	ženy
	chlapci / dívky		chlapci / dívky	chlapci / dívky						
Selen µg/den (DDD)	20,0	25,0	35,0	45,0	55,0	55,0	55,0	55,5	55,0	70,0
% DDD v 1 litru	96,7	77,4	55,3	43,0	35,2	35,2	35,2	34,9	35,2	27,6
Doporučeno v litrech	1,0	1,3	1,8	2,3	2,8	2,8	2,8	2,9	2,8	3,6

Závěr

Průměrná koncentrace selenu v mléce z tržní sítě byla 19,34 µg/l (8,96 – 26,98 µg/l). Koncentrace selenu v mléce nebyla ovlivněna způsobem zpracování ani tučností mléka, ale rozdíly byly zjištěny v závislosti na výrobním podniku. Nejvyšší koncentrace 26,04 µg/l byla UHT mléka s tučností 0,5% zjištěná u výrobce Rajo, a.s. ze Slovenské republiky. Mléko lze hodnotit jako jeden z vhodných zdrojů selenu pro lidskou výživu. V závislosti na věkových skupinách, kryje jeden litr mléka 28 – 97 % doporučené denní dávky.

Literatura

Seznam použité literatury a citovaných zdrojů je k dispozici u autora.

Kontaktní adresa:

MVDr. Milada Holasová

VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav ochrany zvířat, welfare a etologie, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno.

E-mail: H13004@vfu.cz

Lipoperoxidace rybího masa během tepelné úpravy *Lipoxidation of fish meat during heat treatment*

Hostovský, M., Nekvapil, T., Večerek, V.

Ústav ochrany zvířat, welfare a etologie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie,
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno

Souhrn

Významným problémem ve vztahu k nutričním i senzorickým vlastnostem rybího masa je oxidace lipidů, ke které může docházet během manipulace, skladování či technologickém zpracování ryb či výrobků z rybího masa. Cílem této práce bylo stanovení lipoperoxidace v jednotlivých vzorcích rybího masa během různých způsobů tepelného ošetření. Pro studii byly použity filety z běžných druhů ryb - losos obecný (*Salmo salar*), pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*) a kapr obecný (*Cyprinus carpio*), které byly následně tepelně upraveny vařením, smažením či mikrovlnným ohřevem. Pro stanovení hodnoty lipoperoxidace byl použit TBARS test. Nejvyšší nárůst lipoperoxidace v porovnání skupin hodnocených vzorků byl zjištěn v mase pstruha po smažení, naopak v mase kapra byl nárůst hodnoty TBARS nejmenší. Mikrovlnný ohřev měl za následek nejmenší změny hodnot oxidace lipidů u všech použitých druhů rybího masa.

Klíčová slova: *rybí maso, tepelné zpracování, oxidace lipidů, malondialdehyd*

Abstract

An important problem in relation to nutritional and sensory properties of fish meat is lipid oxidation, which may occur during handling, storage and technological processing of fish or fish products. The aim of this work was to determine the lipid peroxidation in the various samples of fish meat during the various methods of heat treatment. For the study filets from common species of fish were used - Atlantic salmon (*Salmo salar*), rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and common carp (*Cyprinus carpio*), which were cooked by boiling, frying and microwave heating. To determine the lipid peroxidation TBARS test was used. The highest increase in lipid peroxidation level was found in the meat after frying trout when compared to the other groups of samples, while in the flesh of the carp an increase in TBARS values was the lowest. Microwave heating has resulted in the smallest increase in lipid oxidation in all the types of fish meat.

Úvod

Oxidace lipidů je velmi důležitým procesem, který vede ke ztrátě nutričních hodnot a kvality potravin. Vzhledem k vysokému obsahu polynenasycených mastných kyselin je rybí maso velmi citlivé na oxidaci lipidů během manipulace, zpracování a technologické úpravy, včetně tepelného ošetření. V důsledku oxidačního poškození se tvoří lipidové hydroperoxydy, které jsou velice nestálé a rozkládají se na aldehydy, ketony, alkoholy, kyseliny nebo uhlovodíky (St. Angelo, 1996). Tyto takzvané

sekundární produkty lipoperoxidace mohou změnit barvu, texturu, chuť a vůni rybího masa a zhoršují tak jeho celkovou kvalitu (Mendes et al., 2009).

Zejména značný obsah mastných kyselin a vitamínů rozpustných v tucích má vliv na vysokou nutriční hodnotu rybího masa. Během tepelného ošetření však dochází ke znehodnocení právě lipidů obsažených v rybím mase a některé produkty lipoperoxidace, jako například malondialdehyd, mají rovněž prokázané karcinogenní a mutagenní účinky (Fernández et al., 1997). Cílem naší práce bylo stanovení změny hodnoty lipoperoxidace v rybím mase během různých způsobů tepelného ošetření.

Materiál a metodika

Vzorky masa:

Rybí maso bylo zakoupeno v tržní síti České republiky. Pro tuto studii jsme vybrali druhy ryb, které jsou u spotřebitelů běžné a oblíbené – filet z lososa obecného (*Salmo salar*), filet ze pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) a filet z kapra obecného (*Cyprinus carpio*). Maso bylo po zakoupení očištěno, rozděleno a označeno podle druhu a způsobu tepelného úpravy. Každý vzorek masa měl váhu $100\text{g} \pm 10\text{g}$.

Teplná úprava vzorků

Ze vzorků masa lososa, pstruha a kapra byla odebrána část masa bez kůže asi 20 g (± 5 g) pro tepelnou úpravu. Vaření jednotlivých vzorků ryb po dobu 10, 15 a 20 minut bylo v deionizované vodě při 100 °C. Smažení jednotlivých vzorků ryb po dobu 10, 15 a 20 minut bylo na rafinovaném řepkovém oleji při teplotě 180 – 190 °C pod kontrolou teploty laserovým teploměrem. Rafinovaný řepkový olej byl zvolen vzhledem k udávané teplotě rozkladu (tzv. "Smoke point" = 204 °C) (Bockisch, 1998). Mikrovlnný ohřev jednotlivých vzorků ryb v době 1, 2 a 3 minut byl v mikrovlnné troubě při výkonu 650W. Z tepelně upravených vzorků bylo odebráno duplicitně množství 1 g ($\pm 0,01$ g) do mikrozkušavek a poté následovala homogenizace.

Homogenizace:

Homogenizace byla provedena dispergátorem Ultra Turrax T18 basic (IKA® Werke Staufen) v ledové lázni (9.000 otáček/min.) po dobu 2 minut. Homogenát byl poté napipetován do mikrozkušavek typu Eppendorf v množství 1 ml k vlastnímu stanovení lipoperoxidace metodou TBARS.

Stanovení lipoperoxidace

Hodnota lipidní peroxidace byla změřena pomocí TBARS testu (Thiobarbituric Acid Reactive Substances = látky reaktivní s kyselinou 2-thiobarbiturovou) (Matsushita et al., 2010; Ganhão et al., 2011). Tato tradiční metoda je založena na stanovení barevných adduktů, které vznikají reakcí sekundárních produktů lipidní peroxidace s kyselinou 2-thiobarbiturovou. Měření bylo provedeno dvakrát pro každý vzorek na mikrotitračních destičkách přístrojem Varioskan™ Flash Multimode Reader (Thermo Fisher Scientific Inc.). Pro kalibraci byl použit standard 1,1,3,3-tetraethoxypropan, výsledné hodnoty TBARS byly přepočteny na nanomoly TBARS na gram vzorku masa ($\text{nM TBARS} \cdot \text{gww}^{-1}$).

Výsledky a diskuze

TBARS test se běžně používá pro měření indexu oxidace lipidů v masě a masných produktech (Mendes et al., 2009; Matsushita et al., 2010). Naše výsledky týkající se změny hodnoty TBARS během tepelné úpravy v rybím masě (Tabulka 1) ukazují na závažný účinek teploty a doby tepelného ošetření na oxidaci lipidů v rybích filetech. Nejvyšší nárůst hodnoty lipoperoxidace byl zaznamenán u masa pstruha, naopak maso kapra mělo nejnižší nárůst hodnoty TBARS v porovnání s ostatními použitými druhy ryb.

Tabulka 1: Průměrné hodnoty TBARS (nM.gww⁻¹) v rybím masě po tepelné úpravě:

Druh masa	Losos - filet	Pstruh - filet	Kapr - filet
	Průměr±SD*	Průměr±SD*	Průměr±SD*
Před tepelnou úpravou:			
	29,45±0,11	9,89±0,20	12,22±0,39
Vaření:			
- 10 min.	39,66±0,62	59,36±0,82	31,28±0,22
- 15 min.	48,72±0,01	121,76±0,09	33,85±0,08
- 20 min.	80,08±0,20	130,04±0,13	52,29±0,01
Smažení:			
- 10 min.	63,82±0,58	84,26±0,71	18,96±0,09
- 15 min.	69,06±0,84	93,01±0,69	22,93±0,24
- 20 min.	74,79±0,24	132,40±0,82	25,79±0,26
Mikrovlnný ohřev:			
- 1 min.	49,98±0,45	13,89±0,34	14,97±0,89
- 2 min.	53,00±0,26	62,17±0,24	16,51±0,44
- 3 min.	72,60±0,85	81,97±0,06	51,73±0,46

*SD = Směrodatná odchylka

Podle našeho očekávání měla zvýšená teplota a prodloužená doba tepelného ohřevu za následek postupné navýšení oxidace lipidů v rybím masě. V porovnání metod ohřevu bylo smažení na rostlinném oleji příčinou nejvyššího nárůstu, naopak krátkodobý mikrovlnný ohřev měl za následek nejmenší nárůst hodnot TBARS u všech použitých druhů ryb. Rovněž další studie ukazují, že účinek teploty na změny hodnot TBARS v masě se liší v závislosti na použité metodě a době tepelné úpravy (Oz et al., 2007; Serrano et al., 2007). Některé práce ovšem poukazují na problematiku běžně používaného testu TBARS, který může detekovat další reaktivní sloučeniny reagující s aminokyselinami masa (Mendes et al., 2009). I přes známé nevýhody je tato metoda detekce sekundárních produktů lipoperoxidace stále hojně používána, také například pro zhodnocení vlivů teploty, skladování, technologických způsobů balení a dalších faktorů na kvalitu rybího masa a výrobků z něj (Dallabona et al., 2013; Muela et al., 2014; Khan et al., 2015; Steppeler et al., 2016).

Oxidace je hlavním procesem zhoršení kvality lipidů obsažených v potravinách živočišného či rostlinného původu, neboť vede k tvorbě volných radikálů, které mají za následek zhoršení kvality potravin (Khan et al., 2015). Rybí maso je z nutričního

hlediska všeobecně velmi dobře hodnoceno (Staehein, 2005; Willcox et al., 2014), během skladování či technologického zpracování rybího masa a masných výrobků však mohou oxidací lipidů vznikat nežádoucí látky, které mají rovněž vliv na zdraví konzumenta, neboť jsou spojeny s mnoha civilizačními chorobami, jako jsou ateroskleróza, diabetes či revmatoidní artritida (Abuja and Albertini, 2001).

Závěr

Vyhodnocením získaných výsledků bylo zjištěno, že maso pstruha obecného bylo nejvíce citlivé k vyšší teplotě, pro všechny použité druhy rybího masa pak bylo smažení důvodem vysokého nárůstu produktů lipoperoxidace. Vysoká teplota a dlouhá doba tepelné úpravy rybího masa má za následek snížení jeho nutriční kvality. Úroveň oxidace lipidů se však může lišit podle použité technologie, ale také podle druhu upravovaného rybího masa.

Literatura

- Bockisch, M. (1998). *Fats and Oils Handbook*. Champaign, IL: AOCS Press, pp. 95–6.
- Dallabona, B.R., Karam, L.B., Wagner, R., Silva Bartolomeu, D.A.F., Mikos, J.D., Francisco, J.G.P., de Macedo, R.E.F., Kirschnik, P.G. (2013). Effect of heat treatment and packaging systems on the stability of fish sausage *Revista Brasileira de Zootecnia*, 42 (12), pp. 835-843.
- Fernández, J., Pérez-Álvarez, J.A., Fernández-López, J.A. (1997). Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry* 59 (3), pp. 345-353.
- Ganhão, R., Estévez, M., Morcuende, D. (2011). Suitability of the TBA method for assessing lipid oxidation in a meat system with added phenolic-rich materials. *Food Chemistry* 126 (2), pp. 772-778.
- Khan, M.I., Adrees, M.N., Arshad, M.S., Anjum, F.M., Jo, C., Sameen, A. (2015). Oxidative stability and quality characteristics of whey protein coated rohu (*Labeo rohita*) fillets. *Lipids in Health and Disease* 14 (1), art. no. 58, .
- Matsushita, T., Inoue, S-I., Tanaka, R. (2010). An assay method for determining the total lipid content of fish meat using a 2-thiobarbituric acid reaction. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 87 (9), pp. 963-972.
- Mendes, R., Cardoso, C., Pestana, C. (2009). Measurement of malondialdehyde in fish: A comparison study between HPLC methods and the traditional spectrophotometric test. *Food Chemistry* 112 (4), pp. 1038-1045.
- Muela, E., Alonso, V., Morago, P., Calanche, J.B., Roncalés, P., Beltrán, J.A. (2014). Effect of gas packaging conditions on thawed *Thunnus obesus* preservation. *Food Control* 46, pp. 217-224.
- Oz, F., Kaban, G., Kaya, M. (2007). Effects of cooking methods on the formation of heterocyclic aromatic amines of two different species trout. *Food Chemistry* 104, pp. 67–72.
- Serrano, A., Librelotto, J., Cofrades, S., Sánchez-Muniz, F. J., Jiménez-Colmenero, F. (2007). Composition and physicochemical characteristics of restructured beef steaks containing walnuts as affected by cooking method. *Meat Science*. 77, 304–313.
- St. Angelo, A. J. (1996). Lipid oxidation in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 36, 175–224.

Stahelin, H.B. (2005). Micronutrients and Alzheimer's disease. *Proceedings of the Nutrition Society* 64 (4):565-570.

Steppeler, C., Haugen, J.-E., Rødbotten, R., Kirkhus, B. Formation of Malondialdehyde, 4-Hydroxynonenal, and 4-Hydroxyhexenal during in Vitro Digestion of Cooked Beef, Pork, Chicken, and Salmon (2016) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64 (2), pp. 487-496.

Willcox DC, Scapagnini G, Willcox BJ. (2014). Healthy aging diets other than the Mediterranean: A focus on the Okinawan diet. *Mechanisms of Ageing and Development* 136-137:148-162.

Kontakní adresa:

MVDr. Martin Hostovský, Ph.D.

Ústav ochrany zvířat, welfare a etologie, FVHE, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno.

E-mail: hostovskym@vfu.cz

**Vliv autolytických tkáňově specifických proteinů v srdci a aortě
Prasete domácího**
*Influence of autolysis on tissue-specific proteins in *Sus scrofa* heart and
aorta*

**Chernukha, I.M.¹, Fedulova, L.V.¹, Kotenkova, E.A.¹, Vasilevskaya, E.R.¹,
Shishkin, S.S.², Kovalyov, L.I.²**

¹ The V.M. Gorbatov All-Russian Meat Research Institute, Moscow, Russia

² Federal State Institution “Federal Research Centre “Fundamentals of Biotechnology”
of the Russian Academy of Sciences

Abstract

The article presents the results of tissue-specific proteins identification in *Sus scrofa* heart and aorta tissues and influence of autolytic processes impact on its safety. In aorta tissues following proteins were identified: Apolipoprotein A-1 involved in the formation of high-density lipoproteins, peroxiredoxin-1 involved in the suppression of oxidative stress, galectin-1 induced apoptosis of T-lymphocytes: in heart tissues: fatty acid-binding protein. It was discovered that functional proteins destroyed under the action of autolytic enzymes.

Key words: *tissue-specific proteins, heart, aorta, electrophoresis, mass spectrometry*

Introduction

Healthy food production is an acute problem and functional food production. The functional foods are modern compounds of treatment, therapeutic and preventive tool for people suffering from diseases in both acute and post-rehabilitation periods. Thus, the functional foods are expected to promote a human health and to prevent lifestyle related disease such as the hypolipidemic and atherosclerotic diseases.

Meat proteome is a source of bioactive sequences possessed hypotensive, antioxidant, opioid, immunomodulatory, prebiotic, mineral-binding, cholesterol-lowering and antimicrobial activity (Bauchart *et al.*, 2006; Cheng *et al.*, 2009; Ahmed & Muguruma, 2010; Toldrá *et al.*, 2012; Udenigwe *et al.*, 2013; Lafarga *et al.*, 2014). On the other hand, animal by-products are characterized by unique proteome (Fagerberg *et al.*, 2014). It is also known that in every tissue special proteins and peptides are expressed and accumulated, including signal sequences involved in cellular repairing process.

The aim of the study is to investigate and identify tissue-specific proteins in *Sus scrofa* heart and aorta involved in hypolipidemic and anti-inflammatory effects as well as to study influence of autolysis on its safety.

Material and methods

Objects of the study were *Sus scrofa* heart and aorta tissues frozen at minus 10 °C or subjected to autolysis at 2 ± 2 °C for 4 days.

Two-dimensional electrophoresis was performed according to the method of O'Farrell (Xu *et al.*, 2012). with isoelectric focusing in ampholine pH gradient (IEF-PAGE). The

subsequent detection of the proteins was carried out by staining with silver nitrate as described previously (Kovalyov *et al.*, 2006, 2013).

Identification of protein fractions was performed on DE after trypsinolysis by MALDI-TOF/MS and MS/MS mass spectrometry on Ultraflex MALDI-TOF mass spectrometer (Bruker, Germany) with UV laser (336 nm) in the positive ion mode in molecular weight range of 500-8000 Da with calibration according to known peaks of trypsin autolysis. Analysis of obtained tryptic peptides mass spectra was performed using Peptide Fingerprint option in Mascot software (Matrix Science, USA) with MH⁺ mass determination accuracy of 0.01%; search was performed in databases of the National Center for Biotechnology Information, USA (NCBI).

Results and discussion

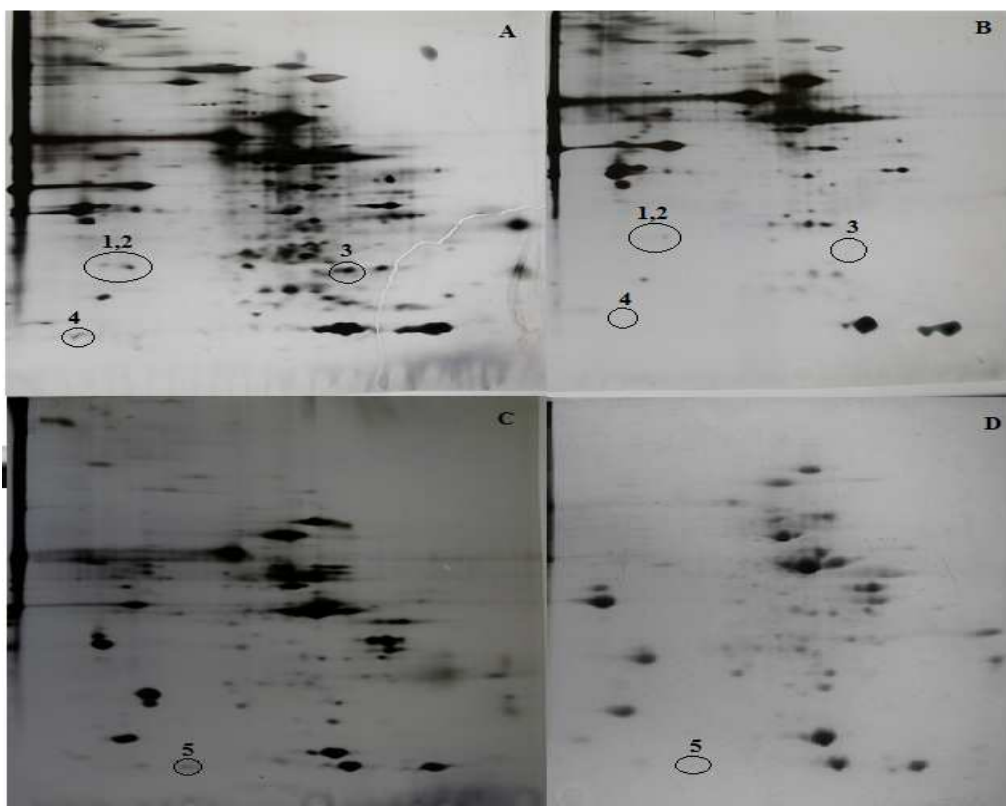


Figure 1: The results of electrophoretic analysis of proteins according to O'Farrell method. A – frozen aorta tissue, B - autolyzed aorta tissue, C – frozen heart tissue, B - autolyzed heart tissue.

***S/M/C** - traditional identification indicators adopted in the English literature: Score - indicator of conformity or "scorecard"; Match peptides - the number of matched peptides; Coverage - % coverage of the entire amino acid sequence of the protein by identified peptides.

** **mM/pI (experiment)** – scores obtained as a result of electrophoretic mobility on the DE and **mM/pI (calculation)** – estimates made based on amino acid sequence data with consideration of signal peptide removal, but with no consideration of other post-synthetic modifications using the ExPASy Compute pI/Mw tool software.

Tissue-specific proteins were identified in *Sus scrofa* aorta tissue (Fig 1A, Table 1): apolipoprotein A-1 (1,2) involved in the formation of high-density lipoproteins, peroxiredoxin-1 (3, in mixture with transgelin) involved in the suppression of oxidative stress, galectin-1 (4) induced apoptosis of T-cells, as well as a number of heat shock proteins with molecular weight less than 30 kDa. According to Hamze *et al.*, 2013 and Canducci *et al.*, 2012 reports antibodies produced by B-cells can selectively contact type 1 transgelines expressed by arterial fibroblast-like cells. Presumably, the antioxidant enzymes can prevent the oxidation of structural proteins in blood vessels in order to decrease antigenicity produced by exposure to reactive oxygen species.

Heart fatty acid-binding protein was identified in *Sus scrofa* heart tissue (Fig 1C, Table 1). Heart muscle is the most actively working internal organ, on that requires a lot of energy. Fatty acid-binding proteins are members of the intracellular lipid-binding protein family and are involved in reversibly binding intracellular hydrophobic ligands and trafficking them throughout cellular compartments, therefore are necessary for stable cardiac muscle functionalization as a transporter an energy molecules (Smathers and Petersen, 2011).

Table 1: The results of mass spectrometric identification (MALDI-TOF/MS and MS/MS) of protein fractions in *Sus scrofa* aorta and heart tissues

No.	Protein name; (Gene symbol)	S / M/ C *	mM/pI (experiment)**	mM/pI (calculation)**
1	Pre-apolipoprotein A-1 (<i>APOA1</i>)	177/19/51	25.0/5.00	30.0/5.47
2	Apolipoprotein A-1 (<i>APOA1</i>)	152/15/46	25.0/4.95	30.3/5.38
3	Mixture transgelin (<i>TAGLN</i>) and X5 isoform of peroxiredoxin 1 (<i>PRDX1</i>).	283/31/82 106/11/52	22.0/8.20	22.6/8.87 21.9/8.67
4	Galectin-1 (<i>GLNI</i>)	178/8/50	14.5/4.85	14.6/5.07

It was shown that detected tissue-specific proteins (apolipoprotein A-1, peroxiredoxin 1, galectin-1 and heart fatty acid-binding protein) underwent proteolysis during 4-day autolysis (Fig 1B,D).

Conclusion

Apolipoprotein A-1 involved in the formation of high-density lipoproteins, peroxiredoxin-1 involved in the suppression of oxidative stress, galectin-1 induced apoptosis of T-lymphocytes were detected in *Sus scrofa* aorta tissues, fatty acid-binding protein was detected in *Sus scrofa* heart tissues. It was discovered that functional proteins destroyed under the action of autolytic enzymes, therefore for functional meat product processing fresh or frozen hearts and aortas are suitable. On the other hand, development of technology of bioactive additive is more perspective.

References

- Ahhmed, A.M., Muguruma, M. A review of meat protein hydrolysates and hypertension. *Meat Science*, 2010, vol.86, p. 110–118.
- Bauchart, C., Re´mond, D., Chambon, C., Patureau, M.P., Savary, A.I., Reyne`s, C., Morzel, M. Small peptides (<5 kDa) found in ready-to-eat beef meat. *Meat Science*, 2006, vol.74, p.658–666.
- Canducci, F., Saita, D., Foglieni, C., Piscopiello, M.R., Chiesa, R., Colombo, A., Cianflone, D. et al. Cross-Reacting Antibacterial Auto-Antibodies Are Produced within Coronary Atherosclerotic Plaques of Acute Coronary Syndrome Patients, *PLoS One*, 2012, vol. 7, e42283, p.1-12.
- Fagerberg, L., Hallstrom, B.M., Oksvold, P., Kampf, C., Djureinovic, D., Odeberg, J., Habuka, M. et al. Analysis of the Human Tissue-specific Expression by Genome-wide Integration of Transcriptomics and Antibody-based. *Molecular Cell Proteomics*, 2014, vol. 13, p.397-406.
- Hamze, M., Desmetz, C, Laurence Berthe, M., Roger, P., Boulle, N., Brancherau, P., Picard, E. et al. Characterization of Resident B Cells of Vascular Walls in Human Atherosclerotic Patients. *Journal of Immunology*, 2013, vol. 191, p. 3006-3016.
- Kovalyov, L.I., Kovalyova, M.A., Kovalyov, P.L., Serebryakova, M.V., Moshkovskii, S.A., Shishkin, S.S. Polymorphism of delta 3,5-delta2,4-dienoyl-coenzyme A isomerase (the ECH1 gene product protein) in human striated muscle tissue. *Biochemistry (Moscow)*, 2006, vol. 71, No. 4, p. 448-453.
- Kovalyov, L.I., Shishkin, S.S., Kovalyova, M.A., Ivanov, A.V., Vostrikova, N.L., Chernukha, I.M. Proteomic study of proteins in pork and meat products. *All about meat*, 2013, No. 3, p. 32-34.
- Lafarga, T., Hayes, M. Bioactive peptides from meat muscle and by-products: generation, functionality and application as functional ingredients. *Meat Science*, 2014, vol.98, p.227–239.
- Smathers, R.L., Petersen, D.R. The human fatty acid-binding protein family: Evolutionary divergences and functions. *Human Genomics*, 2011, vol. 5, p. 170–191.
- Toldrá, F., Aristoy, M.-C., Mora, L. and Reig, M. Innovations in value-addition of edible meat by-products. *Meat Science*, 2012, vol. 92, p. 290–296.
- Udenigwe, C.C., Howard, A. Meat proteome as source of functional biopeptides. *Food Research International*, 2013, vol.54, p. 1021–1032.
- Xu, Y., Qian, H., Feng, X., Xiong, Y., Lei, M., Ren, Z., Zuo, B., Xu, D., Ma, Y., Yuan, H. Differential proteome and transcriptome analysis of porcine skeletal muscle during development. *Journal of Proteomics*, 2012, vol. 75, p. 2093-2108.

Acknowledgements

This work was supported by the Russian Science Foundation (project No. 16-16-10073).

Contact address:

Chernukha Irina Mikhailovna, Ph.D., prof., the V.M. Gorbatov All-Russian Meat Research Institute. Experimental clinic - laboratory of biologically active substances of an animal origin, st. Talalikhina, 26, 109316, Moscow, Russia.
E-mail: imcher@inbox.ru.

Obsah vitamínu C v jablečném moštu v porovnání s jablečnými džusy z koncentrátu

The content of vitamin C in apple must compared to apple juice from concentrate

Janštová, B.¹, Ošťádalová, M.², Tremlová, B.², Běhalová, H.²

¹Ústav gastronomie

²Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Mošty a džusy patří mezi oblíbené nápoje, které legislativa označuje jako ovocné šťávy a ovocné šťávy z koncentrátu. Vlastnosti by měly vykazovat stejné, postup výroby se však liší. Zatímco v případě moštů získáváme šťávu vymačkáním z ovoce, džusy jsou vyráběny naředěním ovocného koncentrátu. Tímto procesem se však může měnit množství obsahových složek. Příkladem může být obsah vitamínu C v jablečných mostech, které byly porovnány s jablečnými šťávami z koncentrátu. Průměrná hodnota vitamínu C byla u jablečných moštů 367,39 mg/l, u šťáv z koncentrátu 266,458 mg/l, což je téměř o 1/3 méně.

Klíčová slova: *jablečný nápoj, obsahové látky, zdraví konzumenta*

Abstract

Musts and juices are very favorite beverages, legislation refers them as a fruit juice and fruit juice from concentrate. Properties should be the same, but manufacturing process varies. Apple must is made by squeezing juice from fruits, apple juice is made by diluting the fruit concentrate. This process, however, may change the quantity of content components. An example might be the level of vitamin C in apple must, which were compared with must from conventional production. The average level of vitamin C were in apple musts 367,39 mg/l, in fruit juice from concentrate 266,458 mg/l, which is almost 1/3 less.

Úvod

Zdravotní a dietetický přínos jablek je výrazný. Jablka a z nich vyráběný mošt, jsou zdrojem vitamínu C, přírodního cukru, pektinu, ovocných kyselin a obsahují vysoké množství fenolických látek, které v těle člověka fungují jako antioxidanty, které chrání DNA v lidských buňkách a snižují tak riziko vzniku rakoviny (Biedrzycka and Amarowicz, 2008).

Mošt je ovocná šťáva, která není přímo definovaná legislativou, avšak tento název by se měl používat pouze pro ovocnou šťávu. Označování a jakostní požadavky pro nápoje řeší vyhláška č. 355/1997 Sb. Mošt je šťáva získaná lisováním ovoce. Ovoce se před lisováním drtí, aby došlo k narušení tkáně a tak snadnějšímu uvolnění šťávy. Lisování ovocné drtě se často kombinuje s odstředováním suroviny pro maximální výnos. Mošt je po vylisování čištěn, většinou čířením a filtrací. Čířením ovocných šťáv se odstraňují látky, které způsobují zákal a barevné nebo chuťové změny. Číření probíhá za pomoci

bentonitu, želatiny nebo křemelinového solu. Tato čířidla přispívají k zajištění jakosti nápojů, a tím jejich stabilitě a zachování vhodných vlastností. Po příslušné reakci se odlučují usazováním, odstředováním nebo filtrací. Filtrací se oddělují hrubé či větší částice, které snižují nejen sensorickou přijatelnost ovocných šťáv, ale snižují i jejich údržnost. K filtraci se používají různé typy filtrů a filtračních zařízení, které se liší v závislosti na technologii zpracování. Případné použití konzervantů, sladidel, apod. musí být uvedeno na obale a je upraveno vyhláškou č. 304/2004 Sb. Mošt se následně pasteruje. Pasterace je nejšetnějším způsobem konzervace moštů. Jedná se o zahřátí na teplotu nižší, než 100° C, přičemž konkrétní teplota i doba závisí na druhu nápoje. Pasterace je poměrně šetrná vůči labilním nutrientům a zároveň dostačující pro zvýšení uchovatelnosti moštů a redukci vegetativních forem mikroorganismů, včetně kvasinek. Zatímco jablečné mošty bývají převážně z domácí proveniencie, 100% džusy z obchodu vznikají hlavně v USA a v Číně. Šťáva z koncentrátu musí urazit dlouhou cestu, než se dostane ke spotřebiteli. Během výrobního procesu dochází nejdříve k odpařování vody z vylisované jablečné šťávy, čímž se snižuje její objem, zvyšuje hustota a prodlužuje trvanlivost. Výsledkem je jablečný koncentrát s konzistencí medu, který může být transportován ze země původu do celého světa. Součástí tohoto postupu je také odchyt těkavých aromatických látek, které se během odpařování uvolňují. Pro výrobce džusů je pak hlavní výrobní surovinou právě tento koncentrát z dovozu, který opětovně zředí vodou tak, aby doplnili chybějící odpařené množství. A vrátit by se měly i zmiňované aromatické látky. Jenže ne vždy je tomu tak. Navíc dochází při výrobě koncentrátů i ke změně obsahových látek, jako je například vitamín C.

Materiál a metodika

Pro analýzu byly vybrány vzorky 7 jablečných moštů dostupných na českém trhu a 7 jablečných džusů vyrobených z koncentrátu.

Analýza jablečných moštů a džusů z koncentrátu probíhala souběžně s cílem porovnat obsah vitamínu C a vyhodnotit kvalitu daných jablečných produktů. 7 jablečných moštů pocházelo z ČR a kromě čistého jablečného moštu (Jablko bio) byly analyzovány vzorky jablečného moštu s různými příchutěmi (Jablko+ červená řepa, Jablko + aronie, Jablko + rakytník, Jablko + zázvor, Jablko + meruňka a Jablko - zelená energie (mošt se zeleným čajem)). 7 džusů bylo zakoupeno v tržní síti a jednalo se o 100 % jablečné šťávy, jablečné mošty z koncentrátu.

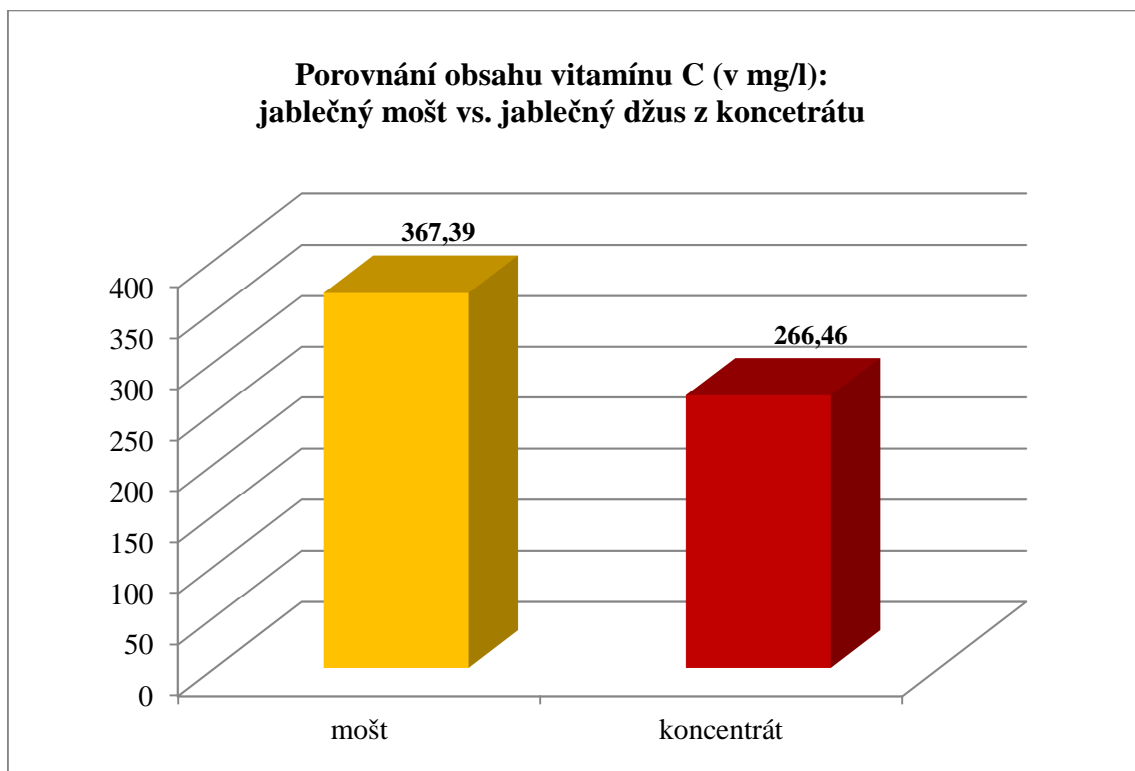
Vitamín C byl stanoven jodometrickou titrací. Principem stanovení vitamínu C je oxidace kyseliny L-askorbové 2,6-dichlorfenolidofenolem za vzniku kyseliny L-dehydroaskorbové a bezbarvé leukobáze indofenolu. Obsah kyseliny askorbové se zjistí dle spotřeby 2,6-dichlorfenolindofenolu na titraci vzorku (ml), dosažené do přepočítávací rovnice a výsledek se uvádí v mg kyseliny askorbové.

Výsledky byly zprůměrovány a vyhodnoceny.

Výsledky a diskuze

Jak ukazuje graf č. 1., průměrná hodnota vitamínu C byla u jablečných moštů 367,39 mg/l. Obsah vitamínu C u analyzovaných vzorků moštů se pohyboval v rozpětí 116,14 - 682,54 mg/l. Nejvyšších hodnot dosahovaly vzorky moštů jablko + aronie (682,53 mg/l) a jablko + rakytník (660,53 mg/l). Průměrná koncentrace vitamínu C

u jablečných džusů z koncentrátu byla 266,458 mg/l, přičemž nejnižší naměřená hodnota byla 151,75 mg/l a nejvyšší 568,39 mg/l.



Graf 1: Průměrný obsah vitamínu C (mg/l) u vzorků jablečných moštů a jablečných džusů z koncentrátu.

Vitamín C je významný antioxidant, který je poměrně citlivý na vnější prostředí. Jeho degradace je ovlivněna zejména přítomností kyslíku, světla a tepla. Což může vysvětlovat významné rozdíly mezi jednotlivými vzorky jablečných moštů. Lze předpokládat, že vzorky, které jsou déle skladovány a tak vystavovány světelným paprskům, obsahují v průměru nižší koncentrace vitamínu C, než vzorky, které jsou skladovány kratší dobu, případně bez přístupu světla. Další významnou roli hraje odrůda suroviny a její staří. Zejména rozdílné odrůdy jablek, mohou být významní činitelé rozdílnosti obsahu vitamínu C v moštích (Kaur and Bal 2016; Davey, 2000).

Průměrný obsah vitamínu C v jablečných moštích a obecně ovocných šťávách je velmi variabilní. Například Katz (2013) uvádí jako nejčastější rozmezí 326,3 - 435,1 mg/l vitamínu C, nebo Tang and Wu (2005) ve své práci zjišťují rozpětí vitamínu C v hodnotách 254,0 - 352,00 mg/l. Vysoké koncentrace vitamínu C u vzorků jablko + arónie (682,53 mg/l) a jablko + rakytník (660,53 mg/l) mohou být způsobeny obsahem i jiných surovin, než jablek. Podle Benvenuti *et al.* (2004) se obsah vitamínu C v plodu arónie vyskytuje v rozmezí 124,6 - 153,8 mg a v rakytníku dle kolektivu Gutzeita *et al.* (2008) v rozmezí 207,8 - 486,3 mg.

Dle uvedených výsledků lze konstatovat, že jablečné mošty obsahují vyšší koncentraci vitamínu C, které navíc nejlépe odpovídá hodnotám uváděným ve vědecké literatuře. Vyšší průměrné hodnoty vitamínu C u jablečných moštů (367,39 mg/l) se zvyšovaly

zejména přidavkem dalších surovin nejenom jablek, což zvyšuje jejich nutriční hodnotu, ale i konkurenceschopnost na trhu, neboť kombinace surovin s jablky pro výrobu jablečných moštů se na trhu u jiných výrobců v takové míře nevyskytuje.

Závěr

Dle výše uvedených výsledků lze konstatovat, že jablečné mošty vykazovaly vyšší koncentrace vitamínu C, než jablečné džusy vyrobené z koncentrátu.

Jednalo se o mošty, které byly vyrobeny z kvalitních odrůd jablek; sklizeny a zpracovány ve správné technologické zralosti. Jejich výhodou a konkurenceschopností je také variabilita a kombinace surovin, které zvyšují jejich nutriční prospěšnost, ale také senzorickou kvalitu.

Literatura

Dostupná u autorů.

Poděkování

Práce vznikla v rámci smluvního výzkumu s ekologickým institutem Veronica a s Moštárnou Hostětín, které tímto děkujeme za poskytnuté vzorky biomoštů (Hostětnínský mošt) a všem zúčastněným subjektům za příjemnou spolupráci.

Kontaktní adresa:

Mgr. Ing. Bohdana Janštová, Ph.D.

VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav gastronomie, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno.

E-mail: janstovabo@vfu.cz

Prítomnosť toxinogénnych druhov rodu *Aspergillus* v čiernom korení *Occurrence of toxicogenic Aspergillus species in the black pepper*

Jevinová, P., Pipová, M., Regecová, I., Roba, P., Popelka, P.

Katedra hygieny a technológie potravín, Ústav hygieny a technológie mäsa, UVLF,
Košice

Súhrn

Práca sumarizuje výsledky kvalitatívneho stanovenie mikroskopických vláknitých húb vo vybraných druhoch čierneho korenia, šiestich obchodných značiek, ktoré sú ponúkané na slovenskom trhu. Z týchto výsledkov vyplýva, že na kontaminácii testovaných vzoriek čierneho korenia mikromycétami sa podieľali hlavne zástupcovia rodu *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. niger*, *A. fumigatus*) a rodu *Mucor* sp. Z testovaných vzoriek čierneho korenia boli izolované toxinogénne kmene *A. flavus* a *A. niger*. U toxinogénnych druhov bola produkcia mykotoxínov potvrdená kultiváciou na APFA agar, testom z Erlichovým činidlom a kitmi Reveal Q+ pre aflatoxín a ochratoxín.

KLúčové slova: čierne korenie, mikromycéty, *Aspergillus*, aflatoxín, ochratoxín

Abstract

This study summarises results of the qualitative determination of microscopic filamentous fungi in selected types of black pepper distributed on the Slovak market under six different trade marks. From the results it follows that samples of black pepper were mostly contaminated with two genera of moulds – *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. niger*, *A. fumigatus*) and *Mucor* spp. Two toxigenic *Aspergillus* species (*A. flavus* and *A. niger*) were isolated from the tested samples of black pepper. In those species, the production of mycotoxins was confirmed by cultivation on the APFA agar medium, by using the test with Ehrlich reagent, as well as the commercially available kits Reveal Q+ for aflatoxin and ochratoxin.

Úvod

Medzi najpoužívanejšie koreniny u nás a vo svete patrí hlavne čierne korenie, ktoré dodáva predovšetkým mäsitým jedlám pálivu a ostrú chuť. Ide o plody získané z rastliny *Piper nigrum*. Plody zbierané v nezrelom stave sa následne sušia a dostávajú svoju finálnu podobu čierneho korenia. Plody, tej istej rastliny, zbierané v zrelom stave a zbavene šupky poznáme pod názvom biele korenie.

Domovom korenia sú predovšetkým tropické a subtropické oblasti d'alekého východu, kde je hygiena pri spracovaní a skladovaní nižšia. Preto, často krát dochádza k mikrobiálnej kontaminácii a to nielen baktériami, ale taktiež mikroskopickými vláknitými hubami a ich mykotoxínmi. Mnohé z týchto mikroskopických vláknitých húb produkujú sekundárne metabolity, mykotoxíny, ktoré pôsobia na organizmus škodlivo. Najčastejšími producentmi mykotoxínov vyskytujúcich sa v korení, sú mikromycéty z rodov *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Rhizopus*.

Prítomnosť mikromycét nemusí automaticky znamenať aj prítomnosť mykotoxínov, a taktiež to platí aj naopak, pri výskyte mykotoxínov nemusí byť potvrdená prítomnosť mikromycét. Prijímanie malého množstva mykotoxínov nie je toxické, ale pri dlhodobom dodávaní napr. aflatoxínu do organizmu sa toxín kumuluje v pečeni a spôsobuje jej poškodenie a tvorbu zhubných nádorov.

Materiál a metodika

Mykologickému vyšetreniu sme podrobili vzorky čierneho, zeleného – bieleho korenia a korenia štyroch farieb, celého a mletého od šiestich rôznych výrobcov, kúpených z obchodnej siete. Na stanovenie prítomnosti mikroskopických vláknitých húb vo vyšetovaných vzorkách sme použili platňovú zried'ovaciu metódu (metódu rozterom) a metódu priameho očkovania podľa STN ISO 21527-2.

Po preočkovaní a inkubácií (25 °C/7 dní) izolovaných mikromycét na CYA a YES agare sme na základe makroskopických a mikroskopických znakov zaradili mikromycéty do príslušných rodov a určili druhovu identifikáciu (Samsona a kol., 2007; Samson a kol., 2014).

Izolované mikromycéty zaradené do rodu *Aspergillus*, sme podrobili skúškam potvrdzujúcim ich schopnosť produkovať mykotoxíny – kultiváciou na *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus* agare (OXOID, Veľká Británia), stanovení toxinogénnych izolátov s použitím Erlichovho činidla a imunochemickou metódou kitmi Reveal®Test pre aflatoxíny a ochratoxín.

Z kolónii izolátov *A. flavus* a *A. niger* na CYA, sme pripravili suspenzie spór. Spóry testovaných izolátov mikromycét sme preniesli na stred Petriho misky s kultivačným médiom AFPA a následne sme ich inkubovali pri 30 °C 3 – 5 dní. Kolónie toxinogénnych druhov sa sfarbili na spodnej časti na žltó-oranžovo až hrdzavo. Princípom tejto farebnej zmeny je tvorba feriaspergilínu, za predpokladu, že *Aspergillus flavus* produkuje kyselinu aspergilovú, ktorá spolu so soľami Fe³⁺ vytvára farebný komplex.

Pri stanovení toxinogénnych izolátov s použitím Erlichovho činidla sme postupovali podľa práce Samson a kol. (2007). Z kolónií *A. flavus* a *A. niger* kultivovaných 7 dní na kultivačnom médiu YES (kvasničný agar s sacharózou) sme spolu s agarom vyrezali štvorec 4x4 mm a preniesli na sterilnú Petriho misku. Na povrch mycélia sme priložili filtračný papier (Whatman č.1) napusteným Erlichovým činidlom. Následne sme sledovali tvorbu farebných prstencov. Ak sa po 2 – 6 minútach objaví fialový krúžok, kultúra obsahuje kyselinu cyklopiazónovú alebo súvisiace alkaloidy. Za slabú reakciu sa považuje ak sa krúžok objaví po 7 – 10 minútach. Niektoré mikromycéty produkujú alkaloidy, ktoré reagujú s reakčným činidlom, vo forme ružovo-červených alebo žltých kruhov.

K potvrdeniu produkcie aflatoxínov a ochratoxínu izolátmi mikromycét *A. flavus* a *A. niger* sme použili metódu založenú na princípe vyprodukovania mykotoxínov mikromycétami vo vhodnom substráte za konštantných podmienok a následné stanovenie ich koncentrácie imunochemickou metódou. Z pripravených suspenzií spór (1° McF) testovaných mikromycét sme odobrali 1 ml a pridali k 50 g sterilnej strúhanky a následne inkubovali pri 25 °C 10 dní. Po desať dňovej inkubácií sme obsah sledovaných mykotoxínov v strúhankách detegovali kitmi Reveal Q+ pre aflatoxín a ochratoxín. Ich koncentráciu sme stanovili readrom AccuScan®PRO (spol., NEOGEN, USA).

Výsledky a diskusia

Keďže korenie je bežne používané pri príprave jedál, treba dbať o jeho bezpečnosť a kvalitu pri uvádzaní na trh. Z mikrobiologického hľadiska najväčšie nebezpečenstvo predstavujú mikroskopické vláknité huby. Potenciálne riziko závisí predovšetkým od druhu mikroskopických vláknitých húb prítomných v koreniach (Ramesh a Santoshkumar, 2014).

V tabuľke 1 sú uvedené výsledky kvalitatívneho vyšetrenia vzoriek korenia. Ako vyplýva z uvedených výsledkov, izoláty z jednotlivých vzoriek korenia boli najčastejšie zaradené do rodu *Aspergillus*, a to konkrétne druh *A. flavus*, *A. niger* a *A. fumigatus*. Z ďalších druhov, sme izolovali *Mucor* sp., *Penicillium chrysogenum* a *Emericella nidulans*. Výsledky tejto štúdie čiastočne potvrdili vo svojej štúdií aj Chagas a Freira (2000). Z ich výsledkov vyplýva, že z čierneho korenia boli najčastejšie izolované druhy *Aspergillus flavus* a *Aspergillus niger*. Ďalšie potenciálne mykotoxigénne druhy izolované zo vzoriek korenia podľa ich štúdie boli *Aspergillus ochraceus*, *A. tamarii*, *A. versicolor*, *Emericella nidulans*, *Chaetomium globosum*, *Penicillium brevicompactum* a *P. citrinum*.

Tabuľka 1: Mikroskopické vláknité huby izolované zo vzoriek korenia

Výrobca	Korenie	Mikromycéty
1	Čierne korenie mleté	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Mucor</i> sp.
	Biele korenie mleté	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Mucor</i> sp.
2	Čierne korenie mleté	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Mucor</i> sp.
	Čierne korenie celé	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Mucor</i> sp.
3	Čierne korenie mleté	<i>Aspergillus flavus</i>
	Čierne korenie celé	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Mucor</i> sp.
	Korenie štyroch farieb	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Penicillium chrysogenum</i>
4	Čierne korenie mleté	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Mucor</i> sp.
	Čierne korenie celé	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Mucor</i> sp.
5	Čierne korenie mleté	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Emericella nidulans</i>
	Čierne korenie celé	<i>Aspergillus flavus</i>
	Korenie štyroch farieb	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Emericella nidulans</i>
6	Čierne korenie celé	<i>Aspergillus flavus</i>
	Zelene korenie celé	<i>Aspergillus niger</i>

Zdroj: Vlastná tabuľka

Niektoré druhy rodov *Aspergillus* a *Penicillium* sú známe ako potenciálny producenti rôznych toxických látok, ako sú aflatoxíny, ochratoxín A, sterigmatocystín, t.j. mykotoxínov, ktoré vykazujú toxické, mutagénne, teratogénne a karcinogénne účinky na človeka a zvieratá (Abarca a kol., 2001; IARC, 2002; Mishra a Das, 2003; Leszkowicz a Manderville, 2012). Preto sme izoláty *A. flavus* a *A. niger* podrobili ďalším testom, aby sme potvrdili ich toxinogénne vlastnosti. Po kultivácii na APFA agare došlo u toxinogénnych druhov *Aspergillus flavus* k farebnej zmene na spodnej časti platne. Skúška s Erlichovým činidlom odhalila produkciu alkaloidov iba izoláty *A. niger* a to tvorbou žltých prstencov. Po desať dňovej inkubácii sme v strúhankách inokulovaných izolátmi *A. flavus* detegovali readrom AccuScan®PRO

(spol., NEOGEN, USA) obsah aflatoxínov väčší ako je detekčný limit 150 ppb a vo vzorkách strúhanky inokulovanej izolátmi *A. niger* bol obsah ochratoxínu detegovaný v priemernom množstve 2,9 ppb. Produkciu ochratoxínu a aflatoxínu toxinogénnymi druhmi rodu *Aspergillus* izolovaných z čierneho korenia potvrdili vo svojej štúdií aj Gatti a kol. (2003). V štúdií sa zaoberali kontamináciou čierneho korenia z Brazílie a uvádzajú, že 25 z 56 izolovaných kmeňov rodu *Aspergillus* (44,6 %) produkovalo aflatoxín a 3,5 % tvorili kmene produkujúce ochratoxín.

Aflatoxíny patria teda medzi najznámejšie, najtoxickejšie a najrozšírenejšie mykotoxíny produkované hlavne toxinogénnymi druhmi *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. nominus* a *A. pseudotamari* (IARC, 2002; Mishra a Das, 2003). Chemickým zložením patria k difurylkumarínovým derivátom, ktoré tvoria stabilné zlúčeniny, ktoré nemožno potravinársky prijateľnými zásahmi deštruovať (Quillien, 2002). Pri aflatoxínoch sú pozorované chronické v niektorých prípadoch aj neskoré toxické účinky. Príkladom neskorých toxických účinkov je karcinogenita, teratogenita, mutagenita, imunotoxicita. Tieto toxické účinky vznikajú po dlhodobej konzumácii nízkych koncentrácií aflatoxínov (Laciaková a kol., 2011). Dlhodobá expozícia aflatoxínmi prijímanými kontaminovanými potravinami je predpokladanou príčinou hepatocelulárneho karcinómu, ktorá môže byť umocnená vírusom hepatitídy B. Medzinárodná agentúra pre výskum rakoviny (IARC, 1993) zaradila aflatoxín B1 do skupiny 1 – karcinogén.

Ochratoxín A (OTA), je jedným z najčastejšie sa vyskytujúcim mykotoxínom, spolu s aflatoxínmi. Jedná sa o nefrotoxický a nefrokarcinogénny mykotoxín produkovaný niektorými druhmi z rodu *Penicillium* - *Penicillium verrucosum* a *P. nordicum* v miernom alebo chladnom podnebí a druhmi z rodu *Aspergillus* - *A. ochraceus*, *A. melleus*, *A. carbonarius*, *A. niger* v teplejších a tropických častiach sveta (Abarca a kol., 2001). Ochratoxín ma afinitu najmä k obličkám a pečeni. Ukazuje sa, že je potenciálne nefrotoxický pre všetky cicavce – neprežúvavce (El Khoury a Atoui, 2010). Medzinárodná agentúra pre výskum rakoviny (IARC, 1993) ho preto zaradila do skupiny 2B, ako možný karcinogén. Najnovšie poznatky výskumu dokazujú existenciu in vivo OTA-DNA aduktu v ľudských tkanivových kultúrach (Leszkowicz a Manderville, 2012). Ako uvádzajú Ostrý a kol. (2014), toto závažne zistenie vyvoláva diskusiu v odbernej verejnosti, či OTA nie je skutočne kompletným karcinogénom (tzn. iniciátorom a promotorom karcinogénneho procesu).

Záver

Z výsledkov kvalitatívneho vyšetrenia vyplýva, že sa na kontaminácii testovaných vzoriek čierneho korenia podieľali hlavne zástupcovia rodu *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. niger*, *A. fumigatus*) a rodu *Mucor* sp. Takmer z každej vzorky testovaného korenia boli izolované kmene *A. flavus*. Ich toxicita bola potvrdená kultiváciou na APFA agare a imunochemickou metódou kitmi Reveal Q+ pre aflatoxín. Toxinogénne vlastnosti boli potvrdené aj u izolátov *A. niger*, ktorých toxicita bola potvrdená testom z Erlichovým činidlom a imunochemickou metódou kitmi Reveal Q+ pre ochratoxín.

Tieto výsledky potvrdzujú, že stále existuje riziko kontaminácie čierneho korenia mykotoxínmi a to hlavne aflatoxínmi a ochratoxínom. V prípade toxinogénnych druhov v priaznivých podmienok, ako je zvýšená a_w a optimálna teplota, dochádza k ich rastu, rozmnožovaniu a produkcii mykotoxínov. Prítomnosť aflatoxínov a ochratoxínu A

v potravinách vo väčšom, či menšom množstve predstavuje neustále nebezpečenstvo pre zdravie človeka. Preto monitorovanie prítomnosti ich pôvodcov, ako aj ich samotného obsahu v potravinách a pochutinách má svoj opodstatnený dôvod.

Literatúra

Literatúra u autorov.

PodĎakovanie

Táto práca bola podporená projektom VEGA 1/0705/16.

Kontaktná adresa:

MVDr. Pavlina Jevinová, PhD.

UVLF v Košiciach, Katedra hygieny a technológie potravín, Ústav hygieny a technológie mäsa, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika.

E-mail: pavlina.jevinova@uvlf.sk

**Sledovanie vplyvu skrmovania biokrmiva na fyzikálno – chemické
vlastnosti mäsa brojlerových kurčiat**
*Monitoring the effect of feeding biofeed on physical - chemical properties
meat of broiler chickens*

Koréneková, B,¹ Mačanga, J¹, Marcinčák, S¹, Popelka, P¹, Bartkovský, M¹,
Marcinčáková, D,² Čertík, M.³

¹Katedra hygieny a technológie potravín, ²Katedra farmakológie a toxikológie,
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

³Oddelenie biochemickej technológie, FCHPT STU, Bratislava

Súhrn

Cieľom práce bolo sledovanie účinku prídavku fermentovaného biokrmiva ku komerčnému krmivu brojlerových kurčiat na fyzikálno – chemické zloženie mäsa hydiny. Biokrmivo bolo pripravené fermentáciou kukuričného šrotu, pomocou nižšej vláknitej huby *Umbelopsis isabellina* CCF2412. Jednodňové brojlerové kurčatá hybridu COBB 500 v počte 80 kusov boli rozdelené na 2 skupiny. Kontrolná skupina bola kŕmená len s komerčným krmivom. Pokusná skupina bola kŕmená komerčne zloženým krmivom a od 10. dňa bolo do kŕmnej zmesi pridávané 10 % biokrmiva. Na 39. deň bola hydina usmrtená. Vzorky prsnej a stehennej svaloviny boli uskladnené pri 4⁰ C. Vo vodnom extrakte vzoriek boli na 1. a 7. deň pokusu merané hodnoty pH mäsa a hladiny kyseliny mliečnej a fosfátov. Biokrmivo malo signifikantne vyššie hodnoty pH na 7. deň pokusu v prsnej ($p \leq 0,05$) a v stehennej svalovine ($p \leq 0,01$) než na 1. deň pokusu. Signifikantne nižšie hodnoty pH ($p \leq 0,01$) boli zistené v prsnej a stehennej svalovine pokusnej skupiny než kontrolnej skupiny na 1. a 7. deň pokusu. Vyššie hladiny kyseliny mliečnej aj fosfátov boli zistené v prsnej než stehennej svalovine u kontrolných aj pokusných kurčiat na 1 a 7. deň. Aplikácia biokrmiva mala výraznejší vplyv na fyzikálne parametre v mäse brojlerových kurčiat.

Kľúčové slová: brojlerova hydina, fermentované krmivo, kvalita mäsa

Abstract

The aim of this work was to study the effect of the addition of fermented biofeed to the commercial feed of broiler chickens on the physico - chemical composition of poultry meat. Biofeed was prepared by fermentation of corn scrap by filamentous fungi (*Umbelopsis isabellina* CCF2412). Eighty pieces of one day-old chickens COBB 500 were divided into 2 groups. Control group was fed only with commercial compound feed. Experimental group was fed with commercial compound feed, and from the 10th day, 10 % of biofeed was added to feed mixtures. On day 39 were poultry slaughtered. Samples of thigh and breast muscle were stored at 4⁰C. The pH values of meat and the levels of lactic acid and phosphates were analysed in water extract of samples on day 1 and 7 of experiment. The biofeed had significantly higher values of pH on day 7 of the experiment in the breast ($p \leq 0.05$) and the thigh muscle ($p \leq 0.01$) than on day 1 of experiment. A significantly lower pH values ($p \leq 0.01$) were

detected in breast and thigh muscle of experimental group than the control on day 1 and 7 of the experiment. Higher levels of lactic acid and phosphates were found in the breast than the thigh muscle of the control and experimental poultry on day 1 and 7. Application of bioproduct had a more important influence on physical parameters of broilers meat.

Úvod

Mäso brojlerových kurčiat je obľúbenou potravinou našich spotrebiteľov, pričom je dobre hodnotené na základe jeho dietetických vlastností, a to hlavne z hľadiska jeho nízkeho obsahu tuku, ktorý pri odstránení kože sa výrazne znižuje. Obsahuje aj polynenasýtené mastné kyseliny (PNMK), omega-3 a omega-6, ktorým sa pripisujú účinky na podporu zdravia (Angelovičová a kol. 2016). Úžitková produkcia hospodárskych zvierat je ovplyvňovaná prísunom kvalitného krmiva, kvantitatívne patrične zabezpečeného množstva potravy, zdravotným stavom zvierat a niektorými inými faktormi (Haščík a kol., 2010). Omega-3 a omega-6 mastné kyseliny nie sú v organizme produkované a musia byť získané prostredníctvom potravy alebo doplnkov (Rubio-Rodríguez et al., 2010). Jedna z alternatív produkcie PNMK sa zakladá na polosuchých kultiváciách vláknitých húb (napríklad *Thamnidium sp.*, *Mortierella sp.*, *Mucor sp.*) pomocou biotechnológie Solid-state fermentácie. Atraktivnosť týchto kultivácií spočíva vo využívaní ľahko dostupných substrátov na báze odpadových produktov poľnohospodárskych a priemyselných výrobní. Výhodou je eliminácia antinutričných zložiek a čiastočná hydrolýza biopolymérov, čo môže vplývať na produkčné parametre pri výkrme hydiny (Čertík a Adamechová, 2009). Schopnosť použitých kmeňov zužitkovať odpadové produkty (cereálie, ich otruby, jablčné výlisky, mláto) umožňuje prípravu bioproduktu s PNMK (γ -linolenová, dihomogamma-linolenová a pod.). Mikrobiálne upravený bioproduct s vysokým obsahom PNMK môže nájsť uplatnenie ako krmné aditívum v živočíšnej výrobe alebo vo veterinárnej praxi (Čertík a kol., 2006). Kvalita mäsa predstavuje komplex ukazovateľov ako sú chemické zloženie mäsa, fyzikálne vlastnosti, ktoré ovplyvňujú sensorické vlastnosti mäsa. Cieľom práce bolo stanoviť zmeny pH mäsa a vybraných chemických parametrov ako sú kyselina mliečna a fosfáty v mäse hydiny vzhľadom ku prídavku fermentovaného krmiva.

Materiál a metodika

Do pokusu bolo zaradených 80 ks jednodňových brojlerových kurčiat hybridu COBB 500, ktoré boli rozdelené do 2 skupín po 40 ks a boli kŕmené nasledovne: Kurčatá kontrolnej skupiny boli kŕmené komerčnými kŕmnymi zmesami Br1, Br2, Br3 a Br4 počas celého trvania pokusu (39 dní). Kurčatá pokusnej skupiny boli kŕmené kŕmnymi zmesami Br1, Br2, Br3 a Br4, pričom od 10. dňa bol do kŕmných zmesí pridávaný prefermentovaný bioproduct, biokrmivo s podielom 10 %. O pridané množstvo bioproduktu bola znížená dávka komerčnej kŕmnej zmesi. Substrátom pre prípravu biokrmiva bol kukuričný šrot, ktorý bol fermentovaný pomocou nižšej vláknitej huby *Umbelopsis isabellina* CCF2412. Výsledný bioproduct obsahoval 2,8 g/kg γ -linolenovej kyseliny a 3,2 mg/kg β -karoténu. Počas výkrmu mali kurčatá prístup ku krmivu a vode *ad libitum*. Na 39. deň boli zvieratá zväžené, zabitá a jatočne opracované. Odobraté vzorky prsnej a stehennej svaloviny boli uskladnené v chladničke

24 hodín (1. deň pokusu) pri 4 °C. Vo vodnom extrakte vzoriek mäsa boli na 1. a 7. deň pokusu merané hodnoty pH mäsa pH-metrom InoLab WTW 720 a kyselina mliečna a fosfáty Elektroforetickým analyzátorom EA102 (Villa Labeco, SR) s vodivostným detektorom. Vodiacim elektrolytom bol 10 mM HCL, β-alanín a 0,1% mHEC. Zakončujúci elektrolyt bol roztok 5 mM kyselina kaprónová a 5 mM TRIS. Výsledky boli hodnotené v programoch ITPPpro 32 a štatisticky v programe Excel, 2013.

Výsledky a diskusia

Pri sledovaní dynamiky boli zaznamenané u fermentovaného biokrmiva signifikantne vyššie hodnoty pH na 7. deň pokusu v prsnej svalovine ($p \leq 0,05$) a v stehennej svalovine ($p \leq 0,01$) oproti začiatku pokusu. Pri hodnotení kontrolnej a pokusnej skupiny navzájom boli zistené signifikantne nižšie hodnoty pH ($p \leq 0,01$) v prsnej a stehennej svalovine v pokusnej než kontrolnej skupiny na 1. ako aj 7. deň pokusu (tab.1).

Tabuľka 1: Hodnoty pH v prsnej a stehennej svalovine kontrolnej a pokusnej skupiny s biokrmivom na 1. a 7. deň pokusu

pH hodnota	Krmivo	
	Komerčné – kontrolná sk.	Biokrmivo – pokusná sk.
Prsná sval. (1d)	5,933±0,024	5,833±0,021++
Steh. sval. (1d)	6,283±0,025	5,967±0,031++
Prsná sval. (7d)	5,957±0,025	5,883±0,012*++
Steh. sval. (7d)	6,307±0,012	6,110±0,022***++

Signifikantné zmeny medzi dňami pokusu v rámci jednej skupiny na hladine: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$

Signifikantné zmeny medzi kontrolnou a pokusnou skupinou na hladine: ++ $p \leq 0,01$

Tabuľka 2: Hladiny kyseliny mliečnej v prsnej a stehennej svalovine kontrolnej a pokusnej skupiny s biokrmivom na 1. a 7. deň pokusu

Kyselina mliečna	Krmivo	
	Komerčné – kontrolná sk.	Biokrmivo – pokusná sk.
Prsná sval. (1d)	1,770±0,104	1,332±0,285
Steh. sval. (1d)	1,468 ±0,256	1,195±0,176
Prsná sval. (7d)	1,437±0,212	1,535±0,207
Steh. sval. (7d)	1,288±0,219	1,279±0,407

Tabuľka 3: Hladiny fosfátov v prsnej a stehennej svalovine kontrolnej a pokusnej skupiny s biokrmivom na 1. a 7. deň pokusu

Fosfáty	Krmivo	
	Komerčné – kontrolná sk.	Biokrmivo – pokusná sk.
Prsná sval. (1d)	1,449 ±0,294	1,407±0,205
Steh. sval. (1d)	1,099 ±0,151	1,080±0,137
Prsná sval. (7d)	1,361±0,183	1,474±0,242
Steh. sval. (7d)	1,115±0,226	1,130±0,427

Výsledky poukazujú na vyššie hladiny kyseliny mliečnej aj fosfátov v prsnej svalovine než stehennej svalovine ako kontrolných tak aj pokusných kurčiat na 1. ako aj 7. deň pokusu (tab. 2, 3). Vyššie hodnoty a výraznejšiu dynamiku tvorby kyseliny mliečnej v prsnej svalovine než v stehennej je možné vysvetliť tým, že prsná svalovina obsahuje väčšie množstvo glykogénu (Balsyte et al., 1998). Pri hodnotení dynamiky kyseliny mliečnej zaznamenali sme pokles na 7. deň pokusu v kontrolnej ako aj pokusnej skupine. V priebehu pokusu neboli zistené štatisticky významne rozdiely kyseliny mliečnej a fosfátov medzi kontrolnou a pokusnou skupinou. Zmeny hladín kyseliny mliečnej a fosfátov sa odrazili na hodnotách pH, ktoré boli nižšie v prsnej než stehennej svalovine v oboch skupinách na 1. a 7. deň pokusu. Tento proces ovplyvnilo pôsobenie organických kyselín v priebehu zrenia mäsa. Jedná sa hlavne o kyselinu mliečnu, prípadne iné kyseliny, ktoré spôsobujú zníženie hodnoty pH (Šimek a kol., 2002).

Záver

Zo získaných výsledkov vyplýva, že nahradenie 10 % komerčnej krmnej zmesi aplikáciou fermentovaného bioproduktu, kde substrátom bol kukuričný šrot fermentovaný pomocou nižšej vláknitej huby malo výraznejší vplyv na sledované fyzikálne parametre v mäse brojlerových kurčiat.

Literatúra

- Angelovičová, M. Tkáčová, J., Bučko, O., Čapla, J., Zajac, P.: Vplyv zmesi rastlinných silíc na podiel jednotlivých mastných kyselín v kurčacej prsnej svalovine, s. 163-165. Balsyte G, Turek P, Nagy J, Cabadaj R. Vplyv teploty na dynamiku tvorby kyseliny mliečnej v mäse hydiny. *Hygiene Alimentorum XIX*. Košice 26.-28.10., 1998; s. 25-26.
- Čertík, M., Sláviková, L., a kol. Enhancement of Nutritional Value of Cereals with γ -Linolenic Acid by Fungal Solid State Fermentations. *Food Tech Biot*, 2006, no. 44, p. 75–82.
- Čertík, M., Adamechová, Z., Masrnová, S., Šajbidor, J.: Cereal-based bioproducts containing polyunsaturated fatty acids. *Lipid Technology*, 2009, no. 21, p. 250–253.
- Haščík, P., Kulíšek, V., Kačániová, M., Čuboň, J., Vavrišinová, K.: Mäsová úžitkovosť a kvalita vybraných druhov malej pernatej zveri, 2010, ISBN 978-80-552-0349-2. 187s.
- Rubio-Rodríguez, N., Beltran, S., Jaime, I., Rovira, L.J.: Production of omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrates: A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2010, no. 11: p. 1–12.
- Šimek J, Vorlová L, Steinhäuser L. Jakostní odchylky masa a jejich identifikace. *Maso*, 2002, č. 4, s. 24–27.

PodĎakovanie

Práca bola vykonaná vďaka finančnej podpore Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-14-0397 a z grant. projektu VEGA č. 1/0457/14.

Kontaktná adresa:

MVDr. Beáta Koréneková, PhD.

UVLF Košice, SR, Katedra hygieny a technológie potravín, Ústav hygieny a technológie mäsa, Komenského 73, 041 81 Košice.

E-mail: Beata.Korenekova@uvlf.sk

**Overenie prítomnosti rezíduí inhibičných látok v mäse hydiny
po skrmovaní krmnej zmesi s prídavkom fermentovaného krmiva**
*Verification of the presence of inhibitory substances in poultry meat after
the consumption of the feed mixture supplemented with fermented feed*

Kožárová, I.¹, Poláková, Z.¹, Marcinčák, S.¹, Bartkovský, M.¹, Reitznerová, A.¹,
Čertík, M.²

¹ Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

² Slovenská technická univerzita v Bratislave

Súhrn

Cieľom práce bolo overiť prítomnosť rezíduí inhibičných látok v mäse hydiny (svalovina, srdce, pečeň, obličky brojlerových kurčiat) po skrmovaní krmnej zmesi s prídavkom fermentovaného krmiva (pšeničné otruby fermentované produkčným kmeňom *Umbelopsis isabellina* CCF 2412) v množstve 10 % v celkovom objeme krmiva. K stanoveniu rezíduí boli použité dve mikrobiologické skrínigové metódy, skrínigový test na stanovenie rezíduí antibiotík (STAR) a Premi[®]Test. Obe metódy detekovali pozitívne výsledky a predbežne identifikovali prítomnosť rezíduí inhibičných (farmakologicky účinných) látok nielen v mäse brojlerových kurčiat, ale aj v samotnom fermentovanom krmive. Vzhľadom na antimikrobiálny potenciál fermentovaného krmiva a možnú prítomnosť falošne pozitívnych výsledkov, každý pozitívny výsledok je potrebné potvrdiť konfirmačnou analýzou.

Kľúčové slová: mäso, krmivo, rezíduá, screening

Abstract

The aim of this work was to verify the presence of inhibitory substances in poultry meat (muscle, heart, liver, kidneys of broiler chickens) after the consumption of the feed mixture with addition of fermented feed (wheat bran fermented with the productive strain *Umbelopsis isabellina* CCF 2412) in a dose of 10 % of the total amount of the feed. The detection of residues was performed by two microbiological screening methods, the screening test for the detection of antibiotic residues (STAR) and the Premi[®]Test. Both methods detected the positive results and pre-identified the presence of residues of the inhibitory (pharmacologically active) substances not only in the meat of broiler chickens but also in the investigated fermented feed. Due to the antimicrobial potential of the fermented feed and the possible presence of the false-positive results, each positive result must be confirmed by a confirmatory analysis.

Úvod

Živočíšna výroba zastáva veľmi dôležité miesto v poľnohospodárstve Európskej únie (EÚ) a uspokojivé výsledky týkajúce sa zdravia zvierat do veľkej miery závisia na použití vhodného krmiva dobrej kvality (Smernica 2002/32/ES). Krmivo sa nesmie umiestňovať na trhu ani skrmovať zvieratám určeným na výrobu potravín, ak má nepriaznivý účinok na zdravie ľudí alebo zvierat a spôsobuje, že potravina

pochádzajúca zo zvierat určených na produkciu potravín je nebezpečná pre ľudskú spotrebu (Nariadenie (ES) č. 178/2002).

Kroky EÚ týkajúce sa zdravia ľudí a zvierat sú založené na zásade prevencie. Jedným z týchto krokov je aj zákaz používania antibiotík, ako stimulátorov rastu u zvierat určených na produkciu potravín ustanovený nariadením (ES) č. 1831/2003 s účinnosťou od 1. 1. 2006. Zákaz použitia antibiotík vo výžive zvierat priniesol v EÚ neočakávané dôsledky na priemyselnú živočíšnu veľkovýrobu, ako nárast infekcií u zvierat a zníženie samotnej produkcie zvierat (Cheng et al., 2014). Týmto zákazom sa však otvoril priestor pre vývoj alternatívnych látok a alternatívnych metód kŕmenia podporujúcich zdravie zvierat a efektivitu výroby produktov živočíšneho pôvodu určených na ľudskú spotrebu.

Predmetom mnohých vedeckých výskumov inovácie výživy zvierat sa stali probiotiká, organické kyseliny, prebiotiká, minerálne látky, enzýmy, rastlinné extrakty, aromatické fenolové zložky a fermentované krmivá (Niba et al., 2009). Keďže fermentované krmivá sú známe svojim antimikrobiálnym potenciálom, cieľom práce bolo overiť možnú prítomnosť rezíduí inhibičných látok v mäse hydiny po skrmovaní kŕmnej zmesi s prídavkom fermentovaného krmiva.

Materiál a metodika

K stanoveniu rezíduí inhibičných látok bolo celkovo použitých 8 tkanív (svalovina /2/, srdce //2/, pečeň /2/, obličky /2/) brojlerových kurčiat (ROSS 308) z dvoch experimentálnych skupín (kontrolná a pokusná) získaných po usmrtení zvierat povoleným spôsobom po uplynutí ochrannej lehoty (37. deň veku) a 3 krmivá (komerčná kŕmna zmes /KKZ/ BR2 /1/, BR3 /1/, /De Heus a.s., Česká republika/ a fermentované krmivo /1/ /pšeničné otruby fermentované použitím produkčného kmeňa *Umbelopsis isabellina* CCF 2412/). Kŕmny režim pre kontrolnú skupinu pozostával z podávania KKZ BR1, BR2 a BR3 v závislosti od veku brojlerových kurčiat a kŕmny režim pre pokusnú skupinu pozostával z podávania KKZ BR1, BR2 a BR3 s prídavkom fermentovaného krmiva v množstve 10 % v celkovom objeme krmiva. Zvieratá boli umiestnené v schválenom pokusnom zariadení so zabezpečením podmienok ochrany zdravia a pohody zvierat v priestoroch s voľným prístupom k vode a krmivu. Vzorky tkanív a krmív boli balené jednotlivo a skladované pri teplote – 20 °C do analýzy.

Na overenie prítomnosti rezíduí inhibičných látok vo vzorkách vyšetřovaných matric boli použité metóda STAR (Skríningový test na stanovenie rezíduí antibiotík, R – 25) a Premi®Test (R – 26) vyvinuté na princípe inhibície rastu testovacieho kmeňa prítomnou antimikrobiálnou látkou.

STAR: Kultivačné médiá, testovacie kmene a štandardy boli zakúpené od firiem Merck (Nemecko), Oxoid (Veľká Británia), Difco (USA), Fluka (Švajčiarsko) a Českej zbierky mikroorganizmov (Česká republika). Testovacie platne (*Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* ATCC 10149 /prídavok trimetoprimu 0,005 µg.ml⁻¹ agaru/, *Bacillus subtilis* BGA, *Escherichia coli* ATCC 11303, *Kocuria rhizophila* ATCC 9341, *Bacillus cereus* ATCC 11778) boli pripravené podľa postupu metódy. Vzorky svaloviny a orgánov použité na vyšetřenie boli získané z príslušných matric pomocou sterilného korkovrtu (ø 8 mm), narezané sterilným skalpelom na disky s hrúbkou približne 2 mm a aplikované paralelne na povrch testovacích agarových platní. Na analýzu krmív bol použitý číry supernatant získaný centrifugáciou 10 g krmiva rozpusteného v 30 ml sterilnej demineralizovanej vody. Číry supernatant bol aplikovaný na povrch testovacích platní

pomocou papierových diskov (\varnothing 9 mm, 30 μ l, AlbetLabScience, Nemecko). Testovacie platne boli inkubované podľa podmienok stanovených metódou.

Premi[®]Test: 100 μ l tkanivovej tekutiny získanej rozmrazením vzoriek svaloviny a orgánov v mikrovlnnej rúre a číreho supernatantu získaného z krmiva sa aplikovalo do liekoviek Premi[®]Testu vyplnených agarovým médiom s testovacím kmeňom *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*. Liekovky boli podrobené preinkubácii a následnej inkubácii podľa pokynov výrobcu testu (R-Biopharm AG, Nemecko).

Výsledky

Tabuľka 1: Výsledky skríningu rezíduí inhibičných látok detekované metódou STAR

STAR						
Skupina zvierat	Matrica	<i>B. cereus</i> IZ (mm \pm SD)	<i>B. subtilis</i> IZ (mm \pm SD)	<i>E. coli</i> IZ (mm \pm SD)	<i>K. rhizophila</i> IZ (mm \pm SD)	<i>B. stearothermophilus</i> IZ (mm \pm SD)
Kontrolná skupina	svalovina	-	-	-	2,13 \pm 0,42	-
	srdce	-	-	-	1,56 \pm 0,58	7,89 \pm 0,77
	pečeň	-	-	-	5,00 \pm 0,43	11,57 \pm 0,67
	obličky	-	-	-	2,35 \pm 0,31	7,93 \pm 0,44
Pokusná skupina	svalovina	-	-	-	2,43 \pm 0,17	-
	srdce	-	-	-	1,00 \pm 0,10	6,60 \pm 0,39
	pečeň	-	-	-	4,34 \pm 0,33	10,69 \pm 1,01
	obličky	-	1,53 \pm 0,20	-	2,26 \pm 0,61	9,17 \pm 1,30
Krmivo	BR 2	3,30 \pm 0,70	6,33 \pm 2,24	3,05 \pm 0,78	0,87 \pm 0,07	6,70 \pm 0,77
	BR 3	-	3,79 \pm 1,52	2,65 \pm 0,44	-	-
	FK	-	-	-	2,40 \pm 0,76	5,98 \pm 0,82

Legenda: Zvýraznené veľkosti IZ predstavujú pozitívne výsledky; SD – smerodajná odchýlka, FK – fermentované krmivo

Tabuľka 2: Výsledky skríningu rezíduí inhibičných látok detekované Premi[®]Testom

Premi [®] Test		
Skupina zvierat	Matrica	Výsledok
Kontrolná skupina	svalovina	\pm
	srdce	-
	pečeň	\pm
	obličky	-
Pokusná skupina	svalovina	\pm
	srdce	\pm
	pečeň	\pm
	obličky	-
Krmivo	BR 2	+
	BR 3	-
	FK	+

Legenda: + pozitívna vzorka, - negatívna vzorka, \pm dubiózna vzorka; FK – fermentované krmivo

Po inkubácii bola u metódy STAR meraná veľkosť inhibičných zón (IZ) od okraja vyšetrovanej vzorky po vonkajší okraj IZ pomocou digitálneho posuvného meradla s presnosťou na 0,01 mm (Mitutoyo, Japonsko). Za pozitívne sa považovali vzorky, pri ktorých veľkosť IZ bola ≥ 2 mm (*Bacillus subtilis* BGA, *Escherichia coli* ATCC 11303, *Kocuria rhizophila* ATCC 9341, *Bacillus cereus* ATCC 11778), resp. ≥ 4 mm (*Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* ATCC 10149). Pri Premi[®]Teste sa hodnotila farba dolných dvoch tretín agarového média. Fialové, resp. žlté/fialové sfarbenie agarového média udáva, že vo vyšetrovanej vzorke sú prítomné rezíduá inhibičných látok nad (pozitívna vzorka), resp. na úrovni (dubiózna vzorka) detekovateľnosti testu. Výsledky skríningu rezíduí inhibičných látok vo vyšetrovaných maticiach použitím metódy STAR a Premi[®]Testu sú prezentované v Tabuľke 1 a 2.

Prezentované výsledky poukazujú na prítomnosť rezíduí inhibičných látok vo vzorkách vyšetovaných maticí. Pri vyšetrení živočíšnych maticí metódou STAR boli pri oboch skupinách brojlerových kurčiat detekované porovnateľné výsledky. Svalovina vykazovala pozitívny výsledok na platniach s testovacím kmeňom *Kocuria rhizophila* ATCC 9341, srdce na platniach s testovacím kmeňom *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* ATCC 10149 a pečeň a obličky na oboch vyššie uvedených testovacích platniach. Pri vyšetrení vzoriek krmív boli obe KKZ BR2 a BR3 pozitívne na rezíduá. KKZ BR2 obsahujúca polyéterové antibiotikum bola pozitívna na štyroch z piatich testovacích platní a KKZ BR3 bez prítomnosti polyéterového antibiotika na dvoch z piatich testovacích platní. Fermentované krmivo vykazovalo pozitívny výsledok na testovacích platniach zhodných s živočíšnymi maticami.

Premi[®]Testom bol stanovený pozitívny výsledok len pri dvoch maticiach, KKZ BR2 a fermentovanom krmive. Ostatné matrice vykazovali dubiózny (suspektný), resp. negatívny výsledok.

Záver

Skrínigové metódy majú stanovené pracovné kritériá. Musia detekovať prítomnosť látky alebo skupiny látok na úrovni v zhode s právnymi predpismi a mať mieru falošných zhodných výsledkov (chybu β) < 5 % (Rozhodnutie Komisie 2002/657/ES). Vzhľadom na výsledky prezentované v našej práci a inhibíciu rastu dvoch z piatich testovacích kmeňov po skrmovaní krmnej zmesi s prídavkom fermentovaného krmiva je potrebné, pre vyslovenie konečného záveru a potvrdenie, resp. vylúčenie falošnej pozitivity vykonať konfirmačnú analýzu poskytujúcu informáciu o látke spôsobujúcej inhibíciu rastu testovacieho kmeňa.

Pod'akovanie

Práca bola finančne podporená projektmi APVV-14-0397 a VEGA č. 1/0457/14.

Kontaktná adresa:

doc. MVDr. Ivona Kožárová, PhD.

UVLF v Košiciach, Katedra hygieny a technológie potravín, Ústav hygieny a technológie mäsa, Komenského 73, 041 81 Košice.

E-mail: ivona.kozarova@uvlf.sk

Srovnání screeningových metod pro stanovení kyseliny L – askorbové v ovocných džusech

Comparison of screening methods for the determination of L - ascorbic acid in fruit juices

Luňáková, L., Pospiech, M., Tremlová, B., Javůrková, Z., Petrášová, M.

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie

Souhrn

Kyselina L-askorbová je významná látka obsažená v ovocných džusech, kde plní nejen důležitou roli z hlediska nutričního, ale působí také jako antioxidant. Obsah kyseliny L-askorbové je u různých ovocných šťáv rozdílný. Tento obsahový rozdíl je možné měřit pomocí klasických titračních metod na základě intenzity barev dle použitého titračního roztoku. Tato studie se zabývá problematikou dostatečného rozpoznání změny barvy za použití titrační metody s 2,6 – dichlorfenolindofenolem a jodometrickou titrační metodou. Jodometrická metoda se jevila pro námi zvolené vzorky jako vhodnější alternativa. Nejvíce kyseliny L- askorbové obsahoval vzorek grapefruitového džusu 209,90 mg/l, vzorek pomerančového džusu 207,92mg/l. V jablečném džusu bylo obsaženo nejméně 32,65mg/l kyseliny L- askorbové.

Klíčová slova: *nealkoholické nápoje, vitamin C, titrační metody*

Abstract

L-ascorbic acid is an important substance contained in fruit juices, which performs an important role not only from a nutritional point of view, but also as an antioxidant. Content of L-ascorbic acid is different in various fruit juices. This differences in content can be measured using conventional titration methods based on color intensity according to the used titrant. This study deals with the issue of sufficient recognition of the color changes using titration methods with 2,6 - dichlorfenolindofenol and iodometric titration method. Iodometric method seems to be as a preferable alternative from classic titration methods. The sample of grapefruit juice contained the most amount of L-ascorbic acid 209.90 mg / l, sample of orange juice 207.92 mg/l. The apple juice contained least 32.65 mg / l L-ascorbic acid.

Úvod

Kyselina askorbová (vitamin C) je jedním z přírodních antioxidantů, který je přítomen převážně v ovoci a zelenině. Hojně se přidává jako přísada do ovocných šťáv, džemů, mléčných a dalších výrobků. Jedná se o přídatnou látku, jejíž použití je dle legislativy EU povoleno (de Quirós et al., 2009). Z důvodu působení kyseliny askorbové jako antioxidantu výživová doporučení zahrnují do svých doporučení vyšší spotřebu právě ovocných šťáv. Evropská Asociace AIJN publikovala zprávu týkající se evropského trhu s ovocnými a zeleninovými šťávami a nektary. Studie naznačuje, že nejpopulárnější nektar a šťáva je pomerančová (38,5%), poté kombinace jablko a pomeranč (19,9%) a pak jablko (13,3%). Pomerančový džus je nejen nejčastěji

konzumovanou šťávou, ale také je to jedna z nejvíce studovaných komodit svého druhu s ohledem na její antioxidační vlastnosti, obsah vitamínu C a jeho blahodárných zdravotních účinků na spotřebitele (Bartoszek and Polak, 2016). Ve srovnání s čerstvým ovocem, džusy jsou snadněji konzumovány, skladovány a přepravovány. Kromě toho ovocné šťávy obsahují významné množství vitamínů, minerálů a dalších nepostradatelných živin, které přispívají k funkčním vlastnostem potravinářského výrobku. Živinám v ovocných šťávách je věnována pozornost z hlediska zdravotních výhod, které poskytují spotřebitelům. Vitamin C působí jako přírodní antioxidant, který zabraňuje poškození makromolekul v těle v důsledku volných radikálů, reaktivních forem kyslíku a dusíku. Příjem kyseliny askorbové byl spojen se snížením rizika rozvíjejících se nemocí, jako je rakovina, kardiovaskulární choroby, makulární degenerace související s věkem, katarakta, nachlazení a astma. Antioxidační aktivita kyseliny askorbové také chrání železo v těle před oxidací a vede ke zvýšení jeho vstřebávání. Kromě toho, bylo zjištěno, že kyselina askorbová, je nezbytná pro syntézu kolagenu a pro efektivní hojení ran a růst kostí, zubů, vazů a šlach, při syntéze neurotransmiterů a karnitinu, pro prevenci kurdějí, a má také vliv na metabolismus cholesterolu. V potravinářských výrobcích, kyselina askorbová působí také jako antioxidant, který inhibuje enzymatickou zhnědnutí a další kvalitativní změny, které způsobují oxidativní reakce (Gabriel et al., 2015). Kromě své funkce esenciální živiny, je široce používána jako složka potravy / přísada, kvůli svým antioxidačním vlastnostem (Gregory, 2007).

Pro analýzu kyseliny askorbové existuje hned několik technik jejího stanovení. Jedná se o metody potenciometrické, spektrofotometrické, spektrofluorometrické a chromatografické (de Quirós et al, 2009). Existuje tedy i mnoho postupů pro měření kyseliny askorbové v potravinách. Vhodný výběr analytické metody je nezbytný pro získání přesných výsledků. Kyselina askorbová silně absorbuje UV světlo, přímé spektrofotometrické analýzy byly ověřovány v mnoha studiích (Gabriel et al., 2015). Titrační metoda za použití 2,6 – dichlorfenolindofenolu je, jak uvádí Nielsen (2010), běžně používanou a uznávanou metodou dle AOAC.

Cílem práce bylo srovnání dvou titračních metod pro stanovení kyseliny L-askorbové v ovocných džusech. Konkrétně se jednalo o titrační metodu za použití roztoku 2,6 -dichlorfenolindofenolu a metodu jodometrickou.

Materiál a metodika

V tržní síti byly zakoupeny tři druhy džusů. Jednalo se o džusy pomerančové, grepové a jablečné. Vzorky džusů byly dále zpracovány dle metodik dané metody.

První testovanou metodou byla titrační metoda za použití odměrného roztoku 2,6-dichlorfenolindofenolu. Nejprve byl proveden slepý pokus s 10 ml 2% kyseliny monohydrogenfosforečné. Ze vzorku džusu bylo odebráno 10 ml a kvantitativně převedeno do 50 ml odměrné baňky. Obsah baňky byl poté doplněn destilovanou vodou po rysku. Z tohoto roztoku bylo následně odpipetováno 10 ml do titrační baňky za přidavku 10 ml 2% kyseliny monohydrogenfosforečné. Vlastní titrace probíhala standardním odměrným roztokem 2,6 - dichlorfenolindofenolu do růžového zbarvení.

Druhou metodou byla titrační metoda za použití roztoku jodu. Při této metodě bylo 50 ml vzorku kvantitativně převedeno do 200 ml odměrné baňky a po rysku doplněna destilovaná voda. Poté byl obsah přefiltrován a z filtrátu odpipetováno 25 ml do titrační

baňky. Ke vzorku bylo přidáno 5 ml kyseliny sírové o koncentraci 4 mol/l a 2 ml 1% škrobového mazu. Titrace proběhla roztokem jodu o koncentraci 0,005 mol/l. Dochází ke změně barvy do modrofialových či modrozelených odstínů, v závislosti na původním zbarvení jednotlivých druhů džusů.

Obsah kyseliny L-askorbové byl zjištěn na základě přepočtů dle spotřeby použitých titračních činidel.

Výsledky a diskuze

Metoda titrace kyseliny L – askorbové pomocí 2,6 – dichlorfenolindofenolu s vizuální detekcí je metoda poměrně rychlá a snadná, nevýhodou metody je však stanovení barevných vzorků, z důvodu obtížnosti určení barevné změny, ke které dochází při dosažení bodu ekvivalence. Různé druhy ovoce obsahují různá množství kyseliny L-askorbové. Každý druh ovocného džusu disponuje jinou barvou a také obsahuje různé množství vlákniny, taktéž často dochází k enzymatickému hnědnutí a to zejména v případě získávání jablečné šťávy. Experimentálně tedy byla zkoumána reakce jodometrická, u níž byl předpoklad získání kontrastnějšího barevného výsledku oproti metodě s 2,6 – dichlorfenolindofenolem. Tabulka 1 uvádí míru intenzity barevné změny při dosažení bodu ekvivalence daných titrovaných roztoků.

Tabulka 1: Intenzita změny barvy testovaného vzorku

Druh džusu	2,6 - dichlorfenolindofenol	jodový roztok
Pomeranč	++	++
Jablko	+	++
Grep	+	+++

Vysvětlivky:

+ slabý barevný kontrast, ++ silnější barevný kontrast, +++ výrazný barevný kontrast

Výsledky uvedené v tabulce 2 téměř korespondují s obsahem kyseliny L- askorbové v čerstvém ovoci. Čerstvý grep obsahuje 26 – 61 mg kyseliny L- askorbové na 100 g, pomeranč 31 – 79 mg/ 100 g a jablko 3 – 13 mg/ 100g (do Nascimento Nunes,2009). Přičemž jablečná šťáva podléhá lehce enzymatickému hnědnutí. Tato nežádoucí reakce vede ke ztrátě kvality, a tím i zmenšení obchodní hodnoty produktu. Pro zachování kvality se používá právě kyselina askorbová protože je účinným antioxidačním činidlem a zároveň je bezpečná pro spotřebitele (Komthong et al., 2007).

Tabulka 2: Průměrné naměřené hodnoty kyseliny L - askorbové (mg/l)

Druh džusu	2,6 - dichlorfenolindofenol	jodový roztok
Pomeranč	208,82	207,92
Jablko	24,93	32,65
Grep	149,74	209,90

Grapefruit je jedním z bohatých zdrojů vitamínu C (kyselina askorbová), základní živinou s dobře popsányými antioxidačními vlastnostmi. Nicméně, grapefruit obsahuje i další fytochemikálie s potenciálními zdraví prospěšnými vlastnostmi, jako jsou flavonoidy, kumariny a limonoidy (J. Yu et al., 2008). Obsah těchto látek také zhoršuje průběh redoxní reakce při titraci a nedochází tedy ke vzniku předpokládaného barevného roztoku, k němuž by mělo při dosažení bodu ekvivalence docházet. Grepfruitový džus je zbarven do růžových odstínů, tudíž výsledné modré zabarvení při jodometrické metodě dávalo výrazný barevný kontrast.

Čirý jablečný džus má typický jantarový odstín s nádechem do hněda (Komthong et al., 2007). Z důvodu tmavého zbarvení jablečného džusu se kyselina L - askorbová hůře stanovuje titrační metodou za použití titračního činidla 2,6 – dichlorfenolindofenolu. Z tohoto důvodu se jevila jodometrická metoda také jako metoda vhodnější. (Komthong et al., 2007).

Závěr

Z experimentu vyplývá, že nejvíce kyseliny L- askorbové obsahoval vzorek grapefruitového džusu (209,90 mg/l, jodometrická metoda), následně vzorek pomerančového džusu (207,92 mg/l). Citrusy obsahují více kyseliny L - askorbové než jablka. V jablečném džusu bylo obsaženo nejméně vitamínu C (32,65 mg/l). Přičemž u vzorku jablečného džusu je možné kromě přirozeně obsažené kyseliny askorbové předpokládat i její přídavek jako antioxidačního činidla zabraňujícího enzymatickému hnědnutí. Titrační metody určené pro analýzu kyseliny L-askorbové v ovocných džusech slouží pro jednoduchou kontrolu obsahu kyseliny L - askorbové v produktu. Nicméně je třeba dbát na vhodnou volbu titračního roztoku na základě přirozeného původního zbarvení testovaného vzorku. Pro vzorky jež mají růžové, červené či hnědé odstíny je vhodnější alternativou k běžně používané metodě s 2,6 – dichlorfenolindofenolem metoda jodometrická.

Literatura

Bartoszek, M., Justyna Polak, J.: A comparison of antioxidative capacities of fruit juices, drinks and nectars, as determined by EPR and UV–vis spectroscopies. In: *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2016, vol. 153, p. 546–549.

do Nascimento Nunes, M. C. Color atlas of postharvest quality of fruits and vegetables. John Wiley & Sons, 2009, p. 3-122.

de Quirós, A. R. B., Fernández-Arias, M., López-Hernández, J.: A screening method for the determination of ascorbic acid in fruit juices and soft drinks. In: *Food Chemistry*, 2009, vol. 116, p. 509–512.

Gabriel, A. A., Usero, J. M. C. L., Rodriguez, K. J., Diaz, A. R., Tiangson-Bayaga, C. L. P.: Estimation of ascorbic acid reduction in heated simulated fruit juice systems using predictive model equations. In: *LWT - Food Science and Technology*, 2015, vol. 64, p. 1163-1170.

Gregory, J. F.: Vitamins. In: *Fennema's Food Chemistry*, Fourth Edition, 2007, p. 467-476.

Komthong, P., Igura, N., Shimoda, M. : Effect of ascorbic acid on the odours of cloudy apple juice. *Food Chemistry*, 2007, vol. 100, p. 1342–1349.

Nielsen, S. S. (2010): Vitamin Analysis. In: Food Analysis, fourth edition, 183-191.
Yu, J., Ghiviriga, I., Buslig, B. S., Cancalon, P.: A strong antioxidant isolated from grapefruit juice retentate. In: LWT, 2008, vol. 41, p. 420–424.
Determination of Vitamin C Concentration by Titration: (Redox Titration Using Iodine Solution), dostupné z:
< http://www.outreach.canterbury.ac.nz/chemistry/documents/vitaminc_iodine.pdf
(16.6.2016; 9:30).

Poděkování

Tato práce byla podpořena Interní vzdělávací agenturou IVA VFU Brno 2016FVHE/2210/44.

Kontaktní adresa:

Mgr. Ludmila Luňáková.

VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu, Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno.

E-mail: lunakoval@vfu.cz

Vplyv frekvencie dojenia na zloženie mlieka u bahníc *The effect of milking frequency on milk composition in ewes*

Mačuhová, L.^a, Mačuhová, J.^b, Tančin, V.^{a,c}, Uhrinčat', M.^a

^aNárodné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky

^bInstitute for Agricultural Engineering and Animal Husbandry, Prof. Dürrwaecher Platz 2, 85586 Poing, Germany

^cSlovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Katedra veterinárskych disciplín, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra

Súhrn

Frekvencia dojenia je jedným z hlavných faktorov ovplyvňujúcim množstvo a kvalitu mlieka, ak krmivo, welfare, zdravotný stav a podmienky prostredia sú adekvátne. Okrem toho zloženie mlieka a produkcia sú ovplyvnené plemenom a v dôsledku toho má plemeno vplyv na tieto dva faktory pri rôznej frekvencii dojenia. Veľkosť cisternového oddelenia hrá dôležitú úlohu pri uskladňovaní tvoriaceho sa mlieka medzi dojeniami. Okrem plemena a veľkosti cisterny vplýva na zloženie mlieka pri rôznej frekvencii dojenia aj štádium laktácie, individualita zvierat'a, úroveň produkcie, a trvanie zmeny frekvencie dojenia. Výsledkom správneho výberu frekvencie dojenia môže byť zvýšenie produkcie mlieka alebo zníženie času stráveného v dojárni s minimálnym alebo žiadnym negatívnym vplyvom na úžitkovosť a zloženie mlieka.

Kľúčové slová: *bahnice, frekvencia dojenia, zloženie mlieka*

Abstract

Milking frequency is one of the main factor regulating milk yield and milk quality if feeding, welfare, health, and environmental conditions are adequate. However, composition of milk and milk yield is heavily influenced by breed, and consequently breed has an impact on both these factors at a different frequency of milking. Further, the size of cisternal compartment plays an important role in accommodating secreted milk between milkings. Moreover, beside breed and cistern storage capacity, the results in literature show that the effects of milking frequency on composition of milk can vary according to the stage of lactation, the individual animal, level of production, and duration of changed frequency. The right use of different milking frequency strategies can result in increase of milk yield or in significant saving in labour and time spent in the milking parlour with negligible or no negative effects on milk yield and composition.

Úvod

Dojenie je každodennou súčasťou na farmách so zvieratami zameranými na produkciu mlieka. Čas potrebný na dojenie tvorí podstatná časť zo všetkých pracovných vstupov počas dňa na farme. Redukcia frekvencie dojenia je jednou z možností na zníženie nákladov na produkciu mlieka. Je to aj cesta k zlepšeniu života farmárov (Ó Brien et al., 2002). Avšak nie všetky plemená reagujú na zmenu frekvencie dojenia rovnako.

Reakcia bahníc na rôznu frekvenciu dojenja môže byť odlišná aj v závislosti od štádia laktácie.

Tento literárny prehľad v krátkosti poukazuje na niektoré aspekty ovplyvňujúce výsledky pri rôznych frekvenciách dojenja a porovnáva rozdielne intervaly dojenja z pohľadu produkcie a zloženia mlieka.

Vplyv anatómie vemena a ejakcie mlieka na produkciu a zloženie mlieka

Vytvorené mlieko sa u prežúvavcov nachádza v dvoch oddeleniach: alveolárnom a cisternovom. Cisterna vemena hrá dôležitú úlohu v uložení mlieka medzi dojeniami. Bahnice s hlbšími cisternami sú lepšie schopné tolerovať predĺžený interval dojenja, nakoľko fyzická kapacita cisterny je obmedzená a predĺžený interval medzi dojeniami zvyšuje vnútrožľazový tlak, čoho následkom je znížená syntéza mlieka alveolárnymi bunkami (Negrao et al., 2001).

Väčšina syntetizovaného tuku sa zhromažďuje v alveolách a je ho možné získať iba po vzniku reflexu ejakcie mlieka v odpovedi na stimuláciu vemena (McKusick et al., 2002). Rozdielny obsah tuku medzi cisternovou a alveolárnou frakciou mlieka môže byť spôsobený viskozitou a väčšou veľkosťou tukových guľôčok, ktoré sa akumulujú v alveolárnom oddelení (Ayadi et al., 2014). V dôsledku predĺženého intervalu dojenja dochádza k vyššej akumulácii tuku v alveolárnom oddelení (McKusick et al., 2002; Castillo et al., 2008), čoho príčinou je nárast obsahu tuku v reziduálnom mlieku (Castillo et al., 2009). Teda, výskyt reflexu ejakcie mlieka počas dojenja má pozitívny vplyv na obsah tuku vo vydojenom mlieku. Reflex ejakcie mlieka nemá vplyv iba na obsah tuku, ale aj na kompletne a rýchle vydojenie bahnice (Mačuhová et al., 2008; 2012). Avšak podávanie oxytocínu (prebehnutie ejakcie mlieka) sa okrem tuku neprejavilo na iných zložkách mlieka (bielkoviny, laktóza) (Tančin et al., 2007; Antonič et al., 2013). Takisto žiadne rozdiely okrem tuku neboli zistené medzi percentuálnym obsahom bielkovín, laktózy a celkovej sušiny v cisternovom a alveolárnom mlieku (Ayadi et al., 2014).

Ďalšie faktory ovplyvňujúce produkciu a zloženie mlieka

Medzi faktory ovplyvňujúce zloženie mlieka patrí plemeno, štádium laktácie a interval medzi dojeniami (frekvencia dojenja). Veľkú úlohu tu zohráva aj individualita zvieratá. Bahnice s nižšou úžitkovosťou majú vyšší obsah hlavných zložiek mlieka než vysokoužitkové plemená (Santibanez a kol., 2009). Vplyvom štádia laktácie majú zvieratá ku koncu laktácie vyšší obsah zložiek mlieka než na začiatku (Kuchtík a kol., 2008).

Frekvencia dojenja

Dojenie jedenkrát denne

Pokles frekvencie dojenja z dvoch na jedno denne znižuje úžitkovosť o 9 – 67% (Masár and Mikuš, 1985; Knight and Glosling; 1995; Negrao et al., 2001; Nudda et al., 2002; Castillo et al., 2005). Výsledky poklesu závisia od štádia laktácie, v ktorom sa merania vykonávajú a od plemena (Labussiere, 1988; Knight and Glosling, 1995; Negrao et al., 2001; Nudda et al., 2002; Castillo et al., 2005). Bahnice na začiatku laktácie reagujú intenzívnejšie než ako na konci laktácie (Knight and Glosling; 1995; Negrao et al., 2001; Nudda et al., 2002; Castillo et al., 2005).

Aj obsah niektorých zložiek mlieka môže byť ovplyvnený. U plemena bahníc poll dorsed sa zníženie počtu dojení z dvoch na jedno denne prejavilo zvýšením obsahom bielkovín a redukciou laktózy. Obsah tuku a celkovej sušiny sa nemenil (Knight

and Glosling; 1995). Pri plemene sarda a merino došlo k nárastu obsahu bielkovín (Nuda et al., 2002, Negro et al., 2001). Ale zatiaľ čo u plemena lacaune pozorovali Nuda et al. (2002) a Negro et al. (2001) tiež nárast obsahu bielkovín, v inej štúdií (Castillo et al., 2005) nebol zistený žiadny rozdiel medzi jednotlivými zložkami mlieka, či už pri plemene lacaune alebo aj pri plemene manchega.

Tri dojenia v priebehu 48 hodín (dojenie každých 16 hodín)

Pri východofrízskych krížencoch (50-75 % východofríz s dorset, polypay, rambouillet) nebol zistený žiadny rozdiel medzi 12 h (dojenie dvakrát denne) a 16 h intervalom dojenia (tri dojenia počas 48 hodín) na množstve mlieka, zložení a kvalite mlieka (McKusick et al., 2002). Dokonca McKusick et al., (2002) zistili 27 % úsporu na celkovom čase dojenia v porovnaní s dojením dvakrát denne.

Dojenie trikrát denne

Jednou z možností ako zvýšiť ziskovosť ovčích fariem zameraných na produkciu mlieka je zvýšiť produkciu mlieka cez zvýšenie frekvencie dojenia. Mikus a Masar (1978) zistili pri plemene cigája a valaška nárast produkcie o 15 %. Pri plemene lacaune zvýšenie frekvencie dojenia z dvakrát na trikrát spôsobil nárast o 34,5 % (Negro et al., 2001). Pričom v poslednej spomínanej štúdií neboli pozorované žiadne štatistické rozdiely v obsahu tuku a bielkovín v mlieku bahníc medzi dojeniami trikrát alebo dvakrát denne. Avšak, v štúdií Mikus a Masar (1978) bol vyšší obsah tuku a celkovej sušiny bahníc pri dojení trikrát denne.

Krížence plemena východofríz, ktoré boli dojené prvých 30 dní laktácie trikrát denne mali o 15,2 % viac mlieka ako bahnice dojené dvakrát denne (De Bie et al., 2000). Avšak nárast produkcie mlieka pri týchto krížencoch je ovplyvnený genetickým podielom plemena východofríz. Kým pri 25 % podiele nebol zistený rozdiel v množstve mlieka, pri 50 % podiele bol nárast oproti dojeniu dvakrát denne 13 % a pri 37,5 % podiele ešte vyšší, a to 36 %.

Záver

Rozdiely medzi plemenami (produkčný potenciál, morfológia mliečnej žľazy a kapacita cisterny) sú jedny z faktorov zodpovedných za odlišné výsledky zaznamenanými v jednotlivých štúdiách skúmajúcich vplyv frekvencie dojenia na množstvo a zloženie mlieka u dojnych oviec. Ďalším dôvodom rozdielnych výsledkov je hodnotenie frekvencie dojenia v rôznych štádiách laktácie a počas nerovnako dlhotrvajúcich pokusov. Dôležitú úlohu tu zohráva aj veľkosť cisterny. Všeobecne, dojenie trikrát denne sa považuje za najvhodnejšie zvolenú frekvenciu dojenia na začiatku laktácie, dojenie dvakrát denne v strede a jedenkrát denne ku koncu laktácie.

Literatúra

- Antonič J., Mačuhová L., Uhrinčať M., Tančin V. 2013. The effect of milk ejection occurrence before or during machine. *Vet Med Zoot.* 61: 3-7.
- Ayadi M., Matar A. M., Aljumaah R.S., Alshaikh M. A., Abouheif M. A. 2014. Evolution of udder morphology, alveolar and cisternal milk compartment during lactation and their relationship with milk yield in Najdi sheep. *Spanish J Agric. Res.* 12: 1061-1070.
- Castillo V., Such X., Caja G., Salama A. A. K., Albanell E. and Casals R. 2005. Mid term lactational effects of once- versus twice-daily milking in Manchega and lacaune dairy ewes. *J. Anim. Sci.* 83: Suppl. 1/ J. Dairy Sci. 88: 286-287.

- Castillo V., Such X., Caja G., Salama A. A. K., Albanell E. and Casals R. 2008. Changes in alveolar and cisternal compartments induced by milking interval in the udder of dairy ewes. *J. Dairy Sci.* 91: 3403–3411.
- Castillo V., Such X., Caja G., Casals R., Salama A. A. K. and Albanell E. 2009. Long- and short-term effects of omitting two weekend milkings on the lactational performance and mammary tight junction permeability of dairy ewes. *J. Dairy Sci.* 92: 3684–3695.
- De Bie L., Berger Y. M., Thomas D. L. 2000. The effect of three times a day milking at the beginning of lactation on the milk production of EastFriesian crossbred ewes In: Dairy sheep symposium, November 2000, p. 9-17
- Knight T.W. and Gosling L. S. 1995. Effect of milking frequency and machine-stripping on the yield and composition of milk from Poll Dorset ewes. *N. Z. J. Agric. Res.*, 38: 123-130.
- Kuchtík J., Šustová K., Urban T. and Zapletal D. 2008. Effect of the stage of lactation on milk composition, its properties and the quality of rennet curdling in East Friesian ewes. *Czech J. Anim. Sci.* 53: 55-63.
- Labussiere J. 1988. Review of physiological and anatomical factors influencing the milking ability of ewes and the organization of milking. *Livest. Prod. Sci.*, 18: 253–274.
- Mačuhová L., Uhrinčat' M., Mačuhová J., Margetín M., Tančín V. 2008. The first observation of milkability of the sheep breeds Tsigai, Improved Valachian and their crosses with Lacaune. *Czech J. Anim. Sci.* 53: 528-536.
- Mačuhová L. Tančín V. Uhrinčat' M. Mačuhová J. 2012. The level of udder emptying and milk flow stability in Tsigai, improved Valachian, and Lacaune ewes during machine milking. *Czech J. Anim. Sci.* 57: 240-247.
- McKusick B. C., Thomas D. L., Berger Y. M. and Marnet P. G. 2002a. Effect of milking interval on alveolar versus cisternal milk accumulation and milk production and composition in dairy ewes. *J. Dairy Sci.* 85: 2197-2206.
- Mikus M. and Masar M. 1978. Milk production and labour productivity in sheep milking twice and thrice daily and without stripping. In: Proc. 2nd Int. Sym. On Machine milking of small ruminat, Alghero, Italy, 22-27 Mai 1978, pp.263-276.
- Negrao J. A., Marnet P. G. and Labussiere J. 2001. Effect of milking frequency release and milk production in dairy ewes. *Small Rum. Res.* 39: 181-187.
- Nudda A., Bencini R., Mijatovic S., Pulina G. 2002. The yield and composition of milk in Sarda, Awassi, and Merino Sheep milked unilaterally at different frequencies. *J. Dairy Sci.* 85: 2879-2884.
- O'Brien B. C., Ryan W. J., Meaney D., McDonagh D., Kelly A. 2002. Effect of frequency of milking on yield, composition and processing quality of milk. *J. Dairy Res.* 69: 367-374.
- Santibanez A., Such X., Caja G., Castillo V. and Albanell E., 2009. Lactational effects of once – versus twice – daily milkings throughout lactation in dairy ewes. In: Book of abstract of the 60th annual meeting of the European association for animal production, Barcelona, Spain, 24 – 27 August 2009, p. 470.
- Tančín V., Uhrinčat' M., Mačuhová L., Bruckmaier R. M., 2007. Effect of pre-stimulation on milk flow pattern and distribution of milk constituents at a quarter level. *Czech J. Anim. Sci.* 52: 117-121.

Pod'akovanie

Práca bola realizovaná v rámci Operačného programu Výskumu a Vývoja “MLIEKO 26220220196” a APVV-15-0072.

Kontaktná adresa:

Ing. Lucia Mačuhová, PhD.

Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky.

E-mail: macuhova@vuzv.sk

Senzorické hodnotenie syrov s plesňou v ceste počas skladovania

Sensory evaluation of interior-ripened soft cheeses during storage

Maľová J., Maľa P., Semjon B., Mitrová A., Výrostková J., Vargová M.

Ústav hygieny a technológie mlieka, Katedra hygieny a technológie potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Súhrn

Cieľom tejto práce bolo senzoricky zhodnotiť a porovnať vzorky syrov s plesňou v ceste zakúpených v obchodnej sieti počas doby skladovania 21 dní. Po skladovaní získala vzorka A a B vyššie bodové hodnotenie chuti a vône ako pred skladovaním. Hodnotenie senzorického profilu vzoriek syrov poukazuje na výraznejšiu pikantnejšiu a slanšiu chuť vzorky A po skladovaní. Vzorka A mala oproti vzorke B pred skladovaním veľmi silno vnímateľný syrovo nažltlý povrch a viac načervenalých škvrn.

Kľúčové slová: *senzorické hodnotenie, kvalita, syry s plesňou na povrchu*

Abstract

The aim of this study was to sensory evaluate and compare interior-ripened soft cheese samples bought in sales network during storage time of 21 days. After storage sample A was evaluated with higher point score of taste and smell after storage than before storage time. Sensory profile of cheese samples showed noticeable spicy and salty taste sample A after storage than before. Sample A in opposite of sample B before storage had very intensively yellow cheese surface and more reddish blots.

Úvod

Medzi najčastejšie a najstaršie vyrábané mliečne výrobky patria syry. Zo syrov s plesňou v ceste to sú napr. Niva, Rival, Blue a iné (Jarošová, 2006). Syry s plesňou v ceste sa vyznačujú v nákreji typickým mramorovaným porastom tmavozelenej až zelenomodrej plesne *Penicillium roqueforti* na reze. U syrov sa vyskytuje veľké množstvo chýb oproti iným mliečnym výrobkom. Vysvetľované je to tým, že pri niektorých druhoch syrov je dlhá doba zrenia a práve počas toho dochádza k výrazným biochemickým zmenám (Dráb, 2012).

Syry patria k potravinám, pri ktorých senzorické hodnotenie zohráva zvlášť dôležitú úlohu. Senzorické hodnotenie syrov je dôležité pre určovanie a zisťovanie vplyvu zloženia syru na špecifické senzorické vlastnosti a aj pri výrobe syrov. Taktiež je potrebné k určeniu chuťovej kvality syrov a prijateľnosti u konzumentov (Haenlein, 1995).

Materiál a metodika

Senzorického posudzovania vzoriek syrov sa zúčastnili študenti Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, ktorí mali základné vedomosti o hodnotení potravín a o výrobe vybraných druhov syrov. Senzorickú analýzu vykonávali taktiež odborní posudzovatelia zo štruktúry pedagogických a vedeckých pracovníkov pracujúcich na Ústave hygieny a technológie mlieka UVLF. Vzorky syrov

posudzované v jednotlivých fázach sensorického hodnotenia pochádzali z obchodnej siete v Košiciach. V tejto práci sme hodnotili dva druhy syrov s plesňou v ceste počas skladovania pri chladničkovvej teplote 6 °C bez prístupu svetla.

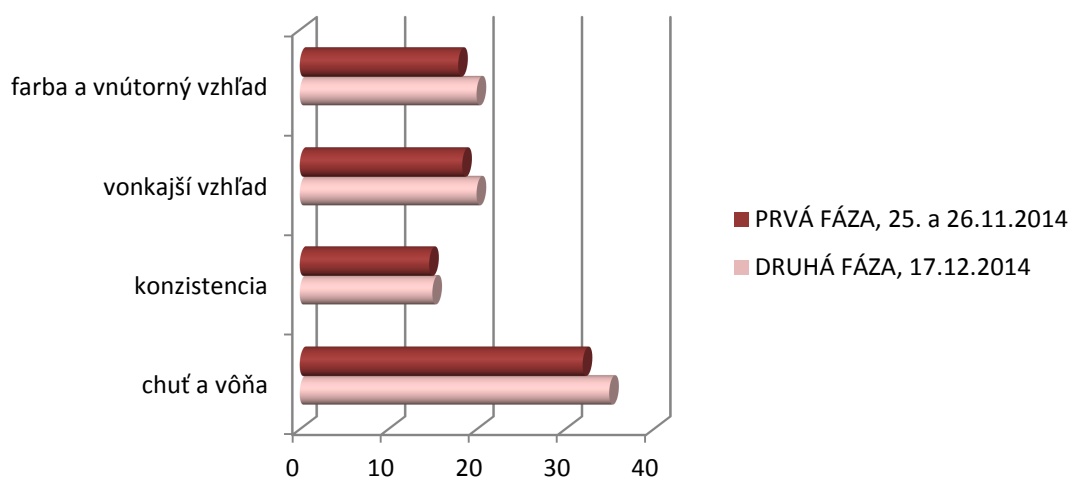
Senzorickú analýzu vykonávali hodnotitelia formou bodového testu. Do vopred pripravených protokolov hodnotitelia posudzovali charakteristiku a kvalitu farby a vnútorného vzhľadu, vonkajší vzhľad, konzistenciu, chuť a vôňu, a to bodmi v rozpätí od 0 po 35. Pri profilovom teste každý hodnotiteľ vyplňal protokol pre sensorický profil, kde hodnotil jednotlivé deskriptory dielčej chuti a vône a vzhľadu s konzistenciou za použitia intenzitnej škály pre jednotlivé deskriptory od jedna po šesť, pričom číslo jeden bola nevnímateľná intenzita, dva veľmi slabo vnímateľná, tri slabo vnímateľná, štyri vnímateľná, päť silno vnímateľná a šesť veľmi silno vnímateľná.

Výsledky

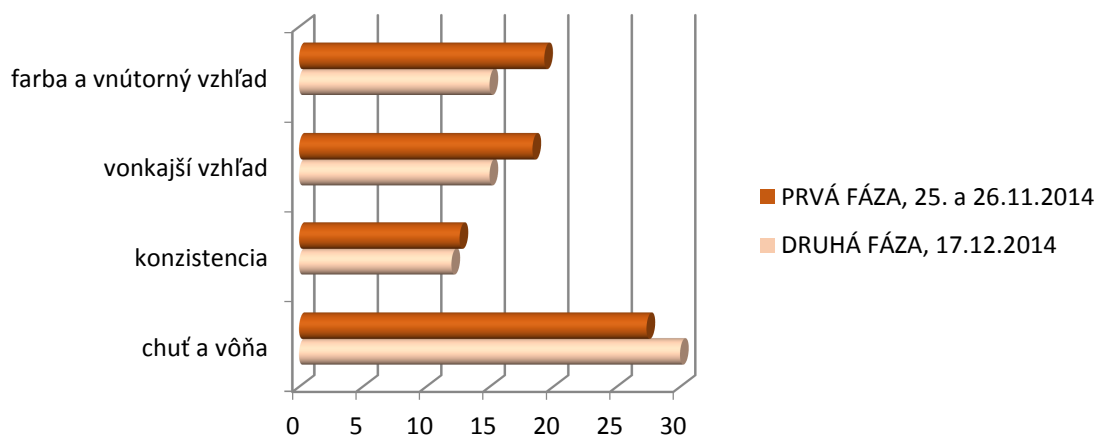
Vzorky syrov sme skladovali počas 21 dní v chladiacom priestore pri 6 °C bez prístupu svetla. Vo vybraných vzorkách syrov s plesňou v ceste sa znaky kvality v jednotlivých charakteristikách menili.

Graf 1 popisuje sumárne výsledky bodovej sústavy vzorky A pred a po skladovaní.

Vo všetkých charakteristikách kvality získala vzorka A vyššie priemerné bodové ohodnotenie v druhej fáze analýzy, kedy bola po dobe minimálnej trvanlivosti 3 dni.



Graf 1: Sumárne bodové výsledky vzorky A

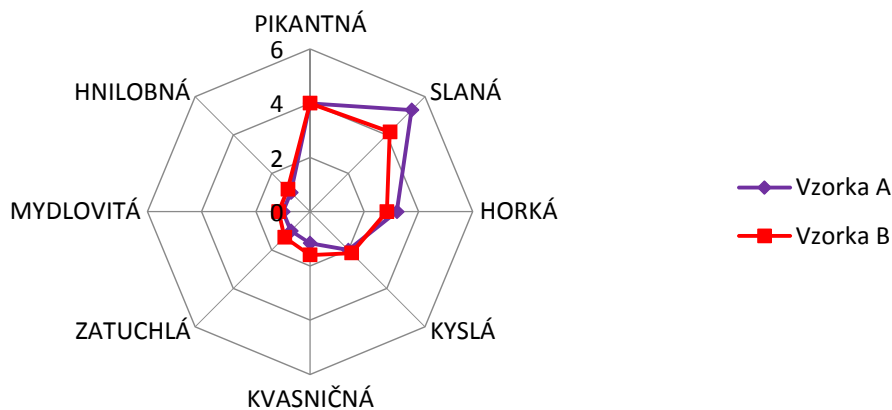


Graf 2: Sumárne bodové výsledky vzorky B

Graf 2 popisuje sumárne výsledky bodového hodnotenia vzorky B. Vo farbe a vnútornom vzhľade, vonkajšom vzhľade aj v konzistencii získala vzorka B vyššie priemerné bodové hodnotenie v prvej fáze sensorickej analýzy. Chuť a vôňa bola ohodnotená vyššími bodmi po trojtýždňovom skladovaní, a to 3 dni po záruke.

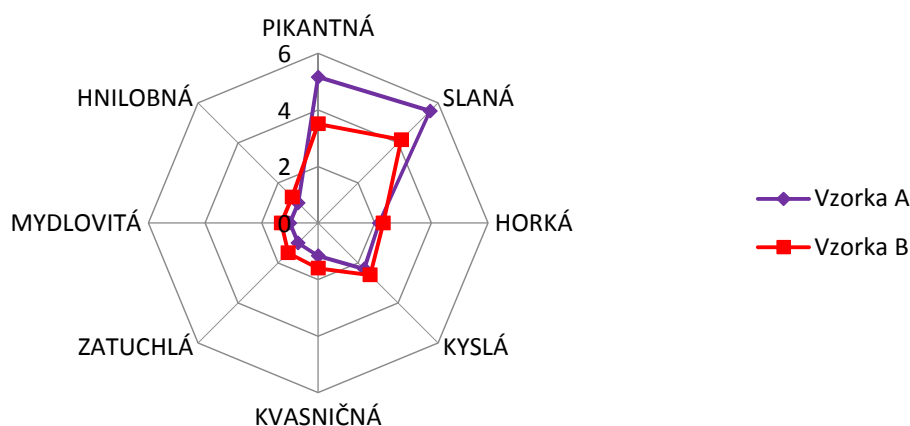
Graf 3 a 4 popisuje dielčiu chuť sensorického profilu vzoriek syrov A a B pred a po skladovaní. Tieto grafy poukazujú na rozdiely v dielčej chuti vzoriek syrov podrobených sensorickej analýze, a z ktorých vyplýva, že obe vzorky majú približne rovnaké charakteristiky, líšia sa len v intenzite jednotlivých deskriptorov.

Z grafu 3 vyplýva, že vzorka A mala výraznejšiu slanú chuť oproti vzorke B pred skladovaním.



Graf 3: Sensorický profil – Dielčia chuť vzoriek syrov A a B pred skladovaním

Graf 4 poukazuje na rozdiel v dielčej chuti syrov A a B po skladovaní. Oproti syrom pred skladovaním má vzorka A po skladovaní výraznejšie pikantnejšiu chuť. Rovnako výraznejšia je po skladovaní u vzorky A aj chuť slaná.



Graf 4: Sensorický profil – dielčia chuť syrov A a B po skladovaní

Záver

Z výsledkov sensorickej analýzy vybraných vzoriek syrov s plesňou v ceste po skladovaní získali obe vzorky vyššie bodové hodnotenie chuti a vône po skladovaní ako pred skladovaním. Hodnotenie sensorického profilu vzoriek syrov poukazuje na výraznejšiu pikantnejšiu a slanšiu chuť vzorky A po skladovaní ako na začiatku skladovania. Vzorka A mala oproti vzorke B pred skladovaním veľmi silno vnímateľný syrovo nažltlý povrch a viac načervenalých škvŕn.

Literatúra

Jarošová A. Sensorické hodnotení sýru Hermadur. Odborný seminár Mléko a sýry, Praha 2006.

Dráb V. Základní a doplňkové kultúry pro výrobu polotvrdých a tvrdých sýrů. SÝRY-ZLÍN 2012. Perspektivy hodnotení sýrů a jejich jakosti. 2012 Sborník příspěvků, 1. vydání ISBN 978-80-7454-231-2

Haenlein, G. F. W. Nutritional value of dairy products of ewe and goatmilk. In Production and utilization of ewe and goatmilk. Brussel, IDF, 1995, p. 159-178.

PodĎakovanie

Práca bola podporená grantom KEGA č. 005 UVLF-4/2015

Kontaktná adresa:

MVDr. Jana Maľová, PhD.

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

E-mail: jana.malova@uvlf.sk

**Proteomická databáze pro vyhledávání tkáňově specifických markerů
svalových bílkovin koňského a velbloudího masa**
*Proteomic database for searching of tissue-specific muscle protein
markers of horse and camel meat*

Manyukhin, Y, Chernukha, I.

The VM Gorbatov All-Russian Meat Research Institute

Abstract

Proteomic analysis of horse and camel m. Longissimus dorsi was done. As a result of 2D electrophoresis protein fractions with a range of molecular masses and isoelectric points were detected. Most of the proteins are of 10 to 100 kDa. In general, there were registered more than 130 horse protein fractions and about 170 camel ones. New information modules titled «Proteins of horse skeletal muscle (*Equus caballus*)» and «Proteins of camel skeletal muscles (*Camelus bactrianus*)» of «Proteomics of muscle organs» database have formed.

Keywords: *horse meat, camel meat, proteomic database, tissue-specific muscle protein markers*

Introduction

For the development of protein biochemistry at the beginning of the 21st century, the wide application of proteomic and bioinformatics technologies gained the fundamental value (Anderson N.G. et al. 2001). Accumulated results which are a set of interrelated information that must be processed together are regarded as appropriate information arrays by which the various general and specialized databases placed in the network "Internet" are formed.

With the beginning of the post-genomic era, proteomic technologies are considered to become a powerful tool to study raw meat and meat products. That could be the study of protein spectra (proteomic profiles) of meat and meat products, searching specific biomarkers (Lomiwes D. et al., 2013), the study of postmortem protein changes in raw meat and the detection of stable and rapidly degraded proteins (Di Luca A. et al. 2013), determination of non-muscle proteins in meat and meat products (Pares D. et al. 2013). The main goal of this research was to form new information modules titled «Proteins of horse skeletal muscle (*Equus caballus*)» and «Proteins of camel skeletal muscles (*Camelus bactrianus*)» of «Proteomics of muscle organs» database to optimize the search of new protein isoforms and the determination of tissue-specific horse and camel protein markers.

Materials and Methods

Horse and camel muscle samples (m. Longissimus dorsi) were obtained from the local meat-processing factory in Moscow region.

As the main proteomic technologies O'Farrell two-dimensional electrophoresis with isoelectric focusing in amfolin (IEF-PAGE) pH gradient was used with subsequent protein detection by staining with Coomassie R-250 (O'Farrell, 1975).

Identification of protein fractions was performed after trypsin digestion techniques on MALDI-TOF MS and MS / MS mass spectrometer Ultraflex («Bruker», Germany) with UV laser (336 nm) in the positive ion mode in the mass range of 500-8000 Da with the calibration of the known trypsin autolysis peaks. Analysis of the mass spectra of tryptic peptides was performed using the Mascot, option Peptide Fingerprint («Matrix Science», USA), followed by a search in databases of the National Center for Biotechnology Information USA (NCBI).

Results and Discussion

Up to 130 horse and 170 camel protein fractions were obtained by staining with Coomassie R-250 (Fig. 1 A and B).

The protein fractions were identified in a range of molecular masses from 10 to 100 kDa. In general, the horse meat proteomic profile (Fig. 1 A) is similar to the camel one (Fig. 1 B).

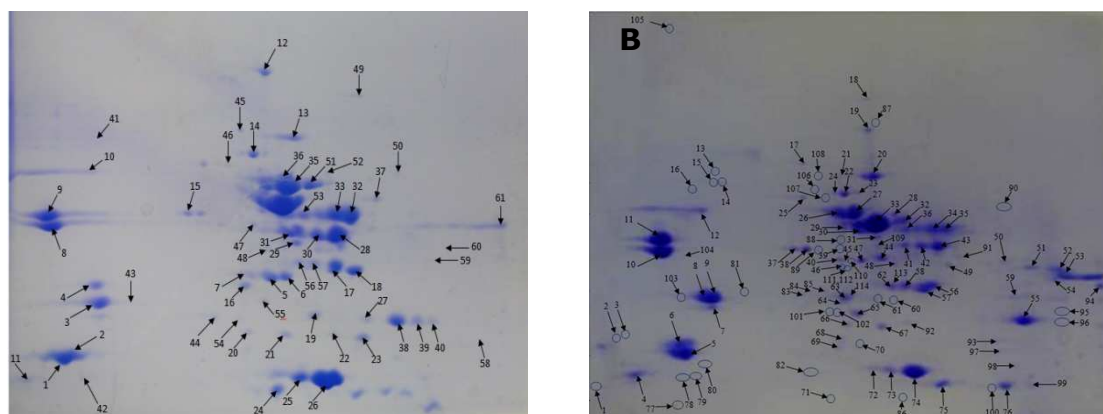
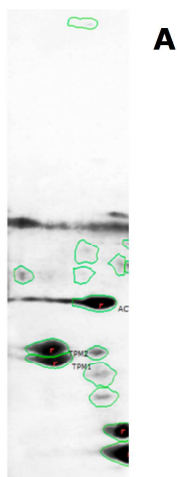


Fig. 1 Proteomic profiles of horse (A) and camel (B) meat. Coomassie R-250 stain, fractions identified by MALDI-TOF MS/MS are denoted with arrows and numbers (database «Proteomics of muscle organs»).

Horse and camel muscle proteins were identified according to the data of the relevant horse and camel transcripts or genes identified in the genome of *Equus caballus* and *Camelus bactrianus*. Although among the identified proteins were the most represented muscle proteins, for example, myosin light chain (MLC), scientific information even about these proteins but of the horse or camel have been extremely limited.

Summarized results of performed mass spectrometric analysis of horse and camel m. Longissimus dorsi proteins are presented in the new information modules «Proteins of horse skeletal muscle (*Equus caballus*)» and «Proteins of camel skeletal muscles (*Camelus bactrianus*)» of «Proteomics of muscle organs» database (Fig. 2 A and B).



A

B

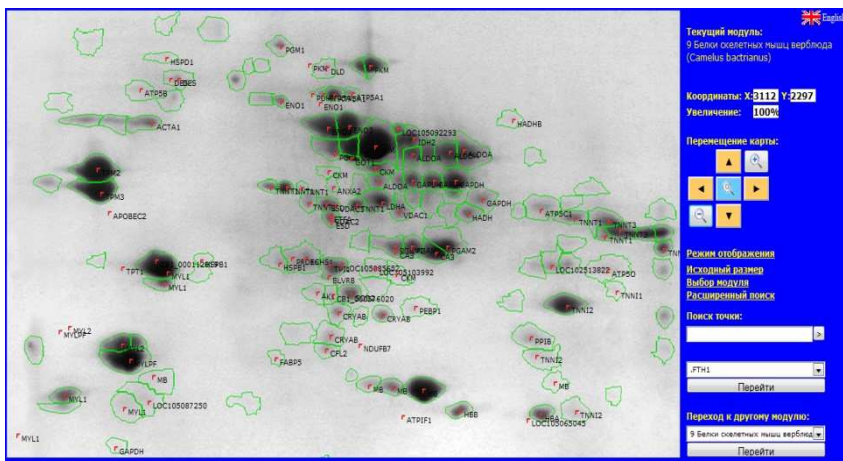


Fig. 2 The information modules «Proteins of horse skeletal muscle (*Equus caballus*)» (A) and «Proteins of camel skeletal muscles (*Camelus bactrianus*)» (B) of «Proteomics of muscle organs» database.

Conclusion

This proteomic strategy (a combination of 2D electrophoresis and MALDI-TOF mass spectrometry) can be used not only to identify camel and horse meat but also to detect other meat types such as beef, pork or lamb in cooked meat products.

2D electrophoresis gave us about 130 horse and 170 camel muscle proteins. Most of the reported results of proteomic analysis of horse and camel meat proteins can be considered new. Detailed information is placed in the database "Proteomics of muscle organs" (<http://mp.inbi.ras.ru>).

References

- Anderson, N.G., Matheson, A., Anderson, N.L. Back to the future: the human protein index (HPI) and the agenda for post-proteomic biology. *Proteomics*, 2001, vol. 1, no. 1, p.3-12.
- Di Luca, A., Elia, G., Hamill, R., Mullen, A.M. 2D DIGE proteomic analysis of early post mortem muscle exudate highlights the importance of the stress response for improved water-holding capacity of fresh pork meat. *Proteomics*, 2013, vol.13, no. 9, p.1528-1544.
- Lomiwes, D., Farouk, M.M., Wiklund, E., Young, O.A. Small heat shock proteins and their role in meat tenderness: A review. *Meat Sci.*, 2013, vol. 96, no. 1, p. 26-40.
- O'Farrell, P.H. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol. Chem.*, 1975, vol. 250, p. 4007-4021.
- Pares, D., Saguer, E., Pap, N., Toldra, M., Carretero, C. Low-salt porcine serum concentrate as functional ingredient in frankfurters. *Meat Sci.*, 2012, vol. 92, no. 2, p. 151-156.

Contact addresses:

Manyukhin Yaroslav - post-graduate of The V.M. Gorbатов All-Russian Meat Research Institute, 109316, Talalikhina str., 26, Moscow, Russia.

E-mail: man_yaroslav@mail.ru

Chernukha Irina – Dr. Sci. (Meat Tech.), professor, The V.M. Gorbатов All-Russian Meat Research Institute, 109316, Talalikhina str., 26, Moscow, Russia.

E-mail: imcher@inbox.ru

Účinok skrmovania biofermentovaného krmiva a extraktu repíka brojlerovým kurčatám na kvalitu tuku produkovaného mäsa

The effect of broilers feeding with biofermented feed and agrimony extract on quality of fat of produced meat

Marcinčák S.¹, Bartkovský, M.¹, Čertík M.², Koreneková B.¹, Marcinčáková D.³, Mačanga J.¹

¹Katedra hygieny a technológie potravín, UVLF Košice,

² Oddelenie biochemickej technológie, FCHPT STU, Bratislava,

³Katedra farmakológie a toxikológie, Ústav farmakológie, UVLF Košice

Súhrn

Cieľom práce bolo sledovať účinok skrmovania 10 % biofermentovaného krmiva (obohatené o gama linolénovú kyselinu, pripraveného fermentáciou na tuhej fáze pomocou nižších vláknitých húb) a 0,2 % extraktu repíka (*Agrimonia eupatoria* L.) brojlerovým kurčatám, na zloženie mastných kyselín a oxidačnú stabilitu produkovaného mäsa počas chladiarenského skladovania (4 °C, 7 dní). Biofermentované krmivo s vyšším podielom GLA spôsobilo zvýšenie podielu tejto mastnej kyseliny v tuku prsnej aj stehrovej svaloviny. Pridávanie fermentovaného krmiva ako aj extraktu repíka malo vplyv aj na zmenu profilu ostatných mastných kyselín v stehrovej svalovine. Skrmovanie biofermentovaného krmiva nemalo vplyv na zvýšenie množstva oxidačných produktov v tuku mäsa počas skladovania ($P > 0,05$). Podávaný extrakt repíka tiež pozitívne vplýval na zníženie oxidácie mäsa počas skladovania v chladničke.

Kľúčové slová: *biofermentované krmivo, hydina, kvalita mäsa, mastné kyseliny, výkrm kurčiat*

Abstract

The aim of the work was to monitor effect of broilers feeding with biofermented feed in 10 % concentration and extract of agrimony (*Agrimonia eupatoria* L.) in 0.2 % concentration. The feed was enriched by gamma-linolenic acid (GLA) prepared by solid state fermentation using filamentous fungi, added to the standard diet from the 17th day of fattening (39 days duration). The content of fatty acids and oxidative stability during the refrigerator storage (4 °C, 7 days) was followed. Feeding with biofermented feed affected the amount of gamma-linolenic acid in fat of breast and thigh muscles and also the fatty acids profile was changed. The oxidative stability of fat during the storage was not affected ($P > 0.05$). Addition of agrimony extracts has also positive effect on decreasing of oxidative processes during the storage.

Úvod

V posledných rokoch bol zaznamenaný zvýšený záujem o metódy manipulácie zloženia mastných kyselín v tuku mäsa produkovaných zvierat, hlavne o zvýšenie podielu polynenasýtených mastných kyselín (PNMK) a naopak o zníženie podielu nasýtených mastných kyselín, ako aj vylepšenie pomeru n-3/n-6 PNMK. Mikrobiálne PNMK sú

vysoko hodnotné druhy oleja porovnateľné s lacnejšími olejnatými komoditami, ako je sójový olej, palmový a slnečnicový olej. Alternatívna produkcia PNMK je založená hlavne na polosuchých kultiváciách nižších vláknitých húb (Čertík a kol., 2012). Atraktivnosť týchto kultivácií spočíva vo využívaní ľahko dostupných substrátov na báze odpadových produktov z poľnohospodárskej a potravinárskej výroby. Okrem produkcie PNMK (gama-linolénová, dihomogama-linolénová) prítomné vláknité huby (*Cunninghamella*, *Mortierella*, *Mucor* a *Rhizopus*) svojou fermentačnou činnosťou spôsobujú elimináciu antinutričných zložiek (Čertík a Shimizu, 1999). Agroindustriálne odpady fermentované na krmivo sa tak stavajú bohatým a ľahko stráviteľným zdrojom využiteľnej energie, bielkovín, stopových prvkov, vitamínov a antioxidantov. Výsledným produktom fermentácie nižších vláknitých húb je biokrmivo s vysokým obsahom PNMK, ktoré môže nájsť uplatnenie v živočíšnej výrobe. U monogastrických zvierat je zloženie mastných kyselín tukov tela výrazne ovplyvňované zložením mastných kyselín tukov krmiva (Zelenka a kol., 2008). Mäso zvierat kŕmených krmivom s vyšším podielom PNMK však rýchlejšie podlieha oxidačným zmenám. Preto je nutné chrániť ho pridávaním antioxidantov. Tieto sú pridávané buď priamo do krmiva alebo do mäsového diela pri produkcii mäsových výrobkov.

Cieľom našej práce bolo sledovať účinok podávania biofermentovaného krmiva v dávke 10 % (nahradením komerčnej kŕmnej zmesi) a extraktu repíka lekárskeho (0,2 %) brojlerovým kurčatám, na zloženie mastných kyselín a oxidačnú stabilitu produkovaného mäsa počas chladiarenského skladovania (4 °C, 7 dní).

Materiál a metodika

Do pokusu bolo zaradených 120 ks jednodňových brojlerových kurčiat hybridu COBB 500 rozdelených do troch skupín po 40 ks. Kontrolná skupina (K) bola kŕmená komerčnými kŕmivými zmesami (KKZ) Br1, Br2, Br3 a Br4 (DeHeus, ČR). V prvej pokusnej skupine (GLA) bola kurčatám od 17. dňa výkrmu nahrádzaná KKZ v dávke 10 % biofermentovaným krmivom s vyšším podielom kyseliny gama-linolénovej ($2,1 \pm 0,4 \text{ mg.g}^{-1}$; vyprodukované fermentáciou nižšej vláknitej huby *Cunninghamella echinulata* na pšeničných otrubách). V druhej pokusnej skupine (GLA+R) bola kurčatám od 17. dňa výkrmu nahrádzaná KKZ v dávke 10 % biofermentovaným krmivom a do vody bol od 1. dňa pridávaný extrakt repíka (*Agrimonia eupatoria* L.) v dávke 0,2 %. Počas výkrmu (38 dní) mali kurčatá prístup ku krmivu a k vode *ad libitum*. Na 39. deň boli kurčatá po omráčení usmrtené, vykŕvené a jatočne opracované. Následne boli odobraté vzorky stehennej a prsnej svaloviny. Vzorky boli zabalené do polyetylénových obalov a skladované v chladničke pri 4 °C počas 7 dní. Oxidácia tukov v stehennej a prsnej svalovine bola stanovená pomocou metódy tiobarbiturového čísla (TBA) podľa Marcinčák a i. (2004). Stanovenie mastných kyselín bolo vykonané podľa Čertík a kol. (2008). Štatistické spracovanie výsledkov bolo vykonané štatistickým programom Graph Pad Prism 5.0 (2007).

Výsledky

Pomocou fermentácie na tuhom substráte (pšeničné otruby) a vhodného druhu vláknitých húb bolo vytvorené plnohodnotné kŕmne aditívum s obsahom kyseliny gama-linolénovej a to len za využitia odpadových materiálov poľnohospodárskej výroby. Pridávanie bifementovaného krmiva ku KKZ zvýšilo podiel GLA v podávanom krmive

($0,54 \pm 0,03$ %) a zvýšilo podiel tejto mastnej kyseliny v tuku prsnej (K – $0,071$, GLA – $0,172$, GLA+R – $0,137$ %) aj stehrovej svaloviny (tab. 1, $P < 0,05$). Pridávanie fermentovaného krmiva však malo výraznejší vplyv na zmenu profilu mastných kyselín v stehrovej svalovine. V porovnaní s kontrolou bol zaznamenaný vyšší podiel kyseliny dihomu-GLA, eikozapentaénovej, dokozapentaénovej a dokzahexaénovej. Významný je aj nárast esenciálnych mastných kyselín a zlepšený pomer n-6/n-3 PNMK v porovnaní s kontrolnou skupinou.

Tabuľka 1: Profil mastných kyselín tukov stehnav v %

Fatty acids	Stehno K	Stehno GLA	Stehno GLA+R
C 16:0	$19,77 \pm 0,26$	$20,44 \pm 0,14$	$20,508 \pm 0,143$
C 16:1 n-7	$4,09 \pm 0,20$	$3,05 \pm 0,29$	$0,368 \pm 0,012$
C 18:0	$11,06 \pm 0,25$	$11,64 \pm 0,43$	$12,740 \pm 0,394$
C 18:1 n-9	$27,63 \pm 0,07$	$23,55 \pm 0,89^a$	$22,438 \pm 0,662$
C 18:1 n-7	$3,16 \pm 0,19$	$4,10 \pm 0,17$	$3,305 \pm 0,138$
C 18:2 n-6	$20,35 \pm 0,23$	$21,07 \pm 0,56$	$21,19 \pm 0,51$
C 18:3 n-6	$0,082 \pm 0,003$	$0,158 \pm 0,006^a$	$0,154 \pm 0,011$
C 18:3 n-3	$0,74 \pm 0,012$	$0,63 \pm 0,037$	$0,572 \pm 0,043$
C 20:2 n-6	$0,340 \pm 0,049$	$0,612 \pm 0,048$	$0,452 \pm 0,051$
C 20:3 n-3	$0,038 \pm 0,005$	$0,075 \pm 0,004$	$0,062 \pm 0,011$
C 20:3 n-6	$0,734 \pm 0,17$	$1,62 \pm 0,11$	$1,288 \pm 0,164$
C 20:4 n-6	$4,95 \pm 0,19$	$6,47 \pm 0,33$	$7,781 \pm 0,191$
C 20:5 n-3	$0,232 \pm 0,004$	$0,360 \pm 0,033a$	$0,360 \pm 0,030$
C 22:5 n-3	$0,729 \pm 0,010$	$1,092 \pm 0,047^a$	$1,053 \pm 0,057$
C 22:6 n-3	$0,570 \pm 0,022$	$0,815 \pm 0,049^a$	$0,701 \pm 0,063$
Σ NMK	$34,97 \pm 0,58$	$35,11 \pm 0,49$	$36,09 \pm 0,54$
Σ UMK	$65,03 \pm 0,58$	$64,89 \pm 0,59$	$63,91 \pm 0,51$
Σ PNMK n-3	$2,357 \pm 0,044$	$2,984 \pm 0,082$	$2,781 \pm 0,117$
Σ PNMK n-6	$26,11 \pm 0,54$	$29,29 \pm 0,99$	$30,415 \pm 0,803$
n-6/n-3	$11,08 \pm 0,20$	$9,81 \pm 0,09^a$	$10,943 \pm 0,196$
Σ EMK	$28,47 \pm 0,56$	$32,27 \pm 1,07^a$	$33,196 \pm 0,803$

^a - štatisticky významný rozdiel oproti kontrole ($P < 0,05$); Σ NMK: suma nasýtených mastných kyselín; Σ UMK: suma nenasýtených mastných kyselín; Σ PNMK n-3: suma polynenasýtených mastných kyselín radu n-3; Σ PNMK n-6: suma polynenasýtených mastných kyselín radu n-6; Σ EMK: suma esenciálnych mastných kyselín

Skrmovanie fermentovaného krmiva u oboch pokusných skupín malo iba malý vplyv na zvýšenie množstva oxidačných produktov v tuku mäsa počas skladovania ($P > 0,05$; tab. 2). Aj keď boli rozkladné zmeny tukov u pokusných vzoriek stehenej aj prsnej svaloviny na 7. deň skladovania vyššie, neboli štatisticky rozdielne ($P > 0,05$). Extrakt repíka mal pozitívny vplyv na zníženie oxidačných produktov v tuku mäsa počas skladovania.

Záver

Skrmovanie biofermentovaného cereálneho produktu v dávke 10 % malo vplyv na zmenu profilu mastných kyselín v stehrovej svalovine. Výrazne sa zvýšil podiel kyseliny γ -linolénovej, dihomu-GLA, eikozapentaénovej, dokozapentaénovej a dokzahexaénovej kyseliny v tuku stehna. Rozkladné zmeny tukov počas skladovania mäsa boli u pokusnej skupiny GLA zaznamenané vo vyššej miere, avšak pridávanie extraktu repíka lekárskeho v dávke 0,2 % kurčatám, znížilo oxidačné procesy.

Tabuľka 2: Rozkladné zmeny tukov vyjadrené ako množstvo malónďaldehydu ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) počas chladiarenského skladovania

Stehno	1. deň	7. deň
Kontrola	$0,203 \pm 0,029$	$0,287 \pm 0,024$
GLA	$0,244 \pm 0,035$	$0,365 \pm 0,075$
GLA+R	$0,208 \pm 0,022$	$0,354 \pm 0,042$
Prsia	1. deň	7. deň
Kontrola	$0,266 \pm 0,035$	$0,341 \pm 0,015$
GLA	$0,251 \pm 0,025$	$0,377 \pm 0,036$
GLA+R	$0,226 \pm 0,010$	$0,340 \pm 0,016$

Literatúra

Bača, M., Marcinčák, S., Čertík, M., Popelka, P., Marcinčáková D., Guothová, L., Molnár, L., Klempová, T., Maskal'ová, I.: Effect of adding prefermented cereal product containing gamma-linolenic acid to broiler feed on production indicators and fatty acid profile of chicken breast. *Acta Vet. Brno*, 2014, no. 4, p. 331 - 336.

Čertík, M., Adamechová, Z., Hanusová, V., Breierová, E.: Biotechnology as a useful tool for nutritional improvement of cereal-based materials enriched with polyunsaturated fatty acids and pigments. *Acta Agronom. Hungar*, 2008, no. 4, p. 377 – 384.

Čertík, M., Adamechová, Z., Laoteng, K.: Microbial production of gamma-linolenic acid: Submerged versus solid-state fermentations. *Food Science and Biotechnology*, 2012, no. 4, p. 921-926.

Čertík, M., Shimizu, S. Biosynthesis and regulation of microbial polyunsaturated fatty acid production - a review. *J. Bioscience and Bioengineering*, 1999, no. 1, p. 1-14.

Marcinčák, S., Sokol, J., Bystrický, P., Popelka, P., Turek, P., Bhide, M., Máté, D. Determination of lipid oxidation level in broiler meat by liquid chromatography. *J. AOAC Int.*, 2004; no. 5, p. 1148-1152.

Príbela, A. Senzorické hodnotenie potravinárskych surovín, aditívnych látok a výrobkov. *Inštitút vzdelávania veterinárnych lekárov, Košice*, 2001.

Zelenka, J., Jarošová, A., Schneiderová, D. Influence of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids on sensory characteristics of chicken meat. *Czech J. Anim. Sci.*, 2008, no7, p. 299-305.

Pod'akovanie: Realizácia experimentu bola finančne podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-14-0397 a grantom VEGA č. 1/0457/14.

Kontaktná adresa:

Doc. MVDr. Slavomír Marcinčák, PhD.: Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach; Katedra hygieny a technológie potravín; Komenského 73, 04181 Košice, Slovenská republika. E-mail: slavomir.marcincak@uvlf.sk

Stanovení biogenních aminů u bílých vín z vinařské oblasti Morava

Biogenic amines determination in white wines from region Morava

Míšková, Z., Budinský, P., Kolářková, T., Trávníková, L., Buňka, F.

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakultní nemocnice v Praze-Motole

Souhrn

Tato práce se zabývala stanovením osmi biogenních aminů ve víně. Bylo získáno celkem 180 vzorků bílých vín z vinařské oblasti Morava. Nejčastěji se v daných vzorcích vyskytoval spermin (95,0 %) a tyramin (92,2 %), dále se hojně vyskytoval putrescin (38,9 %). Biogenní aminy fenylethylamin a kadaverin byly zaznamenány u 26,7 %, resp. 20,0 % vzorků. Podobně zastoupené byly biogenní aminy histamin (6,7 %) a spermidin (5,6 %). Tryptamin nebyl detekován ani v jednom z odebraných vzorků vín z oblasti Morava. Množství biogenních aminů ve vzorcích vín se pohybovalo v následujících rozmezích, spermin 1,0 – 12,9 mg.l⁻¹, tyramin 0,1 – 34,6 mg.l⁻¹, putrescin 0,7 – 30,4 mg.l⁻¹, fenylethylamin 0,1 – 6,5 mg.l⁻¹, kadaverin 0,4 – 3,1 mg.l⁻¹, histamin 0,7 – 4,5 mg.l⁻¹ a spermidin 0,1 – 3,5 mg.l⁻¹. Kromě fenylethylaminu se biogenní aminy vyskytovaly ve vzorcích bílých vín v koncentracích, které je možné vyhodnotit jako bezpečné pro zdravého konzumenta.

Klíčová slova: *víno, biogenní aminy, pH, histamin, tyramin*

Abstract

This work deals with biogenic amines determination in wine. It was obtained 180 samples of white wines from region Morava. In the samples, there were the most occurring biogenic amines spermine (95.0 %) and tyramine (92.2 %). Additionally, 38.9 % of samples contain putrescine. Biogenic amines, phenylethylamine and cadaverin, were detected at 26.7 % and 20.0 % samples. Similar values of representation were observed at histamine (6.7 %) and spermidine (5.6 %). Tryptamine was not determined in any of the obtained wine samples from region Morava. Ranges for biogenic amines in wine samples were determined subsequently, spermine 1.0 – 12.9 mg.l⁻¹, tyramine 0.1 – 34.6 mg.l⁻¹, putrescine 0.7 – 30.4 mg.l⁻¹, phenylethylamine 0.1 – 6.5 mg.l⁻¹, cadaverine 0.4 – 3.1 mg.l⁻¹, histamine 0.7 – 4.5 mg.l⁻¹ and spermidine 0.1 – 3.5 mg.l⁻¹. Biogenic amines amounts in samples of white wine, except phenylethylamine, have been suggested as safe levels for health consumer.

Úvod

Biogenní aminy jsou biologicky aktivní organické báze nízké molekulové hmotnosti, které jsou tvořeny i degradovány během metabolismu živých organismů. Netěkavé aminy, jako histamin, putrescin, tyramin aj., vznikají především dekarboxylací aminokyselin (ten Brink et al., 1990; Schrenk, 2012; Silla Santos, 1996). Těkavé aminy, jako fenylethylamin, se mohou tvořit také aminací aldehydů a ketonů (Ough, 1981; Silla Santos, 1996). Biogenní aminy mají mnoho fyziologických funkcí, jako regulace tělesné teploty, kontrola růstu buněk, alergická odpověď a ovlivnění krevního tlaku. Tyto

sloučeniny slouží jako prekurzory pro syntézu hormonů, alkaloidů, nukleových kyselin a bílkovin (ten Brink et al., 1990; Schrenk, 2012). Avšak vysoké koncentrace biogenních aminů, zvláště pak histaminu a tyraminu, mohou mít přímé toxické účinky na citlivé jedince, především pokud je přítomen alkohol či acetaldehyd (Maynard et al., 1996; Radler et al., 1991). Tyramin a fenylethylamin mohou zapříčinit hypertenzi uvolněním noradrenalinu a norefedinu (Forsythe et al., 1974). V nadbytku je nejvíce toxický histamin, ten způsobuje bolest hlavy, nízký krevní tlak, bušení srdce, otoky, zvracení a průjem. Navíc, může být jeho účinek zesílen ostatními aminy (Chu et al., 1981; Lehtonen, 1996). Například putrescin a kadaverin mohou reagovat s enzymy metabolizujícími histamin, tyramin a fenylethylamin. Tím je blokována degradace histaminu aj., čímž se zvyšuje jeho nepříznivý účinek (ten Brink et al., 1990). Biogenní aminy jsou odbourávány v játrech a střevu působením dvou enzymových komplexů, monoaminoxidázami a diaminoxidázami. Alkohol a acetaldehyd působí jako inhibitory těchto dvou komplexů, tudíž zvyšují toxické účinky biogenních aminů (Sattler, 1985; ten Brink et al., 1990). Proto se při hodnocení toxických účinků biogenních aminů musí kromě množství potravin a koncentrace celkových biogenních aminů vzít v úvahu také konzumace alkoholu či léků (Sessa et al., 1984). Je totiž možné, že i když je fermentovaná potravina či nápoj považován za bezpečný, jejich společná konzumace může vyvolat onemocnění organismu (Lonvaud-Funel, 2001).

Mezi potraviny s významným množstvím biogenních aminů patří ryby, rybí produkty, maso, sýry a fermentované výrobky, jako kysané zelí, pivo a víno (Schrenk, 2012). Přítomnost biogenních aminů v potravinách je spojována jak s udržitelností, tak s bezpečností potravin. Neboť přítomnost biogenních aminů je důsledkem buď endogenní dekarboxylázové aktivity v surovině, nebo růstu dekarboxyláza-aktivních mikroorganismů v podmínkách, které podporují jejich enzymovou aktivitu (Halász et al., 1994). Tedy, kromě již zmíněných toxických účinků je výskyt biogenních aminů v potravinách ukazatelem nežádoucí mikrobiální kontaminace (Schrenk, 2012). Kvasinky a mléčné bakterie přítomné ve víně jsou schopny produkovat biogenní aminy. Mikroorganismy ve víně mají veškeré enzymatické vybavení potřebné k tvorbě biogenních aminů a navíc aminokyseliny jsou zde přítomny v dostatečném množství (Lonvaud-Funel, 2001; Radler, 1991). Celkové množství biogenních aminů ve víně pak značně závisí na složení aminokyselin po alkoholovém kvašení a přítomné mikroflóře (Schrenk, 2012; ten Brink et al., 1990). Histamin, tyramin a putrescin jsou považovány za hlavní biogenní aminy ve víně (Lonvaud-Funel, 2001). Dle Souflerose et al. (1998) je koncentrace těchto aminů ve víně nízká po alkoholovém kvašení a během jablečno-mléčného kvašení se ve většině vín zvyšuje na velice různé hodnoty, a to především působením bakterií mléčného kvašení. Ostatní aminy, jako fenylethylamin a kadaverin, přítomné již v hroznovém moštu, jsou produkovány a odbourávány během vinifikace. Je však nutné podotknout, že neexistuje žádné obecné pravidlo pro vývoj a přítomnost biogenních aminů ve víně. Zatímco některá vína neobsahují žádné biogenní aminy, jiná vína obsahují vysoká množství těchto látek. Také bylo dokázáno, že v některých oblastech je výskyt biogenních aminů vyšší než v jiných oblastech. To je částečně připisováno způsobu výroby vína a tomu, zda probíhá jablečno-mléčné kvašení či nikoli (Lonvaud-Funel, 2001).

Cílem práce bylo stanovení osmi biogenních aminů v bílých vínech z oblasti Morava a následně zhodnocení množství daných biogenních aminů s ohledem na bezpečnost potravin.

Materiál a metodika

Celkem 180 vzorků bílých vín bylo odebráno v průběhu let 2013 – 2016 (rozmezí ročníků 2009 – 2015) na území vinařské oblasti Morava od malých až středních firem, případně z domácí výroby. Byl získán 1 vzorek vína z mikulovské, 3 vzorky ze znojenské, 69 vzorků z velkopavlovické a 107 vzorků ze slovácké podoblasti. Co se týče odrůd, bylo zastoupeno celkem 25 odrůd bílých vín z vinařské oblasti Morava. Získané vzorky vína byly zředěny 1:1 (v/v) 1,2 mol.l⁻¹ kyselinou chloristou. Obsah 8 biogenních aminů (HIM, TYM, PUT, CAD, PEA, SPD, SPN, TRM) byl stanoven metodou HPLC (LabAlliance, StateCollege, USA; Agilent Technologies, Agilent, Paolo Alto, USA) po předchozí derivatizaci dansylchloridem. Derivatizace, chromatografická separace (ZORBAX EclipsePlusC18, 50 x 3,0 mm, 1,8μm, Agilent Technologies) a detekce (UV/VIS DAD detektor, λ = 254 nm) byla provedena dle Dadákové et al. (2009). Každý vzorek byl derivatizován pětkrát a každá derivatizovaná směs pětkrát nanášena na kolonu (n = 10). Meze detekce se pro jednotlivé aminy pohybovaly v rozmezí 0,24 – 1,39 mg.l⁻¹.

Výsledky a diskuze

Celkem 180 vzorků bílých vín z let 2009 - 2015 odebraných z oblasti Morava bylo podrobena analýze obsahu biogenních aminů (mg.l⁻¹). Spermin a tyramin byly nejčastěji se vyskytujícími biogenními aminy v získaných vzorcích vín. Spermin (1,0 – 12,9 mg.l⁻¹) byl detekován u 95,0 % vzorků a tyramin u 92,2 % vzorků. 158 vzorků obsahovalo tyramin v rozmezí 0,1 – 9,6 mg.l⁻¹ a 9 vzorků obsahovalo vyšší množství tyraminu, 10,0 – 34,6 mg.l⁻¹. Průměrně se spermin v daných vzorcích vyskytoval v množství 4,3 mg.l⁻¹ a tyramin 2,2 mg.l⁻¹ (Tab. 1). Putrescin byl stanoven u 38,9 % vzorků, z toho 63 vzorků obsahovalo putrescin v rozmezí 0,7 – 9,7 mg.l⁻¹. U 7 vzorků bylo pozorováno vyšší množství putrescinu, a to v rozmezí 10,2 – 30,4 mg.l⁻¹. Nejvyšší zmíněná hodnota byla naměřena u vzorku směsi odrůd Muškát moravský a Veltlínské zelené z velkopavlovické oblasti, ročník 2012. Průměrná hodnota putrescinu ve všech vzorcích bílých vín byla 2,7 mg.l⁻¹ (Tab. 1). Biogenní aminy fenylethylamin (0,1 – 6,5 mg.l⁻¹) a kadaverin (0,4 – 3,1 mg.l⁻¹) byly zaznamenány u 26,7 % a u 20,0 % vzorků. Podobně zastoupené byly biogenní aminy spermidin (6,7 %) a histamin (5,6 %). Spermidin se vyskytoval od 0,1 do 3,5 mg.l⁻¹ a histamin od 0,7 do 4,5 mg.l⁻¹. Tryptamin nebyl detekován ani v jednom z odebraných vzorků bílých vín z oblasti Morava. Získané výsledky téměř odpovídají tvrzení, že histamin, tyramin a putrescin jsou hlavními biogenními aminy ve víně (Lonvaud-Funel, 2001). Až na malé odchylky odpovídají získané výsledky také výsledkům Souflerose et al. (2007), kdy nejčetnějším biogenním aminem v řeckých vínech byl putrescin, následovaný tyraminem a histaminem. Naopak spermin byl v řeckých vínech nejméně zastoupeným biogenním aminem. Dle Souflerose et al. (1998) se celkový obsah aminů ve víně pohybuje od stopových množství do 130 mg.l⁻¹. U vzorků bílých vín z oblasti Morava bylo zjištěno rozmezí obsahu biogenních aminů v jednotlivých vzorcích vín

od nedetekovatelného množství do 36,2 mg.l⁻¹ (Tab. 1). Nejvyšší zmíněná hodnota byla zaznamenána ve vzorku Muškát Ottonel z velkopavlovické oblasti, ročník 2014. Bezpečné hladiny biogenních aminů ve víně nejsou legislativně určeny. Stanovení přesných toxických limitů biogenních aminů pro jednotlivce je velmi složité. Toxická dávka závisí na účinnosti detoxifikačních mechanismů různých jedinců. Pro histamin v potravinách byl navržen horní limit 100 mg.kg⁻¹, pro histamin v alkoholických nápojích 2 mg.l⁻¹, pro tyramin v potravinách 100 – 800 mg.kg⁻¹ a pro fenylethylamin v potravinách 30 mg.kg⁻¹ (ten Brink et al., 1990). V Německu byl doporučen horní limit pro histamin ve víně 2 mg.l⁻¹, v Belgii 5 – 6 mg.l⁻¹ a ve Francii 8 mg.l⁻¹ (Lehtonen, 1996). Dle Halász et al. (1994) a Lehtonen et al. (1992) byly navrženy koncentrace 2 – 10 mg.l⁻¹ histaminu, 10 – 80 mg.l⁻¹ tyraminu a 3 mg.l⁻¹ fenylethylaminu v alkoholických nápojích jako toxické dávky. V České republice platila Vyhláška 298/1997 Sb., kde byly stanoveny mezní hodnoty histaminu a tyraminu ve víně. Pro histamin byla určena bezpečná hladina do 20 mg.kg⁻¹ a pro tyramin do 50 mg.kg⁻¹ vína. Nejvyšší obsah histaminu, tedy 4,5 mg.l⁻¹, byl zaznamenán u vzorku Sauvignon ze slovácké podoblasti, ročník 2015. Nejvyšší naměřená hodnota pro tyramin 34,6 mg.l⁻¹ byla detekována u vzorku Rulandské bílé z velkopavlovické podoblasti, ročník 2013. Dle poznatků z literatury je obsah histaminu i tyraminu ve vzorcích bílých vín z oblasti Morava považován za bezpečný pro spotřebitele. Nejvyšší množství fenylethylaminu bylo 6,5 mg.l⁻¹, a to ve vzorku Ryzlink vlašský z podoblasti slovácké, ročník 2013. Ve srovnání s dostupnou literaturou je tento obsah vyšší než doporučená toxická dávka fenylethylaminu ve víně (3 mg.l⁻¹). Dle dostupné literatury by se při hodnocení toxických účinků biogenních aminů mělo vzít v úvahu množství potravin, koncentrace celkových biogenních aminů, konzumace alkoholu či léků a také společná konzumace rizikových potravin. Víno bývá velmi často konzumováno společně se sýry, které taktéž patří k potravinám s významným množstvím biogenních aminů (Buňková et al., 2013, Schrenk, 2012). Z těchto důvodů by se měl obsah biogenních aminů ve víně sledovat (Sessa, 1984, Lonvaud-Funel, 2001).

Tabulka 1: Rozmezí jednotlivých BA a průměrná hodnota množství daného BA ve vzorcích bílých vín z oblasti Morava

Jednotlivé BA	Rozmezí BA (mg.l ⁻¹)	Medián (mg.l ⁻¹)
HIM	0,7 – 4,5	1,8
TYM	0,1 – 34,6	2,2
PUT	0,7 – 30,4	2,7
CAD	0,4 – 3,1	0,8
PEA	0,1 – 6,5	1,3
SPD	0,1 – 3,5	1,2
SPN	1,0 – 12,9	4,3
Celkový obsah BA	ND – 36,2	8,1

BA = biogenní aminy; **HIM** = histamin; **TYM** = tyramin, **PUT** = putrescin; **CAD** = kadaverin; **PEA** = fenylethylamin; **SPD** = spermidin; **SPN** = spermin; ND = nedetekovatelné množství

Závěr

Z dosažených výsledků vyplývá, že biogenní aminy se ve vzorcích bílého vína z oblasti Morava vyskytovaly, kromě fenylethylaminu, v koncentracích, které lze vyhodnotit jako bezpečné pro zdravého konzumenta. Avšak sledování obsahu biogenních aminů ve víně je nutné především z hlediska jeho společné konzumace s jinými potravinami obsahujícími významná množství těchto látek.

Literatura

- Buňková, L. et al. Monitoring of biogenic amines in cheeses manufactured at small-scale farms and in fermented dairy products in the Czech Republic. *Food Chem.*, 2013, vol. 141, p. 548-551.
- Česká Republika. Vyhláška č. 298/1997 Sb. ze dne 12. prosince 1997, o chemických požadavcích na zdravotní nezávadnost jednotlivých druhů potravin a potravinových surovin. In Sběrka zákonů, 1997, č. 298, s. 5474-5800.
- Dadáková, E. et al. Determination of biogenic amines in foods using ultra-performance liquid chromatography (UPLC). *Food chemistry*, 2009, vol. 116, p. 365-370.
- Forsythe, W. L. et al. Two controlled trials of tyramine in children with migraine. *Dev. Med. Child. Neurol.*, 1974, vol. 16, p. 794-799.
- Halász, A. et al. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends in Food Science and Technology*, 1994, vol. 5, p. 42-49.
- Chu, C. H. et al. Effects of diamines, polyamines and tuna fish extracts on the binding of histamine to mucin in vitro. *J. Food Sci.*, 1981, vol. 47, p. 79.
- Lehtonen, P. Determination of amines and aminoacids in wine. A review. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1996, vol. 47, p. 127-133.
- Lehtonen P. et al. Determination of wine amines by HPLC using automated precolumn derivatisation with o-phthalaldehyde and fluorescence detection. *Zeitschrift Lebens. Unters. Forschung*, 1992, vol. 194, p. 434-437.
- Lonvaud-Funel, A. Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Letters*, 2001, vol. 199, p. 9-13.
- Maynard, L. S. et al. Monoamine-oxidase inhibition by ethanol in vitro. *Nature*, 1996, vol. 196, p. 575-576.
- Ough, C. S. et al. Quantitative determination of volatile amines in grapes and wines. I. Effect of fermentation and storage temperature on amine concentrations. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1981, vol. 32, p. 185-188.
- Radler, F. et al. Histamine and other amines in wines. In: Rantz, J. Ed. *Proceedings of the international symposium on nitrogen in grapes and wine*. Davis, CA: American Society for Enology and Viticulture, 185-195.
- Sattler, J. et al. Inhibition of human and canine diamine oxidase by drugs used in intensive care unit: relevance for clinical side effects?. *Agents Actions*, 1985, vol. 16, p. 91-94.
- Sessa, A. et al. Effect of acute ethanol administration on diamine oxidase activity on the upper gastrointestinal tract of rat. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, 1984, vol. 8, p. 185-190.
- Schrenk, D. *Chemical contaminants and residues in food*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2012. ISBN 978-085709-058-4.

Silla Santos, M. H. Biogenic amines: their importance in foods. *Food Microbiol.*, 1996, vol. 29, p. 213-231.

Soufleros, E. et al. Correlation between the content of biogenic amines and other wine compounds. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1998, vol. 49, p. 266-278.

Soufleros, E. H. et al. Determination of biogenic amines in Greek wines by HPLC and ultraviolet detection after dansylation and examination of factors affecting their presence and concentration. *Food Chem.*, 2007, vol. 101, p. 704-716.

ten Brink, B. et al. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 1990, vol. 11, p. 73-84.

Kontakní adresa:

Ing. Zuzana Míšková, Ph.D.

UTB ve Zlíně, Fakulta Technologická, Ústav technologie potravin, Růmy 4046, 760 01 Zlín.

E-mail: miskova@ft.utb.cz

Vliv pasterace na přežívání bakterií *Escherichia coli* O157:H7 v mléce *Pasteurization effect on survival of Escherichia coli O157: H7 in milk*

Necidová, L., Bursová, Š., Svobodová, D.
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Prováděná studie byla zaměřena na hodnocení účinku pasteračních teplot na devitalizaci bakterií *E. coli* O157:H7 v mléce. Cílem studie bylo posoudit vliv pasteračních teplot 57 °C, 63 °C, 68 °C a 72 °C, které vycházejí z požadavků platné legislativy, na devitalizaci uvedené patogenní bakterie. K detekci *E. coli* O157:H7 byla využita imunofluorescenční metoda (ELFA) s využitím přístroje miniVIDAS® a metoda imunomagnetické separace (IMS). Výsledky obou metod byly srovnány. Vzorky mléka byly inokulovány bakteriím kmenem *E. coli* O157:H7 (CCM 4787) v množství přibližně 10^2 KTJ.ml⁻¹ a následně tepelně ošetřeny. Metodou ELFA nebyla po provedení pasterace 57 °C/15 s, 68 °C/15 s, 63 °C/30 minut a 72 °C/15 s detekována ani v jednom ze vzorků mléka bakterie *E. coli* O157:H7, kdežto při použití metody IMS byla prokázána přítomnost těchto bakterií u vzorků mléka po pasteraci 57 °C/15 s a 68 °C/15 s. Výsledky potvrzují vyšší citlivost metody IMS, která je pro detekci *E. coli* O157:H7 používána jako metoda referenční. Studie potvrdila, že šetrná pasterace (72 °C/15 s) a dlouhodobá pasterace (63 °C/30 min), používané k ošetření mléka v souladu s požadavky legislativy (Nařízení (ES) č. 853/2004), zajistí z hlediska výskytu patogenní bakterie *E. coli* O157:H7 bezpečnost potravin.

Klíčová slova: STEC, ELFA, imunomagnetická separace

Abstract

Our study focuses on assessing the effects of milk pasteurization temperatures on devitalization *E. coli* O157:H7. We evaluated pasteurization effects at 57 °C, 63 °C, 68 °C, and 72 °C, based on requirements of applicable legislation for devitalization of pathogenic bacterium. For detection of *E. coli* O157:H7 we used the immunofluorescent method (ELFA) with miniVIDAS® and immunomagnetic separation (IMS). We compared results of both methods. Milk samples were inoculated with approximately 10^2 KTJ.ml⁻¹ *E. coli* O157: H7 (CCM 4787) and then heat treated. *E. coli* O157:H7 bacteria were not detected with ELFA after pasteurization at 57 °C/15 s, 68 °C/15 s, 63 °C/30 minutes, and 72 °C/15 s, however the IMS actually detected *E. coli* O157:H7 bacteria in milk samples after pasteurization 57 °C/15 s and 68 °C/15 s. Our results confirm superior IMS sensitivity as a referent method for *E. coli* O157:H7 detection. We confirmed that minimum pasteurization 72 °C/15 s or 63 °C/30 minutes, used in the treatment of milk in accordance with legislative requirements (Regulation EC No. 853/2004) inactivated pathogenic bacteria *E. coli* O157:H7, thus ensuring food safety.

Úvod

Většina bakterií *Escherichia coli* je neškodných, v potravinářském průmyslu se využívá jejich stanovení jako indikátorů fekálního znečištění a porušení hygieny při výrobě a zpracování potravin. Nicméně, existují patogenní sérotypy *E. coli* způsobující závažná onemocnění: gastroenteritidy, dyzenterie, hemolyticko-uremický syndrom, infekce močového traktu, septikémie, pneumonie a meningitidy. Z hlediska výskytu v mléce je to např. *E. coli* O157:H7, náležící do skupiny Shigatoxin produkujících *E. coli* (STEC) a jejich podskupiny enterohemorhagických *E. coli* (EHEC). Spolehlivou ochranou před kontaminací STEC je dostatečná úroveň hygieny a dobrý sanitační režim při dojení, používání pitné vody a správné tepelné ošetření syrového mléka a masa.

Cílem studie bylo hodnocení účinku pasteračních teplot 57 °C, 63 °C, 68 °C a 72 °C na devitalizaci bakterií *E. coli* O157:H7 v mléce. K detekci *E. coli* O157:H7 byla využita imunofluorescenční metoda ELFA s využitím přístroje miniVIDAS® a metoda imunomagnetické separace. Výsledky obou metod byly srovnány a byla posouzena jejich citlivost.

Materiál a metodika

Příprava modelových vzorků

Mléko použité pro modelové vzorky pocházelo z tržní sítě (Jihočeské mléko trvanlivé UHT, výrobce Madeta, tuk 1,5 %). K zaočkování byla použita 24 hodinová kultura kmene *E. coli* O157:H7 (CCM 4787; Česká sbírka mikroorganismů, Brno) po kultivaci na krevním agaru (37 °C, aerobně). Mléko zaočkované na hodnotu přibližně 10^2 KTJ.ml⁻¹ bylo rozplněno do zkumavek v množství 10 ml. Pro každé tepelné opracování bylo použito 5 paralelních vzorků, pětice vzorků byla testována na přítomnost *E. coli* O157:H7 před tepelným opracováním. Pro tepelné opracování byly použity následující teploty a časy: 57 °C/15 s, 68 °C/15 s, 63 °C/30 minut a 72 °C/15 s. Pasterace byla provedena ve vodní lázni. Kontrola dosažené teploty v celém objemu tepelně opracovaného vzorku byla prováděna teploměrem vloženým do mléka v kontrolní zkumavce. Po tepelném opracování byly zkumavky ihned zchlazeny. Následně byla na všech vzorcích provedena detekce *E. coli* O157 metodou ELFA a IMS.

Imunofluorescenční metoda (ELFA)

Pro stanovení byl použit komerční vyšetřovací set VIDAS® UP ECPT (bioMérieux, Marcy l'Étoile, France). Testované vzorky (500 µl) byly aplikovány do jamky reagenčního stripu a spolu se špičkou (SPR®) vloženy do přístroje miniVIDAS®. Průběh celé analýzy a měření výsledné fluorescence byl automatický včetně vytištění výsledků (pozitivní/negativní).

Metoda imunomagnetické separace (IMS)

Imunomagnetická separace je v případě průkazu bakterií *E. coli* O157:H7 metodou referenční a byla prováděna v souladu s požadavky ČSN ISO 16654 (2002). Byl použit magnetický separátor Dynal MPC-M a magnetické částice Dynabeads anti-*E. coli* O157 (Invitrogen, Carlsbad, Kalifornie, USA). Vyočkování obsahu mikrozkušavky bylo provedeno na povrch dvou chromogenních médií (inkubace: 37 °C/24 hodin/aerobně). Za pozitivní výsledek byl považován nárůst typických kolonií: průhledných, bezbarvých o průměru 1 mm (SMAC s BCIG) (Oxoid, UK) a modročerných koloniích se zónou precipitace (RAPID`*E. coli* O157:H7) (Bio-Rad, France).

Výsledky a diskuze

Výsledky analýz vzorků s bakteriemi *E. coli* O157:H7 pasterovaných při 57 °C/15 s a 68 °C/15 s u jednotlivých metod lišily a potvrdily, že referenční metoda IMS je citlivější (Tabulky 1 a 2). Předností metody ELFA nicméně zůstává možnost rychlejšího získání výsledků (již za 17 hod) oproti IMS metodě (48 hod). Pasterace mléka při 72 °C po dobu 16,2 sekund kmeny O157:H7 spolehlivě inaktivuje. Několik studií prokázalo, že u *E. coli* O157: H7 dochází k inaktivaci i při nižší pasterační teplotě (64,5 °C) po dobu 16,2 s (D'Aoust et al., 1988). Podle Stringera et al. (2000) je počet buněk uvedeného sérotypu snížen teplotou 70 °C po dobu 2 min o 6 logaritmických řádů. Spano et al. (2003) uvádí, že tepelné opracování 80 °C po dobu 5 minut při výrobě Mozzareilly inaktivuje STEC. Účinek sub-pasteračního tepelného ošetření mléka však může u bakterií STEC indukovat vznik adaptivní reakce (Usajewicz and Nalepa, 2006). Také při vyšším obsahu tuku v mléce mohou být bakterie STEC během tepelného opracování chráněny molekulami tuku (Erickson and Doyle, 2007).

Tabulka 1: Průkaz bakterií *E. coli* O157:H7 imunofluorescenční metodou (ELFA) před a po tepelném opracování mléka

Vzorek číslo	1		2		3		4		5	
Před pasterací	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
57 °C / 15 s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
68 °C / 15 s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72 °C / 15 s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63 °C / 30min	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabulka 2: Průkaz bakterií *E. coli* O157:H7 metodou imunomagnetické separace (IMS) s vyočkováním na agar SMAC s BCIG (A) a RAPID`*E. coli* O157:H7 (B) před a po tepelném opracování mléka

Vzorek číslo	1		2		3		4		5	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Před pasterací	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
57 °C / 15 s	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
68 °C / 15 s	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
72 °C / 15 s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63 °C / 30min	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Závěr

Rizikové z hlediska výskytu patogenních sérotypů *E. coli* jsou zejména produkty bovinního původu (maso, mléko). V případě mléka jde především o nepasterované mléko a výrobky z něj nebo produkty kontaminované po pasteraci, případně jde o důsledek nedostatečného tepelného opracování. Šetrná pasterace (72 °C/15 s) a dlouhodobá pasterace (63 °C/30 min), které se používají k ošetření mléka v souladu s požadavky legislativy (Nařízení (ES) č. 853/2004), patogenní bakterie *E. coli* O157:H7 v mléce spolehlivě inaktivují. Imunomagnetická separace se ukázala být citlivější než metoda imunofluorescenční.

Literatura

- BETTS, C. D. Controlling *E. coli* O157:H7. *Nutrition and Food Science*, 2000, vol. 30, p. 183–186.
- BHUNIA, A. K. *Foodborne microbial pathogens. Mechanisms and pathogenesis*. 1st ed. New York, USA: Springer Science+Business Media, LLC. 2008. 276 p. ISBN 978-0-387-74536-7
- ČSN EN ISO 16654. Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda průkazu *Escherichia coli* O15. Český normalizační institut, 2002.
- D'AOUST, J. Y., PARK, C. E., SZABO, R. A., TODD, E. C. D. Thermal inactivation of *Campylobacter* species, *Yersinia enterocolitica*, and hemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in fluid milk. *Journal of Dairy Science*, 1988, vol. 71, p. 3226–3230.
- EFSA (European Food Safety Authority). Technical specifications for the monitoring and reporting of verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) on animals and food (VTEC surveys on animals and food) on request of EFSA. *The EFSA Journal*, 2009, vol. 7, p. 1366–1409.
- ERICKSON, M. C., DOYLE, M. P. Food as a vehicle for transmission of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Journal of Food Protection*, 2007, vol. 70, p. 2426–2449.
- FARROKH, CH., JORDAN, K., AUVRAY, F., GLASS, K., OPPEGAARD, H., RAYNAUD, S., THEVENOT, D., CONDRON, R., DE REU, K., GOVARIS, A., HEGGUM, K., HEYNDRICKX, M., HUMMERJOHANN, J., LINDSAY, D., MISZCZYCHA, S., MOUSSIEGT, S., VERSTRAETE, K., CERF, O. Review of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and their significance in dairy production. *International Journal of Food Microbiology*, 2013, vol. 162, p. 190–212.
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu. *Úřední věstník 2004*; L 139: 55–205.
- SPANO, G., GOFFREDO, E., BENEDEUCE, L., TARANTINO, D., DUPUY, S., MASSA, S. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture of Mozzarella cheese. *Letters in Applied Microbiology*, 2003, vol. 36, p. 73–76.
- USAJEWICZ, I., NALEPA, B. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in milk exposed to high temperatures and high pressure. *Food Technology and Biotechnology*, 2006, vol. 44, p. 33–39.
- STRINGER, S. C., GEORGE, S. M., PECK, M. W. Thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7. *Journal Applied Microbiology*, 2000, vol. 29, p. 79S–89S.
- WEERATNA, R. D, DOYLE, M. P. Detection and production of verotoxin 1 of *Escherichia coli* O157:H7 in food. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, p. 2951–295.

Poděkování

Práce vznikla za finanční podpory IGA VFU Brno č. 213/2016/FVHE.

Kontaktní adresa:

MVDr. Lenka Necidová, Ph.D.

Ústav hygieny a technologie mléka, FVHE VFU Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno.

E-mail: necidoval@vfucz

Metody stanovení antioxidantní kapacity vína

Methods for determination of antioxidant capacity of wine

Nekvapil, T., Hostovský, M.

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Antioxidantní kapacita vína je dána jeho celkovou schopností eliminovat volné radikály a zabraňovat tak jejich škodlivému účinku. Tato schopnost je určena obsahem antioxidantů, ke kterým ve víně nejčastěji patří polyfenoly. Díky jejich vysokému obsahu, zejména ve víně červeném, má víno příznivý účinek na lidské zdraví. Cílem práce bylo shromáždit informace o nejčastěji používaných metodikách pro stanovení antioxidantní kapacity vína a nových poznatcích, jakým směrem se výzkum v této oblasti ubírá.

Klíčová slova: DPPH, ABTS, FRAP, ORAC, PCL, víno, Trolox

Abstract

The antioxidant capacity of wine is determined by its overall ability to eliminate free radicals and thus prevent their harmful effects. This ability is determined by the content of antioxidants, which most often include polyphenols. Thanks to their high content, especially in red wine, the wine has a beneficial effect on human health. The aim was to gather information on the methodologies most commonly used to determine the antioxidant capacity of wine, and new findings, what direction is progressing research in this area.

Úvod

Epidemiologické studie prokázaly, že víno patří k potravinám, které mají příznivé účinky na lidské zdraví, zejména z pohledu snížení rizika vzniku kardiovaskulárních onemocnění nebo aterosklerózy (Garaguso and Martini, 2015). To je dáno zejména obsahem antioxidantů, tj. látek, které zabraňují nežádoucím reakcím volných radikálů jejich vychytáním. Tím poskytují antioxidanty buněčným strukturám ochranu. Celková schopnost vína (respektive potravin či organismu obecně) vychytávat tyto škodlivé volné radikály se označuje termínem antioxidantní kapacita (Mandelker, 2009).

K látkám s antioxidantním účinkem ve víně patří zejména polyfenolické sloučeniny (Hogan et al., 2009). Bílé víno má na rozdíl od vína červeného pouze minimální množství polyfenolů. To se odráží i v celkové antioxidantní kapacitě, která je výrazně vyšší u vína červeného. Červené víno je také zdrojem biogenních aminů, jako je histamin, putrescin a kadaverin (Marques et al. 2008).

Mezi metody, které se nejčastěji používají pro stanovení antioxidantní kapacity vína, patří fotometrické metody (DPPH, ABTS, FRAP, ORAC) a také metoda luminiscenční (PCL).

Metoda DPPH

Tato metoda patří do skupiny analytických metod, které hodnotí eliminaci syntetických radikálů. Vzorek reaguje se stálým radikálem 2,2-difenyl-1-pikryl-hydrazylu a vzniká

radikálový kation DPPH. Při reakci dochází k poklesu absorpce, který se sleduje nejčastěji při 517 nm. Měření je prováděno staticky (po uplynutí určité doby) nebo kineticky. Výsledky jsou vyjádřeny jako ekvivalenty kyseliny askorbové nebo Troloxu (analogu vitamínu E - 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2- karboxylová kyselina) (Paulová et al., 2004) nebo jako procenta inhibice (Prete et al., 2016; Granato et al., 2010). Aganatovic-Kustrin et al. (2016) využili DPPH činidlo v kombinaci s HPTLC (vysoce účinná tenkovrstvá chromatografie).

Metoda ABTS [2,2.-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonát)]

Stejně jako metoda DPPH, také tato metoda patří do skupiny analytických metod hodnotící eliminaci syntetických radikálů. V literatuře bývá také označována jako metoda TEAC (z angl. Trolox Equivalent Antioxidant Capacity). Principem této metody je zhášení radikálového kationtu $ABTS^{+}$, který vzniká oxidací ABTS. Výsledek je srovnáván s antiradikálovou aktivitou Troloxu. Změna absorpčního spektra se hodnotí nejčastěji při 734 nm (Paulová et al., 2004).

Metoda FRAP (Ferric reducing Antioxidant Potential)

Tato metoda patří do skupiny chemických metod založené na hodnocení redoxních vlastností látek. Využívá se schopnosti antioxidantů ve vzorku redukovat železité komplexy (např. Fe^{3+} -TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazin)). Tyto bezbarvé železité komplexy se mění na barevné komplexy železnaté, které se měří spektrofotometricky při vlnové délce 593 nm. Výsledek je vyjádřen jako ekvivalentní množství Troloxu (Paulová et al., 2004).

Metoda ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

Metoda ORAC spadá do skupiny metod hodnotící eliminaci kyslíkových radikálů. Sleduje se schopnost testované látky inhibovat nebo zastavit radikálovou reakci a to sledováním poklesu fluorescence β -fykoerytrinu (β -PE), ke kterému dochází po kontaktu s radikály. Po přidavku generátoru radikálů (AAPH (2,2.-azobis (isobutyrimidamid)-dihydrochlorid)), dochází k vytvoření hydroxylových radikálů, které poškozují fluorescenční látku. Tím dochází ke ztrátě fluorescence. Antioxidanty ale fluorescenční látku před tímto poškozením chrání. Radikál se stanovuje fluorimetricky a je hodnocena rychlost úbytku signálu po přidání testovaného vzorku (Paulová et al., 2004).

Metoda PCL (PhotoChemiLuminiscence)

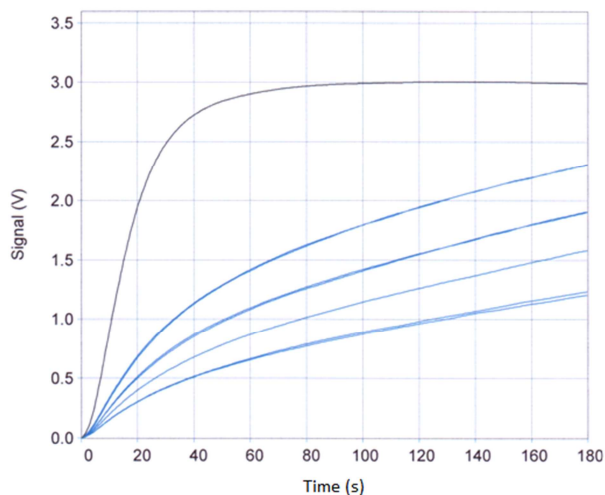
Princip metody je založen na produkci volných radikálů (nejčastěji superoxidového) optickou excitací fotosensitivního roztoku. Tyto radikály jsou eliminovány antioxidanty přítomnými ve vzorku. Nevychytané radikály způsobují luminiscenci, která je detekována a vyjádřena jako antioxidační kapacita vzorku v ekvivalentech standardu (kyseliny askorbové nebo Troloxu). Ke stanovení je využit diagnostický set a přístroj Photochem (Jena AG, Německo) (Nekvapil et al., 2012).

Materiál a metodika

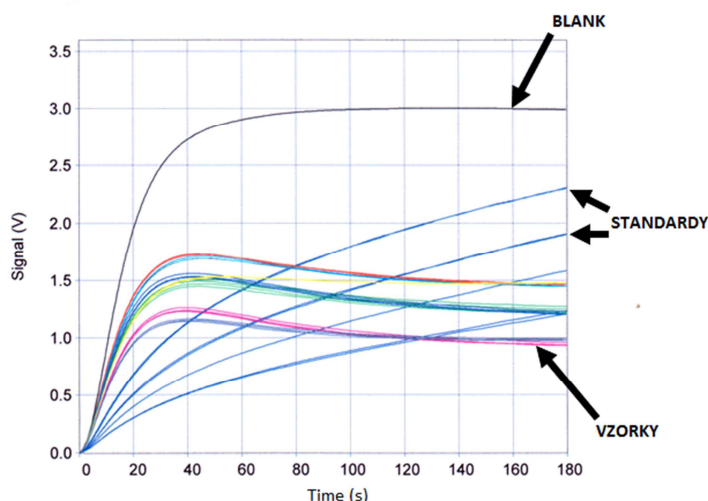
Ke stanovení antioxidační kapacity byly vybrány vzorky červených a bílých vín od vinařů z České republiky a byla využita metoda PCL s měřením pomocí analyzátoru Photochem.

Vzorky byly skladovány v temnu a chladu. Po otevření byly dle potřeby naředěny a ihned analyzovány. Před vlastním měřením byla vytvořena kalibrační přímka Troloxu. Vlastní průběh křivek slepého vzorku (blanku), standardů Troloxu a vzorků je

ukázán na obrázku 1 a 2. Výsledky antioxidační kapacity vzorků byly vyjádřeny jako ekvivalenty Troloxu v mmol/l. Vzorky i standardy byly analyzovány v triplikátech.



Obrázek 1: Průběh křivek standardu Troloxu při kalibraci



Obrázek 2: Průběh křivek vzorků vín

Výsledky a diskuze

Námi zvolenou metodikou jsme prokázali vyšší antioxidační kapacitu u vzorků červených vín (7,81–15,02 mmol/l) než u vín bílých (0,293–1,75 mmol/l). Naše výsledky se shodují s výsledky Ivanova-Petropulos et al. (2015), kteří metodou DPPH stanovili antioxidační kapacitu u červených makedonských vín v rozmezí $10,3 \pm 0,46$ – $13,3$ mmol Trolox/l. V červeném víně je obsah antioxidantů epikatechinu a kvercetinu až desetkrát vyšší než ve víně bílém. To souvisí s technologií zpracování červeného vína, při kterém dochází k intenzivnímu vyluhování červených barviv ze slupek, ale zároveň se vyluhují i polyfenolické látky (zejména flavonoidy), jejichž hlavním zdrojem

jsou právě slupky hroznových bobulí (Lingua et al., 2016). K dalším vlivům ovlivňující obsah polyfenolů a tím i antioxidační kapacitu patří kromě technologie zpracování také odrůda a zeměpisná poloha (Mulero et al., 2011).

Stanovení antioxidační kapacity vína je stále aktuální problematikou. K vlastnímu stanovení a jeho porovnání s obsahem polyfenolů, na kterém antioxidační kapacita velmi záleží, se přidávají další analýzy, například stanovení biogenních aminů ve víně. Tím se zabývali i Preti et al. (2016), kteří stanovovali antioxidační vlastnosti italských vín různých cenových kategorií metodou DPPH. Antioxidační kapacitu vyjádřili v procentech inhibice a u vín nízké cenové kategorie stanovili 10,34-42,46 % a u vín dražších pak 28,99-49,48 %. Autoři také stanovili zvýšený obsah putrescinu (10,71 mg/l) a kadaverinu (3,23 mg/l). U vín nižší cenové třídy byla antioxidační kapacita nižší, ale zvýšený obsah histaminu (1,02 mg/l).

Antioxidační kapacita vína závisí také na technologii výroby. Stanovením antioxidační kapacity „od hroznu po víno“ se zabývali Lingua et al. (2016). Sledovali závislost obsahu polyfenolů na antioxidační kapacitě červených vín v různých stádiích procesu výroby vína. Prokázali, že po vylisování vína je antioxidační kapacita nejvyšší (vyšší než v hroznech samotných), alkoholovou fermentací klesá a finální stabilizací opět roste. Ke stanovení antioxidační kapacity využili tři různé metody FRAP, ABTS, DPPH. Nejvyšších hodnot dosahovali metodou ABTS (výlisky 12,8-27,4 mmol Trolox/100g) a nejnižších hodnot metodou FRAP (výlisky 7,3-11,4 mmol Trolox/100g. Ve finálním víně po stabilizaci se hodnoty pohybovali mezi 8,2-9,0 mmol/l (FRAP), 11,9-12,8 mmol/l (DPPH) a 14,1-18,5 mmol/l (ABTS). Výsledky se lišily dle procesu zpracování, odrůdy a obsahu polyfenolů. Tyto výsledky potvrzují námi naměřené hodnoty u červeného vína.

Kromě odrůdy, technologie zpracování, místa zrání apod. je možné ovlivnit antioxidační kapacitu u vína mykorrhizní symbiózou. Tím se nově zabývali Gabriele et al. (2016). Sledovali ovlivnění obsahu polyfenolů a s tím spojené antioxidační kapacity pomocí mykorrhizní symbiózy červeného italského vína Sangiovese. Porovnávali mezi sebou vína symbiotická a konvenční. Pro stanovení antioxidační kapacity byla využita metoda ORAC. Výsledky ukázaly, že symbiotické vína měli sice vyšší oxidační stabilitu a významně vyšší obsah bioaktivních látek ve srovnání s konvenčními, v hodnotách antioxidační kapacity se ale obě skupiny nelišily (konvenční vína 35,5-36 a symbiotická vína 35,5-36,3 mmol Trolox/l). Červené krvinky ošetřené symbiotickým vínem vykazovaly vyšší biologickou aktivitu (buněčnou antioxidační aktivitu a anti hemolytickou aktivitu) než krvinky ošetřené vínem konvenčním.

Negativně mohou ovlivnit antioxidační kapacitu například použité fungicidy. Mullero et al. (2015) sledovali závislosti mezi použitými fungicidy a obsahem polyfenolů (společně s antioxidační kapacitou) a prokázali nejvýraznější účinek fungicidů famaxodon a kresoxim-methyl na obsah polyfenolů a fungicidu kresoxim-methyl na antioxidační kapacitu. Ta byla stanovena metodou DPPH a pohybovala se v rozmezí 4,2-5,2 mmol Trolox/ml.

Spojením metody DPPH a HPTLC vytvořili Aganatovic-Kustrin et al. (2016) metodiku s cílem rychlého vyhodnocení obsahu celkových polyfenolů a jejich vztahu k celkové antioxidační kapacitě vín. Principem metody je nanesení skvrn vzorků vín na chromatografickou desku, její promývání a následné postříkání roztokem DPPH

s detekcí pod UV světlem Vlastní antioxidační kapacitu u vín stanovovali pomocí metody ABTS. U červených vín dosáhli výsledků 173-215 mg Trolox/l.

Metodiky DPPH a ORAC využili ke stanovení antioxidační kapacity v červeném i bílém víně (česká a gruzínská vína) Tauchen et al.(2015). Jejich výsledky se pohybovali v rozmezí 1,88-8,59 g Trolox/l pro červená vína metodou DPPH. V bílých vínech stejnou metodou stanovili hodnoty 0,06-2,90 g Trolox/l. Hodnoty u metody ORAC byly vyšší – pro červené víno 6,70-12,14 g Trolox/l a pro bílé víno 0,48-4,01 g Trolox/l.

Závěr

Stanovení antioxidační kapacity vína je stále aktuální problematikou. Výzkum se ale postupně rozšiřuje dále a to na i možnosti jejího ovlivnění jak z hlediska kvality a kvantity, tak i ve smyslu pozitivním a negativním ovlivněním. Autoři se zabývají porovnáváním antioxidační kapacity s čím dál více širším obsahem polyfenolů, zkoumají současně obsah biogenních aminů a vliv mykorrhizní symbiózy případně použitých fungicidů na antioxidační vlastnosti vín. Pro stanovení antioxidační kapacity vína je možné využít několik nejdostupnějších metodik, které často ale vyjadřují své výsledky v různých jednotkách. Pro vzájemné porovnání by tak bylo vhodné tyto jednotky ujednotit.

Literatura

- Agatonovic-Kustrin, S., Morton, W.D., Yusof, A.P. (2016). Development and validation of a simple high performance thin layer chromatography method combined with direct 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl assay to quantify free radical scavenging activity in wine. *Food Chem*, 197: 285–290.
- Debebe, A., Chandravanshi, B.S., Redi-Abshiro, M. (2016). Total contents of phenolics, flavonoids, tannins and antioxidant capacity of selected traditional Ethiopian alcoholic beverages. *Chemical Society of Ethiopia*, 30:27-37.
- Gabriele, M., Gerardi, Ch., Longo, V., Lucejko, J., Degano, I., Pucci, L., Domenici, V. (2016). The impact of mycorrhizal fungi on Sangiovese red wine production: Phenolic compounds and antioxidant properties. *LWT - Food Sci Technol*, 72: 310-316.
- Garaguso, I., Nardini, M. (2015). Polyphenols content, phenolics profile and antioxidant activity of organic red wines produced without sulfur dioxide/sulfites addition in comparison to conventional red wines. *Food Chem*, 179: 336-342.
- Granato, D., Castro, I., Katayama, F. (2010). Assessing the association between phenolic compounds and the antioxidant activity of Brazilian red wines using chemometrics. *LWT – Food Sci Technol*, 43: 1542–1549.
- Hogan, S., Zhnag, L., Li, J., Zoeklein, B., Zhou, K. (2009). Antioxidant properties and bioactive components of Norton (*Vitis aestivalis*) and Cabernet franc (*Vitis vinifera*) wine grapes. *LWT – Food Sci Technol*, 42: 1269-1274.
- Ivanova-Petropulos, V., Hermosín-Gutiérrez, I., Boros, B., Stefova, M., Stafilov, T., Vojnoski, B., Dornyei, Á., Kilár, F. (2015). Phenolic compounds and antioxidant activity of Macedonian red wines. *J Food Compos Anal*, 41:1–14.
- Lingua, M.S., Fabani, M.P., Wunderlin, D.A., Baroni, M.V. (2016). From grape to wine: Changes in phenolic composition and its influence on antioxidant activity. *Food Chem*, 208: 228–238.

- Lu, Q.I., Lee, R.P., Huang, J., Yang, J., Henning, S.M., Hong, X., Heber, D., Li, Z. (2015). Quantification of bioactive constituents and antioxidant activity of Chinese yellow wine. *J Food Compos Anal*, 44: 86–92.
- Mandelker, L. (2009). Oxidační stres: role mitochondrií, volných radikálů a antioxidantů. Praha: Pierot, 220 s. ISBN 978-80-7353-135-5.
- Marques, A., Leitao, M., San Romao, M. (2008). Biogenic amines in wines: influence of oenological factors. *Food Chem*, 107: 853–860.
- Mulero, J., Martínez, G., Oliva, J., Cermeño, J., Cayuela, J.M., Zafrilla, P., Martínez-Cachá, A., Barba, A. (2015). Phenolic compounds and antioxidant activity of red wine made from grapes treated with different fungicides. *Food Chem*, 180: 25–31.
- Nekvapil, T., Kopriva, V., Boudny, V., Hostovsky, M., Dvorak, P., Malota, L. (2012). Decrease in the Antioxidant Capacity in Beverages Containing Tea Extracts during Storage. *The Scientific World Journal*, Article ID 361698, 5 pages.
- Paulová, H., Bochořáková, H., Táborská, E. (2004). Metody stanovení antioxidantní aktivity přírodních látek *in vitro*. *Chem Listy*, 98:174-179.
- Preti, R., Vieri, S., Vinci, G. (2016). Biogenic amine profiles and antioxidant properties of Italian red wines from different price categories. *J Food Compos Anal*, 46: 7–14.
- Tauchen, J., Marsik, P., Kvasnicova, M., Maghradze, D., Kokoska, L., Vanek, T., Landa, P. (2015). In vitro antioxidant activity and phenolic composition of Georgian, Central and West European wines. *J Food Compos Anal*, 41:113–121.

Kontaktní adresa:

MVDr. Tomáš Nekvapil, Ph.D.

VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav ochrany zvířat, welfare a etologie, Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno.

E-mail: nekvapilt@vfu.cz

Identifikace *Helicobacter* spp. s využitím metody sekvenování

Identification of Helicobacter spp. by partial gene sequencing

Nesvadbová, M., Bořilová, G., Vávra, M., Fašiangová, M.
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Gastrointestinální mikroflóra je hlavním zdrojem stimulace imunitního systému. Střevní mikroflóra hraje klíčovou úlohu v etiopatogenezi celé řady gastrointestinálních onemocnění. Z hlediska mikroorganismů majících možný vliv na vznik chronických zánětlivých střevních onemocnění je věnována pozornost zejména *Campylobacter* spp., *Helicobacter* spp., *E. coli*, *Yersinia enterocolitica* a *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. Některé studie potvrzují vyšší výskyt těchto mikroorganismů ve feces humánních pacientů ve srovnání s běžnou zdravou populací (Andoh *et al.*, 2012). *H. canis*, *H. felis*, *H. heilmannii* a *H. billis* spolu s dalšími druhy jsou schopny přirozeně kolonizovat gastrointestinální trakt psů, koček; další druhy (*H. pullorum*, *H. canadensis*) běžně kolonizují trávicí trakt domestikovaných ptáků. Tyto druhy jsou zároveň spojovány se střevními onemocněními u lidí. Zoonotický potenciál *Helicobacter* spp. potvrzuje řada studií, které zároveň dokumentují genetickou podobnost mezi kmeny izolovanými z psů a humánními izoláty z pacientů s chronickým onemocněním trávicího traktu (Haesebrouck, 2009). Metoda sekvenování významně zpřesňuje a zrychluje schopnost identifikace a charakterizace výše uvedených zoonotických patogenů.

Klíčová slova: *psi*, *Helicobacter*, DNA sekvence

Abstract

The main importance of the GT microflora is immune system stimulation. Intestinal flora plays a key role in ethiopathogenesis of many gastrointestinal diseases. Of many microorganisms which may origin chronic inflammatory intestine diseases close attention is payed to *Campylobacter* spp., *Helicobacter* spp., *E. coli*, *Yersinia enterocolitica* and *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. Some studies confirm higher incidence of these microorganisms in the feces of human patients as compared with normal healthy population (Andoh *et al.*, 2012). *H. canis*, *H. felis*, *H. heilmannii* a *H. billis* may colonize together with other species gastrointestinal tract of dogs and cats; other species (*H. pullorum*, *H. canadensis*) commonly colonize GT of domesticated birds. These species are also associated with intestinal diseases in humans. Zoonotic potential of *Helicobacter* spp. is confirmed by a number of studies, which also documented the genetic similarity between strains isolated from dogs and human isolates from patients with chronic diseases of the gastrointestinal tract (Haesebrouck, 2009). DNA sequencing technology have greatly enhanced the ability of the identification and characterization of bacterial pathogens.

Úvod

Helicobacter je bakterie s prokázaným zoonotickým potenciálem, která je v posledních letech dávána do souvislostí s řadou závažných chronických gastrointestinálních onemocnění (např. Inflammatory Bowel Disease, Crohnova choroba). Rod *Helicobacter* zahrnuje 36 fylogeneticky definovaných druhů, které lze rozdělit dle výskytu na druhy žaludeční a enterohepatické. U psů byla přítomnost *Helicobacter* spp. zjištěna v různých částech gastrointestinálního traktu, a to v dutině ústní, v žaludku, ve střevě a v hepatobiliárním systému a byly detekovány následující druhy: *H. canis*, *H. bizzozeronii*, *H. bilis*, *H. felis*, *H. salomonis* a *H. pylori* (Arfae *et al.*, 2014). U drůbeže byl prokázán výskyt *Helicobacter pullorum* (Stanley *et al.*, 1994) a *Helicobacter canadensis* (Fox *et al.*, 2000). Mikrobiologická kultivace a identifikace těchto patogenů je pro jejich specifické růstové požadavky a vysokou citlivost náročná. Proto je efektivní využívat k detekci a identifikaci také metody molekulární genetiky. Molekulární genetika nabízí v současné době řadu metod, které umožňují detekci a identifikaci řady patogenů (např. DNA hybridizace, specifická PCR, PCR-RFLP, real-time PCR, sekvenování) a každá z nich má své přednosti, ale i omezení. Metoda sekvenování vybraného úseku DNA je, na rozdíl od výše zmíněných metod, metoda časově a finančně náročná, ale jednoznačně nejpřesnější (Srinivasan *et al.*, 2015), jelikož díky znalosti sekvence DNA dovoluje přesnou identifikaci daného patogena. Tato práce je zaměřena na optimalizaci a zavedení sekvenační reakce pro přesnou druhovou identifikaci *Helicobacter* spp. v klinických vzorcích získaných ze symptomatických i zdravých psů a drůbeže. V současné době je k identifikaci bakterií pomocí molekulárně-genetických metod používán gen *16S rRNA*. Avšak sekvenování tohoto genu u *Helicobacter* spp. není pro identifikaci příliš vhodné kvůli nízké variabilitě sekvencí mezi jednotlivými druhy, a proto je vhodné nalézt jiné geny (Drancourt & Raoult, 2002).

Materiál a metodika

Pro účely této studie bylo testováno 134 vzorků faeces ze psů s klinickými příznaky gastrointestinálních onemocnění (před zahájením antibiotické léčby) a 76 vzorků obsahů slepých střev brojlerových kuřat. Izolace DNA ze vzorků byla provedena pomocí kitu High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche). Detekce *Helicobacter* spp. byla provedena kultivačně dle Manfreda *et al.*, 2006 s následnou PCR detekcí (Fox *et al.*, 2000). *Helicobacter* pozitivní vzorky (n = 63) byly dále podrobeny identifikaci pomocí sekvenování. Primery pro PCR a sekvenování byly navrženy podle dostupných sekvencí (AQFW01000015.1, AZJJ01000001.1, FQ670179.2, DS990393.1, NC_015674.1, CM000776.2, BASD01000029.1, NZ_CDMI01000047.1, JNOB01000007.1, AE017125.1) pomocí programu OLIGO v4.0 (National Biosciences Inc.) pro identifikaci *H. bilis*, *H. canis*, *H. felis*, *H. cinaedi*, *H. bizzozeronii*, *H. canadensis*, *H. fennelliae*, *H. heilmannii*, *H. pullorum* a *H. hepaticus*. Reakční směs pro PCR o celkovém objemu 25 µl obsahovala přibližně 50 ng DNA, 12,5 µl FastStart PCR Master (Roche) a 0,2 µM přímého (S012F) a zpětného primeru (S012R). PCR produkty byly vizualizovány elektroforeticky na 3% agarózovém gelu. Poté byly přečištěny pomocí High Pure PCR Cleanup Micro Kit (Roche). Pro sekvenační reakci byl použit kit BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kits (Thermo Fisher Scientific). Sekvenační směs byla následně přečištěna pomocí BigDye XTerminator Purification

Kit (Thermo Fisher Scientific) a analyzována v přístroji 3500 Series Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific). Získané sekvence byly vyhodnoceny pomocí programu Sequence Scanner Software v1.0 (Thermo Fisher Scientific) a porovnány pomocí programu ClustalW (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw/index.html#>) a BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Výsledky a diskuze

Tato práce se zabývá identifikací jednotlivých druhů rodu *Helicobacter* pomocí metody sekvenování DNA. Na základě dostupných sekvencí *H. bilis*, *H. canis*, *H. felis*, *H. cinaedi*, *H. bizzozeronii*, *H. canadensis*, *H. fennelliae*, *H. heilmannii*, *H. pullorum* a *H. hepaticus* (AQFW01000015.1, AZJJ01000001.1, FQ670179.2, DS990393.1, NC_015674.1, CM000776.2, BASD01000029.1, NZ_CDMI01000047.1, JNOB01000007.1, AE017125.1) byly vybrány vhodné úseky DNA a navrženy primery pro PCR reakci a následné sekvenování. Pro vývoj a optimalizaci metody byly využity referenční kmeny výše zmíněných druhů *Helicobacter*. Specifita primerů byla ověřena PCR amplifikací DNA z dalších bakterií rodu *Campylobacter*, *Escherichia*, *Listeria*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Rhodococcus*, *Yersinia*, *Salmonella*, *Arcobacter*). Výsledky testování navržených primerů prokázaly, že nově navržené primery jsou druhově specifické pro cílenou identifikaci vybraných *Helicobacter* spp. Výsledky identifikační analýzy jsou uvedeny v Tabulce 1. Ve feaces z klinicky nemocných psů byla potvrzena přítomnost *H. pullorum*, *H. bilis*, *H. cinaedi* a *H. canis*. Průkaz těchto druhů s využitím metod molekulární genetiky potvrzuje také studie Arfaee *et al.* (2014). U drůbeže byl prokázán výskyt dvou druhů – *H. pullorum* a *H. cinaedi*. Podobné závěry potvrzující výskyt *H. pullorum* ve vysoké míře v trávicím traktu drůbeže uvádějí také Manfreda *et al.* 2011; studie Ceelen *et al.* 2007 zároveň potvrzuje patogenezi *H. pullorum*.

Tabulka 1: Druhová identifikace *Helicobacter* spp. ze vzorků faeces psů a kura domácího pomocí metody sekvenování DNA

	<i>H. pullorum</i>	<i>H. bilis</i>	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. canis</i>	<i>H. canadensis</i>
pes domácí	4	7	20	5	0
drůbež	26	0	0	0	1

Závěr

Na základě výsledků této studie bylo prokázáno, že metoda sekvenování je vhodnou metodou pro rychlou a přesnou identifikaci jednotlivých druhů rodu *Helicobacter* izolovaných z vybraných klinických vzorků. Metoda umožnila detekovat ve faeces psů přítomnost *H. pullorum*, *H. bilis*, *H. cinaedi* a *H. canis* a *H. pullorum* a *H. cinaedi* u drůbeže. V rámci studia výskytu, patogeneze a virulentních faktorů zoonotických patogenů se metody molekulární genetiky stále více uplatňují jako vhodné aplikace vedle klasických kultivačních a biochemických metod.

Literatura

- Andoh A, Kuzuoka H, Tsujikawa T, Nakamura S, Hirai F, Suzuki Y, Matsui T, Fujiyama Y, Matsumoto T. Multicenter analysis of fecal microbiota profiles in Japanese patients with Crohn's disease. *J Gastroenterol* 2012, vol. 47, p. 1298-1307.
- Arfaee, F., Jamshidi, S., Azimirad, M., Dabiri, H., & Tabrizi, A. S. PCR-based diagnosis of *Helicobacter* species in the gastric and oral samples of stray dogs. *Comparative Clinical Pathology*, 2014, vol. 23, no. 1, p. 135-139.
- Ceelen, L. M., Decostere, A., Chiers, K., Ducatelle, R., Maes, D., Haesebrouck, F. Pathogenesis of *Helicobacter pullorum* infections in broilers. *Int J Food Microbiol.* 2007, vol. 116, p. 207–213.
- Drancourt, M., & Raoult, D. *rpoB* gene sequence-based identification of *Staphylococcus* species. *Journal of Clinical Microbiology*, 2002, vol. 40, no. 4, p. 1333-1338.
- Fox, J. G., Chien, C. C., Dewhirst, F. E., Paster, B. J., Shen, Z., Melito, P. L., & Rodgers, F. G. *Helicobacter canadensis* sp. nov. isolated from humans with diarrhea as an example of an emerging pathogen. *Journal of clinical microbiology*, 2000, vol., 38, no. 7, p. 2546-2549.
- Haesebrouck F, Pasmans F, Flahou B, Chiers K, Baele M, Meyns T, Decostere A, Ducatelle R. Gastric helicobacters in domestic animals and nonhuman primates and their significance for human health. *Clinical Microbiology Reviews.* 2009, vol. 22, p. 202–223.
- Manfreda, G., Parisi, A., Lucchi, A., Zanoni, R. G., De Cesare, A. Prevalence of *Helicobacter pullorum* in conventional, organic, and free-range broilers and typing of isolates. *Appl Environ Microb.* 2001, vol. 77, p. 479–484.
- Srinivasan, R., Karaoz, U., Volegova, M., MacKichan, J., Kato-Maeda, M., Miller, S., & Lynch, S. V. Use of 16S rRNA gene for identification of a broad range of clinically relevant bacterial pathogens. *PloS one*, 2015, vol. 10, no. 2, p. e0117617.
- Stanley, J., Linton, D., Burnens, A. P., Dewhirst, F. E., On, S. L., Porter, A., & Costas, M. *Helicobacter pullorum* sp. nov.-genotype and phenotype of a new species isolated from poultry and from human patients with gastroenteritis. *Microbiology*, 1994, vol. 140, no. 12, p. 3441-3449.

Poděkování

Tato práce byla podpořena projektem IGA 202/2016/FVHE Veterinární a farmaceutické univerzity Brno.

Kontaktní adresa:

Ing. Michaela Nesvadbová, Ph.D.

VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie masa, Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno.

E-mail: nesvadbovam@vfu.cz

Stanovení obsahu β -karotenu u vybraných odrůd meruněk *Determination of β -carotene in selected varieties of apricots*

Ošťádalová, M., Král, M., Pokorná, J., Gála, T., Tremlová, B.

Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Cílem práce bylo stanovení a porovnání obsahu u 11 odrůd meruněk původem z jižní Moravy. Vzorky meruněk byly extrahovány ve směsi etanol a hexan a následně analyzovány metodou UV-VIS spektrofotometrie. Obsah β -karotenu se pohyboval v rozmezí 7,551 – 13,621 mg/100g vzorku. Nejvyšší koncentrace β -karotenu byla nalezena u odrůd Betinka Penta, Marlen MLE – 1 a Betinka Julior. Naopak nejnižší byl zjištěn u odrůd Radka, Tomcot a Goldrich. Výsledky ukazují, že meruňky obsahují poměrně cenný zdroj β -karotenu, který je však odvislý od dané odrůdy.

Klíčová slova: karotenoidní barviva, *Prunus armeniaca*, UV-VIS spektrofotometrie

Abstract

The aim of the study was to determine and compare the contents in 11 varieties of apricots from south Moravia. Samples of apricots were extracted in mixture of methanol and hexane and next analyzed by UV-Vis spectrophotometry. Content of β -carotene ranged from 7,551 to 13,621 mg/100g of sample. The highest concentration of β -carotene was found in varieties Betinka Penta, Marlen MLE – 1 and Betinka Julior. Contrary the lowest concentration was found in varieties Radka, Tomcot and Goldrich. The results show that apricots contain relatively valuable source of β -carotene, which is dependent on the variety.

Keywords: carotenoid pigments, *Prunus armeniaca*, UV-VIS spectrophotometry

Úvod

Karotenoidní barviva tvoří skupinu žlutých, oranžových, červených a fialových pigmentů, které ve většině případů doprovázejí chlorofyly v rostlinách. Významným karotenoidním barvivem je β -karoten, který může mít příznivý vliv na zdraví konzumenta. β -karoten může sloužit pro syntézu dvou molekul vitamínu A a α -karoten jenom pro jednu (Furr and Clark, 2003). Velkou roli hraje i jeho antioxidační aktivita a podílí se na redukci. Příjem karotenoidů (tedy antioxidantů) má totiž příznivý vliv na redukci LDL cholesterolu v krvi. Uvedené má významný vliv na redukci rizika chronických onemocnění, jako jsou arterioskleróza nebo Lou Gehringova choroba (Furr and Clark, 2003; Rice-Evans, 1997).

Významným zdrojem karotenoidních barviv je většina odrůd zeleniny a ovoce, z nichž podíl nesou i meruňky. Existuje řada publikací o obsahu luteinu (oranžovožluté karotenoidní barvivo), méně pak o obsahu β -karotenu. Cílem práce bylo tedy stanovení obsahu β -karotenu u vybraných odrůd meruněk a následně jejich porovnání.

Materiál a metodika

Pro analýzu byly použity vzorky meruněk, pocházející z jižní Moravy (okolí Lednice). Vzorky byly sklizeny v období červen a červenec 2016 ve sklizňové zralosti a ihned analyzovány. Konkrétně šlo o 11 vzorků meruněk odrůdy: Goldrich, Tomcot, Radka, Leskora, Velkopavlovická, Betinka M-LE-1, Betinka Julior, Betinka Penta, Marlen MLE-1, Marlen Julior, Marlen Penta.

Principem metody byla extrakce β -karotenu do směsi 95% etanolu a hexanu (5:10) a následně byla měřena jeho absorpce při vlnové délce 479 nm. Celkový obsah β -karotenu se stanovil dle kalibrační křivky sestavené z absorpčních hodnot standardu β -karotenu. Metodika byla provedena dle Davis *et al.* (2009). Celkový obsah β -karotenu byl následně přepočítán a vyjádřen v $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ vzorku.

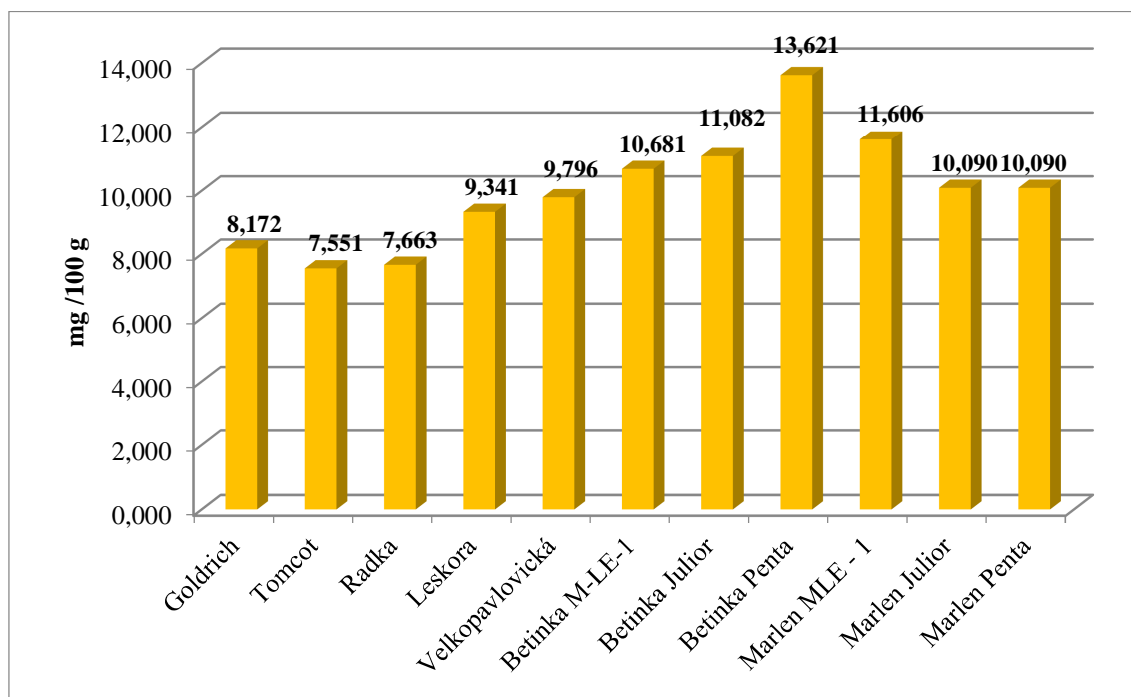
Postup: Bylo naváženo 0,6 g vzorku. Homogenizovaný vzorek byl extrahován v 5 ml etanolu (95% čistoty) a 10 ml hexanu po dobu 15 minut. Extrakce probíhala v prostředí tmy s omezeným přístupem vzdušného kyslíku. Následně byla měřena absorpce vzniklého extraktu při vlnové délce 479 nm. Koncentrace β -karotenu ve vzorcích byla odvozena přepočtem z níže uvedené lineární rovnice získané ze standardní kalibrační křivky β -karotenu: $y = 23,694x + 5,7785$.

Každá odrůda byla měřena 6x a získané hodnoty byly přepočítány a uvedeny v jednotkách $\text{mg}/100\text{g}$ vzorku. Výsledky byly zprůměrovány a následně byla provedena statistická analýza pomocí oboustranného Studentova t-testu ($p < 0,05$) a Shlukové analýzy pomocí programu UNISTAT.

Výsledky

Průměrné hodnoty β -karotenu jsou uvedeny v grafu 1.

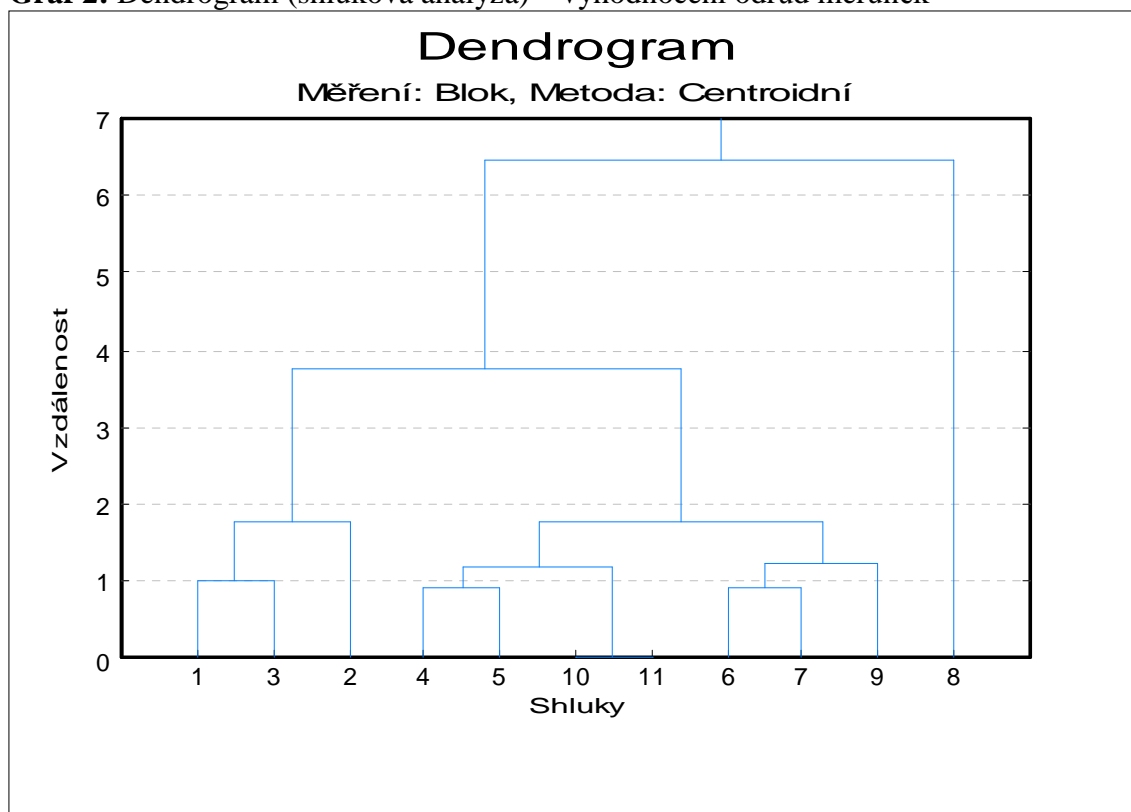
Graf 1: Obsah β -karotenu [$\text{mg}/100\text{g}$] ve vybraných odrůdách meruněk



Obsah β -karotenu se pohyboval v rozmezí 7,551 – 13,621 mg/100g. K odrůdám s nejnižším obsahem β -karotenu patřily odrůda Tomcot (7,551 mg/100 g), Radka (7,663 mg/100g) a Goldrich (8,172 mg/100g). Nejvyšší obsah β -karotenu byl nalezen u odrůdy Betinka Penta (13,621 mg/100g), Marlen MLE-1 (11,606 mg/100g) a Betinka Julior (11,082 mg/100g).

Jak lze vidět v dendrogramu (Graf 2), vznikly dva základní shluky. První shluk byl tvořen pouze jedním vzorkem, a to vzorkem č. 8 (Betinka Penta) s nejvyšší hodnotou β -karotenu ($p < 0,05$). Druhý shluk je tvořen dvěma podshluky. První podshluk obsahuje vzorky odrůdy Gorlich (vzorek č. 1), Radka (vzorek č. 3) a Tomcot (vzorek č. 2), které dosahovaly nejnižší koncentrace β -karotenu v rozmezí 7,551 – 8,172 mg/100g ($p < 0,05$). Druhý podshluk je rozdělen na 2 další podshluky: první je tvořen vzorky odrůd Leskora (vzorek č. 4), Velkopavlovická (vzorek č. 5), Marlen Julior (vzorek č. 10) a Marlen Penta (vzorek č. 11) s téměř totožným obsahem β -karotenu (9,341 – 10,090 mg/100g); druhý obsahuje 3 vzorky odrůd meruněk s podobným obsahem β -karotenu (10,681 – 11,606 mg/100g), a to Betinka M-LE-1 (vzorek č. 6), Betinka Julior (vzorek č. 7), Marlen MLE-1 (vzorek č. 9). Kvantitativní rozdíly v obsahu β -karotenu posledními zmíněnými skupinami odrůd meruněk však nebyly statisticky prokazatelné ($p < 0,05$).

Graf 2: Dendrogram (shluková analýza) – vyhodnocení odrůd meruněk



Legenda: 1-Gorlich, 2-Tomcot, 3-Radka, 4-Leskora, 5-Velkopavlovická, 6-Betinka M-LE-1, 7-Betinka Julior, 8-Betinka Penta, 9-Marlen MLE-1, 10-Marlen Julior, 11-Marlen Penta.

Obsah β -karotenu u analyzovaných odrůd meruněk byl poměrně rozličný, avšak spadal do hodnot uváděných v odborné literatuře. Příkladem je kolektiv Saas-Kisse (2005), kteří zjistili obsah β -karotenu v rozmezí 3,1 – 15,2 mg/100g. Karabulut *et al.* (2007) uvádějí koncentraci β -karotenu v průměru 9,84 mg/100g a Ruiz *et al.* (2005) stanovili rozpětí 9,4 – 21,64 mg/100g. Rozdílnost obsahu β -karotenu mezi jednotlivými vzorky meruněk je dána především odrůdou meruněk, jejich stářím, klimatickými podmínkami a dobou sklizně, což potvrzují nejen výše uvedené kolektivy, ale také práce Drogoudi *et al.* (2008) a Ali *et al.* (2011).

Závěr

Na základě výsledků bylo podpořeno, že nejvýznamnější vliv na obsah β -karotenu v meruňkách má odrůda. Významný dopad mají i pěstební podmínky a klima, avšak to nelze na základě výsledků naší práce přímo potvrdit. Jednalo se totiž o odrůdy, které pocházely ze stejné pěstitelské oblasti, tedy oblasti podobných klimatických podmínek.

Poděkování

Tato práce vznikla v rámci řešení projektu IGA č. 210/2016/FVHE.

Literatura

- Ali, S., Masud, T., Abbasi, K.S. Physico-chemical characteristics of apricot (*Prunus armeniaca* L.) grown in Northern Areas of Pakistan. *Scientia Horticulturae*. 2011, 130, vol. 2, p. 386-392.
- Davis, A.R., Fish. W.W., Perkins-Veazie, P. A rapid spectrophotometric method for analyzing lycopene content in tomato and tomato products. *Postharvest Biology and Technology*. 2003, vol. 28, no. 3, p. 425-430.
- Drogoudi, P.D., Stavros Vemmos, S., Pantelidis, G., Petri, E., Tzoutzoukou, Ch., Karayiannis, I. Physical Characters and Antioxidant, Sugar, and Mineral Nutrient Contents in Fruit from 29 Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Cultivars and Hybrids. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, vol. 56, no. 22, p.10754-10760.
- Furr, H. C., Clark R. M. Carotenoids: Physiology. *Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition* (Second Edition). Academic Press: London, 2003, p. 936-943.
- Karabulut, I., Topcu, A., Duran, A., Turan, S., Ozturk, B. Effect of hot air drying and sun drying on color values and β -carotene content of apricot (*Prunus armeniaca* L.). *LWT - Food Science and Technology*. 2007, vol. 40, no. 5, p. 753-758.
- Rice-Evans, C. A. aj. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*. 1997, roč. 2, s. 152-159.
- Ruiz, D., Egea, J., Barberá N, F.A.T., Gil, M.I. Carotenoids from New Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Varieties and Their Relationship with Flesh and Skin Color. *J. Agric. Food Chem.* 2005, vol. 53, p. 6368-6374.
- Sass-Kiss, A., Kiss, J., Milotay, P., Kerek, M. M., Toth-Matkus, M. Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Research International*. 2005, vol. 38, no. 8-9, p. 1023-1029.

Kontaktní adresa:

Ing. Martina Ošťádalová, Ph.D.

Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého tř. 1916/1, 612 42 Brno.

Email: m.ostadalova@gmail.com

Vliv kombinace kozího a kravského mléka na proteolýzu během zrání sýrů

Effect of combination of goat and cow milk on proteolysis during ripening of cheese

Pachlová, V., Charousová, Z.
Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Souhrn

Cílem práce bylo srovnat intenzitu proteolýzy u vzorků vyrobených v různém poměru kozího a kravského mléka: 100:0 (100 % kozího mléka), 75:25, 50:50, 25:75 a 0:100 (100 % kravského mléka). Shluková analýza prokázala odlišné změny v proteinové matici sýrů. S rostoucí dobou zrání se podobnost proteinového profilu jednotlivých vzorků více vyrovnávala. Intenzivnější proteolýza probíhala u sýrů s převahou kozího mléka, ve kterých byla detekována nejvyšší koncentrace volných aminokyselin.

Klíčová slova: *kozí mléko, zrání sýrů, proteolýza*

Abstract

The aim of the study was to compare the intensity of proteolysis in samples made at various ratio of goat and cow milk: 100:0 (100 % goat milk), 75:25, 50:50, 25:75 and 0:100 (100 % cow milk). Cluster analysis showed different changes in the protein matrix of cheese samples. Homology of protein profile was grown with increased ripening time. More intensive proteolysis was observed in samples with predominance of goat milk.

Úvod

Mléčné výrobky z kozího mléka jsou charakteristické svou nezaměnitelnou vůní a specifickou chutí, za kterou je zodpovědné zejména vyšší zastoupení kyselin kaprinové, kaprylové a kapronové (Albenzio a Santilo, 2011). Specifické aroma kozích výrobků však může být pro některé konzumenty příliš výrazné a může spotřebitele od konzumace odradit. Navíc kozí mléko je pro výrobu mléčných výrobků ve srovnání s kravským mlékem dražší surovinou. Zejména v případě zrajících kozích sýrů pak cena několikanásobně převyšuje cenu běžných sýrů z kravského mléka, což může řadu konzumentů od koupě výrobků tohoto typu také odradit. Příliš intenzivní chuťový vjem a také vysokou cenu výrobků lze snížit kombinací mléka kozího s kravským. Vzhledem k odlišnému chemickému složení však různé kombinace druhových mlék mohou ovlivnit procesy probíhající během zrání sýrů a tím také modifikovat jejich vlastnosti. Nejdůležitějším procesem během zrání sýrů je proteolýza. Intenzita hydrolýzy proteinové matrice utváří vlastnosti sýra, zejména texturní (Pachlová et al., 2011). Finální produkty proteolýzy (volné aminokyseliny) mohou být následně konvertovány na významné sensoricky aktivní látky za současného požadovaného vývoje chutě a vůně zrajícího sýra (Sousa et al., 2001). Cílem práce bylo popsat vliv kombinace kozího a kravského mléka na proteolýzu během zrání sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou.

Materiál a metodika

Byly vyrobeny modelové vzorky sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou v pěti různých kombinacích kozího a kravského mléka: 100:0 (100 % kozího mléka), 75:25, 50:50, 25:75 a 0:100 (100 % kravského mléka). Sýry byly po prokysání a prosolení zabaleny do smrštitelné folie a umístěny do zrací komory, kde zrály při teplotě 12 ± 2 °C. Odběry vzorků proběhly 1, 14, 28, 56 a 84 dní po výrobě. Modelové vzorky sýrů byly podrobeny základní chemické analýze: stanovení obsahu sušiny (ČSN EN ISO 5534) a soli (Indra a Mizera, 1992) a pH (vpichový pH-metr, Eutech Instruments, Nizozemsko). U lyofilizovaných vzorků byl stanoven obsah volných aminokyselin iontově-výměnou chromatografií (analýzátor aminokyselin AAA 400, Ingos, Česká republika) dle Pachlová et al. (2011) a Buňková et al. (2009). U vzorků byl také porovnán proteinový profil pomocí SDS-PAGE dle Lazárková et al. (2011).

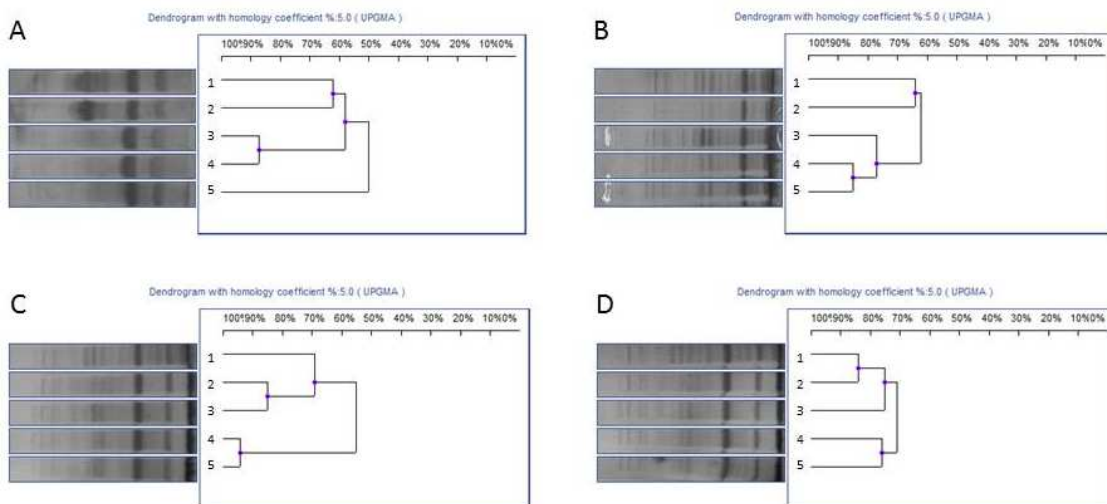
Výsledky a diskuze

První den po výrobě (po prokysání sýrů a před jejich solením) se obsah sušiny modelových vzorků sýrů vyrobených v různých poměrech kozího a kravského mléka pohyboval v průměru $50,3 \pm 0,4$ % (w/w). Hodnoty pH sýrů byly $4,99 \pm 0,05$. Od 14. dne skladování se obsah sušiny navýšil v důsledku solení na $51,9 \pm 0,6$ % (w/w), přičemž průměrná koncentrace NaCl byla $1,45 \pm 0,11$ % (w/w). V průběhu dalšího skladování nedošlo k významným rozdílům v obsahu sušiny a soli mezi jednotlivými vzorky.

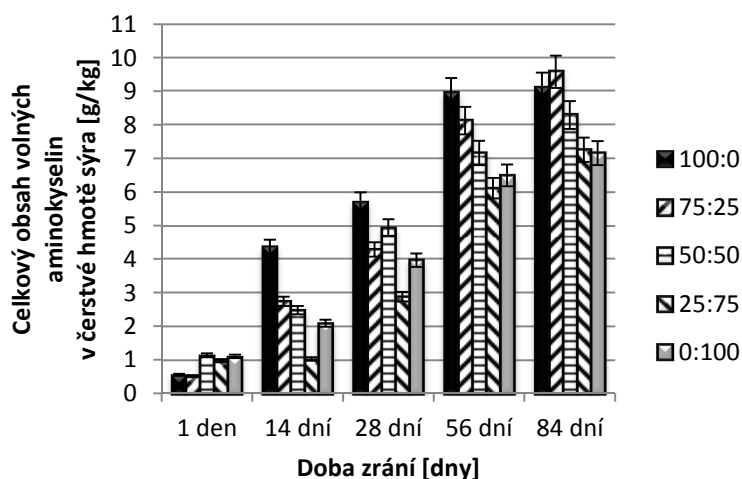
Shluková analýza prokázala odlišné změny v proteinové matici u vzorků s různým zastoupením bílkovin kozího a kravského původu (Obrázek 1). První den po výrobě vytvořil vzorek vyrobený pouze z kravského mléka (vzorek 0:100) samostatný klastr. Z výsledků je také patrné, že i nejnížší přídavek kravského mléka se na začátku zrání výrazně promítá v proteinovém profilu. Nejvíce podobné si byly vzorky sýrů 50:50 a 25:75, a to z 87 %. Naopak vzorky 100:0 a 75:25 vykazovaly ihned po výrobě podobnost 62 %, přičemž homologie vzorků vyrobených čistě z druhových mlék (100:0 a 0:100) byla pouze 53 %.

Po měsíci zrání se podobnosti proteinového profilu vzorků s převahou kravského mléka začaly k sobě více přibližovat. Po měsíci zrání se proteinový profil vzorků 25:75 a 0:100 shodoval z 85 % a po 56 dnech zrání dokonce dosáhl 94% shody. Naopak podobnost vzorku z kozího mléka (100:0) se po 28 dnech zrání s ostatními kombinovanými vzorky snížila (64 – 66 %; v případě vzorku 0:100 byla prokázána 55% shoda). S rostoucí dobou zrání došlo k navýšování homologie vzorků. Po 84 dnech zrání byla zaznamenána 84% podobnost mezi vzorky 100:0 a 75:25. Analogicky se také shodovaly proteinové profily vzorků 0:100 a 25:75, a to ze 76 %. Obecně lze říci, že s rostoucí dobou zrání se proteinové profily jednotlivých vzorků více vyrovnávaly.

Během zrání modelových vzorků byl pozorován nárůst celkového obsahu volných aminokyselin (Obrázek 2). Nejvyšší navýšení bylo zaznamenáno u vzorků 75:25 a 100:0. Z výsledků lze tedy usuzovat, že intenzivnější proteolýza probíhá u sýrů s převahou kozího mléka. Vliv druhového mléka na intenzitu proteolýzy potvrzuje také vývoj obsahu volných aminokyselin v sýrech vyrobených pouze z kravského mléka (0:100), u kterých došlo v průběhu tří měsíčního experimentu k nejnížšímu nárůstu volných aminokyselin.



Obrázek 1: proteinový profil vzorků sýrů (1 – 100:0; 2 – 75:25; 3 – 50:50; 4 – 25:75; 5 – 0:100) v průběhu zrání (část A – 1. den; část B – 28. den; část C – 56. den; část D – 84. den po výrobě)



Obrázek 2: celkový obsah volných aminokyselin ve vzorcích sýrů v průběhu zrání

Pro požadovaný vývoj vlastností zrajících sýrů je zásadní proteolýza. V první fázi proteolýzy je kaseinová matrice štěpena pomocí enzymů syřidla, plazminu a dalších endogenních enzymů. Vzniklé středně dlouhé polypeptidy jsou štěpeny za vzniku kratších peptidů. Tyto jsou následně intracelulárně hydrolyzovány pomocí endopeptidáz či exopeptidáz pocházejících ze zákysových a nezákysových bakterií mléčného kvašení. Endopeptidázy hydrolyzují vazby uvnitř řetězce za vzniku peptidů různé velikosti. Exopeptidázy z polypeptidového řetězce štěpí poslední peptidovou vazbu za vzniku finálních produktů proteolýzy – volných aminokyselin (Sousa et al. 2001). Prostřednictvím konverze volných aminokyselin na řadu sensoricky aktivních látek pak dochází k nezbytnému vývoji chuti a vůně zrajícího sýra. Intenzita proteolýzy může být

ovlivněna jak vnějšími (např. teplota a doba zrání) tak vnitřními faktory (např. přítomnost a aktivita endogenních a exogenních enzymů, vodní aktivita, pH). Z pohledu zastoupení endogenních enzymů se druhová mléka mohou významně lišit, přičemž kozí mléko může ve srovnání s kravským obsahovat vyšší zastoupení proteináz (Albenzio a Santilo, 2011). Aktivita přítomných enzymů může být dále regulována mimo jiné dostupností substrátu pro konkrétní enzymy (Sousa et al., 2001). Toto se ve výsledku může významnou měrou projevit na vzniku odlišně dlouhých polypeptidových řetězců a v konečném důsledku také na obsahu volných aminokyselin.

Závěr

Na základě výsledků studie lze konstatovat, že použitý druh mléka má v průběhu zrání vliv na intenzitu proteolýzy (bráno dle koncentrace finálních produktů), přičemž nejmarkantnější nárůst volných aminokyselin byl pozorován u vzorků s převahou kozího mléka (75:25 a 100:0). Také aktivita proteináz je pravděpodobně významnou měrou ovlivněna zastoupením druhových mlék. Během zrání byly pozorovány rozdíly u vzorků s převahou kozího a kravského mléka. S narůstající dobou se však rozdíly proteinových profilů snižovaly.

Literatura

Albenzio, Marzia a Antonella Santillo. Biochemical characteristics of ewe and goat milk: Effect on the quality of dairy products. *Small Ruminant Research*. 2011, **101**(1-3), 33-40.

Buňková, Leona, František Buňka, Michaela Hlobilová, Zuzana Vaňátková, Dana Nováková a Vladimír Dráb. Tyramine production of technological important strains of *Lactobacillus*, *Lactococcus* and *Streptococcus*. *European Food Research and Technology*. 2009, **229**(3), 533-538.

Česká republika. ČSN EN ISO 5534. 2005. Sýry a tavené sýry – stanovení obsahu celkové sušiny (referenční metoda).

Indra, Zdeněk a Jan Mizera. *Chemické kontrolní metody pro obor zpracování mléka*. Učebnice pro střední průmyslové školy potravinářské, 1992.

Lazárková, Zuzana, František Buňka, Leona Buňková, Felix Holáň, Stanislav Kráčmar a Jan Hrabě. The effect of different heat sterilization regimes on the quality of canned processed cheese. *Journal of Food Process Engineering*. 2011, **34**(6), 1860-1878.

Pachlová, Vendula, František Buňka, Leona Buňková, Eva Weiserová, Pavel Budinský, Milan Žaludek a Stanislav Kráčmar. The effect of three different ripening/storage conditions on the distribution of selected parameters in individual parts of Dutch-type cheese. *International Journal of Food Science & Technology*. 2011, **46**(1), 101-108.

Sousa, M.J, Y Ardö a P.L.H Mcsweeney. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal*. 2001, **11**(4-7), 327-345.

Kontaktní adresa:

doc. Ing. Vendula Pachlová, Ph.D.

UTB ve Zlíně, Fakulta technologická, Ústav technologie potravin, nám. T. G. Masaryka 5555, 760 01, Zlín.

E-mail: pachlova@ft.utb.cz

**Variabilita profilu mastných kyselin a celkového obsahu tuku
v kobyším mléce**
*Variability of Fatty Acid Profile and Total Fat Content
of Raw Mare Milk*

Pospíšil, J., Navrátilová, P.
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Cílem této studie je sledovat variabilitu celkového obsahu tuku a profilu mastných kyselin v syrovém kobyším mléce. Vzorkování probíhá od dubna 2016 a do dnešního data bylo odebráno 49 vzorků. Sledovaná skupina, zahrnující zástupce plemen český, moravský a slovenský teplokrevník, je dojena manuálně s frekvencí odběru vzorků minimálně jednou za měsíc. Stanovení celkového obsahu tuku bylo prováděno butyrometricky a naměřené hodnoty kolísají v širokém rozpětí 1,5 - 24,2 g.kg⁻¹. Profil mastných kyselin byl stanoven pomocí plynové chromatografie s plamenově ionizační detekcí. Z dosud vyhodnocených dat je nejvýznamnějším zjištěním vysoký obsah polynenasycených mastných kyselin (PUFA více než 20 % z celkového množství mastných kyselin), zejména pak kyseliny alfa-linolenové (C18:3 – *cis* 9,12,15), jejíž koncentrace se pohybovala v rozpětí hodnot 6,5 – 15,9 %.

Klíčová slova: *equine milk, mare milk, fatty acids, FAME*

Abstract

This study is focused to monitor variability of total fat content and fatty acids profile of raw mare milk. Sampling is in progress since april 2016 and 49 samples were taken to this day. The frequency of the sampling is at least once per month. The observed group composed of czech, moravian and slovakian hot-blooded horses is milked manually. Total fat content was measured by butyrometric method and varied broadly between 1.5 – 24.2 g.kg⁻¹. Fatty acids profile was determined by the means of gas chromatography with flame ionization detection. The most important finding up to this date is high volume of PUFA (more than 20% of total FA), especially alpha-linolenic acid (C18:3 – *cis* 9,12,15) in the range of 6.5 – 15.9%.

Úvod

Vzhledem k tomu, že světová produkce kobyšího mléka pro potravinářské účely je v moderní historii s výjimkou některých asijských zemí a bývalých států Sovětského svazu minimální, byla problematika skladby mléka zástupců čeledi koňovitých (*Equidae*) dlouho opomíjena. A to i přesto, že je svým složením lidskému mléku mnohem podobnější než mléko kravské, kozí a ovčí, což s sebou nese významný dietetický potenciál v oblasti lepší stravitelnosti a problematiky alergií na kaseinová mléka. Na základě výzkumných prací zabývajících se složením kobyšího mléka, je možné konstatovat, že se jedná o produkt se zajímavými nutričními vlastnostmi s potenciálním využitím v dietetice a v terapii některých onemocnění. Kobyší mléko obsahuje méně tuku v porovnání s mateřským a kravským mlékem a je specifické

nízkým obsahem cholesterolu a vysokým obsahem nenasycených mastných kyselin. Proces hydrogenace mastných kyselin (MK) charakteristický pro přežvýkavce neprobíhá v gastro-intestinálním traktu koní. Z tohoto důvodu se MK vakcenová přítomná v kravském mléce (1,08-1,65 %) nenachází v kobyliím mléce. Podobně jako v mateřském mléce jsou méně zastoupeny nasycené mastné kyseliny s krátkým a dlouhým řetězcem (C4:0, C6:0, C16:0, C18:0), jejichž vyšší obsah je typický pro mléka přežvýkavců. V tuku kobyliího mléka jsou nižší koncentrace MK stearové a olejové, ale vyšší koncentrace MK palmitoolejové, linolové a α -linolenové. Kobylií mléko obsahuje vyšší koncentrace volných mastných kyselin (Pieszka et al., 2016).

Materiál a metodika

Odběr vzorků probíhá v měsíčních intervalech od dubna 2016. Doposud bylo odebráno 49 vzorků kobyliího mléka pocházejícího od 10 jedinců. Ve skupině jsou zastoupena plemena český, moravský a slovenský teplokrevník. U každého vzorku byl stanovován celkový obsah tuku butyrometricky a obsah MK pomocí plynové chromatografie s plamenově ionizační detekcí. Tuk pro chromatografické stanovení byl získáván ze syrového mléka metodou opakované centrifugace. Takto získané mastné kyseliny byly za účelem jejich lepší detekce převedeny pomocí methanolického roztoku hydroxidu draselného na své methylestery. Methylestery příslušných mastných kyselin byly následně extrahovány do n-hexanu. Měření probíhalo na chromatografu Agilent 6890 (Agilent Technologies, US) s ovládacím a vyhodnocovacím softwarem GC Chemstation verze Rev.A.10.02[1757] (Agilent Technologies, US). K identifikaci a kvantifikaci mastných kyselin byl používán směsný standard methylesterů FAMQ-005 (AccuStandard Inc., US).

Podmínky metody:

- kolona HP-88 100 m x 0,25 mm x 0,2 μ m
- nosný plyn He 1,2 ml/min
- splitovací poměr 1:50, nástřik 1 μ l
- teplota v místě nástřiku 220°C
- teplota na detektoru 240°C

Výsledky a diskuze

Obsah tuku se pohyboval v rozmezí 1,5 – 24,2 g.kg⁻¹ a pro většinu sledovaných jedinců vykazoval cyklicky kolísající, nicméně z celkového pohledu klesající tendenci v průběhu laktace. V odborné literatuře uváděné hodnoty celkového tuku se pohybují v rozmezí 10 – 20 g.kg⁻¹. Ojedinele, zejména u zvířat s vysokým podílem jádra v krmné dávce, však byly naměřeny i hodnoty menší než 5 g.kg⁻¹ (Doreau and Martuzzi, 2006). Z tohoto pohledu tedy námi zjištěné hodnoty odpovídají současnému stavu poznání v dané oblasti. Pokud jde o zastoupení mastných kyselin, u žádného vzorku nebyla detekována kyselina vakcenová (C18:1 *trans* 11) a téměř všechny vzorky vykazovaly pouze velmi malý obsah kyseliny stearové (C18:0), zhruba na úrovni do 1,35 %. Celkový podíl nasycených mastných kyselin nepřesáhl 50 % a byl tedy ve srovnání s kravským mlékem nižší. Z nutričního hlediska vysoce významné polynenasycené MK tvořily více než 20 % z celkového množství detekovaných MK, na čemž se nejvíce

podílela kyselina alfa-linolenová (C18:3 *cis* 9,12,15), jejíž hodnoty se pohybovaly v rozpětí 6,5 – 15,9 %. Výše uvedené charakteristiky zhruba odpovídají údajům z odborné literatury (Pieszka et al., 2016) a jejich vyšší variabilita může být výsledkem působení řady faktorů (manuální dojení, počet jedinců ve sledované skupině, plemeno, rozdíl v krmné dávce, pořadí a stadium laktace aj.).

Závěr

Z dílčích výsledků studie lze usuzovat, že celkový obsah tuku i zastoupení jednotlivých mastných kyselin je v rámci sledované skupiny zvířat vysoce variabilní. A to jak ve smyslu individuality jedince, tak i vzhledem k časovému průběhu laktace. Výsledky potvrdily, že kobydí mléko obsahuje z nutričního hlediska vysoce významné polynenasycené MK, které tvoří více než 20 % z celkového množství detekovaných MK, z nichž nejvíce zastoupenou MK byla kyselina alfa-linolenová. Konzumace kobydího mléka s vysokým obsahem polynenasycených esenciálních MK může mít příznivé účinky na zdraví konzumenta.

Literatura

Pieszka, M., Łuszczynski, J., Zamachowska, M., Augustyn, R., Długosz, B., Hędrzak, M. Is mare milk an appropriate food for people? – a review. *Annals of Animal Science*, 2016, vol. 16, no. 1, p. 33-51.

Doreau, M., Martuzzi, F. Fat content and composition of mare's milk. In *Nutrition and feeding of the broodmare*. Eds. N. Miragli, W. Martin-Rosset. EAAP Publication. Wageningen Academic Publishers Wageningen, The Netherlands, 2006, no. 120, p. 77-87.

Poděkování

Tato práce byla podpořena projektem IGA 203/2016/FVHE Veterinární a farmaceutické univerzity Brno.

Kontaktní adresa:

Mgr. Jan Pospíšil

VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie mléka, Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno.

E-mail: pospislj@vfu.cz

Využití impedanční spektroskopie pro sledování změn ve včelím medu *Utilization impedance spectroscopy for monitoring changes in honey bee*

Prušová, P.¹, Seidl, J.², Scholtz, V.², Wiesnerová, L.², Hofmann, J.², Čížková, H.¹

¹Ústav konzervace potravin, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 3, 160 00 Praha 6

²Ústav fyziky a měřicí techniky, Fakulta chemicko-inženýrská, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 3, 160 00 Praha 6

Souhrn

Med se těší velké oblibě na trhu nejen v České republice. Celosvětově se med řadí mezi nejvíce falšované produkty, jako například javorový sirup, olivový olej, ryby, ovocné šťávy a vína. Mezi nejčastějšími způsoby falšování medu je přidavek cukru (nejčastěji třtinový cukr), sirupu nebo jiné sofistikované metody k zamaskování o původu. Měření impedančního spektra může být užitečné pro detekci některé běžné úpravy kvality medu, jako nafalšování cukrem (sacharóza, fruktóza, glukóza) nebo přidavkem vody. Tato metoda by mohla být použita při předběžné analýze (poskytuje komplexní fyzikálně-chemickou informaci o vzorku), než dojde k aplikaci klasických analytických metod.

Klíčová slova: *falšování, impedance, analýza, květový a medovicový med*

Abstract

Honey enjoys great popularity not only on the Czech food market. Honey is one of the most adulterate product, along with a products as maple syrup, olive oil, fish, juices and wine in the world. The most common methods of honey adulteration is addition of sugar (cane sugar), dilution with syrups or other sophisticated method to mask the origin. Impedance spectroscopy method can be useful to detect some common quality modifications as add with sugar (sucrose, fructose, glucose) or dilution with a water. This method could be used on a preliminary analysis (provides a comprehensive physical and chemical information of the sample) before there will be classical analytical methods use.

Úvod

Med patří mezi oblíbené potraviny nejen v České republice. Ročně je spotřebováno kolem 0,8 kg medu na obyvatele a zvyšuje se také dovoz ze třetích zemí, například z Ukrajiny je ročně dovezeno více jak 500 tun medu (MZe, 2015). Průměrná cena medu činila v loňském roce kolem 180 Kč/kg. Vzhledem k tomu, že spotřebitel je stále ovlivňován cenou nabízeného produktu, je med vyhledávanou potravinou pro podvodné jednání. Evropská komise v loňském roce provedla plošnou analýzu výskytu podezřelého medu na trhu EU a z celkem 2237 odebraných vzorků (vybraná skupina vzorků) bylo detekováno až 11 % vzorků s přídatkem cukru (Komise, 2015).

Med je definován jako potravina přírodního sacharidového charakteru, skládající se především z glukózy (24-36%), fruktózy (40-48%), organických kyselin (pH se pohybuje v rozmezí 2,7 - 6,5), enzymů a pevných částic z původně sladkých šťáv

kvetoucích rostlin (nektar), výměšků hmyzu na povrchu rostlin (medovice), nebo na živých částech rostlin včelami (*Apis mellifera*), které sbírají. Med lze rozdělit do tří kategorií podle původu: květový (nektarový), lesní (medovicový) a smíšený. Kvalitativní parametry pro oblíbený produkt jakým je med, jsou definovány v národních právních předpisech, které vychází z Evropské legislativy a *Codex Alimentarius*. Nejčastěji je med nafašován přidavkem cukrů, sirupů nebo namícháním z různých druhů a zemí původu.

V této práci byla využito měření impedančního spektra jako možný nástroj pro detekování vlastností medu. Impedanční spektroskopie (IS) zpravidla měří závislost impedančních charakteristik na frekvenci střídavého proudu, který prochází měřeným vzorkem a uplatňují se zde jeho dielektrické vlastnosti.

Elektrická impedance Z je komplexní veličina a skládá se z reálné a imaginární části:

$$Z = R + jX$$

kde R je rezistance, X reaktance

Výhoda spočívá v tom, že poskytuje komplexní fyzikálně-chemické informace o vzorku a zároveň je to poměrně rychlá a nedestruktivní metoda. Měřené impedanční spektrum je závislostí impedance na frekvenci a je ovlivňováno strukturou a chemickým složením potravin, přičemž největší vliv má obsah vody, minerálů, kyselin a stupeň jejich disociace.

Materiál a metodika

Byly připraveny vzorky medů (reálné vzorky) a modelové vzorky s přidavkem cukru a vody (vzorky A, B, C, D). Modelové vzorky s přidavkem cukru (třtinový cukr, sacharóza) a vody, reálné vzorky (květový a lesní) byly měřeny za stálé teploty (25 °C). Vzorky nebyly dále upravovány.

Vzorky byly umístěny v cele s planárními elektrodami (objem vzorku 70 ml). Pro měření byl využit impedanční analyzátor Agilent 4294A Precision Impedance Analyzer, Agilent Technologies Japan, Ltd. používající 4-TP adapter.

Měření probíhalo při následujících podmínkách: amplituda napětí 0,5V, frekvenční rozsah: 40 Hz-1 MHz, za stálé teploty 25 °C (termostaticky). Měření bylo prováděno technikou „Single-sine“ a byly zvoleny 4 frekvence (46403, 129279, 394554, 1002001).

Výsledky a diskuze

Na základě získaných byly v modelových vzorcích s přidavkem cukru a vody prokázány rozdíly reálné složky impedance v závislosti na sledované frekvenci (viz. graf 1).

Nejvyšší hodnotu impedance jak je zřejmé z grafu č. 1, vykázal vzorek med C, tak jak jsou popsány v odborné literatuře s ohledem na složení a obsahu vzorku (Scandura, 2013; Seidl, 2015).

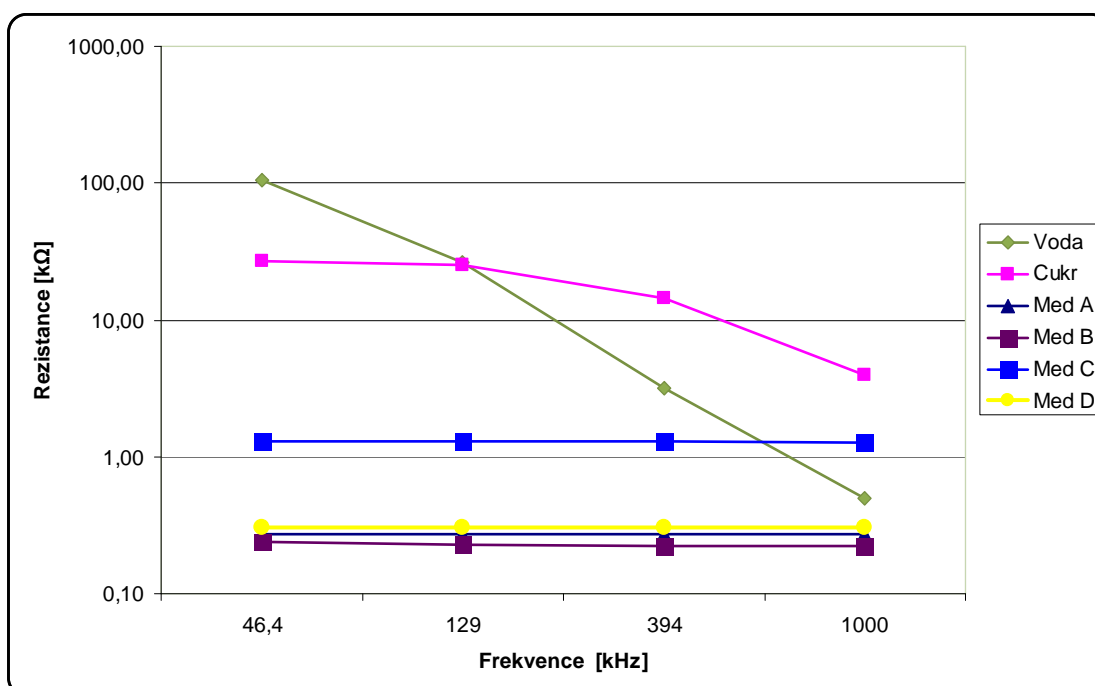
Stabilní hodnoty byly naměřeny u vzorků medu A, medu B a medu D (původ medu, květový).

Z naměřených hodnot reálné složky impedance tak bylo možné detekovat jednotlivé druhy medů (květový a medovicový). Medovicový med díky obsahu minerálních látek měl vysokou hodnotu rezistence.

Tabulka 1: Výsledky naměřených hodnot impedance s použitím dané frekvence

Frekvence [kHz]	Rezistance [kΩ]					
	Voda	Cukr	Med A	Med B	Med C	Med D
46,4	105	27,1	0,274	0,238	1,29	0,305
129	26,1	25,4	0,274	0,228	1,29	0,305
394	3,2	14,5	0,274	0,225	1,29	0,305
1000	0,496	3,99	0,274	0,224	1,28	0,305

Pozn. vzorky medu 30 g s přísadkou vody, cukru, květový a medovicový med.



Graf 1: Naměřené hodnoty impedančního spektra v závislosti na frekvenci u vzorků medů

Závěr

Tato práce nastiňuje možnosti využití impedanční spektroskopie v analýze potravin. Impedanční spektroskopie je nedestruktivní a rychlá metoda. Poskytuje prvotní informace o charakteru analyzovaného vzorku, zejména komplexní fyzikálně-chemické informace o vzorku. Měřením reálných vzorků bylo možné detekovat druh medu (květový, medovicový) a přísadku cukru u modelových vzorků.

Literatura

Ministerstvo zemědělství ČR, Situační a výhledová zpráva 2015, citace 25.08.2016, dostupné z:

http://eagri.cz/public/web/file/457620/SVZ_Vcely_2015_komplet_final_20042016.pdf

Evropská komise, Zpráva „Food fraud“, 04.12.2015, citace 25.08.2016, dostupné z:

http://ec.europa.eu/dgs/health_food-safety/dyna/enews/enews.cfm?al_id=1652

Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2014/63/EU ze dne 15. května 2014, kterou se mění směrnice Rady 2001/110/ES o medu

Vyhláška č. 76/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony, v platném znění

Seidlová R., Poživil J., Seidl J., Ďaďo S., Průšová P., Malec I.: *Chem. papers* 69, 938-949 (2015).

Scandura G., Tripori G., Venzera A.: Impedance spectroscopy for rapid determination of honey floral origin, *Jour. of Food Eng, Vol. 119*, 738–743 (2013)

Kontaktní adresa:

Ing. Petra Průšová

VŠCHT Praha, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Ústav konzervace, Technická 3, 160 00 Praha 6.

E-mail: p.prusova@vscht.cz

Stanovenie citlivosti stafylokokových kmeňov izolovaných z králika divého (*Oryctolagus cuniculus*) voči β -laktámovým antibiotikám
*Determination of the susceptibility of Staphylococcus strains isolated from wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) to β -lactam antibiotics*

Regecová, I., Jevinová, P., Pipová, P., Danišová, O., Turek, P.

Katedra hygieny a technológie potravín, Ústav hygieny a technológie mäsa, UVLF, Košice

Súhrn

Tridsaťdeväť stafylokokových kmeňov bolo izolovaných z 9 vzoriek mäsa králika divého (*Oryctolagus cuniculus*). U týchto izolátov bola pomocou multiplex PCR potvrdená 16S rDNA sekvencia špecifická pre rod *Staphylococcus spp.* a prítomnosť génu špecifického pre druh *S. aureus*. Vykonala sa aj druhová identifikácia pomocou MALDI-TOF hmotnostnej spektrometrie na základe, ktorej sa určilo nasledovných 6 druhov stafylokokov: *S. pasteurii* (15 izolátov); *S. warneri* (14 izolátov); *S. xylosum* (5 izolátov); *S. epidermidis* (2 izoláty); *S. aureus* (2 izoláty); *S. cohnii* (1 izolát). U identifikovaných stafylokokových izolátov sa pomocou agarovej dilučnej metódy, potvrdila najväčšia rezistencia voči ampicilínu (29 izolátov) a naopak najväčšia citlivosť na cefoxitín (34 kmeňov). U jedného kmeňa *S. pasteurii* bola pomocou PCR potvrdená prítomnosť *mecA* génu. Tento kmeň bol zároveň rezistentný na všetky testované β -laktámové antibiotiká.

Kľúčové slová: *Oryctolagus cuniculus*, stafylokoky, antimikrobiálna rezistencia, β -laktámové antibiotiká

Abstract

Thirty-nine of staphylococcal strains were isolated from nine samples of meat of wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). In these isolates was confirmed by multiplex PCR 16S rDNA sequences specific for *Staphylococcus spp.* and the presence of specific gene *S. aureus*. An adjustment was also species identification by MALDI-TOF mass spectrometry based on the requirements identified the following six species of staphylococci: *S. pasteurii* (15 isolates); *S. warneri* (14 isolates); *S. xylosum* (5 isolates); *S. epidermidis* (2 isolates); *S. aureus* (two isolates); *S. cohnii* (1 isolate). For staphylococcal isolates identified using the agar dilution method, confirmed the greatest resistance to ampicillin (29 isolates), while the greatest sensitivity to cefoxitin (34 strains). In one strain of *S. pasteurii* was PCR confirmed the presence of the *mecA* gene. This strain was also resistant to all tested β -lactam antibiotics.

Úvod

Jednou z významných ciest prenosu antimikrobiálnej rezistencie medzi živočíšnou a ľudskou populáciou je potravinový reťazec. Baktérie rezistentné na niektoré antibiotiká sa s potravou dostávajú do zažívacieho traktu konzumenta, kde môžu túto vlastnosť prenášať na celý rad doposiaľ citlivých baktérií, čo vedie k nárastu antimikrobiálnej rezistencie. Tá sa každoročne zaznamenáva aj u zástupcov rodu

Staphylococcus, ktoré sú v centre záujmu klinických mikrobiológov a lekárov (humánnych a veterinárnych) práve pre svojej vynikajúcej schopnosti získavať rezistenciu k antibiotikám. Táto schopnosť sa plne prejavila pri vývoji penicilínových antibiotík, kde sa k pôvodnej penicilínáze pripojil podstatne účinnejší nástroj rezistencie. Oxacilín/cefexitín-rezistentné stafylokokové kmene, využívajú alteráciu cieľového miesta, ktorým je u citlivých kmeňov penicilín-viažuci proteín (PBP). Upravený PBP2a má zníženú afinitu k β -laktámom (Deurenberg et al., 2007). PBP2a je produktom génu *mecA* (Deresinski, 2005), ktorý nie je prítomný len u kmeňov *S. aureus*, ale je rozšírený aj medzi inými druhmi stafylokokov (Ubukata et al., 1990). Podľa CLSI (2015b) sa citlivosť respektíve rezistencia voči širokej škále β -laktámových antimikrobiálnych látok môže vyvodiť z testovania len penicilínu, cefoxitínu alebo oxacilínu. Rutinné testovanie iných β -laktámových antibiotík, s výnimkou tých s anti-MRSA činnosťou, sa neodporúča, preto sme sa rozhodli zamerať práve na testovanie nami vybraných β -laktámových antibiotík.

Materiál a metodika

Vzorky na mikrobiologické vyšetrenie boli odobraté z 9 vzoriek mäsa kráľika divého (*Oryctolagus cuniculus*) pochádzajúcich zo spoločnej poľovačky vo zvernici Účelového zariadenia pre chov a choroby zveri, rýb a včiel UVLF v Rozhanovciach. Základná suspenzia a ďalšie desaťnásobné riedenia sa pripravili podľa pokynov STN EN ISO 6887-2/O1. Z odobratých vzoriek sa stafylokoky izolovali v zmysle pokynov STN EN ISO 6888-1/A1. Stafylokokové izoláty sa identifikovali pomocou multiplex PCR (Strommenger et al., 2003) a MALDI TOF hmotnostnej spektrometrie (Brucker Daltonics, 2008). Citlivosť izolovaných kmeňov stafylokokov na β -laktámové antibiotiká (penicilín, ampicilín, oxacilín, cefoxitín) sa zisťovala agarovou dilučnou metódou podľa postupu CLSI (2015a). Výsledky boli vyhodnotené podľa interpretačných kritérií stanovených CLSI (NCCLS) pre mikrodilučnú metódu (CLSI, 2015b), na základe ktorých boli jednotlivé izoláty zaradené medzi citlivé (C), intermediárne citlivé (I) alebo rezistentné (R). U stafylokokových izolátov rezistentných súčasne voči oxacilínu a cefoxitínu bola overovaná prítomnosť *mecA* génu (527 bp) pomocou PCR podľa National Food Institute TUD (2008).

Výsledky a diskuze

Kultivačným mikrobiologickým vyšetrením vzoriek svaloviny kráľika divého sa získalo spolu 39 izolátov stafylokokov.

U týchto izolátov bola pomocou multiplex PCR potvrdená 16S rDNA sekvencia špecifická pre rod *Staphylococcus spp.* (39 izolátov; 100 %) a prítomnosť génu špecifického pre druh *S. aureus* (2 izoláty; 5,1 %). Pri určovaní oxacilínovej a cefoxitínovej rezistencie je potrebná druhová identifikácia stafylokokov, keďže pre *S. aureus* a koaguláza-negatívne stafylokoky sú určené rôzne hraničné hodnoty oxacilínovej (4 a 0,5 mg.l⁻¹) a cefoxitínovej (8 a 0,5 mg.l⁻¹) rezistencie. Z toho dôvodu sa vykonala druhová identifikácia pomocou MALDI-TOF hmotnostnej spektrometrie na základe, ktorej sa určilo nasledovných 6 druhov stafylokokov (tab. 1): *S. pasteurii* (38,5 %; 15 izolátov); *S. warneri* (35,9 %; 14 izolátov); *S. xylosus* (12,8 %; 5 izolátov);

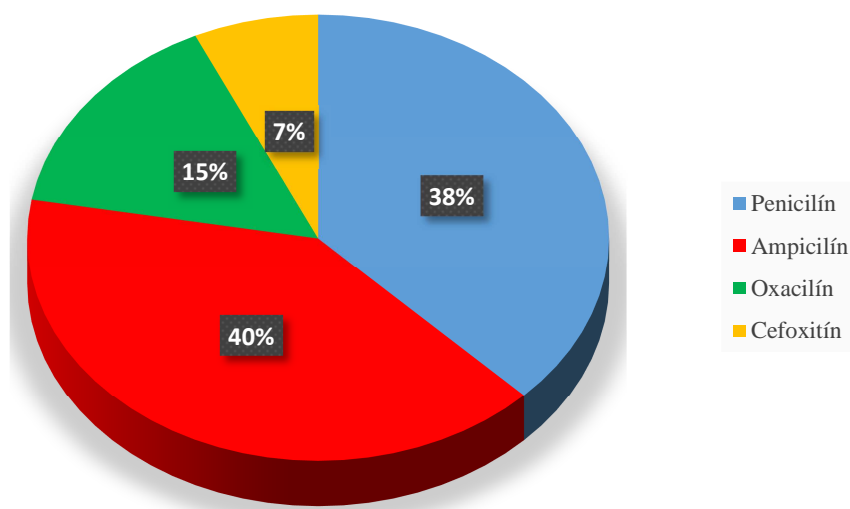
S. epidermidis (5,1 %; 2 izoláty); *S. aureus* (5,1 %; 2 izoláty); *S. cohnii* (2,6 %; 1 izolát).

Ako vyplýva z grafu 1 a tabulky 1, pri stanovení citlivosti 39 stafylokokových izolátov z mäsa kráľika divého pomocou agarovej dilučnej metódy bola potvrdená najväčšia citlivosť voči cefoxitínu (87%; 34 izolátov). Najčastejšie rezistencia bola potvrdená voči ampicilínu 40% (29 izolátov). Ich minimálna inhibičná koncentrácia (MIC) sa pohybovala od 0,5 do 4,0 mg.l⁻¹. U 27 izolátov (38%) bola potvrdená taktiež rezistencia voči penicilínu. MIC penicilínu sa u týchto kmeňov pohybovala v pomerne nízkych až hraničných hodnotách – od 0,25 do 0,5 mg.l⁻¹. U izolátov z kráľikov sa zaznamenala aj rezistencia voči oxacilínu (15%; 11 izolátov), z toho u kmeňov *S. aureus* bola potvrdená rezistencia na oxacilín s hodnotami MIC 4,0 a 8,0 mg.l⁻¹. Tieto izoláty boli súčasne rezistentné aj na ďalšie β-laktámové antibiotiká (penicilín, ampicilín).

Tabuľka 1: Prehľad počtu citlivých (C), intermediárne citlivých (I) a rezistentných (R) izolátov stafylokokov zo stehennej svaloviny kráľika divého voči β-laktámovým antibiotikám

	Penicilín			Ampicilín			Oxacilín			Cefoxitín		
	R	I	C	R	I	C	R	I	C	R	I	C
<i>S. aureus</i> (n=2)	2	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	2
<i>S. pasteurii</i> (n=15)	11	0	4	12	0	3	5	0	10	2	0	13
<i>S. warneri</i> (n=14)	10	0	4	10	0	4	3	0	11	3	0	11
<i>S. xylosum</i> (n=5)	2	0	3	2	0	3	1	0	4	0	0	5
<i>S. epidermidis</i> (n=2)	2	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	2
<i>S. cohnii</i> (n=1)	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1
Spolu	27	0	12	29	0	10	11	0	28	5	0	34

U koaguláza-negatívnych stafylokokov bolo zatriedených 9 izolátov do skupiny rezistentných stafylokokov na oxacilín (tab. 1). Ich MIC bola na hraničnej hodnote rezistencie = 0,5 mg.l⁻¹. Okrem toho, u dvoch kmeňov *S. warneri* bola súčasne zistená rezistencia na penicilín a ampicilín. U jedného kmeňa *S. pasteurii* bola potvrdená rezistencia na všetky testované β-laktámové antibiotiká. U tohoto izolátu bola potvrdená prítomnosť *mecA* génu, zodpovedného za produkciu PBP2a.



Graf 1: Percentuálny podiel rezistentných stafylokokových izolátov z mäsa kráľika divého voči β -laktámovým antibiotikám

Na základe uvedených výsledkov možno konštatovať, že z celkového počtu 39 stafylokokových izolátov z mäsa kráľika divého bola potvrdená rezistencia na všetky testované β -laktámové antibiotiká a najväčšia citlivosť bola potvrdená voči cefoxitínu (34 izolátov; tab. 1). U žiadneho stafylokokového izolátu nebola potvrdená intermediárna citlivosť voči β -laktámové antibiotiká. Na tieto skutočnosti poukazujú aj mnohí autori, ktorí prezentujú vo svojich prácach výskyt rezistentných kmeňov *S. aureus* a koaguláza-negatívnych stafylokokov izolovaných aj z potravín pochádzajúcich zo zveriny.

Pipová et al. (2012) pomocou MALDI TOF spektrometrie identifikovala kmene izolované z kráľika divého ako: *S. warneri* (45.1%), *S. epidermidis* (21.2%), *S. pasteurii* (13.3%), *S. xylosum* (8.0%), *S. capitis* (7.1%), *S. haemolyticus* (1.8%) and *S. cohnii ssp cohnii* (1.8%). U týchto izolátov potvrdila najčastejšie rezistenciu voči ampicilínu (78%) a najväčšiu citlivosť, stafylokokových izolátov, na cefoxitín, čo koreluje z našimi výsledkami. Ďalšou štúdiou sa zaoberali Mártónová et al. (2008), ktorí potvrdili na základe výsledkov agarovej dilučnej metódy u štyroch koaguláza-negatívnych stafylokokov z 25 izolátov získaných zo stehennej svaloviny bažanta obyčajného rezistenciu na penicilín, ampicilín, oxacilín a meticilín. U troch z týchto izolátov bola potvrdená aj prítomnosť *mecA* génu. Podobne, aj v našej štúdii bola prítomnosť *mecA* génu potvrdená u jedného izolátu *S. pasteurii*, ktorý bol rezistentný na všetky testované β -laktámové antibiotiká.

Záver

Záverom môžeme konštatovať, že prítomnosť stafylokokov rezistentných voči β -laktámovým antibiotiká je v celom ekosystéme. To potvrdila aj naša štúdia, kde prítomnosť rezistentných stafylokokových kmeňov voči β -laktámovým antibiotiká bola dokázaná v mäse voľne žijúcich zvierat, konkrétne kráľika divého.

Literatura

Bruker Daltonics, MALDI Biotyper 2.0. Software for microorganism identification and classification user manual. 2008.

CLSI document M07 – A9. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard, Tenth edn. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA. 2015a, 88 s.

CLSI document M100 – S25. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-Fifth informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, PA, USA. 2015b, 238 s.

Deresinski, S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an evolutionary, epidemiologic, and therapeutic odyssey. In *Clinic. Infect. Diseases*. ISSN 1058-4838, 2005, roč. 40, č. 4, s. 562-573.

Deurenberg, R. H. et al. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. In *Clin. Microbiol. Infect.* ISSN 1469-0691, 2007, roč. 13, č. 3, s. 222-235.

Mártonová, M. et al. The use of PCR method in the detection of pathogenicity and antibiotic resistance of staphylococci isolated from farm pheasants. In *J. Agrobiol.* ISSN 1803-4403, 2008c, roč. 25, č. 1, s. 105-107.

National Food Institute, DTU. Protocol Multiplex PCR for the detection of the *mecA* gene [online]. 2008 [cit. 2013-10-29]. Dostupné na internete: <http://www.crl-ar.eu/data/images/meca-pcr_protocol%2006.02.08.pdf>.

Pipová, M. et al. Antimicrobial resistance and species identification of staphylococci isolated from the meat of wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in Slovakia. In *Eur. J. Wildl. Res.* ISSN 1612-4642, 2012, roč. 58, č. 1, s. 157-165.

STN EN ISO 6887-2/01. Mikrobiológia potravín a krmív. Úprava analytických vzoriek, príprava základnej suspenzie a desaťnásobných riedení na mikrobiologické skúšanie. Časť 2: Špecifické pokyny na úpravu mäsa a mäsových výrobkov. Bratislava, SR: SÚTN. 2003, 19 s.

STN EN ISO 6888-1/A1. Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda stanovenia počtu koaguláza-pozitívnych stafylokokov (*Staphylococcus aureus* a ďalšie druhy). Časť 1: Metóda s použitím Bairdovho-Parkerovho agarového média. Bratislava, SR: SÚTN. 2004, 14 s.

Strommenger B. et al. Multiplex PCR assay for simultaneous detection of nine clinically relevant antibiotic resistance genes in *Staphylococcus aureus*. In *J. Clin. Microbiol.* ISSN 0095-1137, 2003, roč. 41, č. 9, s. 4089-4094.

Ubukata, K. et al. Homology of *mecA* gene in methicillin-resistant *Staphylococcus haemolyticus* and *Staphylococcus simulans* to that *Staphylococcus aureus*. In *Antimicrob. Agents Chemother.* ISSN 0066-4804, 1990, roč. 34, č. 1, s. 170-172.

Pod'akovanie

Táto práca bola podporená projektom VEGA 1/0705/16.

Kontaktná adresa:

MVDr. Ivana Regecová, PhD., UVLF v Košiciach, Katedra hygieny a technológie potravín, Ústav hygieny a technológie mäsa, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika.

Porovnanie oxidačných procesov tukov v mäse a v mäsových výrobkoch

A comparison of fat oxidation processes in meat and in meat products

Reitznerová, A.¹, Šuleková, M.², Nagy, J.¹, Marcinčák, S.¹

¹Katedra hygieny a technológie potravín, ²Katedra chémie, biochémie a biofyziky
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Súhrn

Malóndialdehyd (MDA), ako hlavný sekundárny oxidačný produkt, možno stanoviť spektrofotometricky ako komplex s kyselinou tiobarbiturovou (MDA-TBA) pri vlnovej dĺžke 532 nm, a vysokoúčinnou kvapalinovou chromatografiou (HPLC) po derivatizácii s 2,4-dinitrofenylhydrazínom (MDA-DNPH) pri 307 nm. Hodnoty MDA získané pomocou HPLC sú presnejšie, nakoľko nedochádza k nadhodnoteniu obsahu MDA počas analýzy vzorky.

Kľúčové slová: malóndialdehyd, oxidácia, HPLC

Abstract

The malondialdehyde (MDA), as a main secondary oxidation product, can be determined spectrophotometrically as a complex with thiobarbituric acid (TBA-MDA) at a wavelength of 532 nm, and by high performance liquid chromatography (HPLC) by derivatization with 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH-MDA) at 307 nm. MDA values obtained by HPLC are more precise because there is no overstatement of the MDA value during sample analysis.

Úvod

Jednou z najčastejších príčin zhoršovania kvality či už mäsa, alebo mäsových výrobkov, je oxidácia lipidov spojená so vznikom mnohých nežiaducich látok (Bobko et al., 2012). Hydroperoxydy, primárne produkty oxidácie lipidov, sú bezfarebné, bez chuti a zápachu. Ich kvantifikácia je zložitá vzhľadom na nestabilitu a reaktívnu povahu týchto zlúčenín (Fenaille et al., 2001; Lovrić et al., 2008). Rozkladajú sa na aldehydy, ketóny, alkoholy, kyseliny alebo uhl'ovodíky. Tieto takzvané sekundárne oxidačné produkty môžu meniť kvalitu potravín (farbu, textúru, chuť a vôňu) (Mendes et al., 2009; Warriss, 2000).

Posúdenie peroxidácie lipidov sa zvyčajne vykonáva analýzou sekundárnych oxidačných produktov, ako je malóndialdehyd (MDA). Kondenzácie MDA s dvoma molekulami kyseliny 2-tiobarbiturovej (TBA) sa široko používajú na meranie rozsahu oxidačného zhoršenia lipidov v biologických a potravinových systémoch. Absorbancia komplexu sa meria spektrofotometricky alebo spektrofluorometricky. Tieto metódy kvantifikácie sú nešpecifické a môžu viesť k nadhodnotenému obsahu MDA (Fenaille et al., 2001), pretože TBA reaguje nielen s MDA, ale tiež s mnohými ďalšími zlúčeninami (sacharidmi, aminokyselinami, pigmentmi) (Mateos et al., 2005).

Z tohto dôvodu boli vyvinuté citlivejšie a špecifickejšie metódy HPLC, založené na derivatizácii s kyselinou tiobarbiturovou (Marcinčák et al., 2006). Špecifickejšími derivatizačnými činidlami pre MDA sú fenylylhydrazín a jeho deriváty

(2,4,6-trichlorofenylhydrazín; 2,4-dinitrofenylhydrazín) alebo diaminoftalén. Po derivatizácií vzorky nasleduje HPLC separácia s UV/VIS detekciou, alebo sa využíva kombinácia plynovej chromatografie s hmotnostným detektorom (GC-MS) alebo detektorom elektrónového záchytu (GC-ECD) (Matějčková et al., 2011). Derivatizácia MDA musí byť vykonaná vhodným derivatizačným činidlom za takých podmienok, aby nedochádzalo k nadhodnoteniu výsledkov ďalšou tvorbou MDA počas derivatizácie. Derivatizácia MDA s 2,4-dinitrofenylhydrazínom (DNPH) produkuje DNPH deriváty s intenzívnou žltou farbou, ktoré sú rýchlo, jednoducho a hlavne kvantitatívne detegované s UV detektorom (Marcinčák et al., 2006). Cieľom práce je stanovenie MDA pomocou HPLC po derivatizácii s 2,4-dinitrofenylhydrazínom v mäse a mäsových výrobkoch.

Materiál a metodika

Mäso a mäsové výrobky boli zakúpené v obchodnej sieti. Mäso bolo zakúpené ako čerstvé nebalené mäso (bravčové plece a stehno, hovädzie plece a stehno), ako balené v ochrannej atmosfére (bravčové mäso, stehno plátky, chladené) a porciované, balené na polystyrénovej (PS) tácke (bravčový minútkový steak, bravčové karé). Z mäsových výrobkov boli zakúpené mäkké mäsové výrobky, balené v ochrannej atmosfére (berlínske, bratislavské a viedenské párky). V odobraných vzorkách bol stanovený podiel tuku extrakčnou metódou podľa Soxhleta (Popelka et al., 2009). Rozsah oxidačných procesov bol zistený na základe miery sekundárneho poškodenia tukov, podmienenej oxidáciou nenasýtených mastných kyselín. Vzorky mäsa a mäsových výrobkov boli analyzované pomocou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie. Hodnoty obsahu malónďaldehydu získaného ako komplex MDA s 2,4-dinitrofenylhydrazínom (MDA-DNPH) boli detegované DAD detektorom pri 307 nm (Marcinčák et al., 2006).

Výsledky a diskusia

Stanovený priemerný obsah tuku bol v čerstvom nebalenom mäse (bravčové plece 10,56 %, bravčové stehno 4,74 %, hovädzie plece 4,97 % a hovädzie stehno 3,85 %); v balenom mäse (bravčové stehno 5,80 % a bravčové karé 1,83%); v mäsových výrobkoch (berlínske párky 30,22 %, bratislavské párky 36,41 %, viedenské párky 33,78 %).

Oxidačná stabilita úzko súvisí s kvalitou čerstvého a spracovaného mäsa (Wen et al., 2015). Všeobecne platí, že náchylnosť tukov na oxidačné zhoršenie sa zvyšuje so stupňom nenasýtenosti, teda ich oxidačná stabilita sa zhorší s rastúcou úrovňou MUFA a najmä PUFA (Shahidi, Zhong, 2010; Tkáčová a Angelovičová, 2013). Preto sú ryby náchylnejšie ako hydínové mäso, ktoré je naopak citlivejšie ako červené mäso. Pričom bravčové mäso je citlivejšie ako hovädzie (Warriss, 2000). Hovädzie *m. longissimus dorsi* obsahuje 4,4 % tuku z toho je 4,9 % PUFA, zatiaľ čo bravčové *m. longissimus dorsi* obsahuje 4,5 % tuku (5,3 % PUFA). Hovädzie *m. semimembranosus* obsahuje 3,5 % tuku z toho je 6,6 % PUFA, pričom bravčové *m. semimembranosus* obsahuje 3,3 % tuku a z toho je až 9,2 % PUFA (Erickson, 2002).

Napriek tomu, že mastné kyseliny v tkanive podliehajú oxidácii po zabití zvierat v dôsledku zastavenia krvného obehu a blokovania metabolických procesov (Alonso et al., 2015), MDA-DNPH pík nebol zdetegovaný v čerstvom mäse.

Balenie potravín do ochrannej atmosféry (angl. „modified atmosphere packaging” MAP) patrí v súčasnosti k bežne používaným postupom, ktoré chránia skladované potraviny pred nežiaducimi vplyvmi, napr. oxidačno-redukčnými reakciami, ale i pred zmenami vlhkosti a nežiaducimi mikrobiálnymi procesmi. Pri balení potravín v modifikovanej atmosfére (MAP) sa využívajú najčastejšie tri základné plyny: CO₂, O₂ a N₂. Pre balenie čerstvého mäsa určeného k priamemu predaju sa využíva predovšetkým zmes plynov obsahujúca 70 – 80 % O₂ a 20 – 30 % CO₂ (Masláková, 2014). Výhodou tejto zmesi plynov je to, že vysoký obsah kyslíka zlepšuje farbu a farebnú stálosť, a vysoký obsah oxidu uhličitého má bakteriostatický efekt (McMillin, 2008; Suman et al., 2015). Hlavnou nevýhodou MAP je, že môže viesť k rýchlejšiemu rozvoju oxidácie lipidov, ktoré môžu negatívne ovplyvniť senzorickú a nutričnú kvalitu mäsa (Ferioli et al., 2008).

V bravčovom stehne (balené v ochrannej atmosfére) bola koncentrácia MDA 11,73 ng.ml⁻¹. MDA-DNPH signál nebol získaný v prípade vzorky bravčového karé, balenom na PS tácke. Pri využití technológie obyčajného balenia dominuje aplikácia podložných misiek s vhodnou fóliou, bez evakuácie vzduchu alebo modifikácie zloženia vzduchu uzatvoreného v obale. Táto technológia balenia iba obmedzuje sekundárnu kontamináciu mäsa a nepredlžuje trvanlivosť mäsa, ktorá dosahuje od jeho uloženia v predajni k spotrebe zákazníkom často len 3-4 dni. Považuje sa za balenie krátkodobé, transportné (Masláková, 2014).

Mäsové výrobky sú z nutričného hľadiska menej vhodné potraviny ako chudé mäso, snád' s výnimkou šunky. Je to spôsobené tým, že väčšina týchto výrobkov má vysoký obsah tuku (Zeľňáková et al., 2010). Pri spracovaní mäkkých mäsových výrobkov vplýva viacero faktorov (rezanie, mletie, miešanie, tepelné opracovanie) na vznik oxidačných produktov lipidov. Mletím sa narušuje bunková integrita svalového tkaniva, lipidy sú viac prístupné oxidatívnym katalyzátorom, znižujú sa antioxidanty a zvyšuje sa prístup tkaniva ku kyslíku (Erickson, 2008). Sekanie, mletie alebo ohrievanie svalového tkaniva spôsobujú vysokú mieru peroxidácie. Svalový rozpad má za následok nízke, ale významné uvoľnenie vysoko nenasýtených membránových fosfolipidov a Fe²⁺ iónov z myoglobínu. Toto nehemové železo je účinným katalyzátorom peroxidácie lipidov (Belitz, 2009).

Vyššie obsahy MDA boli namerané v mäkkých mäsových výrobkoch (bratislavské párky 183,89 ng.ml⁻¹, viedenské párky 80,07 ng.ml⁻¹, pričom vo vzorke berlínskych párkov nebol chromatograficky zachytený pík MDA-DNPH).

Záver

Na množstvo malón dialdehydu v mäse a mäsových výrobkov vplýva čerstvosť a podmienky ich spracovania a skladovania. Hodnoty MDA pri porovnaní čerstvého a baleného mäsa boli nulové v čerstvom mäse, v balenom mäse bol MDA zaznamenaný iba v bravčovom stehne, kvôli vyššiemu podielu tuku ako v bravčovom karé. Vyššie hodnoty MDA boli namerané v párkoch, ktoré sú počas spracovania vystavené viacerým faktorom, spôsobujúcich oxidáciu tukovej zložky mäsových výrobkov.

Literatúra

Alonso, V. et al.: The inclusion of Duroc breed in maternal line affects pork quality and fatty acid profile, In *Meat Science*, 2015, no. 107, p. 49-56.

- Belitz, H.-D., et al.: *Food Chemistry*, 4 th revised and extended ed., Springer-Verlag Berlin heidelberg, 2009. 1070 p. ISBN 978-3-540-69933-0.
- Bobko, M. et al.: Oxidačná stabilita mäsového výrobku po rozdielnej aplikácii pamajoránu, In *Recenzovaný zborník prednášok a posterových prezentácií z medzinárodnej vedeckej konferencie Hygiena alimentorum XXXV*, 2012, ŠVPS SR. p.37-40. ISBN 978-80-8077-401-1.
- Erickson, M. C.: *Lipid oxidation in muscle foods*, In AKOH, C. C. – MIN, D. B.: *FOOD LIPIDS Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, third edition. CRC Press: Taylor & Francis Group, 2008. p.930. ISBN-13: 978-1-4200-4663-2.
- Erickson, M.C.: *Lipid oxidation of muscle foods*, In AKOH, C.C. – IN, D. B.: *FOOD LIPIDS Chemistry, Nutrition and Biotechnology*, second edition. New York, 2002, 1014 p. ISBN: 0-8247-0749-4.
- Fenaille, F. et al.: Comparison of analytical techniques to quantify malondialdehyde in milk powders, In *Journal of Chromatography A*, 2001, Vol.921, Is.2, p.237–245.
- Feroli, F. et al.: Evaluation of cholesterol and lipid oxidation in raw and cooked minced beef stored under oxygen-enriched atmosphere, In *Meat Science*, 2008, no. 80, p.681-685
- Marcinčák, S. et al.: Stanovenie malondialdehydu v bravčovom mäse s použitím extrakcie na tuhej fáze a HPLC. In *Chemické listy*, 2006 vol. 100, p.528-532.
- Masláková, E.: Súčasný trendy v balení čerstvého mäsa a rýb, Bakalárska práca, UTB ve Zlíně, Fakulta technologická, 2014, s.165.
- Matějčková, J. et al.: Monitorování malondialdehydu u pacientek s karcinomem dělohy a vaječníků pomocí HPLC, In *Chemické listy*, vol. 105, p. 375-380.
- Mateos, R. et al.: Determination of malondialdehyde (MDA) by high-performance liquid chromatography in serum and liver as a biomarker for oxidative stress Application to a rat model for hypercholesterolemia and evaluation of the effect of diets rich in phenolic antioxidants from fruits, In *Journal of Chromatography B*, 2005, no. 827, p.76-82.
- Mcmillin, K.W.: Where is MAP going? A review of future potential of modified atmosphere packaging for meat, In *Meat Science*, 2008, no. 80, p.43–65.
- Mendes, R. et al.: Measurement of malondialdehyde in fish: A compariosn study between HPLC methods and the traditional spectrophometric test, In *Food Chemistry*, 2009, no. 112, p.1038-1045.
- Popelka, P. et al.: *Laboratorne vyšetrenie mäsa a mäsových výrobkov*. Prvé vydanie. Edičné stredisko UVL v Košiciach, 199 s., 2009. ISBN 978-80-8077-160-7.
- Shahidi, F. - Zhong, Y.: Lipid oxidation and improving the oxidative stability, In *Chemical Society Reviews*, 2010. Vol.39, p. 4067–4079.
- Suman, S. P. et al.: Packaging-specific influence of chitosan on color stability and lipid oxidation in refrigerated ground beef, In *Meat Science*, 2015, no. 86, p.994-998.
- Tkáčová, J. - Angelovičová, M.: Asseesment of fat quality during storage chicken meat, In *Potravinárstvo*, 2012, Vol.6, no.2, p.57-59.
- Warriss, P. D.: *Meat Science An Introductory Text*, CAB International, 2000, p. 310. ISBN 0-85199-424-5.
- Wen, W. et al.: Post-mortem oxidative stability of three yak (*Bos grunniens*) muscles as influenced by animal age, In *Meat Science*, 2015, 105, p. 121-125.
- Zeleňáková, L. et al.: Influence of soft meat products storage on their microbiological safety, In *Potravinárstvo*, 2010. Vol. 4, p.69-73.

Pod'akovanie: Spracovanie príspevku bolo podporené z grantového projektu MŠ SR KEGA č. 011 UVLF-4/2015 a VEGA č. 1/0457/14.

Kontaktná adresa:

MVDr. Anna Reitznerová.

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

E-mail:anna.reitznerova@student.uvlf.sk

Senzorické hodnotenie syrov s plesňou na povrchu počas skladovania

Sensory evaluation of surface-ripened soft cheeses during storage

Semjon, B., Maľa, P., Maľová, J., Mitrová, A., Výrostková, J.

Ústav hygieny a technológie mlieka, Katedra hygieny a technológie potravín, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Súhrn

Cieľom tejto práce bolo senzoricky zhodnotiť a porovnať vybrané druhy plesňových syrov zakúpených v bežne dostupnej obchodnej sieti, počas skladovania jeden mesiac. Vo všetkých vzorkách syrov posudzovatelia ohodnotili charakteristiku chuti a vône vzorky po skladovaní nižším počtom bodov ako pred skladovaním. Bodové hodnotenie farby všetkých vzoriek syrov po skladovaní získalo naopak vyššie bodové ohodnotenie ako na začiatku skladovania.

Kľúčová slova: *senzorické hodnotenie, kvalita, syry s plesňou na povrchu*

Abstract

The aim of this study was sensory evaluation and comparison of each chosen surface ripened cheese samples, bought in sales network, during storage time of one month. In each samples evaluators judged taste and smell characteristics with lower point score after storage time. Point score of cheese colour samples after storage was higher, than at the beginning of storage.

Key words: *sensory evaluation, quality, surface-ripened cheese*

Úvod

Medzi najčastejšie a najstaršie vyrábané mliečne výrobky patria syry. História plesňových syrov, ako je Gorgonzola a Roquefort siaha do stredoveku. Syr camembert bol objavený neskôr. Syry tvoria základ ľudskej výživy kvôli obsahu plnohodnotných bielkovín, laktózy a mliečného tuku. Práve tuk prispieva k senzorickej akosti syrov – vôňa, chuť, farba, textúra. Obsah laktózy je v syroch podstatne nižší ako v samotnom mlieku. Sú základným zdrojom vápnika a ďalších dôležitých minerálnych látok ako aj vitamínov. Produkcia plesňových syrov sa sústreďuje najmä do dvoch európskych krajín. V Taliansku najznámejšia Gorgonzola a vo Francúzsku Camembert a Roquefort (Mitrová, 2016).

Metodika

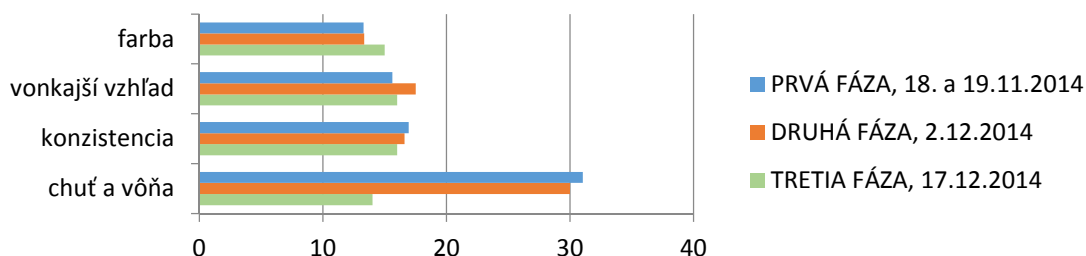
Pre senzorickú analýzu vybraných skupín syrov sme využili hodnotenia hodnotiteľov počas prvých dvoch etáp hodnotenia, študentov Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, ktorí základné vedomosti o hodnotení potravín získali počas štúdiá na predmete Senzorická analýza potravín. Senzorickú analýzu vykonávali taktiež odborní posudzovatelia, zo štruktúry pedagogických a vedeckých pracovníkov pracujúcich na Ústave hygieny a technológie mlieka UVLF v Košiciach. Školenie hodnotiteľov z prvých etáp analýz a taktiež aj senzorické hodnotenie prebiehalo

v laboratóriu Ústavu hygieny a technológie mlieka na UVLF v Košiciach a v priestoroch Špecializovaného senzorického laboratória v Inštitúte vzdelávania veterinárnych lekárov v Košiciach. Na hodnotenie sme používali syry zakúpené v bežne dostupnej obchodnej sieti. V tejto práci sme hodnotili tieto syry s plesňou na povrchu (Vzorka A – Camembert; Vzorka B – Hermelín; Vzorka C – Encián). Senzorickú analýzu vykonávali hodnotitelia formou bodového testu. Do vopred pripravených protokolov hodnotitelia analyzovali bodovo v rozpätí 0 – 35 charakteristiku a kvalitu farby a vnútorného vzhľadu, vonkajší vzhľad, konzistenciu, chuť a vôňu. Pri profilovom teste sme použili techniku okolo guľatého stola, kde každý hodnotiteľ vyplňal protokol senzorického profilu, kde hodnotil jednotlivé deskriptory dielčej chuti a vône, a takisto aj vzhľadu a konzistencie intenzitnou škálou deskriptorov od 1 - 6 (1 - nevnímateľná, 2 - veľmi slabo vnímateľná, 3 - slabo vnímateľná, 4 - vnímateľná, 5 - silno vnímateľná, 6 - veľmi silno vnímateľná).

Výsledky

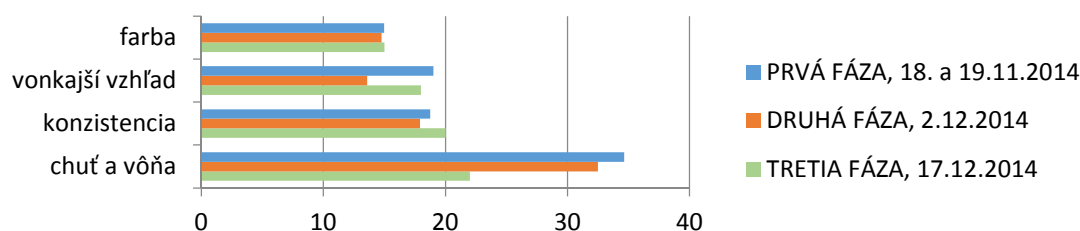
Senzorické posudzovanie na začiatku, počas a na konci skladovania vybraných vzoriek syrov poukazujú na zmenu v jednotlivých charakteristikách vzoriek syrov. Doba skladovania syrov počas, ktorej sme vykonali posudzovanie syrov je obdobie jedného mesiaca. Farba vzorky A bola nezvyčajne prekvapivo najvyššie ohodnotená v tretej fáze po mesačnom skladovaní. Vonkajší vzhľad najvyššie ohodnotenie získal v druhej fáze po dvojtýždňovom skladovaní. Konzistencia, chuť a vôňa bola ohodnotené najvyšším počtom bodov v prvej fáze a najnižším vo fáze tretej. Výrazná zmena nastala pri bodovom hodnotení chuti a vône medzi prvou a treťou fázou, v ktorej výrazne poklesla (Graf 1).

Graf č. 1: Sumárne výsledky bodovej sústavy (vzorka A)



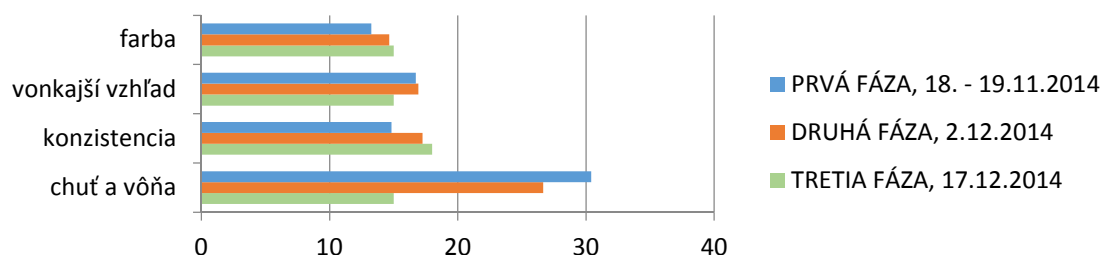
Farba vo všetkých troch fázach bola ohodnotená pri vzorke B pomerne rovnako s malými odchýlkami. Vonkajší vzhľad bol najvyššie ohodnotený v prvej fáze a najnižšie vo fáze druhej. Bodové hodnotenie konzistencie získalo najviac bodov vo fáze tretej. Bodové ohodnotenie chuti a vône postupne klesalo od prvej k tretej fáze (Graf 2).

Graf č. 2: Sumárne výsledky bodovej sústavy (vzorka B)



Vo farbe vzorka C získala vyrovnané hodnotenie v prvých dvoch fázach a najviac bodov v tretej fáze hodnotenia, po mesačnom skladovaní. Za vonkajší vzhľad získal najvyššie bodové ohodnotenie v druhej fáze a najmenej vo fáze tretej. Konzistencia, tak ako farba bola ohodnotená paradoxne najnižším počtom bodov v prvej fáze a najvyšším vo fáze tretej. Chuť a vôňa najvyšší počet bodov získali v prvej fáze a najmenej v tretej fáze (Graf 3).

Graf č. 3: Sumárne výsledky bodovej sústavy (vzorka C)



Tabuľka 1 popisuje senzoričný profil vzoriek syrov pred a po skladovaní, kde sú číselne vyjadrené zmeny intenzity jednotlivých deskriptorov pred a po skladovaní vzoriek A, B a C.

Tabuľka 1: Senzoričný profil vzoriek pred a po skladovaní

DIELČIA CHUŤ A VÔŇA	pred skladovaním			po skladovaní			VZHĽAD A KONSISTENCIA	pred skladovaním			po skladovaní		
	A	B	C	A	B	C		A	B	C	A	B	C
	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}		\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}
jemná	4,00	4,50	4,67	2,67	4,33	2,83	rovnomerná pleseň	5,17	4,83	4,67	3,83	5,00	3,67
syrovo - hubová	4,50	4,33	4,00	4,17	3,50	4,00	odpadávajúca pleseň	1,00	1,50	1,00	1,83	1,33	1,67
pikantná	1,83	2,00	2,83	1,67	1,67	2,67	bielošedý maz	1,50	1,33	1,33	1,50	1,33	1,17
slaná	3,17	3,33	4,67	3,33	2,67	3,17	mliečno syrová farba	5,17	4,00	4,50	4,33	3,83	3,83
kyslá	2,00	3,50	2,33	1,50	1,83	2,67	bledá až tmavá farba	1,50	2,50	1,83	2,00	1,67	1,67
hor ká	2,83	2,83	4,50	4,33	3,00	5,17	uzatvorená konzistencia	4,17	4,17	4,83	4,83	5,00	4,83
zatuchlá	1,17	1,33	1,67	1,00	1,33	3,17	drobivá konzistencia	1,17	1,00	1,33	1,00	1,00	1,00
hnilobná	1,00	1,33	1,17	1,00	1,00	1,67	roztekajúca konzistencia	1,00	3,83	1,33	1,00	1,33	1,17

Záver

Kvalita vybraných druhov syrov pri senzorickej analýze bola nástrojom na podrobnejšie hodnotenie charakteristík a organoleptických vlastností. Vo všetkých vzorkách syrov posudzovatelia ohodnotili vzorky syrov v chuti a vôni po skladovaní horšie ako pred skladovaním. Farba vzoriek syrov bola naopak po skladovaní ohodnotená hodnotiteľmi vyšším počtom bodov ako na začiatku skladovania.

Literatúra

Mitrová, A. *Senzorické hodnotenie plesňových syrov*: diplomová práca. Košice: UVLF, 2016. 98s.

PodĎakovanie

Práca bola podporená grantom KEGA č. 005 UVLF-4/2015.

Kontaktná adresa:

MVDr. Boris Semjon

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

E-mail: boris.semjon@gmail.com

Antioxidačný potenciál Bedli vysokej (*Macrolepiota procera*) *Antioxidant potential of Parasol mushroom (Macrolepiota procera)*

Strapáč, I., Klátik, M., Baranová, M.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Súhrn

Cieľom tejto práce bolo skúmať metanolové a vodné extrakty z plodníc Bedli vysokej (*Macrolepiota procera*). Spektrofotometrickými metódami bol stanovený obsah látok s antioxidačnými vlastnosťami ako sú celkové fenoly, celkové flavonoidy, β -karotény a lykopén. Výsledky ukázali, že vodné extrakty obsahujú vyšší obsah celkových fenolových látok aj flavonoidov (718,6 a 528,5 mg GAE.dm⁻³) v porovnaní s metanolovými extraktmi (255,4 a 260,9 mg GAE.dm⁻³). Obsah β -karoténu a lykopénu bol nízky (2,551 mg.g⁻¹ DW a 1,885 mg.g⁻¹ DW). Metanolový extrakt z plodníc Bedli vysokej (*Macrolepiota procera*) vykazoval 89,7%-nú inhibičnú aktivitu DPPH voľných radikálov. Hodnota IC₅₀ metanolového extraktu pod 10 mg.ml⁻¹ (1,419 mg.ml⁻¹) indikovala vysoký antioxidačný potenciál Bedli vysokej.

Kľúčové slová: *Bedľa vysoká (Macrolepiota procera), antioxidačné vlastnosti, celkové fenoly, celkové flavonoidy, β -karotény a lykopén*

Abstract

The aim of this study was to examine methanolic and water extracts from fruiting body of *Macrolepiota procera*. The content of components with antioxidant properties as total phenols, total flavonoids, β -carotene, and lycopene were determined by spectrophotometric methods. Results showed that water extracts have higher content of total phenols and total flavonoids (718.6 and 528.5 mg GAE.dm⁻³ respectively) in compare with methanolic extracts (255.4 a 260.9 mg GAE.dm⁻³ respectively). The contents of β -carotene and lycopene were low (2.551 mg.g⁻¹ DW a 1.885 mg.g⁻¹ DW respectively). Methanolic extract from fruiting body of *Macrolepiota procera* inhibited scavenging activity of DPPH free radicals on 89.7%. Value of IC₅₀ of methanolic extract less than 10 mg.ml⁻¹ (1.419 mg.ml⁻¹) indicates high antioxidant potential of fruiting body of *Macrolepiota procera*.

Keywords: *Macrolepiota procera; antioxidant property; total phenols, total flavonoids, β -carotene, and lycopene*

Úvod

Bedľa vysoká (*Macrolepiota procera*) rastie jednotlivo i v skupinkách v období vrcholiaceho leta až do jesene na presvetlených miestach rôznych druhov lesa, na lesných lúkach a rúbaniskách. Veľké klobúky na vysokých stonkách pripomínajú dáždňiky (Parasol mushrooms). Je to výborná jedlá huba, vhodná na vyprážanie. Sušená sa používa ako korenina na dochucovanie jedál. Pri oxidačno-redukčných reakciách v aerobných bunkách vznikajú okrem iného aj reaktívne formy kyslíka, voľné kyslíkové radikály. Porušenie rovnováhy medzi potrebou kyslíka a prebytkom voľných

kyslíkových radikálov v bunkách, vedie ku oxidačnému stresu, môže dôjsť k porušeniu bunecných membrán, a v konečnom dôsledku k poškodeniu organizmu. Nekomrolovaná produkcia reaktívnych foriem kyslíka je spúšťáčom mnohých chorôb ako je rakovina, ateroskleróza, poškodenie pečene, degeneratívne procesy spojené s peroxidáciou lipidov bunecných stien a inhibíciou proteosyntézy a mnohých iných chorôb (Lung et al., 2010; Turkoglu, 2007). Na ochranu buniek pred reaktívnymi formami kyslíka sú aerobné organizmy vybavené enzymatickými systémami, ktoré likvidujú voľné radikály. V súčasnosti sa hľadajú nové zdroje prírodných antioxidantov. Jedným zo zdrojov antioxidantných látok sú jedlé huby *Basidiomycety*. Cieľom predkladanej práce bolo stanoviť v plodniciach Bedli vysokej (*Macrolepiota procera*) obsah niektorých látok o ktorých sa predpokladá, že majú antioxidantné vlastnosti.

Materiál a metódy

Ako experimentálny materiál sme použili homogénny prášok z vysušených plodníc Bedli vysokej (*Macrolepiota procera*), pochádzajúcej z katastra obce Beša. Na analýzu sledovaných parametrov sme použili vodný alebo metanolový extrakt, ktorý sme pripravili tak, že 100 mg vzorky sme extrahovali 2 ml vody, alebo metanolu po dobu 24 hodín za občasného intenzívneho premiešania pri 8 °C v chladničke. Po vytemperovaní na laboratórnu teplotu, extrakčnú zmes sme prefiltrovali a filtrát sme použili na stanovenie. Na stanovenie lykopénu a β -karoténu sme huby extrahovali zmesou rozpúšťadiel acetón a n-hexán v pomere 4:6. Celkové fenolické látky sme stanovili mikrometódou s Folin-Ciocalteu reagenčným činidlom (Sigma, USA) podľa metódy popísanej Waterhouse (2003). Stanovenie celkových flavonoidov sme robili podľa metódy, ktorú publikovali Konczak et al. (2012). Obsah lykopénu a β -karoténu sme stanovili spektrofotometrickou metódou podľa Nagata and Yamashita (1992) a Dasgupta et al. (2013). Stanovenie vychytávacej aktivity metanolových extraktov z húb sme robili podľa metodiky Tsai et al. (2007). Všetky použité chemikálie a voda boli čistoty suprapur a p.a. Na stanovenie kalibračných kriviek sme pri stanovení celkových fenolických látok použili kyselinu gálovu (Fisher Scientific, UK) a kyselinu askorbovú (LACHNER s.r.o., Česká republika) sme použili pri stanovení inhibičnej aktivity metanolového extraktu z húb voči DPPH radikálom (Sigma, USA).

Výsledky a diskusia

Analýze boli podrobené čerstvo nazberané plodnice Bedli vysokej s vlhkosťou 84,98%. Huby boli vysušené pri 60 °C, zhomogenizované na jemný prášok, ktorý sme použili ako vstupný materiál pre všetky analýzy. Pracovali sme mikrometódou s návažkou 100 mg suchej hmoty a 2 ml extrakčného činidla. Zistili sme, že 1 ml metanolového extraktu obsahuje 14,3 mg metanolom extrahovateľných látok, čo je ekvivalentné 286 mg metanolom extrahovateľných látok v 1 grame zhomogenizovaných vysušených plodníc Bedli vysokej. Priemerný obsah celkových fenolových látok (TP), celkových flavonoidov (TF), β -karoténu a lykopénu je uvedený v Tabuľke 1. Vychytávacia aktivita metanolového extraktu z Bedli vysokej voči DPPH radikálom je uvedená v Tabuľke 2.

Tabuľka 1: Priemerný obsah celkových fenolových látok, celkových flavonoidov, β -karoténu a lykopénu v extraktoch z Bedli vysokej.

<i>Macrolepiota procera</i> Merané veličiny	Priemer mg GAE.dm ⁻³	Priemer mg GAE.g ⁻¹ DW	Priemer μ g GAE.mg ⁻¹ DME
Celkové fenolové látky			
Metanolvý extrakt	255,4	5,1	17,9
Vodný extrakt	718,6	14,4	nd
Celkové flavonoidy			
Metanolvý extrakt	260,9	5,2	18,2
Vodný extrakt	528,5	10,6	nd
Priemerný obsah			
	mg.100 ml ⁻¹	mg.g ⁻¹ DW	
Beta-karotén	0,0255	2,551	
Lykopén	0,0188	1,885	

Tabuľka 2: Vychytávacia aktivita metanolového extraktu z Bedli vysokej voči voľným DPPH radikálom.

Merané veličiny	% inhibície	mg AAE.dm ⁻³	mg AAE.g ⁻¹ DW	μ gAAE.mg ⁻¹ DME	IC ₅₀ mg.ml ⁻¹
Metanolvý extrakt	89,70%	127,5	2,55	8,92	1,419

Vysvetlivky: GAE = ekvivalent kyseliny gálovej; AAE = ekvivalent kyseliny askorbovej; DW = dry weight = suchá hmota; DME = suchý metanolvý extrakt; IC₅₀ = mg látky, ktoré spôsobia 50 % inhibíciu DPPH radikálov; nd = nestanovená veličina

Bedľa vysoká obsahuje fenolové látky aj flavonoidy. Z tabuľky č. 1 je evidentné, že voda je lepšie extrakčné činidlo pre tieto látky. V porovnaní s metanolom, do vody sa vyextrahovalo približne 2,8 krát viac TP látok. Pri TF do vody sa vyextrahovalo približne 2,03 krát viac ako do metanolu. K podobnému výsledku dospeli Lung and Chang (2011), ktorí extrahovali podobné látky z tkanivových kultúr *Armellaria mellea* horúcou vodou a metanolom. Výťažok extrakcie horúcou vodou bol podstatne vyšší ako výťažok extrakcie metanolom. Antioxidačná aktivita extraktov je v korelácií s obsahom konkrétnych antioxidantov v extraktoch (Lung et al., 2010; Liang, et al., 2009). Porovnanie obsahu TP látok a obsahu TF v metanolových extraktoch po prepočte na ekvivalenty kyseliny gálovej (GAE) sa dosiahli veľmi podobné výsledky pre gram suchých bedlí (5,1 a 5,2 mg GAE.g⁻¹ DW) a pre mg metanolom extrahovateľných látok (17,9 a 18,2 μ g GAE.mg⁻¹ DME). Z toho môžeme usudzovať na podobnosť zloženia TP látok a TF, ktoré sa vyextrahovali do metanolu. Vodné extrakty vykazujú väčšie rozdiely, čo poukazuje na to, že do vody sa extrahujú aj ďalšie látky, ktoré sa neextrahujú do metanolu. Analyzované vzorky Bedle vysokej vykazujú nízky obsah β -karoténov (2,551 mg.g⁻¹ DW) a lykopénu (1,855 mg.g⁻¹ DW). Fernández et al. (2013) v suchých plodniciach Bedli vysokej namerali β -karotén v hodnote 77 \pm 8 μ g.100⁻¹ g DW, čo je nižšia hodnota ako nami nameraná hodnota. Vishwakarma et al. (2016) zistili obsah β -karoténu v hodnote 0,025 \pm 0,61 μ g.mg⁻¹ DW a obsah lykopénu v hodnote 0,650 \pm 0,58 μ g.mg⁻¹ DW. Významným ukazovateľom antioxidačnej aktivity je vychytávacia aktivita voľných DPPH radikálov. Za daných experimentálnych podmienok, metanolvý extrakt z plodníc Bedli vysokej vykazuje 89,7% inhibíciu voľných DPPH radikálov, čo je ekvivalentné 127,5 mg AA na dm⁻³ roztoku a 2,55 mg AA na 1 gram suchých bedlí a je to ekvivalentné 8,92 μ g AA na mg metanolom extrahovateľných látok. Podobnú inhibičnú aktivitu dosiahli Lung and Chang (2011)

v metanolovom extrakte z tkanivových kultúr *Armillaria mellea*, kde dosiahli 83,2% inhibíciu DPPH radikálov pri koncentrácií 10 mg metanolového extraktu na 1 ml roztoku. Metanolové extrakty z rôznych druhov húb vykazujú rôznu inhibičnú aktivitu voči DPPH radikálom ako to vyplýva z práce Mau et al. (2004), ktorí pre metanolové extrakty z mycélií s koncentráciou 10 mg.ml⁻¹ stanovili inhibičnú aktivitu na 78,8% pre *Termitomyces albuminosus*, 79,4% pre *Grifola frondosa* a 94,1% pre *Morchella esculenta*.

Významným ukazovateľom antioxidačnej aktivity sú IC₅₀ hodnoty, ktoré určujú koľko mg extrahovateľných látok v 1 ml roztoku zníži na 50% aktivitu DPPH radikálov. Všeobecne platí, že čím nižšia je táto hodnota, tým je vyššia inhibičná aktivita. Extrakty majú dobré antioxidačné vlastnosti ak IC₅₀ hodnoty sú pod 10 mg.ml⁻¹ (Mau et al., 2004). Hodnota IC₅₀ 1,419 mg.ml⁻¹, ktorú sme stanovili pre metanolový extrakt z plodníc *Macrolepiota procera* je nižšia ako 10 mg.ml⁻¹, čo naznačuje, že Bedľa vysoká má dobré antioxidačné vlastnosti. Kosanič et al. (2016) zistili pre Bedľu vysokú vysoký potenciál vychytávacej aktivity s hodnotou IC₅₀ = 311,4 µg.ml⁻¹ DW, čo potvrdzuje naše výsledky.

Záver

Predkladaná práca charakterizuje plodnice Bedli vysokej (*Macrolepiota procera*) z hľadiska obsahu celkových fenolových látok, celkových flavonoidov, β-karoténu a lykopenú, látok o ktorých sa predpokladá, že majú antioxidačné vlastnosti. Výsledky získané analýzou metanolových a vodných extraktov potvrdzujú prítomnosť týchto látok v plodniciach Bedli vysokej. Metanolový extrakt vykazuje inhibičnú aktivitu voči DPPH voľným radikálom. Hodnota IC₅₀ metanolového extraktu je pod 10 mg.ml⁻¹, čo naznačuje vysoký antioxidačný potenciál plodníc *Macrolepiota procera*. Tento poznatok ich zaraďuje medzi chutné funkčné potraviny s možnosťou využiť ich antioxidačný potenciál vo farmaceutickom priemysle.

Literatúra

- Dasgupta, A., Rai, M. and Acarya, K. Chemical Composition and Antioxidant Activity of a Wild Edible Mushroom *Pleurotus labellatus*. In *International Journal of Pharm Tech Research*, 2013, Vol. 5. no. 4 p. 1655-1663. ISSN 0974-4304
- Fernandes, A., Barros, L., Barreira, J.C.M., Antonio, A.L., Oliviera, M. Beatriz P.P., Martins, A., Ferreira, I.C.F.R. Effects of different processing technologies on chemical and antioxidant parameters of *Macrolepiota procera* wild mushroom. *LWT- Food Science and Technology*, 2013, Vol. 54, p. 493-499
- Konczak, I., Sakulnarmrat, K., Bull, M. Potential physiological activities of selected Australian herbs and fruits. In *Rural Industries Research and Development Corporation* [online], 2012 [cit. 2016-03-17]. Dostupné na internete: <https://rirdc.infoservices.com.au/items/11-097>. ISSN 1440-6845
- Kosanič, M., Rankovič, B., Rančič, A., Stanojkovič, B. Evaluation of metal concentration and antioxidant, antimicrobial, and anticancer potentials of two edible mushrooms *Lactarius deliciosus* and *Macrolepiota procera*. *Journal of food and drug analysis*, 2016, xxx: 1-8 in press; www.jfda-online.com
- Liang, C.H., Syu, J.L., Mau, J.L. Antioxidant properties of solid-state fermented adlay and rice by *Phellinus linteus*. *Food Chem*, 2009, Vol. 116, p. 841-845.

- Lung, M.Y., Tsai, J.C., Huang, P.C. Antioxidant properties of edible basidiomycete *Phellinus igniarius* in submerged cultures. *J. Food Sci*, 2010, Vol. 75, p. E18-E24.
- Lung, M.Y., Chang, Y.C. Antioxidant Properties of the Edible Basidiomycete *Armillaria mellea* in Submerged Cultures. *Int. J. Mol. Sci*, 2011, Vol. 12, p. 6367-6384.
- Mau, J.L., Chang, C.N., Huang, S.J., Chen, C. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Grifola frondosa*, *Morchella esculenta* and *Termitomyces albuminonius* mycelia. *Food Chem*, 2004, Vol. 87, p. 111-118.
- Nagata, M. and Yamashita, I. Simple Method for Simultaneous Determination of Chlorophyll and Carotenoids in Tomato Fruit. In NIPPON SHOCUJIN KOGYO GAKKAISHI, 1992, Vol. 39, no. 10, p. 925-928. ISSN 0029-0394
- Turkoglu, A., Duru, M.E., Mercan, N., Kivrak, I., Geyer, K. Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. *Food Chem*, 2007, Vol. 101, p. 267-273.
- Tsai, S., Tsai, H. and Mau, J. Antioxidant properties of *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea*, and *Boletus edulis*. In *LWT – Food Science and Technology*, 2007, Vol. 40. issue 8, p. 1392-1402. ISSN 0023-6438.
- Vishwakarma, P., Singh, P., Trpathi, N.N. Nutritional and antioxidant properties of wild edible macrofungi from North-Eastern Uttar Pradesh, India. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 2016, Vol. 15, p. 143-148.
- Waterhouse, A.L. Determination of Total Phenolics. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. New York: John Wiley&Sons Inc, 2003. ISBN 9780471142911. (II.1.1 – II.1.8).

Kontakná adresa:

RNDr. Imrich Strapáč, CsC.

UVLF Košice, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika.

E-mail: imrich.strapac@uvlf.sk

**Počet somatických buniek v mlieku bahníc počas laktácie: možný
vzťah ku kvalite a množstvu mlieka**
*Somatic cell count in milk of ewes during lactation: possible relationship
to milk quality and yield*

Tančin^{1,2}, V., Baranovič², Š., Uhrinčat¹, M., Mačuhová¹, L.,
Vršková¹, M., Sláma³, P.

¹NPPC - Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra,

²Slovenská poľnohospodárska univerzita, FAPZ, Nitra,

³Mendelova univerzita v Brně, AF, Brno

Súhrn

V súčasnom období sa diskutuje o norme pre počet somatických buniek (PSB) v mlieku bahníc na základe ktorej by sa mlieko vykupovalo. Cieľom práce bolo na vybraných podnikoch v praktických podmienkach zistiť PSB v mlieku bahníc ako aj určiť možný vzťah PSB k množstvu a kvalite mlieka. Pokus sa realizoval na troch farmách oviec v podhorskej oblasti. Prevažné zastúpenie bahníc bolo plemeno zošľachtená valaška krížená s plemenom lacaune (od 25 do 50 % podiel lacaune) a plemeno cigája. Odber vzoriek sa uskutočnil v rokoch 2015-2016 počas večerného dojenia v mesiacoch apríl, máj, jún a júl. Celkovo bolo odobraných 2 817 vzoriek mlieka na analýzu PSB a základného zloženia (tuk, bielkoviny, laktóza). Na základe PSB boli bahnice rozdelené do piatich kategórií: do $0,2 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$; $0,2 - 0,4 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$; $0,4 - 0,6 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$; $0,6 - 10^6 \text{ ml}^{-1}$; nad 10^6 ml^{-1} . Priemerná úžitkovosť bahníc bola $367 \pm 3,29 \text{ ml}$, PSB $489 \pm 36 \times 10^3 \text{ buniek ml}^{-1}$, tuku $7,52 \pm 0,03 \%$, bielkovín $6,17 \pm 0,01 \%$, laktózy $4,89 \pm 0,001 \%$. V prvej kategórii PSB sa nachádzalo až 69,08 % individuálnych vzoriek mlieka, v druhej 13,33 %, tretej 4,65 %, štvrtej 4,37 % a v piatej 9,57 %. Preukazne najvyššiu úžitkovosť mali bahnice v prvých dvoch triedach ($P = 0,0113$) v porovnaní s úžitkovosťou bahníc piatej triedy. Konštatujeme, že PSB nad 10^6 ml^{-1} môže reálne predstavovať ochorenie vemena bahníc na mastitídu. Percento laktózy sa postupne zvyšovalo od prvej až po poslednú PSB triedu ($P < 0,0001$). Záverom je možné konštatovať, že na sledovaných farmách bol PSB v individuálnom ovčom mlieku porovnateľný s PSB vo vzorkách odobratých od zdravých dojníc. Zároveň uvedené zistenia prispievajú k rozhodovaciemu procesu pri stanovovaní normy PSB, na základe ktorej by sa finančné zhodnocovalo surové ovčie mlieko.

Kľúčové slová: ovce, mlieko, somatické bunky

Abstract

There is a discussion related to the limits for somatic cell counts (SCC) in trade with raw ewe's milk at present. On selected farms under practical conditions the goal of the work was to determine SCC in milk ewes and identify a possible relationship of SCC to the quantity and quality of milk. The experiment was conducted on three sheep's farms in mountainous areas. Mostly representation of the breed ewes Improved Valachian crossbred with Lacaune (25 - 50% of Lacaune) and breed Tsigai. Sampling was conducted in the years 2015 - 2016 during the evening milking in the months

of April, May, June and July. In total 2 817 samples were taken for analysis of milk PSB and the basic composition (fat, protein, lactose). Based on the SCC the ewes were divided into five categories: up to $0.2 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$; $0.2 - 0.4 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$; $0.4 - 0.6 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$; $0.6 - 10^6 \text{ ml}^{-1}$; 10^6 ml^{-1} . The average milk yield of ewes was $367 \pm 3.29 \text{ ml}$, SCC $489 \pm 36 \times 10^3 \text{ cells ml}^{-1}$, fat $7.52 \pm 0.03 \%$, proteins $6.17 \pm 0.01 \%$, lactose $4.89 \pm 0.001 \%$. In the first CSS category it was located up to 69.08 % of milk samples, 13.33 % in the second, third, 4.65 %, fourth 4.37 %, and fifth 9.57 %. The significantly highest milk yield was measured in ewes of first two CSS categories ($P = 0.0113$) compared to milk yield of ewes in fifth one. It is possible to indicate the ewes with SCC over 10^6 ml^{-1} as ewes with udder health problem – mastitis. The percentage of lactose gradually increased from the first to the last SCC category ($P < 0.0001$). In conclusion it can be stated that the SCC of individual milk samples of ewes was comparable to SCC in samples taken from healthy dairy cows. There is possible to note, that obtained results could be a good contribution during decision process establishing legislative limit for SCC, which is necessary for payment of raw ewes milk.

Úvod

Vo svete sa aplikovaný výskum veľmi intenzívne zameriava na pochopenie vzťahov medzi PSB a zdravím mliečnej žľazy – prítomnosťou mikroorganizmov. Mnoho vzoriek mlieka s vysokým PSB je mikrobiologicky negatívnych, čo zdôrazňuje význam výskumu až na molekulárnej úrovni (Zadoks et al., 2014). Už v 90. tých rokoch sa za fyziologickú hranicu považovalo rozpätie od $0,25$ do $1,0 \times 10^6$ buniek. ml^{-1} (Gonzalo a Gaudio Lacasa, 1985), pričom autori navrhovali pre zdravé vemeno $0,5 \times 10^6$ buniek. ml^{-1} . V ďalšej práci Berthelot et al. (2006) uvádza, že za zdravé bahnice je možné považovať bahnice s PSB pod 0.5×10^6 a infikované s PSB vyšším než 1×10^6 buniek. ml^{-1} . Posledne uvedení autori uvádzajú iný limit pre vzorky odoberané z tanku, kde takto na úrovni stáda, ak PSB presiahne $0,650 \times 10^6$ buniek. ml^{-1} predpokladajú až 15 % výskyt ochorení vemena na mastitídu. Ak sa berie PSB ako možný negatívny faktor na produkciu mlieka Arias et al. (2012) považujú za limitnú hodnotu $0,3 \times 10^6$ buniek. ml^{-1} . Pengov (2001) navrhuje hranicu $0,25 \times 10^6$ buniek. ml^{-1} za hranicu pre posúdenie zdravia vemena. V našej práci sme na bahniciach (2 632 vzoriek mlieka) experimentálneho pracoviska zistili vzostup podielu bahníc s PSB pod $0,1 \times 10^6$ buniek. ml^{-1} z 31 % zastúpenia v roku 2010 na 56 % v roku 2013 a naopak pokles podielu bahníc s PSB nad 1×10^6 buniek. ml^{-1} z 21 % v roku 2010 na 12,5 % v roku 2013 (Idriss et al., 2015).

V súčasnom období sa diskutuje o norme pre počet somatických buniek (PSB) v mlieku bahníc na základe ktorej by sa mlieko vykupovalo. V podmienkach Slovenska chovatelia len zriedkavo stanovujú PSB v mlieku bahníc. Preto je veľmi diskutabilné hovoriť o vhodných limitoch v PSB pre naše chovateľské podmienky, obzvlášť pri speňažovaní mlieka. Realizovala sa štúdia, v ktorej sa stanovoval PSB v mlieku odobraného z tanku. Pri analyzovaných 1 086 bazénových vzorkách od marca do augusta bolo len 7,3 % vzoriek zaradených do kategórie pod $0,5 \times 10^6$ buniek. ml^{-1} (Tomaška et al., 2015). Z tohto dôvodu bolo cieľom práce na vybraných podnikoch v praktických podmienkach monitorovať PSB v mlieku bahníc počas celej laktácie ako aj zistiť možný vzťah PSB k množstvu a kvalite mlieka.

Materiál a metodika

Pokus sa realizoval na troch farmách oviec v podhorskej oblasti. Prevažne zastúpenie bahníc bolo plemeno zošľachtená valaška križená s plemenom lacaune (od 25 do 50 % podiel lacaune) a plemeno cigája. Odber vzoriek sa uskutočnil v rokoch 2015 - 2016 počas večerného dojenja v mesiacoch apríl, máj, jún a júl. Celkovo bolo odobraných 2 817 vzoriek mlieka na analýzu PSB a základného zloženia (tuk, bielkoviny, laktóza). V priebehu dňa boli ovce na paši a počas dojenja každá ovca dostala 0,1 kg jadrového krmiva. Dojilo sa dvakrát denne a postup pri dojení bol na všetkých farmách rovnaký. Pred ukončením dojenja sa robilo dodávanie ručne jemným tlakom na dojaciú súpravu v rozpätí 10 - 20s bez dodatočného masírovania.

Počet somatických buniek sa stanovoval na prístroji Somacount 150 a základný rozbor na prístroji Fosomatic. V programe Excel (Microsoft, USA) sme vypočítali percentuálne zatriedenie bahníc do jednotlivých tried PSB a to celkovo, ako aj v závislosti na mesiaci odberu a poradí vstupu bahníc do dojárne. Na základe PSB boli bahnice rozdelené do piatich kategórií: do $0,2 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$; $0,2 - 0,4 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$; $0,4 - 0,6 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$; $0,6 - 10^6 \text{ ml}^{-1}$; nad 10^6 ml^{-1} . Hodnotenie vplyvu PSB (faktor trieda), podnik, nádoj, obdobie sme uskutočnili v programe SAS. V uvedenej práci uvádzame len výsledky vplyvu PSB triedy.

Výsledky a diskusia

Priemerná úžitkovosť bahníc bola $367 \pm 3,29 \text{ ml}$, PSB $489 \pm 36 \times 10^3 \text{ buniek ml}^{-1}$, tuku $7,52 \pm 0,03 \%$, bielkovín $6,17 \pm 0,01 \%$, laktózy $4,89 \pm 0,001 \%$.

V prvej kategórii PSB sa nachádzalo až 69,08 % vzoriek mlieka, v druhej 13,33 %, tretej 4,65 %, štvrtej 4,37 % a v piatej 9,57 % čo poukazuje na dobrý zdravotný stav vemien sledovanej skupiny bahníc v danom podniku. Tieto výsledky sú porovnateľné s výsledkami Idriss et al. (2015) dosiahnutými na experimentálnom pracovisku NPPC VUŽV Trenčianska Teplá. Vzhľadom k tomu, že v súčasnosti neexistuje EU norma pre PSB v mlieku, je možné sa na základe dosiahnutých výsledkov prikloniť k názoru, že aj v chove bahníc v praktických podmienkach je možné dosahovať nízky PSB v mlieku poukazujúci na dobrý zdravotný stav vemien chovaných bahníc a tým aj kvalitu surového ovčieho mlieka. Limitné hodnoty, ktoré uvádza Arias et al. (2012) ($0,3 \times 10^6 \text{ buniek.ml}^{-1}$) alebo Pengov (2001) ($0,25 \times 10^6 \text{ buniek.ml}^{-1}$) sa zdajú byť celkom reálne pri stanovovaní hranice pre posúdenie zdravia vemena. Na základe našich výsledkov ako aj výsledkov bazénových analýz autorov Tomaška et al. (2015) je potrebné sa intenzívnejšie venovať individuálnemu hodnoteniu zdravia mliečnej žľazy bahníc v podmienkach praxe.

Ako sme uviedli, v súčasnosti sa PSB v mlieku jednotlivých bahníc nestanovuje. Avšak význam stanovovania PSB v mlieku je dôležitý pri udržaní vysokej produkcie mlieka. Preukazne najvyššiu úžitkovosť mali bahnice v prvých dvoch triedach ($P = 0,0113$) v porovnaní s úžitkovosťou bahníc piatej triedy. Negatívny vplyv zvýšeného PSB na produkciu mlieka bahníc uvádza v prehľadovom článku Tančin et al. (2016). Percento laktózy sa postupne zvyšovalo od prvej až po poslednú PSB triedu ($P < 0,0001$), čo uvádza v svojej práci aj Bagnicka et al. (2011).

Tabuľka 1: Vplyv počtu somatických buniek na nádoj a zložky mlieka.

somatické bunky triedy	Sledované parametre							
	nádoj, ml		tuk, %		bielkoviny, %		laktóza, %	
	priemer	Std. Err.	priemer	Std. Err.	priemer	Std. Err.	priemer	Std. Err.
< 2.10 ⁵	371	5	6,68	0,08	6,04	0,04	5,06	0,02
2.10 ⁵ - 4.10 ⁵	375	10	6,84	0,1	6,04	0,05	5,02	0,03
4.10 ⁵ - 6.10 ⁵	342	14	6,42	0,13	6,02	0,06	4,92	0,03
6.10 ⁵ - 10.10 ⁵	358	15	6,7	0,13	6,13	0,06	4,91	0,03
> 10.10 ⁵	338	14	6,71	0,11	6,04	0,05	4,73	0,03
P hodnota	0,0113		0,0203		0,6364		< 0,0001	

Záver

Záverom je možné konštatovať, že na sledovaných farmách bol PSB v individuálnom ovčom mlieku porovnateľný s PSB vo vzorkách odobratých od zdravých dojníc. Zároveň uvedené zistenia prispievajú k rozhodovaciemu procesu pri stanovovaní normy PSB, na základe ktorej by sa finančne zhodnocovalo surové ovčie mlieko.

Pod'akovanie: Kega 006SPU-4/2014, APVV-15-0072.

Literatúra

- Adrias, R., Oliete, B., Ramon, M., Arias, C., Gallego, R., Montoro, V., Gonzalo, C., Perez-Guzman, M.D. 2012. Long-term study of environmental effects on test-day somatic cell count and milk yield in Manchega sheep. *Small Rumin. Res.*, 106, 2012, 92-97.
- Gonzalo, C., Gaudioso Lacasa, V.R. 1985. Evolution des types cellulaires du laits de brebis (race Churra) en fonction des dénombrements cellulaires totaux pendant la traite mécanique et manuelle. *Ann. Zool.*, 34, 1985, 257-264.
- Bagnicka, E., Winnicka, A., Jozwik, A., Rzewuska, M., Strzałkowska, N., Kosciuczuk, E., Prusak, B., Kaba, J., Horbanczuk, J., Krzyzewski, J. 2011. Relationship between somatic cell count and bacterial pathogens in goat milk. *Small Rumin. Res.*, 100, 2011, 72-77.
- Berthelot, X., Lagriffoul, G., Concordet, D., Barillet, F., Bergonier, D. 2006. Physiological and pathological thresholds of somatic cell counts in ewe milk. *Small Rumin. Res.*, 62, 2006, 27-31.
- Idriss, S.E., Tančin, V., Margetín, M., Tančinová, D., Sláma, P., Havlíček, Z. 2015. The frequency of distribution of somatic cell count in dairy ewe's milk. *J. Microbiol., Biotech. and Food Sci.*, 4 (special issue 3), 2015, 148-151.
- Pengov, A. 2001. The role of coagulase-negative *Staphylococcus* spp. and associated somatic cell count in the ovine mammary gland. *J. Dairy Sci.*, 84, 2001, 572-574.
- Tančin, V., Bauer, M., Holko, I., Baranovič, Š. 2016. Etiology of mastitis in ewes and possible genetic and epigenetic factors involved. *Slovak J. Anim. Sci.*, 49 (2): 85-93.

Tomáška, M., Hofericová, M., Klimešová, M., Hanuš, O., Vorlová, L., Kološta, M. 2015. Occurrence of somatic cells in bulk samples of raw sheep's milk. Zborník Hygiena a technologie potravín XLV. Lenfeldovy a Höklovy dny, 2015, p. 197-200. ISBN: 978-80-7305-762-6.

Zadok, R.N., Watts, J.L. 2009. Species identification of coagulase-negative staphylococci: genotyping is superior to phenotyping. Vet. Microbiol., 134, 2009, 20-28.

Kontaktná adresa:

Vladimír Tančín, prof. Ing., DrSc.

SPU Nitra, FAPZ Katedra veterinárskych disciplín, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovensko, NPPC Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2, 95141 Lužianky.

E-mail: tancin@vuzv.sk

**Studium vybraných faktorů na chemické parametry svaloviny
divokých prasat**
*Study of selected factors on chemical parameters of wild boar muscle
tissue*

Tesařová, S. ^{a*}, Ježek, F. ^a, Hulánková, R. ^{a*}, Plhal, R. ^b, Bořilová, G. ^{a*},
Steinhauserová, I. ^{a*}

^a Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

^b Mendelova univerzita v Brně

* CEITEC - Středoevropský technologický institut, Veterinární a farmaceutická
univerzita Brno

Souhrn

Cílem práce bylo sledovat obsah tuku ve svalovině plece (mediální strana) a v jazyku prasete divokého (*Sus scrofa*) v závislosti na vybraných faktorech (pohlaví, věk, hmotnost, délka těla, výška hřbetního tuku a obsah povrchového tuku na srdci. Obsah tuku v pleci se pohyboval od 0,06 % do 1,94 %. Obsah tuku v jazyku kolísal od 1,26 % do 8,87 %. U samičího pohlaví byl obsah tuku v jazyku významně ovlivněn tělesnou hmotností ($R = 0,74$; $p = 0,001$) a věkem ($R = 0,76$; $p = 0,001$). U samčího pohlaví koreloval obsah tuku v pleci s obsahem tuku na povrchu srdce ($R = 0,76$; $p = 0,004$). Zjištěné korelace by mohly být využity pro vytvoření systému klasifikace těl divokých prasat.

Klíčová slova: *Sus scrofa*, plec, jazyk, obsah tuku

Abstract

The study was aimed on the detection of fat content in muscles of shoulder (from medial part) and tongue of wild boar (*Sus scrofa*) and on correlation with selected factors (gender, weight and age, body length, back fat thickness and content of superficial fat on heart). Detected values for content of fat in the muscle from shoulder were between 0.06 % and 1.94 %. Detected values for tongue were between 1.26 % and 8.87 %. In females we found a significant correlation between weight and the content of fat in tongue ($R = 0.74$, $p = 0.001$) and between age and the content of fat in tongue ($R = 0.76$, $p = 0.001$). In males we found a correlation between fat in muscle from shoulder and content of superficial fat on heart. Identified correlations could be use for preparing a system for classification of wild boar carcasses.

Úvod

Spotřeba zvěřiny se v posledních letech České republiky ustálila na 0,9 kg/osoba/rok (Český statistický úřad, 2016 A). Údaje týkající se ulovených počtů černé zvěře uvádějí 185 496 odstřelených kusů za rok 2015. Toto číslo je nejvyšší ze všech lovených druhů srstnaté zvěře (Český statistický úřad, 2016 B).

Zvěřina, je zajímavou gastronomickou surovinou, díky lákavým senzoričným vlastnostem a pozitivnímu chemickému složení. (Strazdina et al., 2014). Obsahuje nízké množství nasycených mastných kyselin a vysoký obsah bílkovin (Strazdina et al.,

2013). Lze konstatovat, že maso divokých prasat se vyznačuje lepší kvalitou než maso pocházející z prasat domácích (Szmánko et al., 2007).

Cílem studie bylo zjistit, zda vybrané faktory (pohlaví, věk, hmotnost) mají vliv na obsah tuku ve svalovině divokých prasat a srovnat získané výsledky obsahu tuku s výzkumy v jiných evropských zemích.

Materiál a metodika

Analyzovaným materiálem byla svalovina pocházející z mediální strany plece (*m. teres major*) a svalovina jazyka prasat divokých (*Sus scrofa*). Vzorky pocházely z vybraných lokalit ČR. Celkem bylo analyzováno 32 vzorků masa získaných ve spolupráci s Lesnickou a dřevařskou fakultou, Mendelovy univerzity v Brně. Zastoupení pohlaví bylo 16 samců a 16 samic. Hmotnost ulovených zvířat se pohybovala mezi 22 až 102 kilogramy a věk zvířat se pohyboval v rozmezí mezi 5 -ti až 24 -mi měsíci. Měření délky těla a výšky hřbetního tuku bylo zabezpečeno zaměstnanci Mendelovy univerzity v Brně. Analýza vzorků byla provedena v laboratořích Ústavu hygieny a technologie masa. Tuk ze srdce byl separován pomocí skalpelu tak, aby nedošlo k poškození svaloviny. Vzorky plece a jazyka byly zhomogenizovány pomocí mlýnku Retsch Grindomix GM 200 (Německo). Obsah tuku ve svalovině plece a v jazyku byl stanoven na přístroji Soxtec 2055 (FOSS, Švédsko). Navážka vzorku byla 3 g, jako extrakční rozpouštědlo byl použit petrolether. Pro statistické vyhodnocení výsledků byl použit program Excel 2013 a Statistica v. 7.0, Statsoft, CZ. Vliv pohlaví byl hodnocen nepárovým T-testem a vliv ostatních faktorů byl hodnocen pomocí Pearsonova korelačního koeficientu. Za statisticky významnou byla považována hodnota $p < 0,05$.

Výsledky a diskuze

Obsah tuku ve svalovině mediální strany plece se pohyboval mezi 0,06 % a 1,94 %. Obsah tuku v jazyku divokých prasat kolísal mezi 1,26 % a 8,87% (tab. 1). Podle studie provedené v Litvě obsahovala svalovina (*m. longissimus dorsi*) divokých prasat 2,27 % (Jukna and Valaitienė, 2012). To je významně vyšší množství, než bylo zjištěno ve svalovině plece. Autoři však neuvádějí věk vyšetřovaných jedinců. Szmánko et al., (2007) uvádějí hodnoty $2,33 \pm 0,81$ % tuku v *m. longissimus lumborum* a Strazdina et al. (2013) také v *m. longissimus lumborum* $2,82 \pm 1,26$ %. Naopak výzkum Strazdina et al. (2014) uvádí hodnoty $3,45 \pm 1,67$ % opět v *m. longissimus lumborum*. Tato široká škála výsledků z proběhlých výzkumů je vysvětlována odlišnými potravními zdroji divokých prasat. Statistická analýza prokázala u skupiny divokých prasat samčího pohlaví signifikantní vztah ($p = 0,004$) mezi obsahem tuku ve svalovině plece a obsahem povrchového tuku na srdci ($R = 0,76$). Pohlaví, věk, hmotnost, délka těla a výška hřbetního tuku s obsahem tuku ve svalovině plece významně nekorelovali. U skupiny divokých prasat samičího pohlaví byl zjištěn významně vyšší obsah tuku v jazyku ($p = 0,001$) i povrchového tuku na srdci ($p = 0,004$) než u jedinců samčího pohlaví. Významná korelace ($p = 0,006$) byla zjištěna mezi obsahem tuku v jazyku a délkou těla divokých prasat ($R = 0,54$). Úzký vztah byl zjištěn rovněž mezi obsahem tuku v jazyku a výškou hřbetního tuku ($R = 0,54$; $p = 0,005$). U skupiny jedinců samičího pohlaví byl zjištěn signifikantní vztah ($p = 0,001$) mezi obsahem tuku

ve svalovině jazyka a tělesnou hmotností ($R = 0,74$). Rovněž věk vysoce významně ($p = 0,001$) ovlivnil u divokých prasat samičího pohlaví obsah tuku ve svalovině jazyka ($R = 0,76$). Dannenberger et al. (2013) analyzovali vliv pohlaví, věku a oblasti na základní chemické složení svaloviny (*m. longissimus*) divokých prasat. Výsledky studie uvádějí signifikantní korelaci ($p < 0,001$) mezi chemickým složením a pohlavím respektive oblastí. Pro kontrolu byla hodnocena i korelace mezi váhou a věkem uloveného zvířete. U samců i u samic byla nalezena pozitivní korelace $R = 0,93$; $p < 0,001$ resp. $R = 0,92$; $p < 0,001$.

Tabulka 1: Rozsah hodnot u sledovaných parametrů divokých prasat

Parametr	Samice	Samci	Celkově
Věk (měsíce)	5 - 24	6 - 22	5 - 24
Hmotnost (kg)	23 - 96	22 - 102	22 - 102
Obsah tuku v pleci (%)	0,20 - 1,94	0,06 - 1,47	0,06 - 1,94
Obsah tuku v jazyku (%)	1,41 - 8,87	1,26 - 5,82	1,26 - 8,87
Povrchový tuk na srdci (%)	4,38 - 9,27	3,3 - 7,07	3,30 - 9,27
Délka těla (mm)	880 - 1450	1020 - 1450	880 - 1450
Výška hřbetního tuku (mm)	3 - 79	8 - 60	3 - 79

Závěr

Výsledky prvotní studie ukazují, že obsah tuku ve svalovině mediální strany plece koreluje s obsahem superficiálního tuku na srdcích divokých prasat samčího pohlaví. Obsah tuku v jazyku divokých prasat samičího pohlaví ovlivňuje především tělesná hmotnost a věk jedinců. Jedinci samičího pohlaví mají vyšší obsah tuku v jazyku než jedinci samčího pohlaví. Obsah tuku v jazyku koreluje s délkou těla a s výškou hřbetního tuku. Z výsledků je zřejmé, že ukládání tuku je ovlivněno pohlavím divokých prasat. Rovněž lze konstatovat, že u samčího pohlaví lze na základě viditelného povrchového tuku na srdci předpokládat jejich protučnění. Tyto výsledky jsou dílčí součástí pilotní studie pro vytvoření systému klasifikace těl divokých prasat, která bude vyžadovat vyšetření dalších vzorků pro ověření navržených hypotéz.

Literatura

Český statistický úřad A [online]. 2016 [cit. 2016-08-29]. Dostupné z: https://www.czso.cz/documents/10180/32955062/32018116_0302.pdf/ab949a3c-cf58-41fd-b0df-b34865e4b91f?version=1.0

Český statistický úřad B [online]. 2016 [cit. 2016-08-29]. Dostupné z: <https://www.czso.cz/documents/10180/36741233/1000051606.pdf/e439c492-bddf-4506-8c54-547fd958e32f?version=1.0>

ČSN ISO 1443: Maso a masné výrobky. Stanovení celkového obsahu tuku. Praha: Český normalizační institut, 1994.

DANNENBERGER, D., NUERNBERG, G., NUERNEBERG, K., HAGEMAN, E. The effects of gender, age and region on macro- and micronutrient contents and fatty acid profiles in the muscles of roe deer and wild boar in Mecklenburg-Western Pomerania (Germany). *Meat Science*. 2013, **94**, 39-46.

NUERNBERG, G., VALAITIENĚ, V. The comparison of meat nutritional and technological properties in different animals. *Veterinaria IR Zootechnika*. 2012, **59**(81), 34-39. ISSN 1392-2130.

STRAZDINA, V., JEMELJANOVŠ, A., STERNA, V., IKAUNIECE, D. Nutritional characteristics of wild boar meat hunted in Latvia. *Foodbalt*. 2014, 32-36.

STRAZDINA, V., JEMELJANOVŠ, A., STERNA, V., IKAUNIECE, D. Nutritional Value of Deer, Wild Boar and Beaver Meat Hunted in Latvia. *International Proceedings of Chemical, Biological and Enviromental Engineering*. 2013, **53**, 71-76, DOI: 10.7763/PCBEE.

SZMÁNKO, J., GÓRÉCKA, J., KORZENIOWSKA, M., MALICKI A., EMERENKO, E. Comparison of chosen quality parameters of meat from wild boar and domestic pigs. *Polish Journal of Food nad Nutrition Sciences*. 2012, **57**(4), 523-528.

Poděkování

Tato práce byla podpořena projektem IGA 225/2016/FVHE Veterinární a farmaceutické univerzity Brno.

Tato práce vznikla ve spolupráci s Lesnickou a dřevařskou fakultou Mendelovy univerzity v Brně.

Kontaktní adresa:

MVDr. Simona Tesařová

VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie masa, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno.

E-mail: tesarovas@vfu.cz

Výsledky kontrolní činnosti odboru hygieny výživy za rok 2015

The inspection results of Regional Public Health Authority for the year 2015

Ulrichová, M., Křest'ánová, K.

Krajská hygienická stanice Moravskoslezského kraje se sídlem v Ostravě

Souhrn

V práci jsou prezentovány výsledky kontrolní činnosti odboru hygieny výživy Krajské hygienické stanice Moravskoslezského kraje se sídlem v Ostravě za rok 2015. Výsledky ukazují, že nejčastěji jsou v provozovnách společného stravování zjišťovány závady v provozní hygieně, závady stavebně technického charakteru a křížová kontaminace při výrobě a skladování pokrmů. Provozovatelům bylo za zjištěné závady uloženo 601 pokut a bylo vydáno 49 opatření, včetně opatření k okamžitému uzavření provozovny. Součástí kontrolní činnosti byl odběr 377 vzorků pokrmů, potravin a stěrů z prostředí. Požadavkům legislativy nevyhovělo 27 vzorků. Výskyt zjištěných závažných nedostatků má v posledních letech klesající tendenci. Na této skutečnosti se podílí přímá edukace provozovatelů zařízení společného stravování prováděná pracovníky KHS MSK.

Klíčová slova: *KHS, společné stravování, kontrolní činnost*

Abstract

The inspection results of Regional Public Health Authority of Moravian-Silesian Region based in Ostrava (RPHA) for the year 2015 are presented. The results show that in mass catering the shortcomings in operational hygiene, in keeping premises in good repair and cross-contamination of food during the production and storage were the most frequent. 601 fines were imposed on operators and 49 measures were issued including the immediate closure of the establishment. 377 samples of meal, food and environmental swabs were taken as a part of the inspection activity. 27 samples did not comply with the legislative requirements.

Last years the number of serious shortcomings discovered has decreasing tendency. This is particularly in close relation to the education activities organized by RPHA staff intended for food business operators.

Úvod:

Odbor hygieny výživy vykonává státní zdravotní dozor v provozovnách společného stravování typu restaurace, bistra, bufety, kavárny, stánky rychlého občerstvení, v oblasti závodního stravování, stravování ve zdravotnictví, sociálních službách a VŠ menzách a při šetření příčin vzniku a šíření alimentárních onemocnění ve všech typech potravinářských provozů od výroby po uvádění potravin do oběhu. Na základě výsledků dozorové činnosti jsou posouzena možná zdravotní rizika, stanoveny a prosazovány požadavky k jejich odstranění.

Výsledky kontrol:

V roce 2015 proběhlo celkem 2 261 kontrol. Nejčastěji zjišťovanými závadami byly nedostatky v provozní hygieně, závady stavebně-technického charakteru, křížová kontaminace při výrobě a skladování pokrmů, nedodržení teplotního řetězce. V roce 2015 byla do sledovaných ukazatelů zařazena rovněž nová povinnost provozovatelů týkající se značení alergenů v pokrmech. Nedostatky zde byly konstatovány v 11%. Provozovatelé povinnost značit alergeny nesplnili vůbec, nebo přítomnost alergenů neuvodili u všech typů pokrmů, případně personál nebyl schopen podat zákazníkům informace o alergenech.

V roce 2015 bylo odebráno celkem 377 vzorků potravin, pokrmů a stěrů z prostředí. Po mikrobiologické stránce nevyhovělo 19 vzorků a 8 vzorků nevyhovělo po stránce chemické. V rámci pilotního projektu zaměřeného na nutriční hodnotu stravy ve zdravotnictví a v sociálních službách bylo odebráno 28 směsných vzorků celodenní stravy ve 4 zařízeních. Ve 25 vzorcích bylo zjištěno překročení doporučené denní dávky soli (NaCl), a to dvoj až trojnásobně. S provozovateli následně proběhlo jednání směřující k úpravě jídelníčků a ke snížení spotřeby soli.

Tabulka 1: Počty vyhovujících a nevyhovujících vzorků dle komodit

Komodita	Počet vzorků	Vyhovující	Nevyhovující	Nevyhovující ukazatele
Teplé pokrmy	95	95	0	
Studené pokrmy	43	43	0	
Cukrářské výrobky	29	24	5	4x koliformní 1x stafylokoky
Zmrzliny	32	21	11	10x <i>Enterobacteriaceae</i> 1x nepovolená Žluť SY
Nápoje (lihoviny)	70	65	5	5x etanol pod limit
Stěry z prostředí	61	57	4	4x koliformní
Ostatní potraviny	19	17	2	1x PAU v grilované klobáse (hraniční) 1x Cr, K (doplněk stravy - obsah vyšší než na etiketě)
Nutriční hodnota	28	3	25	25x NaCl, překročeny DDD
Celkem	377	325	52	

Závěr:

Na základě zjištěných nedostatků byla provozovatelům nařízená opatření – nejčastěji pozastavení činnosti, nařízení sanitace provozovny nebo likvidace potravin či okamžité uzavření provozu. Celkem bylo provozovatelům stravovacích zařízení v Moravskoslezském kraji vydáno 49 opatření a za zjištěné závady uloženo 601 pokut ve výši 1 495 400 Kč. Výskyt zjištěných závažných nedostatků má v posledních letech klesající tendenci. Na této skutečnosti se podílí přímá edukace provozovatelů zařízení společného stravování prováděná pracovníky KHS MSK.

Kontaktní adresa:

MVDr. Marie Ulrichová

Krajská hygienická stanice Moravskoslezského kraje se sídlem v Ostravě, Na Bělidle 7, 702 00 Ostrava.

E-mail: marie.ulrichova@khsova.cz

Význam osobnej hygieny v prevencii možnej kontaminácie finálneho produktu

The importance of personal hygiene in the prevention of potential contamination of the final product

Vargová, M., Veszelits Laktičová, K., Hromada, R., Toropilová, D.,
Maľová, J., Výrostková, J., Eckerová, R.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Abstrakt

Otázka bezpečnosti potravín patrí v súčasnej dobe medzi najvýznamnejšie. Jej špecifickosť vyplýva z nutnosti chrániť ľudské zdravie, resp. život ako taký. Efektívne fungujúci potravinársky priemysel sa však správa trhovo a nie vždy uprednostňuje požiadavku na minimalizáciu rizika týkajúcu sa bezpečnosti potravín. Hlavne výrobca by mal dbať na predchádzanie vypuknutia nákazy, nakoľko to môže ovplyvniť obchod a viesť k strate príjmov. Pokazené potraviny sa stávajú odpadom. Opätovné si získanie dôvery konzumentov nie je jednoduchý proces. Účinná hygiena je nevyhnutná, aby sa predišlo nepriaznivým dopadom nákaz a pokazených potravín na zdravie ľudí. Z toho vyplýva základná požiadavka spotrebiteľov na kontrolu hygieny potravín. Platí pritom, že čím je miera rizika vyššia, tým častejšie a účinnejšie preventívne opatrenia zamerané na elimináciu hodnoteného nebezpečenstva by sa mali uplatňovať. V predloženej štúdii sme sa zamerali na vyhodnocovanie personálnej hygieny zamestnancov pracujúcich v jednotlivých častiach prevádzky, keďže personálnu hygienu radíme medzi potenciálne nebezpečenstvo, ktoré môže ovplyvniť celý proces výroby. Hygienu rúk zamestnancov sme hodnotili pomocou bioluminiscenčnej metódy a klasickej mikrobiologickej sterovej metódy. Hodnoty biologického znečistenia oboch rúk zamestnancov počas výroby vo všetkých sledovaných úsekoch výroby mliečnych produktov poukazujú na dobrú personálnu hygienu. Výsledky získané ATP metódou sú priamo úmerné výsledkom získaných z mikrobiologickej metódy. Na základe získaných výsledkov môžeme konštatovať, že personálna hygiena sledovaných zamestnancov je na dobrej úrovni a nepredstavuje riziko kontaminácie suroviny, medziproduktov a finálnych výrobkov. Hodnotenie personálnej hygieny má veľký význam hlavne z hľadiska ovplyvnenia celého procesu výroby mliečnych produktov a možného vzniku alimentárnych nákaz u ľudí.

Kľúčová slová: *kontaminácia, osobná hygiena, alimentárne infekcie, ATP, dezinfekcia*

Abstract

Food safety is currently one of the most important. Its specificity stems from the need to protect human health, respectively life itself. Effectively functioning food industry is rather a market and not always favors the requirement to minimize risks relating to food safety. Particularly manufacturers should pay attention to preventing the outbreak of disease, as it may affect trade and lead to a loss of income. Spoiled food becomes waste. Re-gaining the trust of the consumers is not a simple process. Effective hygiene is essential to avoid the adverse impact of diseases and spoiled food on human health.

It follows the basic requirement of consumers on food hygiene control. It is generally accepted that the level of risk is higher, the more often and more effective preventive measures to eliminate the hazard assessment should be applied. In the present study, we aimed to evaluate the personal hygiene of employees working in different parts of the dairy plant, since hygiene of personnel is one of the potential hazards that can affect the entire production process. Hand hygiene of employees were evaluated using bioluminescence methods and classical microbiological swab method. Value of biological contamination of both hands of employees during production in all monitored segments of manufacturing of dairy products indicated good personnel hygiene. The results obtained by the ATP method are directly proportional to the results obtained in the microbiological methods. Based on these results we can say that personal hygiene of employees was observed at a good level and no risk of contamination of raw materials, intermediates and final products. Assessment of personal hygiene is very important especially in terms of influencing the entire process of production of dairy products and the possible emergence of foodborne disease in humans.

Úvod

Hlavným cieľom potravinárskej výroby v dnešnej dobe je zdravotná bezpečnosť potravín, ktorá je počas výroby ovplyvňovaná mnohými faktormi (Golian a kol., 1998). V prostredí sú mikroorganizmy ubikvitárne rozšírené a často kontaminujú suroviny alebo potravinové produkty. Niektoré z mikroorganizmov dokážu prežiť aj ochranné technologické operácie. Kontamináciu potraviny počas produkcie, spracovania, distribúcie a prípravy je schopný spôsobiť aj samotný človek. Práve preto každá potravina, či už surová alebo spracovaná, predstavuje určité riziko pre vznik alimentárneho ochorenia (Hudecová a kol., 2011). Alimentárne infekcie sú charakteristické tým, že pôvodcovia sú prítomní v potravine v čase ich konzumácie a po požití potraviny svojimi patogénnymi vlastnosťami spôsobujú v ľudskom organizme chorobné stavy (Cliver a Reimann, 2002). Kľúčovým faktorom výroby vysoko kvalitných a hygienicky bezchybných výrobkov je dodržiavanie hygieny a čistoty výrobných zariadení a priestorov, personálnej hygieny, hygieny a čistoty odevov, pracovných nástrojov a pod. (Laciaková, 2004). Práve ruky sú u ľudí dôležitý nástroj v živote, slúžia ako nástroj komunikácie, sú pracovným nástrojom, liečia, avšak môžu byť aj hrozbou. Na ich povrchu majú rôzne mikroorganizmy ideálne podmienky pre svoju existenciu a množenie, kde dokážu prežívať niekoľko hodín. Pokiaľ sa ruky neudržiavajú v čistote, podieľajú sa na prenose mnohých ochorení v humánnej populácii (Štefkovičová a kol., 2007). Umývanie rúk je najlacnejší a najjednoduchší spôsob ako prechádzať vzniku alimentárnych nákaz.

Materiál a metodika

Na zhodnotenie úrovne personálnej hygieny a analýzu mikrobiálnej kontaminácii rúk pracovníkov bola použitá odtlačková metóda na živné pôdy v Petriho miskách, a to mäsopeptonový agar a endo agar. Ide o metódu odtlačkov prstov vykonanú pred dezinfekciou a okamžite po dezinfekcii rúk. Pred dezinfekciou sa odoberá tzv. kontrolný odtlačok a po nej tzv. následný odtlačok. Odtlačok prstov bol odobratý personálu aj počas výrobného procesu. Petriho misky za účelom zistenia celkových počtov mikroorganizmov a koliformných zárodkov sa potom inkubujú pri teplote 37 °C

po dobu 24 hodín. Po kultivácii sa odčítajú porastené kolónie a na základe toho zhodnotí úroveň personálnej hygieny ako aj účinok prípravku, ktorý sa využíva v sledovanej prevádzke na dezinfekciu rúk. Čistota rúk bola hodnotená aj použitím ATP metódy, kde pomocou Hy-LiTE systému sa odčíta úroveň biologického znečistenia. Súčasťou HY-LITE NG je luminometer a odberové pero. Odberovým perom bol odobratý ster z plochy 10 x 10 cm na vopred určenom mieste. Výsledná hodnota je vyjadrená v relatívnych luminiscenčných jednotkách, označovaných ako RLU, pričom je priamo úmerná množstvu ATP v sledovanej vzorke.

Výsledky a diskusia

Na jednotlivých monitorovaných úsekoch v sledovanej mliekarenskej prevádzke bola testovaná úroveň personálnej hygieny pomocou ATP metódy. Vždy od dvoch osôb z každého sledovaného úseku bola odobratá vzorka pomocou odberového pera a vyhodnotená pomocou Hy-LITE systému. Vzorka bola odobratá z rúk pred ich dezinfekciu, po dezinfekcií a počas výrobného procesu. Získané výsledky poukazujú na úroveň osobnej hygieny zamestnancov. Tabuľka 1, 2, 3 a 4 poukazuje na zmenu organického znečistenia na pravej a ľavej ruke u ôsmich zamestnancov, ktorí pracujú v rôznych častiach prevádzky. Dve osoby obsluhujú pasterizačnú stanicu, ďalší personál pracuje v jogurtárni, dve osoby v syrárni pre výrobu cottage cheese. Vo všetkých prípadoch boli stanovené ATP hodnoty vyhovujúce. Na základe získaných výsledkov z tabuľky 1 možno konštatovať, že po umytí rúk mydlom s antibakteriálnym účinkom sa hodnoty výrazne znížili na oboch rukách, z čoho vyplýva, že použitie mydla Prosavon bolo účinné. Počas výrobného procesu sa počty ATP zvýšili, čo poukazuje na organické znečistenie rúk, avšak nemožno na základe použitej metódy konštatovať, že ide aj o mikrobiologickú kontamináciu. Metóda ATP je jednoduchá, rýchla, cenovo dostupná, avšak slúži len na testovanie celkového organického znečistenia (Fung et al., 2002; Kottferová a kol., 2005).

Tabuľka 1: Výsledky z ATP sterov odobraté z rúk zamestnancov obsluhujúcich pasterizačnú stanicu

Dynamika mikrobiologických odberov z rúk	RUKA	Počty ATP (RLU) u osoby č.1	Počty ATP (RLU) u osoby č. 2
Pred dezinfekciou	Pravá ruka	130	112
	Ľavá ruka	85	85
Po dezinfekciou	Pravá ruka	5	1
	Ľavá ruka	0	0
Počas výroby	Pravá ruka	15	3
	Ľavá ruka	5	5

Na základe získaných výsledkov z tabuľky 2 môžeme konštatovať, že personálna hygiena u všetkých sledovaných zamestnancov bola na dobrej úrovni. Zamestnanci, ktorí prichádzajú do kontaktu a manipulujú so surovinami a potravinami si musia stále a dôkladne umývať ruky s vhodným dezinfekčným prostriedkom pod tečúcou vlažnou vodou (Patúš a kol., 2011). V opačnom prípade pri nedodržovaní predpísaných

hygienických štandard pre zamestnancov by mohlo dôjsť ku kontaminácii surovín a v konečnom dôsledku vzniku alimentárnych nákaz u konzumentov.

Tabuľka 2: Výsledky z ATP sterov odobraté z rúk zamestnancov pracujúcich v jogurtárni

Dynamika mikrobiologických odberov z rúk	RUKA	Počty ATP (RLU) u osoby č.1	Počty ATP (RLU) u osoby č. 2
Pred dezinfekciou	Pravá ruka	109	95
	Ľavá ruka	98	75
Po dezinfekciou	Pravá ruka	1	1
	Ľavá ruka	0	0
Počas výroby	Pravá ruka	10	13
	Ľavá ruka	5	8

Tabuľka 3 poukazuje na výsledky čistoty rúk zamestnancov pracujúcich na úseku výroby cottage cheese. Výsledky získané pomocou ATP metódy poukazujú na dobrú personálnu hygienu.

Tabuľka 3: Výsledky z ATP sterov odobraté z rúk zamestnancov pracujúcich na úseku výroby cottage cheese

Dynamika mikrobiologických odberov z rúk	RUKA	Počty ATP (RLU) u osoby č.1	Počty ATP (RLU) u osoby č. 2
Pred dezinfekciou	Pravá ruka	250	112
	Ľavá ruka	100	85
Po dezinfekciou	Pravá ruka	15	0
	Ľavá ruka	0	0
Počas výroby	Pravá ruka	25	5
	Ľavá ruka	15	2

Tabuľka č.4 poukazuje na výsledky vzoriek odobratých z rúk 4 zamestnancov pracujúcich v 4 rôznych úsekoch výroby mliečnych produktov odtlačkovou metódou. Stav mikrobiálnej kontaminácie rúk pred umytím je dobrý. Po umytí antibakteriálnym mydlom sa znížila pôvodná kontaminácia rúk, zaznamenali sme takmer nulové hodnoty koliformných zárodkova nulové celkové počty mikroorganizmov. Avšak u osoby č.4 bola pozitívna jedna kolónia na pravej ruke pred dezinfekciou, ktorá ak by nebol účinok mydla dostatočný, mohla by byť potenciálny sekundárnym zdrojom kontaminácie suroviny, medziproduktu alebo finálneho výrobku.

Tabuľka 4: Priemerné hodnoty mikroorganizmov odobraté z pravej a ľavej ruky personálu

Dynamika mikrobiologických odberov z rúk	MIO	RUKA	Osoba č. 1	Osoba č. 2	Osoba č. 3	Osoba č. 4
PŘED DEZINFEKCIU	KZ	Pravá	0	0	0	1
	KZ	Ľavá	0	0	0	0
	CPM	Pravá	15	75	32	35
	CPM	Ľavá	32	48	26	29
PODEZINFEKCIU	KZ	Pravá	0	0	0	0
	KZ	Ľavá	0	0	0	0
	CPM	Pravá	11	22	10	15
	CPM	Ľavá	24	29	15	17
POČASVÝROBY	KZ	Pravá	0	0	0	0
	KZ	Ľavá	2	0	0	0
	CPM	Pravá	25	22	38	29
	CPM	Ľavá	25	42	17	28

Záver

Pre výrobu je optimálne spojenie permanentného monitoringu hygienickej úrovne zamestancov s poskytnutím výsledkov laboratórneho vyšetrenia ešte v čase, kedy sa dá v prípade nepriaznivých zistení vykonať náprava tak, aby sa predišlo znehodnoteniu výrobku a kontaminácii výrobných priestorov, čo by mohlo zabrániť rozsiahlejším ekonomickým škodám a predovšetkým ohrozeniu zdravia konzumentov, prípadne vzniku alimentárnych ochorení. Medzi najzávažnejšie nedostatky pri použití klasických vyšetrovacích metód patria predovšetkým ekonomicky nákladné vybavenie laboratória, potreba odborného zaškolenia personálu, časová náročnosť vyšetrení a ich veľká pracnosť. Okrem toho výsledok laboratórneho vyšetrenia je známy najskôr o dva dni, v celom rade prípadov je to však i o viac dní, teda až vtedy, keď je výroba ukončená a produkt môže byť kontaminovaný (Petříková, 2001).

Literatúra

- Golian, J. *Ochorenia z potravín*. 1. vydanie. Nitra: SPU v Nitre, 1998, 128 s. ISBN 80-7137-519-5.
- Hudecová, D. – Šimkovič, M. *Mikrobiológia*. Bratislava: Nakladateľstvo STU, 2011. 144-145 s., 182-185s., 200 s. ISBN 978-80-227-3600-8.
- Laciaková, A. Čistenie a dezinfekcia v potravinárskych prevádzkach. In: *Slovenský veterinársky časopis*, 2004, roč. 29, č. 4, s. 17-18.
- Štefkovičová, M. a kol. *Dezinfekcia a sterilizácia, teória a prax II*, Žilina, 2007, s. 88-90., ISBN 978-80-968243-3-0.
- Cliver, D. O. – Reimann, H. P. *Foodborne Diseases*, Second edition, An imprint of Elsevier Science. Barcelona, Grafos, 2002, 411 s., ISBN 0-12-176559-8.
- Patúš, P. a kol. *Manažment prevádzky pohostinského zariadenia*. Banská Bystrica: DALI-BB, 2011, 119-124 s. ISBN 978-80-89089-84-6.

Fung, D. Y. D. Rapid methods and automation in microbiology. In *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 2002, Vol. 40, no. 1, p. 18-22.

Petríková, D. Rýchle mikrobiologické metódy pri monitorovaní hygieny. 2001. www.skatec.cz

Pod'akovanie

Táto práca bola podporená grantovou úlohou KEGA-003UVLF-4/2016.

Kontaktná adresa:

MVDr. Mária Vargová, PhD.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Ústav hygieny zvierat a životného prostredia, Komenského 73041 81 Košice, Slovenská republika.

E-mail: Maria.Vargova@uvlf.sk

**Využitie sanitácie v procese prevencie vzniku alimentárnych
nákaz v potravinárskej prevádzke**
*Use of sanitation in the process of prevention of foodborne diseases in
food processing plants*

**Veszélits Laktičová, K., Vargová, M., Hromada, R., Toropilová, D.,
Maľová, J., Výrostková, J., Eckerová, R.**

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Súhrn

Základným predpokladom získavania zdravotne bezpečných potravín je zabezpečenie hygieny a sanitácie výrobných zariadení, strojov, pracovných nástrojov v potravinárskom závode. Porušením všetkých zásad týkajúcich sa hygieny sa môžu potraviny kontaminovať, a tak predstavovať biologické riziko pre konzumenta. Hygienické požiadavky na jednotlivé zariadenia potravinárskej výroby sú rôzne, platí tu však celý rad spoločných hygienických opatrení, ktoré je nevyhnutné dodržať v každom procese výroby. Správne vykonaná sanitácia ako aj prístup a poučenie pracovníkov v prevádzke sú základným predpokladom pre výrobu zdravotne neškodnej potraviny. V práci sme sa zamerali na hygienu a sanitáciu prevádzkyv mliekarenskom podniku. Mikrobiologické stery odobraté z jednotlivých povrchov rôznych častí prevádzky poukazujú na dobre prevedenú dezinfekciu v mliekarenskom závode až na stery odobraté v časti výroby cottage cheese. V tejto časti boli na dverách zaznamenané koliformné baktérie v počte 1 KTJ a na podlahe boli získané po dezinfekcii vysoké hodnoty CPM, ako aj jeden koliformný zárodok. Výsledky získané pomocou mikrobiologickej kontroly účinnosti sú podkladom pre vyhl'adávanie nedostatkov v sanitácii a spätne vytvárajú možnosť ich odstraňovania za účelom predchádzania alimentárnych nákaz.

Kľúčová slová: *sanitácia, alimentárne nákazy,hygienu, potravina,mliekarenska prevádzka*

Abstract

The basic precondition for obtaining safe food is to ensure hygiene and sanitation production facilities, machines, working tools in food processing plants. Violation of all the principles relating to hygiene can contaminate food, and so constitute a biological hazard to the consumer. Hygiene requirements for the different food production systems are different, but there's still a wide range of common hygienic measures that must be adhered to in every process of production. Corretly carried out sanitation as well as access and training of the personnel in food porcessing plant are basic premise for the production of safe food. In this work, we focused on hygiene and sanitation operations in dairy plant. Microbiological swabs taken from various surfaces of different parts of the plant shows at good performed disinfection in dairy plant except on swabs taken from part in the production of cottage cheese. In this section was recorded 1 coliform bacteria on the door and also was recorded after disinfection high number of total microorganisms and 1 coliform bacteria on floor. Results obtained

by using microbiological control efficiency are the basis for finding deficiencies in sanitation and re-create the possibility of their removal in order to prevent foodborne diseases.

Úvod

V súčasnosti sa omnoho viac do popredia dostáva záujem spotrebiteľa i výrobcu o bezpečné potraviny s čím súvisí mikrobiologická čistota potravinárskych surovín, technologických zariadení, priestorov v rámci výroby i konečných výrobkov. Preto sa kladie veľký dôraz na celý komplex zabezpečenia kvality, vrátane hygieny výroby (Lopašovský a kol., 2006). Na vznik určitého ochorenia z potraviny je nutný výskyt príslušného patogénneho mikroorganizmu v potravine (Görner a Valík, 2004). Ako patogénne sú označované tie mikroorganizmy, ktoré majú schopnosť poškodzovať ľudské zdravie, to znamená, že môžu vyvolať infekčné ochorenie (Hrubý, 1998). Hlavnou vlastnosťou týchto mikroorganizmov je schopnosť zachovať si v potravine životaschopnosť a virulenciu (schopnosť spôsobiť ochorenie). Ďalej je to schopnosť množiť sa v potravine a vlastniť špecifické faktory patogenity ako je schopnosť tvorby toxínov alebo schopnosť zachytiť sa, množiť a rozšíriť v tkanivách vnímavého jedinca (Görner A Valík, 2004). Alimentárne ochorenie je ochorenie, ktoré vzniká požitím potraviny kontaminovanej infekčným agens, postihujúca prevažne gastrointestinálny trakt (Havlíčková A Šrámová, 1998). Potraviny môžu byť kontaminované mikroorganizmami primárne aj sekundárne. Primárna kontaminácia potravín saprofytickými a patogénnymi mikroorganizmami sa uskutočňuje v čase pred ich dodaním do potravinárskeho alebo kulinárskeho závodu (Görner a Valík, 2004). Sekundárna kontaminácia potravín najmä saprofytickými mikroorganizmami sa zväčša uskutočňuje pri ich opracovaní, spracovaní a finalizácii stykom s nedostatočne čisteným a dekontaminovaným náradím a zariadením. Významnú úlohu zohrávajú pritom aj chorí ľudia a bacilonosiči. K sekundárnej kontaminácii počítame aj množenie kontaminujúcich saprofytických alebo patogénnych mikroorganizmov v polotovarochoch a v hotových produktoch pri ich nevhodnom skladovaní (Görner a Valík, 2004).

Materiál a metodika

Účinnosti sanitácie v mliekarenskej prevádzke bola vyhodnotená klasickou mikrobiologickou metódou. Vzorky sterov na mikrobiologické vyšetrenie boli odobraté pred a po dezinfekcii z rôznych povrchov, v 3 rôznych úsekoch výroby mliečnych produktov: jogurtov, tvarohu a cottage cheese. Mikrobiologické stery sme odoberali z plochy 10 cm². Celkové počty mikroorganizmov (CPM) sme stanovili po kultivácii na MPA agare pri 37°C za 24 hodín. Po 24 hodinách v termostate pri 37°C, na endo agare sme hodnotili počty koliformných zárodkov. Výsledky uvedené v tabuľkách sú priemerom odobratých 5 sterov. Na vyhodnotenie vzdušných mikroorganizmov bola použitá bezprístrojová sedimentačná metóda pričom doba expozície platní s mäsopeptonovým agarom a endo agarom bola 5 minút. Počty mikroorganizmov z platní sme odčítali až po kultivácii v termostate pri teplote 37°C za 24 hodín.

Výsledky a diskusia

Alimentárne ochorenia predstavujú na celom svete vážny zdravotný a ekonomický problém a ich potlačenie tvorí významný podiel protiepidemiologickej činnosti. Aby sa

zabránilo šíreniu nákazy potravinami, je potrebné uplatňovať hygienické zásady (Zeľňáková, 2008). Tabuľka 1 poukazuje na mikrobiologickú čistotu povrchov v časti jogurtáreň, ktorá je vyjadrená výsledkami mikrobiologických sterov. Stav jednotlivých povrchov bol pred dezinfekciou dobrý. Samotná dezinfekcia bola zrealizovaná dostatočne a efektívne.

Tabuľka 1: Priemerné hodnoty mikroorganizmov na testovaných povrchoch v časti jogurtáreň, z plochy 10 cm² (KTJ. 10 cm²)

Miesto odberu	Pred dezinfekciou		Po dezinfekcii	
	CPM	Koliformné zárodky	CPM	Koliformné zárodky
Podlaha	250	0	10	0
Stena	5	0	0	0
Stôl	21	0	3	0
Dvere	2	0	0	0
Dopravníkový pás	45	0	1	0
Kelímok jogurtov	2	0	0	0

Kontrola hygieny a kvality čistenia a dezinfekcie je rozhodujúcim faktorom pre splnenie základných požiadaviek systému HACCP v potravinárskych prevádzkach (Vojtaššák, 2003). V tabuľke 2 sú zaznamenané výsledky kultivácií mikrobiologických sterov zo sledovaných povrchov na úseku tvaroháreň. Na základe výsledkov možno konštatovať, že počty sledovaných druhov mikroorganizmov v sledovanej časti mliekarene vyhovujú požiadavkám pred dezinfekciou a aj po nej. Dezinfekčný proces bol účinný.

Tabuľka 2: Priemerné hodnoty mikroorganizmov na testovaných povrchoch časti tvaroháreň, z plochy 10 cm² (KTJ. 10 cm²)

Miesto odberu	Pred dezinfekciou		Po dezinfekcii	
	CPM	Koliformné zárodky	CPM	Koliformné zárodky
Podlaha	50	0	0	0
Stena	120	1	2	0
Stôl	41	1	1	0
Dvere	70	0	5	0
Tvarohová vaňa	20	0	1	0
Tvarohový vozík	5	0	0	0

Z tabuľky 3 vyplýva, že dezinfekcia bola vykonaná správne a efektívne, na čo poukazujú znížené počty sledovaných mikroorganizmov. Jedine ster odobratý z dverí a z podlahy bol pozitívny. Na podlahe boli odčítané po dezinfekcii vysoké hodnoty CPM, ako aj jeden koliformný zárodok. Ster z dverí po dezinfekcii bol pozitívny, aj keď pred dezinfekciou bol negatívny, tento výsledok môžeme pripísať ľudskému faktoru, ktorý by mohol následne kontaminovať surovinu použitú pri výrobe, medziprodukt, alebo výrobok pred jeho balením. Kontamináciu potraviny počas produkcie, spracovania, distribúcie a prípravy je schopný spôsobiť aj samotný človek. Práve preto

každá potravina, či už surová alebo spracovaná, predstavuje určité riziko pre vznik alimentárneho ochorenia (Hudecová a Šimkovič, 2011).

Tabuľka 3: Priemerné hodnoty mikroorganizmov na testovaných povrchoch v časti cottage cheese, z plochy 10 cm² (KTJ. 10 cm²)

Miesto odberu	Pred dezinfekciou		Po dezinfekcii	
	CPM	Koliformné zárodky	CPM	Koliformné zárodky
Podlaha	151	0	104	1
Stena	3	0	0	0
Stôl	11	0	10	0
Dvere	10	0	8	1
Syrárska vaňa	40	0	3	0
Tank na smotanú	12	0	0	0

Pre zaistenie dobrej kvality produktov je potrebné znížiť čo najviac aj riziko možnej kontaminácie resp. rekontaminácie zárodkami prítomnými v ovzduší výrobných objektov. Dodržiavanie zásad správnej výrobných praxe spolu s opatreniami vyplývajúcimi zo systému HACCP ako aj správne vykonaná dezinfekcia by mala značne znížiť uvedené riziko (Ostrý, 2002). V tabuľke 4 sú popísané výsledky kontroly mikrobiálneho znečistenia ovzdušia v mliekarni. Výsledné hodnoty nepresahujú stanovené normy, takže možno konštatovať že proces dezinfekcie bol účinný. Hodnoty CPM, koliformných zárodkov sa v procese výroby mierne zvyšujú, čo súvisí s technologickým procesom a pohybom osôb v objekte.

Tabuľka 4: Priemerné hodnoty vzdušných mikroorganizmov v hodnotených častiach mliekarne

Miesto odberu	Pred výrobou		Počas výroby		Po dezinfekcii	
	CPM	Koliformné zárodky	CPM	Koliformné zárodky	CPM	Koliformné zárodky
Jogurtáreň	15	0	20	0	0	0
Tvaroháreň	22	0	34	0	2	0
Cottage cheese	5	0	12	1	0	0

Záver

Každý výrobca musí zabezpečiť, aby proces výroby sa realizoval hygienickým spôsobom na základe aplikácie systému HACCP, ktorý identifikuje miesto, ktoré by mohlo mať negatívny vplyv na zdravotnú neškodnosť potraviny, vypracováva hygienický režim a sanitačný program. Súčasťou sanitačného programu musí byť aj systém účinnej kontroly komplexného sanitačného režimu (Lapašovská a kol., 2006). Pre výrobu je optimálne spojenie permanentného monitoringu hygienickej úrovne s poskytnutím výsledkov laboratórneho vyšetrenia ešte v čase, kedy sa dá v prípade nepriaznivých zistení vykonať náprava tak, aby sa predišlo znehodnoteniu výrobku a kontaminácii výrobných priestorov, čo by mohlo zabrániť rozsiahlejším ekonomickým

škodám a predovšetkým ohrozeniu zdravia konzumentov, prípadne vzniku alimentárnych ochorení (Lopašovský, 2006). Na základe získaných výsledkov v miekarenskom podniku môžeme konštatovať, že dezinfekcia bola účinná vo všetkých sledovaných úsekoch až na stery odobraté v časti výroby cottage cheese. V tejto časti boli na dverách zaznamenané koliformné baktérie v počte 1 JKT a na podlahe boli zaznamenané po dezinfekcii vysoké hodnoty CPM, ako aj jeden koliformný zárodok. Následné nápravné opatrenia boli vykonané na základe výsledkov získaných z mikrobiologickej kontroly účinnosti dezinfekcie za účelom prevencie pred alimentárnymi nákazami.

Literatúra

- Bakoss, P. *Epidemiológia*. Bratislava: UK, 2005, s. 110 – 116, ISBN 80-223-1989-9.
- Görner, F. - Valík, Ľ. *Aplikovaná mikrobiológia požívateľín*. Bratislava: Malé centrum, 2004, s. 481 – 501. ISBN 80-967-0649-7.
- Havlíčková, B. – Šrámová, H. Analýza príčin vzniku epidemii alimentárnych nákaz. In *Hygiena – časopis pro ochranu a podporu zdraví*, roč. 43, 1998, č. 11, s. 50 – 52. ISSN 1210-7840.
- Hrubý, S. 1998. Hygienická problematika podmíneně patogenních mikroorganismů. In *Hygiena – časopis pro ochranu a podporu zdraví*, roč. 43, 1998, č. 3, s. 169 – 172.
- Hudecová, D., Šimkovič, M. *Mikrobiológia*, Bratislava: Nakladateľstvo STU, 2009, 11-168s. ISBN 978-80-227-3194-2.
- Lapašovská, J. - Petříková, J. - Koreňová, J. - Stoleřová, K. Monitoring úrovně hygieny a sanitácie v malých potravinárskych prevádzkach. In: *Zborník prác z medzinárodnej vedeckej konferencie „Bezpečnosť a kontrola potravín“*. Nitra, 2006, 66 s. ISBN 80-8069-682-0.
- Lopašovský, Ľ. - Popelka, P. Využitie moderných metód pri monitorovaní hygieny prostredia bitúнку. In: *Zborník prác z medzinárodnej vedeckej konferencie „Bezpečnosť a kontrola potravín“*. Nitra, 2006, 70 s. ISBN 80-8069-682-0.
- Ostrý, V. Výskyt plísni v mase a masných výrobcích (IV), 2002, *Maso*, 13(3), 44 – 47 s.
- Vojtaššák, J. Kontrola hygieny pomocou detektoru Lightning MVP. *Mäso*, 2003, Vol. 14, s. 33 – 35.
- Zeleňáková, L., Pauková, J. Význam protiepidemiologických opatrení v zariadeniach školského stravovania. *Potravinárstvo [online]*, 2008, Vol. 2, s. 32-41.

PodĎakovanie

Táto práca bola podporená grantovou úlohou KEGA-003UVLF-4/2016.

Kontaktná adresa:

MVDr. Katarína Veszelits Laktičová, PhD.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Ústav hygieny zvierat a životného prostredia, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika.

E-mail: Katarina.VeszelitsLakticova@uvlf.sk

**Vplyv počtu somatických buniek na množstvo a nutričnú kvalitu
surového kravského mlieka**
*The Effect of Somatic Cell Count on the Amount and Nutritional Quality
of Raw Cow Milk*

Vršková, M.¹, Tančin, V.^{1,2}

¹Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra

²Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre – Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov

Súhrn

Mastitída je najčastejším a ekonomicky najnáročnejším ochorením v chove mliekového dobytku. Sledovali sme vplyv PSB na množstvo a nutričnú kvalitu surového mlieka dojníc holštajnského plemena za dané obdobie. Vzorky mlieka boli odoberané raz mesačne v rámci kontroly úžitkovosti od roku 2013 do roka 2015 vrátane. Dojnice sme rozdelili podľa PSB do nasledovných skupín: nízky PSB – kravy s hodnotou PSB $< 300 \times 10^3$ buniek v 1 ml mlieka, stredný PSB ($300 - 600 \times 10^3$), vysoký PSB ($600 - 1000 \times 10^3$), veľmi vysoký PSB ($> 1\,000 \times 10^3$). PSB mal výrazný vplyv na množstvo mlieka. Pri dojniciach s nízkym PSB bolo priemerné množstvo nadojeného mlieka $14,13 \pm 0,13$ kg a so zvyšujúcim PSB preukazne klesalo až na $12,68 \pm 0,15$ kg. Rovnakú tendenciu sme zistili u laktózy (pokles z $4,75 \pm 0,01\%$ na $4,55 \pm 0,01\%$). Naopak u tuku a bielkovín bol trend rastúci (u tuku z hodnoty $3,74 \pm 0,02\%$ pri nízkom PSB až na $3,91 \pm 0,03\%$ pri veľmi vysokom PSB a bielkovín z $3,35 \pm 0,01\%$ pri nízkom PSB na $3,48 \pm 0,01\%$).

Kľúčové slová: mastitída, zložky mlieka, počet somatických buniek (PSB)

Abstract

To assess the health of animals is monitored cell count in milk, whether somatic or microorganisms. We observed the effect of somatic cell count on the quantity and nutritional quality of raw milk dairy cows of Holstein breed for the period. Individual milk samples (7531 samples) were obtained from whole milk collection as an average sample once a month. Milk yield and its composition (fat, protein and lactose), and somatic cell counts - SCC (log x SCC per ml) were evaluated. Dairy cows were divided according to SCC into three groups: low SCC - SCC cows with a value of $< 300 \times 10^3$ cells in 1 ml of milk, medium SCC ($300 - 600 \times 10^3$), high SCC ($600 - 1000 \times 10^3$), very high SCC ($> 1\,000 \times 10^3$). When cows with low SCC was the average amount of collected milk 14.13 ± 0.13 kg and with increasing SCC significantly, falling to 12.68 ± 0.15 kg. The same trend was observed in the lactose (down from 4.75 ± 0.01 to $4.55\% \pm 0.01\%$). In contrast, the fat and protein content has been a growing trend (in the fat of the value of $3.74 \pm 0.02\%$ at low SCC up to $3.91 \pm 0.03\%$ at very high SCC and protein from $3.35 \pm 0.01\%$ at low SCC to $3.48 \pm 0.01\%$). SCC had a significant effect on the observed parameters of milk production.

Úvod

Kvalita surového mlieka je posudzovaná podľa viacerých noriem a nariadení. V súvislosti s produkciou mlieka sú z tohto pohľadu najdôležitejšie Nariadenia európskeho parlamentu a rady (ES) č. 852/2004 o hygiene potravín, a č. 853/2004, ktorými sa ustanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu. Ďalej nariadenie vlády Slovenskej republiky 360/2011, ktorým sa ustanovujú hygienické požiadavky na priamy predaj a dodávanie malého množstva prvotných produktov rastlinného a živočíšneho pôvodu a dodávanie mlieka a mliečnych výrobkov konečnému spotrebiteľovi a iným maloobchodným prevádzkarniam a samozrejme, STN 57 0529 Surové kravské mlieko na mliekarenské ošetrovanie a spracovanie. Dané normy a nariadenia stanovujú hraničné hodnoty v obsahu jednotlivých zložiek mlieka, chemických a technologických vlastnostiach. Na posúdenie zdravia zvierat sa sleduje počet buniek v mlieku, či už somatických alebo mikroorganizmov (Kelly et al., 2011). Zjednodušene môžeme povedať, že len zdravá dojnica produkuje kvalitné mlieko zodpovedajúce daným požiadavkám. V kontexte zdravotnej problematiky dojníc majú významné miesto tzv. produkčné ochorenia ako sú metabolické ochorenia, mastitídy, ochorenia paznechtov a reprodukčného aparátu.

Prítomnosť somatických buniek v mlieku je na celom svete využívaná k zisťovaniu infikovaných kráv a stanoveniu rozšírenia mastitíd v celom stáde. Somatické bunky pozostávajú z bielych krviniek v mlieku s relatívne malým počtom epitelových buniek sekrečného epitelu. Mlieko zo zdravých alebo neinfikovaných dojníc zvyčajne obsahuje počet somatických buniek (PSB) v rozsahu od 50 000 do 200 000 buniek v jednom mililitri. Ak počet somatických buniek presiahne 200 000, zvyšuje sa pravdepodobnosť, že vemenó je infikované. Niektorí autori poukázali na možnosť infikovanej štvrté vemenó dojnice už pri PSB 100 000 buniek v jednom mililitri. Limit pre speňažovanie mlieka je nastavený do hodnoty 400 tis./ml. Zápal vemenó sa obvykle vyskytujú u 20 až 40 % dojníc ročne. Straty spôsobené mastitídami sú udávané od 37,- až do 555,- € (Kvapilík, 2010; Huijps et al., 2008). Ku vzniku hlavných škôd dochádza pri subklinických mastitídach s hodnotou pod 200 000 v 1 ml. V priemere sa udáva, že na jednu klinickú prípadá 20 – 40 subklinických mastitíd. Pri subklinickej mastitíde nie sú vizuálne zmeny zdravotného stavu na dojnici ani v mlieku tak zjavné. Preto sa kvalita mlieka hodnotí aj chemicky a technologicky. Pod chemickým zložením rozumieme obsah tuku, bielkovín, laktózy, beztukovej sušiny (BTS) čiže základný rozbor (ZR), minerálne látky, teplotu tuhnutia a rôzne látky metabolického pôvodu (močovina, chloridy, ketolátky, kyselina citrónová). Technologické vlastnosti sú charakterizované obsahom inhibičných látok, titračná kyslosť °SH prípadne aktívna kyslosť – pH, kysacia schopnosť (tzv. jogurtový test), syriteľnosť a termostabilita.

Cieľom našej práce bolo zhodnotiť vplyv počtu somatických buniek na množstvo a nutričnú kvalitu surového kravského mlieka dojníc holštajnského plemena v rokoch 2013-2015 na vybranom poľnohospodárskom podniku.

Materiál a metodika

Vzorky mlieka boli odoberané raz mesačne v rámci kontroly úžitkovosti od roku 2013 do roka 2015 vrátane, čo predstavovalo 7957 údajov. Dojnice sme rozdelili podľa PSB do nasledovných skupín: nízky PSB – kravy s hodnotou PSB do 300 000 buniek v 1 ml mlieka, stredný PSB – od 300 000 do 600 000, vysoký PSB – od 600 000 do 1000 000,

veľmi vysoký PSB – nad 1 000 000. Vzorky mlieka boli analyzované v centrálnom laboratóriu Plemenárskych služieb, š.p., Bratislava na základné zloženie (tuk, bielkoviny, laktóza) pomocou MilkoScan FT120 a PSB pomocou Fossomatic 90 po 15 min ošetrovaní vo vodnom kúpeli s teplotou 40 °C. Štatistické analýzy sme robili pomocou SAS/STAT 9.2 (PROC Mixed, 2009).

Štatistická významnosť vplyvu jednotlivých faktorov zahrnutých do modelu bola stanovená použitím Fisherovho F-testu. Pre pozorované vlastnosti sa k stanoveniu rozdielností v rámci jednotlivých efektov použil Scheffeho multiple range test. Použil sa nasledovný štatistický model:

$$y = X\beta + Zu + e$$

y – vektor meraných hodnôt pre sledované ukazovatele

β – pevný efekt ročné obdobie, PSB, poradie a štádium laktácie, PSB v prvom mesiaci laktácie

u – náhodný efekt zvierat'a, $u \sim N(0, I \delta_2c)$

e – nezávislé, normálne rozdelené náhodné chyby pozorovaní $e \sim N(0, I \delta_2e)$

X, Z matica nezávislých pevných efektov a náhodných efektov zvierat'a

Výsledky a diskusia

V súčasnosti tvorí podiel kravského mlieka na celosvetovej produkcii mlieka 82 %, čo predstavuje viac ako 650 miliónov ton vyprodukovaného mlieka ročne (Kopáček et al., 2016). Výrazný vplyv na množstvo a kvalitu mlieka má zdravie dojnice a hlavne stav mliečnej žľazy. Mastitídy patria celosvetovo k najčastejším, najproblematickejším a ekonomicky najnáročnejším ochoreniam v chovoch dojníc (Tamburini et al., 2010; Strapák et al., 2013). Mieru zápalu nám najlepšie vyjadruje cytologické vyšetrenie na počet somatických buniek (Hamann, 2002).

V tabuľke 1 sme uviedli základné zhodnotenie sledovaných parametrov úžitkovosti. Z celkového počtu 7565 údajov z databázy dojníc sme do hodnotenia množstva mlieka zaradili 7531 meraní. Je to z toho dôvodu, že dojnice s preukazným zápalom vemena sa dojili individuálne do kanvy a množstvo nadojeného mlieka sa nezaznamenávalo. Za sledované obdobie sme u dojníc zistili priemerné množstvo nadojeného mlieka $13,48 \pm 0,05$ kg s tukovosťou v priemere $3,73 \pm 0,008$ %, obsahom bielkovín $3,34 \pm 0,004$ % a laktózy $4,76 \pm 0,002$ %. Na posúdenie zdravotného stavu dojníc sme sledovali počet somatických buniek. V danej skupine dojníc bol priemerný PSB $5,32 \pm 0,007$ logxPSB/ml.

Tabuľka 1: Základné zhodnotenie sledovaných parametrov úžitkovosti

ukazovateľ	n	priemer	št.odchýlka	min.	max.
mlieko, kg	7531	13,48	0,05	1,00	33,00
tuk, %	7565	3,73	0,008	1,13	9,13
bielkoviny, %	7565	3,34	0,004	2,07	5,27
laktóza, %	7565	4,76	0,002	3,17	5,65
logxPSB/ml	7565	5,32	0,007	3,00	7,45

V tabuľke 2 sme uviedli postupné zvyšovanie mliekovej úžitkovosti za jednotlivé sledované roky 2013 až 2015. Potvrdili sme, že zvyšovaním množstva mlieka sa znižuje

koncentrácia tuku, pri vyrovnanej hladine bielkovín. Zdravotný stav mliečnej žľazy zostal podľa PSB nezmenený.

Tabuľka 2: Vývoj mliekovej úžitkovosti a počet somatických buniek (PSB) za sledované roky

	2013		2014		2015	
	priemer	št.odchýlka	priemer	št.odchýlka	priemer	št.odchýlka
mlieko (kg)	12,29	0,37	13,11	0,17	14,45	0,16
tuk (%)	3,94	0,03	3,84	0,03	3,75	0,03
bielkoviny (%)	3,44	0,02	3,43	0,01	3,40	0,01
laktóza (%)	4,55	0,01	4,66	0,01	4,77	0,01
logxPSB.ml⁻¹	5,49	0,03	5,48	0,03	5,50	0,03

Tabuľka 3: Vplyv počtu somatických buniek (PSB) na sledované parametre úžitkovosti

trieda PSB	PSB	ukazovateľ	mlieko (kg)	tuk (%)	bielkoviny (%)	laktóza (%)
nízka	< 3.10 ⁵	priemer	14,13 ^a	3,74 ^a	3,35 ^a	4,75 ^a
		št.odchýlka	0,13	0,02	0,01	0,01
stredná	3.10 ⁵ - 6.10 ⁵	priemer	13,34 ^b	3,83 ^b	3,41 ^b	4,69 ^b
		št.odchýlka	0,14	0,03	0,01	0,01
vysoká	6.10 ⁵ - 1.10 ⁶	priemer	12,98 ^b	3,89 ^b	3,44 ^c	4,65 ^c
		št.odchýlka	0,16	0,03	0,01	0,01
veľmi vysoká	> 1.10 ⁶	priemer	12,68 ^c	3,91 ^c	3,48 ^c	4,55 ^d
		št.odchýlka	0,15	0,03	0,01	0,01

Rozdielne písmená predstavujú preukazné rozdiely medzi priemermi P<0,05

V tabuľke 3 sme uviedli vplyv PSB na sledované parametre úžitkovosti. Vzostup somatických buniek v mlieku je odpoveďou imunitného systému dojnic na prienik mikroorganizmu do parenchýmu vemena. Pri kravách, ktoré mali PSB do 300 000 buniek/ml bolo priemerné množstvo nadojeného mlieka 14,13 ± 0,13 kg. Pri zvyšujúcom sa PSB množstvo mlieka klesalo, pri dojnicach, ktoré boli zaradené do skupiny s veľmi vysokým PSB nad 1 000 000 buniek/ml bolo množstvo mlieka 12,68 ± 0,15 kg. Množstvo vyprodukovaného mlieka so stúpajúcim PSB klesá (Auldish, 2011). Mastitidy majú tiež nezanedbateľný vplyv na kvalitu mlieka tým, že zvýšený PSB ovplyvňuje zložky mlieka (Seydlová, 2012). Dochádza k zníženiu hladiny laktózy a mení sa kvalita bielkovín. V našom súbore mal obsah tuku so vzrastajúcim počtom somatických buniek stúpajúcu tendenciu. Z hodnoty 3,74 ± 0,02 % pri nízkom PSB množstvo tuku stúplo na 3,91 ± 0,03 % pri veľmi vysokom PSB. Podľa Bramley et al. (1996) sa v mlieku s vysokým PSB obsah tuku znižuje. Obsah bielkovín stúpil z 3,35 ± 0,01 % pri nízkom PSB na 3,48 ± 0,01 % pri veľmi vysokom PSB. Nielsen (2009) vo svojej práci uviedol, že mastitídou postihnuté vemeno má síce priemerne zvýšený obsah bielkovín, avšak obsah kazeínu sa znižuje. To spôsobuje problémy napríklad pri výrobe syrov. Obsah laktózy so zvyšujúcim počtom

somatických buniek klesal z $4,75 \pm 0,01$ % na $4,55 \pm 0,01$ %. Laktóza, ktorá je syntetizovaná výlučne len marmárnymi epitelovými bunkami pri poškodení bariéry krv-mlieko čiastočne presakuje do krvného riečišťa, a to je dôvod poklesu mliečného cukru v mlieku pri mastitíde (Bruckmaier et al., 2004).

Záver

Jednotlivé zložky mlieka nie sú konštantné, najväčšia variabilita je pri mliečnom tuku, najmenšia pri laktóze. Podiel jednotlivých zložiek mlieka spolu s jeho výživársko - fyziologickými, fyzikálnymi, organoleptickými, hygienickými a mikrobiologickými vlastnosťami rozhoduje o jeho kvalite. Zvýšený PSB ako ukazovateľ zápalu vemena mal na sledované znaky, či už množstva mlieka alebo jeho zložiek najvýznamnejší vplyv. Pre prvovýrobu mlieka je najväčší problém rýchla identifikácia „problémových dojníc“ a určenie patogénov, ktoré spôsobujú zápaly mliečnych žliaz. Najdôležitejšiu úlohu v prevencii vzniku mastitíd aj naďalej spočíva v ľudskom faktore.

Literatúra

- Auld, M. Milk Quality and Udder Health (Effect on Processing Characteristics). *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Second Edition), 2011, p. 902–907, <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00354-X>.
- Bramley, A. J., Cullor, J. S., Erskine, R. J., Fox, L. K., Harman, R. J., Hogan, J. S., Nickerson, S. C., Oliver, S. P., Smith, K. L., Sordillo, L. M. 1996. Current concepts of bovine mastitis. 4 th. ed. Madison: National Mastitis Council, 1996, 64 s.
- Bruckmaier, R. M., Ontsouka, C. E., Blum, J. W. 2004. Fractionized milk composition in dairy cows with subclinical mastitis. In: *Vet. Med. – Czech*, vol. 49, 2004, p. 283-290.
- Hamman, J. 2002. Milk Quality and Udder Health in Relation to Modern Milking. In: *Recent developments and perspectives in bovine medicine*, XXII World Buiatrics Congress, Hannover, 2002, p. 333-345.
- Huijps K., Lam T.J.G.M., Hogeveen H. Costs of mastitis: facts and perception. *J. Dairy Sci.*, 2008, 75: p. 113-120.
- Kelly, A. L., Leitner, G., Merin, U. 2011. Milk Quality and Udder Health (Test Methods and Standards). *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Second Edition), 2011, p. 894-901, <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00353-8>.
- Kopáček, J. 2016. Současná situace na trhu s mlékem. Řešení a východiska ze současné krize. Den VÚM 2016, Praha.
- Kvapilík, J. 2010. Ekonomické aspekty výroby mléka : certifikovaná metodika. Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby, 2010. 78 s. ISBN 9788074030598.
- Strapák, P. et al., 2013. *Chov hovädzieho dobytku*. Nitra : SPU. 607 s. ISBN 978-80-552-09944.
- Seydlová, R. Somatic cell count. In Samková et al. *Milk: quality and production*. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 2012, p.125-137, ISBN: 978-80-7394-383-7.
- Tamburini, A., Bava, L., Piccinini, R., Zecconi, A., Zucali, M., Sandrucci, A. 2010. Milk emission and udder health status in primiparous dairy cows during lactation. In: *Journal of Dairy Research*, vol. 77, 2010, p. 13-19.

Pod'akovanie

Tento článok bol financovaný z projektu “MLIEKO“ č. 26220220196 Európskeho fondu regionálneho rozvoja a KEGA 006SPU-4/2014.

Kontaktná adresa:

Ing. Martina Vršková, Ph.D., NPPC – VÚŽV Nitra, Odbor systémov chovu, šľachtienia a kvality produktov, Hlohovecká 2, 951 46 Lužianky.

E-mail: vrskova@vuzv.sk

Bezpečná hladina biogénnych amínov v potravinách *Safety level of biogenic amines in food*

Výrostková, J., Dičáková, Z., Dudriková, E., Maľová, J., Semjon, B., Regecová, I.,
Veszelits Laktičová, K.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Súhrn

Ľudské telo toleruje približne 6 mg biogénnych amínov (BA) v jednom jedle. Hladiny do 40 mg v jednej dávke je schopný zniesť bez problémov zdravý človek. Avšak vyššie hodnoty už môžu spôsobiť intoxikácie a vo výnimočných situáciách aj smrť. Z výsledkov analýz BA v rôznych vzorkách sme skombinovali množstvá potravín skonzumovaných v jednej porcii jedla. Výsledky dosiahnuté v takto nasimulovaných dávkach jedla sme porovnali s odporúčanými hodnotami.

Kľúčové slová: *biogénne amíny, histamín, tyramín, kadaverín*

Abstract

The human body tolerates approximately 6 mg of biogenic amines (BA) in one meal. The levels of 40 mg per dose is capable of withstanding without problems health. However, higher values may already cause intoxication and in exceptional situations even death. Analysis has a BA in different samples we have combined quantities of food consumed per serving of food. The results achieved in this way simulating portions of food were compared with the recommended values.

Úvod

Biogénne amíny tvoria súčasť všetkých živých organizmov a preto sa bežne vyskytujú aj v potravinách. Vo vyšších koncentráciách sa nachádzajú najmä v tých druhoch potravín ktoré pri svojej výrobe prejdú určitým fermentačným procesom. Vznikajú v nich dekarboxyláciou príslušných voľných aminokyselín. Z potravinárskeho hľadiska sú najznámejšími amínmi histamín (HIS), tyramín (TYR), putrescín (PUT), kadaverín (CAD), tryptamín (TRY), 2-fenyletylamín (PHE), spermín (SPM) a spermidín (SPD) (Amaga, 2013). V priebehu zrecieho procesu sa koncentrácie posledných dvoch amínov výrazne nemenia. Koncentrácie ostatných amínov sa môžu postupne zvyšovať. Degradáciou bielkovín vznikajú voľné aminokyseliny z ktorých sa dekarboxyláciou môžu tvoriť biogénne amíny. Napríklad z histidínu vzniká histamín, z tyrozínu tyramín, z lyzínu kadaverín, z ornitínu putrescín (Velíšek, 1999). Na vznik amínov sú potrebné enzýmy – dekarboxylázy, ktoré sa vyskytujú v rôznych živočíšnych a rastlinných tkanivách. Najmä u niektorých baktérii majú dekarboxylázy výraznú aktivitu. Vznik biogénnych amínov v potravine je závislý od troch faktorov: prítomnosti voľných aminokyselín, mikroorganizmov s príslušnou dekarboxylačnou aktivitou, vhodných podmienok na rast mikroorganizmov (Greif a Greifová, 1998). Vhodnými podmienkami pre rýchly vznik biogénnych amínov sú teplota medzi 20 až 37°C , pH hodnoty od 5 do 7 a prítomnosť viac ako 10⁶ aminoproduktujúcich mikroorganizmov. Aktuálny obsah

amínov v potravinách s prirodzenou zmiešanou mikroflórou sa vždy chápe ako dynamická veličina (Dičáková, 2007a)

Materiál a metodika

Na analýzy BA v rôznych druhoch potravín bol použitý analyzátor aminokyselín. Amíny boli extrahované zo vzoriek pomocou kyseliny trichlóroctovej (TCA). Vzorky boli po homogenizácii a centrifugácii prefiltrované cez membránový filter s veľkosťou pórov 0,45 μm a dávkované priamo na iónovo-výmennú kolónu analyzátoru. Analyzovaný bol obsah HIS, TYR, PUT, CAD (Standara a kol., 2000). Zároveň so vzorkami boli analyzované aj štandardné roztoky uvedených BA. Detekčný limit metódy je 0,5 mg.kg^{-1} a kvantifikačný limit je 1,0 mg.kg^{-1} pre každý jeden sledovaný amín.

Výsledky a diskusia

Tabuľka 1: Zastúpenie BA v jednotlivých potravinách

Potraviny	HIS	TYR	PUT	CAD	SPD	SPM	Súčet BA	literatúra
	mg.kg^{-1}	mg.kg^{-1}	mg.kg^{-1}	mg.kg^{-1}	mg.kg^{-1}	mg.kg^{-1}	mg.kg^{-1}	
Jogurt	12,2	26,2	1,8	1,3	-	-	41,5	COST 917, 2005
Mozzarella Milbona	ND	1	1,2	ND	-	-	2,2	Dičáková, Dudriková, 2007a
Olomoucké syrečky	50,2	168,1	151,4	388,5	-	-	758,2	Dičáková, Dudriková, 2007b
Pekárenské výrobky	ND	ND	0,02	ND	2,87	1,03	3,92	Bauer .kol., 2002
Paradajka	2,75	ND	11,03	ND	2,87	ND	16,65	COST 917, 2005
Cibuľa	ND	3	2	4	4	1	14	Moret a kol., 2005
Kyslá kapusta	12,1	235	181	64,8	8,2	ND	501,1	Kalač a kol., 1999
Červená repa	ND	ND	4,5	ND	19,54	ND	24,04	COST 917, 2005
Víno červené	4,1	3,3	9,8	0,2	ND	0,5	17,9	COST 917, 2005
Ovocie	ND	ND	9,66	ND	2,99	1,33	13,98	Bauer .kol., 2002
Tvrдый сыр Ementaler	40,5	1,9	43,2	29,7	-	-	115,3	
Domáca klobása	ND	112,9	17,1	40	-	-	170	
Čiernohorská šunka	205	156,7	4,3	0,6	-	-	366,6	
Džús DIZZY	4,1	ND	184,2	ND	-	-	188,3	
Pilsner Urquell 12°	5,5	3,1	17,8	6,2	-	-	32,6	
Víno - biele	1	1,3	1,9	ND	-	-	4,2	
Bravčové mäso	2,2	10,9	4,5	2,5	-	-	20,1	
Dusená šunka	1,5	ND	ND	ND	-	-	1,5	

ND – nedetekovateľné množstvo; - nestanovované

Zo získaných výsledkov analýz BA v rôznych vzorkách sme skombinovali množstvá potravín skonsumovaných v jednej porcii jedla. Rozhodli sme sa zostaviť päť rôznych večerných menu: **Zloženie potravín v 5 rôznych vybraných večerách:** Večera 1: 200 ml jogurt, 100 g cereálií, 100 g ovocia; Večera 2: 50 g šunky, 50 g syr (mozzarella

Milbona), 60 g rožok (cca 2 ks), 50 g paradajka, 200 ml džús (pomarančový 100% DIZZY); Večera 3: 125 g syrečky (pravé olomoucké tvarůžky), 50 g údená klobása domáca, 50 g červená repa, 50 g cibuľa, 1000 ml pivo (Pilsner Urqel); Večera 4: 50 g čiernohorská šunka sušená, 50 g saláma Kalinka, 50 g syr „ementál“, 300 ml biele víno; Večera 5: 150 g knedlík, 150 g kyslá kapusta, 150 g bravčové pečené, 250 ml červené víno.

Tabuľka 2: Zastúpenie BA v jednotlivých večerách

Večere	HIS	TYR	PUT	CAD	SPD	SPM	Súčet BA
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
200ml jogurt	2,44	5,24	0,36	0,26	0	0	8,3
100g cereálií	0	0	0,002	0	0,008	0,012	0,022
100g ovocie	0	0	0,966	0	0,299	0,133	1,398
SUMA VEČERA 1	2,44	5,24	1,328	0,26	0,307	0,145	9,72
50g šunka	0,075	0	0	0	0	0	0,075
50g mozarella Milb.	0	0,05	0,06	0	0	0	0,11
60g rožky	0	0	0,0168	0	0,0064	0,0096	0,0328
50g paradajka	0,137	0	0,55	0	0,14	0,0096	0,8366
200ml džús	0,82	0,05	36,84	0	0,1464		37,11
SUMA VEČERA 2	1,032	0,05	37,4668	0	0,1464	0,0096	38,164
125g syrečky	6,27	21,01	18,92	48,56	0	0	94,76
50g údená klobása	0	5,64	0,85	2	0	0	8,49
50g cibuľa	0	0,15	0,1	0,2	0,2	0,05	0,7
1000ml pivo	5,5	3,1	17,8	6,2	0	0	32,6
SUMA VEČERA 3	11,77	29,9	37,67	56,96	0,2	0,05	136,55
50g čiernohor. šunka	10,25	7,83	0,215	0,03	0	0	18,325
50g saláma Kalinka	5,4	11,88	10,66	0,825	0	0	28,765
80g syr ementál	3,24	0,152	3,45	2,37	0	0	9,212
300ml víno biele	0,3	0,39	0,5		0	0	1,19
SUMA VEČERA 4	19,19	20,252	14,825	3,225	0	0	57,492
150g knedlík	0	0	0,063		0,861	0,309	1,233
150g kyslá kapusta	1,81	35,25	27,15	9,72	1,23	0	75,16
150g bravčové pečené	0,33	1,63	0,67	0,37	0	0	3
250ml červené víno	1,12	0,825	2,45	0,05	0	0,125	4,57
SUMA VEČERA 5	3,26	37,705	30,333	10,14	2,091	0,434	83,963

Záver

Výsledky dosiahnuté v nasimulovaných dávkach jedla sme porovnali s najvyššími odporúčanými hodnotami BA. Ľudské telo toleruje približne 6 mg BA v jednom jedle. Hladiny do 40 mg v jednej dávke je schopný zniesť bez problémov zdravý človek (Nouth, 1994; Chiacchierini a kol., 2006). Potraviný s vysokým obsahom amínov sú nebezpečné najmä pre ľudí, ktorí užívajú lieky, ktoré sú inhibítormi MAOi - monoaminoxidáza (napr. proti depresiám, zvýšenému krvnému tlaku) (Raffaella, 2015). Legislatívne je daná povinnosť kontrolovať iba obsah histamínu v určitých rybách (max. tolerovateľné hodnoty do 200 mg.kg⁻¹). Z analyzovaných vzoriek bolo najviac histamínu v Čiernohorskej šunke (205 mg.kg⁻¹), najviac tyramínu (235 mg.kg⁻¹) v kyslej kapuste a kadaverínu (388,5 mg.kg⁻¹) v Olomouckých syrečkoch. Najvyšší obsah v súčte biogénnych amínov predstavovala suma večere 3 (136, 55 mg),

4 (57, 492 mg), 5 (83, 963 mg) (tab. 2). Ako je vidieť v tab. 2, sumy BA v jednotlivých večerách sú rôzne. A prekročiť odporúčané hodnoty BA je možné veľmi ľahko.

Literatúra

Amaga, O., Serife, E., K., Cem, O.: A review of the liquid chromatographic methods for the determination of biogenic amines in foods, *Food Chemistry*, 2013, vol. 138, s. 509-515.

COST Action 917, Biogenically active amines in food, Volume VII, Morgan, D.M.L., Bauer, F., White, A., Luxembourg 2005, p. 337.

Dičáková, Z., Dudriková, E.: Je korelácia medzi putrefaktívnymi faktormi a výskytom putrescínu v syroch. In: Zborník z konferencie Hygiena Alimentorum XXVIII, Bezpečnosť a kvalita mlieka a mliečnych výrobkov, 2.- 4. mája 2007, Štrbské Pleso, Vysoké Tatry, s. 138 -143, b.

Dičáková, Z., Dudriková, E., Bystrický, P.: Bezpečnosť potravín versus monoaminoxidázu inhibujúce lieky. In: Zborník prác z medzinárodnej vedeckej konferencie, Bezpečnosť a kontrola potravín, Nitra, 28.-29. Marec 2007, s. 297 – 300, a. Greif, G., Greifová, M.: Výskyt biogénnych amínov v mliečnych produktoch. *Mliekarstvo*, 1998, vol. 29, no. 3, s. 33-36.

Kalač, P., Špička, J., Křížek, M., Steidlová, Š., Pelikánová, T.: Concentrations of seven biogenic amines in sauerkraut, *Food chemistry*, 1999, vol. 67, s. 275-280

Moret, S., Smela, D., Populin, T., Conte, S., L.: A survey on free biogenic amine content of fresh and preserved vegetables, *Food Chemistry*, 2005, vol. 89, s. 355-361.

Nout, M., J., R.: Fermented foods and food safety, *Food Res. Int.*, 1994, vol. 27, p. 291.

Chiacchierini, E., Restuccia, D., Vinci, G.: Evaluation of two different extraction methods for chromatographic determination of bioactive amines in tomato products, *Talanta*, 2006, s. 548-555.

Raffaella, P., Marta Letizia, A., Roberta, B., Giuliana, V.: Fast determination of biogenic amines in beverages by a core-shell particle column. *Food Chemistry*, 2015, vol. 187, p. 552-562.

Standara, S., Veselá, M., Drdák, M.: Determination of biogenic amines in cheese by ion exchange chromatography. *Nahrung*, 2000, vol. 44, s. 28-31.

Velíšek, J.: *Chemie potravin 3*, OSSIS, Tábor 1999, s. 123-130.

PodĎakovanie

Práca bola podporená grantom KEGA č. 005 UVLF-4/201.

Kontaktná adresa:

Jana Výrostková

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Ústav hygieny a technológie mlieka, Komenského 73, 041 81, Košice, Slovensko-

E-mail: jana.vyrostkova@uvlf.sk

Zhodnocení metod pro stanovení diastatické aktivity v medu *Evaluation of methods for the determination of diastase activity in honey*

Zábrodská, B., Králová, M., Vorlová, L.

Ústav hygieny a technologie mléka, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Souhrn

Cílem práce bylo zhodnocení metod pro stanovení diastatické aktivity medu. Bylo vyšetřeno 8 vzorků medu z tržní sítě a 48 směsí medu se sirupy Apifood a Apivital za pomoci Schadeho metody a enzymové metody Phadebas. Z osmi vzorků medu jeden nevyhověl požadavkům Vyhlášky č. 76/2003 Sb. U tohoto vzorku byly naměřeny hodnoty aktivity diastázy 11,13 stupňů dle Schadeho, ale dle metody Phadebas 7,61 stupňů dle Schadeho. Oběma metodami byly získány rozdílné hodnoty aktivity diastázy, podle Phadebas byla průměrně o 12,48 % nižší. Mezi metodami byl zjištěn statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$). Předpokládáme, že příčinou rozdílu ve výsledcích použitých metod byla pravděpodobně substrátová specifita enzymu, tedy konkrétní vlastnosti škrobu, který byl použit jako substrát. Metodu dle Schadeho lze doporučit pro vyšetření menšího počtu vzorků, metoda Phadebas se spíše hodí pro sériové analýzy.

Klíčová slova: *aktivita diastázy, med, Schadeho metoda, Phadebas*

Abstract

The aim of this study was the evaluation of methods for the determination of diastase activity in honey. Together eight samples of honey collected from the market and forty eight samples of mixtures of honey with syrups Apifood and Apivital were tested with Schade method and enzyme Phadebas method. Out of eight honey samples one did not comply requirements of Notice nr. 76/2003. The values of diastase activity were 11.13 Schade units according to Schade method and 7.61 Schade units according to Phadebas method. With both methods were obtained different values of diastase activity, with Phadebas around 12.48 % lower. Statistically significant difference between these two methods can be observed ($p < 0.05$). The considerable difference, in results obtained by these two methods, was cause probably by the substrate specificity of the enzyme, which in this case was starch used as a substrate. The method according Schade can be recommended for the examination of a small number of samples, method Phadebas is more suited for serial analysis.

Úvod

Med obsahuje řadu enzymů, část z nich pochází z rostlin (kataláza, kyselá fosfatáza), část se do medu dostává z hltanových žláz včel (diastáza, invertáza a glukózoxydáza) (Čížková *et al.*, 2010).

Diastáza je enzym, který zajišťuje štěpení škrobu na jednodušší sacharidy. Aktivita enzymu diastázy je jedním z významných legislativních parametrů medu, dle Vyhlášky č. 76/2003 Sb. nesmí být aktivita diastázy menší nebo rovna 8 stupňům dle Schadeho, pro některé druhy medu menší nebo rovna 3 stupňům dle Schadeho.

Diastatická aktivita (α -, β -, γ -amylázy) je, obdobně jako u jiných enzymů, snižována nadměrným záhřevem medu (Tosi *et al.*, 2004; Tosi *et al.*, 2008; Samborska a Czelejewska, 2014). Snížení aktivity diastázy je přímo úměrné teplotě a době záhřevu. Aktivita diastázy a obsah hydroxymetylfurfuralu patří mezi parametry kontroly kvality, jejichž měřením lze potvrdit záhřev medu (Tosi *et al.*, 2008). Hodnoty těchto parametrů jsou používány společně pro orientační určení intenzity záhřevu, kterému byl med podroben (Ramirez Cervantes *et al.*, 2000). Ke snížení aktivity diastázy dochází také dlouhodobým nebo nevhodným skladováním (Babacan a Rand, 2007) nebo přidávkem cukru do medu. Pokud je med falšován přidáním roztoku sacharózy, hydrolyzovaným škrobem nebo kukuřičným sirupem s vysokým obsahem fruktózy (HFCS), pak naředění medu vede ke snížení aktivity diastázy. Falšování může být maskováno přidávkem cizích bakteriálních amyláz, např. pekařských forem amyláz (Voldrich *et al.*, 2009).

Aktivitu diastázy lze stanovit dle Harmonizovaných metod Evropské komise pro med (Bogdanov *et al.*, 1997) pomocí dvou metod a to metodou dle Schadeho a enzymovou metodou Phadebas.

V naší práci jsme se zabývali zhodnocením těchto dvou metod pro stanovení diastatické aktivity medu.

Materiál a metodika

Byly vyšetřeny medy květové ($n = 4$) a medovicové ($n = 4$), které byly zakoupeny v obchodních řetězcích dle dostupnosti na českém trhu v dubnu 2016. Jako deklarované země původu byly uvedeny Česká republika, směs medů z ES a mimo ES, směs medů z ES a směs medů mimo ES. Medy byly uchovány ve skleněných nebo plastových prodejních obalech při pokojové teplotě 23 ± 2 °C.

Dále byly vyšetřeny směsi těchto medů se sirupy Apifood ($n = 24$) a Apivital ($n = 24$). Sirupy byly zakoupeny v obchodních řetězcích dle dostupnosti na českém trhu v dubnu 2016. Směsi byly uchovány v plastových obalech a skladovány ve shodných podmínkách jako medy. Medy i směsi medů se sirupy byly analyzovány do dvou měsíců od nákupu.

Stanovení aktivity diastázy podle Schadeho a enzymovou metodou Phadebas (použita byla modifikace této metody dle návodu výrobce Megazyme), bylo provedeno dle Harmonizovaných metod Evropské komise pro med (Bogdanov *et al.*, 1997; Megazyme, 2007) pomocí přístroje Spekol 11. Statistické výpočty byly provedeny pomocí programu Microsoft Office Excel 2003, pro porovnání obou metod byl použit párový studentův T-test.

Výsledky a diskuze

Pro stanovení diastatické aktivity lze využívat spektrofotometrických metod dle Schadeho a Phadebas (enzymová metoda). Jednotky diastatické aktivity, Goethovy jednotky, jsou definovány jako množství enzymu, které může konvertovat 0,01 g škrobu za 1 hodinu při 40 °C za podmínek testu. Výsledky jsou přepočítány v Goethových jednotkách (nebo Schadeho jednotkách) na gram medu (Bogdanov *et al.*, 1997).

Principem Schadeho metody je, že standardní roztok škrobu, který je schopný tvořit s jodem zbarvení určité intenzity, je hydrolyzován pomocí enzymu ze vzorku medu za standardních podmínek. Pokles modrého zbarvení je měřen v intervalech. Změny absorbance vzhledem k času nebo regresní rovnice se použije ke stanovení času t_x potřebného k dosažení specifické absorbance 0,235 (německá norma DIN používá faktor 0,301). Diastatická aktivita se vypočítá jako podíl 300 časem t_x (Bogdanov *et al.*, 1997).

Metoda s využitím tablet Amylasyme, které jsou podobné tabletám Phadebas je založena na principu, že v přítomnosti diastázy (α -amylázy) dochází k hydrolýze substrátu a současněmu uvolňování rozpustných barevných produktů. Po ukončení reakce přidávkem roztoku Trizma base se vzorek zfiltruje a změří na spektrofotometru při 590 nm. Absorbance měřeného filtrátu je přímo úměrná aktivitě diastázy ve vzorku (Megazyme, 2007).

Přehled naměřených hodnot pomocí obou metod je uveden v tabulce č. 1. V medech z tržní sítě v České republice byla naměřena diastatická aktivita dle Schadeho metody pro všechny vzorky nad 8 stupňů dle Schadeho, což je v souladu s vyhláškou č. 76/2003 Sb., ve znění pozdějších předpisů. Jeden vzorek však nevyhověl požadavkům této vyhlášky při měření dle metody Phadebas. U tohoto vzorku byly naměřeny hodnoty aktivity diastázy dle Schadeho metody 11,13 stupňů dle Schadeho, ale dle metody Phadebas 7,61 stupňů dle Schadeho.

Tabulka 1: Hodnoty aktivity diastázy medu a směsí medu se sirupy (stupně Schadeho)

Metoda	Schade	Phadebas
Průměr	15,15	13,26
Směrodatná odchylka	3,84	5,01
Median	14,98	12,91
Minimum	9,70	5,84
Maximum	23,11	23,31

Oběma metodami byly získány rozdílné hodnoty aktivity diastázy, podle metody Phadebas byly průměrně o 12,48 % nižší. Pomocí studentova T-testu byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi těmito dvěma metodami ($p < 0,05$). Zhodnocení metod pro stanovení diastatické aktivity v medu je uvedeno v tabulce č. 2.

Tabulka 2: Zhodnocení metod pro stanovení aktivity diastázy

Metoda	Schade	Phadebas
Časová náročnost metody	časově náročná	rychlá metoda
Přístrojové vybavení	shodné	shodné
Potřeba kalibračních roztoků	nutná	bez kalibrace
Cena za chemikálie	nižší	vyšší

Čížková *et al.* (2010) se také zabývali stanovením aktivity diastázy v medu, u souboru 15 vzorků stanovili aktivitu diastázy podle Schadeho a komerčním setem Phadebas. Oběma metodami také získali rozdílné hodnoty aktivity diastázy, aktivita diastázy podle Phadebas byla průměrně o 35 % nižší, přestože spolu výsledky obou metod poměrně dobře korelovaly. Zastáváme názor, stejně jako Čížková *et al.* (2010), že příčinou rozdílu ve výsledcích použitých metod byla pravděpodobně substrátová specifita enzymu, konkrétní vlastnosti škrobu, který byl použit jako substrát, zatímco v komerčním setu je škrob přesně definován a měl by mít stále stejné vlastnosti, v metodě podle Schadeho je specifikace jen obecná a provádějící pracoviště musí metodu, s ohledem na konkrétní použitý škrob, verifikovat.

Metodu dle Schadeho lze doporučit pro vyšetření menšího počtu vzorků, její celkové náklady jsou nižší, ale je pětkrát časově náročnější, metoda Phadebas se spíše hodí pro sériové analýzy, ale je nutné počítat s osmkrát vyššími náklady na jednu analýzu.

Závěr

Pomocí dvou spektrofotometrických metod bylo provedeno stanovní diastatické aktivity medu. Z osmi vzorků medu jeden nevyhověl požadavkům Vyhlášky č. 76/2003 Sb.. U tohoto vzorku byly naměřeny hodnoty aktivity diastázy dle Schadeho metody 11,13 stupňů dle Schadeho, ovšem dle metody Phadebas jen 7,61 stupňů dle Schadeho. Oběma metodami byly získány rozdílné hodnoty aktivity diastázy, podle Phadebas byla průměrně o 12,48 % nižší. Mezi metodami byl zjištěn statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$). Příčinou rozdílu ve výsledcích použitých metod byla pravděpodobně substrátová specifita enzymu, konkrétní vlastnosti škrobu, který byl použit jako substrát. Metodu dle Schadeho lze doporučit pro vyšetření menšího počtu vzorků, je časově náročnější, ale její celkové náklady jsou nižší, metoda Phadebas se spíše hodí pro sériové analýzy.

Literatura

- Babacan, S., Rand, A. G. Characterization of honey amylase. *Journal of Food Sciences*, 2007, vol. 72, p. 50-55.
- Bogdanov, S., Martin, P., Lüllman, C. Harmonised method of the European Honey Commission. *Apidologie*, 1997, extra issue, p. 1-59.
- Česká republika. Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 76/2003 Sb. ze dne 27. března 2003, kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony. In *Sbírka zákonů*, 2003, částka 32, p. 2488-2516.
- Čížková, H., Voldřich, M., Rajchl, A., Horsáková, I. Kvalita a autenticita medu. *Výživa a potraviny*, 2010, vol. 65, no. 1, p. 19-23.
- Megazyme. Diastase aktivity (α -amylase) in honey. Assay procedure. *Megazyme International Ireland Ltd.*, 2007, p. 7.
- Ramirez Cervantes, M. A., Gondález Novelo, S. A., Sauri Duch, E. Effect of the temporary thermic treatment of honey on variation of the same during storage. *Apiacta*, 2000, vol. 35, no. 4, p. 162-170.
- Samborska, K., Czelejewska, M. The influence of thermal treatment and spray drying on the physicochemical properties of Polish honeys. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2014, vol. 38, no. 1, p. 413-419.
- Tosi, E. A., Re, E., Lucero, H., Bulacio, L. Effect of honey high-temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallisation phenomena and fungal inhibition. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 2004, vol. 37, p. 669-678.
- Tosi, E., Martinet, R., Ortega, M., Lucero, H., Re, E. Honey diastase activity modified by heating. *Food Chemistry*, 2008, vol. 106, p. 883-887.
- Voldřich, M., Rajchl, A., Čížková, H., Cuhra, P. Detection of foreign enzyme addition into the adulterated honey. *Czech Journal of Food Sciences*, 2009, vol. 27, p. 280-282.

Poděkování

Práce vznikla za finanční podpory projektu IGA VFU 214/2016/FVHE.

Kontaktní adresa:

Mgr. Blanka Zábrodská, Ph.D. VFU Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie mléka, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno.
E-mail: H13015@vfu.cz

Tepelno-oxidačné zmeny jedlého repkového oleja počas fritovania *Thermo-oxidative changes of edible rapeseed oil during deep-frying*

Zeleňáková, L., Sojka, L., Angelovičová, M., Kráčmar, S., Fikselová, M., Gálik, B., Šnirc, M., Maršáľková, L., Golian, J.

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Súhrn

Cieľom výskumu bolo sledovať tepelno-oxidačné zmeny jedlého repkového oleja počas fritovania zemiakových hranoliek. V jednotlivých vzorkách olejov boli sledované nasledovné ukazovatele: TPM – celkové polárne materiály, číslo kyslosti, peroxidové číslo, profil mastných kyselín. Hodnoty TPM v skúmanom oleji kontinuálne rástli od prvého fritovania, pričom v prvý deň začínali na úrovni 3,3 % a hraničnú hodnotu 24 % dosiahli na štvrtý deň. Prepálenie oleja nastalo po 23^{1/2} hodinách fritovania. Na začiatku fritovania bola hodnota čísla kyslosti 0,374 mg KOH.g⁻¹ a na konci 1,271 mg KOH.g⁻¹. Hodnota peroxidového čísla začínala na úrovni 4,3 mmol O₂.kg⁻¹ a končila 10,5 mmol O₂.kg⁻¹. Uvedené hodnoty varírovali počas celej doby fritovania, pričom mnohé z nich neboli v súlade s legislatívnymi požiadavkami na jedlé rastlinné oleje. V oleji prevládala kyselina olejová (60,5 hm. %), ďalej kyselina linolová (18,9 hm. %), ostatné kyseliny mali obsah nižší ako 10 hm. %.

Kľúčové slová: olej, fritovanie, zemiakové hranolky, prepálenie, mastné kyseliny

Abstract

The aim of the research was to detect the thermo-oxidative changes of edible rapeseed oil during deep-frying of French fries. Following parameters were determined in the samples: TPM – total polar materials, acid value, peroxide value and fatty acid methyl esters (FAMES). TPM values have been continuously growing since the first deep-frying, at the first day from 3.3%, and the threshold (24%) was achieved in the fourth day. The total time for the ageing of the deep-frying oil due to the effects of heat was 23^{1/2} hours. At the beginning of deep-frying, the acid number was detected to be 0.374 mg KOH.g⁻¹ and at the end 1.271 mg KOH.g⁻¹. The peroxide value was determined 4.3 mmol O₂.kg⁻¹ at the beginning and at the end of deep-frying 10.5 mmol O₂.kg⁻¹. Detected values varied during deep-frying, and several of them did not comply with the legislative requirements for edible vegetable oils. Regarding the fatty acid composition, in the oil prevailed the oleic acid (60.5 wt%), followed by linoleic acid (18.9 wt%) and the other acids were represented in the amount of less than 10 wt%.

Úvod

Vyprážanie a fritovanie zaraďujeme v potravinárstve medzi tie procesy, pri ktorých sa na úpravu potravín používa teplo vyprodukované pomocou horúcich olejov. Vyprážanie je operačná jednotka, ktorá sa používa predovšetkým k organoleptickej zmene kvality potraviny. Životnosť vyprážaných potravín je väčšinou daná obsahom vlhkosti po vyprážaní (Fellows, 2009). Fritovanie je tepelná úprava potravín, plávajúcich v tuku pri teplotách medzi 150 a 200 °C. Horúci tuk obklopuje potraviny väčšinou zo všetkých

strán, preto je teplo prenášané rýchlo. Pri fritovaní prenos tepla prebieha ako kombinácia konvekcie v horúcom oleji a kondukcie do vnútra potraviny. Fritovanie je vhodné na úpravu potravín všetkých tvarov, ale nepravidelne tvarované potraviny, alebo kusy s väčším povrchom majú tendenciu absorbovať a strhávať väčší objem oleja po odstránení z fritézy (Metz et al., 2008). Proces fritovania je zložitý systém závisiaci od rozsahu chemických reakcií ako je oxidácia, polymerizácia a hydrolýza, kde dochádza k zmene fyzikálnych a chemických vlastností použitého oleja. Je náročné odhadnúť rozsah zmien každého faktora počas fritovania a udržať podmienky vyprážania na optimálnych hodnotách. Olej na fritovanie by sa mal vyberať podľa jeho vlastností počas priebehu fritovania. V minulosti boli týmito vlastnosťami bod zadymenia, oxidačná stabilita a nízky obsah voľných mastných kyselín. V súčasnosti sú okrem tepelno-oxidačnej stability, dostupnosti a ceny dôležitými faktormi rozhodovania aj nutrično-fyziologické funkcie. Neexistuje však olej, ktorý by bol ideálny pre všetky typy fritovania (Manglik, 2006).

Cieľom výskumu, ktorého výsledky sú uvedené v tomto príspevku, bola analýza tepelno-oxidačných zmien komerčného jedlého repkového oleja počas fritovania zemiakových hranoliek.

Materiál a metódy

Materiál: Olej použitý vo výskume je jedlý rastlinný repkový olej. Má široké uplatnenie pri dlhodobej i krátkodobej tepelnej príprave pokrmov, ako je dusenie, pečenie a vyprážanie. Výrobca uvádza, že olej obsahuje 7,3 g nasýtených, 57,9 g mononenasýtených a 26,4 g polynenasýtených mastných kyselín v prepočte na 100 g výrobku. Na fritovanie vo fritéze boli použité hlbokomrazené zemiakové hranolky, ktoré sú bežne dostupné v obchodnej sieti.

Metodológia: Kvalita oleja bola posudzovaná v priebehu 4 dní počas 6 hodinového kontinuálneho fritovania zemiakových hranoliek. Mimo doby fritovania bol olej uchovávaný v uzavretej fritéze pri izbovej teplote. V rámci výskumu boli fritované rovnaké množstvá zemiakových hranoliek (100 g) a dodržané rovnaké podmienky fritovania (4 až 5 minút, 170 °C). Počas celej doby fritovania bol v jednotlivých vzorkách sledovaný stupeň opotrebenia až prepálenia olejov. Sledované ukazovatele: TPM – celkové polárne materiály, číslo kyslosti a peroxidové číslo, profil mastných kyselín.

- Na meranie množstva polárnych zložiek (TPM) vo fritovanom oleji bol použitý elektronický prístroj Testo 270. Obsahuje kapacitný olejový senzor, pomocou ktorého je možné priamo v horúcom oleji merať stupeň jeho opotrebenia. Hodnoty TPM boli merané v čerstvom oleji a každých 30 minút pri teplote oleja 130 °C počas celej doby fritovania. Analýzy boli ukončené, keď obsah TPM dosiahol hodnotu $\geq 24\%$, čo znamená opotrebovanie oleja.
- Stanovenie peroxidového čísla (vyjadrené v $\text{mmol O}_2 \cdot \text{kg}^{-1}$) oleja bolo uskutočnené podľa STN EN ISO 3960:2007. Vzorky olejov boli analyzované v čerstvom stave a každých 60 minút počas celej doby fritovania.
- Stanovenie čísla kyslosti (vyjadrené v $\text{mg.KOH} \cdot \text{g}^{-1}$) oleja bolo realizované podľa STN EN ISO 660:2009 (EN). Vzorky olejov boli analyzované v čerstvom stave a každých 60 minút počas celej doby fritovania.
- Stanovenie profilu mastných kyselín bolo uskutočnené plynovou chromatografiou podľa ISO 12966-1:2014 a pozostávalo z dvoch principiálnych krokov: príprava vzorky na

stanovenie mastných kyselín a vlastné stanovenie. Vzorky olejov boli analyzované v čerstvom stave a každý deň po 6 hodinovom fritovaní.

Matematické a štatistické vyhodnotenie výsledkov bolo uskutočnené v počítačovom programe Microsoft Office Excel a jeho doplnkových analytických nástrojoch, ako aj v programe SAS Enterprise Guide version 1.5.

Výsledky a diskusia

Pri stanovení cieľa, ako aj realizácie samotného experimentu sme vychádzali z Vyhlášky č. 533/2007, v zmysle ktorej možno na kontinuálne vyprážanie (najdlhšie 24 hodín) používať len tuky určené na tento účel, pričom prevádzková teplota tuku je najviac 180 °C, ak nie je výrobcom určená inak. Prax však ukazuje, že najmä prevádzkovatelia reštaurácií rýchleho občerstvenia často porušujú tieto zásady a „fritovacie“ oleje používajú aj niekoľko dní. V zmysle uvedeného bolo cieľom výskumu analyzovať vybrané tepelno-oxidačné ukazovatele sprevádzajúce zmeny kvality jedlého repkového oleja počas kontinuálneho fritovania zemiakových hranoliek.

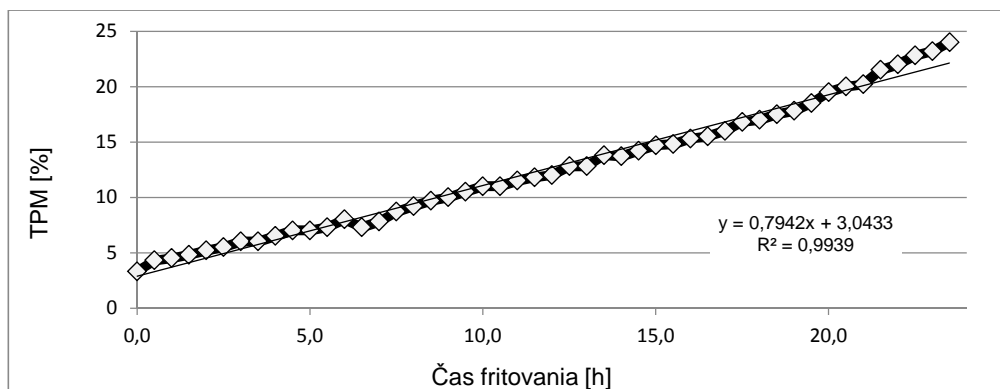
Ako uvádza Gertz (2014), počas fritovania prebieha séria komplexných zmien a chemických reakcií. Miera a povaha rozkladných produktov závisí okrem iného na zložení oleja (mastné kyseliny), spôsobe úpravy (prerušovaný alebo kontinuálny, fritovanie alebo vyprážanie), aplikovanej teplote fritovania, doby fritovania a nakoniec na type potraviny, ktorá sa bude fritovať. Z grafu 1 vyplýva, že hodnoty TPM v skúmanom oleji kontinuálne rástli od prvého fritovania, pričom v prvý deň začínali na úrovni 3,3 % a hraničnú hodnotu 24 % dosiahli vo štvrtý deň po 5^{1/2} hodinách fritovania. Celkový čas charakterizujúci prepálenie bol 23^{1/2} hodín fritovania. Medzi časom fritovania a hodnotami TPM bola zistená silne pozitívna korelácia potvrdená aj koeficientom korelácie $r = 0,997$.

Podobné výsledky zaznamenala aj Zeleňáková et al. (2012), ktorá sledovaním TPM počas týždňového merania tepelno-oxidačných zmien zaznamenala vyššiu stabilitu oleja obsahujúceho vyššie množstvá kyseliny olejovej. Podľa Šimeka (2008) je tepelná stabilita repkových olejov ovplyvnená aj tým, že sa repka olejná šľachtí s cieľom znížiť obsah kyseliny erukovej, a tak sú súčasné repkové oleje odolnejšie voči autooxidácii. Počas celej doby fritovania sme v jednotlivých vzorkách olejov sledovali zmeny hodnôt čísla kyslosti a peroxidového čísla. V čerstvom oleji bola hodnota čísla kyslosti na úrovni 0,374 mg KOH.g⁻¹ a na konci 1,271 mg KOH.g⁻¹. Hodnota peroxidového čísla začínala na úrovni 4,3 mmol O₂.kg⁻¹ a končila 10,5 mmol O₂.kg⁻¹. Je nutné zdôrazniť, že namerané hodnoty čísla kyslosti i peroxidového čísla varírovali počas celej doby fritovania, pričom mnohé z nich neboli v súlade s legislatívnymi požiadavkami Vyhlášky č. 424/2012 (peroxidové číslo: max 10 mmol O₂.kg⁻¹, číslo kyslosti: max 0,6 mg KOH.g⁻¹).

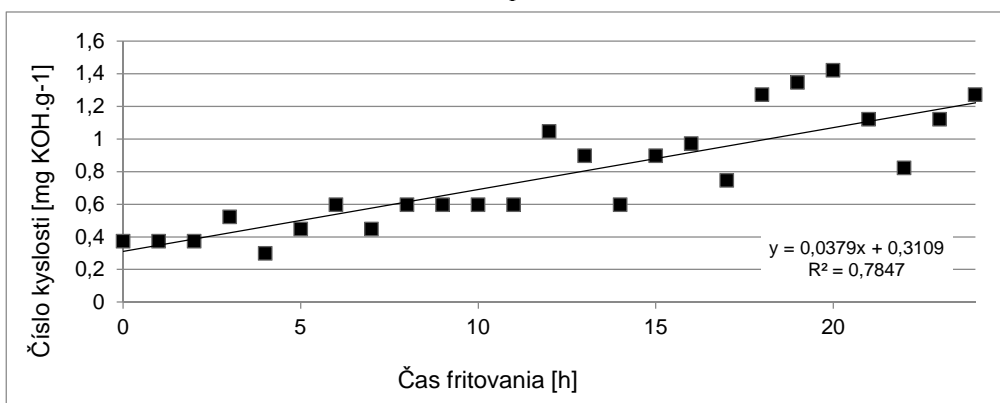
V rámci hlbšej analýzy sme pomocou regresných rovníc matematicky definovali priebeh jednotlivých lineárnych funkcií a prostredníctvom koeficientu determinácie (R²) vyjadrili spoľahlivosť všetkých stanovení. Ako vyplýva z grafov 1 – 3, najvyššia miera spoľahlivosti detekcie (99,4 %) bola zistená medzi vzťahom čas fritovania a namerané hodnoty TPM. Naopak, vyššia variabilita bola preukázaná pri skúmaní závislostí medzi časom fritovania a hodnotami peroxidového čísla a čísla kyslosti. Najmä peroxidy sú známe svojou nestálosťou až prchavosťou, čo možno vidieť na grafe 3.

Túto skutočnosť dokumentuje aj Sekretár et al. (2012), ktorý uvádza, že ak sú tuky a oleje vystavené vysokej teplote (vyprážanie, fritovanie, pečenie), oxidujú veľmi rýchlo. Vzniknuté primárne oxidačné produkty (hydroperoxydy mastných kyselín) sa pri vysokej teplote (170 °C a viac) rozkladajú, preto sa na sledovanie priebehu oxidácie viac používajú UV metódy a stanovenie p-anizidínového čísla. Typickými znakmi degradácie oleja pri

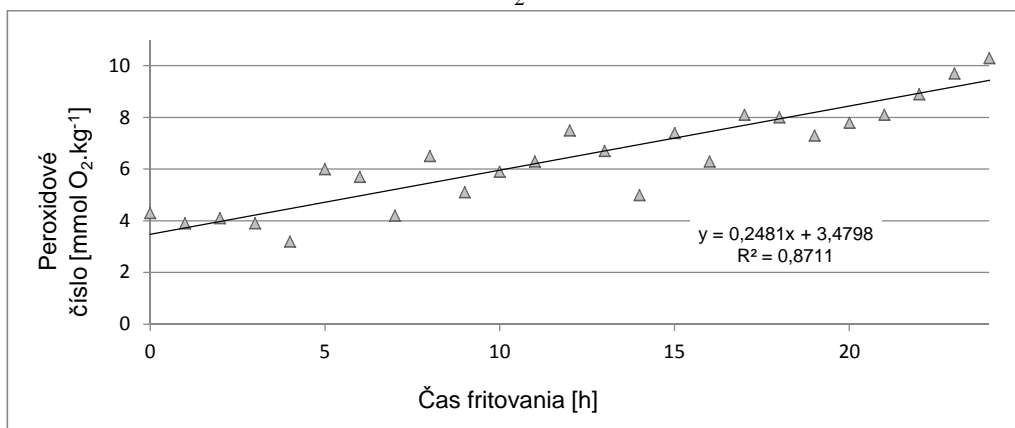
zvýšených teplotách sú zvyšujúca sa kyslosť, celkový obsah polárnych materiálov (TPM), stmavnutie oleja, polymerizované TAG, zníženie jódového čísla, alebo obsah polyneenasýtených MK (Gertz, 2014).



1



2



3

Grafy 1 – 3: Stanovenie TPM, čísla kyslosti a peroxidového čísla v jedlom repkovom oleji počas celej doby fritovania zemiakových hranoliek

V rámci stanovenia profilu mastných kyselín v jednotlivých vzorkách olejov bolo celkovo analyzovaných 43 druhov mastných kyselín. Prítomnosť 8 mastných kyselín bola zaznamenaná vo všetkých vzorkách počas každého stanovenia, obsah 6 mastných kyselín bol dokázaný iba v niektorých vzorkách, resp. v prvých dňoch fritovania nebol zistený žiadny. V oleji prevládala kyselina olejová (60,5 hm. %), ďalej to bola kyselina linolová (18,9 hm. %) a ostatné kyseliny

mali obsah nižší ako 10 hm. %, napríklad linolénová (6,4 hm. %), palmitová (5,1 hm. %), steárová (1,7 hm. %) a eikozénová (1,2 hm. %).

Tabulka 1: Profil vybraných mastných kyselín v jedlom repkovom oleji [hm. %]

Mastné kyseliny	Surový olej	Po štvrtom dni fritovania
Olejová	59,63978	60,5353
Linolová	18,9627	18,89893
Polynenasýtené	28,14753	25,49718
Mononenasýtené	61,56159	62,10419
Nasýtené	6,939359	8,035177

Záver

Správny výber fritovacieho oleja je veľmi dôležitý, pretože má priamy vplyv na kvalitu fritovaných potravín, nakoľko sa v procese fritovania stáva ich obsahom. Potraviny určené na vyprážanie sa stávajú nasýtené olejom, čo ovplyvňuje ich senzorické a tiež aj nutričné vlastnosti. Používanie nekvalitného oleja môže mať vplyv na zdravie konzumenta a byť nevhodným až rizikovým pre konzumáciu.

Literatúra

- Fellows, P. J. 2009. *Food Processing Technology*. 3. vyd. Woodhead Publishing, 2009, 928 p. ISBN 978-1-84569-216-2.
- Gertz, Ch. 2014. Fundamentals of the frying process. In *European Journal of Lipid Science and Technology* [online]. 2014, vol. 116, no. 6, p. 669-674, [cit. 2016-03-01]. Dostupné na internete: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ejlt.201400015/pdf>>. ISSN 1438-7697.
- Manglik, R. M. 2006. On the Advancements in Boiling, Two-Phase Flow Heat Transfer, and Interfacial Phenomena. In *Journal of Heat Transfer* [online]. 2006, vol. 128, no. 12, p. 1237-1243, [cit. 2016-03-01]. Dostupné na internete: <<http://heattransfer.asmedigitalcollection.asme.org/article=1448543>>. ISSN 0022-1481.
- Metz, R. – Grüner, H. – Kessler, T. 2008. *Restaurace a Host*. 1. vyd. Praha: Europa-Sobotáles, 2008, 604 s. ISBN 978-80-86706-18-4.
- Sekretár, S. – Hlásniková, J. – Tmáková, L. – Vrbíková, L. et al. 2012. Oxidačné zmeny v tukoch a metódy ich sledovania. In *Zborník vedeckých prác Laboralim 2012*. Nakladateľstvo STU, 2012, s. 66-70, ISBN 978-80-227-3696-1.
- Šimek, J. 2008. Prístup k výbere a konzumaci rastlinných olejů. In *Výživa a potraviny* [online]. 2008, vol. 63, no. 6, p. 142-144, [cit. 2016-03-14]. Dostupné na internete: <<http://www.vyzivaspol.cz/wp-content/uploads/vyziva-6-2008.pdf>>. ISSN 1438-9312.
- Vyhláška MP a RV SR č. 424/2012, ktorou sa ustanovujú požiadavky na jedlé rastlinné tuky a jedlé rastlinné oleje a výrobky z nich vrátane požiadaviek na ich výrobu, označovanie a členenie.
- Vyhláška MZ SR č. 533/2007 o podrobnostiach o požiadavkách na zariadenia spoločného stravovania.
- Zeleňáková, L. – Pastyriková S. – Židek, R. – Mura, L. 2012. Comparison of the quality of vegetable oils designed for the frying food. In *Potravinárstvo* [online]. 2012, vol. 6, no. 4, p. 45-51, [cit. 2016-14-03]. Dostupné na internete: <<http://www.potravinarstvo.com/journal1/index.php/potravinarstvo/article/view/210/pdf>>. ISSN 1337-0960.

Kontaktná adresa:

Doc. Ing. Lucia Zeleňáková, PhD.

Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra.

E-mail: Lucia.Zelenakova@uniag.sk

HISTORICKÁ
SEKCE

Zvěrolékaři a zdravotní nezávadnost mléka

Hejlová, Š.

Do zajišťování produkce „zdravého“ mléka pro obyvatelstvo Čech, Moravy a Slezska se postupně zapojovali zvěrolékaři nově vzniklé Vysoké školy zvěrolékařské v Brně v čele s prvním přednostou Ústavu hygieny masa, mléka a potravin vůbec prof. Janem Lenfeldem. Zdravotní nezávadnost mléka byla zajišťována z pohledu zvěrolékařů příznivou nálezovou situací v chovu skotu. Tento trend je dodržován dodnes a jeho zárukou by měl být veterinární dozor při dovozu a přemísťování zvířat, prvovýrobě, zpracování mléka a dovozu mléka a mléčných výrobků.

K nedožitým 95. narozeninám pana MVDr. Jaromíra Láta, CSc.

Kozák, A.



MVDr. Jaromír Lát, CSc., náš přední odborník v hygieně a technologii potravin, se narodil 30. května 1921 v Předboří. V roce 1945 je přijat ke studiu na Vysokou školu veterinární v Brně. Již v prvním semestru po zkouškách z anatomie se stává demonstrantem na Ústavu pro hygienu a technologii VŠV, jehož přednostou v té době byl doc. MVDr. et RNDr. Jan Hökl a od roku 1947 byl ustanoven prvním asistentem a přímým zástupcem přednosty ústavu. Také po absolvování Vysoké školy veterinární v Brně v roce 1949 zůstává po boku doc. Hökla, neboť nastupuje do Výzkumného ústavu pro maso a ryby v Brně, jehož byl v té době ředitelem. Výzkumné a provozní zkušenosti z této etapy byly přeneseny do knihy *Technologie masových konzerv*.

Přechod živnostenské malovýroby v průmyslovou velkovýrobu vyžadoval, aby zdravotní nezávadnost a kvalitu bylo možno kontrolovat přímo v procesu výroby. Z pověření doc. Hökla zřizuje v roce 1951 laboratorní pracoviště, pro mikrobiologickou a chemickou kontrolu surovin a výrobků, v Jihočeském průmyslu masném v Českých Budějovicích a postupně prosazuje zřízení těchto pracovišť i v ostatních podnicích masného průmyslu. V roce 1953 je na doporučení doc. Hökla přijat do výrobního odboru na Hlavní správu maso a ryby, kde se stává po krátké době hlavním hygienikem a technologem. Zde se plně věnuje technické, technologické a veterinárně hygienické problematice spojené s přestavbou živnostenské malovýroby v průmyslovou velkovýrobu.

V souvislosti s řešením odborných problémů a reklamací se MVDr. Jaromír Lát, CSc., zúčastnil řady zahraničních cest s cílem zjistit příčiny reklamací a zajistit odstranění zjištěných závad. V souvislosti s rozhodnutím snížit náklady na dovoz vepřového masa z Číny a dovážet maso dělené, balené v kartonech oproti dosud dováženým vepřovým půlkám, byl MVDr. J. Lát vyslán do Číny. V šesti jatkách zavádí trichinoskopii, školí a zapracovává zaměstnance jatek v hygieně, technologii a technice porážení, jatečného opracování prasat, dále bourání, dělení, balení vepřového masa pro vývoz do ČR.

V roce 1962 nastupuje MVDr. J. Lát k Městskému veterinárnímu zařízení hl.m. Prahy jako vedoucí Stanice pro mikrobiologické vyšetřování vzorků. Ke Stanici, situované v pronajatých prostorách Státního zdravotního ústavu v Praze na Vinohradech, patřily také laboratoře v pražských jatkách pro chemické vyšetřování vzorků potravin a pro mikrobiologické vyšetřování masa z jatek včetně trichinoskopie. Vzhledem k tomu, že kapacita a vybavení těchto laboratoří nestačilo na stoupající počet vzorků a požadovaný rozsah vyšetření, bylo rozhodnuto o vybudování Ústavu pro vyšetřování potravin MěVZ hl.m. Prahy.

V roce 1968 byl MVDr. J. Lát, CSc. jmenován a ustanoven ředitelem Výzkumného ústavu masného průmyslu se sídlem v Brně s úkolem zvýšit odbornou úroveň

výzkumných úkolů a jejich aplikaci ve výrobním procesu. Pod jeho vedením zpracoval kolektiv ústavu knihu Technologie masa a ve výzkumných úkolech úspěšně řešil řadu aktuálních problémů. V roce 1970 na základě obhajoby vlastních výzkumných prací v oblasti masových konzerv je mu Vědeckou radou VŠV v Brně udělena vědecká hodnost kandidáta veterinárních věd. V té době se podílí na činnosti celé řady odborných a vědeckých komisí jak v oblasti veterinární medicíny, tak v oboru zpracování masa.

V roce 1972 se vrací do Prahy k MěVZ na pozici vedoucího laboratorní diagnostiky. Hlavním úkolem té doby bylo pro MVDr. J. Láta zajistit dokončení stavebních prací na budově Ústavu pro vyšetřování potravin v areálu MK Písnice, dále vybavení nových laboratoří, přestěhování laboratoří a pracovníků z Vinohrad a pražských jatek a rozvinutí a prohloubení vyšetřování zdravotní nezávadnosti surovin a potravin živočišného původu. V té době vypracovává, na základě zhodnocení získaných výsledků laboratorního vyšetřování, návrh pro hodnocení surovin a potravin živočišného původu podle mikrobiologického nálezu. Po ověření byl tento návrh zaveden SVS jako součást vyšetřování potravin. Státní veterinární správou je ÚVP MěVZ označen a využíván jako specializované pracoviště pro řešení specifických problémů hygieny masa a pro seznámení a zapracování veterinárních lékařů před jejich nástupem do hygienického odboru SVS, s problematikou laboratorního vyšetřování a hodnocení živočišných produktů.

Ve svém životopise MVDr. J. Lát, CSc uvedl, že 31.3 1982 odešel do důchodu, ale faktický odchod měl jiné datum, neboť i po odchodu do důchodu zůstal jubilant v trvalém kontaktu se svým oborem a po roce 1989 působil jako platný a zkušený odborník v odboru veterinární hygieny SVS ČR a to až do roku 2010. V průběhu tohoto období se mimo jiné podílel na tvorbě nové legislativy a to jak zákona o potravinách č.110/1997 Sb., tak veterinárního zákona č. 166/1999 Sb., a velkého počtu prováděcích předpisů k oběma zákonům.

MVDr. Jaromír Lát, CSc. zemřel na konci roku 2013 ve věku téměř 93 let.

Veterinární legislativa v České republice na úseku bezpečnosti potravin

Malena, M., Kozák, A.

Demokratizace a liberalizace společenskopolitických poměrů po roce 1989 ovlivnily i priority, charakter a způsoby práce veterinární služby. K provádění veterinární léčebné a preventivní činnosti formou soukromého podnikání otevřely cestu novely zákonů č.87/1987 Sb., o veterinární péči a č.108/1987 Sb., o působnosti orgánů veterinární péče České republiky. Nová řešení a opatření, na kterých bylo dosaženo věcné i politické shody, byla promítnuta do několika novel veterinárních zákonů z roku 1987. Šlo v nich zejména o:

- zánik krajského článku v soustavě orgánů veterinární správy a přechod z trojstupňového na dvojstupňové řízení,
- vytvoření podmínek pro privatizaci veterinární léčebné, preventivní a diagnostické činnosti a pro převod některého majetku spravovaného dosud státní veterinární službou do vlastnictví fyzických osob podnikajících ve veterinární činnosti,
- omezení výkonu odborných veterinárních činností okresními a městskými veterinárními správami jen na činnosti vykonávané za účelem výkonu státní správy,
- zrušení možnosti zavádění „podnikové veterinární služby“, která se stejně jako v dřívější době neprosadila.

Znovu byly „objeveny“ takové pojmy, jako stavovská sounáležitost, stavovské cítění, profesní etika apod.

Další etapou ve vývoji organizace a koncepce veterinární služby je již období bezprostředně spojené s přípravou České republiky ke vstupu a posléze s jejím vstupem do Evropské unie. Z hlediska blížícího se členství v EU měly rozhodující váhu kroky v oblasti legislativní, jejichž účelem bylo dosáhnout ještě před vstupem ČR do EU vysokého stupně harmonizace naší právní úpravy veterinární péče s věcně korespondující úpravou EU. Bylo zahájeno zpracování tzv. srovnávacích (rozdílových) tabulek, které byly předávány Generálnímu ředitelství ochrany zdraví a spotřebitele Evropské komise. Tabulky musely obsahovat: text příslušné směrnice Rady (EHS,ES), jemu odpovídající text našeho právního předpisu s uvedením fáze legislativního procesu, v níž se náš právní předpis právě nacházel, a předpokládané nebo skutečné datum nabytí jeho účinnosti.

V prvním případě bylo úkolem SVS připravit návrh nového zákona o veterinární péči a návrhy prováděcích právních předpisů k němu. V roce 1999 byl přijat nový zákon pro oblast veterinární péče zákon č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon). Položil si za úkol přizpůsobit právní úpravu veterinární péče změnám hospodářských a vlastnických vztahů. Dát do souladu úkoly a požadavky veterinární péče, formy a metody jejich prosazování a plnění s novým pojetím veřejného zájmu na ochraně zdraví zvířat a lidí i ochraně životního prostředí. Dokončit přeměnu jednotné státní veterinární služby na soukromou veterinární praxi, orientované na preventivní, diagnostickou a léčebnou činnost, na jedné straně a orgány veterinární správy, vykonávající státní správu v oblasti veterinární péče, na druhé straně. Uvést právní úpravu veterinární péče do souladu s Ústavou. Dosáhnout

požadovaného sblížení právní úpravy veterinární péče s veterinárními předpisy Evropské unie.

Zákon vymezuje okruh povinností výrobců a zpracovatelů živočišných produktů ve srovnání s minulou právní úpravou, poněkud úžeji mj. proto, že některé z těchto povinností byly již vyjádřeny v zákoně o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů. Zvláště důležitou je úprava podmínek, za nichž mohou být podávány zvířatům, jejichž produkty jsou určeny k výživě lidí, doplňkové látky a léčiva, jmenovitě pokud mají nežádoucí účinky nebo zanechávají v živočišných produktech nežádoucí rezidua. Nově jsou stanoveny podmínky prodeje syrového, mlékárensky neošetřeného mléka, výrobků z tohoto mléka a čerstvých, neprosvícených a neoznačených vajec v místě výroby přímo spotřebiteli.

Těžiště úlohy veterinární péče při zabezpečování zdravotní nezávadnosti živočišných produktů je v působnosti orgánů veterinární správy při veterinární vyšetřování živočišných produktů. Stěžejní a nejšíře koncipovanou formou tohoto vyšetřování je prohlídka jatečných zvířat a masa.

Se zřetelem na předpisy Evropských společenství a praxi členských zemí Evropské unie je do zákona promítnut požadavek schvalování provozů, v nichž se vyrábějí živočišné produkty pro vývoz.

Veterinární zákon byl od svého přijetí již vícekrát novelizován, převážně však nepřímo, prostřednictvím jiných zákonů: zákona o poštovních službách, plemenářského zákona, zákona o obecné bezpečnosti výrobků, zákona o integrované prevenci, zákona o uvádění biocidních přípravků a účinných látek na trh, zákona o změně a zrušení některých zákonů v souvislosti s ukončením činnosti okresních úřadů, zákona o potravinách a tabákových výrobcích, zákona o územních finančních orgánech a zákona o změně některých zákonů souvisejících s přijetím stavebního zákona a zákona o vyvlastnění. Šlo vesměs pouze o dílčí, drobnější úpravy, které vyplynuly ze změn v uvedených zákonech a týkaly se jen jednotlivých otázek a ustanovení, bez širšího, významnějšího dopadu na veterinární zákon.

Jinak je tomu jen z hlediska zákona č. 131/2003 Sb., kterým se mění zákon č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon), ve znění pozdějších předpisů, a některé další zákony, a zákona č. 48/2006 Sb., kterým se mění zákon č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon), ve znění pozdějších předpisů, a zákon č. 634/2004 Sb., o správních poplatcích.

V prvním případě se jednalo o poměrně širokou novelizaci veterinárního zákona (před vstupem ČR 1. 5. 2004 do EU), která byla spojena s první etapou harmonizace českého právního řádu v oblasti veterinární péče s právem Evropských společenství. Jejím hlavním cílem bylo dosažení většího souladu s tehdy aktuální veterinární legislativou Evropských společenství úpravami vytvářejícími prostor pro postupnou transpozici a implementaci veterinárních zásad, požadavků a podmínek komunitárního práva, stanovených převážně rozsáhlým souborem více než 60 klíčových směrnic Rady EHS (ES), ale také značným počtem dalších právních aktů Evropských společenství (především rozhodnutí). Změny realizované uvedenou novelou se týkají např. doplnění a zpřesnění povinností chovatelů hospodářských zvířat, zejména ve vztahu k opatřením přijatým jednak v případě vzniku podezření z výskytu nebezpečné nákazy nebo nemoci přenosné ze zvířat na člověka, jednak v případě potvrzení jejího výskytu, doplnění

a zpřesnění povinností osob, které zacházejí se živočišnými produkty, a veterinárních a hygienických požadavků na tyto produkty, nové právní regulace veterinárních podmínek obchodování se zvířaty a živočišnými produkty s členskými státy, jakož i dovozu zvířat a živočišných produktů ze třetích zemí, a také z toho vyplývajícího doplnění a zpřesnění působnosti orgánů veterinární správy.

Ve druhém případě šlo zejména o nezbytnou reakci na přijetí několika nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) (duben 2004, použitelné od 1. 1. 2006), která koncipovala společný, obecně závazný základ pro hygienickou výrobu živočišných produktů a jejich uvádění do oběhu („hygienický balíček“). Se zřetelem k tomu zasáhla tato novelizace výrazným způsobem ty části veterinárního zákona, jimiž jsou upravovány hlavně péče o zdravotní nezávadnost živočišných produktů, zčásti i veterinární asanace a působnost orgánů veterinární správy.

V době přípravy návrhu zákona č. 48/2006 Sb., kterým se mění zákon č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon), ve znění pozdějších předpisů, probíhala již v plné míře kvalitativně nová etapa transformace práva Evropských společenství na úseku veterinární péče, charakterizovaná ústupem od směrnic Rady EHS (ES), dosud postupně transponovaných do právních řádů členských států, a přechodem na přímo použitelné předpisy Evropských společenství, v první řadě na nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES). Tento vývoj se pochopitelně dotkl výrazně dalšího postupu a způsobu harmonizace našeho právního řádu s právem Evropských společenství, a to jak z hlediska věcného obsahu právní úpravy veterinární péče, tak i z hlediska legislativně technického, zejména pak v souvislosti s interakcí komunitárního a vnitrostátního práva. Stále širší „pokrývání“ právní úpravy veterinární péče přímo použitelnými předpisy Evropských společenství si posléze vyžádalo další novelizaci veterinárního zákona, která je předmětem předkládaného návrhu.

Proces ústupu od směrnic Rady EHS (ES) a přechodu na přímo použitelné předpisy Evropských společenství pokročil nejdále na úseku zabezpečování zdravotní nezávadnosti živočišných produktů. Přijatá nařízení stanovila rozhodující, v členských státech obecně uznávané a uplatňované veterinární a hygienické požadavky na výrobu, zpracovávání a uvádění živočišných produktů do oběhu, zvýšila primární odpovědnost provozovatelů potravinářských podniků za zdravotní nezávadnost těchto produktů a stanovila zásady vnitropodnikové a úřední kontroly dodržování stanovených požadavků a povinností. Formulovala také veterinární a hygienické požadavky a záruky pro neškodné, bezpečné odstraňování a další zpracovávání vedlejších živočišných produktů. Ve vztahu k dalším úsekům veterinární péče, především ve vztahu k péči o zdraví zvířat a jeho ochranu, je však uvedený proces teprve na svém začátku.

Hlavní principy poslední novelizace zákonem č. 182/2008 Sb.

Za hlavní cíle a principy novelizace veterinárního zákona je třeba považovat:

- a) reflexi nově přijatých přímo použitelných předpisů Evropských společenství, jmenovitě nařízení Rady (ES) č. 1/2005 ze dne 22. prosince 2004 o ochraně zvířat během přepravy a souvisejících činností a o změně směrnic 64/432/EHS a 93/119/EHS;
- b) transpozici novelizované části směrnice Rady 64/432/EHS ze dne 26. června 1964 o veterinárních otázkách obchodu se skotem a prasaty uvnitř Společenství;

- c) komplexní právní úpravu prodeje, resp. dodávání malých množství vlastních produktů z prvovýroby nebo těl ulovené volně žijící zvěře přímo konečnému spotřebiteli pro spotřebu v jeho domácnosti, anebo do místní maloobchodní prodejny, která zásobuje přímo konečného spotřebitele;
- d) zpřesnění a částečné rozšíření okruhu kontrolních úkolů orgánů veterinární správy a způsobů jejich plnění v rámci výkonu státního veterinárního dozoru, včetně zefektivnění tohoto dozoru, zejména se zřetelem na nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 882/2004 ze dne 29. dubna 2004 o úředních kontrolách za účelem ověření dodržování právních předpisů týkajících se krmiv a potravin a pravidel o zdraví zvířat a dobrých životních podmínkách zvířat;
- e) odpovídající reakci na poznatky a zkušenosti z dosavadní aplikace ustanovení veterinárního zákona a doplnění tohoto zákona některými ustanoveními, která upravují některé další otázky (např. ustanovení týkající se modifikovaného, zúženého pojetí veterinárních požadavků na přemísťování zvířat, konkretizace úkolů orgánů veterinární správy v souvislosti s provozováním cirkusů a jiných veřejných vystoupení se zvířaty, zpřesnění postupů orgánů veterinární správy v případech vzniku podezření z výskytu nebezpečné nákazy nebo potvrzení jejího výskytu, zpřesnění veterinárního režimu obchodování se zvířaty a živočišnými produkty s členskými státy, doplnění a zpřesnění působnosti orgánů veterinární správy a doplnění sankcí za nesplnění nebo porušení povinností nebo požadavků stanovených veterinárním zákonem z hlediska některých nově navrhovaných nebo změněných ustanovení zákona).

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 852/2004 obsahuje jednotná základní pravidla a postupy, které jsou společným a spolehlivým základem pro hygienickou výrobu všech potravin a zajištění jejich bezpečnosti.

Stanoví zejména, že:

- primární odpovědnost za bezpečnost potravin nese provozovatel potravinářského podniku;
- je nezbytné zajistit bezpečnost potravin v celém potravinovém řetězci, počínaje prvovýrobou;
- je důležité, aby u potravin, které nelze bezpečně skladovat při pokojové teplotě, zejména u mražených potravin, byly dodržovány teplotně regulované podmínky;
- odpovědnost provozovatelů potravinářských podniků by měla být posílena všeobecným používáním postupů založených na zásadách HACCP a uplatňováním správné hygienické praxe.

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 – na rozdíl od nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 852/2004 v němž jsou formulovány obecné zásady hygienické výroby potravin – stanoví zvláštní pravidla pro potraviny, které mohou představovat zvláštní rizika pro zdraví lidí, jmenovitě pro potraviny živočišného původu. Tato pravidla doplňují obecné zásady nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 852/2004 a vztahují se na nezpracované produkty i zpracované výrobky živočišného původu.

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 854/2004, ve kterém se stanoví zvláštní pravidla pro organizaci úředních kontrol produktů živočišného původu určených k lidské spotřebě. Má zajistit náležitou úřední kontrolu dodržování obecných zásad i zvláštních pravidel zakotvených v nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 852/2004, nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004. Prováděním úředních kontrol podle tohoto nařízení není dotčena primární odpovědnost provozovatelů potravinářských podniků za zajištění bezpečnosti potravin, jak vyplývá z nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 178/2002, kterým se stanoví obecné zásady a požadavky potravinového práva a stanoví postupy týkající se bezpečnosti potravin. Systém úředních kontrol má garantovat vysokou úroveň bezpečnosti a kvality potravin, a tedy i vysokou úroveň ochrany zdraví lidí.

Literatura

Havliš, M., Malena, M. a kol. : Veterinární péče v českých zemích, Státní veterinární správa, 2011, 394 s.

Zákon č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon). *Sbírka zákonů*, 1999, č. 57, s. 3122–3150.

Nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 852/2004/ES. *Úřední věstník L 139*, 2004a, s. 1-54.

Nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 853/2004/ES. *Úřední věstník L 139*, 2004b, s. 55-205.

Nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 854/2004/ES. *Úřední věstník L 139*, 2004c, s. 206-320.

Historie vojenské veterinární služby

Pelková, P., Honeger, J.

Krátce po vzniku samostatného Československa, vzniká i její armáda. Již 15. 11. 1918 je ustanoveno ministerstvo národní obrany v jehož čele stanul V. Klofáč. V prvopočátcích byly převzaty nejen základní branné zákony, ale i systém jednotlivých velitelství po bývalém Rakousku Uhersku.

V souladu s touto praxí, vzniká 15. října 1919 na základě výnosu MNO č. j. 13.591-pol.práv. 1919, 33. oddělení (veterinářské) MNO, které je přímo podřízené ministru národní obrany. Nacházelo se v Praze (budova Kadetky) a působilo až do 1. května 1921, kdy bylo zrušeno.

Toto oddělení vytvořilo podmínky, aby 27. března 1920, v rámci unifikace branné moci, na základě výnosu MNO č.j. 50.572-org.1920, oficiálně vznikla v Československé armádě veterinářská služba.

Ta nejprve působila v rámci zdravotnické služby, ale od 10. května 1922 se osamostatnila.

Řídícím orgánem bylo 35. oddělení (remontnictva) MNO a od ledna 1927 2. oddělení (jezdeckta a remontnictva) 1. odboru MNO, jemuž zároveň podléhali přednostové veterinární služby na zemských vojenských velitelstvích (od září 1936 na velitelstvích sborů).

V rámci vyšších velitelství (zemských, divizních a od roku 1935 také sborových) byly vytvořeny funkce přednostů veterinářské služby. U vybraných vojenských útvarů (pluků a oddílů lehkého, hrubého a horského dělostřelectva, jezdeckých/dragounských pluků, útvarů remontní služby a do roku 1933 také u vozatajských praporů) či vojenských škol (Vojenské akademie, Pěchotního, Dělostřeleckého a Jezdeckého učiliště) byli přiděleni důstojníci-veterináři.

Úkoly veterinářské služby byly stanoveny předpisem Org-XXI, Organizační předpis pro veterinářskou službu, vydaný v roce 1924, který se stal základním předpisem služby (platil bez větších změn do roku 1939). Do vydání tohoto předpisu se služba řídila původními předpisy armády Rakouska - Uherska a předpisy francouzské armády.

S francouzskými předpisy se do ČSR dostává slovo „veterinář“, které vzniklo překladem francouzského „vétérinaire“. Nahrazovalo srozumitelnější slovo „zvěrolékař“, které bylo doslovným překladem z němčiny. Označení „veterinář“ bylo nejprve zavedeno v armádě.

Předpis Org-XXI stanovil že “Účelem veterinářské služby jest pečovati o zdravotní stav zvířat náležejících vojenské správě, jakož i účastniti se při řízení všech otázek, týkajících se těchto zvířat. Součástí veterinářské služby jest služba podkovářská, o jejímž účelů pojednává § 11.

Úlohou veterinářské služby v hlavních obrysech jest:

1. udržovati zdravotní stav zvířectva a jeho podmínky (veterinární hygiena),
2. chrániti je před vypuknutím nakažlivých nemocí a tlumiti vypuknuvší nákazy (veterinární policie),
3. léčiti onemocnělá zvířata,
4. pečovati o podkování,

5. prohlížeti animální poživatiny; účastniti se při stanovení krmných dávek,
6. účastniti se při chovu, odvodu, nákupu, vybrakování koní a při ubytování koní (zařízení stáje po stránce hygienické),
7. zaopatřovati a zužitkovati veterinářský materiál
8. doplňovati, vychovávat veterinářský personál a řídit jeho osobní věci,
9. zajišťovati veterinářský personál a materiál pro mobilizaci podle směrnic hlavního štábu

Mezi výkonné orgány služby patřily tzv. koňské nemocnice (Brno, Hradec u Opavy, Hodonín, Olomouc, Písek, Praha, Skalice, Stod a Velké Leváre), které však jako pozůstatek po bývalé rakousko-uherské armádě zanikly do konce roku 1920. Místo nich byly postupně zřízeny nové koňské nemocnice (od roku 1933 veterinářské) v posádkách Pardubice, Hranice na Moravě a Bratislava.

Další veterinářské nemocnice se pro potřebu armády vytvářely mobilizačně. Při mobilizaci v září 1938, měla armáda k dispozici 17 těchto nemocnic (z toho 7 záložních). Plnou bojovou pohotovost měly stanovenou na 10 den mobilizace. Další samostatný útvar veterinářské služby se konstituoval až počátkem roku 1937 v podobě Vojenské veterinární laboratoře v Praze, která svoji činnost ukončila po německé okupaci v roce 1939.

Na úrovni sborů, hraničních oblastí a divizí, včetně rychlé divize byly zřízeny nebo se mobilizačně vytvářely, veterinářské ambulance. Celkově armáda při mobilizaci v září 1938 měla 53 veterinárních ambulancí. Plnou bojovou pohotovost vytvářené veterinární ambulance měly stanoveny na 5 až 6 den mobilizace.

V případě mobilizace byl veterinář plánován u každého praporu, oddílu, korouhve. Na úrovni praporu se vytvářelo veterinářské obvaziště. Na úrovni pluku se vytvářela veterinářská ošetřovna.

Význam a samostatnost služby byla vyjádřena i v dalších ohledech. Veterinářská služba měla své samostatné označení. Příslušníci služby nosili na límci blůzy i pláště stejnozkroje vz. 21 výložky černé barvy a na stejnozkroji vz. 30 sametové výložky černé barvy se žlutým lemem, vyjadřující jak spojitost se zdravotní službou (černá barva výložky), tak příslušnost k jezdecku (žlutý lem).

Veterinární služba zároveň prováděla veterinárně hygienický dozor u občanských dodavatelů potravin, krmiva a steliva. V poli byl prováděn veterinární hygienický dozor na porážecích místech divizí a polních jatkách armády.

Vojenská příprava veterinářů pro službu v armádě byla prováděna ve škole pro záložní důstojníky veterinářské služby v Pardubicích.

Vědeckou základnou byl Vojenský technický ústav (VTÚ) v Praze. V jeho sestavě působil 4. odbor veterinářský, který řešil zejména úkoly ochrany před bojovými chemickými látkami.

V Bystřici pod Hostýnem se nacházel veterinářský sklad. V Horních Motěšicích vojenský hřebčín a v Hostouni vojenská hřibárna.

Rozpad ČSR a 2. světová válka

Po rozpadu ČSR byla situace veterinářské služby jiná v Českých zemích a jiná na Slovensku. Veterináři v Českých zemích byli demobilizováni a zaměstnáni v občanském sektoru. Například MVDr. Antonín Hošek se stal ředitelem Pražských jatek, MVDr. Vladimír Chládek nastoupil na veterinářské oddělení zemědělské rady

v Praze a MVDr. Jan Vlasák nastoupil na místo ředitele pražské ZOO. Mnozí vojenští veterináři se aktivně zapojili do domácího odboje. Někteří odešli ze země a zapojili se aktivně do zahraničního odboje. Za mnohé je možné jmenovat tyto vojenské veterináře MVDr. Františka Pohlodka (311. perut' RAF), MVDr. Mikuláše Guljaniče (čs. smíšená letecká divize v SSSR), MVDr. Jaromíra Jeřábka (zahraniční vojsko GB a SSSR).

Byli i jednotlivci, kteří nastoupili službu u vládního vojska jako prof. MVDr. František Jury, který byl přidělen k I. vládnímu praporu a do odboje se zapojil jako člen partyzánské skupiny "Smrt fašismu", (autor Veterinární chirurgie- první česky psaná učebnice tohoto typu).

Na Slovensku byla situace úplně jiná, vojenští veterináři pokračovali ve službě v armádě tzv. Slovenského štátu. Mnozí se taktéž aktivně zapojili do domácího i zahraničního odboje. Za mnohé je možno jmenovat MVDr. Mikuláše Ferjenčíka čelního představitele SNP. Po válce zastával funkci povereníka vnútra a byl státním tajemníkem ministra národní obrany. Po únoru 1948 emigroval do Spojených států. Je to jediný veterinář, který dosáhl nejvyšší vojenské hodnosti armádní generál (in memoriam).

Obnovení Československa 1945-1948

V květnu 1945 byla obnovena Československá armáda, včetně veterinářské služby (srpen 1945). Přednostou byl jmenován gen. vet. MVDr. Antonín Hošek, který službě velel před válkou. Na nátlak velení Rudé armády byl v srpnu 1946 odvolán (byl totiž čelným představitelem ČNR v době Pražského povstání). Přednostou a později náčelníkem veterinářské služby se stal plk. MVDr. Vladimír Chládek, zkušený odborník, doslova veterinární polyhistor a hlavní redaktor celostátního veterinářského periodika "Časopis československých veterinářů".

V rámci obnovované armády se znovu vytvořila síť veterinářských nemocnic, představovaná nemocnicemi působícími v podřízenosti velitelství jednotlivých oblastí (VetN 1 Praha, VetN 2 Příbram, VetN 3 Hranice, VetN 4 Bratislava), které doplňovaly nemocnice působící u části pěších divizí na Slovensku (DivVetN 2 Banská Bystrica, DivVetN 10 Košice- zanikly v září 1946).

Jejich činnost řídilo veterinářské oddělení I. odboru MNO (všeobecně vojenského), převedené v roce 1946 k VI. odboru MNO (Zdravotnickému). U všech oblastních nemocnic probíhaly třikrát ročně čtyřměsíční vojenské podkovářské kurzy a k VetN 1 (1. května 1948 přemístěná do Pardubic), byla přičleněna Škola pro důstojníky veterináře v záloze.

V říjnu roku 1946 se vzhledem k podobnosti plněných úkolů s veterinářskou službou sloučila doposud samostatná remontnická služba. Součástí veterinářské služby se tak staly vojenské hřebčiny a hřibárna, společně s orgány vojenské evidence koňstva. Vojenské hřebčiny se nacházely v Hostouni a Horních Motěšicích, zatímco vojenská hřibárna působila v Mimoně (od května 1947 ve Stráži pod Ralskem). Koncem roku 1948 byly vojenské hřebčiny předány do civilní správy (hřebčín v Hostouni Ministerstvu zemědělství a hřebčín v Horních Motěšicích do správy Povereníctva poľnohospodárstva a pozemkovej reformy).

V rámci politických změn po únoru 1948 došlo k přejmenování armády na Československou lidovou armádu (ČSLA). S tím byla i spojená reorganizace MNO

v září 1950, veterinářské oddělení bylo vyčleněno z rušeného VI. odboru (zdravotnického) a začalo působit jako samostatné, v rámci nově vzniklého Hlavního týlu (VetO/HT).

Pokračující motorizace armády (dokončena v roce 1956), měla za následek i postupné snižování orgánu evidence koňstva, které nakonec zaniklo 1. 10. 1949, kdy jejich agenda přešla na nově vzniklá krajská vojenská velitelství. K 31. 12. 1954 ukončila činnost i vojenská hřibárna, která se v roce 1951 přemístila z Minoně do Rudné pod Pradědem.

Postupně došlo i k rušení veterinářských nemocnic. Na sklonku roku 1950 zanikla veterinářská nemocnice v Bratislavě a k 1. 1. 1951 byly zbývající nemocnice přečíslovány a reorganizovány (VetN 1 na 1. VetN Pardubice a VetN 3 na 2. VetN Hranice), přičemž po zrušení velitelství oblastí (1., 3., 4.) podléhaly od září 1950 nově vytvořeným vojenským okruhům (1. a 2.). Od 1. 2. 1953 přestala u 1. VetN působit samostatná Škola na důstojníky veterináře v záloze. Její funkci převzaly nově zřízené vojenské katedry u veterinárních fakult v Brně a Košicích. K 1. listopadu 1955 byly již veterinární (přejmenování se uskutečnilo k 1. 11. 1954) nemocnice zrušeny.

Budování armády podle sovětského vzoru, se nevyhnulo ani službě. V roce 1954 byla přejmenována z veterinářské na veterinární a název veterinář nahrazen názvem „veterinární lékař“, který vychází z ruského „veterinaryj vrač“

Základním předpisem služby se stal předpis Vet 1-2 (přejmenovaný předpis Z VII 1 “Veterinářská služba u vojenských útvarů v míru”), který byl podle potřeb novelizován a vydán v letech 1969, 1978 a naposledy 2007.

V důsledku studené války se budovala silná a početná armáda, včetně veterinární služby. V roce 1951 vzniklo v Terezíně Výcvikové středisko psů a psovodů, které bylo v květnu 1953 redislokováno do Grabštejna. V roce 1958 přešlo toto středisko do složení Pohraniční stráže.

V roce 1953 byl v Dobré u Místku vytvořen Ústřední veterinární sklad, který se následně

v roce 1957, stal pobočkou Ústředního zdravotnického skladu.

Z důvodu, že VTÚ Praha nestačil pokrývat potřeby armády, byl v roce 1953 rozpuštěn a z jeho 4. oddělení (veterinárního) vzniklo Veterinární výzkumné středisko dislokované v Praze Motole, v bývalém sídle řádu Maltézských rytířů. Toto zařízení bylo v září 1967 reorganizováno na Vojenský veterinární doškolovací a výzkumný ústav. V letech 1958 až 1966 bylo veterinární oddělení opětovně zařazeno do struktury zdravotnické služby.

9.1966 byl v Hlučíně vytvořen Ústřední veterinární oddíl. Byla to součást strategie budování armády, kdy v případě mobilizace byla stavěna pojízdná armádní veterinární rota a polní veterinární laboratoř. V těchto letech byla také zahájena výroba pojízdných veterinárních laboratoří (PHEL).

V této době byl plánován veterinární lékař u týlových složek každého svazku. Místa pro veterinární lékaře byla taktéž plánována ve vojenských výcvikových prostorech.

Hlavní úkoly veterinárního zabezpečení:

- veterinární hygienický dozor na potraviny
- léčebná a preventivní péče o zvířata vojenské správy (služební psy, hospodářská zvířata pomocných zemědělských hospodářství)
- vojenská služební kynologie

Po okupaci v roce 1968 se veterinární služba, tak jako celá ČSLA, dostala pod kontrolu sovětských vojsk. Byly prováděny kádrové změny. Část příslušníků veterinární služby byla propuštěna z politických důvodů. Propuštěn byl i náčelník veterinární služby a byl mu dokonce zakázán pobyt v Praze.

Zároveň došlo k reorganizacím, které se dotkly i veterinární služby. Ústřední veterinární oddíl v Hlučíně byl k 1. 9. 1969 reorganizován na 2. veterinární oddíl a předaný od veterinární služby HT ČSLA do podřízenosti nově vzniklého velitelství Západního vojenského okruhu.

V září 1969 ČSLA převzala zpět od Pohraniční stráže Výcvikové středisko služebních psů v Grabštejně, které v následujícím roce prodělalo reorganizaci na Veterinární základnu. V roce 1978 se jako její odloučená součást opětovně vytvořil Ústřední veterinární sklad dislokovaný v Meznu u Tábora. Tyto prostory předtím využíval Vojenský veterinární doškolovací a výzkumný ústav. Měl zde umístěnou farmu laboratorních zvířat, která jimi zásobovala celou ČSLA. Samotný Vojenský veterinární doškolovací a výzkumný ústav byl ze strategických důvodů redislokován v roce 1975 do Košic. S tímto ústavem byla přestěhována také Vojenská veterinární knihovna, obsahující přes 11.000 svazků odborné literatury.

Z důvodu veterinárního zabezpečení Východního vojenského okruhu vznikl v září 1977 v jeho podřízenosti 4. veterinární oddíl (nejprve byl dislokován v Topolčanech, od roku 1979 v Trnavě a od října 1990 v Hlohovci). Na sklonku roku 1984 se Ústřední veterinární sklad přestěhoval z Mezna u Tábora do Košic a stal se součástí Vojenského veterinárního doškolovacího a výzkumného ústavu.

V návaznosti na zrušení vojenských okruhů a jejich nahrazení tzv. vojenskými velitelstvími, přešel k 1. 5. 1992 do podřízenosti Vojenského velitelství STŘED 2. veterinární oddíl, který byl k 31. říjnu téhož roku přecíslován na 21. veterinární oddíl. Současně byl přecíslován dosavadní 4. veterinární oddíl v Hlohovci, který od 1. 1. 1991 podléhal Vojenskému velitelství VÝCHOD, na 31. veterinární oddíl.

Po zániku ČSFR a převedení Vojenského veterinárního doškolovacího a výzkumného ústavu v Košicích i 31. veterinárního oddílu do složení Armády Slovenské Republiky, byl hlučínský útvar nejprve k 1. 4. 1994 převeden do podřízenosti Velitelství logistiky a reorganizován na 52. veterinární oddíl.

K 1. 10. 1997 následovala transformace na Ústřední vojenský veterinární ústav.

**Prof. MVDr. František Ševčík a vláknité mikroskopické houby (plísně)
- významná epizoda jeho vědeckého života?
*Prof. DVM. František Ševčík and microfungi (moulds)
- an important episode of his scientific live?***

Ostrý, V.

Státní zdravotní ústav v Praze, Centrum zdraví, výživy a potravin v Brně

Souhrn

V letošním roce, 30. září 2016, vzpomeneme 130. výročí narození prof. MVDr. Františka Ševčíka (*1886 - +1930) přední osobnosti československé veterinární medicíny, zakladatele a prvního přednosty Ústavu pro bakteriologii, hygienu a nauku o zvířecích nálezích na Vysoké škole zvěrolékařské v Brně. Zvláštní kapitoly výzkumné a vědecké činnosti prof. Ševčíka byly jeho experimenty v druhé polovině 20. let minulého století, které napověděly existenci tehdy dosud neznámých antibakteriálních agens v kulturách plísní *Penicillium glaucum* a *P. notatum*. Přemíra dalších povinností a úkolů a zhoršující zdravotní stav ale nedovolovaly, aby se prof. Ševčík touto problematikou zabýval se svou jinak přísloušnou důkladností a erudicí. Je možno zodpovědně říci, že prof. Ševčík byl velmi blízko objevu antibiotik podobně jako Ernest Duchesne. Ernest Duchesne (*1874 - +1912) byl francouzský vojenský lékař, průkopník výzkumu antibakteriálních látek. Během služby v Alžírsku si povšiml, že domorodci léčí drobná poranění koní tím, že do rány vtírají plíseň setřenou ze zapálených sedel. Provedl řadu pokusů na morčatech a zjistil, že tato plíseň z rodu *Penicillium* (*P. glaucum* Link) dokáže účinně likvidovat bakterii *Escherichia coli*. V roce 1897 popsal výsledky svého výzkumu v disertační práci, avšak Pasteurův ústav se objevem neznámého mladého vojenského lékaře odmítl zabývat. Časově náročná služba u armády pak zabránila Duchesnemu ve výzkumu dále pokračovat. Jak je všeobecně známo, princip účinnosti extraktů kultur plísně *Penicillium notatum* Westling (= *P. chrysogenum* Thom = *P. rubens* Biourge) následně objevil a publikoval sir Alexandr Fleming (*1881 - +1955) v Londýně v roce 1929. K průmyslové produkci penicilinu došlo až počátkem 40. let v USA. V českých zemích byl penicilin (pod označením BF Mykoin 510) poprvé připraven v roce 1944 v chemicko-farmaceutické továrně Benjamin Fragner v Dolních Měcholupech (dnes Zentiva).

Klíčová slova: *Prof. MVDr. František Ševčík, vláknité mikroskopické houby, plísně, Penicillium notatum, Penicillium glaucum, antibakteriální látky, penicilin.*

Úvod

Letošní konference XLVI. Lenfeldovy a Höklovy dny je spojena s 130. výročím narození Prof. MVDr. Františka Ševčíka, zakladatele a prvního přednosty Ústavu pro bakteriologii, hygienu a nauku o zvířecích nálezích na Vysoké škole zvěrolékařské v Brně. Prof. MVDr. František Ševčík byl jednou z předních osobností československé veterinární medicíny v období vzniku Československa a založení Vysoké školy zvěrolékařské v Brně.



(* 1886 - *1930)

Foto a podpis prof. Ševčíka (Harnach a kol. 2011)

S osobností prof. Františka Ševčíka jsem se měl možnost seznámit díky znamenité monografii autorů dr. Harnacha, dr. Dedka a dr. Braunera vydané u příležitosti 125. výročí jeho narození (Harnach a kol. 2011). Jeho osobnost, pracovní i osobní život mne velmi zaujal a oslovil nejen proto, že byl vynikajícím mikrobiologem, excelentním a studenty oblíbeným pedagogem a precizním, důkladným a sebekritickým vědeckým pracovníkem, ale že byl především skvělým a dobrým člověkem, humanistou a filantropem - nezištným a trvalým podporovatelem studentů zejména těch sociálně slabých rodin. Proto je přímo ostudné, že tato přední osobnost veterinární medicíny neobdržela titul řádného profesora Vysoké školy zvěrolékařské. Nechci hledat důvody, ale jistě se na tom mohl podílet vztah VŠZv a ministerstva školství nebo „lidský faktor“. Z jeho vědecké a odborné práce mne jako mykologa a mykotoxikologa nejvíce zaujala epizoda z jeho vědecké práce ze začátku druhé poloviny 20. let, kdy prováděl vědecké experimenty s koloniemi plísní rodu *Penicillium*, které napověděly možnou existenci tehdy dosud neznámého baktericidního agens.

Dovoluji si opět citovat ze zmíněné monografie z kapitoly s názvem „... víc tušil než řekl ...“ (Harnach a kol. 2011):

„Zvláštní kapitolou výzkumné a vědecké činnosti profesora Ševčíka byly jeho experimenty v druhé polovině 20. let minulého století, které napověděly existenci tehdy dosud neznámého baktericidního agens v kulturách některých plísní.

*Jeden ze spolupracovníků profesora Ševčíka, doktor Otáhal, publikoval v roce 1946 své vzpomínky. Sdělil, že zastihl profesora Ševčíka zaujatého prohlídkou kultur ve zkumavkách, ve kterých bujely šedo zelené povlaky plísní. Profesor mi řekl: „... pane kolego, podívejte se na tyto zvlášť bohaté exempláře plísní, které svojí zvláštní životností spotřebují všechno z okolí. Jsou to jacísi všežravci. Zkuste to, zda by ty vaše tyčinky (tbc) těž nespolykaly ...“. Doktor Otáhal dále vzpomíná: „Bylo-li v jeho námětech vždy hodně zajímavého, bylo řešení této záhady nad jiné lákavější, takže jsem se dal hned do práce a přenášel jeho „penicilie“ do mých kultur, jejichž virulence byla předtím vyzkoušena. Kultury **Penicillium notatum** a **Penicillium glaucum** zachvátily v krátké době celou plochu živné půdy a utvořily kol shluku mykobakterií val, avšak ty zůstávaly netknuty.“. Doktor Otáhal pokusy opakoval se stejným negativním výsledkem. Profesor mu pak řekl: „Nevadí, možná jim zachutná něco jiného. Zkusíme to u kolegy Dobrovolského, který pracuje s bacily anthrakovými...“. Zda byly tyto pokusy*

provedeny, doktor Otáhal již nevěděl. A profesoru Ševčíkovi již zřejmě nezbývalo příliš času zabývat se hlouběji touto problematikou. Jeho přítel profesor Novák vzpomínal, že v jeho laboratoři viděl kultury **Penicillium glaucum** na agarových půdách v Petriho miskách a ukazoval mu, jak kolonie těchto plísní potlačují růst některých kultur bakterií. Tehdy prý profesor Ševčík řekl: „...je to zajímavé a třeba tomu věnovat pozornost ...“ **Přemíra povinností a úkolů na něj kladených spolu se zhoršujícím se zdravotním stavem ale nedovolovaly, aby se profesor touto problematikou zabýval se svou jinak příslovečnou důkladností a erudicí. Po smrti profesora Ševčíka o něm prohlásil profesor Novák: „...víc tušil, než řekl... jsem přesvědčen, že bychom měli penicilin o mnoho dříve a jeho objev pojil by se se jménem profesora Ševčíka...“**

Je možno zodpovědně říci a dostupné indicie tomu nasvědčují, že prof. Ševčík byl velmi blízko objevu antibiotik!

Na druhé straně je nutno uvést, že prof. Ševčík měl ve světě své předchůdce, kteří o to usilovali také. Jedním z předchůdců byl i Ernest Duchesne (*1874 - +1912) francouzský vojenský lékař, průkopník výzkumu antibakteriálních látek.



Dostupné na:

<http://www.art-prints-on-demand.com/a/frenchphotographer/ernestduchesneasasecondel.html>

Ernest Duchesne si během vojenské služby v Alžírsku povšiml, že domorodci léčí drobná poranění koní tím, že do rány vtírají plíseň setřenou ze zapařených sedel. Na základě uvedených pozorování provedl řadu pokusů na morčatech a zjistil, že tato plíseň *Penicillium glaucum* Link (český název štětičkovec sivý) dokáže účinně likvidovat *Escherichia coli* i další bakterie. V roce 1897 popsal výsledky svého výzkumu v disertační práci, avšak Pasteurův ústav se objevem neznámého mladého vojenského lékaře odmítl zabývat. Časově náročná služba u armády pak zabránila Duchesnemu ve výzkumu dále pokračovat (Duchesne 1897, Duckett 1999). Roku 1907 onemocněl tuberkulózou a zemřel v mladém věku 37 let v sanatoriu v Amélie-les-Bains. Uběhla řada let a teprve až po uvedení penicilinu do lékařské praxe udělila Académie nationale de médecine roku 1949 Duchesnemu in memoriam čestné uznání a roku 1983 obdržel čestný doktorát. V Marseille je po něm pojmenována Rue Ernest Duchesne (Pouillard 2002).

Prof. Ševčík by si jistě také v ČR zasloužil in memoriam obdobné ocenění.

Jak je všeobecně známo princip účinnosti antibakteriálních extraktů kultur plísně *Penicillium notatum* Westling (= *P. chrysogenum* Thom = *P. rubens* Biourge) následně objevil a publikoval skotský lékař sir Alexandr Fleming (*1881 - +1955) v Londýně v roce 1929 (Samson a kol. 1977, Houbraken a kol. 2011). Antimikrobiální látku nazval penicilinem. Izolovat penicilin z extraktu plísně *Penicillium notatum* se však Flemingovi nepodařilo. Na tom mají až v roce 1940 zásluhu vědci z Oxfordské univerzity Howard Walter Florey a Ernst Boris Chain a především jejich pomocník Norman Heatley. Právě pomocník Heatley udělal zřejmě na izolaci penicilinu nejvíc práce, přesto, když se za objev penicilinu v roce 1945 dávala Nobelova cena, on mezi laureáty nebyl. Přesto byl Heatley za své zásluhy v roce 1990 oceněn, když obdržel čestnou vědeckou hodnost doktora lékařských věd (*doctor honoris causa*) na univerzitě v Oxfordu jako první nelékař v její 800 leté historii. Sir Henry Harris, prof. medicíny v Oxfordu v roce 1998 prohlásil: "*Without Fleming, no Chain or Florey; without Florey, no Heatley; without Heatley, no penicillin!*" (Sidebottom 2004).

K průmyslové produkci penicilinu došlo až počátkem 40. let v USA. Díky výzkumu americké vlády se tak mohl na podzim 1943 "superlék" začít vyrábět a rok nato už léčil například zraněné vojáky i civilisty (Anonymous 1999).

V českých zemích byl penicilin (pod označením BF Mykoin 510) poprvé připraven v roce 1944 v chemicko-farmaceutické továrně Benjamin Fragner v Dolních Měcholupech (dnes Zentiva) (Havlík 2002).

Literatura

Anonymous "The discovery and development of penicillin 1928-1945" commemorative booklet produced by the National Historic Chemical Landmarks program of the American Chemical Society, 1999, 11 p.

Duckett, S. Ernest Duchesne and the concept of fungal antibiotic therapy. *Lancet*. 1999, **354**(9195), 2068–2071.

Duchesne E. Contribution à l'étude de la concurrence vitale chez les micro-organismes: antagonisme entre les moisissures et les microbes [Contribution to the study of the vital competition in microorganisms: antagonism between molds and microbes], (Lyon, France: Alexandre Rey, 1897). (*In French*)

Harnach, R., Dedek, L. Brauner, P. Prof. Mvdr. František Ševčík – vydáno u příležitosti 125. výročí narození. *Historia Medicinae Veterinariae 2011*, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2011, 60 s.

HAVLÍK, J. Vývoj penicilinových antibiotik. *Klin. Mikrob. Inf. Léč.* 2002, **1**, 7–10.

Houbraken, J., Frisvad, J.C., Samson, R.A. Fleming's penicillin producing strain is not *Penicillium chrysogenum* but *P. rubens*. *IMA Fungus*. 2011, **2** (1), 87–95.

Pouillard, J. A forgotten discovery: doctor of medicine Ernest Duchesne's thesis (1874-1912). *Hist. Sci. Med.* 2002, **36**(1), 11–20. (*In French*)

Samson, R.A., Hadlok, R., Stolk, A.C. A taxonomic study of the *Penicillium chrysogenum* series. *Antonie van Leeuwenhoek*. 1977, **43** (2), 169–175.

Sidebottom, E. Without Heatley, no penicillin. *Oxford Today: The University Magazine*. 2004, 16 (3).

Kontaktní adresa:

Doc. MVDr. Vladimír Ostrý, CSc., Státní zdravotní ústav v Praze, Centrum zdraví, výživy a potravin, Oddělení hodnocení zdravotních rizik a aplikované výživy, NRC pro mikroskopické houby a jejich toxiny v potravinových řetězcích, Palackého 3a, Brno, 612 42. E-mail: ostry@chpr.szu.cz

Kumulace zvěrolékařů aneb rodinná tradice veterinární medicína

Soph, M.

Jmenuji se MVDr. Marek Soph a jsem třetí ze čtyř generací – příslušníků zvěrolékařské profese v rodině Kunstýřů a Sophů. Můj dědeček z matčiny strany byl MVDr. Jaroslav Kunstýř, otec byl MVDr. Adolf Soph, strýc, matčín bratr, byl MVDr. Ivo Kunstýř a jednou z mých tří dcer je MVDr. Tereza Sophová. Ještě možno rozšířit: jeden pradědeček byl kovář a podkovář, což v té době znamenalo, že léčil dobytek a domácí zvířata; jeden z mých dvou bratřanců, ten žijící v Austrálii, vlastní a provozuje místní lékárnou, což v tamních poměrech znamená, že ke zdraví lidí a zvířat má též velmi blízko.

Krátce: čemu se věnovali a věnují

Můj dědeček ukončil svá studia veterinární medicíny započatá ve Vídni v Brně. Provozoval svou praxi soukromého terénního zvěrolékaře v okrese Mladá Boleslav, ve Skalsku, od roku 1923 do roku 1946. Pak byl zaměstnancem Čsl. Pojišťovny v Praze. Zvěrolékařské komoře prezidentoval v letech 1936 až 1947. Zemřel v šedesáti letech v roce 1954 v Praze.

Můj otec ukončil svá studia v Brně v roce 1952. Věnoval se hygieně masa, a to již od let univerzitních, kdy praktikoval u docenta Hökla. Pracoval na pražských jatkách, převážně na oddělení sanitní porážky, odkud byl vyslán na šestiměsíční stáž do Alžíru, kde měl na starosti po stránce veterinární chod jatek a malé provozní laboratoře. Vrátil se tam poté s rodinou na tři a půl roku v letech 1968 až 1971. Od roku 1977 vyučoval anatomii a biologii na střední průmyslové škole technologie masa (SPŠTM) v Praze, odkud byl v roce 1998 penzionován. Zemřel v Praze v roce 2010 v 84 letech.

Můj strýc ukončil svá studia započatá v Košicích v Brně v roce 1956. Až do roku 1968 pracoval jako civilní zaměstnanec armády v Praze-Motole se specializací na pokusná zvířata. Emigroval do Frankfurtu nad Mohanem. Z tamního ústavu Maxe Plancka pro biofyziku pak odešel do Hannoveru na lékařskou univerzitu. Pracoval tam v centrálním zvířetníku se specializací na mikrobiální onemocnění laboratorních zvířat. Aprobował v roce 1975. Učil jako soukromý docent a posléze mimořádný profesor na lékařské fakultě v Hannoveru a účastnil se po celém světě konferencí a sympozií s tematikou laboratorních zvířat. V roce 1992 vydal knihu „Diagnostic microbiology for laboratory animals“. Pod pseudonymem Jan Pulda uveřejňoval své fejetony i části literární pozůstalosti svého otce, poezii i prózu, nejčastěji v krajanském čtrnáctideníku *Náš domov* v Kanadě. Pensionován byl v roce 1997, žil v Hannoveru, kde 1. 8. 2013 zemřel ve věku 81 let.

Já jsem ukončil v Brně svá studia v roce 1980. Nastoupil jsem do Ústředního státního veterinárního ústavu v Praze-Lysolajích na oddělení patologie a histologie. Od roku 1984 jsem pracoval na Státní veterinární správě na oddělení veterinární ochrany státního území a mezinárodní spolupráce. Posléze, po téměř čtyřletém působení v podnikatelské sféře, jsem pracoval od roku 1998 do roku 2012 na zemědělském oddělení nizozemského velvyslanectví jako zemědělský asistent. Nyní jsem zpět na Státní veterinární správě na odboru pro vztahy s EU.

Prostřední z mých tří dcer ukončila svá studia v Brně v roce 2012. Své první zkušenosti v praxi terénního praktického zvěrolékaře začala získávat na Berounsku. Nyní vlastní a provozuje smíšenou veterinární praxi v Řevnicích pro zvířata v zájmovém chovu a pro hospodářská zvířata.

MVDr. Jaroslav Kunstýř

1. Studia a válka

Po maturitě se dal můj dědeček zapsat ve Vídni na vysokou školu veterinární. Ve 21 letech byl odveden a narukoval na rakousko-italskou frontu.

Protože byl vysokoškolský student, byl zařazen do důstojnického sboru a přidělen k jednotce, která měla detašované sídlo vysoko v horách v horské chatě v italských Alpách – jednalo se o oblast Dolomit. Nejbližší město se jmenovalo Trident.

Můj dědeček vedl pojízdný lazaret a ošetrovnu a získal tak vřelý vztah k chirurgii, která ho provázela celou jeho zvěrolékařskou praxí a v níž mohl uplatnit své zkušenosti z vojny. Od svého otce kováře znal i běžnou praxi lidského zubolékařství, jelikož trhání zubů tehdy prováděli tito silní všestranní mužové.

2. Z Vídně do Brna a z Brna na Skalsko

Bylo třeba dokončit zvěrolékařská studia v nově vzniklém státě Československu. Všeobecné nadšení z nabytí samostatnosti, důkladně propracovaná a prozíravě převzatá rakousko-uherská administrativa a částečně i legislativa a chuť studentů konečně moci pracovat sami na sobě dokázaly zázraky. Prvním dekretem prezidenta republiky T.G.M. byla založena zvěrolékařská fakulta v Brně roku 1918. Všecko v začátcích bylo provizorní. Vzpomínám si, jak matka líčila dědečkovo vyprávění, že studenti měli za úkol přinést si vlastní židli, a jak brněňští hostinští ochotně židle postrádali, zajišťující se tak jak krátko tak i dlouhodobé štampasty.

Byl to prý tehdy boj o čas. Kolik přednášek student stačil zapsat a kolik materiálu z německých knih nastudovat, tím na tom byl lépe oproti ostatním. Byly časové úlevy pro excelentní studenty. Některé praktické předměty ke konci studia, například chirurgie, měli ti studenti, kteří byli na vojně a dostali se tam do styku s danou problematikou, ulehčené znalostmi z praxe. Dědeček si vysloužil pochvalu a obdiv svého examinátoru, když při praktické zkoušce zvolil postup operace tak, jak jej měl ověřený prováděním v praxi na frontě, nicméně který byl odlišný od učené teorie.

V roce 1921 složil dědeček doktorát. Vrátil se poté do rodných Mcel k otci – maminka mu během války zemřela – aby se s ním poradil, kde by se měl usadit a začít svou zvěrolékařskou praxí. Nevlastní bratr dědečkův, kovář a podkovář Josef, měl kovárnu v bohatém zemědělském kraji mladoboleslavském, kde se pěstovala řepa a začínal ve větším chovat dobytek, v obci Vrátno. Josefova znalost okolních vesnic, zejména těch, kde bylo víc sedláků pohromadě, byla výhodná. Vzali to systematicky a usoudili, že obec Skalsko je nejvhodnější.

3. První případ MVDr. J. K., pozdějšího prezidenta zvěrolékařské komory

První bydlení dědečka po ukončení studií na vysoké škole veterinární v Brně bylo na statku u Hořáků na Skalsku.

Odtamtud rozesílal po okolních vesnicích oznámení o otevření své praxe a čekal na prvního pacienta... Nevím, jak dlouho tento stav trval, ale dovedu si představit, jak nadšeně přivítal železničáře, který přišel požádat o ošetření. Chvíli oběma trvalo, než si vysvětlili, že se nejedná o strádající zvíře, ale že pacientem je sám železničář, anžto lidský doktor není k mání a ujímání železničář již déle nemíní snášet. Po dobu, co strejda popisoval, co mu schází či co mu přebývá, dědeček si jej bedlivě prohlížel a usoudil, že má něco s hlavou: třepal s ní a občas si rukou sahal na ucho. Konečně to bylo na světě: v uchu mu bubnuje, nebolí, ale to bubnování ne a ne přestat. Prosil, ať s tím otec udělá cokoliv, jen ať to strašlivé bubnování skončí, jinak že skočí s mostu... Mému dědečkovi nechyběl občas smysl pro humor a v tomto případě jej osvědčil, spolu se schopnostmi diagnostickými i terapeutickými. Když to nebolí, tak to není zánět, ale mechanický pohyb, co tak malého může v lidském uchu ten pohyb způsobovat – blecha! Sportovně založená blecha, co si udělala z pacientova bubínku trampolínu. Usmál se na pacienta, utěšil ho, že si s tím poradí, položil mu hlavu zdravým uchem na stůl a s tím bubnujícím nahoru, nakapal do zvukovodu olej...a bylo po sportu – blecha se utopila. Dříve usouzený a teď rázem jako znovuzrozený strejda zajásal, pak vychválil otce, „jakýho má fištróna“ a když to bylo navíc zadarmo, poděkoval s tím, že „bude jezdit z Mělníka do Boleslavi tam a zpátky a odteď bude všude meldovat, jak ten mladej doktor na tom Skalsku umí zázračně léčit lidi, natožpak zvířata...“

Dědeček byl, mimo jiné, též skvělý psycholog, znal venkovské lidi, uměl s nimi jednat a jejich stesky a strasti mu byly blízké a zřejmé. A zvířata měl rád, rozuměl si s nimi a věděl, jak na ně. Vždycky se snažil poraněné či nemocné zvíře nejdříve zklidnit, dostat ho ze šoku, než přistoupil k další terapii.

Jen s kozami neměl takovou trpělivost jako s ostatními zvířaty. Když přišla majitelka kozy s tím, že ještě večer Žofka žrala i pila a teď ráno nic, točí se ke všemu zády, říkával :...“že vy jste jí, matko, nedala dobrou noc, přijdu k vám, ale s kozou je to jako se ženskou...“

4. Válka v plném proudu

V různých krajích byli pro praktikující zvěrolékaře na úřadech dosazení coby kontrolní a správní orgán němečtí radové. Ten otcův seděl v Mladé Boleslavi a byl to úřední veterinář znalý oboru. Jednou z jeho povinností bylo zavčas otcí hlásit změny v nařízeních. Na ty dlouhé telefonické rozhovory si pamatuje moje matka jako na nejhorší sluchový a emoční zážitek: dědeček řval do telefonu na radu v nenáviděné němčině, kterou ovšem perfektně ovládal a rodina se bála, že jim ho za to někdo přijde zatknout a zavřít. Oba páni přitom věděli, že mají na drátě oponenta erudovaného, zato tvrdohlavého, a tak si disputaci užívali.

Běžná praxe zvěrolékaře před válkou spočívala i v tom, že během měsíce ledna, kdy se na statcích porážela při zabijačkách vykrmená prasata pro vlastní potřebu hospodářů, prohlížel zvířata a propuštěné pŮlky razítkoval. Ne tak za Němců, ti potřebovali vepřové jinde než na českém venkově a také jim dělalo dobře, když se jich lidi báli, a tak si vymysleli nařízení, že domácí porážky jsou možné jen pro zvířata ohrožená, těsně před úhynem – byly to tak zvané nucené porážky, které musel zvěrolékař posoudit z hlediska jejich oprávněnosti a označit příslušným razítkem na příslušném formuláři a svým podpisem stvrdit pravost údaje. Dědeček jezdil v té době od statku ke statku a všude

označoval maso tak, jako by pocházelo z nucených porážek, tedy okupanty jediným schváleným razítkem. Že za to byly kruté tresty, po vystupňování nacistického teroru v době heydrichiády ortel smrti pro celou rodinu, věděli všichni, co naplat, když na háku visící vyvržené dvoumetrákové prase s označením chcípáka se tak krásně sádlem jen lesklo a srdce okupantům takto vzdorujícího českého venkova tak blažilo... Vděční statkáři se chtěli revanšovat aprovizací, a protože se také vědělo, že to děda z principu odmítá, dávali balíky s masem do kufru auta, aniž otci co řekli.

Jezdilo se hlavně ke komplikovaným porodům krav a kolikám koní. U porodů, kdy šlo o život nejen telete, ale i krávy, použil často krajní možnost, aby alespoň krávu zachránil. Byla-li poloha telete složitá, byli někdy zapojeni do práce s porodními provazy všichni, kteří ve chlěvě byli k dispozici a podle povelů většinou dokončili práci úspěšně. Když byl plod zrudlý nebo jednalo-li se o propletená dvojčata, muselo dojít k usmrcení a následnému rozřezání v děloze a odstranění kusů kadáveru.

5. Dědečkovu úřadování

Zvěrolékařská komora vznikla v roce 1920. Ve velmi rušné době začátkem třicátých let dvacátého století, kdy národnostní ale i sociální a ekonomické různice začaly činit praktickým zvěrolékařům problémy, se čím dál více poukazovalo na otázky stavovské cti v souvislosti s růzností názorů na honorování výkonu praktické služby. Mezi zvěrolékaři to v té době vřelo. V polovině třicátých let se dostal do popředí profesního dění můj dědeček, který kladl důraz na spolupráci se zdravotnictvím a ne tolik se zemědělstvím a zasazoval se o to, aby členy komory mohli být i státní a vojenští zvěrolékaři. Demokratickým jednáním a chováním a svým charizmatem dokázal rozbourané vody alespoň částečně zklidnit. Komoru po její konsolidaci a po zvolení prezidentem vedl úspěšně. Po administrativní stránce vedl komoru právník pan dr. B. Martínek s dvěma úřednicemi, a to k plné spokojenosti prezidia komory i jejích členů. Kanceláře měli v ulici Na Příkopě číslo 7. Po 15. 3. 1939 došlo zásahem zvenčí k rozdělení zvěrolékařské komory na českou a německou část a její činnost byla, jako konečně činnost všech profesních organizací, vystavena tlaku nacistických a rasových zákonů. Zvěrolékařská komora zrušena během války nebyla, ale její činnost byla omezena výhradně na otázky zdraví zvířat, tlumení nákaz a na hygienu živočišných produktů a potravin. Veškerý spolkový, společenský a kulturní rozměr její činnosti byl zcela potlačen a na konci války se komora ocitla v hlubokém útlumu.

Po roce 1945 se ocitl pod tlakem novodobé ideologie, byl pomalu vytěšňován z vedení zvěrolékařské komory a současně se u něho projevovalo oslabení imunity vůči nákazám. Častý výskyt furunklů a lokálních zánětů kůže zejména na pažích byl alarmující a lékařský verdikt zněl: změnit radikálně náplň práce. Nebyla jiná možnost než předat praxi mladšímu kolegovi, pronajmout vilu na Skalsku a přestěhovat se do Prahy za úřednickou prací v čsl. Pojišťovně ve Spálené ulici číslo 14. Poptávka po odborníkovi s jeho zkušenostmi byla ze strany pojišťovny veliká a perspektiva se nezdála být zprvu zdaleka špatná.

Další hořkou pilulku musel spolknout, když zajel na Vysokou školu veterinární v Brně za tehdejším rektorem s přímluvou, aby po maturitě mohl syn Ivo studovat veterinu. Po vřelém přijetí se kolega zeptal, co dědečka za ním přivádí, a když dostal odpověď, zareagoval soudruh adekvátně době: „jsi nepřítel našeho současného režimu a dějinného směřování, musíš pochopit moji negativní odpověď...“ Ivu přijali na Vysokou školu

veterinární v Košicích, odkud až po pěti semestrech přestoupil do Brna. Jako student byl velmi oblíben, se svou kytarou a nepřeborným množstvím písní ve všech možných jazycích zpestřoval neformální setkání i nemálo svazáckých sportovních klání a pravděpodobně i schůzí a aktivů, rusky uměl díky bělogvardějskému běženci a našemu bývalému rodinnému lékaři dr. Bielikovovi. Starodávné lyrické ruské dumky zněly neznalým soudruhům a soudružkám tak pokrokově....

6. Poslední část

Rodina Kunstýřů měla praktický systém, jak dědečkovu práci terénního praktického zvěrolékaře organizovali a realizovali. Většinou s jednodenním předstihem byla určena trasa a přibližný časový rozvrh jeho návštěv s telefonními čísly majitelů pacientů. Byla-li urgentní poptávka během dne o jeho návštěvu poblíž trasy, na níž se vyskytoval, jeho manželka ho telefonem u některého z pacientů upozornila, že má do programu zařadit ještě tu a tu novou návštěvu. Většinou jim tento systém fungoval, šetřili čas i benzin a zlepšovali dostupnost péče.

Poslední roky válečných let, kdy děda měl méně práce, velmi intenzívně psal. Je autorem románu „Viděl jsem dvě války“, který vydal v roce 1948 Václav Petr, a který je čtivou knihou s velkou dávkou životní moudrosti a nadčasového poselství

V posledních letech svého života se zabýval v úvahách náboženstvím a odkláněl se od svého mladického odmítání víry. Uznával křesťanství a judaismus a jejich tradice s důležitostí kulturního a mravního dědictví. Nedovedl si představit, kam se lidstvo bez víry bude ubírat. S těmito svými starostmi byl o několik desetiletí v předstihu...

MVDr. Adolf SOPH

1. Studia

Můj otec absolvoval středoškolská studia z velké části před druhou světovou válkou, a to na reálném gymnáziu v Praze v Ječné ulici. Při vzpomínkách zejména oceňoval, jak dobře ho ten ústav vybavil v přírodovědných oborech a jak hluboké základy pro logické uvažování a systematické myšlení mu poskytl. V roce 1944 byla jeho středoškolská studia násilně přerušena. Až do konce dubna 1945 potom pracoval jako pomocný dělník v továrně na jemnou mechaniku Klewin v Modřanech (později Technometra) a těsně před koncem války byl odveden na zákopové práce do Lounek u Roudnice nad Labem. Po květnu 1945 studium na střední škole dokončil. Od podzimu 1945 studoval zprvu jako mimořádný, po složení doplňovací maturity z latiny a z filosofické propedeutiky jako řádný posluchač na Vysoké škole veterinární v Brně. Během studií působil na ústavu doc. dr. Hökla, s nímž ho pojilo profesní nadšení pro hygienu a jakost potravin a osobní přátelství. V říjnu 1950 studia na VŠV dokončil a v únoru 1951 byl na základě disertační práce „Příspěvek k posuzování jakosti hrabavé drůbeže“ prohlášen doktorem veterinární medicíny.

2. Zaměstnání

V průběhu své profesní kariéry, zejména na jejím počátku, musel čelit můj otec nemalým obtížím díky kariérním škráloupům: rodiče baťovci, to znamená maloburžoazie a bratr – můj strýc Milan – emigrant z roku 1948, otec navíc zrušil v roce 1950 svoji mladickou kandidaturu do KSČ z roku 1948. Vystřídal proto hned po

absolutoriu několik působišť: působil v závodu 10 n. p. SPOFA, poté jako výpomocný veterinární lékař při prohlídce jatečných zvířat a masa na jatkách v Praze, u správy veterinární služby na ministerstvu zemědělství jako mladší veterinární lékař. Již v průběhu výkonu své základní vojenské služby byl vyloučen ze školy pro záložní důstojníky a zařazen v hodnosti vojína do funkce vodiče soumarů při soumarské dělostřelecké rotě.... Konečně k 1. 6. 1956 byl převeden zpět k veterinární zdravotní službě ÚNV hl. m. Prahy v holešovických jatkách, kde pražské veterinární službě u prohlídky jatečných zvířat a masa zůstal věrný až do roku 1977, z toho valnou část jako vedoucí sanitního oddělení jatek.

V roce 1957 podnítil vznik periodika "Výhled veterinárních lékařů z pražských jatek" a řadu let je redigoval. Byl nejen jeho zakladatelem, ale i editorem, redaktorem, výrobcem a distributorem v jedné osobě. Představitelé režimu sledovali periodikum s nevráživostí, vydávání bylo potlačováno. Výhled se hlásil od počátku nezastíraně k Pfaffovu a Höklovu pojetí veterinární medicíny, tzn. s důrazem na zdraví a ochranu lidí, spotřebitelů, v souvislosti se stránkou technologickou, hygienickou, jakostní a nakažovou a jejich vzájemných úzkých vztahů a provázaností mezi sebou. Existence periodika nepřečkala, přes anebo právě pro zájem velké části čtenářů, postupnou normalizaci.

Po svém návratu z práce ve veterinární službě města Alžíru – ve funkci jejího náměstka – až do svého odchodu do důchodu vyučoval biologii na Střední průmyslové škole technologie masa v Praze.

Je autorem řady odborných publikací, přednášel na mnoha školeních a kurzech, účastnil se natáčení popularizačních pořadů a za svůj vklad do oboru hygieny potravin byl v roce 1986 vyznamenán Höklovou medailí. Ke sklonku života se mimo jiných aktivit věnoval překladatelské činnosti, aktivní byl v působení v akademii třetího věku, v klubu chovatelů jezevčků, svým vnučkám věnoval nemálo času a jednu dovedl k pokračování rodinné tradice.

3. Alžírsko

K svému prvnímu pobytu v Alžírsku, kde podle dohody mezi hl.m. Prahou a hl.m. Alžírem působil na místních jatkách v letech 1966 – 1967, odlétal otec se smíšenými pocity. Na jednu stranu to vnímal jako ocenění své dosavadní práce a též jako důkaz politického a společenského uvolnění konce šedesátých let, na druhou stranu to byl krok do neznáma, navíc odlétal sám, rodina se rozdělovala. Po roce profesně velice úspěšného působení zejména z rodinných důvodů zmíněných výše, svůj pobyt v Alžírsku neprodloužil. Na žádost alžírské strany byl vyslán počátkem roku 1968 do Alžíru znovu, tentokrát ho zakrátko následovala i rodina. Třetí pobyt, o nějž alžírská strava velmi usilovala, s konečnou platností vzal za své v květnu roku 1975, kdy otec odmítl odcestovat sám, bez rodinných příslušníků, což byla podmínka tehdejších československých orgánů a odraz probíhající 'normalizace'.

Na dobu strávenou v Severní Africe všichni velmi rádi vzpomínáme, bylo tam krásně, byli jsme o poznání mladší a svět se ještě nezbláznil. Plně šlo využívat možnosti cestovat a poznávat svět, což v tehdejší Československu možné nebylo. Sama země Alžírsko měla mnoho co nabídnout, ať je to středoziemní moře s nádhernými plážemi či místní fauna, flora a příroda celkově, úchvatné památky po římském impériu a nemálo památek arabské kultury a vzdělanosti. Arabské obyvatelstvo bylo vesměs

přátelské, kultivované a vstřícné, Češi tam měli dobré jméno a byli oblíbení, vždyť nemálo pomáhali.

Alžírské jatky a celá veterinární služba města Alžíru za působení mého otce zažívali „zlaté časy“ jak profesní výše, tak lidské slušnosti, jak o tom svědčí korespondence mého otce s jeho tehdejšími místními kolegy, přáteli, pod- i nadřízenými, jež pokračovala ještě dlouho po jeho návratu do vlasti.

Za svého působení v Alžíru se stal spoluautorem příručky o prohlídce jatečných zvířat, masa a potravin živočišného původu pro tamější veterinární pracovníky. Spolu se svými tehdejšími spolupracovníky Dr. J. Vincentem a Dr. R. Pascalem publikoval v Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie práci o reovirech skotu v oblasti Alžíru.

4. SPŠTM, důchod, odchod

Otec byl rozený učitel, pedagog, vzor pro mladé. Náročný ale spravedlivý, slušný ale principiální, s ohromujícími všeobecnými i odbornými znalostmi včetně výborných jazykových (němčina, francouzština, angličtina, ruština) a s kultivovaným vystupováním, imponoval jim a měli ho rádi. Učení považoval za výborný závěr profesní kariéry, vůbec mu nevadilo, že šlo „jen“ o střední školu a už vůbec ne, že učí pouze „řezníky“. Naopak, SPŠTM měl rád a považoval ji za dobrý základ třeba pro vysokoškolská studia na oborech spřízněných, například na VŠV/VFU nebo na VŠCHT. Po více jak padesáti letech od úmrtí docenta Hökla se u žáků snažil učit a prosazovat názor, že inovaci kterékoliv potravinářské technologie lze přijmout jen tehdy, přináší-li kromě jiných výhod také možnosti lépe uspokojovat hygienické požadavky. Jeho oddanost škole dokládá i to, že na ní učil jako pracující důchodce až do roku 1998, to znamená do svých 72 let. I poté se zúčastňoval – rád a poměrně hojně – na pozvání svých někdejších studentů pomaturitních srazů.

Politických a společenských změn po roce 1989 si velmi užíval, zejména otevřené a prakticky neomezené možnosti cestování využil vedle nemála cest po Evropě i k cestě za svým bratrem do Austrálie. Svoboda projevu a pluralita názorů mu byly vždy vlastní. Po odchodu do důchodu se snažil dále prospívat „stavu“, jak říkal, a to jako spiritus agens při pravidelných setkáních veterinárních seniorů v Křesťanské kavárně v Praze na náměstí Míru a dále v činnosti Akademie třetího věku. Otcovým krédem bylo, že je třeba, aby si veterinární lékaři počínali stále s vědomím, že místo našeho stavu ve společnosti záleží také na tom, aby uměli a chtěli ukázat, že jsou na příslušnost k němu hrdí, a že dbají o jeho čest.

Vědom si postupujícího stáří a nakonec i nemoci, uspořádal velmi pečlivě na sklonku života též svoji profesní pozůstalost, která zůstává u nás doma.

SEZNAM AUTORŮ

CZECH REPUBLIC

Abdullah Fouad Ali Abdullah, Ing.
Department of Meat Hygiene
and Technology, FVHE VFU Brno
Palackého tř. 1-3, 612 42 Brno
E-mail: H13001@vfu.cz

Adamcová Markéta, Ing.
VŠCHT v Praze, Fakulta potravinářské
a biochemické technologie, Technická 3,
166 28 Praha 6 – Dejvice.
E-mail: adamcovamarketa@email.cz

Bardoň Jan, Doc. MVDr., Ph.D., MBA
SVÚ Olomouc
Jakoubka ze Stříbra č. 1, 779 00 Olomouc
E-mail: jbardon@svuol.cz

Bartáková Klára, Ing., Ph.D.
VFU Brno
Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Ústav hygieny a technologie mléka
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno.
E-mail: bartakovak@vfu.cz

Borkovcová Ivana, RNDr., Ph.D.
VFU Brno, FVHE
Ústav hygieny a technologie mléka,
Palackého tř. 1/3, Brno, 612 42
E-mail: borkovcovai@vfu.cz

Bogdanovičová Kateřina, Mgr., Ph.D.
VFU FVHE Palackého tř. 1/3, 612 42
Brno
E-mail: BogdanovicovaK@vfu.cz

Burdová Eva, Ing.
Ústav agrochemie, půdoznalství,
mikrobiologie a výživy rostlin.
Mendelova univerzita v Brně
Zemědělská 1, 613 00, Brno.
E-mail: xburdov2@node.mendelu.cz

Bursova Šárka, MVDr., Ph.D.
VFU Brno, FVHE
Ústav hygieny a technologie mléka
Palackého tř. 1/3, Brno, 612 42
E-mail: bursovas@vfu.cz

Černíková, Michaela, MVDr., Ph.D.
UTB ve Zlíně, Fakulta technologická,
Ústav technologie potravin
nám. T, G, Masaryka 275, Zlín, 760 01
E-mail: cernikova@ft.utb.cz

Dluhošová Sandra, MVDr.
VFU Brno,
Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Ústav hygieny a technologie mléka
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
E-mail: h14015@vfu.cz

Doležalová Jana, Ing., Ph.D.
VFU Brno
Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Ústav gastronomie, Palackého tř. 1946/1,
612 42 Brno
E-mail: dolezalovaj@vfu.cz

Dostálová Jana, Prof., Ing., CSc.
Ústav analýzy potravin a výživy, FPBT
VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28
Praha 6.
E-mail: Jana.Dostalova@vscht.cz

Đorđević Đani, MSc.
VFU Brno, Palackého tř. 1/3, 612 42,
Brno
Tel.: 777 947 831
E-mail: dani_dordevic@yahoo.com

Hlaváček Václav, Ing., CSc.
Krajské informační středisko pro rozvoj
zemědělství a venkova Jihomoravského
kraje, Kotlářská 53, 602 00 Brno.
E-mail: rak@rakjmc.cz, kis@kisjm.cz,
www.kisjm.cz

Holasová Milada, MVDr.
VFU Brno
Fakulta veterinární hygieny a ekologie
Ústav ochrany zvířat, welfare a etologie
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno.
E-mail: H13004@vfu.cz

Hostovský Martin, MVDr., Ph.D.
Ústav ochrany zvířat, welfare a etologie
FVHE, Veterinární a farmaceutická
univerzita Brno,
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno.
E-mail: hostovskym@vfu.cz

Janštová Bohdana, Mgr., Ing., Ph.D.
VFU Brno
Ústav gastronomie, Palackého tř. 1/3
Brno, 612 42
E-mail: janstovabo@vfu.cz

Kameník Josef, MVDr., CSc., MBA
VFU Brno, Palackého tř. 1/3, 612 42,
Brno
tel.: 541562747, E-mail:
kamenikj@vfu.cz

Koudela Břetislav, Prof., MVDr., CSc.
VFU Brno, Fakulta veterinární medicíny,
Ústav patologické morfologie a
parazitologie
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
E-mail: koudelab@vfu.cz

Lorencová Alena, MVDr. Ph.D.
Výzkumný ústav veterinárního lékařství,
v.v.i., Hudcova 70, 621 00 Brno.
Tel: +420 533 331 613
E-mail: lorencova@vri.cz

Luňáková Ludmila, Mgr.
VFU Brno, FVHE,
Ústav hygieny a technologie
potravin rostlinného původu
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
E-mail: lunakoval@vfu.cz

Míšková Zuzana, Ing., Ph.D.
UTB ve Zlíně
Fakulta Technologická
Ústav technologie potravin
Růmy 4046, 760 01 Zlín
E-mail: miskova@ft.utb.cz

Musil Jaromír, Ing. Ph.D.
Regionální agrární komora
Jihomoravského kraje
Kotlářská 53, 602 00 Brno.
E-mail: rak@rakjmc.cz, kis@kisjm.cz,
www.kisjm.cz

Necidová Lenka, MVDr., Ph.D.
Ústav hygieny a technologie mléka
Veterinární a farmaceutická univerzita
Brno, Palackého tř. 1/3, 612 42 Brno,
Česká republika
E-mail: necidoval@vfu.cz

Nekvapil Tomáš, MVDr., Ph.D.
VFU Brno FVHE
Ústav ochrany zvířat, welfare a etologie
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
E-mail: nekvapilt@vfu.cz

Nesvadbová Michaela, Ing., Ph.D.
VFU Brno, FVHE,
Ústav hygieny a technologie masa
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
E-mail: nesvadbovam@vfu.cz

Ostrý Vladimír, Doc., MVDr., CSc.
Státní zdravotní ústav v Praze
Centrum zdraví, výživy a potravin
Oddělení hodnocení zdravotních rizik
a aplikované výživy
NRC pro mikroskopické houby
a jejich toxiny v potravinových řetězcích
Palackého 3a, Brno, 612 42
E-mail: ostrý@chpr.szu.cz

Ošťádalová Martina, Ing., Ph.D.
Ústav hygieny a technologie
Potravin rostlinného původu
VFU Brno, Palackého tř. 1/3, 612 42 Brno
E-mail: m.ostadalova@gmail.com

Pachlová Vendula, doc. Ing. Ph.D.
UTB ve Zlíně, Fakulta technologická,
Ústav technologie potravin,
nám. T. G. Masaryka 5555, 760 01, Zlín.
E-mail: pachlova@ft.utb.cz

Pospíšil Jan, Mgr.
VFU Brno, FVHE
Ústav hygieny a technologie mléka
Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno
E-mail: pospisilj@vfu.cz

Průšová Petra, Ing.
VŠCHT Praha
Fakulta potravinářské a biochemické
technologie, Ústav konzervace,
Technická 3, 160 00 Praha 6
E-mail: p.prusova@vscht.cz

Pažout Vladimír, Doc., MVDr. CSc.
ICVI, Veterinární a farmaceutická
univerzita
Palackého tř. 1/3, Brno, 612 42
E-mail: pazoutv@vfu.cz

Semerád Zbyněk, MVDr.
ústřední ředitel Státní veterinární správy
Slezská 100/7, 120 56 Praha 2

Tesařová Simona, MVDr.
VFU Brno, FVHE
Ústav hygieny a technologie masa
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
E-mail: tesarovas@vfu.cz

Tremlová Bohuslava, Doc. MVDr., Ph.D.
Ústav hygieny a technologie potravin
Rostlinného původu
VFU Brno, Palackého tř. 1/3, 612 42
Brno
E-mail: tremlovab@vfu.cz

Třísková Dana, MVDr., Ing.
Odbor potravinářský, Ministerstvo
zemědělství, Těšnov 17, Praha 1.
E-mail:dana.triskova@mze.cz

Ulrichová Marie, MVDr.
Krajská hygienická stanice
Moravskoslezského kraje se sídlem
v Ostravě,
Na Bělidle 7, 702 00 Ostrava
E-mail: marie.ulrichova@khssova.cz

Zábrodská Blanka, Mgr., Ph.D.
VFU Brno,
FVHE, Ústav hygieny a technologie
mléka,
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
E-mail: H13015@vfu.cz

Zelený Jiří, Ing.
katedra hotelnictví, Vysoká škola
hotelová v Praze 8, spol. s r. o.
Svídnická 506, 181 00 Praha 8.
E-mail: zeleny@vsh.cz

ITALY

Gallottini Claudio, Ph.D.
DVM Euroservizi Impresa Srl, Str. Del
Cipresso
5/D – 06089 Torgiano (Pg), Italy
E-mail:claudio.gallottini@esinforma.it
www.euroservizimpresa.it.

RUSSIA

Belous Oksana, prof.
All-Russian Scientific and Research
Institute of Floriculture and Subtropical
Crops of the Russian Academy of
Agricultural Sciences,
Sochi, Russia
E-mail: oksana191962@mail.ru

Chernukha Irina Dr. Sci.
V.M. Gorbatov All-Russian Meat
Research Institute, Talalikhina str. 26,
109 316 Moscow
phone: +7(495)676-7211
E-mail: imcher@vniimp.ru

Manyukhin Yaroslav
V.M. Gorbatov All-Russian Meat
Research Institute, Talalikhina str. 26,
109 316 Moscow
phone: +7(495)676-9971
E-mail: man_yaroslav@mail.ru

SLOVAKIA

Baranová Mária, Doc., RNDr., Ph.D.
Ústav hygieny a technológie mlieka,
UVLF
Komenského 73, Košice 041 81
tel.: 421 915 984 583,
E-mail: baranova@uvm.sk

Belej Ľubomír, Ing., Ph.D.
Katedra hygieny a bezpečnosti potravín
Slovenská Poľnohospodárska Univerzita
Nitra, tel: + 421 641 4373
E-mail: lubomirbelej@azet.sk

Bobková Alica, Ing., PhD.
Katedra hygieny a bezpečnosti potravín
Fakulta biotechnológie a potravinárstva
Slovenská poľnohospodárska univerzita
v Nitre.
Email: alica.bobkova@uniag.sk

Dičáková Zuzana, RNDr., PhD.
Katedra hygieny a technológie potravín
Ústav hygieny a technológie mlieka
UVLF, Komenského 73, 041 81 Košice.
E-mail: zuzana.dicakova@uvlf.sk

Dudriková Eva, Doc. MVDr. Ph.D.
Ústav hygieny a technológie mlieka,
UVLF
Komenského 73, Košice 041 81
tel.: 00 421 903 177 159
E-mail: dudrikova@uvm.sk

Fašiangová Miroslava, Ing.
VFU Brno, Fakulta veterinárnej hygieny a
ekológie
Ústav hygieny a technológie masa
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno.
E-mail: fasiangovam@vfu.cz

Fikselová Martina, Doc. Ing. PhD.
Katedra hygieny a bezpečnosti potravín
Fakulta biotechnológie a potravinárstva
SPU v Nitre
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra.
E-mail: martina.fikselova@uniag.sk

Golian Jozef, prof., Ing., PhD.
Katedra hygieny a bezpečnosti potravín
Fakulta biotechnológie a potravinárstva
SPU Nitra
Tr. A Hlinku 2, 949 76 Nitra
E-mail: Jozef.golian.af@uniag.sk

Jevinová Pavlina, MVDr., PhD.
UVLF, Katedra hygieny a
technológie potravín,
Ústav hygieny a technológie mäsa
Komenského 73, 041 81 Košice
Slovenská republika.
E-mail: pavlina.jevinova@uvlf.sk

Koréneková Beáta, MVDr., PhD.
UVLF Košice, SR,
Katedra hygieny a technológie potravín,
Komenského 73,
041 81 Košice.
E-mail: Beata.Korenekova@uvlf.sk

Kožárová Ivona, doc. MVDr. PhD.
UVLF v Košiciach, Katedra hygieny a
technológie potravín
Komenského 73, 041 81 Košice.
E-mail: ivona.kozarova@uvlf.sk

Mačuhová Lucia, Ing. PhD.
Národné poľnohospodárske a
potravinárske centrum, Výskumný ústav
živočíšnej výroby Nitra, Hlohovecká 2,
951 41 Lužianky.
E-mail: macuhova@vuzv.sk

Maľová Jana, MVDr., PhD.
Ústav hygieny a technológie mlieka
Univerzita veterinárskeho lekárstva a
farmácie v Košiciach,
Komenského 73, 041 81 Košice
E-mail: jana.malova@uvlf.sk

Marcinčák Slavomír, MVDr., PhD.
Univerzita veterinárskeho lekárstva
a farmácie v Košiciach
Komenského 73, 04181 Košice
tel: +421 915984756
E-mail: marcincak@uvm.sk

Regecová Ivana, MVDr. PhD.,
UVLF v Košiciach
Katedra hygieny a technológie potravín
Ústav hygieny a technológie mäsa
Komenského 73, 041 81 Košice

Reitznerová Anna, MVDr.
Katedra hygieny a technológie potravín
Univerzita veterinárskeho lekárstva
a farmácie v Košiciach, Komenského 73,
041 81
E-mail:anna.reitznerova@student.uvlf.sk

Semjon Boris, MVDr.
Ústav hygieny a technológie mlieka
Univerzita veterinárskeho lekárstva
a farmácie v Košiciach, Komenského
73, 041 81 Košice, Slovenská republika
E-mail: boris.semjon@student.uvlf.sk

Strapáč Imrich, RNDr., Ph.D.
Univerzita veterinárskeho lekárstva
a farmácie v Košiciach
Komenského 73, 04181 Košice
e-mail:strapac@uvm.sk

Tančin Vladimír, prof. Ing., DrSc.,
NPPC Výskumný ústav živočíšnej
výroby
Nitra, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky
E-mail:vladimir.tancin@uniag.sk

Turek Peter, Prof., MVDr., PhD.
Katedra hygieny a technológie potravín
Univerzita veterinárskeho lekárstva
a farmácie v Košiciach
Komenského 73, 041 81 Košice
E-mail:turek@uvlf.sk

Vargová Mária, MVDr., PhD.
UVLF v Košiciach
Ústav hygieny zvierat a životného
prostredia, Komenského 73041 81
Košice,
E-mail: Maria.Vargova@uvlf.sk

Veszeličs Laktičová Katarína, MVDr.,
PhD.
UVLF v Košiciach
Ústav hygieny zvierat a životného
prostredia, Komenského 73, 041 81
Košice,
E-mail:
Katarina.VeszeličsLakticova@uvlf.sk

Vršková Martina, Ing., Ph.D.,
NPPC – VÚŽV Nitra,
Odbor systémov chovu, šľachtienia
a kvality
produktov, Hlohovecká 2, 951 46
Lužianky.
E-mail: vrskova@vuzv.sk

Výrostková Jana
UVLF v Košiciach,
Ústav hygieny a technológie mlieka
Komenského 73, 041 81, Košice,
E-mail: jana.vyrostkova@uvlf.sk

Zeleňáková Lucia, doc., Ing., PhD.
Katedra hygieny a bezpečnosti potravín
Fakulta biotechnológie a potravinárstva
Slovenská poľnohospodárska univerzita
v Nitre
Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra
E-mail: Lucia.Zelenakova@uniag.sk

Hygiena a technologie potravin – XLVI. Lenfeldovy a Höklovy dny

Vydala: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Náklad: 290 ks

Počet stran: 336

Vydání: první

Copyright © 2016 Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

ISBN: 978-80-7305-782-4