

3

2010



Vedecký časopis pre potravinárstvo

číslo

www.potravinarstvo.com

ročník 4
číslo 3
júl 2010

potravinárstvo 3 (4)
ISSN 1338-0230 (tlačená verzia)
ISSN 1337-0960 (elektronická verzia)

Potravinárstvo

Vedecký časopis pre potravinárstvo

Šéfredaktor:

Ing. Peter Zajác, PhD.
SPU Nitra

Zástupca šéf redaktora:

doc. Ing. Jozef Golian, Dr.,
SPU Nitra

Redaktori:

Ing. Radoslav Židek, PhD.,
Ing. Jozef Čapla,
Ing. Vladimír Vietoris, PhD.
SPU Nitra

Predseda redakčnej rady:

doc. Ing. Jozef Golian, Dr.,
SPU Nitra

Redakčná rada:

doc. MVDr. Bohuslava Tremlová, PhD.,
VFU Brno
prof. Ing. Stanislav Kráčmar, DrSc.,
UTB Zlín
prof. MVDr. Jozef Nagy, PhD.,
UVL Košice
doc. Ing. Jolana Karovičová, CSc.,
STU Bratislava
doc. Ing. Róbert Toman, Dr.,
SPU Nitra
prof. Dr. Teresa Fortuna, DSc.,
UA Krakow, Poľsko
prof. Tadeusz Trziszka, Ph.D., DSc.,
Wrocław, Poľsko
doc. Ing. Roman Labuda, PhD.,
Tuln, Rakúsko
Ing. Zuzana Bírošová, CSc.,
Ministerstvo pôdohospodárstva SR

Potravinárstvo

Scientific Journal for Food Industry

Editor:

Peter Zajác
SUA Nitra

Deputy of Editor:

Jozef Golian
SUA Nitra

Sub-Editor:

Radoslav Židek,
Jozef Čapla,
Vladimír Vietoris
SUA Nitra

Chairman, Editorial Board:

Jozef Golian,
SUA Nitra

Editorial Board:

Bohuslava Tremlová,
UVPS Brno, Czech Republic
Stanislav Kráčmar,
TBU Zlín, Czech Republic
Jozef Nagy,
UVM Košice, Slovakia
Jolana Karovičová,
SUT Bratislava, Slovakia
Róbert Toman,
SUA Nitra, Slovakia
Teresa Fortuna,
UA Krakow, Poland
Tadeusz Trziszka,
Wrocław, Poland
Roman Labuda,
Tuln, Austria
Zuzana Bírošová,
Ministry of Agriculture SR

• **Potravinárstvo**® • **Ročník:** 4, č. 3/2010 • Vedecký časopis pre potravinárstvo • Scientific Journal for Food Industry • **Vydavateľ:** Ing. Peter Zajác, HACCP Consulting, Slivková 12, 951 01 Nitrianske Hrnčiarovce. Vydavateľ úzko spolupracuje s Katedrou hygieny a bezpečnosti potravín, FBP, SPU v Nitre • **Nakladateľ:** Združenie HACCP Consulting, Slivková 12, 951 01 Nitrianske Hrnčiarovce • **Periodicita:** vychádza 4x do roka • **Internetová stránka časopisu:** www.potravinarstvo.com • **Adresa redakcie:** Slivková 12, 951 01 Nitrianske Hrnčiarovce • **E-mail:** info@potravinarstvo.com • **Tel.:** +421908164361, +421904138562 • **Jazyková úprava:** Publikované články neprešli jazykovou úpravou • **Grafická úprava:** Flame-studio Nitra • **Tlač:** SPU Nitra • **Cena čísla:** nepredajné • **Distribuuje:** Združenie HACCP Consulting • **Náklad:** 150 ks • **Miesto vydania:** Nitra • **Právne informácie a autorské práva:** Za obsah jednotlivých článkov zodpovedajú autori. Za obsah inzerátov zodpovedajú inzerenti • Časopis je indexovaný v databázach: UIUC OAI registry, OAIster, AGRIS FAO, Google Scholar a CrossRef.

Všetky práva vyhradené, © 2010 Potravinárstvo®
Evidenčné číslo Ministerstva kultúry SR: 3771/09
ISSN 1338-0230 (tlačaná verzia)
ISSN 1337-0960 (elektronická verzia)



Katedra hygieny a bezpečnosti
potravín

H A C C P
CONSULTING

METHODS FOR FISH SPECIES IDENTIFICATION IN FOOD PRODUCTS

Pavol Bajžík, Jozef Golian, Radoslav Židek, Jozef Čapla, Ľubomír Belej, Matúš Ondrejka, Ľubica Mrázová, Lenka Maršáľková

ABSTRACT

The need for identification of fishery products in food is currently ongoing issue for both consumers and producers of food. Consumer interest is driven in one the healthy diet, which prefers fish products, as an indispensable ingredient food and on the other hand, is a potential allergen causing health problems in humans allergic to fish protein. Allergy is a phenomenon that significantly affects human health, as well as overall life expectancy of an individual. The large number of fish species are known to trigger allergic reactions directly food intake or inhalation of fumes only, depending on the sensitivity organism. Large quantity of fish allergens are proteins from the stock protein to enzymes. Methods used for species identifications of fish in food products are PCR sequencing, multiplex PCR, PCR-RFLP, PCR-SSCP, RAPD, real-time PCR.

Keywords: PCR sequencing, multiplex PCR, PCR-RFLP, PCR-SSCP, RAPD, real-time PCR

ÚVOD

Identifikácia rybných druhov v potravinových produktoch je problematická, pretože morfológické znaky rýb sú čiastočne alebo kompletne stratené počas tepelnej úpravy. Je dôležité určiť druh ryby, pretože zvyšujúci sa medzinárodný obchod s morskými produktmi a nariadenia Európskej komisie 104/2000 požadujú, aby boli korektne a správne označené. V posledných rokoch bol z dôvodu zmeny správania spotrebiteľov zaznamenaný veľký nárast v konzumácii rýb a to hlavne zo zdravotných a nutričných dôvodov. Druhy rýb môžu byť identifikované erudovanými rybármi, veľkoobchodníkmi, majiteľmi reštaurácií a spotrebiteľmi pokiaľ je ryba v celku. Avšak, ak je ryba vo forme filiet identifikácia je ťažšia. Ďalšie komplikácie prichádzajú s úpravou rýb (mletie, obaľovanie, pečenie). Tu je riziko, že môže úmyselne alebo neúmyselne prichádzať k zamene menej hodnotných rýb za ryby s vyššou hodnotou (Mackie, 1996).

Európska komisia (EC, 1999) smernica číslo 104/2000 zo 17. decembra 1999 na spoločnej organizácii trhu pre rybie a vodohospodárske produkty špecifikovala, že tieto produkty nesmú byť predávané malospotrebiteľom, pokiaľ nebudú označené komerčným menom druhu, metódou spracovania a miestom výlovu. Táto smernica vyžaduje od všetkých členských štátov vytvorenie a publikovanie zoznamu všetkých druhov rýb na trhu, označených všeobecným aj odborným názvom. Preto bolo potrebné vyvinúť analytickú metódu pre identifikáciu druhov aby sa dalo vyhnúť zámernej aj neúmyselnej zamene rýb a kôrovcov a presadiť smernicu o označovaní (Mackie et al., 1999).

Pre rybie druhy bolo vyvinutých mnoho analytických techník, vykonávaných prostredníctvom proteínových analýz: elektroforetické ako aj izoelektrické techniky a SDS-PAGE (Ataman et al., 2006; Mackie et al., 2000), chromatografické techniky (Horstkotte a Rehbein, 2003; Knuutinen a Harjula, 1998) a imunologické techniky ako imunodifúzia a ELISA (Fernández et al., 2002; Ochiai, et al., 2001). Hoci mnohé z týchto metód sú považované v určitých prípadoch za vhodné, nie sú použiteľné pre rutinnú analýzu, pretože proteíny strácajú biologickú aktivitu ihneď po usmrtení ryby a ich prítomnosť a charakteristika závisí od typu bunky. Okrem toho je

väčšina z nich termolabilná. Preto sú pre identifikáciu tepelne spracovaných produktov z rybných druhov preferované DNA metódy viac ako proteínové (Lockley a Bardsley, 2000).

DNA orientované analýzy sú orientované hlavne na využitie PCR metód pre amplifikáciu špecifického fragmentu. Za účelom kopírovania špecifickej sekvencie je použitý oligonukleotidový primer ohraničujúci špecifický úsek DNA a umožňujúci syntézu miliónov kópií určitého regiónu DNA. Získaný amplikón je potom následne analyzovaný špeciálnymi postupmi.

Sekvenovanie použitím metódy PCR

Najpriamejší spôsob získavania informácií z PCR produktov je sekvenovanie. Takto získané informácie sa používajú na identifikáciu rôznych druhov rýb (Jérôme et al., 2003; Lin et al., 2001; Murgia et al., 2002). Smerovanie týchto prác sa zameriavalo na amplifikáciu mtDNA sekvencií, zvyčajne na oblasť cytochróm *b* génu. Sekvenovanie a fylogenetická analýza mtDNA je používaná v posledných rokoch na kontrolu nesprávne označených druhov (Marko et al., 2004). Pepe et al. (2005) identifikovali ryby čelade *Gadidae* a *Merlucciidae* v osemnástich rôzne spracovaných rybných produktoch, sekvenovaním PCR produktov zo zachovanej oblasti cyt *b* génu. Táto metóda umožnila identifikáciu rybných druhov vo všetkých vzorkách. Ryby v testovaných produktoch patriť do dvoch vyššie spomenutých čeladi s výnimkou jednej vzorky údenej baccaly, ktorá nebola zahrnutá do čelade *Gadidae* (Pepe et al., 2005). Taktiež fragmenty jadrových génov alfa-actínu, 5S rDNA a p-53, (ktorý okrem iného kóduje rastový hormón), boli sekvenované za účelom rozlíšenia rôznych rybných druhov (Canapa et al. 2000; Venkatesh a Brenner, 1997). Metóda sekvenovania je časovo aj technicky náročná, ale poskytuje relatívne veľké množstvo informácií s nutnosťou ich ďalšieho spracovania. Tieto údaje môžu byť použité v ďalšej PCR metóde akou je PCR-RFLP na ukončenie druhovej identifikácie (Ram et al. 1996; Sebastio et al., 2001).

Dostupnosť detailných sekvenčných informácií pre mnohé druhy a z toho vyplývajúca možnosť identifikácie fylogeneticky informatívneho jedno bázoového polymorfizmu umožnila navrhnutie druhovo špecifických primerov. Pri špecificky vhodných reakčných

podmienkach primer generuje produkt len v prítomnosti DNA z daného druhu. Kompletná sekvenčná informácia umožňuje tvorbu predpokladaného množstva produktu, takže identifikácia je potvrdená, keď je náležité množstvo amplikónu viditeľné na gély.

Druhovo špecifické PCR primery

Neselektívny primer je založený na sekvecii, ktorá je spoločná pre všetky analyzované druhy v systéme, je to presné miesto na géne, ktoré môže byť použité na „prikázanie“ množstva amplikónu ktoré má byť vygenerované. Využitie tejto metódy pre identifikáciu rybích druhov popísal (Asensio et al., 2001). Multiplex-PCR má potenciál priniesť úspory času a úsilia v laboratóriu, bez kompromisov vo funkčnosti. Naviac je možná aj kvalitatívna detekcia prímiesí. Je nutné poznať sekvenčné miesta, aby bolo možné navrhnúť primery a zahrnúť vhodnú kontrolu na zamedzenie možnosti, získania falošného pozitívneho alebo negatívneho výsledku.

Metóda PCR-RFLP

V PCR reakcii bez druhovo-špecifických primerov je potrebná niektorá z ďalších sekundárnych rozlišovacích techník ako napríklad RFLP. RFLP analýza PCR produktov je značne využívaná pre rozlišovanie druhov a jednoduchý primer s vhodným výberom restriktčných enzýmov produkuje fragmenty, ktoré môžu byť použité na identifikáciu viacerých druhov súčasne.

Pri hľadaní rýchlych a jednoduchých genetických techník bola PCR-RFLP metóda uznaná za vhodnú na identifikáciu rybích druhov a následne so sebou priniesla finančné úspory a zjednodušenie práce v porovnaní s technikou sekvenovania DNA (Meyer et al., 1995). Táto metóda bola použitá na druhovú identifikáciu makrel (Arahishi, 2005), komerčne konzervovaných tuniakov (Lin a Hwang, 2007), úhorovitých druhov (Rehbein et al., 2002) a na identifikáciu ďalších druhov rýb v rôzne spracovaných rybích produktoch (Hsieh et al., 2007). Rybie produkty ako napr. údený tuniak, alebo konzervované ryby ochutené koreninami a omáčkami a samotná prítomnosť týchto látok používaných v potravinárskom priemysle degraduje DNA a tým inhibuje PCR reakciu (Ram et al., 1996). Aby bolo možné inhibičnému efektu zabrániť, amplifikácia DNA fragmentov je vykonávaná prostredníctvom „nested“ (vnorených) primerov PCR. Metóda bola použitá pre identifikáciu rybích druhov, pretože umožňuje amplifikáciu fragmentov s nižšou koncentráciou DNA a napriek tomu zostáva efektívna a citlivá (Pardo a Pérez-Villareal, 2004).

Metóda PCR-SSCP

SSCP je diagnostická metóda analýzy konformačného polymorfizmu jednoreťazového vlákna a využíva tvorbu rozdielnej sekvenčne špecifickej intramolekulárnej štruktúry ssDNA alebo ssRNA ovplyvňujúca mobilitu jednoreťazcov v nedenaturovaných elektroforetických podmienkach. Analýza SSCP je vhodná pre sledovanie zmien (mutácií) krátkych úsekov DNA ľubovoľného pôvodu s veľkosťou 150 až 400 bp pripravených PCR reakciou (PCRSSCP) (Šmarda et al. 2005).

PCR-SSCP sa osvedčila pre identifikáciu rybích produktov ako losos, úhor, jeseter, pstruhov (Rehbein et

al., 1997) a konzervované tuniakovité druhy (Rehbein et al., 1999). Avšak predtým ako sa vyberie špecifický fragment DNA pre amplifikáciu a SSCP analýzu, do úvahy musia byť vzaté ďalšie faktory. Krátky amplikón (menej ako 300 bp) má napríklad výhodu, že intrašpecifická variabilita DNA molekuly je nižšia (Rehbein et al., 1997).

Výhody PCR-SSCP metódy oproti ostatným PCR metódam sú: 1. už aj jedno bázoová zmena v sekvencii môže byť detekovateľná prostredníctvom natívneho elektroforetického gélu (Oohara, 1997), čo umožňuje detekciu aj vysoko príbuzných druhov. 2. umožňuje analýzu aj degradovanej DNA, pretože je možné analyzovať aj krátke fragmenty DNA (Rehbein et al., 1999) 3. táto metóda je vysoko citlivá na detekciu bázoových zmien a intrašpecifická variabilita sa detekuje ľahšie ako metódami RFLP a RAPD (Bardakci a Skibinski, 1994). Napriek spomenutým výhodám, je dôležité vziať do úvahy, že SSCP analýza je ovplyvnená špecifickými podmienkami ako teplota, koncentrácia glycerolu, koncentrácia gélu (akrylamid/bis-akrylamid), koncentrácia tlmivých roztokov a zloženie komponentov v gélovej matrici (Fujita a Silver, 1994).

Napríklad primer získaný z mtDNA tuniaka, ktorý bol naamplifikovaný PCR reakciou z mitochondriálneho cyt *b* génu, bol použitý na identifikáciu aj iných rýb a druhov zvierat. Jednoreťazová DNA (ssDNA), ktorá vykazovala dve až štyri silné frakcie, bola získaná z molvy modrej, kapra, tresky jednoškvrnnej, makrely, žraloka makrelovitého, tresky tmavej, tresky polárnej a sumca, avšak tieto frakcie boli iné ako frakcie získané zo vzoriek tuniaka. Ďalšie rybie druhy vykazovali slabé (treska) alebo žiadne ssDNA frakcie (atlantický losos, platesa, sled', šproty, pstruhy). Výsledkom vzoriek iných živočíchov ako rýb, boli silné frakcie ssDNA, ktorá sa líšili od frakcie vo vzorke tuniaka a zároveň boli odlišné aj navzájom (králik európsky, zajac, kôň, jeleň červený, hus, morka), iné vykazovali frakcie odlišné od tuniaka, ale nie odlišné medzi sebou (domáce kozy/ovce, domáce prasatá/ divé svine). Vzrastajúca rôznorodosť medzi PCR metódami spôsobila markantný rozdiel medzi silnými a slabými ssDNA väzbami (Weder et al., 2001).

Metóda Real-time PCR

Kvantitatívna real-time PCR (qPCR) metóda je založená na využití TaqMan fluorescenčnej sondy. Sonda označená žiariacou a zhasiacou farbičkou sa naväzuje na DNA ohraničenú primermi. Počas PCR amplifikácie 5'- 3' exonukleázová aktivita *Taq* DNA polymerázy rozštiepi próbu hybridizovanú na templáte (Holland et al., 1991). Štiepenie próby vyúsťuje do nárastu fluorescence, proporcionálne k množstvu DNA amplifikovanej na templáte. Využitie fluorescence pre detekčné účely eliminuje potrebu pre ďalšie kroky po PCR reakcii. V porovnaní s konvenčnou kvalitatívnou PCR, táto metóda má niekoľko výhod. Fluorescencia môže byť meraná počas reakcie PCR a poskytuje analýzu v reálnom čase a qPCR tiež ponúka nižší potenciál pre kontamináciu PCR produktov. Presnosť a citlivosť tejto metódy, kombinovaná s vysokou rýchlosťou, spoľahlivosťou a možnosťou automatizácie (Heid et al. 1996), prispieva k vhodnosti tejto metódy na kvantifikáciu rýb a rybích produktov, napríklad využitie TaqMan sondy na identifikáciu a kvantifikáciu tresky. Trotta et al., (2005) využili real-time

PCR pre identifikáciu rybných filiet kanic (druh západoindickéj a austrálskej ryby) a jej príbuzných druhov. **Hird et al., (2005)** túto metódu využili na identifikáciu treskovitých rýb. Prítomnosť tejto ryby s koncentráciou viac ako 7 % môže byť detegovaná v surovom, alebo mierne tepelne upravenom produkte. V ďalšej práci **López a Pardo, (2005)** aplikoval TaqMan sondu v real-time PCR metóde pre identifikáciu a kvantifikáciu tuniaka. Presnosť tejto metódy môže byť ovplyvnená mnohými faktormi ako napríklad množstvo DNA vo vzorke, ktoré môže byť variabilne závislé na spôsobe spracovania produktu.

Aj na identifikáciu iných živočíšnych druhov v spracovaných mäsových produktoch je metóda real-time PCR vhodná, pretože aj najmenší fragment DNA vytvorený počas tepelného spracovania mäsa môže byť amplifikovaný a identifikovaný. V testovaných zmesiach obsahujúcich hovädzie, bravčové, konské, baranie, kuracie a morčacie mäso, bolo možné identifikovať tieto druhy s presnosťou 0,05%. Pri optimalizácii metódy sa zvýšila presnosť identifikácie druhov až na 0,01%. Krížová reaktivita medzi druhmi nebola nájdená s výnimkou čistého konského mäsa (250 ng DNA) v morčacom mäse. Krížová reaktivita jelenieho mäsa, ikier, pštrosa, kengura, kozy, domácich a divých kačiek, tučniakov, prepelíc a bažantov bola tiež zisťovaná a bolo dokázané, že množstvo väčšie ako 250 ng DNA týchto druhov v reakčnej zmesi dávalo falošný pozitívny signál. Bolo vyhodnotených viac ako 150 vzoriek mäsa pri použití DNA hybridizácie a real-time PCR. Porovnávanie výsledkov ukázalo, že metóda real-time PCR je účinnejšia ako DNA hybridizácia (**Jonker et al., 2008**). Okrem toho kvôli nákladom je táto metóda zaujímavá len pri produktoch s vyššou trhovou hodnotou. Keďže táto metóda má enormné využitie a veľké možnosti aplikácie bude v dohľadnej dobe implementovaná vo väčšine laboratórií.

Cieľom ďalšieho tímu bolo vyvinúť konvenčnú PCR metódu pre rozlišovanie nasledujúcich treskovitých druhov v rybných produktoch: treska aljašská (*Theragra chalcogramma*), treska atlantická (*Gadus morhua*), treska belasá (*Micromesistius poutassou*), hejk spp. (*Merluccius spp.*), treska tmavá (*Pollachius virens*). Druhovo-sPECIFICké primerové páry pre určenie treskovitých druhov boli založené na čiastočnom úseku oblasti pantophysin I (PanI) genómovej sekvencii. Sekvenčná identifikácia bola potvrdená klonovaním a sekvenovaním PCR produktov týchto druhov. Pre súbežnú detekciu tresky aljašskej, tresky belasej a hejka spp. bola skonštruovaná kvadruplexná PCR metóda. Ďalšie treskovité druhy boli detegované v oddelených PCR reakciách. Táto metóda predstavuje alternatívny prístup v použití genómovej DNA pre identifikáciu rybných druhov. Je rýchla, jednoduchá a spoľahlivá bez potreby ďalších potvrdzujúcich metód. Okrem toho je možné identifikovať súčasne viac druhov (**Hubalková et al., 2008**).

Iná štúdia DNA mikročipov bola vyvinutá na identifikáciu rybných druhov z Európskych morí na základe mitochondriálnej 16S rDNA sekvencii. Bolo vybraných jedenásť dôležitých komerčne využívaných rybných druhov pre prvý prototyp tejto metódy. Oligonukleotidová farbička bola navrhnutá na základe 16S rDNA sekvencii získaných z 230 rýb z 27 druhov. A navyše viac ako 1200 sekvencií z 380 druhov slúžiacich ako sekvenčný základ na testovanie prób bolo použitých na testovanie *in silico*.

„Single target“ hybridizácia s Cy5 značkou a PCR amplifikácia 16S rDNA fragmentov z každého z 11 druhov rýb na mikročipoch obsahujúcich kompletnú sadu prób, potvrdila vhodnosť tejto metódy na druhovú identifikáciu rýb. Získaný pozitívny (pravdivý) fluorescenčný signál bol rádovo o jeden stupeň vyšší ako pozitívny (falošný) signál krížovej hybridizácie. Výsledkom „single nontarget“ hybridizácie, signály v približne 27% testovaných prípadov boli rádovo o jeden stupeň nižšie ako pozitívne (pravdivé) signály. Táto štúdia hovorí, že 16S rDNA gén je vhodný na zostavenie oligonukleotidových prób, ktoré môžu byť použité na diferenciáciu 11 druhov rýb. Tieto dáta sú spoľahlivým základom na druhý krok pre vytvorenie „Fish Chip“ pre približne 50 druhov ďalších rýb, ktoré sú dôležité pre morské prostredie, jeho výskum ako aj kontrolu rybných produktov (**Kochzius et al., 2008**).

Metóda RAPD

Metóda s názvom náhodne amplifikovaná polymorfická DNA, alebo náhodná PCR (AP-PCR) je jednoduchá technika pre fingerprinting DNA, ktorá je vhodná pre rýchlu porovnávaciu typizáciu DNA. Používajú sa v nej krátke obvykle 8 – 12 nukleotidové primery ľubovľnej sekvencie s neznámou homológiou k cieľovej sekvencii DNA a s málo prísnyimi podmienkami pre pripojenie primerov (**Šmarda et al. 2005**). Táto metóda bola použitá pre rozlišovanie populácie rýb druhu Hilsa shad (významná tropická ryba z čeľade *Clupeidae* rodu *Tenualosa*) (**Dahle et al., 1997**), pre rybu tilapia a jej poddruhy (**Bardakci a Skibinski, 1994**), pre mrenovité druhy rýb (**Cellejas a Ochando, 2001**), pre skupinu nilských zubáčov (**Asensio et al., 2002**) a salmonidy (**Jin et al., 2006**).

V porovnaní s inými identifikačnými DNA metódami ako RFLP, SSCP, ktoré si vyžadujú relatívne veľké množstvo čistej DNA, sú zacielené na špecifické miesto na DNA sekvencii a sú práce a časovo náročné v porovnaní s metódou RAPD a tieto dôvody ich robia nevhodnými na skúmanie veľkých druhových línií (**Partis a Wells, 1996**). Nevýhodou RAPD metódy je, že nie je vhodná na identifikáciu produktov, ktoré obsahujú zmes viacerých druhov rýb a nie je možné ju použiť pri viacnásobne degradovanom materiáli ako napríklad autoklávané vzorky (**Martínez et al., 1998**).

ZÁVER

Záverom tohto príspevku bolo poskytnúť rozsiahly prehľad metód založených na PCR autentifikácii rýb a rybných produktov. V článku sú popísané rôzne techniky ako PCR sekvenovanie, multiplex PCR, PCR-RFLP, PCR-SSCP, RAPD, real-time PCR. Tieto metódy umožnili spotrebiteľom ochranu pred falšovaním v potravinárskom priemysle.

LITERATÚRA

- ARAHISHI, F. 2005. PCR-RFLP analysis of nuclear nontranscribed spacer for mackerel species identification. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, 2005, p. 508- 511.
- ASENSIO, L., GONZÁLEZ, I., FERNÁNDEZ, A., CÉSPEDÉ, A. RODRÍGUEZ, M. A., HERNÁNDEZ, P. E. 2001. Identification of Nile perch (*Lates niloticus*), grouper (*Epinephelus guaza*), and wreck fish (*Polyprión americanus*)

- fillets by PCR amplification of the 5S rDNA gene. In *Journal of the AOAC International*, vol. 84, 2001, p. 777-781.
- ATAMAN, C., CELIK, U., REHBEIN, H. 2006. Identification of some Aegean fish species by native isoelectric focusing. In *European Food Research and Technology*, vol. 222, 2006, p. 99-104.
- BARDAKCI, F., SKIBINSKI, D. O. F. 1994. Application of the RAPD technique in tilapia fish: species and subspecies identification. In *Heredity*, vol. 73, 1994, p. 117-123.
- CANAPA, A., BARUCCA, M., MARINEL, L. A., OLMO, E. 2000. Molecular data from the 16S rRNA gene for the phylogeny of Pectinidae (Mollusca: Bivalvia). In *Journal of Molecular Evolution*, vol. 50, 2000, p. 93-97.
- CALLEJAS, C., OCHANDO, M. D. 2001. Molecular identification (RAPD) of the eight species of the genus *Barbus* (Cyprinidae) in the Iberian Peninsula. In *Journal of Fish Biology*, vol. 59, 2001, p. 1589-1599.
- DAHLE, G., RAHMAN, M., ERIKSEN, A. G. 1997. RAPD fingerprinting used for discriminating among three populations of Hilsa shad (*Tenualosa ilisha*). In *Fisheries Science*, vol. 32, 1997, p. 263-269.
- FERNÁNDEZ, A., GARCÍA, T., ASENSIO, L., RODRÍGUEZ, M. A., GONZÁLEZ, I., LOBO, E. 2002. Identification of the clam species *Ruditapes decussatus* (grooved carpet shell), *Venerupis romboidea* (yellow carpet shell) and *Venerupis pullastra* (pullet carpet shell) by ELISA. In *Food and Agricultural Immunology*, vol. 14, 2002, p. 65-71.
- FUJITA, K., SILVER, J. 1994. Single-strand conformational polymorphism. In *PCR Methods and Applications*, vol. 4, 1994, p. 137-139.
- HEID, C. A., STEVENS, J., LIVAK, K. J., WILLIAMS, P. M. 1996. Real-time quantitative PCR. In *Genome Research*, vol. 6, 1996, p. 986-994.
- HIRD, H. J., HOLD, G. L., CHRISHOLM, J., REECE, P., RUSSELL, V. J., BROWN, J. 2005. Development of a method for the quantification of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) in commercial products using real-time PCR. In *European Food Research and Technology*, vol. 220, 2005, p. 633-637.
- HOLLAND, P. M., ABRAMSON, R. D., WATSON, R., GELFAND, D. H. 1991. Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5'-3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase. In *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 88, 1991, p. 7276-7280.
- HORSTKOTTE, B., REHBEIN, H. 2003. Fish species identification by means of restriction fragment length polymorphism and high performance liquid chromatography. In *Journal of Food Science*, vol. 68, 2003, p. 2658-2666.
- HSIEH, H. S., CHAI, T., HWANG, D. F. 2007. Using the PCReRFLP method to identify the species of different processed products of billfish meats. In *Food Control*, vol. 18, 2007, p. 369-374.
- HUBALKOVÁ, Z., KRÁLIK, P., KASALOVÁ, J., RENČOVÁ, E. 2008. Identification of gadoid species in fish meat by polymerase chain reaction (PCR) on genomic DNA. In *J. Agric. Food Chem.*, vol. 56, 2008, no. 10, p. 3454-9.
- JÉRÔME, M., LEMAIRE, C., BAUTISTA, J. M., FLEURENCE, J., ETIENNE, M. 2003. Molecular phylogeny and species identification of sardines. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 51, 2003, p. 43-50.
- JIN, L. G., CHO, J. G., SEONG, K. B., PARK, J. Y., KONG, I. S., HONG, Y. K. 2006. 18 rRNA gene sequences and random amplified polymorphic DNA used in discriminating Manchurian trout from other freshwater salmonids. In *Fisheries Science*, vol. 72, 2006, p. 903-905.
- JONKER, K. M., TILBURG, J. J., HAGELE, G. H., DE BOER, E. 2008. Species identification in meat products using real-time PCR. In *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.*, vol. 25, 2008, no. 5, p. 527-533.
- KNUUTINEN, J., HARJULA, P. 1998. Identification of fish species by reverse-phase high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection. In *Journal of Chromatography B*, vol. 705, 1998, p. 11-21.
- KOCHZIUS M., NÖLTE M., WEBER H., SILKENBEUMER N., HJÖRLEIFSDOTTIR S., HREGGVIDSSON G.O., MARTEINSSON V., KAPPEL K., PLANES S., TINTI F., MAGOULAS A., GARCIA VAZQUEZ E., TURAN C., HERVET C., CAMPO FALGUERAS D., ANTONIOU A., LANDI M., BLOHM D. 2008. DNA microarrays for identifying fishes. In *Mar Biotechnol* (NY), vol. 10, 2008, no. 2, p. 207-17.
- LIN, W. F., HWANG, D. F. 2007. Application of PCR-RFLP analysis on species identification of canned tuna. In *Food Control*, vol. 18, 2007, p. 1050-1057.
- LIN, Y. S., POH, Y. P., TZENG, C. S. 2001. A phylogeny of freshwater eels inferred from mitochondrial genes. In *Molecular Phylogenetics and Evolution*, vol. 20, 2001, p. 252-261.
- LOCKLEY, A. K., BARDSLEY, R. G. 2000. DNA-based methods for food authentication. In *Trends in Food Science and Technology*, vol. 11, 2000, p. 67-77.
- LÓPEZ, I., PARDO, M. A. 2005. Application of relative quantification Taqman real-time polymerase chain reaction technology for the identification and quantification of *Thunnus alalunga* and *Thunnus albacares*. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, 2005, p. 4554-4560.
- MACKIE, I., CRAIG, A., ETIENNE, M., JEROME, M., FLEURENCE, J., JESSEN, F. 2000. Species identification of smoked and gravid fish products by sodium dodecylsulphate polyacrylamide gel electrophoresis, urea isoelectric focusing and native isoelectric focusing: a collaborative study. In *Food Chemistry*, vol. 71, 2000, p. 1-7.
- MACKIE, I. M., PRYDE, S. E., GONZALES-SOTELO, C., MEDINA, I., PÉREZMARTÍN, R., QUINTEIRO, J. 1999. Challenges in the identification of species of canned fish. In *Trends in Food Science and Technology*, 1999, p. 9-14.
- MACKIE, I. M. 1996. *Authenticity of fish*. P. R. Ashurt, M. J. Dennis (Eds.), In *Food authentication*, London: Blackie Academic and Professional, 1996, p. 140-170.
- MARKO, P. B., LEE, S. C., RIC, A. M., GRAMLING, J. M., FITZHENRY, T. M., MCAALISTER, J. S. 2004. Mislabelling of a depleted reef fish. In *Nature*, vol. 430, 2004, p. 309-310.
- MARTÍNEZ, I., MALMHEDEN YMAN, I. 1998. Species identification in meat products by RAPD analysis. In *Food Research International*, vol. 31, 1998, p. 459-466.
- MEYER, R., HOFELIN, C., LUTHY, J., CANDRIAN, U. 1995. Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis: a simple method for species identification in food. In *Journal of the AOAC International*, vol. 78, 1995, p. 1542-1551.
- MURGIA, R., TOLA, G., ARCHER, S. N., VALLERGA, S., HIRANO, J. 2002. Genetic identification of grey mullet species (*Mugilidae*) by analysis of mitochondrial DNA sequence: application to identify the origin of processed ovary products (*Bottarga*). In *Marine Biotechnology*, vol. 4, 2002, p. 119-126.
- OCHIAI, Y., OCHIAI, L., HASHIMOTO, K., WATABE, S. 2001. Quantitative estimation of dark muscle content in the mackerel meat paste and its products using antisera against myosin light chains. In *Journal of Food Science*, vol. 66, 2001, p. 1301-1305.
- OOHARA, I. 1997. Detection of single strand conformation polymorphisms (SSCPs) on mitochondrial DNA fragments between two domesticated strains of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. In *Fisheries Science*, vol. 63, 1997, p. 151-152.
- PARDO, M. A., PÉREZ-VILLAREAL, B. 2004. Identification of commercial canned tuna species by restriction site analysis of mitochondrial DNA products obtained by nested primer PCR. In *Food Chemistry*, vol. 86, 2004, p. 143-150.
- PARTIS, L., WELLS, R. J. 1996. Identification of fish species using random amplified polymorphic DNA (RAPD). In *Molecular and Cellular Probes*, vol. 10, 1996, p. 435-441.

PEPE, T., TROTTA, M., DIMARCO, I., CENNAMO, P., ANASTASIO, A., CORTESI, M. L. 2005. Mitochondrial cytochrom b DNA sequence variations: an approach to fish species identification in processed fish products. In *Journal of Food Protection*, vol. 68, 2005, p. 421-425.

RAM, J. L., RAM, M. L., BAIDOUN, F. F. 1996. Authentication of canned tuna and bonito sequence and restriction site analysis of polymerase chain reaction products of mitochondrial DNA. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 44, 1996, p. 2460-2467.

REHBEIN, H., SOTELO, C. G., PÉREZ-MARTÍN, R. I. CHAPELA-GARRIDO, M. J., HOLD, G. L., RUSSELL V. J. 2002. Differentiation of raw or processed eel by PCR-based techniques: restriction fragment length polymorphism analysis (RFLP) and single strand conformation polymorphism analysis (SSCP). In *European Food Research and Technology*, vol. 214, 2002, p. 171-177.

REHBEIN, H., KRESS, G., SCHMIDT, T. 1997. Application of PCR-SSCP to species identification of fishery products. In *Journal of Science of Food and Agriculture*, vol. 74, 1997, p. 35-41.

Kontaktná adresa:

Ing. Pavol Bajzík, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: bajzik2@gmail.com

doc. Ing. Jozef Golian, Dr. Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: Jozef.Golian.AF@uniag.sk

Ing. Radoslav Židek, PhD. Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: radoslav.zidek@seznam.cz

Ing. Jozef Čapla, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: capla@centrum.sk

REHBEIN, H., MACKIE, I. M., PRYDE, S., GONZÁLES-SOTELO, C., MEDINA, I., PÉREZ-MARTÍN, R. 1999. Fish species identification in canned tuna by PCR-SSCP: validation by a collaborative study and investigation of intra-species variability of the DNA patterns. In *Food Chemistry*, vol. 64, 1999, p. 263-268.

SEBASTIO, P., ZANELLI, P., NERI-TAURO, M. 2001. Identification of anchovy (*Engraulis encrasicolus* L.) and gilt sardine (*Sardinella aurita*) by polymerase chain reaction, sequence of their mitochondrial cytochrome b gene, and restriction analysis of polymerase chain reaction products in semipreserves. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 49, 2001, p. 1194-1199.

ŠMARDA, J., DOŠKAR, J., PANTUČE, R., RUŽIČKOVÁ, V., KOPÍTKOVÁ, J. 2005. Metody molekulární biologie, 1.vyd. Masarykova univerzita v Brně, 2005, ISBN 80-210-3841-1.

VENKATESH, B., BRENNER, S. 1997. Genomic structure and sequence of the pufferfish (*Fugu rubripes*) growth hormone-encoding gene, a comparative analysis of teleost growth hormone gene. In *Gene*, vol. 187, 1997, p. 211-215.

WEDER, J. K. P., REHBEIN, H., KAISER, K. P. 2001. On the specificity of tunadirected primers in PCR-SSCP analysis of fish and meat. In *Eur Food Res Technol.*, vol. 213, 2001, p. 139-144.

Ing. Ľubomír Belej, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: lubomirbelej@azet.sk

Ing. Matúš Ondrejka, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: matus.ondrejka@uniag.sk

Ing. Ľubica Mrázová, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: lubica.mrazova@uniag.sk

Ing. Lenka Maršáľková, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: marsalkova@gmail.com

ESTIMATION OF THE BURDEN OF PESTICIDE RESIDUES IN SLOVAK POPULATION

Zuzana Grancová Bielková, Jozef Sokol

ABSTRACT

Pesticides used in the agriculture have to be applied according to the requirements of good agricultural practice and appropriate law. Pesticides leave detectable residues in agricultural crops, raw materials and ecosystem components. Pesticides reach the human population through the food chain. Information on the type and concentration of pesticide residues in food is in Slovakia collected through the monitoring programs. Health risks associated with pesticides contaminants in human nutrition are very important and are recently studied by several expert groups. Prerequisite programs are necessary to protect public health. Risk analysis and monitoring of the population burden by pesticide contaminants have to be performed in expert level. The general strategy for assessment of toxicity of pesticides is listed by the World health Organisation. Scientific risk assessment is the basis for taking action and making the legislation at national and European community level.

Keywords: pesticide, pesticide residue, plant protection product, risk assessment

ÚVOD

Pesticídy, ako chemické látky, sa do potravín a prostredia dostávajú zámernou činnosťou človeka. Ich rezíduami však môžu byť zasiahnuté aj tzv. necieľové skupiny organizmov, vrátane ľudí (Culliney et al., 1992).

Výživa človeka prostredníctvom potravín predstavuje z hľadiska zdravotných rizík veľmi významný faktor, ktorý je v poslednej dobe pozorne študovaný odborníkmi. Nevyhnutnou podmienkou v záujme ochrany zdravia obyvateľstva je analýza rizík na základe monitorovania záťaže obyvateľstva kontaminantmi zo stravy (Szokolay a Trusková, 1995).

Človek konzumuje každý deň tisíce rôznych chemických látok z potravín. Väčšina z týchto látok má prírodný charakter, niektoré sú v potravinách prítomné v dôsledku znečistenia životného prostredia (primárne kontaminanty), niektoré vznikajú v procese spracovania prvotných surovín (sekundárne kontaminanty), iné sú úmyselné pridávané (aditívne látky), alebo používané vo výrobe (veterinárne liečivá a pesticídy) (Šalgovičová, 2008).

FAO a Codex Alimentarius definuje pesticídy ako každú látku, ktorá sa zámernie používa na prevenciu, ničenie, lákanie, odpudzovanie či reguláciu škodcov vrátane nežiaducich druhov rastlín alebo živočíchov pri produkcii, skladovaní, transporte, distribúcii a spracovaní potravín,

poľnohospodárskych komodít alebo živočíšnych krmív, prípadne môžu byť určené pre zvieratá na ničenie ektoparazitov. Výraz zahŕňa látky, ktoré sa zámerné používajú ako rastové regulátory rastlín, defolianty, vysušacie látky, látky na preriedenie plodov, alebo inhibítory klíčenia a látky aplikované na predzberovú alebo pozberovú ochranu úrody počas skladovania a prepravy. Rezíduum pesticídu je každá konkrétna látka v potravine, poľnohospodárskej komodite alebo krmive pre zvieratá, ktorá je dôsledkom používania pesticídu. Výraz zahŕňa všetky formy a zložky pesticídu, ktoré sú významné z toxikologického hľadiska, napr. konverzné produkty, metabolity, reakčné produkty a nečistoty.

Nariadenie Európskeho Parlamentu a Rady č. 396/2005 definuje „maximálnu hladinu reziduí“ (MRL) ako právne povolenú hornú hranicu koncentrácie reziduí pesticídov vyjadrenú v mg.kg^{-1} v alebo na potravinách alebo krmivách stanovenú v súlade s týmto nariadením. MRL by sa mali stanoviť pre každý pesticíd na najnižšej úrovni, ktorú je možné dosiahnuť v súlade so správnou poľnohospodárskou praxou s cieľom chrániť zraniteľné skupiny obyvateľstva ako deti a nenarodené deti (Regulation EC No. 396, 2005).

MATERIÁL A METÓDY

Hodnotenie rizík reziduí pesticídov

Hodnotenie zdravotného rizika predstavuje metódu, pomocou ktorou sa za určitých definovaných podmienok stanovuje kvantitatívna a kvalitatívna miera ohrozenia zdravia človeka vybranými rizikovými faktormi, pričom sú brané do úvahy potenciálne nepriaznivé účinky na ľudskú populáciu. Hodnotenie expozície, ako časť hodnotenia zdravotného rizika je definované ako kvantitatívne a/alebo kvalitatívne hodnotenie pravdepodobného príjmu biologických, fyzikálnych alebo chemických látok cez potravu, ako aj z ostatných zdrojov.

Expozícia je jav, pri ktorom dochádza na hranici medzi živým organizmom a prostredím ku kontaktu so špecifickou koncentráciou látky za určitú dobu. Pokiaľ je

predmetom pôsobenia chemickej látky človek, hovoríme o expozícii a jeho možnom zdravotnom riziku.

Riziko vyjadruje pravdepodobnosť, akou sa pri definovanej expozícii organizmu chemickou látkou prejaví poškodenie organizmu (toxická) (Šalgovičová, 2008).

K odhadu príjmu chemikálií v strave je potrebné zohľadniť štruktúru spotreby potravín, stravovacie zvyklosti obyvateľov a potenciálne rozdiely pre jednotlivé skupiny obyvateľov. Základom pre odhad zdravotného rizika sú dve neoddeliteľné zložky hodnotenia expozície: hodnotenie priemernej dostupnosti potravín v populácii (eventuálne doporučené dávky potravín pre definované populačné skupiny) a hodnotenie priemernej koncentrácie sledovaných chemických látok v potravinách.

Limitná expozičná hodnota je expozičná dávka, ktorá pri každodennom príjme po dobu celého predpokladaného

života človeka nevedie k štatisticky preukázanému zvýšeniu rizika poškodenia zdravia. Obvykle je udávaná v mg/kg^{-1} telesnej hmotnosti osoby/deň. Limitné expozičné hodnoty sú definované komisiami FAO/WHO ako tzv. ADI (acceptable daily intake mg.kg^{-1} body weight day⁻¹).

Odhad rizika je uskutočnený na základe výpočtu možného príjmu kontaminantov z potravín za predpokladu, že kontaminanty sú prítomné v potravine v najvyšších prípustných množstvách (t.j. dosahujú 100 % MRL). V takomto prípade je odhad príjmu nadhodnotený. Ďalší odhad rizika bol modelovaný za predpokladu, že obsahy kontaminantov v potravinách budú dosahovať 25 % a 50 % povolených hygienických limitov stanovených legislatívou. Hodnoty boli porovnané s hodnotami ADI, riziko vzniká, keď vypočítaný možný príjem presahuje ADI. Hodnota ADI je najvyššie množstvo cudzorodej látky, ktoré môže človek prijať každodenne v priebehu celého života bez preukázateľného zdravotného rizika.

Údaje o spotrebe potravín sú získavané Štatistickým úradom SR. Príjem potravín je vyjadrený v gramoch na osobu a deň.

Toxikologické hodnotenie rezíduí pesticídov

Cieľom toxikologických štúdií je určiť charakter a rozsah toxických účinkov spôsobených u experimentálnych organizmov a určenie úrovne expozície, pri ktorej nie je

pozorovaný nepriaznivý účinok (NOAEL). Pre charakterizáciu celého spektra možných účinkov sú vykonávané štúdie krátkodobé (akútne) a dlhodobé (chronické), pričom k expozícii laboratórnych zvierat dochádza za podmienok rôznych dávkovacích režimov.

Prijateľná úroveň dlhodobej expozície človeka (označovaná ako prijateľný denný príjem (ADI) sa určuje na základe NOAEL s využitím bezpečnostného faktoru (jeho typická hodnota je hodnota 100) podľa vzťahu $\text{ADI} = \text{NOAEL}/100$. ADI sa využíva teda k charakterizácii chronického rizika a vyjadruje sa v mg daného pesticídu na kg telesnej hmotnosti človeka a deň.

Pri hodnotení akútneho rizika sa využíva pojem akútna referenčná dávka (ARfD). Jej hodnota sa odvodzuje od NOAEL stanovených v rámci krátkodobých štúdií pre najcitlivejšie skupiny testovaných organizmov.

Všeobecnú stratégiu hodnotenia toxicity pesticídov uvádza Svetová zdravotnícka organizácia (WHO). Metodika realizácie a vyhodnocovania testov karcinogenity, reprodukčných porúch, neurotoxicity, genotoxicity, imunotoxicity a ďalších toxických efektov je priebežne aktualizovaná. Najnovšie informácie o toxikologickom hodnotení jednotlivých aktívnych látok prostriedkov na ochranu rastlín je dostupný na stránke WHO: www.who.int/ipcs/publications/pesticideshazard/en/ (WHO, 1997).

Porušenie platnej potravinovej legislatívy sme zistili u 6 vzoriek (0,9 %), u ktorých namerané množstvá rezíduí prekročili stanovené maximálne reziduálne limity pre dané druhy pesticídov. U týchto nevyhovujúcich vzoriek Výskumný ústav potravinársky hodnotil analýzu rizika pre spotrebiteľov. Na základe ich vypočítaných podielov PSTI (Predicted Short Term Intake) na ADI (Acceptable Daily Intake) u detí a dospelých vyplývalo, že komodity, v ktorých bolo zistené prekročenie MRL nepredstavovali riziko pre konzumenta.

Vo všetkých analyzovaných vzorkách sa na Štátnom veterinárnom a potravinovom ústave v Bratislave analyzovalo 196 druhov pesticídov – v rámci dvoch multireziduálnych metód a 6 tzv. „single“ metód.

Tabuľka 1 Prehľad výsledkov analýz rezíduí pesticídov v potravinách rok 2009

Kategória potravín	Počet vzoriek			
	n	< LOQ	> LOQ	z toho nevyhovujúcich
Ovocie	288	93	195	3
Zelenina	257	199	58	3
Ostatné potraviny	96	75	21	0
Bio potraviny	14	0	0	0
SPOLU	641	367	274	6

LOQ – limit kvantifikácie

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Situácia v Slovenskej republike

Aplikované prípravky na ochranu rastlín môžu aj pri dodržaní požiadaviek správnej poľnohospodárskej praxe zanechať v poľnohospodárskych plodinách a zložkách ekosystému detekovateľné reziduá. Cez potravinový reťazec sa pesticídy dostávajú až k ľudskej populácii.

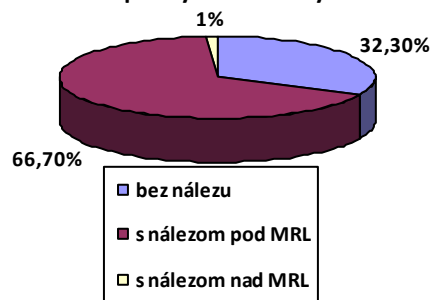
Informácie o druhu a koncentráciách rezíduí pesticídov v potravinách sa získavajú prostredníctvom monitorovacích programov.

Úradná kontrola rezíduí pesticídov v potravinách v roku 2009 vychádzala z Nariadenia Európskeho parlamentu a Rady č. 396/2005 o maximálnych hladinách v alebo na potravinách a krmivách rastlinného a živočíšneho pôvodu a o zmene a doplnení smernice Rady 91/414/EHS v znení neskorších doplnkov a zmien ako aj Nariadenia Komisie (ES) č. 1213/2008 týkajúceho sa koordinovaného viacročného národného plánu Spoločenstva na roky 2009, 2010 a 2011 s cieľom zabezpečiť dodržiavanie maximálnych hladín rezíduí pesticídov v a na potravinách rastlinného a živočíšneho pôvodu a posúdiť vystavenie spotrebiteľa týmto reziduám.

Do kontroly rezíduí pesticídov v potravinách v SR sú zapojené orgány úradnej kontroly potravín (krajské veterinárne a potravinové správy, regionálne veterinárne a potravinové správy, úrady verejného zdravotníctva).

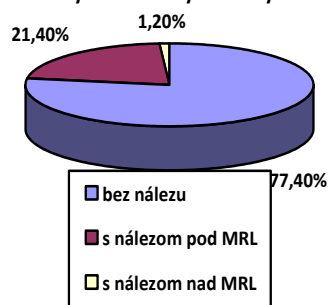
V roku 2009 bolo v národnom referenčnom laboratóriu pre reziduá pesticídov Štátneho veterinárneho a potravinového ústavu Bratislava analyzovaných 641 vzoriek ovocia, zeleniny, obilia a výrobkov z nich. V 300 analyzovaných vzorkách bola zistená prítomnosť aspoň jedného pesticídu, v 157 vzorkách bola zistená prítomnosť dvoch a viac druhov pesticídov, z 132 nálezov bolo v ovocí. V jednej vzorke jahôd pôvodom z Talianska bolo zistených až 11 rôznych druhov rezíduí pesticídov.

Výsledky analýz „Úradná kontrola rezíduí pesticídov v potravinách rok 2009“pre vybrané druhy ovocia



Obr. 1 Výsledky analýz rezíduí pesticídov v potravinách rok 2009 pre vybrané druhy ovocia

Výsledky analýz „Úradná kontrola rezíduí pesticídov v potravinách rok 2009“pre vybrané druhy zeleniny



Obr. 2 Výsledky analýz rezíduí pesticídov v potravinách rok 2009 pre vybrané druhy zeleniny

Tabuľka 2 Prehľad nálezov rezíduí pesticídov vo vybraných druhoch ovocia za rok 2009

PLODINA	POČET VZORIEK (n)	POČET NÁLEZOV NAD LOQ (n)	% Z POČTU VZORIEK	POČET NEVYHOVUJÚCICH VZORIEK
Ananás	6	5	83,3	-
Banány	18	13	72,2	-
Broskyne/nektarinky	26	13	50,0	1
Citrusy	74	68	91,9	-
Čerešne/višne	11	7	63,6	-
Drobné bobuľové ovocie	2	-	-	-
Hrozno	21	19	90,5	-
Hrušky	21	15	71,4	-
Jablká	24	12	50,0	-
Jahody	34	26	76,5	1
Marhule	16	11	68,8	-
Ostatné exotické ovocie	9	2	22,2	1

LOQ – limit kvantifikácie

Z prehľadu nálezov vo vybraných druhoch ovocia je zrejmé, že v roku 2009 bola prítomnosť rezíduí pesticídov zistená v nadpolovičnej väčšine analyzovaných vzoriek každého uvedeného druhu ovocia. So zisteniami

prítomnosti rezíduí pesticídov sa už takmer „tradične“ stretávame v citrusových plodoch, hrozne, ananáse, banánoch a jahodách.

Tabuľka 3 Prehľad nálezov rezíduí pesticídov vo vybraných druhoch zeleniny za rok 2009

PLODINA	POČET VZORIEK (n)	POČET NÁLEZOV NAD LOQ (n)	% PODIEL Z POČTU VZORIEK	POČET NEVYHOVUJÚCICH VZORIEK
Baklažán	31	6	19,4	-
Brokolica	10	3	30,0	-
Cibuľa/cesnak	2	-	-	-
Čínska kapusta	5	1	20,0	-
Zelená fazuľka	13	6	46,2	1
Hrášok	16	2	12,5	-
Karfiol	20	9	45,0	-
Kapusta	8	1	12,5	1
Mrkva	7	1	14,3	-
Paprika	36	8	22,2	-
Rajčiny	37	10	27,0	-
Red'kovka/red'kev	6	1	16,7	1
Šalát hlávkový	19	6	31,6	-
Špenát	6	-	-	-
Špargľa	6	-	-	-
Zemiaky	12	1	8,3	-

LOQ – limit kvantifikácie

Zelenina v porovnaní s ovocím vykazuje nižšie percentá vzoriek s nálezmi rezíduí pesticídov. Významnejšie nálezy

boli zistené v čerstvej alebo mrazenej zelenej fazuľke, karfirole, brokolici a hlávkovom šaláte.

Tabuľka 4 Prehľad nadlimitných nálezov rezíduí pesticídov v roku 2009

Prehľad nadlimitných nálezov rezíduí pesticídov v roku 2009			
Potravina	Počet nadlimitných vzoriek (n)	Krajina pôvodu	Rezíduá pesticídu
Broskyne	1	Taliansko	phosmet (0,466 mg.kg ⁻¹)
Jahody	1	Česká republika	propargit (0,067 mg.kg ⁻¹)
Granátové jablko	1	Egypt	fenprothrin (0,061 mg.kg ⁻¹) ethion (0,027 mg.kg ⁻¹)
Zelená fazuľka	1	Maroko	propamocarb (0,330 mg.kg ⁻¹)
Kapusta	1	Poľsko	suma carbendazil a benomyl (0,241 mg.kg ⁻¹)
Red'kovka	1	Taliansko	dithiocarbamáty (0,180 mg.kg ⁻¹)

ZÁVER

Vedecké hodnotenie rizika je základom pre prijímanie opatrení a tvorbu legislatívy na národnej i komunitárnej úrovni. Toxické účinky látok, určených na ochranu rastlín sú v súčasnej dobe skúmané nielen pre ich široké používanie v poľnohospodárstve, ale pre ich potenciálne karcinogénne, mutagénne a iné nepriaznivé účinky na živé organizmy. Ich testovanie je nevyhnutné najmä z dôvodu, že sú väčšinou aplikované priamo na rastliny, určené na ľudský konzum, ale aj do pôdy, čím sa ďalej voľne šíria do životného prostredia. Aktuálnosť uvedenej problematiky je umocnená skutočnosťou, že v súčasnosti väčšina používaných pesticídov nevyhovuje naliehavej požiadavke vysokej špecifickosti, čo je spojené s rizikom intoxikácií úžitkových zvierat. Preto sa v posledných rokoch problematika možných negatívnych účinkov rôznych pesticídov na biologické systémy stáva stredobodom pozornosti viacerých medzinárodných organizácií a odbornej svetovej literatúry (Legáth et al., 1997). Existuje relatívne veľmi málo chemických látok, o ktorých môžeme povedať, že vieme o všetkých ich účinkoch na zdravie človeka a zvierat. U väčšiny z nich, hlavne u pesticídov, nie sú tieto účinky úplne známe, ešte stále sa hodnotia, alebo o nich chýbajú informácie. Hodnotenie

zdravotných rizík plynúcich z používania pesticídov je preto zložitou otázkou. Súčasné poznatky o účinkoch pesticídov sú získavané na základe výsledkov experimentálnych štúdií u zvierat a bunkových kultúr, v menšej miere vychádzajú z klinických a epidemiologických údajov získaných od náhodne alebo profesionálne exponovaných ľudí (Legáth et al., 1997). Podiel rezíduí pesticídov v zelenine a ovocí sa prejavuje v chorobnosti ľudskej populácie hlavne pri dlhodobom pôsobení. Aj v súčasnosti sa využíva široké množstvo pesticídov, ktoré sú rôzneho chemického zloženia. Viac ako 800 chemických látok, prípadne ich zmesí sa používa v EÚ ako insekticídy, herbicídy a fungicídy. Mnohé pesticídy sú zaradené medzi potenciálne chemické mutagény. Expozícia nimi vedie ku génovým mutáciám a chromozómovým aberáciám (Bolognesi a Morasso, 2000). Kontrola rezíduí pesticídov v potravinách je neoddeliteľnou súčasťou úradnej kontroly potravín na Slovensku. Ak chceme zachovať istý stupeň ochrany zdravia spotrebiteľa, musíme úradnej kontrole rezíduí pesticídov v potravinách venovať aj naďalej osobitnú pozornosť.

LITERATÚRA

- BOLOGNESI, C., MORASSO, G. 2000. Genotoxicity of pesticides, Potential risk for consumers. In *Trends in Food Science and Technology*, vol. 11, 2000, no. 4-5, p. 182-187.
- CULLINEY, T. W., PIMENTEL, D., PIMENTE, M. H. 1995. Pesticides and the natural toxicants in food. In *Agricul Ecosyste Environ. Chem.*, 1995, no. 14, p. 10-21.
- FAO 2002. Internation Code of Conduct on the distribution and use of pesticides, adopted by the Hundred nad Twenty-third Session of th FAO Council in November 2002, Rome, 2002. Dostupné na internete: <<http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/document/Pest.pdf>>.
- HRONEC, O., TÓTH, J., TOMÁŠ, J. 2002. Cudzorodé látky a ich riziká. Harlequin Ltd., Košice, 2002, 200 p.
- LEGÁTH, J., BLÁHA, K., ČERNÁKOVÁ, T., DOLINAY, Š., HUFNÁGELOVÁ, B., KOČISOVÁ, A., KOŠUTH, P., KOTLEBA, J., LEGÁTH, E., MAJLÁTHOVÁ, E., MARKOVIČ, J., MLYNNARČIKOVÁ, H., MURÍN, M., ONDRAŠOVIČ, M., PROSBOVÁ, M., ŠKULÍNKOVÁ, K., SOKOL, J., TOPORČÁK, J. 1997. Odhad miery rizika chemických látok pre domáce, hospodárske a voľne žijúce zvieratá, včely a vodné živočíchy, DATAHELP, 1997, ISBN 80-88867-10-X.
- REGULATION EC No. 396/2005 of the European Parliament and the Council of 23 February 2005 on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending Council Directive 91/414/EEC.

- SZOKOLAY, A., TRUSKOVÁ, I. 1995. Odhad rizika a úžitku pri posudzovaní prídavných a kontaminujúcich látok v požívatinách, Bull. potrav. výskumu, 35, 1995, no. 1-2, p.45-50.
- ŠALGOVIČOVÁ, D. 2008. Systém hodnotenia expozície chemických látok na ľudskú populáciu. In: Zborník Bezpečnosť a kontrola potravín, Slovenská poľnohospodárska univerzita, Nitra. ISBN 978-80-552-0028-6.
- ŠALGOVIČOVÁ, D., DOBRÍKOVÁ, E. 2005. Odhad záťaž obyvateľstva SR kontaminantami z potravín, Cudzorodé látky v požívatinách, XX vedecká konferencia, Štrbské pleso, 3.-5. 10. 2005.
- WHO Guidelines for Predicting Dietary Intake of Pesticide Residues. 1997. Report GEMS/Food in Collaboration with CCPR, Word Health Organization, Geneva, 1997.

Kontaktná adresa:

Ing. Zuzana Grancová Biolková. District Veterinary and Food Administration, Trnava, Zavorská 11, 918 21 Trnava, Slovakia, e-mail: biolkova@gmail.com.
prof. MVDr. Jozef Sokol, DrSc. District Veterinary and Food Administration, Trnava, Zavorská 11, 918 21 Trnava, Slovakia, e-mail: kvstt@svssr.sk.

NEW METHODOLOGIES FOR BIOFILMS CONTROL IN FOOD INDUSTRY

Jozef Čapla, Peter Zajác, Vladimír Vietoris, Pavol Bajzík

ABSTRACT

The complete removal of biofilms on food equipment surfaces is essential to ensure food safety and quality. However, cells in biofilms exhibit greater resistance against the action of sanitizers and other antimicrobial agents compared to their free living counterparts, making them much more difficult to remove. They can be a significant source of post - processing contamination and could potentially harbor pathogens in food processing plants. The biotechnology sector is just beginning to tackle the problem of biofilms by developing antimicrobial agents with novel mechanisms of action. Some studies seek to prevent biofilm formation, others aim to develop antimicrobial agents to treat existing biofilms, and still others are trying to disrupt the polymeric ties that bind the biofilms together.

Keywords: biofilm, cleaning and disinfection, enzymes, bioregulation

ÚVOD

Mikrobiálna adhézia a tvorba biofilmov sú významným rizikovým faktorom pre potravinársky priemysel, pretože pomerne často je zaznamenaný ich výskyt na povrchoch prichádzajúcich do styku s potravinami (Jay et al., 2005). Mikrobiálna adhézia je spôsobená v dôsledku zachytenia a pripevnenia mikroorganizmov na povrch, následne spúšťajúcich rastový proces. Bunkové rozmnožovanie umožňuje vznik kolónií a etablovanie biofilmu, keď bunková masa je dosť hrubá na to, aby zhromaždila živiny, zvyškové množstvá a iné mikroorganizmy (Tsuneda et al., 2005). Biotechnologický sektor rieši problém tvorby biofilmu prostredníctvom rozvojových antibakteriálnych látok s novými mechanizmami účinku. Mnohé štúdie sa snažia zabrániť tvorbe biofilmu, iné sú zamerané na rozvoj antimikrobiálnych látok na ošetrovanie už existujúcich biofilmov a ďalšie sa pokúšajú narušiť polymérové zväzky, ktoré spájajú biofilmy dokopy (Schachter, 2003). Dôležité ukazovatele bunkového prichytenia, tvorby a vývoja biofilmu popisuje v nasledujúcej tabuľke Donlan (2002).

Tabuľka 1 Dôležité ukazovatele bunkového prichytenia, tvorby a vývoja biofilmu (Donlan, 2002)

Vlastnosti adhézie povrchu	Vlastnosti tekutiny	Vlastnosti bunky
Textúra alebo nerovnosť	Rýchlosť prúdenia	Hydrofóbný bunkový povrch
Hydrofóbnosť	pH	Extracelulárne prísvesky
Aklimatizácia povlaku	Teplota	Extracelulárne polymérne látky
	Ióny	Signalizačné molekuly
	Prítomnosť antimikrobiálnych látok	

Bunky tvoriace biofilm môžu byť odlišné od planktonických buniek v tvorbe exopolymérnych látok (EPS), znížené rýchlosťou rastu a reguláciou špecifických génov (Donlan, 2002). Účinky spojené s tvorbou EPS v biofilmoch popisuje Wingender et al.(1999) a Wang et al. (2003).

Tabuľka 2 Účinky spojené s tvorbou EPS v biofilmoch (Wingender et al., 1999, Wang et al., 2003)

Funkcia	Význam
Adhézia k povrchu	Prvý krok pri inertnej kolonizácii na povrchu, hromadenie baktérií na živiny bohatých povrchoch v oligotrofnom prostredí.
Agregácia bakteriálnych buniek, tvorba vločiek a biofilmov	Premostenie medzi bunkami a anorganickými časticami obsiahnutými v prostredí, imobilizácia bakteriálnych zmesí, základ pre rozvoj vysokej hustoty buniek a generácie pre nositeľov komunikačných procesov, príčina biofoulingu a biokorózie.
Bunkové spoznávanie	Symbiotické vzťahy s rastlinami alebo zvieratami, spustenie patogénnych procesov
Enzymatická aktivita	Asimilácia exogénnych makromolekúl pre získavanie živín, uvoľnenie buniek v biofilme prostredníctvom degradácie štruktúrnych ESP v biofilme.
Interakcie polysacharidov s enzýmami	Hromadenie, udržiavanie a stabilizácia vylučovaných enzýmov.
Ochranná bariéra	Rezistencia k špecifickej a nešpecifickej hostiteľskej obranyschopnosti, rezistencia k biocidom.
Sorpcia exogénnych organických zlúčenín	Preplachovanie a hromadenie živín zo životného prostredia.
Sorpcia anorganických iónov	Akumulácia toxických iónov, podpora tvorby polysacharidového gélu a minerálov.
Štruktúrne elementy biofilmov	Sprostredkovanie mechanickej stability biofilmov, stanovenie tvaru konštrukcie EPS.

Kontrola biofilmu s enzýmami

Použitie sanitačných prostriedkov na enzymovom základe ako biočističe, tiež známe ako "zelené chemické látky", môže slúžiť ako vhodné riešenie na prekonanie problému tvorby biofilmov v potravinárskom priemysle. Technológia a výroba týchto enzýmov a na enzymovom základe založených sanitačných prostriedkov je zväčša

chránená patentom. Enzýmy môžu byť použité na degradovanie biofilmu, ale kvôli rôznorodosti EPS v biofilme a zmesi činnosti enzýmov by mohli byť potrebné na dostatočný rozklad bakteriálnych biofilmov. Enzýmy a sanitačné prostriedky boli tiež používané ako synergenty na zlepšenie dezinfekčnej účinnosti. (Jaquelin et al., 1994; Johansen et al. 1997, Meyer, 2003). Je zložité nájsť enzýmy, ktoré sú účinné proti všetkým rôznym typom biofilmov. Takže zloženia obsahujúce niekoľko rôznych enzýmov sa zdajú byť rozhodujúce pre úspešnú kontrolu tvorby biofilmu. V zásade proteáza a polysacharidy hydrolyzujúce enzýmy môžu byť užitočné. Aj keď použitie enzýmov pri odstraňovaní bakteriálnych biofilmov je stále limitované, predovšetkým kvôli nízkym cenám dnes používaných chemikálií. Taktiež nízka komerčná dostupnosť rôznych enzýmových aktivít obmedzuje ich použitie (Poppele et al., 2003, Boor et al., 2006).

Kontrola biofilmu s bakteriofágmi

Keď bakteriofágy prídu do kontaktu s biofilmami, vyskytujú sa ďalšie vzájomné interakcie, závislé na citlivosti baktérii biofilmu k bakteriofágom a dostupnosti miesta receptorov (Beutin et al., 2007). Ak bakteriofágy obsahujú enzýmy degradujúce polysacharidy, alebo ak značný rozpad buniek je ovplyvňovaný bakteriofágmi, integrita biofilmu môže byť rýchlo zničená (Liao et al., 2006). Hughes et al. (1998) pracujúci v oblasti kontroly biofilmov *Enterobacter agglomerans* použitím bakteriofágov zistili, že bunky sa ľahko rozkladali a biofilm bol degradovaný pridaním bakteriofágov, ak boli splnené určité kritériá. Baktéria musela byť citlivá na bakteriofágy a bakteriofágy depolymerizovaných polysacharidov musia byť schopné rozkladať ESP biofilmu. Bakteriofág potom rozloží bunky biofilmu, enzým polymerázy degraduje ESP a spôsobuje zbavenie sa biofilmu. Ak len jedno z týchto kritérií by bolo splnené, znamenalo by to značný stupeň degradácie biofilmu. Eventuálne spolužitie medzi bakteriofágmi a hostiteľskými baktériami s biofilmom by mohlo byť zdokonalené (Hughes et al., 1998, Liao et al., 2006). Bakteriofágy boli navrhnuté ako prostriedky ničenia alebo kontrolovania biofilmov, avšak technológia pre túto činnosť doposiaľ nebola úspešne rozvinutá a je relatívne málo dostupných informácií o bakteriofágoch napádajúcich baktérie na biofilmoch (Hughes et al., 1998; Sutherland et al., 2004, Liao et al., 2006).

Kontrola biofilmu pomocou prostriedkov medzidruhovej interakcie – bioregulácia

Existencia viacnásobných interakcií alebo jednoduchá produkcia metabolitov môže zasahovať do vývoja, ktorý zdá sa byť štrukturálne usporiadanou komunitou v rámci biofilmu (Luo, 2005). Rivalita v substráte je jednou z hlavných vývojových síl v bakteriálnom svete a mnohé významné údaje získané v laboratóriu za kontrolovaných podmienok ukázali ako rôzne mikroorganizmy môžu účinne zápasit s inými z dôvodu lepšieho využitia daného zdroja energie (Christensen et al., 2002). Okrem toho, mnohé baktérie sú schopné syntetizácie a vylučovania povrchovo aktívnych látok. V konkurenčnom prostredí by tento jav mohol hrať významnú úlohu. Al-Tahhan et al. (2000) zdôraznili, že aj pri veľmi nízkej úrovni

biotenzidov, syntetizovaných rodom *Pseudomonas* spp., by mohli spôsobiť povrch bunky viac hydrofóbny. Z vlastností biotenzidov je známe, že môžu byť zahrnuté do exopolymerového presunu z jedného druhu baktérie do druhého, čo sa javí ako efektívnejšie v rámci matice biofilmu, kde sú bunky v tesnej blízkosti (Österreicher-Ravid et al., 2000). Napriek tomu, v zmiešaných druhoch biofilmu by táto bunková vlastnosť podporovaná bakteriálnymi druhmi mohla mať antimikrobiálne vlastnosti na ďalšie druhy baktérii. Produkcia biotenzidov môže oslabiť tvorbu biofilmov (Daniels et al., 2004). Niekoľko autorov (Lerichie a Carpentier, 2000; Zhao et al., 2004) zistilo, že mikroorganizmy tvoriace biofilmy na povrchoch v mliekarenských závodoch by mohli zohrávať úlohu narušiteľa biologických činností patogénnych baktérii, a preto by mohli byť použité na zlepšenie povrchovej hygieny. Tenzidy z *Bacillus subtilis* rozrušujú biofilmy počas rastu buniek a zabráňujú tvorbe biofilmu mikroorganizmami ako sú *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* a *Proteus mirabilis* (Svensson et al., 2000, Mireles et al., 2001). Taktiež, baktérie mliečneho kvasenia a výroby, ktoré ich obsahujú boli zdokumentované pri ich antimikrobiálnej aktivite proti rastu *Listeria monocytogenes* (Zhao et al., 2004). Zistením, ktoré široké spektrá baktérii využívajú *quorum sensing* na uskutočňovanie tvorby biofilmu a diferenciácie predstavuje atraktívny cieľ pre kontrolu biofilmu (Cui, 2003; Daniels et al., 2004).

Kontrola biofilmu – čistenie a dezinfekcia

Biocídne výrobky – definícia

Podľa smernice 98/8/ES Európskeho parlamentu a Rady zo dňa 16. februára 1998 o uvádzaní biocídnych výrobkov na trh sú biocídne výrobky aktívne látky a prípravky obsahujúce jednu alebo viacero z nich upravené do formy, ktorá je dodávaná užívateľovi s cieľom ničenia, zastrešovania, zneškodnenia, zabránenia škodlivého účinku alebo spôsobenia iného inhibičného účinku na ľubovoľný škodlivý organizmus chemickými alebo biologickými prostriedkami. Termín biocíd sa bežne používa ako synonymum pre antimikrobiálne látky alebo sanitačné prostriedky. Avšak podľa Gilberta a McBaina (2003), trojica týchto definícií je odlišná a je definovaná nasledovne: Biocídy sú aktívne látky, ktoré pri určitej koncentrácii a definovaných podmienkach budú usmrcovať v určenom čase bunky; antimikrobiálne látky sú účinné látky, ktoré majú nepriaznivý vplyv na rast alebo rozmnožovanie mikroorganizmov; sanitačné prostriedky obsahujú účinné látky, ktoré sú bezpečné pre použitie na neživé povrchy, a ktoré zabíjajú špecifické skupiny choroboplodných mikroorganizmov v stanovených časoch. Čistenie a dezinfekcia

Čistenie a dezinfekcia v potravinárskom priemysle patria medzi základné kroky, ktoré sa aplikujú pri zabezpečovaní výroby potravín a efektívnosť s akou sa tieto operácie vykonávajú veľmi ovplyvňujú konečnú kvalitu a bezpečnosť výrobku (Carpentier a Cerf, 1993). Čistenie a dezinfekcie sú posudzované oddelene, hoci v praxi sú niekedy ťažko rozdeliteľné.

Čistenie je dôležitá fáza pre minimalizáciu mikrobiálnej kontaminácie priemyselného zariadenia na spracovanie potravín (Carpentier a Cerf, 1993). Je veľmi dôležitou zásadou eliminovať čo najviac mikroorganizmov ešte pred

použitím dezinfekčného prostriedku. Čistiace postupy by mali účinne odstrániť zvyšky potravín a iné nečistoty, ktoré môžu obsahovať mikroorganizmy alebo podporovať mikrobiálny rast. Čistiace postupy zahŕňajú odstraňovanie nečistoty a zvyškov potravín mechanicky, studenou alebo teplou vodou, a až potom nasleduje použitie chemických látok, oplachovanie, dezinfekcia a oplachovanie. Vysoké teploty môžu znižovať potrebu fyzickej sily (Carpentier Cerf, 1993; Maukonen et al., 2003). Chemické látky, zvyčajne povrchovo aktívne látky alebo alkalické zlučidliny, používané ako čistiace prostriedky, pozastavia a rozpustia zvyšky potravín znižovaním povrchového napätia, spôsobujú emulgáciu tukov a denaturácia bielkovín (Maukonen et al., 2003). Tieto chemické prípravky sú v súčasnosti používané v kombinácii. Mechanické pôsobenie (vodné turbulencie a drhnutie), je považované za veľmi účinné pri odstraňovaní biofilmu (Chmielewski a Frank, 2003; Maukonen et al., 2003). Účinný postup čistenia musí narušiť alebo rozložiť matricu ESP spojenú s biofilmom tak, aby dezinfekčné prostriedky mohli získať prístup k životaschopným bunkám (Carpentier a Cerf, 1993; Gibson et al., 1999). Čistiaci proces môže odstrániť viac ako 90% mikroorganizmov spojených s povrchom, nemožno sa ale spoliehať na to že ich usmrtí. Baktérie sa môžu opätovne uložiť na iné miesta a vzhľadom k prítomnosti vody a živín nám môžu vytvoriť biofilm. Preto musí byť vykonaná vždy aj dezinfekcia (Gibsona et al., 1999). V potravinárskom priemysle je proces čistenia dôležitým faktorom a je potrebné, aby všetky plochy prichádzajúce do kontaktu s potravinami boli čisté a aby zabránili mikrobiálnej kontaminácii a produkovali sa kvalitné a bezpečné potravinárske výrobky. Čistenie a dezinfekcia sú doplnkové procesy, ktoré spoločne pomáhajú dosiahnuť požadované výsledky.

Dezinfekcia

Dezinfekcia predstavuje používanie dezinfekčných prípravkov na ničenie mikroorganizmov. Napriek tomu v dezinfekčnom roztoku boli nájdené mikroorganizmy so schopnosťou tvoriť rezistentné kmene a zvyšovať tak ochranu biofilmu (Gilbert a Allison, 1999; McBain et al., 2000). U prevádzkovateľov potravinárskych podnikov je dezinfekcia žiadaná, pretože mokré povrchy poskytujú priaznivé podmienky pre rast mikroorganizmov (Maukonen et al., 2003). Cieľom dezinfekcie je znížiť povrchové populácie životaschopných buniek po vyčistení a zabrániť rastu mikroorganizmov na povrchu pred opätovným spustením výroby. Dezinfekčné prostriedky neprenikajú do matice biofilmu na povrchu po neefektívnom čistiacom procese a tak nezničia všetky živé bunky v biofilme (Holah, 1992; Carpentier a Cerf, 1993).

Dezinfekčné prostriedky sú efektívnejšie pri neprítomnosti organických látok (tuky, sacharidy a materiály na báze bielkovín). Organické látky, pH, teplota, tvrdosť vody, chemické inhibítory, koncentrácia a kontaktný čas všeobecne slúžia na kontrolu účinnosti dezinfekčných prostriedkov (Mosteller a Bishop, 1994; Cloete et al., 1998). Dezinfekčné prostriedky musia byť účinné, bezpečné, ľahko použiteľné a ľahko opláchnuteľné z povrchu, nesmú zanechávať žiadne toxické zvyšky, ktoré majú vplyv na senzorické hodnoty výrobku. Použitie dezinfekčných prostriedkov v potravinárskych prevádzkach závisí od použitého materiálu a adhézie

mikroorganizmov. Na základe nasledovných poznatkov by sa malo vyberať používanie dezinfekčných prostriedkov, ktoré výraznou mierou pri správnej aplikácii zabraňujú rastu biofilmov:

Je dezinfekčný prostriedok stabilný po riedení?

Je používaný dezinfekčný prostriedok účinný v danom rozsahu pH?

Je dezinfekčný prostriedok toxický, bezpečný alebo dráždivý?

Aké je mikrobiálne spektrum dezinfekčného prostriedku?

Ako teploty ovplyvňujú účinnosť dezinfekčného prostriedku?

Je dezinfekčný prostriedok korozívny pre povrchy?

Je dezinfekčný prostriedok povrchovo aktívny?

Je dezinfekčný prostriedok stabilný, keď reaguje s organickým materiálom? (Troller, 1993; Wirtanen, 1995; Wirtanen et al., 2000, Manuzon et al., 2007).

LITERATÚRA

- AL-TAHHAN, R. A., SANDRIN, T. R., BODOUR, A. A., MAIER, R. M. 2000. Rhamnolipid-induced removal of lipopolysaccharides from *Pseudomonas aeruginosa*: effect on cell surface properties and interaction with hydrophobic substrates. In *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 66, p. 3262-3268.
- BEUTIN, L., WANG, Q., NAUMANN, D., HAN, W., KRAUSE, G., LEOMIL, L., WANG, L., FENG, L. 2007. Relationship between O-antigen subtypes, bacterial surface structures and O-antigen gene clusters in *Escherichia coli* O123 strains carrying genes for Shiga toxins and intimin. In *J. Med. Microbiol.*, vol. 56, p. 177-184.
- BOOR, K., FROMM, H. 2006. Managing microbial spoilage in the dairy industry. In *Food spoilage microorganisms*. C. de W. Blackburn, ed. CRC Press LLC, Florida. pp. 171-193.
- CARPENTIER, B., CERF, O. 1993. Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in food industry. In *Journal of Applied Microbiology*, vol. 75, p. 499-511.
- CLOETE, T. E. 2003. Resistance mechanisms of bacteria to antimicrobial compounds. In *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 51, p. 277-282.
- CUI, X. 2004. Regulation of biosurfactant production by quorum sensing in *Pseudomonas fluorescens* 5064, the cause of broccoli head rot disease. PhD Thesis. University of Edinburgh.
- DANIELS, R., VANDERLEYDEN, J., MICHIELS, J. 2004. Quorum sensing and swarming migration in bacteria. In *FEMS Microbiology Reviews*, vol. 28, p. 261-289.
- Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council of 16 February 1998 concerning the placing of biocidal products on the market. Official Journal of the European Communities.
- DONLAN, R. M., COSTERTON, J. W. 2002. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. In *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 15, p. 167-193.
- GIBSON H. J., TAYLOR, H., HALL, K. E., HOLAH, J. T. 1999. Effectiveness of cleaning techniques used in the food industry in terms of the removal of bacterial biofilms. In *Journal of Applied Microbiology*, vol. 87, p. 41-48.
- GILBERT, P., ALLISON, D. G. 1999. Dynamics in microbial communities: A Lamarkian perspective. In: Biofilms – The good, the bad and the ugly. WIMPENNY J. GILBERT P. WALKER J. BRADING M. AND BAYSTON R. (eds). pp. 263-268.
- GILBERT, P., MCBAIN, A. J., RICKARD, A. H. 2003. Formation of microbial biofilm in hygienic situations: a problem of control. In *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 51, p. 245-248.
- HOLAH, J. T. 1992. Industrial monitoring: hygiene in food processing. In *Biofilms – Science and Technology*. MELO L. F.

- BOTT T. R. FLETCHER M. AND CAPDEVILLE B. (eds). pp. 19 - 23.
- HUGHES, K. A., SUTHERLAND, I. W., JONES M. V. 1998. Biofilm susceptibility to bacteriophage attack: the role of phage-borne polysaccharide depolymerase. In *Microbiology*, vol. 144, p. 3039-3047.
- CHMIELEWSKI, R. A. N., FRANK, J. F. 2003. Biofilm formation and control in food processing facilities. In *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 2, 2003, p. 22-32.
- CHRISTENSEN, B. B., HAAGENSEN, J. A. J., HEYDORN, A., MOLIN, S. 2002. Metabolic commensalism and competition in a two-species microbial consortium. In *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 68, 2002, p. 2495-2502.
- JAQUELIN, L. F., LE MAGREX, E., BRISSET, L., CARQUIN, J., BERTHET, A., CHOISY, C. 1994. Synergie effect of enzymes or surfactants in association with a phenolic disinfectant on a bacterial biofilm. In *Pathologie et Biologie*, vol. 42, 1994, p. 425-431.
- JAY, J. M., LOESSNER, M. J., GOLDEN, D. A. 2005. Modern Food Microbiology. 7th ed. Springer-Science, Business Media, Inc., New York. 790 p.
- JOHANSEN, C., FALHOLT, P., GRAM, L. 1997. Enzymatic removal and disinfection of bacterial biofilms. In *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 9, 1997, p. 3724-3728.
- LERICHE, V., CARPENTIER, B. 2000. Limitation of adhesion and growth of *Listeria monocytogenes* on stainless steel surfaces by *Staphylococcus sciuri* biofilms. In *Journal of Applied Microbiology*, vol. 88, 2000, p. 594-605.
- LIAO, C. H. 2006. *Pseudomonas* and related genera. In *Food spoilage microorganisms*. C. de W. Blackburn, ed. CRC Press LLC, Florida. pp. 507-540.
- LUO, H. 2005. Identification of microorganisms in food ecosystems and characterization of physical and molecular events involved in biofilm development. Ph.D. Dissertation. Ohio State University, Columbus, OH. 197 p.
- LUYPAERT, J., HEUERDING, S., VANDER HEYDEN, Y., MASSART, D. L. 2004. The effect of preprocessing methods in reducing interfering variability from near-infrared measurements of creams. In *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 36, 2004, no. 3, p. 495-503.
- MANUZON, M. Y., WANG, H. H. 2007. Mixed culture biofilms. In *Biofilms in the Food Environment*. BLASCHEK, H.P., WANG, H. H., AGLE, M. E. eds. Blackwell Publishing Co., Ames, Iowa. pp. 105-125.
- MAUKONEN, J., MATTILA-SANDHOLM, T., WIRTANEN, G. 2000. Metabolic indicators for assessing bacterial viability sampling using cells in suspension and swabbed biofilm. In *Lebensmittel-Wissenschaft Technologie*, vol. 33, 2000, p. 225-233.
- MCBAIN, A. J., ALLISON, D. G., GILBERT, P. 2000. Population dynamics in microbial biofilms. In *Community Structures and Co-operation in Biofilms*. ALLISON, D. G., GILBERT, P., LAPPIN-SCOTT, H. M., WILSON, M. (eds). pp. 309-327.
- MEYER, B. 2003. Approaches to prevention, removal and killing of biofilms. In *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 51, 2003, p. 249-253.
- Mireles J. R., TOGUCHI, A., HARSHEY, R. M. 2001. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium swarming mutants with altered biofilm-forming abilities: surfactin inhibits biofilm formation. In *Journal of Bacteriology*, vol. 183, 2001, p. 5848-5854.
- MOSTELLER, T. M., BISHOP, J. R. 1993. Sanitizer efficacy against attached bacteria in milk biofilm. In *Journal of Food Protection*, vol. 56, 1993, p. 34-41.
- OSTERREICHER-RAVID, D., RON, E. Z., ROSENBERG, E. 2000. Horizontal transfer of an exopolymer complex from one bacterial species to another. In *Environmental Microbiology*, vol. 2, 2000, p. 366-372.
- POPPELE, E. H., HOZALSKI, R. M. 2003. Micro-cantilever method for measuring the tensile strength of biofilms and microbial flocs. In *Journal of Microbiological Methods*, vol. 55, 2003, p. 607-615.
- SCHACHTER, B. 2003. Slimy business – the biotechnology of biofilms. In *Nature Biotechnology*, vol. 21, 2003, p. 361-365.
- SUTHERLAND, I. W., HUGHES, K. A., SKILLMAN, L. C., TAIT, K. 2004. The interaction of phage and biofilms. In *FEMS Microbiology Letters*, vol. 232, 2004, p. 1-6.
- SVENSSON, B., ENEROTH, A., BRENDENHAUG, J., MOLIN, G., CHRISTIANSSON, A. 2000. Involvement of a pasteurizer in the contamination of milk by *Bacillus cereus* in a commercial dairy plant. In *J. Dairy Res.*, vol. 67, 2000, no. 3, p. 455-460.
- TROLLER J. A. 1993. Sanitation in food processing. Academic Press Inc.
- TSUNEDA, S., AIKAWA, H., HAYASHI, H., YUASA, A., HIRATA, A. 2003. Extracellular polymeric substances responsible for bacterial adhesion onto solid surface. In *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 223, 2003, no. 2, p. 287-292.
- WANG, S. Y., LAURITZ, J., JASS, J., MILTON, D. L. 2003. Role for the major outer membrane protein from *Vibrio anguillarum* in bile resistance and biofilm formation. In *Microbiology*, vol.149, 2003, p. 1061-1071.
- WANG, H.H., MANUZON, M. Y., LEHMAN, M., WAN, K., LUO, H., WITTUM, T. E., YOUSEF A. E., BAKALETZ, L. O. 2006. Food commensal microbes as a potentially important avenue in transmitting antibiotic resistance genes. In *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 254, 2006, p. 226-231.
- WINGENDER, J., NEU, T. R., FLEMMING, H. C. 1999. What are bacterial extracellular polymeric substances? In *Microbial extracellular polymeric substances - characterization, structure and function*. WINGENDER, J., NEU, T. R., FLEMMING, H. C. (eds). pp. 1-19.
- WIRTANEN, G. 1995. Biofilm formation and its elimination from food processing equipment. VTT publications 251.
- WIRTANEN, G., SAARELA, M., MATTILA-SANDHOLM, T. 2000. Biofilms – Impact on hygiene in food industries. In *Biofilms II: Process analysis and applications*. Bryers J. D. (ed). pp. 327-372.
- ZHAO, T., DOYLE, M. P., ZHAO, P. 2004. Control of *Listeria monocytogenes* in a biofilm by competitive-exclusion microorganisms. In *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 70, 2004, p. 3996-4003.

Kontaktná adresa:

Ing. Jozef Čapla, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: jozef.capla@uniag.sk.

Ing. Peter Zajac, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: zajac@potravinarstvo.com

Ing. Vladimír Vietoris, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Science, Department of Storage and Processing of Raw Food and Food of Plant Origin, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: vladimir.vietoris@uniag.sk

Ing. Pavol Bajzik, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: bajzik2@gmail.com

HEALTH AND HYGIENIC CONDITIONS OF EWE'S MILK PROCESSING FROM THE ASPECT OF FOOD SAFETY

Eva Dudriková, Lucia Poľáková, Jana Pukáčová

ABSTRACT

Totally, 47 strains of *Staphylococcus aureus* and 578 coagulase negative staphylococci were detected in samples from raw ewe milk. The 35 out of 47 isolates of *Staphylococcus aureus* from ewe milk were positive for the presence of staphylococcal enterotoxin genes: *sea* (4 %), *sec* (48 %) and *sed* (48 %). *Staphylococcus epidermis* (33.04%), *Staphylococcus caprae* (21.28%) were more prevalent. *Staphylococcus chromogenes* (7.44 %), *Staphylococcus hominis* (7.09%), *Staphylococcus xylosum* (6.92 %), and *Staphylococcus warneri* (6.40 %) were isolated also in ewes milk. *Staphylococcus haemolyticus* (3.11 %), *Staphylococcus capitis* (2.94 %), *Staphylococcus simulans* (2.08 %) and *Staphylococcus saprophyticus* (1.73 %) were isolated very rarely from the taken individual milk ewe samples. Sporadically, only in few cases, the others coagulase negative staphylococci were isolated (< 1 %): *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus closii*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus auricularis* and *Staphylococcus equorum*.

Keywords: ewe's milk; quality; safety; *Staphylococcus aureus*; staphylococci

ÚVOD

Prevažná časť oviec chovaných na Slovensku je kombinovaného zamerania. V posledných rokoch sa chovatelia zameriavajú na produkciu mlieka a jatočných jahniat, produkcia vlny je len okrajová a v súčasných nákladoch na strihanie nezisková.

Vzhľadom k stúpajúcemu trendu po dopyte výrobkov z nebovinných druhov mliek, resp. v dôsledku možnosti spracovateľov akéhokoľvek poľnohospodárskeho výrobku alebo potraviny požiadať o zápis zaručenej tradičnej špeciality, resp. „ochrany označenia pôvodu“ a „ochrany zemepisných označení na území Spoločenstva“ je nevyhnutné sa venovať nielen kvalite takýchto výrobkov (čo predstavuje hlavný cieľ spoločenstva EÚ), ale aj ich bezpečnosti z hľadiska mikrobiologického a chemického. Vzhľadom k tomu, že salašníctvo na Slovensku je rozšírené v rôznych oblastiach Slovenska, aj zloženie a kvalita ovčieho mlieka bude rozdielna (Herian, 2010).

Ovčie mlieko je unikátne svojím zložením a odlišuje sa obsahom jednotlivých zložiek od mlieka iných druhov cicavcov (Posati a Orr, 1976). Obsahuje celý rad významných účinných látok, napr. aminokyselín (20), mastných kyselín (60), minerálnych látok (45) a oligoelementov, vitamínov (25) a sacharidov (5). Obsahuje aj enzýmy a hormóny. Je to tekutina bielej farby, typickej vône a príjemnej sladkej chuti. Ovčie mlieko je bohaté na vitamín A, B₁, B₂, B₁₂ a vitamín C, významný je obsah kyseliny orotovej, ktorej sa pripisujú protirakovinové účinky, významný je aj obsah železa, a zinku (Casali et al., 1989; Dario et al., 1995; Fenyvessy a Csanadi, 1999; Margentín, 1996; Hardy, 2000).

V súčasnom období možno na Slovensku získavanie a spracovanie ovčieho mlieka rozdeliť nasledovne: (a) dojenie (ručné alebo strojové), po ktorom nasleduje spracovanie surového ovčieho mlieka na hrudkový syr; (b) dojenie (ručné alebo strojové) spojené so základným ošetrením a skladovaním mlieka v mliečnici a zvoz do bryndziarne a (c) dojenie (ručné alebo strojové) spojené s následným základným ošetrením a chladením mlieka, po ktorom nasleduje tepelné ošetrenie mlieka (pasterizácia mlieka) a výroba hrudkového syra a iných špecialít z tepelne ošetreného mlieka v salašnických podmienkach.

Každý z uvedených spôsobov má svoje výhody a nevýhody, ktoré sa môžu prejaviť v kvalite vyrábaných výrobkov z ovčieho mlieka.

Cieľom práce bolo zistiť kontamináciu surového ovčieho mlieka stafylokokmi, najmä baktériou *S. aureus*, u ktorej sme zisťovali prítomnosť stafylokokových enterotoxínových génov (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*).

MATERIÁL A METÓDY

Na zistenie vytýčených cieľov práce sme celkovo v období rokov 2005-2009 vyšetrili 1033 individuálnych vzoriek surového ovčieho mlieka z fariem situovaných v regiónoch Slovenska.

Z jednotlivých vzoriek mlieka, sme objem 0,1 ml inokulovali na povrch Baird-Parkerovho agaru (HiMedia, India). Platne sme inkubovali za aeróbnych podmienok pri teplote 37 °C a vyšetrili po 24 a 48 hod. na bakteriálny rast stafylokokov (EN ISO 6888-1:1999). Identifikácia baktérií bola založená na typickom raste stafylokokov na Baird-Parkerovom agare. Suspektné kolónie sme prekultivovali na krvný agar obsahujúci 5 % baraních erytrocytov a inkubovali 24 hod. pri teplote 37 °C. Tieto 24 hod. kultúry sme použili na ďalšie testy. Gram pozitívne, katalázopozitívne koky sme identifikovali na základe Staphytestu 16 (Lachema Brno, ČR). Prítomnosť voľnej koagulázy sme testovali skúmkavkovou reakciou pomocou Sevatestu Stafylo PK (Imuna, Šarišské Michalany) v 0,1 ml 18-20 hodinovej bujónovej kultúry vyšetrovaného kmeňa stafylokokov. Hodnotili sme rýchlosť a kvalitu koagulátu. Za pozitívnu reakciu sme považovali vytvorenie koagulátu do 6 hodín.

Na konfirmáciu izolátov *S. aureus* sme použili molekulárne metódy. Celkovú genomickú DNA sme izolovali z bujónovej kultúry *S. aureus* metódou podľa Hein et al. (2005). Na identifikáciu *S. aureus* sme použili multiplexovú PCR (Martineau et al., 1998; Strommenger et al., 2003).

Na detekciu enterotoxínových génov *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see* sme použili metódu podľa Sharma et al. (2000). Ako pozitívne kontroly pre PCR sme použili tieto referenčné kmene: *S. aureus* CCM 5756 (*sea* gén), *S. aureus* CCM 5984 (*sec* gén), *S. aureus* CCM 5972 (*see* gén) (Česká kolekcia mikroorganizmov, Brno).

PCR produkty sme analyzovali pomocou elektroforézy v 1 % agarózových géloch (Invitrogen), ponorených v TAE tlmivom roztoku (Sambrook et al., 1989).

Na štatistické spracovanie nami zistených údajov bola použitá analýza rozptylu ANOVA (GraphPad Prism 5).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Zástupcovia rodu *Staphylococcus* (čľaď *Staphylococcaceae*) sú Gram pozitívne, aeróbne alebo fakultatívne anaeróbne, nepohyblivé, nesporulujúce a neopuzdrené koky, ktoré majú charakteristickú veľkosť 0,5 – 1,5 µm a usporiadanie do retiazok alebo zhlukov pripomínajúcich strapce hrozna (Bednář et al., 1999; Biggs, 2009). Podľa produkcie voľnej koagulázy sa stafylokoky delia na koagulázopozitívne (KPS): *S. aureus* subsp. *anaerobicus*, *S. aureus* subsp. *aureus*, *S. delphini*, *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. lutrae*, *S. schleiferi* subsp. *coagulans* a koagulázonegatívne (KNS): *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *haemolyticus*, *S. hominis* subsp. *novobiosepticus*, *S. lugdunensis*, *S. cohnii* subsp. *cohnii*, *S. cohnii urealyticus*, *S. xylosus*, *S. caprae*, *S. simulans*, *S. warneri*, atď.. Významný je najmä *S. aureus*, ale v poslednom čase narastá aj význam KNS v stádach bahnic, vzhľadom k ich možnému pôsobeniu pri vzniku subklinických mastitíd oviec.

Klasickým mikrobiologickým vyšetrením individuálnych vzoriek ovčieho mlieka sme spolu izolovali 629 Gram pozitívnych a katalázopozitívnych kokov, ktoré sme na základe výsledkov na prítomnosť voľnej koagulázy pomocou skúmvkovej reakcie Sevestom Stafylo PK rozdelili na dve skupiny (Tab. 1).

Tab. 1 Počet izolátov Gram pozitívnych baktérií izolovaných zo vzoriek surového ovčieho mlieka ovčieho mlieka (n = 629)

Koagulázopozitívne stafylokoky	Koagulázonegatívne stafylokoky
51 (8,11 %)	578 (91,89 %)

Ďalšou identifikáciou, pomocou Staphy testu 16 sme spolu v skupine koagulázopozitívnych stafylokokokov (Tab. 2) identifikovali *S. aureus* (47) a *S. hyicus* (4).

Tab. 2 Druhy koagulázopozitívnych stafylokokokov

Koagulázopozitívne stafylokoky	Počet izolátov (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	47 (92,16)
<i>Staphylococcus hyicus</i>	4 (7,84)
Spolu	51 (100)

Počet a percentuálne zastúpenie koagulázovonegatívnych stafylokokokov uvádzame v Tab. 3. Z Tab. 3 vyplýva, že zo skupiny KNS sme najčastejšie izolovali *Staphylococcus epidermidis* (33,04%), *Staphylococcus caprae* (21,28%) a ďalej *Staphylococcus chromogenes* (7,44 %), *Staphylococcus hominis* (7,09%), *Staphylococcus xylosus* (6,92 %), a *Staphylococcus warneri* (6,40 %). Ojedinele bol izolovaný *Staphylococcus haemolyticus* (3,11 %), *Staphylococcus capitis* (2,94 %), *Staphylococcus simulans* (2,08 %) a *Staphylococcus saprophyticus* (1,73 %). Sporadicky, vo veľmi ojedinelých prípadoch sme zo vzoriek ovčieho mlieka identifikovali ostatné izoláty *Staphylococcus* spp.: (< 1 %) *Staphylococcus cohnii cohnii*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus closii*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus auricularis* a *Staphylococcus equorum*.

Tab. 3 Druhy koagulázovonegatívnych stafylokokokov

koagulázonegatívne stafylokoky	počet izolátov (%)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	191 (33,04)
<i>Staphylococcus caprae</i>	123 (21,28)
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	43 (7,44)
<i>Staphylococcus hominis</i>	41 (7,09)
<i>Staphylococcus xylosus</i>	40 (6,92)
<i>Staphylococcus warneri</i>	37 (6,40)
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	18 (3,11)
<i>Staphylococcus capitis</i>	17 (2,94)
<i>Staphylococcus lentus</i>	15 (2,59)
<i>Staphylococcus simulans</i>	12 (2,08)
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	10 (1,73)
<i>Staphylococcus cohnii cohnii</i>	5 (0,87)
<i>Staphylococcus sciuri</i>	5 (0,87)
<i>Staphylococcus closii</i>	4 (0,69)
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	4 (0,69)
<i>Staphylococcus auricularis</i>	2 (0,35)
<i>Staphylococcus equorum</i>	1 (0,17)
Spolu	578 (100)

Z našich výsledkov vyplýva, že zastúpenie jednotlivých druhov stafylokokokov vo vzorkách surového ovčieho mlieka pravdepodobne súvisí s rôznymi klimatickými, pôdnymi podmienkami danými v jednotlivých oblastiach chovu oviec, ako aj dodržiavanými zootechnickými a zoohygienickými podmienkami chovu oviec, získavania, prvotného ošetrenia a spracovania mlieka v podmienkach Slovenska. Pri hodnotení hygienických podmienok pri dojení sme mohli konštatovať, že tieto boli na väčšine produkčných hospodárstiev a salašov splnené. Len vo výnimočných prípadoch sme zistili, že sa nevykonáva primárna toaleta vemena a neoddeľujú sa prvé streky mlieka. Na zachytávanie prvých strekov mlieka sa veľmi ojedinele používa špeciálna nádoba s čiernym dnom, resp. sa prvé streky vydávajú do osobitného vedra, určeného na tento účel. Väčšina producentov odstrekuje prvé streky mlieka na zem, a to v priestore vyhradenom na priame dojenie oviec.

Dezinfekcia strukov bahnic po ukončení dojenja sa vykonáva len u bahnic, ktorých mliečna žľaza sa dojičovi javí ako zmenená. (napr. viditeľné poranenie kože mliečnej žľazy, lézie na mliečnej žľaze, zatuhnutie parenchýmu).

Burdová et al. (2007) uvádzajú, že práve dezinfekcia strukov po dojení schváleným dezinfekčným prípravkom je významným krokom, ktorý redukuje prestup mikroorganizmov cez strukový kanál do cisterny, resp. ďalej do parenchýmu vemena po ukončení dojenja, kedy je sfinkter strukového vývodu otvorený najmenej 30 minút.

Používanie princípov toalety vemena, ktoré popisujú Burdová et al. (2007) pri zvyšovaní kvality kravského mlieka na farme platia aj pre bahnice. Dodržanie všetkých hygienických zásad pri dojení bude mať vždy za následok získania vysokokvalitného mlieka a zníženie finančnej straty pri získavaní a prvotnom ošetrení ovčieho mlieka v poľnohospodárskej prvovýrobe. Paape et al. (2001), Contreras et al. (2003) uvádzajú, že u malých prežúvavcov sa dezinfekcia strukov vykonáva len u vysoko infikovaného stáda. Pritom kontrola kvality

dezinfekčného používaného prípravku je tiež veľmi dôležitá, pretože niektoré vzplanutia mastitíd poukázali na nedostatočnú dezinfekciu, následkom čoho došlo napr. u oviec k vzniku mastitíd baktériou *Serratia marcescens* (Tzora a Fthenakis, 1999).

Prítomnosť *S. aureus* v mlieku, sa dáva do pozornosti nielen z dôvodu možného vzniku kontagióznej mastitídy oviec, ale aj z dôvodu možnej produkcie stafylokokových enterotoxínov, ktoré sú nebezpečné pre ľudí.

Zistilo sa, že aj stafylokoky iné ako *Staphylococcus aureus* môžu za určitých podmienok produkovať enterotoxíny (Laffan et al., 1996; Udo et al., 1999). Druhy, ktoré sú menej obvykle označované ako patogénny zahrňujú *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus schleiferi*, *Staphylococcus simulans* a *Staphylococcus warneri*.

Druhy stafylokokov, ktoré sú ojedinele izolované u pacientov v humánnej medicíne sú *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus lentus* a *Staphylococcus xylosus*. Koagulázonegatívne stafylokoky izolované zo zdrojov zvierat zahrňujú *Staphylococcus arlettae*, *Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus caseolyticus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus gallinarum*, *Staphylococcus hyicus* (koagulázo variabilný), *Staphylococcus kloosii*, *Staphylococcus lentus* a *Staphylococcus sciuri* a *Staphylococcus intermedius* (Edwards et al., 1997; Bautista et al., 1988), pričom *Staphylococcus*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus simulans* a *Staphylococcus chromogenes* patria medzi najčastejšie izolované KNS pri perzistujúcich intramamárných infekciách oviec a kôz (Contreras et al., 2003; Bergonier et al., 2003).

Výskyt KNS v individuálnych vzorkách ovčieho mlieka môže signalizovať výskyt subklinickej mastitídy v stáde oviec, nakoľko táto skupina mikroorganizmov predstavuje vysoko prevalentné patogény podieľajúce sa na vzniku tohto ochorenia. Aj keď KNS sú menej patogénne ako *S. aureus*, práve KNS môžu vyvolávať perzistentne sa vyskytujúcu subklinickú mastitídu (Contreras et al., 1997; Ariznabarreta et al., 2002). Navyše, patogenita KNS vyvolávajúca intramamárne infekcie u malých prežúvavcov je veľmi rozdielna a pritom nie je mechanizmus patogenity subklinických infekcií dostatočne známy (Gonzalo et al., 2002; Winter et al., 2002; Leintner et al., 2004).

Z vyšetrených vzoriek surového ovčieho mlieka sme izolovali kmene *S. aureus*, z ktorých 35 izolátov bolo nositeľmi stafylokokových enterotoxínových génov *sea* (4 %), *sec* (48 %) a *sed* (48 %). Holečková et al. (2002) uvádzajú vo svojich prácach vysokú variabilitu v detekcii enterotoxínových génov PCR metódou. Tkáčiková et al. (2003) izolovali z 87 izolátov *S. aureus* zo vzoriek ovčieho syra tri enterotoxínové gény (*seb*, *sec*, *sed*), a to vo frekvencii *sec* 33,3 %, *sec* 33,3 % a *sec* + *sed* 33,3 %. Výsledky poukazujú na to, že väčšina enterotoxín pozitívnych stafylokokov je nositeľmi génov pre produkciu enterotoxínov typu *sec* a *sed*.

Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že stafylokoky sa v surovom ovčom mlieku vyskytujú pravidelne, sú rôzneho biotypu a môžu sa podieľať na vzniku

subklinických mastitíd u oviec. Rovnako sa ukázalo, že potvrdené izoláty *S. aureus* z ovčieho mlieka sú nositeľmi enterotoxínových génov *sec*, *sed* a *sec* + *sed* takmer v rovnomernom zastúpení.

Mlieko a mliečne výrobky predstavujú vhodné médium pre rast patogénnych mikroorganizmov, nevynímajúc enterotoxigénne kmene *Staphylococcus aureus*. Už Minor a Marth (1976) zhrnuli vo svojej práci informácie o prítomnosti *Staphylococcus aureus* a jeho syntéze enterotoxínov v mlieku a mliečnych výrobkoch. Táto práca zahrňuje diskusiu nielen o možných stafylokokových enterotoxikózach, ale aj o faktoroch, ktoré ovplyvňujú rast stafylokokov a produkciu enterotoxínov. Mlieko sa nepodieľa na vzniku veľkého počtu ochorení na rozdiel od iných druhov mliečnych výrobkov, ako napr. sušené mlieko a syry. Nedávna stafylokoková enterotoxikóza v Japonsku ale potvrdila, že aj pasterizované mlieko môže predsa byť príčinou hromadnej stafylokokovej enterotoxikózy, a to v prípade, ak sa hrubo zanedbá úroveň sanitácie v mliekarenskom závode. Z toho vyplýva, že problematike kvality a bezpečnosti ovčieho mlieka sa musí venovať veľká pozornosť zo strany kontrolných orgánov. Ovčie mlieko predstavuje veľmi cennú surovinu v zmysle svojho spracovania predovšetkým na hrudkový syr a bryndzu. Bryndza získava na popularite a atraktivnosti nielen na slovenskom území, ale aj v ďalších členských krajinách EÚ. Získané poznatky sú využiteľné priamo v praxi, pretože poskytujú ucelený prehľad o výskyte KNS stafylokokov v oblasti Slovenska, kde je najviac sústredené získavanie a spracovanie ovčieho mlieka na hrudkový syr a bryndzu.

Z hľadiska dodržiavania hygienického spôsobu získavania a spracovania ovčieho mlieka je potešiteľné, že spracovatelia ovčieho mlieka poznajú základné hygienické pravidlá získavania a spracovania ovčieho mlieka a vo väčšine prípadov ich aj dodržiavajú. Aj pri ručnom dojení oviec sa možno stretnúť s používaním utierok na očistenie vemena pred dojením, s odstriekavaním prvých strekov mlieka a zmyslovým posúdením mlieka, ktoré sú rutinnou záležitosťou pri strojovom dojení bahníc, rovnako ako dezinfekcia strukov po ukončení dojenja, aj keď v tomto prípade je tento úkon používaný len v prípade viditeľných klinických zmien na mliečnej žľaze.

S dodržiavaním hygienického programu dojenja súvisí aj mikrobiologická kvalita surového ovčieho mlieka, ktorá sa následne odrazí v kvalite finálneho výrobku, t. j. ovčieho hrudkového syra, resp. bryndze. V čerstvo nadojenom mlieku získanom od zdravých oviec možno zistiť nasledovné skupiny mikroorganizmov: mikrokoky z vemena oviec; mikroorganizmy, ktoré nevyvolávajú zmeny mlieka a nie sú nebezpečné pre človeka. V ojedinelých prípadoch môžu na povrchu mlieka vyvolať rôzne farebné zmeny, ako napr. *Pseudomonas* spp., *Sarcina* spp., *Saccharomyces* spp.). Dôležitú skupinu tvoria baktérie mliečného kvasenia, najmä rod *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, ktoré majú význam z hľadiska zabezpečenia správneho priebehu kvasenia a zrenia hrudkového syra. Pri predzretí ovčieho hrudkového syra pôsobia najmä baktérie typu *Streptococcus lactis* a *Lactobacillus* spp. a syr dosahuje pH 4,9. Vlastné zrenie môže mať primárny charakter, kedy dochádza k štiepeniu bielkovín a sekundárny, pri ktorom dochádza k oxidácii kyseliny mliečnej, ale aj k štiepeniu

tuku a bielkovín. Okrem toho, počas vlastného zrenia dochádza k rastu a enzymatickej činnosti mikroskopických húb rodu *Geotrichum*, kvasiniek a aeróbných baktérií na povrchu syra a anaeróbných baktérií vo vnútri syra. Činnosťou celej tejto širokej skupiny mikroorganizmov sa v priebehu zrenia syra vytvárajú charakteristické senzorické vlastnosti syra. V prípade nedodržania hygienických podmienok pri získavaní a ošetrovaní a spracovaní ovčieho mlieka na hrudkový syr sa môžu nachádzať v ovčom mlieku nežiaduce mikroorganizmy, ktoré možno charakterizovať ako nežiaduce z hľadiska technologického a nežiaduce z hľadiska hygienického. Svojou prítomnosťou a činnosťou môžu vyvolať rôzne chyby ovčieho hrudkového syra. Do tejto skupiny mikroorganizmov môžeme zaradiť koliformné baktérie ako indikátor nedostatočnej hygieny pri získavaní a ošetrovaní ovčieho mlieka, hnilobné baktérie, sporujúce aeróbne a anaeróbne baktérie, plesne a kvasinky iné ako *Geotrichum candidum*. Poslednú skupinu tvoria patogénne mikroorganizmy (najmä *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Shigella* spp., *E. coli*, *Staphylococcus aureus*), ktoré sa môžu v ovčom mlieku vyskytovať v prípade hrubého porušenia zásad správnej výrobnnej praxe a môžu byť príčinou vzniku alimentárnych toxikoinfekcií a enterotoxikóz (**Dudriková, 2000**).

Okrem koliformných baktérií zo surového ovčieho mlieka možno najčastejšie izolovať stafylokoky, a to najmä *S. capitis*, *S. caprae*, *S. cohnii cohnii*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. chromogenes*, *S. saprophyticus*, *S. sciuri*, *S. simulans*, *S. warneri*, *S. xylophilus*, *S. aureus*. V ojedinelých prípadoch možno v ovčom mlieku izolovať napr. *Aerococcus viridans*, *Micrococcus luteus*, *Lactobacillus lactis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Pantoea* spp. a pod. Z mikroskopických vláknitých húb v ovčom mlieku sa zisťujú najmä rody *Cladosporium*, *Penicillium* a *Acremonium*, *Aspergillus*, *Microsporium*, *Paecilomyces* a *Scopulariopsis*.

Uvedené skupiny mikroorganizmov, ktoré tvoria typickú i netypickú mikroflóru surového ovčieho mlieka netreba v žiadnom prípade podceňovať. V mnohých prípadoch možno nález nežiaducich skupín mikroorganizmov dať do súvislosti s hygienickými podmienkami na jednotlivých salašoch.

Najčastejšie chyby z hygienického hľadiska, ktoré sme zistili na salašoch boli pavučiny tak v ustajňovacích priestoroch, ako aj v dojárnach a mliečniciach, nedostatočné utesnenia dverí a okien, prítomnosť nežiaduceho hmyzu, najmä múch, špinavé podlahy a steny, v horúcom letnom období vyššie teploty v skladoch určených na zretie syra ako je povolená norma, nedostatočná hygiena zamestnancov, nedostatočná čistota tela dojných oviec.

ZÁVER

Naše výsledky poukazujú na to, že v chovoch oviec sa na Slovensku najviac izolujú koagulázovo negatívne stafylokoky, ktoré pri nedodržaní všetkých hygienických zásad získavania, prvotného ošetrovania a spracovania ovčieho mlieka môžu predstavovať problém najmä v zmysle vzniku perzistentných subklinických mastitíd oviec.

Na druhej strane, pomerne nízky výskyt *S. aureus* v nami odobratých individuálnych vzorkách surového ovčieho mlieka, z ktorých až 35 izolátov bolo nositeľmi stafylokokových enterotoxínových génov *sea* (4 %), *sec* (48 %) a *sed* (48 %) naznačuje, že je potrebné tejto problematike venovať pozornosť aj naďalej, pretože v prípade nedodržania podmienok spracovania mlieka a najmä doby zretia hrudkového ovčieho syra môže v syre dochádzať k takému pomnoženiu baktérie *S. aureus*, ktoré bude mať za následok tvorbu stafylokokových enterotoxínov.

LITERATÚRA

- ARIZNABARETTA, A., GONZALO, C., PRIMITIVO, F. S. 2002. Microbiological quality and somatic cell count of ewe milk with special reference to staphylococci. In *J. Dairy Sci.*, vol. 85, 2002, p. 1370-1375.
- BAUTISTA, L. et al. 1988. A quantitative study of enterotoxin production by sheep milk staphylococci. In *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 54, 1988, 56-65.
- BEDNÁŘ, M., FRAŇKOVÁ, V., SCHINDLER, J., SOUČEK, A., VÁVRA, J. 1996. *Lékařská mikrobiologie*. Praha, Marvil, ISBN 80 217 0282 6.
- BERGONIER, D., BERTHELOT, X. 2003: new advances in epizootology and control of ewe mastitis. In *Livestock Prod. Sci.*, vol. 79, 2003, p. 1-16.
- BIGGS, A. 2009. *Mastitis in cattle*. Crowood Press Ltd. Ramsbury, Marlborough. ISBN 978 1 84797 0 71 8.
- BURDOVÁ, O., LAUKOVÁ, A., KORÉNEKOVÁ, B., BARANOVÁ, M., BENGIN, V., PAŽÁKOVÁ, J. 2007. *Staphylococcus aureus* – biologické riziko v procese zretia hrudkového syra. IN: Zb. Hygiena Alimentorum XXVIII. Štrbské Pleso, 2.-4. mája 2007, p. 248-253.
- CASALI, C., DURANTI, E., MORBIDINI, L., PANELLA, F., VIZIOLI, V. 1989. Quantitative and compositional variations of Massese sheep milk by parity and stage of lactation. In *Small Ruminant Res.*, vol. 2, 1989, p. 47-62.
- CONTRERAS, A., CORRALES, J. C., SÁNCHEZ, A., SIERRA, D. 1997. Persistence of subclinical intramammary pathogens in goats throughout lactation. In *J. Dairy Sci.*, vol. 80, 1997, p. 2815-2819.
- CONTRERAS, A., LUENGO, C., SÁNCHEZ CORRALES, J. C. 2003. The role of the intramammary pathogens in dairy goats. In *Livestock Prod. Sci.*, vol. 79, p. 273-283.
- DARIO, C., LAUDADIO, V., BUFANO, G. 1995. Characteristics of Leccese sheep. II. Quantitative and qualitative variations in milk during lactation. In *Latte*, 20, 1995, 1266-1269.
- LEINTNER, G., CHAFFER, M., SHAMAY, A., SHAPIRO, F., MERIN, U., EZRA, E., SARAN, A., SILANIKOVE, S. 2004. Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in sheep. In *J. Dairy Sci.*, vol. 87, 1995, p. 46-52.
- DUDRIKOVÁ, E. 2000. Vplyv mikrobiálnej kontaminácie mlieka a reziduí niektorých antibiotík na hygienickú a technologickú kvalitu surového kravského mlieka. Habilitačná práca, Košice, 2000, 169 p.
- EDWARDS, V.M. et al. 1997. Characterization of the canine type C enterotoxin produced by *Staphylococcus intermedius* pyoderma isolates. In *Infect. Immun.*, 65, p. 2246-2352.
- FENYVESSY, J., CSANADI, J. 1999. Nutritional evaluation of components of small ruminants' (ewe's, goat's) milk. In *Tejgazdasag*, vol. 59, 1999, p. 23-26.

- GONZALO, C., ARIZNABARRETA, A., CARRIEDO, J. A., PRIMITIVO, F. S. 2002. Mamary pathogens and their relationship to somatic cell count and milk yield losses in dairy ewes. In *J. Dairy Sci.*, vol. 85, p. 1460-1467.
- HARDY, G. 2000. The nutritional value of sheep milk: a natural supplement for clinical nutrition. In: Proceed. Int. Development Strategy for the Sheep and Goat Dairy Sector, Nicosia, Cyprus, April 13-14, 2000, Brit. Sheep Dairy News, vol. 17, no 1, p. 23-24.
- HEIN, I., JØRGENSEN, H. J., LONCAREVIC, S., WAGNER, M. 2005. Quantification of *Staphylococcus aureus* in unpasteurised bovine and caprine milk by real-time PCR. In *Res. Microbiol.*, 156, p. 554-563.
- HERIAN, K. 2007. Súčasnosť a perspektíva ovčieho a kozieho mliekarstva na Slovensku. In: Zborník Hygiena Alimentorum XXVIII, Štrbské Pleso - Vysoké Tatry, 2., 4. máj, 2007, s. 51-57.
- HOLEČKOVÁ, B., HOLODA, E., FOTTA, M., KALINÁČOVÁ, V., GONDOL, J., GROLMUS, J. 2002. Occurrence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in food. In *Ann. Agric. Environ. Med.*, vol. 9, p. 179-182.
- LAFFAN, J. J., PETRAS, P., LAMBE, D.W. Jr. 1996. A high molecular weight protein from *Staphylococcus intermedius* cross-reacts with *Staphylococcus aureus* enterotoxin enterotoxin antibodies. In *Microbios*, vol. 88, 1996, p. 237-251.
- MARGENTÍN, M. 1996. Present state in sheep breeding in Slovakia, with regard to somatic cell counts. In: Proceed. Int. Symposium Somatic cells and milk of small ruminants. Bella, Italy, Sept. 25-27, 1996, p. 321-322.
- MARTINEAU, F. et al. 1998. Species-specific and ubiquitous-DNA-based assays for rapid identification of *Staphylococcus aureus*. In *J. Clin. Microbiol.*, vol. 36, p. 618-623.
- MINOR, T. E., MARTH, E. H. 1976. Staphylococci and their significance in food. Theodor E. Minor and Elmer H. Marth Elsevier Scientific Pub. Co., Amsterdam, New York, ISBN 13 9780 4444 13390.
- PAAPE, M. J., POULTREL, B., CONTRERAS, A., MARCO, J. C., CAPUCO, A. V. 2001. Milk somatic cells and lactation in small ruminants. *J. Dairy Sci.*, vol. 84 (Suppl.), 2001, p. E237-E244.
- POSATI, L. P., ORR, M. L. 1976. Composition of foods, dairy and egg products. USDA-ARS, Consumer & Food Economics Inst. Publ., Washington, D.C., Agr. Handbook, No. 8-1, p. 77-109.
- SAMBROOK, J., FRITSCH, E. F., MANIATIS, T. 1989. *Molecular Cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor. New York, 253 p.
- STROMMINGER, B., KETTLITZ, C., WERNER, G., WITTE, W. 2003. Multiplex PCR assay for simultaneous detection of nine clinically relevant antibiotic resistance genes in *Staphylococcus aureus*. In *J. Clin. Microbiol.*, vol. 41, p. 4089 – 4094.
- TKÁČIKOVÁ, Ľ., TESFAYE, A., MIKULA, I. 2003. Detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxin by PCR. In *Acta Vet. Brno*, vol. 72, 2003, p. 627-630.
- TZORA, A., FTHENAKIS, G. C. 1999. Mastitis associated with *Serratia marcescens* in dairy ewes. In 6th International Symposium on the milking small ruminants. Atenas (Grecia). Milking and milk production of dairy sheep and goats. Ed. Barillet, F., Zervas, N.P., Wageningen Pers., p. 142-143.
- UDO, E. E., AL-BUSTAN, M. A., JACOB, L. E., CHUGH, T. D. 1999. Enterotoxin production by coagulase-negative staphylococci in restaurant workers from Kuwait City may be a potential case of food poisoning. In *J. Medical Microbiol.*, vol. 48, 1999, p. 819-823.
- WINTER, P., SCHILCHER, F., BAGO, Z., SCHODER, D., EGERBACHER, M., BAUMGARTNER, W., WAGNER, M. 2004. Clinical and histopathological aspects of naturally occurring mastitis caused by *Listeria monocytogenes* in cattle and ewes. In *J. Vet. Med.*, Series B 51, 2004, p. 176-179.

PodĎakovanie: práca bola riešená o.i. aj projektom KEGA MŠ SR č. 3/128-001UVL-4/2010 a VEGA VEGA MŠ SR č. 1/0638/09.

Kontaktná adresa:

doc. MVDr. Eva Dudriková, PhD., University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Institute of Hygiene and technology of milk, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia, e-mail: dudrikova@uvm.sk

MVDr. Lucia Poľáková, University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Institute of Hygiene and technology of milk, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia, e-mail: polakova@uvm.sk

MVDr. Pukáčová Jana, Regional Veterinary and Food Administration Dolný Kubín, Pelhřimovská 2055/7, 02601 Dolný Kubín, Slovakia, e-mail: jana.pukacova@gmail.com

THE CONSUMPTION OF ACIDOPHYLUS DRINKS AND YOGURTS IN SELECTED POPULATION OF PUPILS IN YEARS 2004 AND 2008.

Marta Habánová, Marta Lorková, Jana Kopčėková

ABSTRACT

The aim of this paper was to compare the frequency of consumption and the amount of consumed acidophylus drinks and yogurts at 427 respondents from various schools at the age between 12 and 26 years in two monitored years. 223 males and 204 females participated at the survey. The questionnaire again confirmed low level of yogurts and acidophylus drinks consumption. The consumption of white yogurts was confirmed only by 2 % of questioned pupils. Fruit yogurts are more popular among pupils and it is necessary to say that we registered the increase of fruit yogurts consumption in year 2008, mainly in cream fruit yogurts. The daily consumption of these increased with male population from 14.8 % in year 2004 to 26.2 % in year 2008. The significant increase of consumption occurred also with female population of half-fat yogurts and the similar trend was also noticed in low-fat fruit yogurts, mainly within the female population. The consumption of clabber, acidophylus drinks and buttermilk, according to our survey in year 2008 went up in comparison with year 2004 in male population by 8.3 % and with female population by 9.5 %. Based on the monitored frequency of consumption a few times per week we detected growing trend in yogurt and acidophylus beverages, which we evaluate as the positive sign.

Keywords: yogurt, acidophylus drink, frequency of consumption, health

ÚVOD

V období prechodu detského veku do adolescence prebieha veľa zmien vrátane zmien v spôsobe stravovania. Pozoruhodná je predovšetkým znížená konzumácia mlieka (Chan et al., 1995). Mlieko a mliečne výrobky sú jednou zo základných zložiek racionálnej výživy. Okrem základných živín a príslušnej energie poskytuje ľudskému organizmu mnoho látok, ktoré sa vyznačujú nielen významnými výživovými, funkčnými, ale aj zdravotnými účinkami (Valík, 2006; Babinská, 2005). Moorman a Terry (2004) uvádzajú, že iba 40 % chlapcov a 29 % dievčat vo veku 6-11 rokov a 30 % chlapcov a 12 % dievčat vo veku 12 – 19 rokov skonzumuje odporúčané množstvo mlieka podľa ich veku. Príjem mlieka v detstve a v adolescentom veku vplýva na zvýšenie kostnej hmoty a denzity v dospelosti (Kalkwarf et al., 2003) a tento vzťah je významný (Bonjour et al., 1997). Jednou zo súčastí vyváženého stravovania sú aj kyslomliečne produkty. Ich priaznivé účinky na ľudský organizmus sú známe už od začiatku 20. storočia zásluhou priekopníckych prác Mečnikova (Fuller, 1991), ktorý vyslovil názor, že jogurtové baktérie prechádzajú pri konzumácii jogurtu cez celý tráviaci trakt človeka a usídľujú sa v hrubom čreve. Potupne bolo zistené, že pravé jogurtové baktérie neprežívajú prechod cez žalúdok s jeho veľmi kyslým prostredím s obsahom aktívnych enzýmov. Toto kyslé prostredie devitalizuje veľkú väčšinu baktérií pohltých v potrave a žiaľ aj jogurtové baktérie. Tieto baktérie navyše neznášajú žlč, ktorá sa primiešava do natrávanej potravy. Týmto novými poznatkami bol vyvrátený pôvodný Mečnikov názor. Na umelé osídlenie hrubého čрева baktériami mliečného kvasenia a ich trvalej prítomnosti v ňom, boli odborníkmi vyvinuté nové, tzv. probiotické kyslé mlieka a jogurty (Gill a Guarner, 2004; Valík, 2005; Parvez et al., 2006). Probiotiká sú živé mikroorganizmy, ktoré majú priaznivý účinok na zdravie konzumentov, spôsobený úpravou zloženia ich črevnej mikróflóry (Mikula et al., 1998). Ich pozitívne pôsobenie v čreve človeka je založené na viacerých mechanizmoch. Jeden z nich spočíva v stimulácii imunitného systému konzumenta, iný spočíva v aktivite metabolitov črevných

baktérií mliečného kvasenia. Z hlavných metabolitov sú v tomto smere významné nižšie organické kyseliny: kyselina mliečna, octová, mravčia a propiónová. Z vedľajších metabolitov sú to bakteriocíny: nizin, pediococín, helveticín a plantaricín. Nižšie mastné kyseliny pôsobia baktericídne na niektoré črevné choroboplodné baktérie, ako sú *Salmonella typhimurium*, *Clostridium difficile*, *Shigella sp.* a iné. Probiotické jogurty sú vhodné pre všetky skupiny obyvateľstva, dokonca aj tie, ktoré sladké mlieko, pre horšiu využiteľnosť laktózy odmietajú (Kopčėková, Šramková, 2005; Valík, 2005). Navyše existuje dnes spoľahlivý, ľahko dostupný spôsob prispôbenia sa súčasným potrebám rôznych skupín obyvateľstva, napr. voľbou mliečnych výrobkov s nízkym obsahom tuku, bezlaktózových výrobkov alebo rôznych kyslomliečnych výrobkov (Kajaba, 1996). Mliečne produkty sú často spájané s možným rizikom kardiovaskulárnych ochorení. Lecerf (2010) sledoval rizikové faktory (tlak krvi, plazmové lipidy, hmotnosť) vo vybranej populácii a uvádza, že normálna konzumácia mliečnych výrobkov nie je v rozpore s dobrým kardiovaskulárnym zdravím. Sadzadeh-Yeganeh et al. (2010) zisťovali efekt probiotických a konvenčných jogurtov na lipidový profil žien a v oboch prípadoch zaznamenali pozitívne zmeny v lipidovom profile. Temine (2002) prezentoval štúdiu o súčasných vedeckých poznatkoch probiotických fermentovaných mliečnych produktov od historického vývoja cez výrobu s rozdelením jednotlivých produktov až po nutričné aspekty. Na základe viacerých klinických štúdií skonštatoval, že benefity a prospešnosť konzumácie týchto výrobkov pre zdravie človeka sú nespochybniteľné. Napriek tomu, že spotreba mlieka a mliečnych výrobkov je nízka, Šajbidorová (2009) na rok 2008 v situačnej a výhľadovej správe odhaduje, že spotreba jogurtov bude vzrastať, pričom v roku 2007 zostala na rovnakej úrovni ako v roku 2006. Spotreba čerstvých mliečnych výrobkov je ďalším hnacím motorom výroby mlieka a mliečnych výrobkov v Európskej únii. Existujú dva vedľajšie trendy. Na jednej strane sa znižuje spotreba mlieka na pitie. Na druhej strane sa zvyšuje spotreba fermentovaných mliečnych výrobkov. Predpokladá sa, že celková spotreba bude ďalej rásť ročne

o 0,5 % alebo 0,25 milióna ton ekvivalentov mlieka. V roku 2014 to znamená ďalšiu spotrebu mlieka v množstve 1,75 milióna ton (**Výhľady trhu pre sektor mlieka a mliečnych výrobkov, 2007**). Cieľom práce bolo porovnať spotrebu vybraných mliečnych produktov v dvoch sledovaných rokoch na vybraných základných, stredných a vysokých školách.

MATERIÁL A METÓDY

Porovnávali sme konzumáciu jednotlivých druhov mliečnych výrobkov vo vybranej populácii vekovej kategórie 12 až 26 rokov, prostredníctvom dotazníkového prieskumu, ktorý sa uskutočnil v rokoch 2004 a 2008.

Súbor tvorilo 427 respondentov. V roku 2004 to bolo 226 respondentov, ktorí boli vybratí náhodným výberom zo žiakov štyroch škôl, a to Základnej školy na Hradnej ulici v Liptovskom Hrádku (ZŠ), z Gymnázia Michala Miloslava Hodžu (GMMH), zo Strednej odbornej školy poľnohospodárskej v Liptovskom Mikuláši (SOŠP) a z Katolíckej univerzity v Ružomberku (KU). Muži predstavovali skupinu so 124 členmi s priemerným vekom 17,9 rokov a ženy tvorili skupinu 102 respondentiek s priemerným vekom 18,1 rokov. V roku 2008 sa prieskumu zúčastnilo 201 náhodne vybraných respondentov, ktorí mali reprezentovať približne rovnakú skupinu populácie. Tiež boli zo štyroch škôl, a to Základnej školy na Hradnej ulici v Liptovskom Hrádku, z Obchodnej akadémie (OA) a zo Strednej odbornej školy stavebnej v Žiline (SOŠS) a zo Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre (SPU). Vekový priemer 99 mužov bol 17,6 rokov a vekový priemer 102 člennej skupiny žien bol 18 rokov.

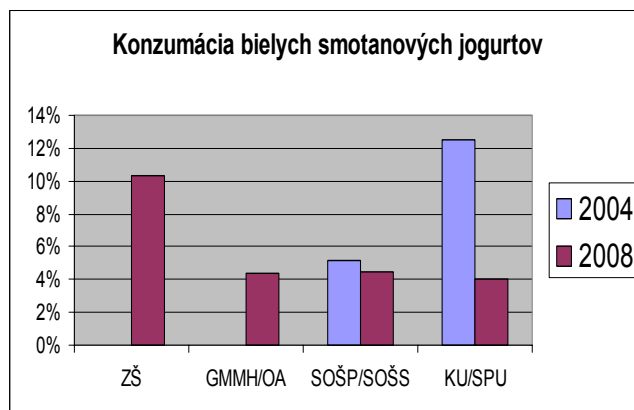
V dotazníku sme sledovali konzumáciu daných výrobkov v niekoľkých frekvenciách, a to v dennej, niekoľko krát za týždeň, raz za týždeň, niekoľko krát mesačne, zriedka a v žiadnej konzumácii. Frekvenciu konzumácie si samotní respondenti vyberali podľa toho, aby čo najpodrobnejšie a najpresnejšie charakterizovali svoje stravovacie zvyklosti. Sledovali sme konzumáciu jogurtov, kde sme osobitne hodnotili konzumáciu bielych a ochutených jogurtov a pri každom z druhov aj rozlíšenie podľa obsahu tuku na smotanové, polotučné a nízkotučné. Ďalšou sledovanou položkou bola konzumácia kyslomliečnych nápojov v podobe kyslého mlieka, acidofilného mlieka a cmaru. Pre približné určenie spotrebovaného množstva daných mliečnych výrobkov sme v dotazníku žiadali respondentov aj o uvedenie priemernej týždennej spotreby daných výrobkov, pričom spotreba kyslomliečnych nápojov mala byť uvedená v litroch a spotreba jogurtov v kusoch, kde sme za jeden kus považovali jogurt o hmotnosti 125 až 150 g.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

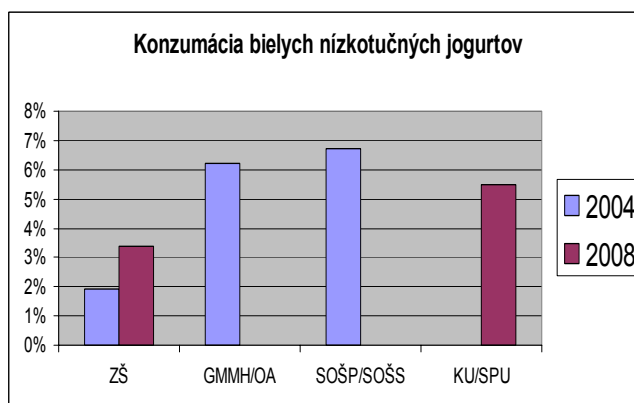
Jogurty

Pri konzumácii jogurtov sme sa jednotlivo zamerali na jogurty biele a ochutené s rozličným obsahom tuku. V roku 2004 dennú konzumáciu bielych smotanových jogurtov uvádzalo iba 0,7 % mužov, pričom v roku 2008 sa zaznamenal nárast o 5,8 %. Miernejšie vzrástla konzumácia aj polotučných a to z 2 % na 3,9 %. Pri nízkotučných jogurtoch sme v roku 2008 zaznamenali pokles konzumácie o 1,2 %. U žien v roku 2008 poklesla denná konzumácia bielych smotanových jogurtov o 2,7 % aj polotučných jogurtov o 1,7 %. Mierny nárast oproti roku

2004 nastal pri konzumácii bielych nízkotučných jogurtov z 2,8 % na 3,7 %. V oboch rokoch sa najvyššie percento žiadnej (nulovej) konzumácie zaznamenalo pri bielych nízkotučných jogurtoch, kde túto komoditu nekonzumovalo viac ako 60 % populácie žiakov. Porovnanie konzumácie bielych smotanových jogurtov a bielych nízkotučných jogurtov na sledovaných školách v jednotlivých rokoch vyjadruje obr. 1 a obr. 2.



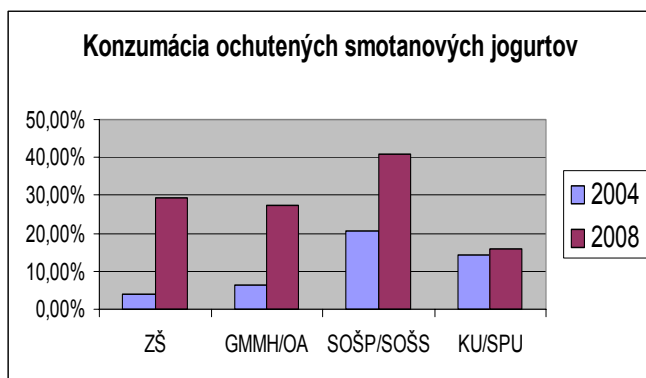
Obr. 1 Konzumácia bielych smotanových jogurtov na jednotlivých školách v rokoch 2004 a 2008 v dennej frekvencii



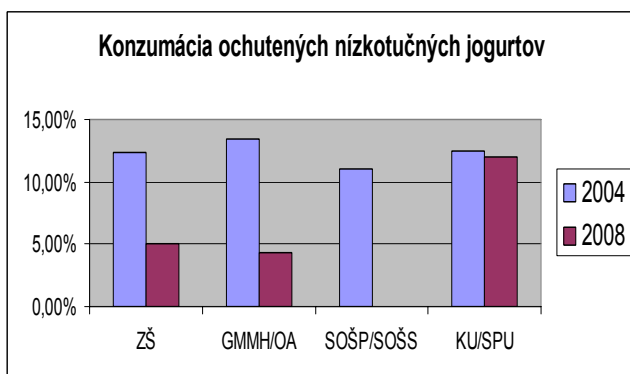
Obr. 2 Konzumácia bielych nízkotučných jogurtov na jednotlivých školách v rokoch 2004 a 2008 v dennej frekvencii.

Ochutené jogurty sú obľúbenejšie u väčšej časti populácie. Vyjadrujú to aj nasledovné výsledky. Denná konzumácia ochutených smotanových jogurtov stúpala v roku 2008 oproti roku 2004 u mužov zo 14,8 % na 26,2 % a výrazný nárast konzumácie nastal aj u žien, a to zo 7,6 % na 27 %. Len mierne sa znížila konzumácia polotučných jogurtov u mužov v roku 2008 (o 3,8 %) a u žien zostala takmer na rovnakej úrovni. Pri nízkotučných ochutených jogurtoch sa zaznamenal pokles konzumácie, pričom výraznejší bol u žien (zo 14,5 % na 6,6 %). Najmenej ochutených jogurtov konzumovali muži a to najmä nízkotučných, v roku 2004 to bolo 56,1 % a v roku 2008 až 70,9 % respondentov.

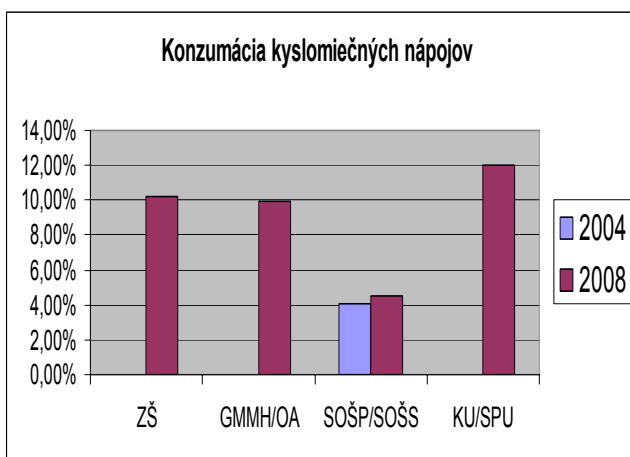
Porovnanie konzumácie ochutených smotanových a nízkotučných jogurtov na jednotlivých školách v sledovaných rokoch je uvedené na obr. 3 a obr. 4.



Obr. 3 Konzumácia ochutených smotanových jogurtov na jednotlivých školách v rokoch 2004 a 2008 v dennej frekvencii.



Obr. 4 Konzumácia ochutených nízkotučných jogurtov na jednotlivých školách v rokoch 2004 a 2008 v dennej frekvencii.



Obr. 5 Konzumácia kyslomliečnych nápojov na jednotlivých školách v roku 2004 a 2008 vo frekvencii niekoľko krát do týždňa.

Kyslomliečne nápoje

Pod konzumáciu kyslomliečnych nápojov sme zahrnuli konzumáciu kyslého mlieka, acidofilného mlieka a cmaru. Nakoľko ich denná konzumácia nie je až tak významná, sledovali sme frekvenciu konzumácie niekoľko krát do týždňa. V roku 2008 sme oproti sledovanému roku 2004 zaznamenali výrazný nárast konzumácie tak u mužov ako aj u žien. V mužskej populácii to predstavovalo nárast o 8,3 % a u žien to bolo o 9,5 %.

Porovnanie konzumácie kyslého mlieka, acidofilného mlieka a cmaru na jednotlivých školách za sledované obdobie znázorňuje obr. 5.

Spotrebované množstvá

Pri porovnaní spotrebovaných množstiev sa týždenná konzumácia bielych jogurtov u oboch pohlaví výrazne nezmenila. Pozitívny je fakt, že pri konzumácii ochutených jogurtov sme zaznamenali nárast v týždennej konzumácii u mužov takmer o celý 1 kus, pričom u žien nebol nárast konzumácie taký výrazný (tab. 1 a tab. 2).

V našom prieskume konzumácie jogurtov žiaci a študenti najviac siahali po ochutených jogurtoch, a to najmä smotanových, kde u mužov sa zaznamenal nárast v konzumácii oproti sledovanému roku o 11,4 % a u žien takmer o 20 %. Takáto veľká zmena je na úkor konzumácie polotučných a nízkotučných jogurtov, pri ktorých sme zaznamenali zníženie konzumácie. Na rozdiel od nás Šramková a Jurkemiková (2003) uvádzajú, že študenti najradšej konzumujú ochutené ovocné jogurty, ale aj nízkotučné. Preferenciu nízkotučných jogurtov a ich najčastejšiu konzumáciu uvádza Šramková (2004). Konzumácia kyslého mlieka, acidofilného mlieka a cmaru podľa našich výsledkov v roku 2008 stúpila oproti sledovanému roku 2004. Tento vzrastajúci trend sa zaznamenal aj pri jogurtoch. Podobné výsledky uvádza aj Šajbidorová (2009), ktorá predpokladá nárast konzumácie kyslého mlieka až o 1,1 kg na obyvateľa a rok.

V konzumácii bielych a ochutených jogurtov sme zaznamenali priemerne skonsumované množstvo takmer 2 kusy na žiaka za týždeň, čo je približne 12,4 kg na žiaka a rok. Pri hodnotení konzumácie len ochutených jogurtov sa objavuje omnoho vyššia konzumácia, kde sme zaznamenali konzumáciu niečo viac ako 3 kusy na žiaka za týždeň. Podobné výsledky v konzumácii jogurtov uvádza aj Maľa et al. (2004), ktorý zistil, že študenti Univerzity veterinárneho lekárstva v Košiciach konzumujú 3 až 5 kusov jogurtov za týždeň. Bertková a Petrášová (2009) sledovali frekvenciu konzumácie fermentovaných produktov vo výžive adolescentov a zistili, že vysoké percento študentov konzumuje jogurty s bifidobaktériami niekoľkokrát do týždňa. Ako muži, tak aj ženy uprednostňujú konzumáciu jogurtu pred kefirom, ale až polovica mužov nikdy nekonzumovala kefir. Šajbidorová (2008) uvádza, že spotrebované množstvo všetkých kyslomliečnych výrobkov v roku 2007 bolo 13,5 kg, z

Tab. 1 Priemerne skonsumované množstvá mliečnych výrobkov v roku 2004 a 2008

	Skonsumované množstvo			
	2004		2008	
pohlavie/ priemerný vek	muži /17,9	ženy/18,1	muži /17,6	ženy/18,0
Jogurty biele v ks	0,83	0,67	0,60	0,76
Jogurty ochutené v ks	2,59	3,03	3,65	3,26
Kyslé mlieka v l	0,55	0,21	0,42	0,4

čoho jogurty predstavovali 7,5 kg. Nami zistené priemerne skonzumované množstvo 12,4 kg jogurtov na žiaka a rok, je z celkovej dávky kyslomliečnych výrobkov postačujúce za predpokladu konzumácie aj ďalších kyslomliečnych výrobkov.

ZÁVER

Mlieko a mliečne výrobky môžeme nesporne považovať za produkty, ktoré slúžia na udržanie dobrého zdravia, ako prevenciu niektorých ochorení, a tiež ako podpora pri ich liečbe. Bol preukázateľne dokázaný priaznivý účinok v prevencii rakoviny hrubého čreva (Pufulete, 2008; Cho et al., 2004) a osteoporózy (Uenishi, 2006; Rizzoli, 2008), ako podpora pri liečbe srdcovo-cievnych ochorení, obezity a mnohých ďalších zdravotných problémov. V našom prieskume sme sledovali frekvenciu konzumácie jogurtov a kyslého mlieka vo vekovej kategórii 12 až 26 rokov u žiakov základných, stredných a vysokých škôl. V sledovaných rokoch 2004 a 2008 sa potvrdil vzrastajúci trend v konzumácii jogurtov a kyslého mlieka, a to pri hodnotení frekvencie konzumácie ako aj pri hodnotení skonzumovaných množstiev. V celkom trende nedostatočnej konzumácie mlieka a mliečnych výrobkov sa relatívne uspokojivo preukázala v sledovanej populácii konzumácia jogurtov. U obidvoch týchto komodít sme zaznamenali nárast konzumácie, čo hodnotíme pozitívne, pričom aj naďalej je potrebné šíriť osvetu neustáleho zvyšovania konzumácie týchto produktov predovšetkým u školskej mládeže.

LITERATÚRA

- BABINSKÁ, K. 2005. Výživa bez mlieka. In *Výživa a zdravie*, vol. 49, 2005, no. 2, p. 21.
- BERTKOVÁ, I., PERTÁŠOVÁ, D. 2009. Fermentované produkty vo výžive adolescentov. In *Potravinárstvo*, vol. 3, 2009, no. 3, s. 7-10.
- BONJOUR, J. P., CARRIE, A. L., FERRARI, S., CLAVIEN, H., SLOSMAN, D., THEINZ, G., RIZZOLI, R. 1997. Calcium-enriched foods and bone mass growth in prepubertal girls: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. In *J. Clin. Invest.*, vol. 99, 1997, no. 6, p. 1287-1294.
- FULLER, R. 1991. Probiotics in human medicine. In *Gut.*, vol. 32, 1991, p. 439-442.
- GILL, H. S., GUARNER, F. 2004. Probiotics and human health: a clinical perspective. In *Postgrad Med. J.*, vol. 80, September 2004, no. 947, p. 516-526.
- HERIAN, K. 1994. Nové smery vo vývoji mliečnych výrobkov z pohľadu racionálnej výživy – II. In *Výživa a zdravie*, vol. 39, 1994, no. 4, p. 66. ISSN 0042-9406.
- CHAN, G. M., HOFFMAN, K., MCMURRY, M. 1995. Effects of dairy products on bone and body composition in pubertal girls. In *The Journal of Pediatrics*, vol. 126, 1995, no. 4, p. 551-556.
- CHO, E., SMITH-WARNER, S. A., SPIEGELMAN, D. 2004. Dairy Foods, Calcium, and Colorectal Cancer: A Pooled Analysis of 10 Cohort Studies. In *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 96, 2004, no. 13, p. 1015-1022.
- KALKWARF, H. J., KHOURY, J. C., LANPHEAR, B. P. 2003. Milk intake during childhood and adolescence, adult bone density, and osteoporotic fractures in US women. In *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 77, 2003, no. 1, p. 257-265.
- KAJABA, I. 1996. Mlieko a jeho výrobky vo výžive moderného človeka. In *Výživa a zdravie*, vol. 41, 1996, no. 4, p. 121-122. ISSN 0042-9406.
- KOPČEKOVÁ, J., ŠRAMKOVÁ, K. 2005. Probiotiká ako funkčné zložky potravín v mliečnych výrobkoch. In *Mliekarstvo*, vol. 36, 2005, no. 3, p. 35-36. ISSN 1210-3144.
- LECERF, J. M. 2010. Dairy products and cardiovascular risk. In *Cahier de Nutrition et de Dietetique*, vol. 45, 2010, no. 1, p. 18-26.
- MAĽA, P., BARANOVÁ, M., MARCINČÁKOVÁ, D. 2004. Stupeň poznania a úroveň konzumácie mlieka a mliečnych výrobkov u vysokoškolskej mládeže. In *Hygiena Alimentarum XXV. Zborník prednášok a posterov z medzinárodnej vedeckej konferencie*. Košice : VÚP, 2004, p. 121-125.
- MIKULA, I., SOKOL, A., TKÁČIKOVÁ, E. 1998. Perspektíva probiotík v praxi. In *Bulletin potravinárskeho výskumu*, vol. 3, 1998, p. 120-133.
- MOORMAN, P. G., TERRY, P. D. 2004. Consumption of dairy products and the risk of breast cancer: a review of the literature. In *Am. J. of Clinical Nutrition*, vol. 80, 2004, no. 1, p. 5-14.
- PARVEZ, S., MALIK, K., A. KANG, S. A., KIM, H. Y. 2006. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. In *Journal of Applied Microbiology*, vol. 100, 2006, no. 6, p. 1171-1185.
- PUFULETE M. 2008. Intake of dairy products and risk of colorectal neoplasia. In *Nutr. Res. Rev.*, vol. 21, 2008, no. 1, p. 56-67.
- RIZZOLI R. 2008. Milk products and bone growth. In *Bull. Acad. Natl. Med.*, vol. 192, 2008, no. 4, p. 731-737.
- SADRZADEH-YEGANEH, H., ELMADFA, I., DJAZAYERI, A., JALALI, M., HESHMAT, R., CHAMARY, M. 2010. The effects of probiotic and conventional yoghurt on lipid profile in women. In *Br. J. Nutr.*, vol. 103, 2010, no. 12, p. 1778-83.
- ŠAJBIDOROVÁ, V. 2008. *Mlieko : situačná a výhľadová správa k 31.12.2007*. Bratislava : Výskumný ústav ekonomiky, poľnohospodárstva a potravinárstva, MPSR, 2008, 33 p. ISSN 1337-4486.
- ŠAJBIDOROVÁ, V. 2009. *Mlieko : situačná a výhľadová správa k 31.12.2008*. Bratislava : Výskumný ústav ekonomiky, poľnohospodárstva a potravinárstva, MPSR, 2008, 32 p. ISSN 1337-4486.
- ŠRAMKOVÁ, K. 2004. Mliečne potraviny v strave náhodne vybratej skupiny žiakov. In *Mliekarstvo*, vol. 35, 2004, no. 3, p. 24. ISSN 1210-3144.
- ŠRAMKOVÁ, K., JURKEMIKOVÁ, R. 2003. Mlieko a mliečne výrobky v strave španielskych a slovenských vysokoškolských študentov. In *Mliekarstvo*, vol. 34, 2003, no. 3, p. 44-46. ISSN 1210-3144.
- TAMIME A. Y. 2002. Fermented milks: a historical food with modern applications – a review. In *European J. Clin. Nutr.* 2002 Dec; 56 Suppl. 4:S2-S15.
- UENISHI, K. 2006. Prevention of osteoporosis by foods and dietary supplements. Prevention of osteoporosis by milk and dairy products. In *Clin. Calcium*, vol. 16, 2006, no. 10, p. 1606-1614.
- VALÍK, E. 2005. Jogurtová cesta k zlepšeniu ľudskej výživy. In *Výživa a zdravie*, vol. 49, 2005, no. 1, p. 18-19. ISSN 0042-9406.
- VALÍK, E. 2006. Prospešnosť konzumácie mlieka. In *Výživa a zdravie*, vol. 50, 2006, no. 3-4, p. 15.
- Výhľady trhu pre sektor mlieka a mliečnych výrobkov 2007. [online] [cit. 2010-02-24]. Dostupné na: < http://eur-

lex.europa.eu/LexUriServ/site/sk/com/2007/com2007_0800sk01.pdf>.

Kontaktná adresa:

Ing. Marta Habánová, PhD. Slovak University of Agriculture, Faculty of Agrobiological Sciences and Food Resources, Department of Human Nutrition, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, Tel.: +421376414467, e-mail: Marta.Habanova@uniag.sk.

Ing. Marta Lorková, PhD. Slovak University of Agriculture, Faculty of Agrobiological Sciences and Food Resources, Department of Human Nutrition, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, Tel.: +4213764144210, e-mail: Marta.Lorkova@gmail.com

Ing. Jana Kopčeková, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Agrobiological Sciences and Food Resources, Department of Human Nutrition, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, Tel.: +4213764144249, e-mail: Jana.Kopcekkova@uniag.sk

VERIFICATION OF THE FOOD SAFETY MANAGEMENT SYSTEM IN DEEP FROZEN FOOD PRODUCTION PLANT

Erika Kolajová, Lucia Zeleňáková, Jozef Čapla, Peter Zajác

ABSTRACT

In this work are presented information about production of deep frozen food, microbial risk, critical limits, monitoring and preventive actions to eliminate microbial risk. Legislation requirements are also included. Main focus is given to periodical verification of food safety management system in organization producing deep frozen food. Effectiveness of food safety management system was evaluated against requirements of international standard EN ISO 22000:2005. Nonconformances against requirements of international standard EN ISO 22000:2005 are presented.

Keywords: Food safety management system, ISO 22000, verification, deep frozen food

ÚVOD

Predlžovanie trvanlivosti potravín mrazením

Konzervačné operácie sú podľa Výnosu MP SR a MZ SR č. 981/1996-100, operácie, ktorými sa zabezpečuje predlžovanie trvanlivosti potravín, pričom: abiotická konzervácia je konzervovanie potravín vylučovaním mikroorganizmov z prostredia potravín, a to bmedzovaním kontaminácie, znižovaním počtu mikroorganizmov alebo ich úplným vylúčením z potravín alebo priamou inaktiviáciou mikroorganizmov termosterilizáciou, chemosterilizáciou, anabiotická konzervácia je konzervovanie potravín nepriamou inaktiviáciou mikroorganizmov xenoanabiózou, psychroanabiózou, kryoanabiózou, chemoanabiózou alebo cenoanabiózou.

Paveleková et al., (2006) uvádzajú, že spôsoby úpravy prostredia potravín môžu mať fyzikálny a fyzikálno-chemický, chemický alebo biologický charakter. Do skupiny fyzikálnych a fyzikálno-chemických anabiotických konzervačných metód zaraďujeme konzervačné metódy založené na použití zníženej teploty, t. j. chladenie potravín (psychroanabióza) a mrazenie potravín (kryoanabióza).

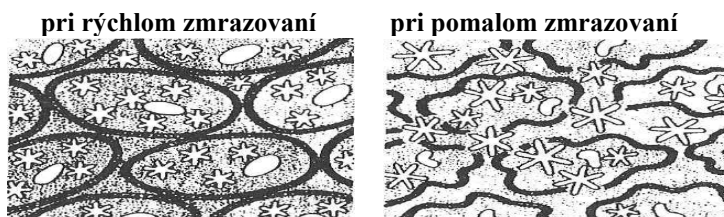
Podľa použitej teploty rozlišujeme tieto formy konzervácie nízkymi teplotami:

chladenie (6 až 12 °C),
mrazenie (-2 až -8 °C),
intenzívne chladenie (-2 až 6 °C),
hlboké mrazenie (-18 až -25 °C).

Hlboké mrazenie je metódou predĺženia trvanlivosti, pri ktorej prebiehajú minimálne chuťové zmeny. Pri neodbornom opätovnom rozmrazení sa však môže v mnohých prípadoch viditeľne zmeniť štruktúra, ktorá zapríčiňuje zhoršenie výživnej hodnoty (Drdák et al., 1996). Zmrazovanie je najvhodnejšia konzervačná metóda na zachovanie výživovej hodnoty potravín, najmä vitamínov. Ak sa zmrazuje optimálne zrelé ovocie a zelenina ihneď po zbere, uchová sa v nich najviac vitamínu C. Po rozmrazení je úbytok vitamínu C a predstavuje len asi 20 % množstva v čerstvých plodoch (Balašík, 2001). Potraviny, ktoré sa majú zmraziť, sa pred hlbokým mrazením ochladia asi na -2 °C. Potom sa pri teplote mrazenia -50 až -35 °C nárazovo zmrazia. Potom

sa uchovávajú za prísneho udržania chladiarenského reťazca pri -25 až -18 °C (Drdák et al., 1996).

Zmrazením sa z vody tvoria ľadové kryštály (obr. 1), čím sa potravina vysušuje, takže nie je využiteľná pre činnosť enzýmov. Čím je zmrazovanie pomalšie, tým sa vytvára menší počet kryštálov, ktoré sa však zväčšujú do veľkých rozmerov. Ostré hrany kryštálov ľadu mechanicky poškadzujú bunky, rastlinné pletivá a živočíšne tkanivá, čím sa z nich nadmerne uvoľňuje šťava, ktorú pozorujeme pri ich rozmrazení. Vytečením šťavy potravina mení tvar, mäkne a zhoršujú sa jej chuťové i výživové vlastnosti. Preto je pomalé zmrazovanie surového ovocia i zeleniny a čiastočne aj mäsa nevýhodné (Balašík, 2001). Podľa Voldřicha a Jechovej (2006) uvoľnenie mäsovej šťavy zvyšuje aj riziko rozmnoženia mikroorganizmov. Pokles teploty musí byť preto rýchly v rozmedzí tvorby ľadových kryštálov, to je -1 až -6 °C. Rýchle prekonanie intervalu teplôt tvorby ľadových kryštálov umožní vznik kryštálov malej veľkosti, ktoré po rozmrazení nepoškodia štruktúru potraviny.



Obr. 1 Tvorba ľadových kryštálov v rastlinnom pletive (Balašík, 2001)

Z hľadiska skladovateľnosti potravín pri nízkych teplotách (chladiarenské teploty blízko 4 °C) majú významnejšiu úlohu psychrotrofné baktérie. Podľa definície Medzinárodnej mliekarenskej federácie patria do tejto skupiny baktérie, ktoré rastú pri teplotách 7 až 5 °C, bez ohľadu na ich optimálnu teplotu. Psychrotrofné baktérie sú najčastejšie gramnegatívne paličky z rodov *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Alteromonas*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Serratia*, výnimočne aj niektoré kmene rodov *Bacillus* a *Lactobacillus*. Určité kmene z rodu *Pseudomonas* rastú pri teplote -7 °C. Okrem uvedených, prevažne saprofytických baktérií sa môžu pri teplotách medzi -5 až 0 °C rozmnožovať aj niektoré patogénne klostrídie, konkrétne *Clostridium botulinum* typ E, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus*

weinstephanensis, niektoré kmene rodu *Corynebacterium*, *Enterococcus* a *Micrococcus*. Extrémne psychrotrofné sú kvasinky, niektoré kmene môžu rásť až po -10 °C, podobne aj niektoré vláknité mikroskopické huby. Niektoré zastavia rast úplne až keď v potravine vymrzne všetka voda t. j. pri teplotách -20 °C až -30 °C. Medzi kvasinkami sa psychrotrofnosťou vyznačujú najmä rody *Candida*, *Hansenula*, *Saccharomyces* a *Rhodotorula*, u vláknitých mikroskopických húb sú to rody *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Botrytis* a iné (Görner, Valík, 2004).

Enzymy nachádzajúce sa v surovom ovocí, v zelenine i v mäse sú s častí aktívne aj v zmrazenom stave. Čím je teplota nižšia, tým je nižšia činnosť enzýmov a zastavuje sa pri -18 °C. Aktívne zostávajú len enzýmy štiepiace tuky (Balašík, 2001). Zmrazenie nemôžeme pokladať za sterilizačné ošetrenie potravín a každý hotový pokrm je preto nutné po rozmrazení regenerovať pri teplotách (80 °C, 10 minút v jadre pokrmu) zaručujúcich usmrtenie mikroorganizmov (Zajác et al., 2009).

Hlbokomrazené pokrmy

Hlbokomrazené potraviny sú potraviny určené na ľudskú spotrebu alebo výrobu potravín a pokrmov, okrem mrazených krémov, zmrzlín a ľadu, ktoré boli zmrazené procesom, pri ktorom fáza maximálnej tvorby ľadových kryštálov v nich prebehla čo najrýchlejšie, primerane druhu zmrazovanej potraviny a po dosiahnutí konečnej teploty po jej vyrovnaní a stabilizácii sa v každom ich bode trvalo udržiava teplota -18 °C alebo nižšia a uvádzajú sa do obehu tak, že táto ich vlastnosť je uvedená v označení (Výnos MP SR a MZ SR č. 2986/2003–100).

Zmrazovacie a schladzovacie médiá nesmú ohroziť ani zmrazené ani schladené pokrmy mikrobiálnou alebo chemickou kontamináciou. Zmrazovacie a schladzovacie zariadenia musia byť vybavené registračnými teplomermi (Výnos MP SR a MZ SR č. 981/1996–100). Zmrazovanie hotových pokrmov sa má vykonať tak, aby sa maximálne obmedzili fyzikálne, biochemické a mikrobiologické zmeny. Zmrazovanie nemôže byť ukončené, pokiaľ teplota v jadre výrobku po tepelnej stabilizácii nie je -18 °C alebo chladnejšia. Pri výstupe zo zmrazovacieho zariadenia nemá byť výrobok vystavený vysokej relatívnej vlhkosti vzduchu, aby nedochádzalo k namrazovaniu skondenzovanej vody alebo vysokým teplotám, aby nedochádzalo k rozmrazovaniu povrchových vrstiev výrobku. Po zmrazení má byť výrobok čo najrýchlejšie prenesený do mraziarenskeho skladu a uchovávaný pri teplotách -18 °C alebo chladnejších (Zajác et al., 2009).

Počas skladovania mrazených hotových pokrmov sa musí v mraziacom priestore udržiavať teplota najviac -18 °C s prípustným kolísaním ± 1 °C. Pri prechodnom miernom zvýšení teploty v mraziacom zariadení, trvajúcim viac ako 4 hodiny, napríklad v dôsledku poruchy alebo výpadu dodávky elektrického prúdu, sa môžu mrazené pokrmy takto skladované použiť na ľudskú spotrebu len so súhlasom orgánu na ochranu zdravia (Výnos MP SR a MZ SR č. 981/1996–100).

Systém manažérstva bezpečnosti potravín podľa normy STN EN ISO 22000:2006

Viacero krajín a súkromných spoločností na svete vyvinulo štandardy obsahujúce manažérské systémy pre

zabezpečenie výroby kvalitných a bezpečných potravín. Tieto štandardy však obsahovali rozdielne požiadavky, vznikali tak nejasnosti týkajúce sa rizík a bezpečnosti potravín. Požiadavka zaviesť viaceré manažérské systémy predstavuje pre dodávateľa zvýšené náklady a komplikácie pri prispôbovaní sa ich požiadavkám.

Medzinárodná norma ISO 22000 harmonizuje podmienky pre systematické riadenie bezpečnosti v potravinovom reťazci a obsahuje požiadavky akceptované celosvetovo. Norma bola vyvinutá v rámci ISO odborníkmi z potravinárskeho priemyslu v spolupráci s komisiou *Codex Alimentarius*, Organizáciou spojených národov OSN, Organizáciou Spojených národov pre poľnohospodárstvo a výživu (FAO) a Svetovou zdravotníckou organizáciou (WHO) (Manufacturing news, 2005).

Norma ISO 22000 si kladie za cieľ požiadavku harmonizovať celosvetové požiadavky na bezpečnosť potravín. Vzhľadom na to, že za bezpečnosť potravín zodpovedá výrobca, norma špecifikuje požiadavky na systém manažérstva bezpečnosti potravín v potravinovom reťazci. Normu ISO 22000 možno aplikovať vo všetkých organizáciách v potravinovom reťazci (Machalec, 2005).

V procese výroby, úpravy a celkovej manipulácie s potravinou sa vyskytujú tri skupiny rizík, ktoré môžu spôsobiť poškodenie alebo znehodnotenie potraviny. Zdravotná bezpečnosť potraviny môže byť ohrozená biologickými, chemickými a fyzikálnymi rizikovými faktormi (Paveleková et al., 2006, Zajác et al., 2009).

Tab. 1 Obsah normy STN EN ISO 22000:2006 (STN EN ISO 22000:2006)

Systém manažérstva bezpečnosti potravín	
všeobecné požiadavky	požiadavky na dokumentáciu
Zodpovednosť vedenia organizácia	
záväzok vedenia organizácie politika bezpečnosti potravín plánovanie SMBP zodpovednosť a právomoc	vedúci tímu pre bezpečnosť potravín, komunikácia pripravenosť na mimoriadne udalosti a reakcia na ne preskúmanie vedením organizácie
Manažovanie zdrojov	
poskytovanie zdrojov ľudské zdroje	infraštruktúra, prevádzkové prostredie.
Plánovanie a realizácia bezpečných výrobkov	
programy podpory (PRP) kroky predchádzajúce analýze rizík analýza rizík tvorba prevádzkových PRP vytvorenie plánu HACCP	aktualizácia informácií a dokumentov špecifikujúcich PRP a plán HACCP plánovanie verifikácie. systém sledovateľnosti riadenie nezhody
Validácia, verifikácia a zlepšovanie systému manažérstva bezpečnosti potravín	
validácia kombinácie kontrolných opatrení kontrola nad monitorovaním a meraním	verifikácia SMBP zlepšovanie

Efektívny systém riadenia rizík zahŕňa celý proces výroby potravín z „farmy na stôl“. Všetci, od poľnohospodárov, operátorov liniek v prevádzke, po personál manipulujúci s jedlom počas distribúcie a predaja si musia byť vedomí svojho vplyvu týkajúceho sa bezpečnosti. Kľúčom k efektívnemu prístupu k riadeniu rizík je uvedenie si špecifik v každej oblasti priemyslu (Huggett, 2001).

Systém manažérstva bezpečnosti potravín môžeme preložiť ako systém:

- správnej hygienickej praxe (Good Hygienic Practices – GHP),
- analýzy rizík a kritických kontrolných bodov (Hazard Analysis Critical Control Point system - HACCP),
- stratégií riadenia,
- výsledovateľnosti,
- stiahnutia výrobkov z obehu (recall systems) v prostredí špecifickom pre daný podnik (Jacxsens et al., 2009).

Verifikácia

Verifikáciu je možné najlepšie definovať ako systematický zber a vyhodnotenie informácií na preukázanie účinnosti systému manažérstva, ako aj potenciálne prispievajú k zlepšovaniu jeho efektívnosti. Ako náhle bol systém manažérstva implementovaný, verifikácia je potrebná na overenie zhody s plánom a jeho fungovaním (International Live Science Institute Europe, 1999). Riadenie je zamerané na udržanie výrobku a podmienok procesu v prijateľných medziach v záujme dosiahnutia bezpečnosti potravín, zatiaľ čo overovacie činnosti sa týkajú hodnotenia výkonu systému manažérstva a organizovania potrebných zmien (Jacxsens et al., 2009).

Tab. 2 Verifikácia a validácia (International Live Science Institute Europe, 1999, Brown, 2000)

Validácia	Verifikácia
Zhromažďovanie dôkazov na schválenie alebo posúdenie systému, preukazujúc, že bol hodnotený na základe riadnych vedeckých a technických dôkazov	Proces, prostredníctvom ktorého je určovaná zhoda so systémom a jeho účinnosť je pozorovaná v prevádzke.
Odpovedá na otázku: „Bude systém fungovať pri zavedení do praxe?“	Odpovedá na otázku: „Robíme to, čo sme plánovali urobiť?“
Potvrďuje, že systém je platný a vhodný pre podnik a jeho výrobky	Overuje, že deje sú vykonávané, dosahujú sa stanovené ciele a že sú preskúmané
Je založená na vedeckých poznatkoch	Zisťuje, či bola dobre vykonaná a či sa používa efektívne na predchádzanie problémov s bezpečnosťou potravín

Ak bol stanovený systém manažérstva a jeho prvky validované, je dôležité, aby sa zabezpečil dôkaz jeho

dodržiavania v praxi. Overenie je preto neustály proces podobný monitorovaniu, ale obvyčajne s nižšou frekvenciou a tam, kde je cieľom dodržiavať nie špecifické body v procese jeho platnosti, ale systému ako celku (Žáček et al., 2002). Verifikácia sa robí v dvoch stupňoch, ktoré možno voľne klasifikovať ako priebežnú verifikáciu a periodickú verifikáciu (STN EN P ISO/TS 22004:2007).

Priebežná verifikácia

Rovnako ako u monitorovania, zavedenie tohto procesu by malo zahrnúť metódy overovania, frekvenciu testovania, zodpovednosti zamestnancov, oficiálneho hodnotenia výsledkov zodpovednou skupinou ľudí a rozhodovanie o prípadných zmenách. Pri verifikácii ide v podstate o činnosti zamerané na výrobok (mikrobiologická kontrola konečného výrobku) a na systém (interné a externé audity) (Žáček et al., 2002). Výsledky individuálnej verifikácie sa musia zaznamenávať a musia sa oznámiť tímu pre bezpečnosť potravín. Výsledky verifikácie sa musia poskytnúť tak, aby sa umožnilo analyzovanie výsledkov činností verifikácie (STN EN ISO 22000:2006). Cieľom by malo byť použitie štatisticky spracovaných výsledkov, ktoré sú obvykle spojené s niektorými z metód testovania (hlavne mikrobiologických metód). Výsledky by sa mali použiť na určenie základných príčin problémov a možného zlepšenia bezpečnosti výrobkov (International Live Science Institute Europe, 1999).

Periodická verifikácia

Periodické činnosti verifikácie zahŕňajú celkové hodnotenie systému, ktoré sa obvyčajne robí na stretnutí vedenia alebo tímu pre verifikáciu, pričom sa preskúmajú všetky predtým uvedené dôkazy z celého obdobia, aby sme sa uistili, či systém funguje tak, ako bol naplánovaný a či nie je potrebná aktualizácia alebo zlepšovanie systému (STN EN P ISO/TS 22004:2007).

Na porade sa prejednávajú napríklad tieto oblasti:

- počet a druh záznamov o prekročených kritických limitoch pri monitoringu CCP,
- záznamy o nápravných opatreniach a ich účinnosti,
- počet a druh reklamácií na suroviny, obaly, výrobky za posledné obdobie,
- výsledky externých a interných auditov systému,
- počet a charakter problémov pri výrobe, skladovaní a sanitácii za posledné obdobie (International Live Science Institute Europe, 1999).

Záverom porady je skonštatovanie, či je systém funkčný a ak nie, aké opatrenia sa musia vykonať. Záznam z uskutočnenia overovania tvorí zápis z porady, ktorý obsahuje písomné rozhodnutie o vyššie uvedených oblastiach vrátane návrhov opatrení k zdokonaleniu systému (Žáček et al., 2002). Osobitná pozornosť musí byť venovaná problémovým oblastiam. Verifikácia môže preukázať, že sú potrebné zmeny v systéme. Ak sú urobené úpravy systému, ich účinnosť sa musí validovať (International Live Science Institute Europe, 1999).

METODIKA

Cieľom práce bolo uskutočniť verifikáciu systému manažérstva bezpečnosti potravín podľa STN EN ISO 22000:2006 pri výrobe hlboko mrazených pokrmov.

Výskumnú časť práce sme uskutočnili od januára 2009 do apríla 2010 v prevádzke, ktorá patrí do kategórie zariadení spoločného stravovania. Základnou a zároveň najrozsiahlejšou činnosťou spoločnosti je výroba, výdaj, predaj a rozvoz hotových pokrmov do výdajní pre zamestnancov dcérskej spoločnosti. Stále viac sa ale predaj hotových pokrmov orientuje aj na externých odberateľov. Významný podiel na raste výroby pokrmov predstavujú hlboko mrazené pokrmy a polotovary.

VÝSLEDKY

Vyhodnotenie dotazníka

Systém manažérstva bezpečnosti potravín – na základe vyhodnotenia dotazníka sme zistili, že systém manažérstva bezpečnosti potravín bol účinný, pretože sa v ňom nevyskytla žiadna kritická nezhoda s požiadavkami stanovenými normou STN EN ISO 22000:2006. Bola vyhlásená politika systému manažérstva bezpečnosti potravín a presne stanovené ciele spoločnosti. Dokumentácia obsahovala všetky postupy a záznamy ktoré požaduje norma.

Zodpovednosti vedenia organizácie – vedenie poskytlo dôkaz o záväzku vytvoriť, zaviesť a neustále zlepšovať účinnosť systému manažérstva bezpečnosti potravín. Má jasne stanovenú politiku, dokumentuje a komunikuje ju na internej aj externej úrovni. Politika je primeraná úlohe organizácie a podporená merateľnými cieľmi. Systém je naplánovaný tak, aby sa splnili všetky požiadavky na jeho účinnosť a všetky stanovené ciele. Pri jeho plánovaní brala organizácia do úvahy systém ako celok. Ďalšou zistenou skutočnosťou bolo, že organizácia definovala právomoci a zodpovednosti všetkých zamestnancov. Bola zabezpečená aj povinnosť zamestnancov oznamovať vzniknuté problémy v systéme manažérstva bezpečnosti potravín určenej osobe, ktorej bola pridelená zodpovednosť a právomoc za iniciovanie a zaznamenanie opatrení vykonaných na zvládnutie problému. Vrcholové vedenie určilo vedúceho tímu s stanovilo jeho právomoci a zodpovednosti. Komunikácia organizácie bola vytvorená a udržiavaná na externej aj internej úrovni. Organizácia bola pripravená na zvládnutie mimoriadnych udalostí a havárií ako sú výpadok elektrickej energie, dodávok pitnej vody, požiar, neoprávnené vniknutie cudzích osôb do objektu, poruchu alebo haváriu vozidla, umiestnenie bomby s objektu, sabotáž a prijala na tento účel mimoriadne opatrenia. V spoločnosti nebolo vyriešené zvládnutie situácie v prípade vzniku povodne, vzhľadom na polohu areálu prevádzky. Napriek tomu odporúčame vypracovať opatrenia na zvládnutie situácie v prípade vytopenia prevádzky z dôvodu napr. prasknutia potrubia s pitnou vodou, pri obmedzení dodávok zemného plynu, kontaminácie prevádzky z okolitého prostredia a bioterorizmu. Zistili sme, že vedenie organizácie v pravidelných intervaloch 1 krát za rok preskúma systém manažérstva bezpečnosti potravín, hodnotí príležitosti na zlepšovanie systému, potreby zmien systému manažérstva bezpečnosti potravín a politiky. Do

Podľa jednotlivých bodov normy STN EN ISO 22000:2006 sme si zostavili súbor kontrolných otázok – dotazník, ktorý obsahoval otázky na každý článok normy. Otázky boli navrhnuté tak, aby sme podľa neho mohli uskutočniť verifikáciu celého systému manažérstva bezpečnosti potravín. Na základe informácií, podnikovej dokumentácie a praktických skúseností získaných v prevádzke počas obdobia výskumnej činnosti, sme odpovedali na všetky otázky a odpovede zapísali do dotazníka. Takýmto spôsobom sme overovali účinnosť systému manažérstva bezpečnosti potravín v prevádzke. Výsledky verifikácie sme vyhodnotili slovne alebo pomocou tabuliek.

politiky sú zahrnuté vstupy z preskúmania, aj výstupy z preskúmania.

Manažovanie zdrojov – organizácia poskytovala dostatok zdrojov na vytvorenie, udržiavanie a aktualizáciu systému manažérstva bezpečnosti potravín. Organizácia neustále investovala svoje finančné zdroje na inovovanie infraštruktúry a prevádzkového prostredia, v oblasti ľudských zdrojov mala jasne stanovené podmienky na odbornú spôsobilosť, vzdelanie zamestnancov a zabezpečovala ich rozvoj, nadobúdanie nových vedomostí, zručností a spôsobilostí.

Plánovanie a realizácia bezpečných výrobkov – organizácia zhromažďuje, uchováva, aktualizuje a dokumentuje všetky relevantné informácie potrebné na vytvorenie analýzy rizík. Ustanovil sa tím pre bezpečnosť potravín, ktorý má multidisciplinárnu kombináciu vedomostí a skúseností, špecifikujú sa suroviny, prísady a materiály prichádzajúce do styku s výrobkami. Boli vypracované charakteristiky konečných výrobkov, identifikovalo sa použitie výrobkov pre cieľové skupiny konzumentov, vypracované dve technologické schémy (pre prípravu všetkých jedál okrem múčnych a samostatne pre prípravu múčnych jedál). Technologické schémy boli jasné, presné ale odporúčali by sme aby sa vypracovali pre užšie skupiny výrobkov a boli teda konkrétnejšie. Napriek tomu sme skonštatovali, že schémy tvoria dostatočný základ pre posúdenie výskytu a vzniku možných rizík pre bezpečnosť potravín. V organizácii neboli zaznamenané žiadne špecifické požiadavky od kontrolných orgánov ani od zákazníkov, ktoré by mohli mať vplyv na voľbu a prísnosť kontrolných opatrení. V organizácii nedošlo k zmenám, kvôli ktorým by bolo potrebné vykonať aktualizáciu opisu výrobkov. Pre každú technologickú operáciu vykonal tím pre bezpečnosť potravín analýzu rizík, ktoré musia byť pri výrobe pod kontrolou. K identifikovaným rizikám sa určili prípustné úrovne. Vykonal sa hodnotenie každého rizika posúdením pravdepodobnosti jeho výskytu, závažnosti jeho následkov. Na základe hodnotenia rizika sa zvolila kombinácia nápravných opatrení. Organizácia zdokumentovala programy podpory (PRP), operatívne programy podpory (nazvané oPRP alebo CP) a zvolila dva kritické kontrolné body (CCP). Organizácia mala vytvorený plán HACCP, určené kritické limity ku každému CP a CCP, spôsob ich monitorovania, určenú osobu zodpovednú za ich monitorovanie, kontrolné opatrenia vykonávané v každom z týchto bodov

a nápravné opatrenia v prípade prekročenia kritických limitov. Organizácia vytvorila systém sledovateľnosti, ktorý umožňuje v prípade potreby identifikovať ktorúkoľvek vyrobenú šaržu a postup sťahovania výrobkov z trhu. V prípade prekročenia limitu v CCP alebo ak sa stratí kontrola nad CP bol vypracovaný postup na manipuláciu s nezhodnými výrobkami a určila sa zodpovedná osoba za vykonanie potrebných nápravných opatrení. Vykonal sa aj postup zaobchádzania s potenciálne nebezpečnými výrobkami.

Validácia, verifikácia a zlepšovanie systému – všetky kontrolné opatrenia, ktoré sa uplatňujú v prevádzke boli pred ich zavedením validované a je zabezpečené, aby sa vykonala opätovná validácia pri každej ich zmene.

ZÁVER

Nedostatočné riadenie bezpečnosti potravín a s tým súvisiace zvýšenie rizika v oblasti bezpečnosti potravín môže mať výrazný vplyv na ochranu verejného zdravia. Ako prevencia pred vznikom alimentárnych ochorení môže slúžiť aj zavedenie systému manažérstva bezpečnosti potravín, ktorý vyžaduje prísnejšie požiadavky nad rámec súčasnej legislatívy Európskeho spoločenstva. Systém sa snaží o cieľavedomé manažovanie rizík v celom potravinovom reťazci. Na to, aby sme sa presvedčili, že systém je po jeho implementácii naozaj účinný, je potrebné ho verifikovať.

Cieľom práce bolo uskutočniť verifikáciu systému manažérstva bezpečnosti potravín pri výrobe hlboko mrazených pokrmov. V teoretickej časti práce sme spracovali základnú problematiku týkajúcu sa

Prístroje, určené na monitoring, používané na rôzne merania boli pravidelne kalibrované. Organizácia v pravidelných intervaloch vykonávala interný audit a tým pre bezpečnosť potravín pravidelne 1 krát za rok potvrdzoval individuálne výsledky plánovanej verifikácie (ktoré zahŕňali aj výsledky interných auditov). Výsledky verifikácie boli vstupom do preskúmania systému manažérstva bezpečnosti potravín vedením organizácie. Vrcholové vedenie zabezpečilo, aby sa zaisťovalo stále zlepšovanie systému manažérstva bezpečnosti potravín. Napriek tomu, že v roku 2009 sa nevykonala výrazná aktualizácia systému, bolo zaistené aby sa systém v pri každej prípadnej zmene aktualizoval.

predlžovania trvanlivosti potravín mrazením, charakterizovali hlboko mrazené pokrmy, preskúmali systém manažérstva bezpečnosti potravín a jeho verifikáciu. Vo výskumnej časti práce bolo našim zámerom zostaviť súbor kontrolných otázok – dotazník, podľa jednotlivých článkov normy STN EN ISO 22000:2006 a uskutočniť verifikáciu systému manažérstva bezpečnosti potravín podľa súboru kontrolných otázok zhrnutých do dotazníka v prevádzke zaoberajúcej sa výrobou hlboko mrazených pokrmov.

Na základe výskumu sme dospeli k záveru, že systém manažérstva bezpečnosti potravín je v prevádzke účinný, pretože je naplánovaný, zavedený a aktualizovaný podľa požiadaviek medzinárodnej normy. V prevádzke sa nevyskytla žiadna kritická nezhoda s požiadavkami stanovenými normou STN EN ISO 22000:2006.

LITERATÚRA

BALAŠTÍK, J. 2001. *Konzervovanie v domácnosti*. Bratislava : Topas, 2001. 208 s. ISBN 80-85353-11-3.

BROWN, M. 2000. *HACCP in the meat industry*. Cambridge : Woodhead Publishing, 2000. 329 s. ISBN 978-1-85573-448-7.

DRDÁK, M., STUDNICKÝ, J., MÓROVÁ, E., KAROVIČOVÁ, J. 1996. *Základy potravinárskych technológií*. Bratislava : MALÉ CENTRUM, 1996. 512 p. ISBN 80-967064-1-1.

GÖRNER, F., VALÍK, L. 2004. *Aplikovaná mikrobiológia požívatin*. Bratislava : Malé centrum, 2004. 528 p. ISBN 80-967064-9-7.

HUGGETT, A. 2001. Biomedical and environmental sciences. In *Risk management-an industry approach*. vol. 14, 2001. no. 1-2, p. 21-29. ISSN 0895-3988.

International Live Science Institute Europe. 1999. *Validation and Verification of HACCP*. 2. vyd. Brussels : International Life Sciences Institute, 2001. 22 s. ISBN 1-57881-060-4.

JACXSENS, L., KUSSAGA, J., LUNING, P. A., VAN DER SPIEGEL, M., DEVLIEGHERE, F., UYTENDAELE, M. 2009. A Microbial Assessment Scheme to measure microbial performance of Food Safety Management Systems. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 134, 2009, no. 113-125. ISSN 0168-1605.

MACHALEC, M. 2005. Od farmy na stôl – Zavádzanie nových štandardov, ISO 22000, BRC, IFS v potravinovom reťazci. In *Bezpečnosť a kontrola potravín : Zborník prác z medzinárodnej vedeckej konferencie*. Nitra : SPU, 2006. p. 84-86. ISBN 80-8069-503-2.

Manufacturing news. 2005. *New global standard for safer food supply chains*. In *Food Engineering*. October 1, 2005, p. 14.

PAVELEKOVÁ, I., PETERKOVÁ, V., FANČOVIČOVÁ, J., TRNKA, A. 2006. *Základy zdravej výživy*. Trnava : TU, 2006. ISBN 80-8082-066-X.

STN EN ISO 22000:2006, *Systémy manažérstva bezpečnosti potravín – Požiadavky na organizácie potravinárskeho reťazca*.

STN EN P ISO/TS 22004:2007, *Systémy manažérstva bezpečnosti potravín, Návod na používanie normy ISO 22000:2005*.

VOLDŘICH, M., JECHOVÁ, M. 2006. *Bezpečnosť pokrmů v gastronomii*. Praha : České a slovenské odborné nakladatelství, 2006. 102 p. ISBN 80-903401-7-2.

Výnos Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky č. 981/1996-100 z 20. mája 1996, ktorým sa vydáva prvá časť a prvá, druhá a tretia hlava druhej časti Potravinového kódexu Slovenskej republiky.

Výnos Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky č. 2986/2003-100, z 27. októbra 2003, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky upravujúca hlbokomrazené potraviny a mrazené potraviny.

Výnos Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky č. 1895/2004-100, z 18. augusta 2005, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky upravujúca mäsové výrobky.

ZAJÁC, P., ČAPLA, J., GOLIAN, J., ZELENÁKOVÁ, L., VIETORIS, V. 2009. *Príručka správnej výrobnjej praxe pre zariadenia spoločného stravovania*. Nitra : Združenie HACCP Consulting, 2009. 228 p. ISBN 978-80-970214-8-1.

ŽÁČEK, M., HOREJŠ, V., TESAŘ, E. 2002. *Správná výrobní praxe a kontrolní systémy ve stravovacích službách*. Praha : HASAP Gastro Consulting, 2002. 624 p. ISBN 80-86605-01-9

Kontaktná adresa:

Ing. Erika Kolajová, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: kolajova@gmail.com

Ing. Lucia Zeleňáková, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: lucia.zelenakova@uniag.sk

Ing. Jozef Čapla, Department of Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences,

Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: jozef.capla@uniag.sk

Ing. Peter Zajác, PhD. Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: zajac@potravinarstvo.com

ANALYZING CONSUMERS' OPINION ON ORGANIC FOOD, THEIR SAFETY AND AVAILABILITY IN THE SLOVAK FOOD MARKET*Dagmar Kozelová, Eva Matejková, Artan Qineti***ABSTRACT**

In our paper we focus on the consumers' opinion on bio - food, their safety and availability in the Slovak food market. The analysis is based on a survey organized in the period between December 2009 and January 2010. From the methodological aspect, basic approaches of descriptive statistics have been used, as well as methods of association measurement. The test of robustness tested Chi-Square statistic. The robustness have been judged based on the p-values. Correlations have been tested through the Contingency coefficient and Cramer's V coefficient. From the survey it can be concluded that even though consumers have some idea about bio – food and trust them more compared to other conventional food, they think that their market supply is not sufficient. Respondents consider media and internet, as the most important information source that they wish to be informed on bio-food safety and control, ecological agriculture, eco-agroturism, as well as on the effect of agriculture on the environment. Through the statistics of robustness, it was found out that the effect of gender, education, economic activity and faculty of the surveyed respondents (students from Faculty of Biotechnology and Food Sciences (FBP) had a better information on bio – food) proved to be statistically significant.

Keywords: Chi-Square test of Independence, Contingency coefficient, Cramer's V coefficient

ÚVOD

V súčasnej dobe si väčšina spotrebiteľov začína uvedomovať význam zdravého životného štýlu a konzumácie zdravých potravín. V obchodných reťazcoch sa objavuje pomerne široký výber produktov, ktoré sú označované ako bio. Ide o produkty vyrobené prevažne zo surovín z ekologického poľnohospodárstva.

Ekologická poľnohospodárska výroba má svoje princípy, zásady ako aj pravidlá. Rozdiely medzi ekologickou a konvenčnou poľnohospodárskou výrobou identifikovali **Lund et al. (2002)** a ďalší. Dopady intenzifikácie konvenčného poľnohospodárstva na životné prostredie popísali a analýzu energetickej náročnosti oboch systémov hospodárenia na pôde vykonali **Bertilson et al. (2008)**. Podľa **Jordana et al. (2009)** je ekologická poľnohospodárska výroba optimalizovateľná prostredníctvom efektívnej adaptácie na miestne podmienky a možnosti a tiež je závislá na šírení poznatkov a výsledkov výskumov zameraných na ekosystémy a na technológie. Registrovaní ekologickí prevádzkovatelia, producenti bioproduktov a výrobcovia biopotravín, rozvíjajúci zelenú ekonomiku, musia dodržiavať prísne podmienky výroby. Štandardy kvality a bezpečnosti potravín, ako norma ISO 22 000, BRC 5 a IFS 5 a ďalšie, ak sú správne aplikované, udržiavané a auditované, predstavujú komplex riadiacich, manažérskych a preventívnych opatrení politiky bezpečnosti potravín uvádzajú **Golian et al. (2007, 2008)** a **Čapla et al. (2008)**.

Celosvetovo výmera ekologicky obhospodarovanej pôdy narástla na 35 mil. ha p. p. (**Willer et al., 2010**) a rozmáha sa aj medzinárodný trh s biopotravinami. Ústredný kontrolný a skúšobný ústav poľnohospodársky (ÚKSÚP) registruje k 31.3.2009 rozlohu ekologicky obrábanej pôdy v SR o výmere 151 173 ha, z toho 47 171 ha ornej pôdy, 102 882 ha TTP, 1 063 ha sadov a 55 ha viníc, čo predstavuje cca 7,05 % podiel na celkovej výmere poľnohospodárskej pôdy Slovenska. V systéme ekologického poľnohospodárstva je registrovaných 466 subjektov. Aktuálny register ekologickej poľnohospodárskej výroby, bioprevádzkovateľov je zverejnený na webstránke www.uksup.sk a tiež na stránke inšpekčnej organizácie www.naturalis.sk.

Bezpečné potraviny možno podľa **Zeleňákovéj et al. (2009)**, **Lopašovského et al. (2009)** vyrobiť jedine z kvalitných surovín, ktoré spĺňajú požiadavky mikrobiologickej a chemickej bezpečnosti. Potraviny modernými metódami analyzujú tiež **Bošiak et al. (2009)**, **Fiková et al. (2009)** a ďalší.

MATERIÁL A METÓDY

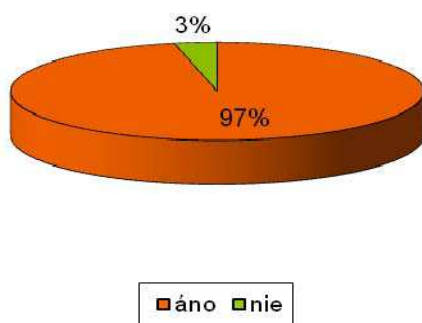
Cieľom príspevku je skúmanie názorov spotrebiteľov na biopotraviny, ich bezpečnosť a dostupnosť na slovenskom trhu potravín, identifikovať motívy kúpy biopotravín a získať informácie o aké informačné zdroje by mali spotrebiteľia záujem.

Podkladom k jednotlivým analýzám príspevku bol dotazníkový prieskum. Z metodologického hľadiska boli v príspevku použité okrem základných metód deskriptívnej štatistiky aj metóda merania asociácií. Existencia štatisticky významných vzťahov bola overovaná χ^2 testom štvorcovej kontingencie. Štatistickú preukaznosť vzťahov sme posudzovali na základe významnosti testovacej charakteristiky (p-hodnoty). Tesnosť závislosti bola overovaná pomocou koeficientu kontingencie a Crameroého koeficientu. Výpočty boli realizované v štatistickom softvéri Statgraphics.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Dotazníkový prieskum bol realizovaný v období mesiacov december 2009 až január 2010. Zúčastnilo sa ho 388 respondentov, ktorí odpovedali na 12 vlastných otázok dotazníka týkajúcich sa názorov spotrebiteľov na biopotraviny a 5 klasifikačných otázok. V danom príspevku sa zameriame na analýzu vybraných otázok. Vo výberovom súbore z 388 respondentov bolo 74 % žien a 26 % mužov. Z hľadiska vekovej štruktúry bola najviac zastúpená veková kategória mladých ľudí do 25 rokov (50 % z celkového počtu respondentov). Druhú najpočetnejšiu skupinu (28 %) predstavuje veková kategória od 26 do 35 rokov, za nimi nasledovala kategória ľudí vo veku od 36 do 45 rokov (17 %). Ľudia vo veku od 46 do 55 rokov zaberali 5 % výberového súboru a najstarší ľudia (nad 56 rokov) boli v zastúpení 0,5 %. Predpokladali sme, že na názory respondentov môže vplyvať aj ich

vzdelanie. Z hľadiska vzdelania bolo základné vzdelanie zastúpené 0,26 %, stredoškolské vzdelanie 56,19 % a vysokoškolské vzdelanie 43,56 %. Zisťovali sme aj momentálnu ekonomickú aktivitu respondentov. Najviac bola zastúpená skupina zamestnaných respondentov (48 %), za nimi nasledovala skupina študentov (30 %). Tretiu pozíciu zaberala skupina podnikateľov (18 %). Nezamestnaní zaberali štvrtú pozíciu (4 %) a najmenej boli zastúpení dôchodcovia (1 %). V rámci prieskumu nás zaujímal aj príjem respondentov, ktorý sme zisťovali nepriamo cez otázku „Druh zárobkovej činnosti“. V prieskume bolo najviac zahrnutých zamestnancov (53 %), za nimi nasledovali samostatne zárobkovo činné osoby (21 %). Na tretej pozícii boli majitelia firiem (2 %). Svoju zárobkovú činnosť neuviedlo 24 % respondentov, jednalo sa predovšetkým o študentov a nezamestnaných. Prieskumu sa zúčastnili aj respondenti (34 %), ktorí sú v súčasnej



Obrázok 1 Odpovede na otázku „Poznáte pojem biopotraviny?“

dobe študentmi Fakulty biotechnológie a potravinárstva SPU v Nitre. U týchto študentov sme predpokladali erudovanejšie znalosti zo skúmanej problematiky.

V rámci vyhodnotenia vlastných otázok dotazníka sme sa ako prvé pýtali respondentov, či poznajú pojem biopotraviny. Tento pojem je známy 97 % respondentov. Len 3 % (13) respondentov sa s týmto pojmom ešte nestretlo (obrázok 1).

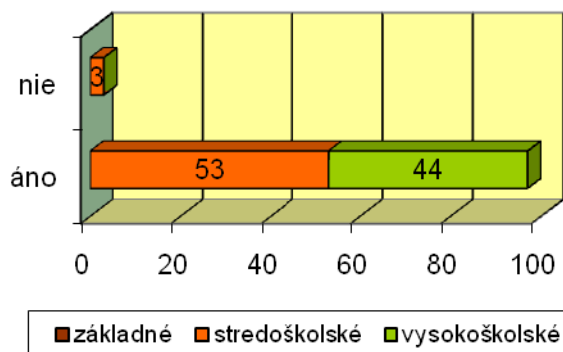
V dotazníku sme uvažovali s takými klasifikačnými otázkami, pri ktorých sme predpokladali, existenciu asociácie vo vzťahu k skúmanej problematike. Asociácie boli overované pomocou χ^2 testu štvorcovej kontingencie. Výsledky testovania vo vzťahu k otázke 1 sú prezentované v tabuľke 1.

Ako dokumentuje tabuľka 1, závislosť bola potvrdená

Tabuľka 1 Výsledky testovania existencie závislosti odpovedí na otázku 1 a klasifikačných otázok

Klasifikačná otázka	χ^2 charakt. eristika	p-hodnota	Záver testu: Existuje závislosť?	Koeficient kontingencie	Cramerov koeficient
Pohlavie	18,395	0,0000	Áno	0,2128	0,2177
Vek	4,349	0,3608	Nie	0,1053	0,1059
Vzdelanie	37,828	0,0000	Áno	0,2981	0,3122
Ek. aktivita	28,754	0,0000	Áno	0,2627	0,2722
Druh zár. činnosti	7,789	0,0506	Nie	0,1403	0,1417
FBP fakulta	1,982	0,1591	Nie	0,0713	0,0715

z hľadiska pohlavia, vzdelania a ekonomickej aktivity. Vychádzajúc z koeficienta kontingencie a Cramerovho koeficienta môžeme hovoriť o strednej silnej závislosti, pričom bol potvrdený najväčší vplyv vzdelania, t.j. respondenti s vyšším vzdelaním skôr poznali pojem biopotraviny (obrázok 2).



Obrázok 2 Odpovede na otázku „Poznáte pojem biopotraviny?“ vo vzťahu k vzdelaniu v %

Z toho, že pozná spotrebiteľ pojem „biopotraviny“ ešte jednoznačne nevyplýva, či ovláda aj skutočný význam tohto slova. Danú skutočnosť sme overovali druhou otázkou, ktorá znela:

Čo sú podľa vášho názoru biopotraviny?:

Všetky produkty alebo potraviny, splňajúce kritériá zdravej výživy

Každý produkt, ktorý má v názve, prípadne na obale uvedené „natur“ alebo „Racio“, prípadne podobné označenie

Produkty a potraviny, ktoré pochádzajú z kontrolovaného a certifikovaného systému ekologického poľnohospodárstva

Neviem

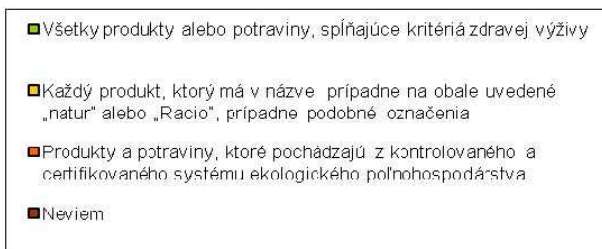
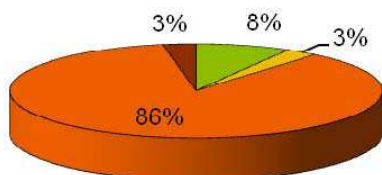
Jednotlivé odpovede prezentuje obrázok 3, z ktorého vyplýva, že takmer všetci respondenti (86,08 %) poznajú význam pojmu biopotraviny, tzn. považujú biopotraviny za produkty a potraviny, ktoré pochádzajú z kontrolovaného a certifikovaného systému ekologického poľnohospodárstva.

Pri skúmaní závislosti bola štatisticky významná závislosť (tabuľka 2) potvrdená pri pohlaví, vzdelaní, ekonomickej aktivite, druhu zárobkovej činnosti a fakulte FBP. Opäť sa jednalo o mierne silnú závislosť (hodnoty Cramerovho koeficientu od 0,14 po 0,22), z nich najvyššia bola preukázaná závislosť medzi pohlavím a znalosťou

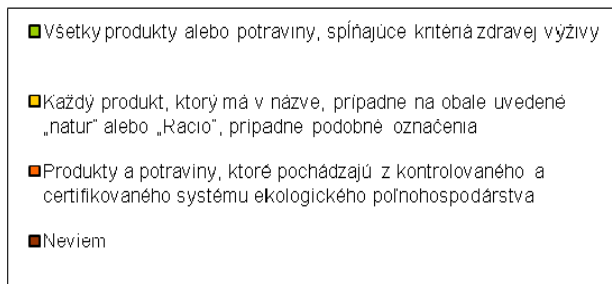
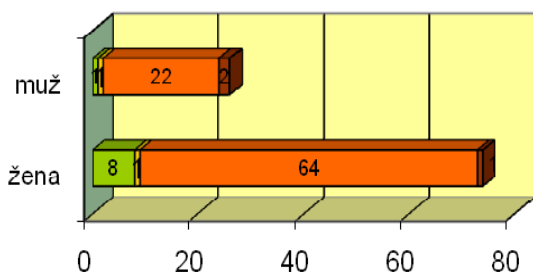
významu slova biopotraviny. Z celkového počtu respondentov, ktorí označili možnosť „c“ ako správnu, až 75 % tvorili ženy. Na obrázku 4 je prezentovaná štruktúra odpovedí podľa pohlavia vzhľadom na celkový počet respondentov.

Tabuľka 2 Výsledky testovania existencie závislosti odpovedí na otázku 2 a klasifikačných otázok

Klasifikačná otázka	χ^2 charakteristika	p-hodnota	Záver testu: Existuje závislosť?	Koeficient kontingencie	Cramerov koeficient
Pohlavie	19,47	0,0002	Ano	0,2186	0,224
Vek	8,37	0,7556	Nie	0,1453	0,0848
Vzdelanie	17,885	0,0065	Ano	0,2099	0,1518
Ek. aktivita	35,601	0,0004	Ano	0,2899	0,1749
Druh zár. činnosti	21,26	0,0115	Ano	0,2279	0,1351
FBP fakulta	10,382	0,0156	Ano	0,1614	0,1636



Obrázok 3 Odpovede na otázku „Čo sú podľa Vášho názoru biopotraviny?“



Obrázok 4 Odpovede na otázku „Čo sú biopotraviny?“ vo vzťahu k pohlaviu v %

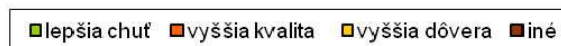
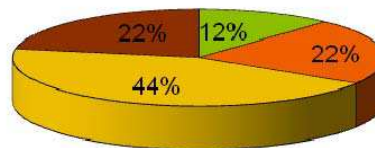
Rozvoj ekologického myslenia ekologickej produkcie, poznatky o výžive a zdravom životnom štýle do značnej miery ovplyvňujú spotrebiteľov pri kúpe potravín, preto sme sledovali aj motívy kúpy biopotravín. Položená otázka znela (otázka 3) :

Prečo kupujete biopotraviny, prípadne si ich sám dopestujete?

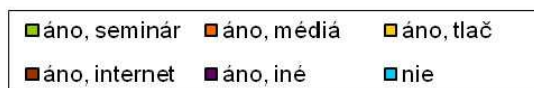
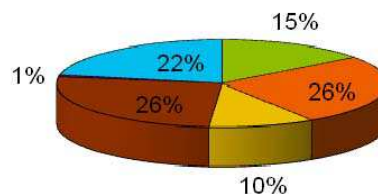
- Lepšia chuť v porovnaní s klasickými potravinami

- Vyššia kvalita v porovnaní s klasickými potravinami
- Vyššia dôvera (bezpečnosť biopotravín, sú zdravšie, ...)
- Iné

Ako dokumentuje obrázok 5, takmer polovica (43,81 %) respondentov nakupuje biopotraviny, pretože má v nich vyššiu dôveru oproti konvenčným potravinám a konzumáciu biopotravín považuje za vhodnejšiu z hľadiska zdravej výživy a bezpečnosti. Rovnaké percentuálne zastúpenie odpovedí (21,16 %) bolo pri možnosti b) – vyššia kvalita biopotravín oproti konvenčným potravinám a možnosti d) – Iné. Biopotraviny kupuje 11,86 % respondentov z dôvodu ich lepšej chuti. V rámci kategórie Iné najčastejšie kupujú biopotraviny, pretože majú lepší vzhľad, kvôli deťom, majú možnosť dopestovať si ich sami.



Obrázok 5 Odpovede na otázku „Prečo kupujete biopotraviny?“



Obrázok 6 Odpovede na otázku „Uvítali by ste dozvedieť sa viac o bezpečnosti potravín, ekologickom poľnohospodárstve, výrobe a kontrole biopotravín, atď. Z akých zdrojov?“

Motívy kúpy biopotravín identifikoval aj Kretter (2005) a podľa prieskumu Matysik – Pejas a Szafranskej (2009)

viac ako 40 % opýtaných spotrebiteľov ekologických potravín začali kupovať tieto potraviny z dôvodu starostlivosti o svoje zdravie a zdravie svojich blízkych, pričom každý tretí z nich uviedol ako dôvod kúpy zdravotné problémy a 13 % respondentov uviedlo prechod na vegetariánsku diétu.

Ako vyplýva z tabuľky 3 pri skúmaní závislosti nebola potvrdená žiadna štatisticky významná závislosť pri tejto otázke vo vzťahu k skúmaným klasifikačným otázkam.

neprejavili záujem získať ďalšie informácie o biopotravinách. Jedná sa o spotrebiteľov, ktorých daná problematika nezaujíma, resp. ich dostupné informácie sú pre nich postačujúce. Najčastejšie označovaným informačným zdrojom pre spotrebiteľov boli médiá, t.j. rozhlas a televízia (26,29 %) a v internet (26,03 %). Odborný seminár označilo 14,69 % respondentov. O tento informačný zdroj majú záujem predovšetkým ženy vo veku do 25 rokov. Očakávali sme, že túto možnosť budú označovať predovšetkým študenti FBP fakulty. Predpoklad

Tabuľka 3 Výsledky testovania existencie závislosti odpovedí na otázku 3 a klasifikačných otázok

Klasifikačná otázka	χ^2 charakteristika	p-hodnota	Záver testu: Existuje závislosť?	Koeficient kontingencie	Cramerov koeficient
Pohlavie	6,693	0,0824	Nie	0,1202	0,1313
Vek	8,244	0,7658	Nie	0,1442	0,0842
Vzdelanie	11,688	0,0693	Nie	0,171	0,1227
Ek. aktivita	16,429	0,1724	Nie	0,2016	0,1188
Druh zár. činnosti	7,917	0,5426	Nie	0,1414	0,0825
FBP fakulta	5,37	0,1466	Nie	0,1168	0,1176

Tabuľka 4 Výsledky testovania existencie závislosti odpovedí na otázku 4 a klasifikačných otázok

Klasifikačná otázka	χ^2 charakteristika	p-hodnota	Záver testu: Existuje závislosť?	Koeficient kontingencie	Cramerov koeficient
Pohlavie	15,66	0,0079	Áno	0,197	0,2009
Vek	35,375	0,0182	Áno	0,2891	0,151
Vzdelanie	13,412	0,2015	Nie	0,1828	0,1315
Ek. aktivita	29,76	0,0738	Nie	0,2669	0,1385
Druh zár. činnosti	21,364	0,1256	Nie	0,2284	0,1355
FBP fakulta	28,469	0,0000	Áno	0,2615	0,2709

Tabuľka 5 Výsledky testovania existencie závislosti odpovedí na otázku 5 a klasifikačných otázok

Klasifikačná otázka	χ^2 charakteristika	p-hodnota	Záver testu: Existuje závislosť?	Koeficient kontingencie	Cramerov koeficient
Pohlavie	1,118	0,5717	Nie	0,0536	0,0537
Vek	8,783	0,361	Nie	0,1488	0,1064
Vzdelanie	2,959	0,5648	Nie	0,087	0,0617
Ek. aktivita	23,251	0,0031	Áno	0,2378	0,1731
Druh zár. činnosti	11,968	0,0627	Nie	0,173	0,1242
FBP fakulta	8,405	0,015	Áno	0,1456	0,1628

V rámci prieskumu boli zisťované aj zdroje informácií o produkcii a kontrole biopotravín, ktoré by respondenti preferovali. V dotazníku bola respondentom položená nasledovná otázka (otázka 4):

Uvítali by ste, ak by ste mali príležitosť dozvedieť sa viac o bezpečnosti potravín, ekologickom poľnohospodárstve, výrobe a kontrole biopotravín, eko-agroturistike a vplyve poľnohospodárstva na prírodu? Ak áno, z akých zdrojov?
 Áno Odborný seminár (prednáška)

Médiá (rozhlas, televízia)

Tlač

Internet

Iné

Nie

Záujem o danú problematiku prejavilo 78,09 % respondentov. Ostatní, t.j. 21,91 % respondentov

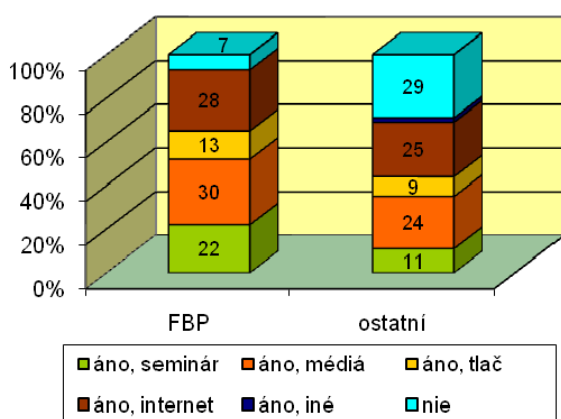
nebol potvrdený, pretože z celkového počtu respondentov, ktorí označili danú možnosť (seminár), bolo z FBP fakulty len 50 %. Okrem iných zdrojov sa na poslednej pozícii umiestnila možnosť získať informácie z tlače (10,31 % respondentov).

Výsledky nášho prieskumu sme komparovali s výsledkami prieskumu Matysik – Pejas a Szafranskej (2009), podľa ktorých za najdôležitejší zdroj informácií o výrobkoch ekologického poľnohospodárstva považuje takmer 48 % respondentov televíziu, 21 % respondentov tlač, 10 % rodinu a priateľov, 7 % regionálne akcie a rádio 5 %, čo do istej miery potvrdili aj naše výsledky.

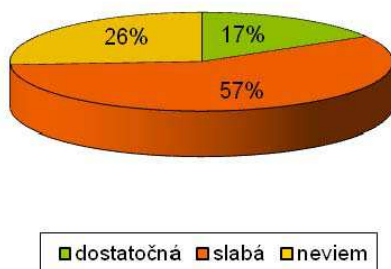
Existencia štatisticky významnej závislosti bola potvrdená v prípade asociácie s pohlavím, vekom a fakultou. Sila významnej závislosti meraná Cramerovým

koeficientom sa pohybuje v intervale od 0,15 po 0,27 (tabuľka 4).

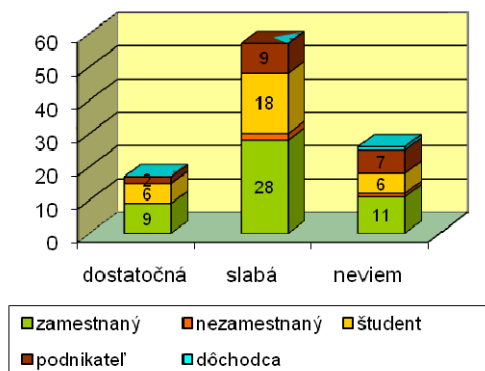
Relatívne najsilnejší vzťah bol potvrdený pri skúmaní tejto otázky vo vzťahu k fakulte FBP, ktorý graficky prezentujeme na obrázku 7. Na grafe porovnávame štruktúru odpovedí študentov FBP fakulty a ostatných respondentov. Najväčší rozdiel je medzi respondentmi pri odpovedi NIE. Záujem získať ďalšie informácie o produktoch ekologického poľnohospodárstva a biopotravinách nemá iba 8 % študentov FBP (sú to študenti, ktorí majú dostatočné informácie o biopotravinách), kým u ostatných respondentov je tento nezáujem väčší, dosahuje až 29 % (respondenti, ktorých daná problematika nezaujíma).



Obrázok 7 Zdroje získania informácií o biopotravinách, ekologickom poľnohospodárstve, atď. vo vzťahu k fakulte FBP v %



Obrázok 8 Odpovede na otázku „Ponuka biopotravin na slovenskom trhu je podľa Vášho názoru:“



Obrázok 9 Ponuka biopotravin vo vzťahu k ekonomickej aktivite v %

Posledná nami analyzovaná otázka je zameraná na zistenie názorov, ktoré sa týkajú ponuky biopotravin. Vychádzali sme z nasledovnej otázky (otázka 5):

Ponuka biopotravin na slovenskom trhu je podľa Vášho názoru:

Dostatočná

Slabá

Neviem

Z výsledkov vyplynulo (obrázok 8), že väčšina spotrebiteľov považuje ponuku biopotravin na slovenskom trhu za slabú (57,47 %). K otázke sa nevedelo vyjadriť 26,03 % respondentov a pre 16,17 % respondentov je ponuka dostatočná.

Štatisticky významná závislosť, mierna, bol potvrdená len vo vzťahu k ekonomickej aktivite respondentov a k fakulte FBP (tabuľka 5).

Na obrázku 9 prezentujeme vzťah medzi ponukou biopotravin a ekonomicou aktivitou, pretože v tomto prípade bola potvrdená vyššia závislosť. Ako vyplýva z grafu, z tých čo považujú ponuku biopotravin za slabú je najviac zamestnaných (28 %), na druhej pozícii sú študenti (18 %) a za nimi nasledujú podnikatelia (9 %).

ZÁVER

Na základe analýz vstupných údajov a informácií 388 respondentov zúčastnených v našom prieskume je možné sformulovať nasledovné závery. S pojmom biopotraviny sa stretli takmer všetci respondenti. Väčšina z nich považuje biopotraviny za produkty a potraviny, ktoré pochádzajú z kontrolovaného a certifikovaného systému ekologického poľnohospodárstva. Respondenti ako motívy ich kúpy uvádzajú vyššiu dôveru v biopotraviny oproti konvenčným potravinám pre ich bezpečnosť a prospešnosť z hľadiska uspokojovania výživových potrieb človeka. Väčšina spotrebiteľov by uvítala, ak by mala možnosť dozvedieť sa viac o bezpečnosti potravín, ekologickom poľnohospodárstve, výrobe a kontrole biopotravin, agro-turistike a vplyve poľnohospodárstva na prírodu. Za najdôležitejšie zdroje informácií o produktoch ekologickej poľnohospodárskej výroby a biopotravinách považujú respondenti médiá a internet. Rezervy vidia respondenti v ponuke biopotravin na slovenskom trhu, pretože ju považujú za nedostatočnú. Biopotraviny tvoria špecifický segment na trhu potravín, ponuku biopotravin v obchodných sieťach odporúčame vhodne rozšíriť v súlade s potenciálnym dopytom spotrebiteľov. Predpokladáme, že výraznejšou osvetou a cieľenou podporou predaja kvalitnej domácej produkcie zo strany štátu, bude možné presvedčiť viac obyvateľov, aby k svojmu zdraviu pristupovali zodpovedne a vyššou konzumáciou biopotravin pôsobili na zdravie svoje a svojich blízkych preventívne pred výskytom rôznych chorôb.

LITERATÚRA

BERTILSON, G., KIRCHMAN, H., BERGSTORM, L. 2008. Energy analysis of organic and conventional agricultural systems. In *Organic crop production – Ambitions and Limitation*. 2008, p. 173-188.

BOŠIAK, M., ŽIDEK, R., GOLIAN, J. 2009. Kvantifikácia sóje v potravinách použitím real-time PCR. In *Potravinárstvo*. vol. 3, 2009, no. 1, p. 3-5. ISSN 1338-0230.

British Retail Consortium. BRC Global Standard for Food Safety. Issue 5, London, UK : TSO, January 2008. 92 p. ISBN 978-0-11-703791-5. Dostupné na internete: <<http://www.brcglobalstandards.com>>.

ČAPLA, J., ZAJÁC, P., GOLIAN, J. 2008. Nový návrh nariadenia Európskeho parlamentu a rady o poskytovaní informácií o potravinách spotrebiteľom. In *Potravinárstvo*, vol. 2, 2008, no. 2, p. 5-8. ISSN 1338-0230.

FIKOVÁ, M., ŽIDEK, R., BOBKOVÁ, A., ANGELOVIČOVÁ, M., GOLIAN, J., BOBKO, M., LOPAŠOVSKÝ, L., ZELENÁKOVÁ, L. 2009. Detekcia látok s antioxidačnou aktivitou pomocou moderných analytických metód. In *Acta fytotechnica et zootechnica*. Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita, 1998. ISSN 1335-258X. vol. 12, mimoriadne č. na CD (2009), p. 157-162. [ONLINE] [s.a.] [cit 2010-01-18] Dostupné na internete: <<http://www.fem.uniag.sk/acta/download.php?id=557>>.

GOLIAN, J., MACHALEC, M., MACHALCOVÁ, T. 2007. Ciele a úlohy zavádzania štandardov kvality a bezpečnosti potravín vo vzťahu k ochrane spotrebiteľa. In VIII. potravinárska konferencia : otvorené fórum o stave bezpečnosti, kvality a kontroly potravín, Bratislava 14., 15. februára 2007. Košice : Spoločnosť spotrebiteľov potravín, 2007. p. 55.

GOLIAN, J., SOKOL, J., ZAJÁC, P., ČAPLA, J., RAJSKÝ, D. 2008. Ochrana spotrebiteľa v kontexte právnych noriem ES/EU a SR / In: 9. konferencie o zdravotní nezávadnosti výroby a spracovaní potravín živočišného pôvodu : zborník abstraktů, 6. března 2008, Brno. Brno : Veterinární a farmaceutická univerzita, 2008. ISBN 978-80-7305-034-4, p. 4.

HDE - Hauptverband des Deutschen Einzelhandels (Germany), and FCD - Fédération des entreprises du Commerce et de la Distribution (France). IFS International Food Standard. Standard for Auditing Retailer and Wholesaler Branded Food Products. Version 5, Berlin, Germany : HDE Trade Services GmbH, august 2007. 117 p. Dostupné na internete: <<http://www.ifs-online.eu>>.

JORDAN, R., MÜLLER, R., UODES, A. 2009. High Sequestration, Low Emission, Food Secure Farming. Organic Agriculture – a Guide to Climate Change and Food Security. IFOAM EU Group : Bruxelles. 23 p., ISBN 978-3-940946-70-6. [ONLINE] [s.a.] [cit 2010-03-04] Dostupné na internete: <http://www.ifoam.org/growing_organic/1_arguments_for_oa/environmental_benefits/pdfs/IFOAM-CC-Guide-web-20100210.pdf>.

Kolektív MP SR. 2009. Slovenské pôdohospodárstvo v číslach. MP SR Bratislava, 2009. s. 49, KRETTNER, A. 2005. Marketing ekologického poľnohospodárstva a ekoproduktov. Nitra : SPU, 2005, s. 20, ISBN 80-8069-620-9.

LOPAŠOVSKÝ, L., ČIČMANCOVÁ, M., ŽIAK, J., BOBKOVÁ, A., ZELENÁKOVÁ, L., GOLIAN, J., ŽIDEK, R. 2009. Alergény a bezpečnosť dehydrovaných potravín. In *Potravinárstvo*. vol. 3, 2009, no. 2, p. 50-56. ISSN 1338-0230.

LUND, V., HEMLIN, S., LOCKERETZ, W. 2002. Organic livestock production as viewed by Swedish farmers and organic initiators. In *Agriculture and Human Values*, vol. 19, 2002, no. 3, p. 255-268, ISSN 0889-048X.

MATYSIK – PEJAS, R., SZAFRANSKA, M. 2009. Európsky spotrebiteľ a produkty ekologického poľnohospodárstva. In HORSKÁ, E. et al. 2009. Európsky spotrebiteľ a spotrebiteľské správanie. Nitra : SPU, p. 189-191, ISBN 978-80-552-0318-8.

SCHLOSSEROVÁ, J. 2008. Praktická príručka pre ekologickú poľnohospodársku výrobu. Agroinštitút Nitra, 2008, p. 3, ISBN 978-80-7139-121-0.

SOKOL, J., GOLIAN, J., POPELKA, P., LOPAŠOVSKÝ, L., ČAPLA, J., ZAJÁC, P. 2007. Aktualizovaný potravinový kódex SR v elektronickej forme. 2007. ISBN 978-80-969655-0-2. 12.9.20

VYSEKALOVÁ, J. 2004. Psychologie spotřebitele. Jak zákazníci nakupují. Grada Publishing, a.s. Praha, 2004, p. 156, ISBN 80-247-0393-9.

WILLER, H., KICHER, L. 2010. 35 Million Hectares of Organic Agricultural Land World-wide. [Online] [cit 2010-03-05] Dostupné na internete <http://www.ifoam.org/press/press/2008/statsbook2010.php>.

ZELENÁKOVÁ, L., ŠESTÁK, M., ŽIDEK, R. 2009. Monitoring falšovania ovčieho mlieka a výrobkov z neho na spoločnom európskom trhu s potravinami. In *Potravinárstvo*, vol. 3, 2009, no. 2, p. 69-74. ISSN 1338-0230.

Kontaktná adresa:

Ing. Dagmar KOZELOVÁ, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 94976, Nitra, Slovakia, Tel.: 00421-37-6414609, e-mail: dagmar.kozelova@uniag.sk,

Ing. Eva MATEJKOVÁ, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Economics and Management, Department of Statistics and Operational Research, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, Tel.: 00421-37-6414609, e-mail: eva.matejkova@uniag.sk,

Ing. Artan QINETI, PhD. Slovak University of Agriculture, Faculty of Economics and Management, Department of Economics, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, Tel.: 00421-37-6414575, Fax: 00421-37-6511589, e-mail: qinetti@yahoo.com.

BETA GLUCAN DEGRADATION DURING POST HARVEST MATURATION OF MALTING BARLEY WITH EMPHASIS ON MALT QUALITY

Miriam Lišková, Helena Frančáková, Ján Mareček

ABSTRACT

β -glucans are natural gum polysaccharides occurring in the bran of cereal grains. Their negative effect consists in blocking enzymes entering the cells whereby they negatively influence the speed of grain degradation during process of malting. Aim of this work was to investigate to what extent post-harvest maturation influences β -glucan degradation with regard to malt quality. Results revealed that post-harvest maturation significantly influenced β -glucan degradation in malt. In barley grains that were stored six weeks after harvest, degradation of β -glucan in malt represented 99 % while using barley grains two weeks after harvest, β -glucan degradation represented only 50 %. Statistically significant was the effect of genotype on β -glucan content in grain as well as on β -glucan degradation level in malt.

Keywords: spring barley, malt, β -glucan, post-harvest maturation

ÚVOD

V súčasnosti dochádza na celom svete k výraznej renesancii využitia jačmeňa pre výživu ľudí. Súvisí to s obsahom beta glukánov, ktoré z obilnín najviac obsahuje práve jačmeň. Požívaním β -glukánov sa imunitný systém viditeľne posilní a stabilizuje sa v obrane pred vírusmi a baktériami. β -glukany sa môžu podieľať aj na znižovaní krvnej hladiny cholesterolu a ďalších lipidov (Ehrenbergerová et al., 2000). Na druhej strane z technologického hľadiska, β -glukany spôsobujú problémy v spracovateľskom priemysle. Vyskytujú sa prevažne v endosperme zrna jačmeňa v neškrobnatých polysacharidoch a to v hemicelulóze a gumovitých látkach (Vaculová, 1992). β -glukany plnia funkciu stavebných látok v bunkových stenách endospermu a pri vyšších koncentráciách limitujú úroveň modifikácie endospermu v procese sladovania (Zhang et al., 2001). Podľa Frančákovvej (2003a) a Frančákovvej (2003b) brzdia vstup enzýmov do buniek, čím negatívne ovplyvňujú

rýchlosť rozlúštenia zrna počas sladovania. Za krajnú hodnotu pre výrobu kvalitného sladu sa udáva obsah do 4 % β -glukánov v zrne jačmeňa. Ich množstvo je ovplyvnené odrodou, pôdnymi a klimatickými podmienkami. Všeobecne sa hodnoty β -glukánov zvyšujú v suchých a teplých ročníkoch, pričom pozitívny vplyv má najmä skrátené vegetačné obdobie (Molina-Cano et al., 1997, Hang et al., 2007). Podľa Faustnaughta et al. (1996), Perez-Vendrella et al. (1996) a Zhanga et al. (2001) mierne teploty a vysoký podiel zrážok počas vývinu zrna jačmeňa vedú k zníženiu obsahu β -glukánov. Vysoký obsah β -glukánov je pre sladovanie nežiaduci. β -glukany zhoršujú tvorbu extraktu a sťažujú filtráciu tým, že vytvárajú viskózne roztoky (Kuusela et al., 2004). Podľa Chandru et al. (1999), Molina-Canu et al. (1995) a Palmera (2000) je degradácia β -glukánov považovaná za najdôležitejší proces ovplyvňujúci kvalitu sladu.

Tabuľka 1 Klimatické podmienky na skúšobných staniciach za rok 2006

Veľké Ripňany								
Mesiace	1	2	3	4	5	6	7	priemer
Zrážky skutočnosť	57,5	44	43,6	30,4	87,4	100,7	10,8	53,5
Zrážky normál	35	34	31	41	55	70	77	49
Teplota skutočnosť	-4,9	-2,4	2,7	12,2	15,3	19,4	24,1	9,5
Teplota normál	-2,2	-0,3	4,2	10,1	15,2	18,4	20,3	9,4
Sládkovičovo								
Mesiace	1	2	3	4	5	6	7	priemer
Zrážky skutočnosť	58,1	29,1	23,8	32,6	98,5	43,3	42,5	46,8
Zrážky normál	26,5	27,6	25,4	31,6	49,3	66,6	57,5	40,6
Teplota skutočnosť	-2,29	-0,5	4,78	13,14	15,21	20,07	24,92	10,8
Teplota normál	-1,28	-1,18	5,19	11,16	16,37	19,32	21,13	10,1
Jakubovany								
Mesiace	1	2	3	4	5	6	7	priemer
Zrážky skutočnosť	10,7	25,1	51,6	52,2	97,3	108,4	75	60
Zrážky normál	28	25	26	39	62	80	88	49,7
Teplota skutočnosť	-5,8	-3,8	1	9,7	13,3	17,2	21,1	7,6
Teplota normál	-4,4	-2,8	2,2	7,9	13,5	16,3	17,9	7,2

MATERIÁL A METODIKA

V práci boli hodnotené tri genotypy jačmeňa jarného sladovníckeho a to kontrolná odroda Nitran a novošľachtené genotypy SK 5734 a SK 5976, ktoré boli zaradené v odrodových skúškach a pestované na troch klimaticky odlišných lokalitách: Sládkovičovo, Veľké Ripňany a Jakubovany. Vzorky boli analyzované druhý týždeň po zbere, keď boli zrná ešte dormantné a šiesty týždeň po zbere, po ukončení dormancie. Sladovanie vzoriek bolo zrealizované v mikroskladovni na šľachtiteľskej stanici Hordeum Sládkovičovo s.r.o.

A. Klimatické podmienky pestovateľských lokalít (skúšobných staníc)

B. Stanovenie β -glukanov v zrne a v slade Fluorometricky (Analytica EBC 3.11.2, 1998)

Extrakt jačmeňa a sladu sa zmeral na prístroji Tecator β -GLUKAN 5700 Analyzér. Fluorescenčné meranie reakcie kalkoflóru s vysokomolekulárnymi reťazcami β -glukanov sa uskutočnilo za pomoci Prietokového Injekčného Analyzéra.

Tabuľka 2 β -glukany v zrne a v slade pri genotypoch zo stanice Sládkovičovo, Veľké Ripňany a Jakubovany

Sládkovičovo	β -glukany zrna (%)	β -glukany slad (%)	β -glukany slad (%)
Genotyp	2 týždeň po zbere	2 týždeň po zbere	6 týždeň po zbere
Nitran	3,8	2,2	0,05
SK 5976	3,8	1,9	0,05
SK 5734	4,6	1,7	0,05
$\bar{x}$	4,06	1,93	0,05
Veľké Ripňany	β -glukany zrna (%)	β -glukany slad (%)	β -glukany slad (%)
Genotyp	2 týždeň po zbere	2 týždeň po zbere	6 týždeň po zbere
Nitran	2,9	1,6	0,02
SK 5976	4,1	2,3	0,07
SK 5734	4,2	2,2	0,08
$\bar{x}$	3,73	2,03	0,05
Jakubovany	β -glukany zrna (%)	β -glukany slad (%)	β -glukany slad (%)
Genotyp	2 týždeň po zbere	2 týždeň po zbere	6 týždeň po zbere
Nitran	3,3	1,3	0,07
SK 5976	4	2,4	0,1
SK 5734	4,3	2,2	0,07
$\bar{x}$	3,86	1,96	0,08

Tabuľka 3 Štatistické vyhodnotenie β -glukanov v zrne (ANOVA)

Zdroj premenlivosti	Suma štvorcov	Stupeň voľnosti	Variancia	F hodnota	Preukaznosť
Genotyp	1,628889	2	0,814444	8,778	0,0344 ⁺
Stanovište	0,168889	2	0,084444	0,91	0,4723 ⁻
Zvyšok	0,371111	4	0,92778	-	-
Celková Premennivosť	2,168889	8	-	-	-

- = nepreukazné (>0,05), + = preukazné (0,01-0,05), ++ = vysoko preukazné (<0,01)

Tabuľka 4 Štatistické vyhodnotenie degradácie β -glukanov v slade (ANOVA)

Zdroj premenlivosti	Suma štvorcov	Stupeň voľnosti	Variancia	F hodnota	Preukaznosť
Týždeň	16,51209	1	16,51209	221,405	0,0000 ⁺⁺
Genotyp	2,837644	2	1,418822	2,677	0,050 ⁺
Stanovište	0,12869	2	0,064135	0,121	0,8862 ⁻
Odber	82,80796	3	27,60265	52,074	0,0000 ⁺⁺
Zvyšok	33,39409	63	0,530065	-	-
Celková Premennivosť	119,332	71	-	-	-

- = nepreukazné (>0,05), + = preukazné (0,01-0,05), ++ = vysoko preukazné (<0,01)

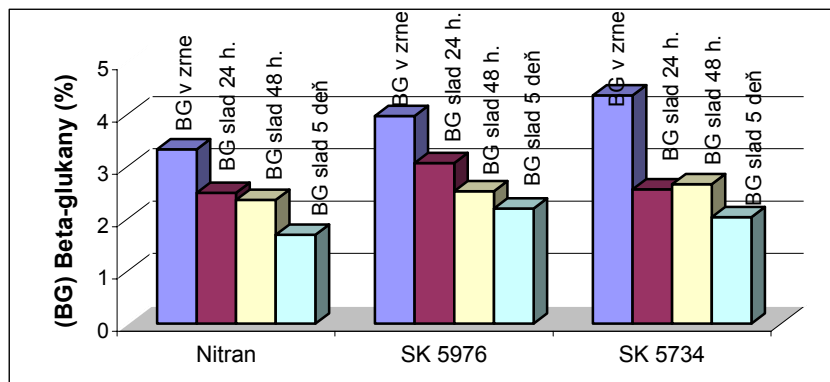
Tabuľka 5 Štatistické vyhodnotenie degradácie β -glukanov v slade z pohľadu genotypu (LSD-test)

Genotyp	Počet	LS priemer	Homolog. skupina
Nitran	24	2,46	x
SK 5976	24	2,775	xx
SK 5734	24	2,938333	x

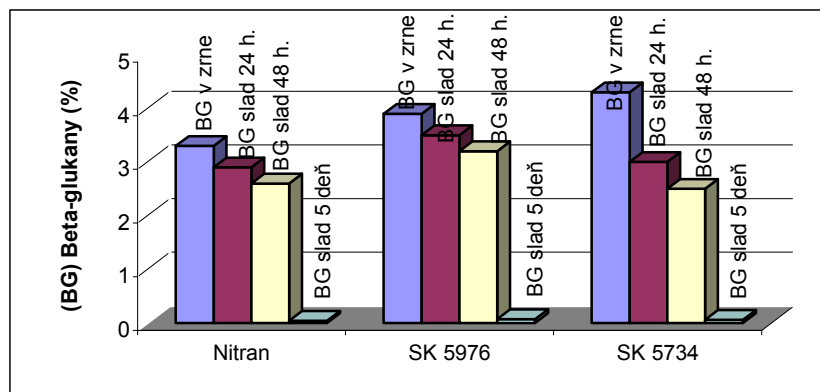
Chemikálie: jačmenná a sladová múka - 100 mg, demineralizovaná voda, kalkofluór reagent typ II, štandardný roztok 300 mg.l⁻¹.

Získané výsledky boli štatisticky vyhodnotené matematicko-štatistickou metódou s použitím programu SAS (Statistical Analysis System). Pri normálnom

termamyl- α -amyláza typ 120 L, 95-97 % H₂SO₄, rozdelení súborov sa na porovnanie priemerov základného súboru použila viacfaktorová analýza rozptylu (ANOVA) a na testovanie štatistickej preukaznosti rozdielov: LSD test.



Obr. 1 Degradácia β-glukanov v zrne a v slade po 24 hod., 48 hod. a po 5 dni, druhý týždeň po zbere, z pohľadu odrody



Obr. 2 Degradácia β-glukanov v zrne a v slade po 24 hod., 48 hod. a po 5 dni, šiesty týždeň po zbere, z pohľadu odrody

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky ukázali, že z pohľadu lokality v priemere najviac β-glukanov v zrne kumulovali genotypy pochádzajúce zo stanice Sládkovičovo (aridná oblasť) (tabuľka 2) aj keď podľa analýzy rozptylu rozdiely medzi lokalitami boli štatisticky nepreukazné $P > 0,05$ (tabuľka 3). Podľa **Frančákovej (2003a)** a **Frančákovej (2003b)**, všeobecne sa hodnoty β-glukanov zvyšujú v suchých a teplých ročníkoch, pričom pozitívny vplyv má najmä skrátené vegetačné obdobie. Podľa **Molinu-Cano et al. (1997)** vplyv klimatických faktorov na obsah β-glukanov v jačmeňoch prevažuje nad vplyvom genetickým. Z údajov v klimatograme (tabuľka 1) vyplýva, že stanica Sládkovičovo sa v roku 2006 prejavila ako najteplejšia a najsuchšia lokalita. V priemere najnižší obsah β-glukanov v zrne preukázali genotypy pestované na lokalite Veľké Ripňany (tabuľka 2). Podľa **Faustnaughta et al. (1996)** a **Perez-Venderella et al. (1996)**, mierne teploty a vysoký podiel zrážok počas vývinu zrna jačmeňa vedú k zníženiu obsahu β-glukanov. Na druhej strane **Wallwork et al. (1998)** uvádza, že vysoké teploty neovplyvňujú proces ukladania sa β-glukanov v bunkách zrna, ale vedú k zníženiu celkového obsahu β-glukanov v zrne jačmeňa. Výsledky našej práce dospeli k opačnému tvrdeniu. Rozdiely medzi genotypmi podľa analýzy rozptylu boli štatisticky preukazné $P = 0,03$ (tabuľka 3), s najnižším

obsahom β-glukanov v zrne pri odrode Nitran a s najvyšším obsahom pri genotype SK 5734. Štatisticky preukazné rozdiely v obsahu β-glukanov medzi genotypmi, lokalitami a pestovateľskými ročníkmi dokumentuje vo výsledkoch svojej práce aj **Perez-Venderell et al. (1996)** a **Kihara et al. (2007)**.

Zistilo sa, že medzi testovanými genotypmi existujú rozdiely v rozsahu degradácie β-glukanov. Z pohľadu genotypu, druhý týždeň po zbere, v priemere najnižší obsah β-glukanov v slade po degradácii preukázala odroda Nitran (1,7 %), zároveň pri tejto odrode bol nameraný aj najnižší obsah β-glukanov v zrne (obr. 1). Naopak v priemere najvyšší obsah β-glukanov preukázal genotyp SK 5976 (2,2 %) (obr. 1). V šiestom týždni po zbere bola degradácia v porovnaní s druhým týždňom výraznejšia z dôvodu pozberového dozrievania jačmeňov, pričom rozdiely medzi týždňami boli štatisticky vysoko preukazné $P < 0,01$ (tabuľka 4). U odrody Nitran bol opäť nameraný v priemere najnižší obsah β-glukanov v slade po degradácii (0,04 %) a pri genotype SK 5976 rovnako najvyšší obsah β-glukanov (0,07 %) (obr. 2). Z pohľadu genotypu najvýraznejšie prebehla degradácia β-glukanov v slade, v druhom aj v šiestom týždni po zbere, pri genotype SK 5734 (v priemere zo 4,4 % na 0,07 %). Podľa analýzy rozptylu rozdiely medzi genotypmi boli štatisticky

preukazné $P = 0,05$ (tabuľka 4). Z pohľadu lokality najvýraznejšie prebehla degradácia β -glukanov v slade pri genotypoch zo stanice Sládkovičovo aj napriek tomu, že rozdiely medzi lokalitami neboli štatisticky preukazné. Štatisticky vysoko preukazné boli rozdiely medzi druhým a šiestym týždňom v prospech šiesteho týždňa (najvýraznejšia degradácia) $P < 0,01$ (tabuľka 4). Z výsledkov vyplýva, že degradáciu β -glukanov v slade výrazne ovplyvňuje pozberové dozrievanie. V šiestom týždni po zbere došlo po zosladovaní až k 99 % degradácii β -glukanov v slade, pričom pri použití zrna jačmeňa iba po dvoch týždňoch po zbere predstavovala degradácia β -glukanov 50 %. Aj pri genotypoch s vyšším obsahom β -glukanov v zrne došlo po odznení pozberového dozrievania k ich 99 % degradácii. **Woonton et al. (2005)** zistil, že obsah β -glukanov v sladine sa s dobou skladovania jačmeňa znižuje. Zo získaných výsledkov sa ďalej potvrdil vplyv odrody na obsah a na degradáciu β -glukanov v slade (24 h, 48 h, 5 deň), pričom preukazne bolo možné odlíšiť odrodu Nitran (najmenej výrazná

degradácia) a genotyp SK 5734 (najvýraznejšia degradácia) (tabuľka 5). Vysoko štatisticky preukazné $P < 0,01$ (tabuľka 4) boli rozdiely medzi odbermi, v prospech piateho dňa sladovania, kde došlo k najvýraznejšej degradácii β -glukanov v slade v obidvoch sledovaných týždňoch.

ZÁVER

Ako ukázali výsledky, pozberové dozrievanie ovplyvňuje degradáciu β -glukanov v slade a tým aj kvalitu vyrábaného sladu. Z toho dôvodu by sme odporúčali jačmene po zbere nechať aspoň šesť týždňov pozberovo dozrieť. Na sladovnícke účely by bolo najvhodnejšie použiť odrody s nižším počiatočným obsahom β -glukanov v zrne jačmeňa, aby sa zaručila dokonalá degradácia β -glukanov vo vyrábanom slade. Dôležitý je aj výber pestovateľskej lokality. Najvhodnejšie sú lokality humidnejšie a menej vhodné sú lokality aridné, kde je predpoklad vyššej kumulácie β -glukanov v zrne jačmeňa.

LITERATÚRA

ANALYTICA EBC, 3. 11. 2., 1998, 4th edition, Zurich Switzerland-publisher.

CHANDRA, G. S., PROUDLOVE, M. O., BAXTER, E. D. 1999. The structure of barley endosperm – an important determinant of malt modification. In *Journal of Science of Food and Agriculture*, vol. 79, 1999, p. 37-46.

EHRENBERGEROVÁ, J., VACULOVÁ, K., ZIMOLKA, J., KOUTNÁ, K. 2000. Možnosti využitia ječmene pro potravinářské účely. In *Jačmeň, výroba a zhodnotenie*. Nitra: SPU, 2000, s. 95-99, ISBN 80-7137-681-7.

FASTNAUGHT, C. E., BERGLUND, P. T., HOLM, E. T., FOX, G. J. 1996. Genetic and environmental variation in β -glucan content and quality parameters of barley for food. In *Crop Science*, vol. 36, 1996, p. 941-946.

FRANČÁKOVÁ, H. 2003a. Pozberové dozrievanie a dormancia zŕn jačmeňa. In *Jačmeň - biológia, pestovanie, využívanie*. Nitra: Agrogenofond, 2003, p. 151-152, ISBN 80-69068-2-8.

FRANČÁKOVÁ, H. 2003b. Technologická kvalita jačmeňa a sladu. IN HOLKOVÁ, S. a kol. Jačmeň - biológia, pestovanie, využívanie. Nitra: Agrogenofond, 2003, p. 158-159, ISBN 80-69068-2-8.

HANG, A., OBERT, D., GIRONELLA, A. I. N., BURTON, CH. S. 2007. Barley Amylose and β -Glucan: Their Relationships to Protein, Agronomic Traits, and Environmental Factors. In *Crop Science*, vol. 47, 2007, p. 1754-1760.

KIHARA, M., OKADA, Y., IIMURE, T., ITO, K. 2007. Accumulation and Degradation of Two Functional Constituents, GABA and β -Glucan, and Their Varietal Differences in Germinated Barley Grains. In *Journal of Breeding Science*, vol. 57, 2007, no. 2, p. 85-89.

KUUSELA, P., JARI, J., Hämäläinen, P. R., OLKKU, J. 2004. Simulation Model for the Control of beta-Glucanase Activity and beta-Glucan Degradation During Germination in Malting. In *Journal of Institute of Brewing*, vol. 110, 2004, no. 4, p. 309-319.

MOLINA-CANO, J. L., RAMO, T., ELLIS, R. P., SWANSTON, J. S., BAIN, H., URIBE-ECHEVERRIA, T., PEREZ-VENDRELL, A. M. 1995. Effect of grain composition on water uptake by malting barley: A genetic and environmental study. In *Journal of Institute of Brewing*, vol. 101, 1995, p. 79-83.

MOLINA-CANO, J. L., FRANCESCH, M., PEREZ-VENDRELL, A. M., RAMO, T., VOLTAS, J., BRUFAU, J. 1997. Genetic and environmental variation in malting and feed quality for barley. In *Cereal Science*, vol. 25, 1997, p. 37-47.

PALMER, G. H. 2000. Malt performance is more related to inhomogeneity of protein and β -glucan breakdown than to standard malt analyses. In: *Journal of Institute of Brewing*, vol. 106, 2000, p. 189-192.

PEREZ-VENDRELL, A. M., BRUFAU, J., MOLINA-CANO, J. L., FRANCESCH, M., GUASCH, J. 1996. Effect of cultivar and environment on (1-3,1-4)- β -D-glucan content and acid extract viscosity of Spanish barleys. In *Cereal Science*, vol. 23, 1996, p. 285-292.

VACULOVÁ, K. 1992. Beta-glukany a kvalita zrna ječmene. In *Úroda*, no. 5, 1992, p. 209-210.

WALLWORK, M. A. B., LOGUE, S. J., MACLEOD, L. C., JENNER, C. E. 1998. Effects of a period of high temperature during grain filling on the grain growth characteristic and malting quality of three Australian malting barleys. In *Australian Journal of Agricultural Research*, vol. 49, 1998, p. 1287-1296.

WOONTON, B., JACOBSEN, J. V., SHERKAT, F., STUART, I. M. 2005. Changes in germination and malting quality during storage of barley. In *Journal of the Institute of Brewing*, vol. 111, 2005, no. 1, p. 33-41.

ZHANG, G., CHEN, J., WANG, J., DING, S. 2001. Cultivar and environmental effects on (1-3,1-4)- β -glucan and protein content in malting barley. In *Cereal Science*, vol. 34, 2001, p. 295-301.

Kontaktná adresa:

Ing. Miriam Lišková PhD., Slovak University of Agriculture, FBP, KSSRP, Trieda Andreja Hlinku 2. Tel.: +421 37 641 4779, E-mail: miriam.liskova@uniag.sk

doc. Ing. Helena Frančáková, CSc., Slovak University of Agriculture, FBP, KSSRP, Trieda Andreja Hlinku 2. Tel.: +421 37 641 4311, E-mail: helena.francakova@uniag.sk

Ing. Ján Mareček PhD., Slovak University of Agriculture, FBP, KSSRP, Trieda Andreja Hlinku 2. Tel.: +421 37 641 4379, E-mail: jan.marecek@uniag.sk

INFLUENCE OF THE RIPENING ONTO THE GROWTH OF SELECTED PROBIOTIC CULTURES IN LOW – COOKED CHEESE

Viera Lovayová, Eva Dudriková, Radomíra Nemcová, Kvetoslava Rimárová

ABSTRACT

The work describes changes in numbers of selected probiotic cultures in the cheese during its ripening. The technology to manufacture semi-hard low-scaled cheeses used probiotic cultures *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum* 96. Sampling took place each month from January to June 2009. Samples of cheese were microbiologically analyzed by standard microbiological methods for the numbers ingested probiotic cultures throughout the period. Physico-chemical parameters (fat content, dry matter content of sodium chloride, titratable acidity, and pH and in the last month and lactic acid and protein content) were followed selected during four months of ripening. For each sample analyzed, and the center region of the cheeses. Achieved values observed physico-chemical parameters were significantly changed during the reporting period and amounted to the value required by the applicable legislation for the cheese. The results of microbiological analysis showed that in all evaluated selected probiotic cheeses was observed during a six month minimum storage period of therapy, which sets the value of micro-organisms at the end of the storage order of 10^6 cfu.ml⁻¹

Keywords: probiotic, parameter, cheese, sampling, ripening

ÚVOD

Mlieko, mliečne výrobky, a teda aj syry majú významné miesto vo výžive všetkých skupín obyvateľstva. Ich každodenný príjem je odporúčaný zdravotníckymi organizáciami a mnohými odborníkmi.

Syry ako také patria medzi najatraktívnejšie mliečne výrobky a celosvetovo sa na ich výrobu spotrebováva cca 46 % všetkého mlieka. Napriek stále zvyšujúcej sa spotrebe syrov u nás, máme oproti krajinám EÚ ešte veľkú rezervu a možnosť jej zvyšovania. Hoci u nás je spotreba syrov už vyše 9 kg/obyvateľa a rok, celoeurópsky priemer je cca 19 kg/osobu a rok, čo je spotreba vyše dvojnásobná a pritom niektoré syrárske krajiny majú spotrebu aj vyše 20 kg/osobu a rok (Nemecko, Grécko, Francúzsko). Syry vyrobené na Slovensku majú dobrý kvalitatívny štandard a niektoré syrárske špeciality majú už svoju tradíciu a sú známe i v zahraničí (Herian, 2005).

Syry sa vyznačujú bohatým výskytom esenciálnych živín ako sú bielkoviny, tuky, minerálne látky, vitamíny a podobne. Spracovaním mlieka na syr sa uspôsobujú niektoré jeho základné zložky na lepšiu stráviteľnosť ako aj na to, aby sa syr stal vhodnou potravou pre diabetikov, pre ľudí trpiacich intoleranciou laktózy, aby bol vhodný na konzumáciu pre chorých a rekonvalescentov a aby ho mohli bez problémov konzumovať rovnako deti, ako aj dospelí (Palo, 2004).

Syr môže ponúknuť určité výhody ako nosič probiotických mikroorganizmov. S vyšším pH, ako tradičné probiotické potraviny (napr. jogurty a fermentované mlieka), môže poskytovať stabilnejšie prostredie, ktoré podporuje ich dlhodobé zretie. Okrem toho jeho relatívne vysoký obsah tuku môže poskytnúť ochranu probiotických baktérií počas prechodu zažívacím traktom. Avšak, medzi najdôležitejšie kritériá pri posudzovaní syra ako probiotickej potraviny je,

že mikroorganizmy sú schopné prežiť pomerne dlhé doby zrenia v dĺžke najmenej 6 mesiacov. Podľa Chapmana a Sharpea (1981) v období dozrievania syrov, spravidla pri teplote 2 až 16 °C, počet nepatogénnych baktérií, predovšetkým laktobacilov (*Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, *L. brevis*) a pediokokov (*Pedococcus pentosaceus*) stúpa rýchlejšie ako u čerstvých syrov.

Mnohé z týchto baktérií mliečného kvasenia majú zložité proteolytické systémy, ktoré sú spojené s procesom zrenia. V dôsledku toho boli laktobacily s definovanými proteolytickými systémami vedome pridávané ako doplnky do mlieka na výrobu syrov s cieľom ovplyvniť zrenie syrov (Lynch et al., 1996).

V súčasnej dobe sa veľké množstvo probiotických mikroorganizmov používa na zlepšenie chuti a sú komerčne dostupné aj v syroch, vrátane syrov holandského typu a syrov čedar. Existuje pomerne málo správ o syroch ako nosičoch probiotických organizmov.

Dinakar a Mistry (1994) pridali *Bifidobacterium bifidum* do syrov typu čedar ako probiotický doplnok. Tento kmeň prežil aj v syroch, ktoré boli uchovávané po dobu 6 mesiacov, kde ich hodnoty dosahovali $23 \cdot 10^7$ CFU.g⁻¹ syra, bez toho, aby sa nepriaznivo ovplyvnila chuť, konzistenciu či vzhľad syra. Tento príklad je jasnou ukážkou, že v syroch by mohlo byť vhodné prostredie pre zachovanie probiotických mikroorganizmov vo vysokých počtoch po dlhú dobu.

Cieľom práce bolo vyrobiť polotvrdé syry s nízkodohrievanou syreninou s použitím probiotických kultúr *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* a *Lactobacillus plantarum* 96 ako doplnkových kultúr a zistiť ich prežívanie v priebehu zretia syrov, ich vplyvu na fyzikálno-chemické a senzorické vlastnosti finálneho výrobku počas zretia.

mesiacov. Po samotnej výrobe sa syry rozdelili do 4 skupín, z ktorých tri skupiny syrov obsahovali tri vybrané probiotické kultúry, štvrtá skupina syrov bola kontrolná. V každej skupine sa nachádzali tri bochníky syrov o priemernej hmotnosti 3273 g. Vzorky syrov sa následne označili ako:

S1 - skupina obsahujúca *Lactobacillus acidophilus*

MATERIÁL A METÓDY

Mlieko v množstve 400 litrov sa spracovávalo v laboratórnych priestoroch na Ústave mikrobiológie a gnotobiológie UVFL v Košiciach. Proces výroby polotvrdých syrov prebiehal na prístroji Polyfood model SI - 050 (Inventa Agri, Taliansko). Boli vyrobené polotvrdé syry s nízkodohrievanou syreninou, ktoré zreli po dobu 6

S2 - skupina obsahujúca *Lactobacillus casei*
S3 - skupina obsahujúca *Lactobacillus plantarum* 96
Sk - kontrolná skupina

Na prípravu 3 skupín probiotických syrov s vybranými probiotickými kultúrami uvedenými vyššie sa použila kultúra mikroorganizmov distribuovaná z jedného objemu do fermentorov v jednej operácii tak, že bola zaručená rovnorodosť, ochrana pred kontamináciou a stabilita. Do pripraveného média bola pridaná príslušná probiotická kultúra o množstve 10U/100l mlieka. Po premiešaní sa na zariadení zobrazila hodnota pH inokula. Do fermentorov sa pridali magnetické miešadlá a po uzavretí sa fermentory vložili do termostatu pri teplote **39 °C - 40 °C**. Inokulum sa sledovalo v pravidelných časových intervaloch (**3-6 hodín**), pričom sa odoberali vzorky o množstve 50 ml a sledovalo sa pH inokula.

Prvé dva týždne po výrobe boli syry skladované pri teplote **14 - 15 °C** pričom sa pravidelne otáčali. Potom sa teplota upravila na 10 °C. Keď sa na syroch vytvorila kôra, syry sa nalakovali a navoskovali. Takto upravené syry zreli pri teplote 10 °C.

Odbor vzoriek sa uskutočňoval jedenkrát za mesiac v období január až jún 2009. Po každom odbere sa jednotlivé

vzorky syrov analyzovali mikrobiologicky, pričom sa sledovala životaschopnosť jednotlivých probiotických kultúr v syroch počas zretia. Izolácia a počet baktérií rodu *Lactobacillus* sa stanovoval na *Lactobacillus* selektívnom agare (Imuna, Slovensko) pri inkubácii v termostate pri teplote 37 °C po dobu 72 hodín (STN 56 0094).

Fyzikálno-chemické parametre (obsah tuk, sušiny, obsah chloridu sodného, titračná kyslosť a pH) sa sledovali počas vybraných štyroch mesiacov. V poslednom mesiaci (jún) sa vo vzorkách syrov zisťovalo aj množstvo kyseliny mliečnej a obsah bielkovín. U každej vzorky sa analyzoval stred a kraj syrov.

Na štatistické porovnanie výsledkov jednotlivých experimentov sa použili štatistické metódy spracovania a vyhodnocovania hromadných číselných údajov, ktoré boli spracované do tabuliek a grafov (MS Excel 2007). Z parametrických testov bola použitá analýza rozptylu ANOVA a metódy indukčnej štatistiky – párového t-testu pre testovanie rovnosti priemerov medzi závislými parametrami, korelačný p-hodnotový koeficient pre zistenie tesnosti vzťahu medzi dvoma nominálnymi premennými (SPSS, GaphPad Prism 5).

VÝSLEDKY

Najvyšší obsah tuku počas sledovaných období bol zaznamenaný u skupiny syrov obsahujúcich probiotickú kultúru *Lactobacillus acidophilus* (S1) v priemere **31,12 %** a **30,48 %** v skupine syrov obsahujúcich probiotickú kultúru *Lactobacillus casei* (S2). Najnižší obsah tuku bol u syrov poslednej tretej skupiny obsahujúcej probiotické kmene *Lactobacillus plantarum* 96 (S3) - **28,67 %**, pričom na začiatku zrecieho obdobia sa pohybovali hodnoty tuku v priemere **20,79 %**.

Pri hodnotení množstva tuku v syroch jednotlivých experimentálnych skupín možno konštatovať, že jedným z rozhodujúcich kvalitatívnych znakov syrov je konzistencia a teda, že ani v jednej sledovanej skupine syrov nepresiahla stanovená hodnota obsahu tuku pre výrobu nízkodohrievaných syrov 31,5 %.

Priemerná hodnota sušiny pre polotvrde syry z nízkodohrievanou syreninou je 54 %, pre beztukovú sušinu **54 % - 63 %** a tuku v sušine **45 % - 60 %**. Sušina ako aj ostatné namerané hodnoty (beztuková sušina a tuk v sušine) mali po celé sledované obdobie vo všetkých troch skupinách iba veľmi mierne kolísavý charakter.

Kyslosť syra podstatne ovplyvňuje odtok srvátky a tým aj obsah sušiny syra. Titračná kyslosť u sledovaných skupín probiotických syrov stúpala počas obdobia zretia u skupiny S1 o 2,2 °SH, u skupiny S2 až o 5,6 °SH a u tretej skupiny S3 o 2,6 °SH na konci zrecieho obdobia. Priemerné hodnoty aktívnej kyslosti pH sa pohybovali od **4,93 do 5,27** pH. Hodnoty pH prostredia syrov klesali v závislosti od hromadenia sa kyseliny mliečnej v syroch.

Obsah soli v syroch má vplyv na chuť syrov a tiež nepriamy vplyv na štruktúru syrového cesta. Priemerné hodnoty soli by sa mali v syroch pohybovať v rozpätí od **1,5 % - 3 %**. V jednotlivých skupinách syrov hodnoty soli stúpali počas celého zrecieho obdobia, ale ani jedna vzorka syrov nepresiahla hodnotu 3 %. Tým sa zabezpečila požadovaná sušina a konzistencia syrov.

Fermentáciou laktózy vzniknutá kyselina mliečna výraznou mierou ovplyvňuje nielen chuť syrov, ale

zabezpečuje ich trvanlivosť a hlavne nutričné a dietetické vlastnosti. Obsah kyseliny mliečnej u skupiny vzoriek syrov S1 stúpala počas zrecieho obdobia až na hodnotu 1,94 g/100g syra, v skupine S2 bola konečná hodnota mliečnej kyseliny 1,57 g/100g a najnižšia hodnota kyseliny mliečnej bola v tretej skupine 1,46 g/100g obsahujúcej probiotickú kultúru *Lactobacillus plantarum* 96. Kyselina mliečna vo všetkých skupinách stúpala úmerne so štiepením laktózy za súčasného enzymatického štiepenia bielkovín. Výsledky ukázali, že v polotvrdých syroch sa laktóza počas zrecieho obdobia úplne transformovala na kyselinu mliečnu.

Bielkoviny v syre a to najmä kazeín, svojou vápnikovou väzbou dávajú syru pevnosť, formu a stabilitu. Priemerné hodnoty bielkovín v poslednom mesiaci skladovania v jednotlivých skupinách vzoriek syrov boli u S1- **22,12 %**, S2 - **23,54 %** a S3 - **21,73 %**. Pri štiepení bielkovín počas zrenia vzoriek syrov vznikali látky, ktoré v jednotlivých skupinách vytvárali typickú chuť a vôňu syrov.

Vyhodnotenie jednotlivých výsledkov fyzikálno-chemických parametrov párovým t-testom nedokázalo preukázať rozdiely v stredných hodnotách. To znamená, že namerané hodnoty neovplyvnili kvalitu skladovaných vzoriek syrov.

Z vyhodnotenia kvantitatívnych priemerných hodnôt sledovaných probiotických kultúr u jednotlivých vzoriek vyplýva, že medzi počtom jednotlivých sledovaných probiotických kultúr boli rozdiely tak na začiatku skladovania syrov ako aj na konci skladovacieho - zrecieho obdobia (obr. 1).

Zo štatistického hodnotenia výsledkov na základe testovacích charakteristík uvedených v tabuľke 1 vyplýva, že v odobratých vzorkách syrov boli zistené štatisticky významné rozdiely v skupine syrov obsahujúcich *Lactobacillus acidophilus* na hladine významnosti $p < 0,0001$ pri 95 % intervale významnosti. Počty kultúr *Lactobacillus acidophilus* na začiatku skladovacieho obdobia sa pohybovali radovo $2,47 \cdot 10^7$ K.TJ.g⁻¹ a klesali až do 4. mesiaca skladovania na hodnotu $0,45 \cdot 10^6$ K.TJ.g⁻¹.

Posledný mesiac skladovania hodnoty začali stúpať na konečných $0,41 \cdot 10^7$ KTJ.g⁻¹. Rozdiel medzi počiatočným rastom a konečným rastom probiotickej kultúry bol $2,06 \cdot 10^7$ KTJ.g⁻¹.

Pri porovnaní rastu kultúr *Lactobacillus acidophilus* medzi jednotlivými mesiacmi počas zrecieho obdobia bola preukázaná štatistická významnosť medzi všetkými obdobiami, ale najväčšia významnosť bola zistená medzi mesiacmi február a apríl, a to $p < 0,0005$ na hladine významnosti 95 %.

Pri porovnaní výsledných počtov probiotických kultúr *Lactobacillus casei* s ostatnými sledovanými probiotickými kultúrami možno konštatovať, že boli najvyššie. Na začiatku zrecieho obdobia sa pohybovali radovo až $4,75 \cdot 10^7$ KTJ.g⁻¹, pričom polovičný počet radovo 10^7 si udržiavali až do tretieho mesiaca. V priebehu

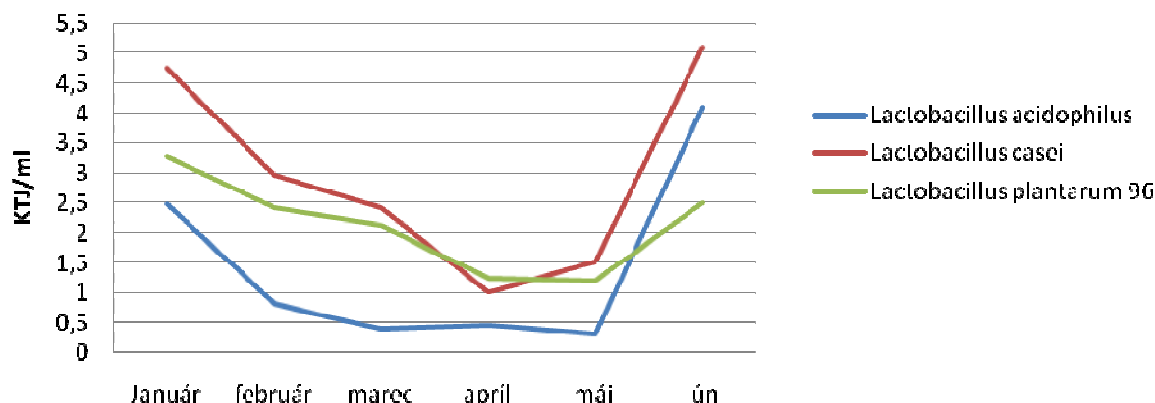
$0,51 \cdot 10^8$ KTJ.g⁻¹. Významný rozdiel bol zaznamenaný pri porovnaní mesiacov január - apríl ($p < 0,0079$), január - máj ($p < 0,0116$), január - jún ($p < 0,0195$), február - apríl ($p < 0,0181$), február - máj ($p < 0,0409$) a apríl - jún ($p < 0,0296$) na 95 % intervale spoľahlivosti. Pri celkovom porovnaní mesiacov, počas ktorých syry zreli bola zistená hladina významnosti $p < 0,0086$ na 95 % intervale spoľahlivosti.

Počty probiotickej kultúry *Lactobacillus plantarum* 96 sa pohybovali počas celého skladovacieho obdobia radovo až 10^8 KTJ.g⁻¹. Pri celkovom hodnotení počtu *Lactobacillus plantarum* 96 počas celého obdobia skladovania sa preukázala štatistická významnosť na hladine $p < 0,0001$ pri 95 % intervale spoľahlivosti. Najvyššie významnosti na hladine $p < 0,0001$ boli zaznamenané medzi mesiacmi február - marec, február - apríl a február - máj. Medzi

Tabuľka 1 Priemerný počet jednotlivých probiotických kultúr v experimentálne vyrobených syroch počas zrecieho obdobia a ich korelačná závislosť

Probiotické kultúry	KTJ.g ⁻¹						Korelačná závislosť
	január	február	marec	apríl	máj	jún	
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	$2,47 \cdot 10^7$	$0,82 \cdot 10^7$	$0,39 \cdot 10^7$	$0,45 \cdot 10^6$	$0,32 \cdot 10^6$	$0,41 \cdot 10^7$	0,0001 ***
<i>Lactobacillus casei</i>	$4,75 \cdot 10^7$	$2,41 \cdot 10^7$	$2,96 \cdot 10^7$	$0,10 \cdot 10^8$	$0,15 \cdot 10^8$	$0,51 \cdot 10^8$	0,0086 **
<i>Lactobacillus plantarum</i> 96	$3,27 \cdot 10^6$	$2,42 \cdot 10^7$	$0,21 \cdot 10^8$	$0,12 \cdot 10^8$	$0,12 \cdot 10^8$	$0,25 \cdot 10^8$	0,0001 ***

KTJ - kolónie tvoriace jednotky



Obr. 1 Porovnanie rastu probiotických kultúr v experimentálne vyrobených syroch počas zrecieho obdobia

ďalších troch mesiacov experimentu sa počty *Lactobacillus casei* zvýšili až na konečnú hodnotu. Mikrobiologickým vyšetrením sa zistilo, že kultúry *Lactobacillus plantarum* 96 sa na začiatku skladovacieho to až o dva rady na konečnú hodnotu $0,28 \cdot 10^8$ KTJ.g⁻¹. Počty probiotických baktérií boli vyššie ako 10^6 KTJ.g⁻¹, počas celého obdobia skladovania experimentálne vyrobených syrov.

U všetkých skupín syrov, kde boli použité vybrané probiotické kultúry sa dosiahli hodnoty radovo až 10^8 KTJ.g⁻¹. Tým bol splnený limit legislatívneho a terapeutického minima pre výrobky obsahujúce probiotické baktérie určené na ľudskú výživu.

V obr. 2 je znázornená závislosť rastu jednotlivých probiotických kultúr v stredových častiach vzoriek experimentálne vyrobených syrov. Počty jednotlivých probiotických kultúr v stredovej časti vzoriek syrov

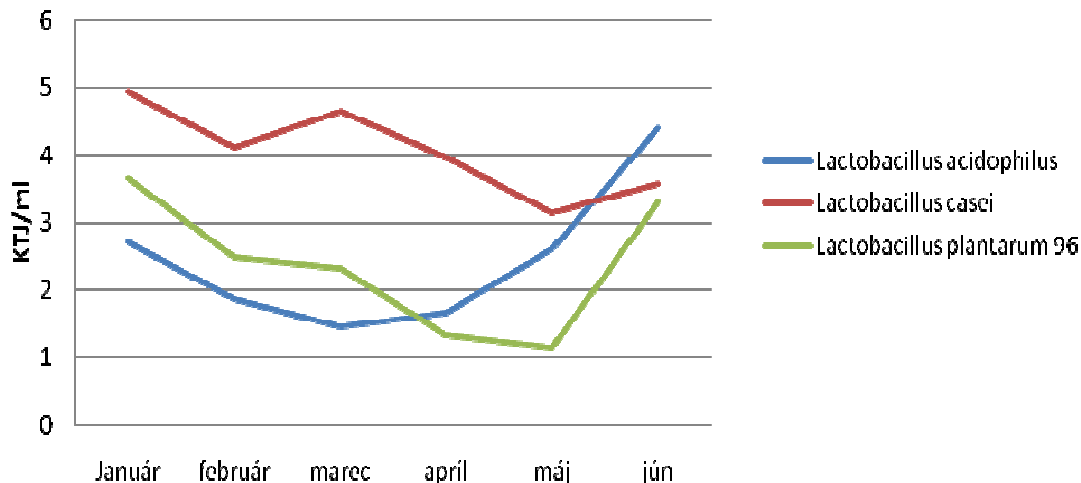
ostatnými sledovanými obdobiami sa štatistické významnosti pohybovali na hladinách $p < 0,001$ a $p < 0,05$. obdobia pohybovali radovo $3,27 \cdot 10^6$ KTJ.g⁻¹ pričom počty tejto kultúry sa zvyšovali až do konca zrecieho obdobia, a v priebehu zretia do 4. mesiaca klesali, kedy došlo k miernemu ustáleniu počtu kultúr, ale od 5. mesiaca probiotické kultúry začali intenzívne rásť ($p < 0,01$) až na priemerné hodnoty $0,45 \cdot 10^8$ KTJ.g⁻¹. Výnimku tvoril len probiotický kmeň *Lactobacillus casei*, ktorý v začiatkoch zrenia prudko rástol až do hodnoty $4,64 \cdot 10^7$ KTJ.g⁻¹. Rovnako aj u tohto kmeňa, došlo k ustáleniu jeho počtov v priebehu 5. mesiaca zretia. Na konci zrecieho obdobia počty probiotickej kultúry *Lactobacillus casei* sa prudko zvyšovali na konečnú hodnotu $0,57 \cdot 10^8$ KTJ.g⁻¹.

Pri porovnaní okrajových častí vzoriek jednotlivých experimentálne vyrobených syrov sa zistil štatisticky

významný rozdiel $p < 0,05$ medzi vybranými probiotickými kultúrami.

Z obr. 3 vyplýva, že na začiatku zrenia boli počty jednotlivých probiotických baktérií odobratých z okrajových častí experimentálnych syrov vyššie v porovnaní so vzorkami odobratými zo stredových častí vzoriek syrov. Dôvodom tohto rozdielu mohlo byť pravdepodobne nepravidelné rozloženie probiotických

kultúr v zrejúcich syroch. Počty jednotlivých kultúr v okrajovej časti syrov až do 4. - 5. mesiaca klesali, ale nie pod hodnotu nižšiu ako 10^6 KTJ.g⁻¹. V priebehu ďalších mesiacoch zrenia počty probiotických kultúr mierne rástli až na priemernú hodnotu $0,31 \cdot 10^8$ KTJ.g⁻¹. Výnimku tvoril kmeň *Lactobacillus casei*, ktorý od 4. mesiaca prudko rástol na konečnú hodnotu $0,43 \cdot 10^8$ KTJ.g⁻¹.

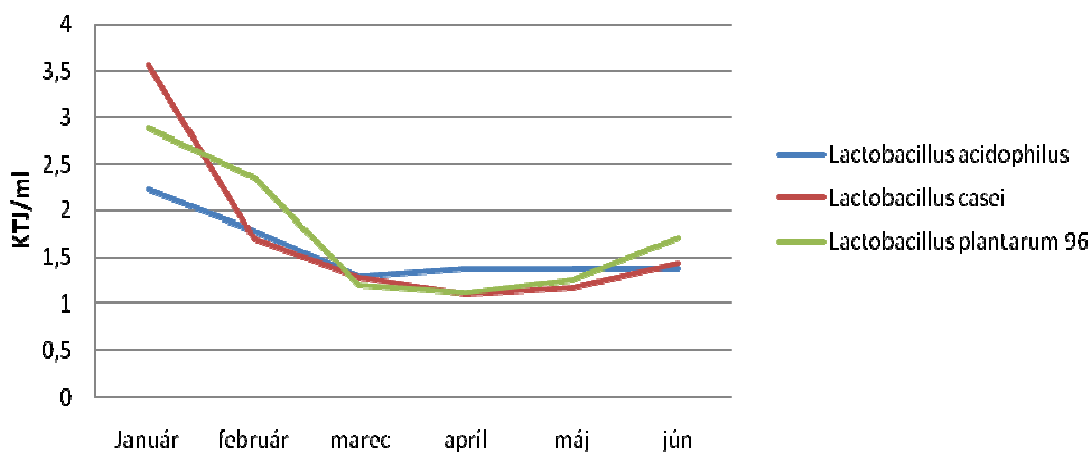


Obr. 2 Rast probiotických kultúr v stredových častiach experimentálne vyrobených syrov počas zrecieho obdobia

Bola zistená štatistická významnosť v intervale 95 % ($p < 0,05$) v raste vybraných probiotických kultúr medzi stredovou a okrajovou časťou experimentálne vyrobených syrov. Pri porovnaní stredových a okrajových vzoriek syrov bola v poslednom mesiaci zrenia zistená štatistická významnosť na hladine $p < 0,05$ v raste vybraných probiotických kultúr, pričom počty kmeňa *Lactobacillus casei* v porovnaní s kmeňmi *Lactobacillus acidophilus* a *Lactobacillus plantarum* 96 boli podstatne vyššie

($p < 0,01$) v stredových častiach experimentálnych syrov ako v okrajových častiach.

Uvedené rozdiely obsahu jednotlivých probiotických kultúr mohli byť spôsobené rozdielnymi nárokmi na podmienky vnútorného prostredia v stredových a okrajových častiach vzoriek experimentálne vyrobených syrov, čím mohla byť ovplyvnená ich rozmnožovacia schopnosť.



Obr. 3 Rast probiotických kultúr v okrajových častiach experimentálne vyrobených syrov počas zrecieho obdobia

DISKUSIA

Zrenie syrov zahŕňa mikrobiologické, resp. biochemické zmeny podmieňujúce vývoj arómy a textúry charakteristické pre určitý typ prírodného syra. Počas zrenia syrov dochádza k mliečnemu kvaseniu, ktoré

zaisťujú hlavne enzýmy baktérií mliečneho kvasenia použitých čistých kultúr. V experimentálne vyrobených probiotických syroch dochádzalo hlavne k heterofermentatívnemu mliečnemu kvaseniu, ktoré je charakteristické pre rody *Leuconostoc* a ktoré produkujú

okrem kyseliny mliečnej aj oxid uhličitý a kyselinu octovú.

Štartovacie kultúry sa radia medzi užitočné mikroorganizmy, ktorých enzýmy uskutočňujú dôležité biochemické premeny v priebehu výrobného procesu a sú do mlieka pri výrobe syrov zámerne pridávané. Podľa **Görnera a Valíka (2004)** sa pri výrobe syrov s nízkodohrievanou syreninou uplatňujú najmä mezofilne kultúry baktérií mliečného kysnutia *Lactococcus lactis* spp. *lactis*, *Lactococcus lactis* spp. *cremoris* a *Leuconostoc mesenteroides* spp. *cremoris*. V syroch s nízkodohrievanou syreninou sa okrem základnej mezofilnej kultúry, vyskytujú aj ďalšie druhy baktérií mliečného kysnutia. Ako uvádza **Walstra et al. (1993)** môžu to byť laktobacily, ktoré sa používajú ako doplnková kultúra alebo non-starter lactic acid bacteria (NSLAB). Vo všetkých druhoch a typoch syrov, ktoré zrejú dlhšie ako 14 dní, sa rozmnožujú rôzne mezofilné laktobacily (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei* a iné). Ich množstvo dosahuje hodnoty 10^6 až 10^8 KTJ.g⁻¹ syra (**Albenzio et al., 2004**).

Počty kultúr *Lactobacillus acidophilus* v experimentálnych vzorkách syrov sa na začiatku pohybovali radovo 10^7 KTJ.g⁻¹ a tieto počty sa udržiavali až do konca skladovacieho obdobia (6 mesiacov). Naylor a Sharpe (1958) pozorovali polotvrde syry, v ktorých sa počty laktobacilov v 1g syra sa pohybovali radovo 10^0 až 10^4 po desiatich dňoch skladovania. Na dvadsiaty deň skladovania syrov sa počty laktobacilov zvýšili na hodnoty 10^6 až 10^7 .g⁻¹ a na šesťdesiaty deň už počty dosahovali hodnoty 10^7 až 10^8 .g⁻¹ syra. Podobná práca (**Johnston et al., 2002**) uvádza počiatočné počty laktobacilov v 1 mililitri kravského mlieka medzi 10^4 až 10^6 a v pasterizovanom mlieku 10^2 až 10^4 . Tieto počty laktobacilov prudko rástli u syrov vyrobených z kravského mlieka na hodnoty 10^6 až 10^7 .g⁻¹ a v syroch vyrobených z pasterizovaného mlieka boli počty laktobacilov 10^5 až 10^6 .g⁻¹.

V experimentálne vyrobených syroch obsahujúcich probiotickú kultúru *Lactobacillus casei* sa počty pohybovali na začiatku skladovania radovo 10^7 KTJ.g⁻¹ a od tretieho mesiaca skladovania nadobúdali hodnoty 10^8 KTJ.g⁻¹. **Naylor a Sharpe (1958)** dospeli k názoru, že základnú mikroflóru zrejúcich syrov na začiatku zrejúceho

obdobia tvorili homofermentatívne kultúry *Lactobacillus plantarum* a *Lactobacillus casei*. Avšak počas dozrievania (po 60 dňoch skladovania) základná mikroflóra syrov bola čiastočne nahradená heterofermentatívnymi druhmi, najmä *Lactobacillus brevis*, ktorý v syroch zotrval až do konca skladovacieho obdobia (180 dní).

Kultúra *Lactobacillus casei* je vhodná ako doplnková probiotická kultúra, pretože je rezistentná voči kyselinám a preživa v zrejúcich syroch vo vysokých počtoch (**Antosson et al., 2002**). Tieto tvrdenia korešpondujú aj s našimi výsledkami, kedy kultúra *Lactobacillus casei* si udržiavala počty radovo 10^8 KTJ.g⁻¹. Pri sledovaní počtu *Lactobacillus casei* v syroch typu čedar si podľa **Foxa et al., (1998)** tieto mikroorganizmy zachovávali hodnoty 10^7 KTJ.g⁻¹ syra. To potvrdzuje aj práca **Ong et al., (2006)** kde počet *Lactobacillus casei* v sledovaných probiotických čedarských syroch dosiahol hodnotu až 10^9 KTJ.g⁻¹.

Počet *Lactobacillus plantarum* 96 sa na začiatku skladovacieho obdobia experimentálnych syrov pohyboval radovo 10^6 KTJ.g⁻¹. V priebehu druhého a tretieho mesiaca zretia sa počet *Lactobacillus plantarum* 96 zvýšil na 10^8 KTJ.g⁻¹. Podobné výsledky zaznamenal aj **Songisepp et al. (2004)**, ktorý sledoval polotvrde probiotické syry obsahujúce *Lactobacillus casei* a *Lactobacillus plantarum*. V kontrolnej skupine syrov ako aj v probiotickej skupine syrov obsahujúcej *Lactobacillus plantarum* sa jeho počet pohyboval radovo 10^8 KTJ.g⁻¹. zatiaľ, čo pri syroch obsahujúcich *Lactobacillus casei* bol počet baktérií mierne nižší, radovo 10^7 KTJ.g⁻¹. Počas zrenia sa počet obidvoch sledovaných kultúr ustálil na hodnote 10^7 KTJ.g⁻¹ (po 66 dňoch skladovania).

Pri porovnaní vzoriek okrajových častí syrov so stredovými vzorkami jednotlivých probiotických syrov boli zistené priemerné počty jednotlivých kultúr v okrajových častiach na začiatku zretia vyššie. Predpokladáme, že príčinou tohto rozdielu mohlo byť nepravidelné rozloženie probiotických kultúr v zrejúcich syroch, resp. rozdiely v obsahu jednotlivých probiotických kultúr mohli byť spôsobené rozdielnymi nárokmi mikroorganizmov na podmienky vnútorného prostredia v stredových a okrajových častiach experimentálne vyrobených syrov, čím mohla byť ovplyvnená ich rozmnožovacia schopnosť.

ZÁVER

Cieľom práce bolo sledovanie kvantitatívnych zmien vybraných probiotických mikroorganizmov v polotvrdých syroch s nízkodohrievanou syreninou po dobu 6 mesiacov zretia. Pri výrobe syrov boli pridané vybrané probiotické kultúry *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* a *Lactobacillus plantarum* 96.

Zo získaných výsledkov **fyzikálno - chemických** parametrov neboli zaznamenané preukazné rozdiely v stredných hodnotách a teda neovplyvnili kvalitu skladovaných vzoriek syrov. Z vyhodnotených kvantitatívnych hodnôt sledovaných vybraných probiotických kultúr u jednotlivých vzoriek boli medzi počtom sledovaných probiotických kultúr rozdiely tak na začiatku skladovania syrov ako aj na konci skladovacieho obdobia.

Najvyššie hodnoty u všetkých probiotických kultúr boli zaznamenané v mesiacoch február a marec v priemere

$2,60 \cdot 10^7$ KTJ.g⁻¹ syra. Opačne, najnižšie hodnoty vykazovali jednotlivé probiotické kultúry v mesiaci apríl, a to v priemere $0,12 \cdot 10^8$ KTJ.g⁻¹ syra.

Pri porovnaní výsledkov počtov probiotických kultúr *Lactobacillus casei* s ostatnými sledovanými probiotickými kultúrami možno konštatovať, že boli najvyššie. Počty probiotickej kultúry *Lactobacillus plantarum* 96 sa pohybovali od tretieho mesiaca skladovania radovo až 10^8 KTJ.g⁻¹.

Rozdiel medzi okrajom a stredom predložených vzoriek syrov bol mierne štatisticky významný, kde vyšší rast vybraných probiotických kultúr bol v stredových častiach než v okrajových častiach jednotlivých skupín syrov.

U všetkých skupín syrov, kde boli použité vybrané probiotické kultúry sa dosiahli hodnoty radovo až 10^8 KTJ.g⁻¹. Tým bol splnený limit legislatívneho a terapeutického minima pre výrobky obsahujúce probiotické baktérie určené na ľudskú výživu.

LITERATÚRA

- ALBENZIO, M., CAROPRESE, M., MARINO, R., SANTILLO, A., TAIBI, L., SEVI, A. 2004. Effects of somatic cell count and stage of lactation on the plasmid activity and cheese-making properties of ewe milk. In *Journal Dairy Science*, vol. 87, 2004, p. 533-542.
- ANTONSSON, M., ARDÖ, Y., NILSSON, B. F., MOLIN, G. 2002. Screening and selection of *Lactobacillus* strains for use as adjunct cultures in production of semi-hard cheese. *Journal Dairy Research*, vol. 69, 2002, p. 457-472.
- DINAKAR, P., MISTRY, V. 1994. Growth and viability of *Bifidobacterium bifidum* in Cheddar cheese. In *Journal Dairy Science*, vol. 77, 1994, p. 2854-2864.
- FOX, P. F., MCSWEENEY, P. L. H. 1998. Dairy chemistry and biochemistry. London: Blackie Academic and Professional, 1998, 478 pp. ISBN 0-412-72000-0.
- GÖRNER, F., VALÍK, G. 2004. Aplikovaná mikrobiológia požívatin. Bratislava: Malé centrum. 2004, p. 26-30, ISBN 80-967064-9-7.
- HERIAN, K. 2005. Mliekarstvo na Slovensku z pohľadu EÚ a IDF. In: *Mliekarstvo*, vol. 36, 2005, no. 4, p. 2-5.
- CHAPMAN, H. R., SHARPE, M. E. 1981. Microbiology of cheese, In: R. K. Robinson (ed.), Dairy microbiology. Applied Science Publishers, London, United Kingdom, 1981, p. 157-243.
- JOHNSTON, D. E., O'HAGAN, M., BALMER, D. W. 2002. „Effects of high pressure treatment on the texture and cooking performance of half-fat Cheddar cheese“, In *Milchwiss.*, vol. 57, 2002, no. 4, p. 198-201.
- LYNCH, C. M., MCSWEENEY, P. L. H., FOX, P. F., COGAN, T. M., DRINAN, F. D. 1996. Manufacture of Cheddar cheese with and without adjunct lactobacilli under controlled microbiological conditions. In *International Dairy Journal*, vol. 6, 1996, p. 851-867.
- NAYLOR, J., SHARPE, M. E. 1958. *Lactobacilli* in Cheddar cheese. I. The use of selective media for isolation and of serological typing for identification. In *Journal Dairy Research*, 1958, vol. 25, p. 92.
- ONG, L., HENRIKSSON, A., SHAH, N. P. 2006. Development of probiotic Cheddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* and *Bifidobacterium* spp. and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid. In *International Dairy Journal*, vol. 16, 2006, p. 446-456.
- PALO, V. 2004. Význam syrov vo výžive. In: *Mliekarstvo*, vol. 35, 2004, no. 3, p. 20-23.
- SONGISEPP, E., KULLISAAR, T., HÜTT, P., ELIAS, P., BRILENE, T., ZILMER, M., MIKELSAAR, M. 2004. A new probiotic cheese with antioxidative and antimicrobial activity. In *Journal Dairy Science*, vol. 87, 2004, p. 2017-2023.
- WALSTRA, P., NOOMEN, A., GEURTS, T. J. 1993. Dutch-type varieties. In Fox. Chemistry, Physics and Microbiology, Chapman and Hall, London, 1993, vol. 2, p. 577.
- STN 560094: 1988, Potravinárske výrobky. Stanovenie počtu baktérií rodu *Lactobacillus*.

Pod'akovanie: práca bola podporovaná z projektu VEGA 1/0638/09

Kontaktná adresa:

Ing. Viera Lovayová, University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Institute of Hygiene and technology of milk, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia, e-mail: viera-l@email.cz.

doc. MVDr. Eva Dudriková, PhD., University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Institute of Hygiene and technology of milk, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia, e-mail: dudrikova@uvm.sk

MVDr. Radomíra Nemcová, PhD., University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Department of Microbiology and genotobiology, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia, e-mail: nemcova@uvm.sk

MUDr. Kvetoslava Rimárová, CSc., Department of Public Health, Faculty of Medicine, University of P. J. Safarik in Košice, Šrobárova 2, 041 80 Košice, Slovakia, e-mail: kvetoslava.rimarova@upjs.sk

OXIDATIVE STABILITY OF CHILLED CHICKEN MEAT AFTER FEEDING OF SELECTED PLANTS

Slavomír Marcinčák, Peter Popelka, Jana Šimková, Dana Marcinčáková, Mária Martonová

ABSTRACT

The effect of feeding of lemon balm (*Melissa officinalis*, L.) and combination of yarrow (*Achillea millefolium*, L.) and hawthorn (*Crataegus oxyacantha*, L.) on oxidative stability and sensory properties of produced poultry meat was investigated. Sixty one-day-old commercial broiler chicks (ROSS 308) were used in our experiment, divided into 3 groups, and fed 41 days, as follows: control (K) was fed with standard diet without supplementation of plants; second group (M) was fed with standard diet supplemented with grounded lemon balm in concentration 2 % per 1 kg; and third group was fed with standard diet supplemented with grounded yarrow (2 %) and hawthorn (1 %). Results showed that supplementation with lemon balm, and mainly combination of yarrow and hawthorn in the diet significantly caused reduction of lipid oxidation processes in thigh meat during chilling storage of samples. In addition, supplementation of plants in the diet had positive effect on sensory quality of meat of broiler chickens.

Keywords: lipid oxidation, chicken meat, natural antioxidant, mellisa, yarrow, hawthorn

ÚVOD

Spotreba hydínového mäsa na Slovensku rastie, v roku 2007 dosiahla asi 19,9 kilogramu na obyvateľa (Nagy et al., 2009). Hydina má najlepšiu schopnosť konverzie živín na mäso, a preto sú tiež výrobné náklady i ceny hydínových produktov na svetových trhoch v porovnaní s ostatnými živočíšnymi produktmi pomerne nízke. Je snaha šľachtiť stále výkonnejšie hybridy, zlepšovať konverziu živín a skracovať dobu výkrmu (Marcinčák et al., 2008b).

Hlavný význam tukov vo výžive ľudí je prítomnosť polynenasýtených mastných kyselín (PNMK). PNMK majú v organizme nezastupiteľnú úlohu ako prekursor množstva biologicky aktívnych látok. Brojlerové kurčatá majú obsah tuku okolo 5 – 7 %. Približne 30 % z toho tvoria nasýtené mastné kyseliny a až 70 % tukov tvoria nenasýtené mastné kyseliny (Halaj a Golian, 2000). Hydínový tuk obsahuje vyššie množstvo polynenasýtených mastných kyselín ako tuk jatočných zvierat. Je to spôsobené relatívne vysokým obsahom fosfolipidov v membránových štruktúrach svalových buniek (Bystrický a Dičáková, 1998). Práve vyšší stupeň nenasýtenosti mastných kyselín vo svalových membránach súvisí so zvyšovaním citlivosti k oxidácii tukov mäsa a mäsových výrobkov. PNMK podliehajú rýchlo oxidačným zmenám, ktoré zhoršujú organoleptické vlastnosti a trvanlivosť potravín (Korimová et al., 2000). Preto je potreba zvyšovať antioxidantnú kapacitu svaloviny, čo sa dá dosiahnuť skrmovaním antioxidantne účinných látok.

MATERIÁL A METÓDY

Vlastný experiment. Do experimentu bolo zaradených 60 ks jednodňových kurčiat hybridu ROSS 308. Kurčatá boli ustajnené vo zverinci Kliniky vtákov, exotických a voľne žijúcich zvierat, Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach a rozdelené do troch skupín: Pokusná skupina (M) bola kŕmená komerčnými kŕmami zmesami (KZ) HYD – 04 a HYD – 02 s prídavkom najemno pomletej medovky lekárskej (Agrokarpaty Plavnica) v množstve 2,0 % na 1 kg KZ. Pokusná skupina (RH) bola kŕmená KZ HYD – 04 a HYD – 02 s prídavkom najemno pomletej rebríčky obyčajnej

Použitie vysokých dávok prírodných antioxidantov vo výkrme hydiny je jednoduchou metódou ako dosiahnuť vyššiu antioxidantnú stabilitu, zlepšenie senzorických vlastností (vône a chuti) a predĺženie doby skladovania hydínového mäsa (Martinez-Tome et al., 2001).

Významným zdrojom prírodných antioxidantov je rastlinný materiál. Medovka lekárska, rebríček obyčajný a hloh obyčajný patria medzi byliny s vysokým podielom antioxidantne účinných zložiek (Marcinčák et al., 2008a). Množstvo jednotlivých zlúčenín s antioxidantným účinkom v rastlinnom materiáli je premenlivé a dané viacerými faktormi, medzi ktoré patrí kvalita rastliny, lokalita jej pôvodu, čas zberu, podmienky spracovania a skladovania (Bystrický et Dičáková, 1998).

Rastlinné aditíva sú často pridávané do krmív, pretože zlepšujú chuť a vôňu krmiva a tak zlepšujú príjem a rast zvierat (Windisch et al., 2008; Angelovičová et al., 2010). Viaceré rastlinné aditíva obsahujú látky, ktoré zvyšujú žravosť (apetít) a trávenie (Barreto et al., 2008).

Cieľom našej práce bolo sledovať účinok podávania vybraných bylín: medovky lekárskej (*Melissa officinalis*, L.) a kombinácie rebríčky obyčajnej (*Achillea millefolium*, L.) a hlohu obyčajného (*Crataegus oxyacantha*, L.) v krmive na oxidačnú stabilitu a senzorické vlastnosti produkovaného mäsa kurčiat (stehno) skladovaného v chladničke (4 °C, 14 dní).

v množstve 2,0 % a hlohu obyčajného (Agrokarpaty Plavnica) v množstve 1,0 % na 1 kg KZ. Kontrolná skupina (K) bola kŕmená iba KZ HYD – 04 a HYD – 02.

Spracovanie vzoriek. Na 41. deň výkrmu boli kurčatá zabíjané, po predchádzajúcom omráčení a jatočne opracované. Na stanovenie rozkladných zmien tukov a sledovanie antioxidantných vlastností skrmovaných bylín bola časť vzoriek (30 ks z každej skupiny) stehnovej svaloviny vykostená, zabalená do polyetylénových vreciek a skladovaná 14 dní v chladničke pri 4 °C.

Stanovenie rozkladných zmien tukov. Na stanovenie rozkladných zmien tukov sme použili metódu stanovenia

tiobarbiturového čísla (TBA) vyjadrujúceho mieru sekundárneho poškodenia tukov, podmienenú oxidáciou nenasýtených mastných kyselín. TBA stanovenie bolo vykonané podľa **Marcinčák et al. (2004)**. Extinkcia (absorbancia) vzoriek bola meraná na UV-spektrofotometri Hełios γ v 4.6 (Thermospectronic, Veľká Británia) pri vlnovej dĺžke 532 nm, s prepočtom výsledkov na množstvo malóndialdehydu (MDA) v 1 g vzorky.

Senzorická analýza. Na senzorickú analýzu mäsa bola použitá svalovina stehien 24 hodín po jatočnom opracovaní a skladovaní 14 dní v chladničke (4 °C). Vzorky boli hodnotené 7-člennou odbornou hodnotiteľskou komisiou, ktorá pracovala podľa metodických pokynov pre senzorické hodnotenie mäsa. Na

hodnotenie vzoriek bola použitá skúška varením. Hodnotenie vzoriek bolo vykonané 5-bodovým hodnotiacim systémom (**Príbela, 2001**), pričom maximálny počet dosiahnutých bodov hodnotenia bol 20.

Štatistické spracovanie výsledkov. Štatistické spracovanie výsledkov bolo vykonané štatistickým programom Graph Pad Prism 3.0 (1999) podľa **Snedecor a Cochran (1967)**. Výsledky sú vyjadrené ako aritmetický priemer (x) a štandardná odchýlka (S.D.). Výsledky stanovení v jednotlivých skupinách počas skladovania boli navzájom porovnané jednocestným ANOVA testom. Pre porovnanie štatistických rozdielov medzi hodnotami bol použitý Tukeyov porovnávací test a $P < 0,05$ bolo považované ako štatistický významný rozdiel.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tabuľke 1 sú uvedené výsledky stanovenia TBA čísla, ktoré vyjadruje množstvo malóndialdehydu (MDA) ako hlavného sekundárneho rozkladného produktu polynenasýtených mastných kyselín. Po jatočnom opracovaní hydiny a spracovaní vzoriek boli hodnoty MDA u všetkých vzoriek nízke. Avšak ďalším skladovaním vzoriek v chladničke sa hodnoty MDA postupne zvyšovali, pričom u pokusných skupín s prídavkom bylín bol nárast MDA u vzoriek výrazne nižší ako u vzoriek kontroly. Na základe nami získaných výsledkov môžeme konštatovať, že prídavanie medovky lekárskej v dávke 2 %, ale hlavne kombinácie rebríčka obyčajného (2 %) a hlohu obyčajného (1 %) do krmiva má výrazný vplyv na zníženie oxidačných procesov vo svalovine stehna pri skladovaní vzoriek v chladničke (4 °C, 14 dní). U pokusných skupín M a RH sme zaznamenali výrazne nižšie hodnoty TBA čísla ako u kontroly, čo poukazuje na výrazne nižšie oxidačné poškodenie tukov. **Lopez-Bote et al. (1998)** uvádzajú

podobné výsledky hodnôt TBA dosiahnuté skladovaním mäsa brojlerov s prídavkom antioxidantov pri mraziarenských teplotách počas štyroch mesiacov. **Florou-Paneri et al. (2005)** skúmali vplyv skrmovania oregana a oreganového extraktu v krmnej zmesi na oxidačnú aktivitu u moriek. Taktiež konštatujú, že pri podávaní 10 g.kg⁻¹ oregana v krmnej dávke alebo 200 mg.kg⁻¹ oreganového extraktu je oxidácia tukov znížená, pričom pri podávaní vyšších dávok je oxidácia nižšia. **Luna et al. (2010)** skrmovali extrakty tymol a karvakrol v dávke 150 mg.kg⁻¹ po dobu 42 dní a sledovali ich vplyv na oxidačnú stabilitu mäsa počas skladovania v chladničke (4 °C, 10 dní). Konštatujú, že prídavok extraktov nemal vplyv na oxidačnú stabilitu prsnej svaloviny avšak oxidačná stabilita stehnovej svaloviny počas skladovania bola výrazne pozitívne ovplyvnená. K podobným výsledkom dospeli aj **Šperňáková et al. (2007)** po skrmovaní práškového rozmarínu, a **Govarís et al. (2004)** po skrmovaní oregana.

Tabuľka 1 Výsledky stanovenia TBA vyjadrené ako množstvo malóndialdehydu (mg.kg⁻¹) počas skladovania vzoriek stehnovej svaloviny v chladničke (4 °C).

	Priemerná hodnota ± S.D. malóndialdehydu (mg.kg ⁻¹)		
	1. deň	7. deň	14. deň
Kontrola	0,217 ± 0,024 ^{a1}	0,402 ± 0,094 ^{a2}	0,715 ± 0,081 ^{a3}
Medovka	0,148 ± 0,030 ^{a1}	0,252 ± 0,008 ^{b1}	0,414 ± 0,063 ^{b2}
Rebríček + Hloh	0,133 ± 0,029 ^{a1}	0,237 ± 0,058 ^{b1}	0,382 ± 0,049 ^{b2}

^{a,b} – hodnoty s rozdielnym označením v stĺpci sú štatisticky rozdielne ($P < 0,05$)

^{1,2,3} – hodnoty s rozdielnym označením v riadku sú štatisticky rozdielne ($P < 0,05$)

Tabuľka 2 Priemerné výsledky senzorického hodnotenia svaloviny stehna: čerstvé mäso (1. deň po jatočnom opracovaní) a chladené (skladované 14 dní v chladničke pri 4 °C)

	Senzorické hodnotenie (priemer ± S.D.)	
	čerstvé	chladené
Kontrola	16,96 ± 1,95 ^a	14,30 ± 1,59 ^a
Medovka	17,08 ± 1,72 ^a	14,85 ± 1,31 ^a
Rebríček + hloh	17,80 ± 1,43 ^a	15,90 ± 1,41 ^b

^{a,b} – hodnoty s rozdielnym označením v stĺpci sú štatisticky rozdielne ($P < 0,05$)

Tuk v mäse má význam z hľadiska senzorického, pretože je nosičom celej rady aromatických a chuťových látok.

Výsledky celkového senzorického hodnotenia vzoriek sú v tabuľke 2. Z výsledkov vyplýva, že skrmovanie rastlín

malo pozitívny vplyv aj na senzorické hodnotenie. Zvlášť je tento účinok viditeľný po skladovaní vzoriek v chladničke po dobu 14 dní. Z posudzovaných parametrov boli u pokusných skupín oproti kontrole vyššie hodnotené chuť, vôňa a šťavnatosť mäsa. Viacerí autori poukazujú na zlepšené senzorické vlastnosti mäsa hydiny

ZÁVER

V pokuse sme sledovali účinok skrmovania 2 % medovky lekárskej (*Melissa officinalis*, L.) a kombinácie 2 % rebríčka obyčajného (*Achillea millefolium* L.) a 1 % hlohu obyčajného (*Crataegus oxyacantha*, L.) na oxidačnú stabilitu a senzorické vlastnosti stehnovej svaloviny kurčiat skladovanej v chladničke (4 °C, 14 dní). Zo získaných výsledkov vyplýva, že skrmovanie rastlín (medovka, hloh a rebríček) malo výrazný vplyv na

po pridaní rastlín s antioxidačným účinkom (Lee et al., 2004; Šperňáková et al., 2007; Marcinčák et al., 2008b). U mäsa kurčiat kŕmených s prídavkom rozmarínového prášku je pozitívne hodnotené zlepšenie jeho chuti a vône (Marcinčák a Šperňáková, 2006). Podobné výsledky vo svojej práci dosiahla aj Karpinská et al. (2000).

zníženie oxidačných procesov v mäse. U pokusných skupín (medovka, rebríček + hloh) sme zaznamenali výrazne nižšie hodnoty TBA čísla ako u kontroly, čo poukazuje na vyššiu oxidačnú stabilitu mäsa počas skladovania mäsa v chladničke. Taktiež mäso pokusných skupín bolo senzorickejšie hodnotené vyššie ako mäso kontroly.

LITERATÚRA

ANGELOVIČOVÁ, M., KAČÁNIOVÁ, M., ANGELOVIČ, M., LOPAŠOVSKÝ, Ľ. 2010. Použitie tymianovej silice *per os* na produkciu výkrmových kurčiat. In *Potravinárstvo*. Mimoriadne číslo, 2010, p. 127–132.

BARRETO, M. S. R., MENTEN, J. F. M., RACANICCI, A. M. C., PEREIRA, P. W. Z., RIZZO, P. V. 2008. Plant extracts used as growth promoters in broilers. In *Brazilian Journal of Poultry Science*, vol. 10, 2008, no. 2, p. 109–115.

BYSTRICKÝ, P., DIČÁKOVÁ, Z. 1998. Živočíšne tuky v potravinách. In *Slovenský veterinársky časopis, Suplementum 1*, vol. 23, 1998, p. 1–45.

FLOROU-PANERI, P., PALATOS, G., GOVARIS, A., BOTSOGLOU, D., GIANNENAS, I., AMBROSIADIS, I. 2005. Oregano herb versus oregano essential oil as feed supplements to increase the oxidative stability of turkey meat. In *International Journal of Poultry Science*, vol. 4, 2005, no. 11, p. 866–871.

GOVARIS, A., BOTSOGLOU, N., PAPAGEORGIOU, G., BOTSOGLOU, E., AMBROSIADIS, I. 2004. Dietary versus post-mortem use of oregano oil and/or α -tocopherol in turkeys to inhibit development of lipid oxidation in meat during refrigerated storage. In *International Journal of Food Science and Nutrition*, vol. 55, 2004, p. 115–123.

HALAJ, M., GOLIAN, J. 2000. Problematika vaječného cholesterolu v ľudskej výžive. In *Zborník prednášok a posterov Hygienu alimentorum XXI*, Štrbské pleso – Vysoké Tatry, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Štátna veterinárna a potravinová správa Slovenskej republiky, 2000, p. 232–239.

KARPINSKÁ, M., BOROWSKI, J., DANOWSKA-OZIEWICZ, M. 2000. Antioxidative activity of rosemary extract in lipid fraction of minced meat balls during storage in a freezer. In *Nahrung*, vol. 44, 2000, no. 1, p. 38–41.

KORIMOVÁ, E., MÁTÉ, D., TUREK, P. 2000. Influence of natural antioxidants on heat-untreated meat products quality. In *Czech Journal of Food Science*, vol. 18, 2000, p. 124–128.

KRESÁNEK, J., DUGAS, D. 1985. Príručný atlas liečivých rastlín. I. vyd. Osveta, Martin. 320 p.

LEE, K. W., EVERTS, H., BEYNEN, A. C. 2004. Essential oils in broiler nutrition. In *International Journal of Poultry Science*, vol. 12, 2004, no. 3, p. 738–752.

LOPEZ-BOTE, C. J., GRAY, J. I., GOMAA, E. A., FLEGAL, C. J. 1998. Effect of dietary administration of oil extract from rosemary and sage on lipid oxidation in broiler meat. In *British Poultry Science*, vol. 39, 1998, p. 235–240.

LUNA, A., LÁBAQUE, M. C., ZYGADLO, J. A., MARIN, R. H. 2010. Effects of thymol and carvacrol feed supplementation on lipid oxidation in broiler meat. In *Poultry Science*, vol. 89, 2010, p. 366–370.

MARCINČÁK, S., SOKOL, J., BYSTRICKÝ, P., POPELKA, P., TUREK, P., BHIDE, M., MÁTÉ, D. 2004. Determination of lipid oxidation level in broiler meat by liquid chromatography. In *Journal of AOAC International*, vol. 87, 2004, no. 5, p. 1148–1152.

MARCINČÁK, S., POPELKA, P., ŠOLTYSOVÁ, L. 2008a. Polyphenols and antioxidative activity of extracts from selected slovakian plants. In *Acta Scientiarum Poloniarum, Medicina Veterinaria*, vol. 7, 2008, no. 2, p. 9–14.

MARCINČÁK, S., NAGY, J., ŠÁLY, J., POPELKA, P. 2008b. Účinok skrmovania olejového extraktu oregana na oxidačnú stabilitu hydínového mäsa. In *Náš chov*, vol. 68, 2008b, no. 10, p. 38–39.

MARCINČÁK, S., ŠPERŇÁKOVÁ, D. 2006. Kvalita mäsa brojlerových kurčiat po skrmovaní rozmarínu a vitamínu E. In *Zborník prednášok a posterov "HYGIENA ALIMENTORUM XXVII"*. Štrbské pleso – Vysoké Tatry, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Štátna veterinárna a potravinová správa Slovenskej republiky, 18., 20. máj 2006, p. 209–211.

MARTINEZ-TOME, M., JIMENEZ, A. M., RUGGIERI, S., FREGA, S., STRABBIOLI, R., MURCIA, M. A. 2001. Antioxidant properties of Mediterranean spices compared with common food additives. In *Journal of Food Science*, vol. 64, 2001, no. 9, p. 1412–1419.

NAGY, J. et al. 2009. *Hygienu a technológia hydiny a vajec*. Košice, Edičné stredisko Univerzity veterinárskeho lekárstva, 2009, 393 s. ISBN 978–80–8077–132–4.

PRÍBELA, A. 2001. Senzorické hodnotenie potravinárskych surovín, aditívnych látok a výrobkov. *Inštitút vzdelávania veterinárnych lekárov*, Košice, 2001, 87–94.

SNEDECOR, G. W., COCHRAN, W. G. 1967. *Statistical methods*. Iowa: 6th ed. Iowa State University Press, 1967.

ŠPERŇÁKOVÁ, D., MÁTÉ, D., RÓZANŠKA, H., KOVÁČ, G. 2007. Effects of dietary use of rosemary powder and α -tocopherol on performance of chicken, inhibition of lipid oxidation during storage at chilling conditions and increasing of meat quality. In *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, vol. 51, 2007, p. 585–589.

WINDISCH, W., SCHEDULE, K., PLITZNER, C., KROISMAYR, A. 2008. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. In *Journal of Animal Science*, vol. 86, 2008, p. 140–148.

Pod'akovanie: práca bola vykonaná vďaka finančnej podpore z grantového projektu VEGA č. 1/0235/08.

Kontaktná adresa:

MVDr. Slavomír Marcinčák, PhD., Department of food hygiene and technology, University of veterinary medicine and pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81, Košice, Slovakia, e-mail: marcincak@uvm.sk

doc. MVDr. Peter Popelka, PhD. Department of food hygiene and technology, University of veterinary medicine and pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81, Košice, Slovakia, e-mail: popelkap@lycos.com

MVDr. Jana Šimková, PhD. Department of chemistry, biochemistry and biophysics, University of veterinary medicine and pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81, Košice, Slovakia, e-mail: simkova@uvlf.sk

MVDr. Dana Marcinčáková, PhD. Department of pharmacy, pharmacology and toxicology, University of veterinary medicine and pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81, Košice, Slovakia, e-mail: marcincakova@uvm.sk

MVDr. Maria Martonová, PhD. Department of chemistry, biochemistry and biophysics, University of veterinary medicine and pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81, Košice, Slovakia, e-mail: martonova@uvm.sk

PROTEIN AND FAT IN BREAST MUSCLES OF BROILERS IN APPLICATION WELFARE PRINCIPLES IN PRACTICAL CONDITIONS

Ján Medved', Mária Angelovičová

ABSTRACT

Were carried two chemical analyses of the breast muscles without skin in fattening-type chickens Ross 308. 12 chickens were used for chemical analysis after feeding 42 days of body weight 1800.0 g in two cycles. In the breast muscle without skin was content dry matter 25.95 and 25.87 g.100 g⁻¹, protein 24.47 and 23.82 g.100 g⁻¹, and fat 3.34, respectively 3.49 g.100 g⁻¹. Differences in these parameters between cycles were not statistically significant (P>0.05). Broilers were randomly selected in the hall on the farm. In the hall was a deep litter and breeding technology Big Dutchman with automatic feeding, watering, and automatically set lighting and temperature regimes. During the fattening of chickens have been relationship with recommended microclimate conditions and the length of the hall light and ventilation. The concentration of broilers per square one meter was 27.22, respectively. 29.34 kg. Broilers consumed of feed *ad libitum*.

Keywords: broiler, breast muscle, dry mater, protein, fat

ÚVOD

Hydinové mäso na potravinárske účely sa vyznačuje tým, že jeho príprava nie je náročná. Charakteristické je svojou nutričnou hodnotou a organoleptickými vlastnosťami. Jeho energetická hodnota je nízka a obsah bielkovín vysoký.

Dostupnosť esenciálnych aminokyselín je významnejšia ako z rastlinných bielkovín. Preto, hydinové mäso je považované za bohatý zdroj živočíšnych bielkovín, ktoré majú vysokú biologickú hodnotu, dostupnosť esenciálnych aminokyselín, ktoré podporujú rast a ľudské zdravie (Panda, 1995). De Almeida et al. (2006) uskutočnili experiment, v ktorom analyzovali vzorky kurčacieho mäsa z troch rozličných zdrojov. Sušinu stanovili sušením vzorky 20 hodín v sušiarňi pri teplote 105 °C (metóda 950,46 podľa Cuniffa, 1997). Bielkoviny v mäse boli vypočítané na základe stanoveného obsahu dusíka, ktorý bol vynásobený koeficientom 0,625 na 100 g mäsa. Obsah dusíka bol stanovený Kjeldahlovou metódou (metóda 928,08 podľa Cuniffa, 1997). Tuky boli zo

vzorky mäsa extrahované podľa Folcha et al. (1957). Kurčacie mäso obsahovalo v 100 g 77,49 g vody, 18,83 g bielkovín a 4,08 g tuku. Podobné výsledky z chemických analýz kurčacieho mäsa zaznamenali aj Barteczko a Lasek (2008). V 100 g namerali 26,81 až 26,99 g sušiny, 23,35 až 24,30 g bielkovín a 1,13 až 1,32 g tuku. Kvalita hydinového mäsa sa hodnotí na základe vonkajších znakov (hmotnosť, podiel prsného a stehnového svalstva, farba a vzhľad mäsa) a vnútorných znakov (jatočná výťažnosť, pomer mäsa a kostí, vôňa, šťavnatosť, jemnosť, chuť a výživná hodnota mäsa) (Benková, 2009; Haščík et al., 2009).

Cieľom príspevku bolo sledovanie a vyhodnotenie výsledkov chemickej analýzy na obsah sušiny, bielkovín a tuku v prsnej svalovine kurčiat určených na produkciu mäsa. V chove kurčiat na farme boli uplatňované princípy welfare.

MATERIÁL A METÓDY

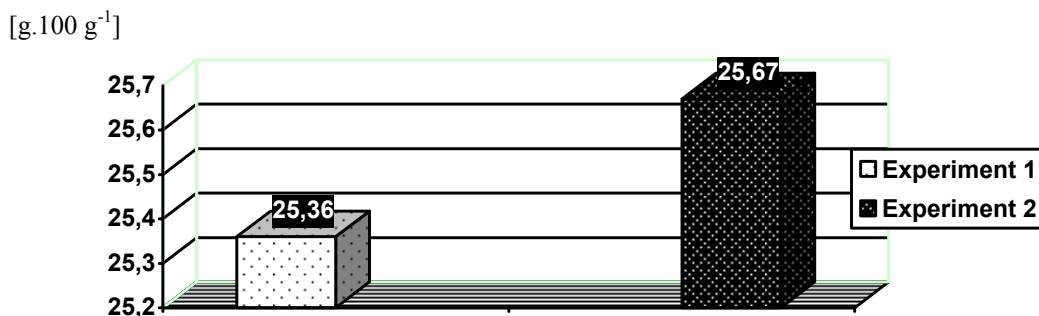
Chemicky bola analyzovaná prsná svalovina na obsah sušiny, bielkovín a tukov. Sušina bola stanovená v sušiarňi pri teplote 103 °C. Bielkoviny boli stanovené podľa Kjeldahlovej metódy, ktorou sa určil obsah dusíka a vynásobil sa faktorom 6,25. Tuky sa stanovili ako zvyšok získaný po rozpúšťadle a vysušením extraktu vzorky vázkovo. Náhodne boli vybraté kurčatá určené na produkciu mäsa Ross 308 o živej hmotnosti 1800,0 g, ktorú dosiahli za 42 dní z dvoch výkrmových cyklov.

VÝSLEDKY

Obsah sušiny v prsnej svalovine výkrmových kurčiat bol 25,36 g.100 g⁻¹ v prvom experimente a 25,67 g.100 g⁻¹ v druhom experimente. Rozdiel obsahu sušiny v prsnej svalovine kurčiat medzi prvým a druhým experimentom bol 0,31 g.100 g⁻¹, ktorý nebol štatisticky preukazný (P>0,05). Minimálna hodnota obsahu sušiny v prsnej svalovine bola 24,18 g.100 g⁻¹ (prvý experiment), resp. 24,33 g.100 g⁻¹ (druhý experiment). Maximálna hodnota obsahu sušiny v prsnej svalovine kurčiat sa zistila

Chov kurčiat bol uskutočnený v hale na hlboké podstielke pri chovnej technológii Big Dutchman. Koncentrácia kurčiat na jednotku plochy bola na konci výkrmu 27,22, resp. 29,34 kg. Klimatizačné podmienky a svetelný režim bol dodržaný v zmysle odporúčaní pre tento výkrmový typ kurčiat. Kurčatá boli kŕmené *ad libitum* kompletnými kŕmnymi zmesami zostavenými a vybilancovanými na obsah živín a metabolizovateľnej energie v zmysle kódexu kŕmív. Výsledky boli spracované v systémovom programe SAS, verzia 8.2.

26,39 g.100 g⁻¹ (prvý experiment), resp. 26,54 g.100 g⁻¹ (druhý experiment). Kolísanie hodnôt sušiny v prsnej svalovine kurčiat prvého a druhého experimentu bolo takmer rovnaké (výsledky prvého experimentu $s = 0,79$ g.100 g⁻¹ a $v_k = 3,11$ % oproti výsledkom druhého experimentu $s = 0,89$ g.100 g⁻¹ a $v_k = 3,36$ %). Obsah sušiny v prsnej svalovine kurčiat je znázornený na obrázku 1.



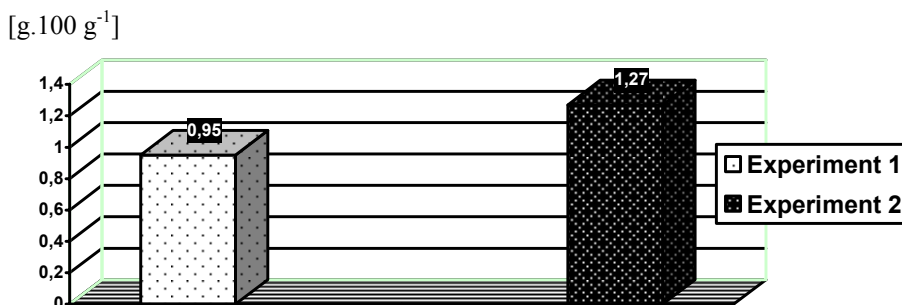
Obr. 1 Priemerný obsah sušiny v prsnej svalovine výkrmových kurčiat v prvom a druhom experimente

Tabuľka 1 Matematicko-štatistické vyhodnotenie obsahu sušiny v prsnej svalovine výkrmových kurčiat

Experiment	n	Minimálna hodnota [g.100 g ⁻¹]	Maximálna hodnota [g.100 g ⁻¹]	s [g.100 g ⁻¹]	v _k [%]	t-test P _{0,05}
1	12	24,18	26,39	0,79	3,11	
2	12	24,33	26,54	0,89	3,36	0,93

Obsah bielkovín v prsnej svalovine kurčiat bol 23,61 g. 100 g⁻¹ v prvom experimente a 23,76 g.100 g⁻¹ v druhom experimente. Rozdiel obsahu bielkovín v prsnej svalovine kurčiat medzi prvým a druhým experimentom 0,15 g.100 g⁻¹ nebol štatisticky preukazný (P>0,05). Minimálna hodnota obsahu bielkovín v prsnej svalovine bola 22,79 g.100 g⁻¹ (prvý experiment), resp. 23,11 g.100 g⁻¹ (druhý experiment). Maximálna hodnota obsahu bielkovín v prsnej svalovine bola 24,56 g.100 g⁻¹ (prvý experiment),

resp. 24,50 g.100 g⁻¹ (druhý experiment). Väčšie kolísanie hodnôt obsahu bielkovín v prsnej svalovine bolo u kurčiat prvého experimentu v porovnaní s hodnotami obsahu bielkovín v prsnej svalovine kurčiat druhého experimentu (výsledky prvého experimentu s = 0,61 g.100 g⁻¹ a v_k = 2,59 % oproti výsledkom druhého experimentu s = 0,46 g.100 g⁻¹ a v_k = 1,92 %). Obsah tuku v prsnej svalovine kurčiat je znázornený na obrázku 2.



Obr. 3: Priemerný obsah tuku v prsnej svalovine výkrmových kurčiat v prvom a druhom experimente

Tabuľka 3 Matematicko-štatistické vyhodnotenie obsahu tuku v prsnej svalovine výkrmových kurčiat v prvom a druhom experimente

Experiment	n	Minimálna hodnota [g.100 g ⁻¹]	Maximálna hodnota [g.100 g ⁻¹]	s [g.100 g ⁻¹]	v _k [%]	t-test P _{0,05}
1	12	0,69	1,23	0,16	16,84	
2	12	1,03	1,51	0,17	13,52	4,69 ⁺⁺⁺

DISKUSIA

Spotrebitelia poznajú pozitívne vlastnosti hydinového mäsa pre jeho vysokú nutričnú hodnotu a majú stále vysoké nároky na jeho kvalitu (Pavlovski et al., 1997). Tolimir et al. (2007) vo svojom experimente s výkrmovým typom kurčiat zistili na základe chemickej analýzy prsnej svaloviny obsah sušiny 26,55; 26, 36, 26,31 a 26,08 g.100 g⁻¹. Prsná svalovina finálneho výkrmového typu kurčiat Ross 308 v našich experimentoch obsahovala 25,36 g, resp. 25,67 g sušiny v 100 g, čo je o takmer rovnaká hodnota (25,35 g.100 g⁻¹), resp. o 1,03 g.100 g⁻¹ viac v porovnaní s výsledkami, ktoré

dosiahli Hačšík et al. (2005). Výskumom bielkovín v kurčacom mäse sa zaoberal Lindeman (1996). Získal hodnoty, ktoré boli vyššie v porovnaní s výsledkami Bogosavljevič-Boskovica (1999).

Výsledky obsahu bielkovín v prsnej svalovine výkrmových kurčiat Ross 308, ktoré sme získali na základe chemických analýz, sú 23,61 g, resp. 23,76 g.100 g⁻¹. Nami namerané hodnoty obsahu bielkovín sú podobné, ako zistili Hačšík et al. (2005) u toho istého výkrmového typu kurčiat. Vyššie hodnoty obsahu bielkovín v prsnej svalovine, ako boli nami zaznamenané,

sú uvedené v práci publikovanej autormi **Tolimir et al. (2007)**. Namerali obsah bielkovín v prsnej svalovine 23,98, 24,45, 24,46 a 24,54 g.100 g⁻¹. Tuk v prsnej svalovine výkrmových kurčiat Ross 308 sa nachádzal množstve 0,95, resp. 1,27 g.100 g⁻¹. Tieto hodnoty tuku v porovnaní s výsledkami **Haščika et al. (2005)** sú podobné. Rovnako sú porovnateľné aj s niektorými údajmi 0,90, 0,89, 0,69 a 0,77 g.100 g⁻¹, ktoré zaznamenali **Tolimir et al. (2007)** v prsnej svalovine kurčiat. Zníženie obsahu tuku v prsnej svalovine dosiahli títo autori kŕmnym prídavkom chrómu do kŕmnej zmesi výkrmových kurčiat. K podobnému záveru dospeli aj **Motozono et al. (1998)**, **Kim et al. (1995)**, **Wanne et al. (1999)** vo svojom

výskume, ktorí skúmali vplyv prídavku chrómu organického pôvodu na obsah tuku v prsnej svalovine. Z uvedených výsledkov vyplýva, že výživná hodnota prsnej svaloviny, čo sa týka obsahu tuku, môže byť ovplyvnená výživou.

Na základe poznatkov literatúry a výsledkov našich experimentov možno konštatovať, že prepojenie výskumu produkcie výkrmových kurčiat v konkrétnych podmienkach na farme s prepojením na výskum v laboratórnych podmienkach má svoje opodstatnenie vo vzťahu ku optimalizácii podmienok chovu a kvality produkcie a kurčacieho mäsa.

ZÁVER

Chemickými analýzami prsnej svaloviny kurčiat Ross 308 určených na produkciu mäsa bol zistený obsah sušiny 25,36 a 25,67 g.100 g⁻¹, bielkovín 23,61 a 23,76 g.100 g⁻¹, tuku 0,95 a 1,27 g.100 g⁻¹. Rozdiely hodnôt sušiny a bielkovín medzi cyklami výkrmu kurčiat neboli štatisticky preukazné ($P > 0,05$). Pri tuku v prsnej svalovine medzi cyklami výkrmu kurčiat bola vysoká štatistická preukaznosť ($P < 0,001$). Na výskum boli náhodne vybrané kurčatá o živej hmotnosti 1800,0 g, ktorú dosiahli za 42

dni. Chov kurčiat bol uskutočnený v hale na hlbokéj podstielke pri chovnej technológii Big Dutchman. Koncentrácia kurčiat na jednotku plochy bola na konci výkrmu 27,22, resp. 29,34 kg. Klimatizačné podmienky a svetelný režim bol dodržaný v zmysle odporúčaní pre tento výkrmový typ kurčiat. Kurčatá boli kŕmené *ad libitum* kompletnými kŕmnymi zmesami zostavenými a vybilancovanými na obsah živín a metabolizovateľnej energie v zmysle kódexu kŕmív.

LITERATÚRA

- BARTECZKO, J., LASEK, O. 2008. Effect of varied protein and energy contents in mixture on meat quality of broiler chicken. In *Slovak J. Anim. Sci.*, vol. 41, 2008, no. 4, p. 173-178.
- BENKOVÁ, J. *Chov hydiny*. [cit. 2010-01-19]. 2009. Dostupné na internete: <www.agroporadenstvo.sk/zv/hydina/chovhydiny04.htm>.
- BOGOSAVLJEVIĆ-BOŠKOVIĆ, S. 1994. Uticaj načina gajenja na tovnost i kvalitet mesa brojlera muških linijskih hibrida kokoši: doktorska disertacija. Beograd, 1994.
- CUNIFF, P. 1997. *Official methods of analysis of AOAC international*. 16th ed. Maryland : AOAC, 1997, p. 1, 5-6.
- FOLCH, J., LEES, M., SLOANE-STANLEY, G. H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. In *J. Biol. Chem.*, vol. 226, 1957, p. 497-509.
- DE ALMEIDA, J. C., PERASSOLO, M. S., CAMARGO, J. L., BRAGAGNOLO, N. GROSS, J. L. 2006. Fatty acid composition and cholesterol content of beef and chicken meat in Southern Brazil. In *Brazilian J. Pharm. Sci.*, vol. 42, 2006, no. 1, p. 110-117.
- HAŠČÍK, P., KAČÁNIOVÁ, M., ČUBOŇ, J. 2009. Vplyv aplikácie *Lactobacillus fermentum* na chemické zloženie mäsa kurčiat ROSS PM3. In *Acta fytotechnica et zootechnica*, vol. 17, 2009, Mimoriadne číslo, p. 197-205.
- HAŠČÍK, P., WEIS, J., ČUBOŇ, J., MAKOVICKÝ, P., KAČÁNIOVÁ, M. 2005. Vplyv probiotického preparátu v KKZ brojlerových kurčiat ROSS 308 na chemické zloženie mäsa. In *Acta fytotechnica et zootechnica*, vol. 8, 2005, no. 1, p. 20-24.
- KIM, S. W., HAN, I. K., CHOI, Y. J., KIM, Y. H., SHIN, I. S., CHAE, B. J. 1995. Effect of chromium picolinate on

growth performance, carcass composition and serum traits of broilers fed dietary different levels of crude protein. In *Asian Australasian J. of Anim. Sci.*, vol. 8, 1995, no. 5, p. 463-470.

LINDEMAN, M. D. 1996. Organic chromium-the missing link in farm animal nutrition. In *Biotechnology in the Feed Industry*. Nottingham : Nottingham University Press, 1996. p. 299-314.

MOTOZONO, Y., HATANO, K., SUGAWARA, N., ISHIBASHI, T. 1998. Effects of dietary chromium picolinate and yeast chromium on the growth and carcass fat of broilers. In *Anim. Sci. and Technol.*, vol. 69, 1998, no. 3, p. 247-252.

PANDA, P. C. 1995. *Text Book on Egg and Poultry Technology*. 1st ed. New Delhi : Vikas Publishing House, 1995, 216 p.

PAVLOVSKI, Z., CMILJANIĆ, R., VRAČAR, S., HOPIĆ, S. 1997. Živinarski proizvodi sa specifičnim osobinama kvaliteta namenjeni izvoru. In Naučni skup "Potencijali stočarstva SR Jugoslavija", Biotehnologija u stočarstvu, Posebna edicija, 1997. p. 27-34.

TOLIMIR, N., PAVLOVSKI, Z., MITROVIĆ, S., BLAGOJEVIĆ, M., ANOKIĆ, N. 2007. Quality of meat from broilers fed concentrate mixtures with different chromium source and level. In *Biotechnol. in Anim. Husb.*, vol. 23, 2007, no. 5-6, p. 311-321.

WANNA, D. L., ZHANG, M. H., DU, R., ZHANG, W. H. 1999. Effect dietary chromium picolinate level on growth performance, immune function and carcass fat content of broilers. In *Acta Zoonutrientia Sinica*, vol. 11, 1999, no. 2, p. 19-23.

Pod'akovanie: Táto práca bola podporovaná Vedeckou grantovou agentúrou prostredníctvom finančnej podpory. VEGA 1/0509/08.

Kontaktná adresa:

prof. Ing. Mária Angelovičová, CSc., Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Food Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, Tel.: +421/37/6415805, e-mail: maria.angelovicova@uniag.sk

Ján Medveď, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Food Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, Tel.: +421/37/6415805.

QUALITY OF HEMP SEED OIL DEPENDING ON ITS OBTAINING

Ivana Poustková, Luboš Babička, Lenka Kouřimská, Gabriela Siegrová, Ladislav Staruch

ABSTRACT

Hemp (*Cannabis sativa* L.) is probably one of the oldest field crops used in nutrition, but also for the production of fibres for clothes, ropes or canvas. *Cannabis sativa* is one of the most spread species of cannabis which belongs to family Cannabinaceae. The seeds are important part of *cannabis sativa*, which contains high part of lipids and proteins. It provides also valuable essential fatty acids, carbohydrates, fiber, vitamins and minerals. Due to low content of THC is possible to produce valuable oil from seeds, which is used in cosmetic and food industry. The aim of this work was to evaluate composition of hemp seeds from one harvest, observe and compare quality of parameters both cold pressed hemp seed oil and hemp seed oil by CO₂ extraction. Both oils are comparable in composition of fatty acids which follow from results of analyses. Also contents of sterols and moisture are similar in both oils. The saponification value is similar in both oils, conformable to as a iodine value. Also were found dissimilarities in colours, phospholipides, unsaponifiable matter, acid value and peroxide value. The cold pressed hemp seed oil contained lower values of unsaponifiable matter, colours and higher concentration of phospholipides and lower acid value. It is caused by influence of CO₂. The oxidation stability of cold pressed hemp seed oil was four times higher than oil by CO₂ extraction.

Keywords: hemp seed, hemp oil, fatty acid, pressing, extraction

ÚVOD

Konopí seté je tradiční plodina, která byla pro svoje univerzální vlastnosti využívána již odnepaměti. Pro tradiční zpracovatelské účely však bylo pěstování konopí v minulých desetiletích silně potlačeno, jelikož většina evropských států totiž přijala legislativní opatření, které bylo cíleno proti pěstování konopí jako zdroje omamných látek (Matthäus, 2008). Nově přijatá opatření umožňují v zemích EU pěstovat speciální šlechtěné kultivary konopí setého, které splňují přísnou normu na velmi nízký obsah omamných látek (nesmí překročit 0,3 % THC - delta-9-tetrahydrocannabinolu), tím se konopí seté opět vrací na pole a stává se velmi sledovanou plodinou ovšem tentokrát kvůli moderním možnostem využití při výrobě energie, plastů, stavebních materiálů, krmiv, kosmetiky a léků (Bosy, 2000). U konopí pěstovaného na semeno se sklizeň provádí v období, kdy jsou semena v dolní polovině květenství plně vyzrálá, popřípadě jsou ve střední třetině květenství ve voskové zralosti a na vrcholku jsou zelená (Meiner, 1998). Konopné semeno obsahuje lipidy (25 – 35 %), proteiny (25 - 45 %), sacharidy (28 - 32 %), vodu, popeloviny (7 %), vlákninu (17 - 20 %), vitamíny (např. B₁, B₂, B₃, B₆, C, E) a minerální látky (např. P, K, Mg, Ca, Fe, Na, Mn, Cu) (Callaway, 2004, Conrad, 2001, Wang, 2008).

Z rostlinných semen se oleje a tuky v současnosti získávají dvěma základními způsoby: lisováním (mechanickým oddělením oleje z rostlinných pletiv za tlaku) a extrakcí (extrakce oleje z rostlinných pletiv organickým rozpouštědlem). Extrahovaný a lisovaný surový olej se po oddělení mechanických nečistot obvykle dále zpracovávají společně (Kadlec et al., 2002, Latif, 2009). Jedním z kritérií, které rozhodují o volbě základního procesu, je olejnatost vstupující suroviny. Za hranici se považuje rozmezí 25 - 30 % oleje v semeni, olejninu pod touto hranicí se už nelisují.

Většinou je produkován konopný olej pro potravinářské účely studenou lisovací technikou. Tato technika neovlivňuje kvalitu výrobku, ale redukuje množství vylisovaného oleje (Hendriks, 1978). Se zvyšujícím se

tlakem se dostává do vylisovaného oleje více jemných úlomků semene. Uvolnění oleje se dosahuje mechanicky - stlačením rozemletých semen, kdy olej vytéká vytvořenými kapilárami (Zajíc, 1988). V současné době se prosazují polokontinuální deskové filtry, kde lisovaný předčištěný olej je čerpadlem dávkován do filtru. Filtrační koláč se vrací před vstup do lisu. Surový lisovaný olej se čerpá do zásobníku. Toto lisování za studena má výhodu v minimalizaci degradačních změn v oleji. Olej poté prochází filtrovacím procesem. Následující rafinační procedury by neměly ovlivnit žádané vlastnosti produktu. Konopný olej je tedy lisován za studena za přítomnosti ochranného plynu, kdy se z konopných semen za použití přesně stanoveného tlaku, teploty pod 45 °C a tření uvolňuje olej, který obsahuje všechny další vysoce cenné příměsi. Lisování se provádí za podmínky vyloučení vzdušného prostředí.

Lahvování se provádí rychle, pod dusíkem do matných láhví. Dalším krokem je chlazení, které je významnou ochranou oleje proti degradaci, oxidaci a působení světla (Cevoý et al., 1996). Nerafinovaný konopný olej vyrobený lisováním za studena má žluto tmavozelenou barvu a příjemnou ořechovou chuť. Stopová množství THC jsou důsledkem znečištění semene, pryskyřice nebo dalších rostlinných zbytků (Mathc a Busca, 1995, Matsunaga et al., 1990). Maximální zralost semena a procesu odstraňování nezralého semena jsou důležitá pro produkci kvalitního oleje.

Extrakci tukových surovin ovlivňuje řada faktorů: druh rozpouštědla, druh suroviny, její kvalita a úprava před extrakcí, způsob extrakce a pod. (Kadlec et al., 2002). Důležitým předpokladem úspěšného průběhu extrakce je předúprava semen, aby došlo k hlubokému narušení pletiv a buněk. Z hlediska účinnosti extrakce, ekonomického provozu a bezpečnosti práce má volba vhodného druhu rozpouštědla značný význam (Zajíc, 1988). Bohužel žádné rozpouštědlo nesplňuje všechna významná kritéria, kterými jsou: vysoká rozpustnost oleje za nízkých teplot, vysoká selektivita pro extrakt, chemická inertnost vůči všem složkám, snadno destilovatelné, požadavky na

nízkou toxicitu, nehořlavost a nevýbušnost, nízká viskozita a povrchové napětí, snadno a s nízkými nároky na spotřebu energie odstranitelné z miscely a ze šrotu, nemísitelné s vodou, nízké rozmezí bodu varu, nízké výparné teplo, cenově dostupné, nízká zátěž pro životní prostředí. Používanými extrakčními činidly byl nejprve extrakční benzín a později technický hexan, který je nejrozšířenějším rozpouštědlem používaným k extrakci olejnatých surovin. Bez ohledu na způsob extrakce je důležitá úprava semen nebo výlisků před extrakcí. Jestliže olejnaté suroviny obsahují více než 35 % (w/w) oleje, provede se jeho snížení předlisováním na hodnotu přibližně 20 % (w/w). Moderní extraktory jsou protiproudé, kontinuálně pracující, k odstranění rozpouštědla se používá tzv. toaster, tj. uzavřený válec vyhřívaný nepřímou parou na teplotu podle druhu materiálu 105 - 125 °C. Doba pobytu v toastru je 12 - 15 min. Cílem toastingu je nejen odstranit rozpouštědlo ze šrotu, ale také úplně nebo alespoň částečně rozrušit toxické látky. I když konopná semena sama neobsahují THC (delta-9-tetrahydrocannabinol), musí být v případě konopného oleje pro potravinářské účely zcela jisté, že obsah THC nebyl v žádném případě zvýšen nepečlivým vytríděním zbytků okvětních lístků ani záměnou odrůdy. Lisováním za horka nebo chemickou extrakcí se získávají oleje k využití v chemickém průmyslu.

V poslední době se jeví jako velice perspektivní použití kapalného oxidu uhličitého jako rozpouštědla k extrakci

MATERIÁL A METODY

Byla použita konopná semena pocházející z jedné partie sklizená v témže roce a následně z nich konopný olej lisovaný za studena a konopný olej extrahovaný pomocí CO₂. Vzorky byly poskytnuty firmou CANNABIS Pharma - derm, s.r.o.

Stanovení stability olejů metodou podle Schaala: Do kádinky o obsahu 150 ml a průměru 30- 400 mm se naváží 22 až 25 g oleje. Kádinky se umístí do termostatu vyhřívaného na 60 °C. Ve vhodných časových intervalech se stanovuje stupeň autooxidace podle změn hmotnosti a/nebo peroxidového čísla. Délka indukční periody se určí ze závislosti hmotnosti vzorku/peroxidového čísla na době skladování.

Stanovení peroxidového čísla ČSN ISO 3960 (58 8765): Do Erlenmayerovy baňky se zábrusem se naváží 0,2 až 5 g vzorku oleje, přidá se 10 ml chloroformu, 15 ml koncentrované kyseliny octové a 1 ml nasyceného vodného roztoku jodidu draselného. Baňka se uzavře a jednu minutu třepe, poté se nechá stát přesně 5 minut v temnu při laboratorní teplotě. Přidá se přibližně 75 ml vody, obsah prudce protřepe a po přidávku několika kapek škrobového mazu jako indikátoru se titruje uvolněný jod standardním odměrným roztokem thiosíranu sodného o koncentraci 1 mmol.l⁻¹ do odbarvení.

Stanovení vlhkosti a těkavých látek: Do předsušených a zvážených hliníkových misek s víčky o průměru 60 mm se naváží 5 g vzorku. Vzorek se poté suší při teplotě 105 °C do konstantní hmotnosti, přičemž první úsek sušení činil 60 minut, další úseky vždy pak 30 minut.

řady surovin ve smyslu získávání významných látek pro kosmetické a farmaceutické účely, nebo k extrakci specifických potravinářských surovin - např. koření, chmele apod. Většina extrakcí probíhá při tlacích 100 - 300 bar a teplotách 40 - 50 °C, navíc toto rozpouštědlo je z potravinářského hlediska naprosto nezávadné. Výhodou je citlivé zpracování teplotně nestabilních látek, extrakt neobsahuje žádné zbytky toxických rozpouštědel, CO₂ je nehořlavý, levný, nevzniká ekologicky závadný odpad. Na druhé straně má extrakce dvě nevýhody - nízkou rychlost dávkování rozpouštědla a nutnost diskontinuálního provozu při naplňování a vyprazdňování extraktoru v beztlakovém stavu.

Konopný olej patří mezi vysoce nestabilní olej (**Deferne, 1996, Parker et al., 2003**), je reaktivní a citlivý ke žluknutí, jelikož obsahuje vysoký podíl nenasycených mastných kyselin (**Siger, 2008**). Je nutné ho skladovat v chladu, temnu a bez možnosti přístupu kyslíku (**Oomah, 2002, Yu, 2005**). Pro stanovení oxidační stability se zjišťuje peroxidové číslo, další možností stanovení oxidační stability je metoda Schaalova testu, kdy se z grafu závislosti peroxidového čísla na době skladování se odečte indukční perioda, což je doba potřebná k nastartování rychlé tvorby peroxidů (**Dimic, 2009**). Dalšími sledovanými jakostními ukazateli byly: obsah těkavých látek, zastoupení mastných kyselin, číslo zmýdelnění, jodové číslo, číslo kyselosti, obsah nezmýdelnitelných látek, obsah barviv.

Stanovení mastných kyselin: Do varné baňky s kulatým dnem se odváží 1 g zhomogenizového vzorku. K navážce se přidá 50 ml 2% kyseliny sírové v metanolu. Směs se vaří pod zpětným chladičem 2 hodiny. Na konci této doby se přilije 5 ml n - heptanu. Poté se ukončí var a směs se nechá vychladnout. Pro oddělení heptanové vrstvy se do baňky přidá nasycený roztok chloridu sodného a heptanová vrstva obsahující methylestery mastných kyselin se injekční stříkačkou odebere do vialky a přímo se nastříkne do GC. Podmínky analýzy: GC Varian Star 3600 s FID: CP WAX 57 CB (25m x 0,32mm x 1,2 μm), teplota nástřiku 250 °C, teplotní program: 150 °C po dobu 1 minuty, 5 °C/min do 230 °C, výdrž 5 min, 20 °C/min do 260 °C, výdrž 10 min, teplota detektoru 280 °C, nástřik 1 μl, nosný plyn N₂, 1,5 ml/min.

Stanovení čísla zmýdelnění ČSN ISO 58 8763: 2 g vzorku se naváží do kónické baňky. Pomocí pipety se přidá 25 ml etanolického roztoku hydroxidu draselného a několik varných kamínků. Na baňku se připojí zpětný chladič, baňka se umístí na ohřívací zařízení a mírně se za občasného zamíchání 60 minut zahřívá. K horkému roztoku se přidá 0,5 ml až 1 ml roztoku fenolftaleinu a obsah baňky se titruje odměrným roztokem kyseliny chlorovodíkové do vymizení růžového zabarvení indikátoru.

Stanovení jodového čísla ČSN ISO 3961 (58 8761): Do Erlenmayerovy baňky se naváží tuk dle očekávaného jodového čísla, pak se rozpustí v 20 ml chloroformu. Potom se přidá přesně 25 ml Hanušova roztoku (roztok 10 g jodmonobromidu v 500 ml kyseliny octové). Po promíchání se baňka nechá stát v temnu 60 - 120 minut při laboratorní teplotě. Během této doby je potřeba baňkou

zamíchat. Poté se opláchne zátka (do baňky) destilovanou vodou, přidá se 20 ml roztoku jodidu draselného, 150 ml vody a titruje se odměrným roztokem thiosíranu sodného do slabě žlutého zbarvení. Poté se přidá 1 ml škrobového mazu a pokračuje se v titraci do úplného odbarvení horní fáze roztoku.

Stanovení čísla kyselosti ČSN ISO 660 (58 8756): Do titrační baňky se naváží 5 g oleje, přidá se 50 ml až 150 ml směsi etanol:diethylether v poměru 1:1 (směs rozpouštědel je nutné předem zneutralizovat hydroxidem draselným na fenolftalein). Roztok se titruje za stálého míchání alkoholickým roztokem 0,1 mol.l⁻¹ KOH do bodu ekvivalence.

Stanovení obsahu nezmýdelnitelných látek: 5 g zkušební vzorku se naváží s přesností nejméně 0,01 g do baňky s kulatým dnem, přidá se 50 ml roztoku hydroxidu draselného a vaří se pod zpětným chladičem 1 hodinu. Po přerušení ohřevu se horní část chladiče přidá 100 ml, po ochlazení se převede do 500ml dělicí nálevky, a přidá se 100 ml diethyletheru. Obsah se důkladně protřepe po dobu 1 minuty za občasného uvolnění tlaku obrácením dělicí nálevky a opatrným otevřením kohoutu. Po rozdělení se spodní vrstva kvantitativně převede do druhé dělicí nálevky. Pokud dojde k vytvoření emulze, přidá se etanol, koncentrovaný hydroxid draselný nebo roztok chloridu sodného. Vodně etanolickeý roztok mýdla se extrahuje ještě dvakrát, se 100 ml diethyletheru. Všechny extrakty se spojí do jedné dělicí nálevky, obsahující 40 ml vody. Po úplném oddělení se spodní vodná vrstva vypustí. Etherový roztok se promyje ještě dvakrát 40 ml vody pomocí silného

třepání a vodná vrstva se po každém promytí odpustí. Následně se etherový roztok promyje 40 ml roztoku hydroxidu draselného, 40 ml vody, znovu 40 ml roztoku hydroxidu draselného a potom nejméně dvakrát 40 ml vody. V promývání se pokračuje do té doby, kdy promývací voda již nedává růžové zbarvení po přidání kapky roztoku fenolftaleinu. Potom se etherový roztok kvantitativně převede co nejrychleji horním otvorem dělicí nálevky do 250 ml baňky, předem vysušené při 103 ± 2 °C v sušárně, ochlazené a zvážené s přesností na 0,1 mg. Rozpouštědlo se odpaří na vroucí vodní lázni. Zbytek se suší v sušárně při 103 ± 2 °C po dobu 15 minut, poté se baňka zváží s přesností na 0,1 mg. Sušení se opakuje, dokud ztráta hmotnosti mezi dvěma následnými váženími není menší než 1,5 mg.

Stanovení barviv: Přefiltrovaný a přesušený olej se naváží do 50 ml odměrné baňky. Vzorek se rozpustí v hexanu a intenzita zbarvení se proměří na spektrofotometricky při 20 °C proti hexanu při vlnových délkách 450 nm pro karotenoidy a při 670 nm pro feofytiny. Pro stanovení chlorofylu a a b byl postup následující: 1 - 2 g vzorku se dá do třecí misky, přidá se křemenný písek a na špičku nože MgCO₃. Potom se materiál roztře na homogenní kaši a postupně se přidá asi 10 ml acetonu. Po vyextrahování barviv do acetonu se přelije extrakt na skleněnou fritu a přefiltruje. Celý postup s acetonem se opakuje. Filtráty se spojí a materiál na fritě se propláchne dalším acetonem. Kvantitativně se převede do 50 ml odměrné baňky a doplní acetonem. Absorbance se měří při dvou vlnových délkách 644 nm a 663 nm.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Byly zjištěny odlišnosti v peroxidovém čísle u oleje lisovaného a extrahovaného pomocí CO₂, které jsou zřejmě způsobeny rozdílným zpracováním semene před lisováním nebo extrakcí, což je dokumentováno v Tabulce 1. Semeno před vlastním lisováním nepodstupuje proces mletí, ale je ihned lisováno a poté jde okamžitě do sudu s ochrannou atmosférou (dusík). U procesu extrakce dochází po rozemletí semene k časové prodlevě, aby se uvolnilo co nejvíce oleje, teprve poté dojde k extrakci. Hodnoty peroxidového čísla v intervalu 10 - 20 mekv O₂.kg⁻¹ je nutno považovat za zvýšené a u obou vzorků vypovídají o probíhajícím procesu autooxidace ve vztahu k procesu získání oleje ze semen za předpokladu stejného stáří obou olejů, stejných podmínek skladování a stejné kvality semen.

Číslo zmydlení má podobné hodnoty u obou olejů, stejně tak jako jodové číslo. **Anwar (2006)** uvádí u konopného oleje lisovaného za studena jodové číslo 154 - 165 g I₂.100 g⁻¹ a číslo zmydlení 184 - 190 mg KOH.g⁻¹ tuku. Tyto hodnoty odpovídají výsledkům získaným při této analýze.

Číslo kyselosti je u oleje extrahovaného nižší (0,96 mg KOH.g⁻¹ tuku), což odpovídá menšímu množství přítomných volných mastných kyselin. U oleje lisovaného byla zjištěna hodnota 4,14 mg KOH.g⁻¹ tuku. **Klein (1999)** uvádí hodnotu čísla kyselosti 4,66 mg KOH.g⁻¹ tuku.

Obsah vlhkosti a těkavých látek a zastoupení mastných kyselin (tabulka 1) v obou olejích (lisovaném i extrahovaném) je téměř totožný.

Sledované oleje obsahují odlišné koncentrace látek nezmýdelnitelného podílu - olej získaný extrakcí vykazuje skoro o polovinu vyšší obsahy látek nezmýdelnitelného podílu, což je dáno účinkem oxidu uhličitého na tyto látky obsažené v buněčných membránách, hlavně na obsah fosfolipidů.

Co se týká obsahu barviv, olej lisovaný vykazoval hodnoty 3,73 mg.kg⁻¹ karotenoidů (po 115 dnech skladování v temnu za teploty 6 °C 2,71 mg.kg⁻¹), olej extrahovaný 19,58 mg.kg⁻¹, resp. 17,92 mg.kg⁻¹. U feofytinů byly zjištěny hodnoty 9,12 mg.kg⁻¹ a 7,03 mg.kg⁻¹ (po 115 dnech skladování za teploty 6 °C v temnu), u oleje extrahovaného to byly hodnoty 38,65, resp. 32,95 mg.kg⁻¹. Olej extrahovaný pomocí CO₂ vykazoval vyšší obsahy feofytinů i karotenoidů, což je způsobeno účinky oxidu uhličitého na tyto látky obsažené v buňkách (zelená barviva v chloroplastech). Olej extrahovaný pomocí CO₂ obsahuje o polovinu více karotenoidů i feofytinů. Karotenoidní barviva jsou při koncentracích obsažených v konopném oleji považována za antioxidanty (látky, které zabraňují žluknutí oleje a tím přirozeně prodlužují dobu skladování oleje a výrobků z něj vyrobených), feofytiny se mohou za určitých podmínek chovat jako prooxidanty (látky, které snižují účinek antioxidantu přímou oxidační reakcí za vzniku radikálu, který následně reaguje s lipidickým substrátem a iniciuje autooxidaci).

Tabulka 1 Kvalitativní charakteristika konopného oleje lisovaného a extrahovaného

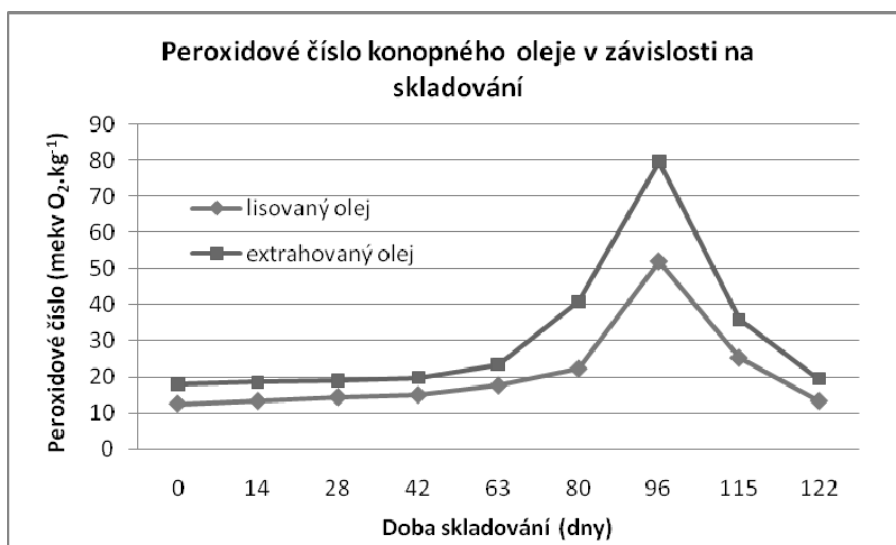
Ukazatel	Olej lisovaný	Olej extrahovaný
Peroxidové číslo (mekv O ₂ .kg ⁻¹)	12,62	18,20
Číslo zmýdelnění (mg KOH.g ⁻¹)	189,70	193,33
Číslo jodové (g I ₂ .100 g ⁻¹)	155,67	154,43
Číslo kyselosti (mg KOH.g ⁻¹)	4,14	0,96
Obsah vlhkosti a těkavých látek (% hm.)	0,16	0,18
Nezmýdelnitelný podíl (% hm.)	1,44	2,27
Obsah feofytinů (mg.kg ⁻¹)	9,12	38,65
Obsah karotenoidů (mg.kg ⁻¹)	3,73	19,58

Tabulka 2 Zastoupení mastných kyselin v lisovaném a extrahovaném konopném oleji

Složení mastných kyselin (% všech MK)		
Mastná kyselina	lisovaný olej	extrahovaný olej
Palmitová (C16)	6,56	6,62
Stearová (C18)	3,33	3,54
Olejová (C18:1)	11,67	12,18
Linolová (C18:2)	56,24	56,03
Linolenová (C18:3 γ)	3,16	2,95
Linolenová (C18:3 α)	16,95	16,62
Stearidonová (C18:4)	1,09	1,01
Arachová (C20)	1,00	1,05

Mnohem vyšší oxidační labilitu zjištěnou peroxidovým číslem a indukční periodou vykazoval olej extrahovaný pomocí CO₂ oproti oleji lisovanému za studena (Obr. 1). Oba oleje měly téměř totožný průběh hodnot peroxidového čísla během skladování, lišily se pouze vyšší hodnotou u extrahovaného oleje. V průběhu skladování peroxidové číslo rostlo, po určité době došlo k poklesu, který je

způsoben přeměnou primárních oxidačních produktů (hydroperoxidů) na produkty sekundární (např. aldehydy, oxokyseliny). U oleje získaného lisováním za studena (a u výrobků z něj vyrobených) se senzorické vady způsobené žluknutím mohou vyskytnout později, neboť obsahuje nižší množství hydroperoxidů, které se budou přeměňovat na sekundární produkty způsobující žluknutí.



Obr. 1 Graf naměřeného peroxidového čísla konopného oleje v závislosti na době skladování

ZÁVĚR

Díky vysokému obsahu polyenových mastných kyselin se řadí konopný olej k olejům s nižší oxidační stabilitou. Při testování oxidační stability bylo zjištěno, že olej lisovaný má téměř 4x vyšší hodnotu oxidační stability. Proto se u oleje získaného lisováním za studena (a u výrobků z něj vyrobených) se mohou senzorické vady

způsobené žluknutím vyskytnout později, neboť má nižší hodnoty hydroperoxidů, které se následně přeměňují na sekundární produkty způsobující žluknutí. Použitá metoda extrakce oleje z konopného semene má relativně malý vliv na jeho výslednou kvalitu.

LITERATURA

- ANWAR, F., LATIF, S., ASHRAF, M. 2006. Analytical characterization of hemp seed oil from different agro-ecological zones of Pakistan. In *Journal of the American oil Chemists Society*, vol. 83, 2006, p. 323-329.
- BOSY, T. Z., COLE, K. A. 2000. Consumption and quantitation of Delta(9)-tetrahydrocannabinol in commercially available hemp seed oil products. In *Journal of Analytical Toxicology*, vol. 24, 2000, p. 562-566.
- CALLAWAY, J. C. 2004. Hempseed as a nutritional resource: An overview. In *Euphytica*, vol. 140, 2004, p. 65-72.
- CONRAD, CH., PROCHÁZKOVÁ, M. 2001. Konopí pro zdraví - Fakta o léčivých účincích marihuany, Pragma Praha, 2001, 210 p.
- CEVOY, C., EDWARDS, M., SNOWDEN, M. 1996. An overview of antioxidant, preservative and solvent excipients used in the pharmaceutical industry. In *Pharmaceutical Technology Europe*, vol. 8, 1996, p. 36-40.
- ČSN ISO 660 (58 8756): Živočišné a rostlinné tuky a oleje - Stanovení čísla kyselosti.
- ČSN ISO 3960 (58 8765): Živočišné a rostlinné tuky a oleje - Stanovení peroxidového čísla.
- ČSN ISO 3961 (58 8761): Živočišné a rostlinné tuky a oleje - Stanovení jodového čísla.
- ČSN ISO 58 8763: Živočišné a rostlinné tuky a oleje - Stanovení čísla zmýdelnění.
- DEFERNE, J. L., PATE, D. W. 1996. Hemp seed oil - A source of valuable essential fatty acid. In *Journal of the International Hemp Association*, vol. 3, 1996, p. 4-7.
- DIMIC, E., ROMANIC, R., VUJASINOVIC, V. 2009. Essential fatty acids, nutritive value and oxidative stability of cold pressed hempseed (*Cannabis sativa*) oil from different varieties. In *Acta Alimentaria*, vol. 38, 2009, p. 229-236.
- HENDRIKS, H., MALINGRE, T. M., BATTERMAN, S., BOS R. 1978. The essential oil of *Cannabis sativa*. In *Pharmaceutisch Weekblad*, vol. 113, 1978, p. 413-424.
- KADLEC, P., ČEPIČKA, J., ČURDA, L., DOSTÁLOVÁ, J., FILIP, V., MELZUCH, K., PLOCKOVÁ, M., RYCHTERA, M., ŠMIDRKAL, J., ŠTĚTINA, J., VOLDŘICH, M., 2002. Technologie potravin II, VŠCHT Praha, 2002, 236 p.
- KLEIN, H., 1999. Erfahrungen aus den Untersuchungen von Nahrungsfetten und ölen aus dem Handel - Teil I. In *Ernährung/Nutrition*, vol. 23, 2002, p. 452-460.
- LATIF, S., ANWAR, F. 2009. Physicochemical studies of hemp (*Cannabis sativa*) seed oil using enzyme-assisted cold-pressing. In *European Journal of Lipid Science and Technology*, Vol. 111, 2009, p. 1042-1048.
- MATTHÄUS, B., BRÜHL, L. 2008. Virgin hemp seed oil: An interesting niche product. In *European Journal of Lipid Science and Technology*, vol. 110, 2008, p. 655-661.
- MATHC, P., I. BUCSA, I. 1995. Can THC occur in hemp seed oil? In *Journal of International Hemp Association*, vol. 2, 1995, p. 59.
- MATSUNAGA, T. H., NAGATOMO, I., YOSHIMURA, H. 1990. Identification and determination of cannabinoids in commercially available *Cannabis* seed. In *Eisei Kagaku*, vol. 36, 1990, p. 545-547.
- MEINER, CH., MEDIAVILLA, V. 1998. Factors influencing the yield and the quality of hemp essentials oil. In *Journal of the International Hemp Association*, vol. 5, 1998, p. 16-20.
- OOMAH, B. D., BUSSON, M., GODFREY, D. V., DROVER J. C. G. 2002. Characteristics of hemp seed oil. In *Food Chemistry*, vol. 76, 2002, p. 33-43.
- PARKER, T. D., ADAMS, D. A., ZHOU, K. K., HARRIA, M., YU L. L. 2003. Fatty acid composition and oxidative stability of cold - pressed edible seed oils. In *Journal of Food Science*, vol. 68, 2003, p. 1240-1243.
- SIGER, A., NOGALA-KALUCKA, M., LAMPART-SZCZAPA, E. 2008. The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. In *Journal of Food Lipids*, vol. 15, 2008, p. 137-149.
- WANG, X., TANG, CH., YANG, X., GAO, W. 2008. Characterization, amino acid composition and in vitro digestibility of hemp (*Cannabis sativa* L.) proteins. In *Food Chemistry*, vol. 107, 2008, p. 11-18.
- YU, L. L., ZHOU, K. K., PARRY, J. 2005. Antioxidant properties of cold-pressed black caraway, carrot, cranberry, and hemp seed oils. In *Food Chemistry*, vol. 91, 2005, p. 723-729.
- ŽAJÍC, J., BAREŠ, M. 1988. Chemie a technologie tuků, VŠCHT Praha, 1988, 245 p.

Poděkování: Tato práce byla podpořena Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (Výzkumný záměr MSM 6046070901).

Kamýcká 129, 165 21 Prague 6 - Suchdol, Czech Republic.
Tel.: +420 224 383 507, e-mail: kourimska@af.czu.cz

Ing. Gabriela Siegrová, Czech University of Life Sciences Prague, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Department of Quality of Agricultural Products, Kamýcká 129, 165 21 Prague 6 - Suchdol, Czech Republic. Tel.: +420 224 383 511

Ing. Ladislav Staruch, PhD., Slovak University of Technology in Bratislava, Faculty of Chemical and Food Technology, Institute of Biotechnology and Food Science, Radlinského 9, 812 37 Bratislava 1, Slovak Republik. Tel.: +421 259 325 451, e-mail: ladislav.staruch@stuba.sk

DETERMINATION OF FLAVONOIDS CONTENT IN COLOURED PEAS (*PISUM SATIVUM* L.) IN RELATION TO CULTIVAR'S DEPENDENCE AND STORAGE DURATION UNDER NATURAL CONDITIONS*Mária Timoracká, Alena Vollmannová***ABSTRACT**

Our attention is being given especially to four representative flavonoids: kaempferol, apigenin, genistein and daidzein. These flavonoids were studied in the seeds of colored varieties of dry pea. Isocratic HPLC analysis with DAD detection after acid hydrolysis of samples was performed. The differences of flavonoid contents in individual pea varieties were not significant. The determined values of flavonoids in green peas were: daidzein 1,746-2,688 mg.kg⁻¹, genistein 0,412-0,706 mg.kg⁻¹, kaempferol 0,621-1,484 mg.kg⁻¹, apigenin 0,261-0,479 mg.kg⁻¹. Yellow varieties of pea contained between 0,375-0,779 mg.kg⁻¹ daidzein, 0,115-0,158 mg.kg⁻¹ genistein, kaempferol 0,742-1,314 mg.kg⁻¹, apigenin 0,462-0,698 mg.kg⁻¹. Also the changes in content of chosen flavonoids in pea in the dependence on variety in dried legumes stored under natural conditions were surveyed. From the results it came out that in interval 7 month the content of all observed flavonoids declined in dry material (in some cases even to non-detectable levels).

Keywords: yellow and green pea, flavonoid, storage

ÚVOD

Prírodné antioxidanty prítomné v potravinách vyvolávajú značný záujem verejnosti kvôli svojim potenciálnym nutričným a terapeutickým účinkom. Polyfenolické zlúčeniny, zvlášť flavonoidy, sú účinnými antioxidantmi vďaka svojej schopnosti zachytávať voľné radikály a reaktívne formy kyslíka (Lachman et al., 2005). Napriek tomu, že flavonoidy vo všeobecnosti nie sú považované za látky s nutričnou hodnotou, záujem o ne vzrastá pre ich priaznivé účinky na ľudské zdravie (Magálová, 1999). Flavonoidy sú významnou súčasťou antioxidantného systému, zabráňujú peroxidácii lipidov, pôsobia protizápalovo, antioxidantne, antimikrobiálne, antitumogénne.

Problematika výskytu a obsahu fenolických látok v rastlinnom materiáli je v súčasnom období riešená v prácach mnohých odborníkov a v tejto súvislosti sú výskumu podrobené aj strukoviny. Strukoviny všeobecne patria medzi najhodnotnejšie rastlinné potraviny s preukaznými pozitívnymi účinkami na zdravie človeka. Najfrekvencovanejšou jedlou strukovinou v strednej

Európe je hrach, a preto sem sa zamerali na stanovenie obsahu vybraných predstaviteľov fenolických látok v tejto strukovine, ktorá je neoddeliteľnou súčasťou nášho jedálneho lístka v rôznych kulinárskych úpravách.

Troszynska et al. (2002) zisťovali fenolové zlúčeniny zodpovedné za antioxidantnú aktivitu hrachových semien. Použitím HPLC potvrdili prítomnosť glykozidov flavonolu (kemferolu) a flavonu (apigenín). Prítomnosť kemferolu bola zistená aj po kyslej hydrolýze semien iných typov strukovín bohatých na polyfenoly (Troszynska et al., 2006). Duenas et al. (2004) prezentovali prítomnosť glykozidov luteolínu, kvercetínu i apigenínu v osemeni odrôd hrachu. Kalogeropoulos et al. (2010) detegovali v semenách hrachu, okrem flavonolov, aj izoflavóny (genisteín), ktorých bohatým zdrojom sú sójové bôby.

O fenolickej skladbe a obsahu fenolov v semenách hrachu je veľmi málo publikovaných prác. Z tohto dôvodu bola naša pozornosť zameraná na stanovenie obsahu štyroch vybraných predstaviteľov jednotlivých skupín flavonoidov, a to zo skupiny izoflavónov (daidzeín, genisteín), flavonolov (kemferol) a flavónov (apigenín) s koncentráciou 25 µg flavonoidu.cm⁻³ metanolu (HPLC grade) a uchovávané v tme pri teplote 4 °C. Všetky roztoky boli pred HPLC analýzou prefiltrované cez 0,22 µm membránové filtre PTFE (Alltech, USA). Ostatné analytické skúmadlá použité pri experimentálnej práci boli p.a. čistoty.

Metodika: Flavonoidy – daidzeín, genisteín, kemferol a apigenín - boli stanovené ako aglykóny nami modifikovanou metódou podľa Wanga (1990). Flavonoidy boli stanovené pomocou prístroja pre HPLC (Agilent Technologies, U.S.A.) s použitím DAD detektora. Všetky vzorky extraktov boli prefiltrované cez 0,22 µm membránové filtre (Millipore, U.S.A.) a filtrát (20 µl) bol nastrekovaný na kolónu RP C18 (150x 3,9mm) s predkolónou s tou istou stacionárnou fázou. Bola použitá izokratická elúcia s mobilnou fázou metanol : 1mM octan amónny (6:4) pri prietoku 1 ml.min⁻¹. Identifikácia a kvantifikácia flavonoidov bola založená na porovnávaní

MATERIÁL A METÓDY

Materiál: V súbore semien hrachu siateho (*Pisum sativum* conv. *sativum* Alef.) dodanom Šľachtiteľskou stanicou Horná Streda sa stanovil a porovnával obsah fenolických látok medzi rôznofarebnými typmi hrachu, a to žltosemennými odrodami Jantar, Svit, Xantos a zelenosemennými odrodami Jadeit, Olivín a Achat. Strukoviny v plnej zrelosti boli jednotlivo balené v papierových obaloch a skladované oddelene na suchom, vetrateľnom mieste pri bežnej teplote bez prístupu priameho slnečného žiarenia.

Chemikálie: Pre HPLC analýzu boli zakúpené štandardy sledovaných flavonoidov najvyššej dostupnej čistoty – daidzeín (98 %), genisteín (99 %), kemferol (96 %) a apigenín (99 %) od firmy Fluka (Švajčiarsko). Metanol pre HPLC bol použitý od firmy Sigma Aldrich Chemical Corp. (USA). Základné štandardné roztoky boli pripravené

retenčných časov UV spektier so spektrami komerčných štandardov.

Pri hodnotení výsledkov biologického materiálu bola použitá štatistická metóda analýzy variancií ANOVA

(štatistická jednofaktorová a dvojfaktorová analýza rozptylu). Na štatistické spracovanie údajov sa použil program EXCEL 2003 a STATGRAPHICS Vs. 5.0.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tabuľke 1 sú uvedené obsahy sledovaných vybraných flavonoidov v súbore semien hrachu siateho získaných po zbere zo Šľachtiteľskej stanice Horná Streda.

Z uvedených výsledkov vyplýva, že u všetkých odrôd hrachu boli hodnoty meraných flavonoidov na detekovateľnej úrovni.

Table 1 Flavonoids content (mg.kg⁻¹) in pea seeds in full ripeness

Odroda	Obsah daidzeínu	Obsah genisteínu	Obsah kemferolu	Obsah apigenínu
Jadeit	1,9460	0,4954	1,4840	0,4799
Achat	2,6889	0,4125	0,9052	0,2614
Olivín	1,7464	0,7067	0,6215	0,3738
<i>priemer</i>	<i>2,2176</i>	<i>0,454</i>	<i>0,9052</i>	<i>0,3717</i>
Jantar	0,3750	0,1159	1,3144	0,5596
Svit	0,3865	0,1589	0,742	0,4619
Xantos	0,7795	0,1510	1,1300	0,6988
<i>priemer</i>	<i>0,583</i>	<i>0,1314</i>	<i>1,3144</i>	<i>0,5734</i>
<i>celkový priemer</i>	<i>1,4003</i>	<i>0,2956</i>	<i>1,1098</i>	<i>0,4725</i>

Celkové priemerné obsahy sledovaných flavonoidov u odrôd hrachu klesajú v poradí daidzeín (1,4003 mg.kg⁻¹) > kemferol (1,1098 mg.kg⁻¹) > apigenín (0,4725 mg.kg⁻¹) > genisteín (0,2956 mg.kg⁻¹). V prípade zelenosemenných typov odrôd (Jadeit, Achat, Olivín) sú majoritnými flavonoidmi daidzeín a kemferol, pričom hodnoty obsahu daidzeínu niekoľkonásobne prevyšujú obsahy ostatných flavonoidov v celom súbore odrôd hrachu. Inverzný vzťah v prípade genisteínu a apigenínu môžeme pozorovať u odrôd zelenosemenných typov hrachov, zatiaľ čo u odrôd žltosemenných typov hrachov (Jantar, Svit, Xantos) sú to kemferol a daidzeín, kde priemerný obsah kemferolu (1,3144 mg.kg⁻¹) je oveľa vyšší ako obsah daidzeínu (0,5830 mg.kg⁻¹).

Testovaním hodnôt obsahu izoflavónov daidzeínu a genisteínu metódou variancií sa zistila štatistická preukaznosť (P < 0,01) medzi farebnými typmi hrachov v prospech zelenosemenných odrôd. Je potrebné poznamenať, že namerané hodnoty daidzeínu boli výrazne vyššie ako hodnoty genisteínu u oboch typov hrachov. V prípade zelenej odrody Achat obsah daidzeínu niekoľkonásobne prevýšil množstvo ostatných flavonoidov a obsahom 2,6889 mg.kg⁻¹ sa zároveň ukázal ako jej dominantná flavonoidná zlúčenina. Spomedzi žltosemenných odrôd dosiahla maximálnu hodnotu daidzeínu odroda Xantos. Obsah genisteínu bol medzi žltými odrodami pomerne vyrovnaný.

Najvyššie množstvo kemferolu v celom súbore vzoriek obsahovala zelenosemenná odroda Jadeit. Pomerne vysoký obsah kemferolu, a prekvapivo najvyšší medzi žltými odrodami, mala odroda Jantar, ktorá dosiahla najnižšie výsledky v obsahu izoflavónov i celkových polyfenolov a javila sa ako odroda chudobná na fenolické látky.

Z porovnania priemerných hodnôt obsahu kemferolu možno usudzovať, že žltosemenné odrody sú bohatšie na

uvedený flavonoid ako zelenosemenné odrody, ale porovnanie variabilných hodnôt jednotlivých odrôd poukazuje skôr na odrodovú závislosť. **Hempel a Bohm (1996)** potvrdili závislosť flavonolov od odrody pri testovaní farebných odrôd fazule, pričom rozdiely v obsahu flavonolov medzi žltou a zelenou fazuľou neboli preukazné. K opačnému záveru dospeli **Beninger et al. (1999)** analýzou troch odrôd suchej fazule s odlišným farebným osemením. Autori zistili porovnateľné množstvo kemferolu v svetlozelenej a hnedej odrode fazule, ale preukazne nižší obsah tohto flavonolu v žltej odrode. Ďalej môžeme konštatovať, že žltosemenné odrody obsahujú síce v priemere viac apigenínu ako zelenosemenné odrody, ale hodnota obsahu apigenínu žltej odrody Svit je porovnateľná s odrodou Jadeit s najvyšším obsahom apigenínu spomedzi zelených odrôd. Na základe vyhodnotenia analýzy variancií sa môže konštatovať, že s pravdepodobnosťou vyššou ako 99 % existuje štatisticky významný rozdiel v obsahu fenolických látok nezávisle od typu odrody hrachu.

Následne sa sledovali a vyhodnocovali zmeny v obsahu vybraných flavonoidov v závislosti od doby uskladnenia vzoriek hrachu v prirodzených podmienkach. Kvalita suchých semien strukovín sa z hľadiska obsahu flavonoidov priebežne kontrolovala v stanovených termínoch s prihliadnutím na praktické a časové zvládnutie metódy. Prvé meranie bolo uskutočnené po zbere strukoviny a následne sa vzorky hrachu odobrali s dvojmesačným odstupom (2 a 3. meranie) od naskladnenia a po priebežnom vyhodnotení sa v závere skladovania (4.-6. meranie) zvolili mesačné intervaly odberu vzoriek. Zmeny v hladine flavonoidov v hrachu siatom vo vzťahu k dobe skladovania prezentujú výsledky uvedené v tabuľke 2.

Table 2 Changes in contents of selected flavonoids (mg.kg⁻¹) of pea in relationship to storage duration

Odroda	Analýza	Obsah daidzeínu	Obsah genisteínu	Obsah kemferolu	Obsah apigenínu
Jadeit	1. meranie	1,9458	0,4954	1,4840	0,4798
	2. meranie	0,3703	0,4068	1,0556	0,1260
	3. meranie	0,2659	0,0974	0,9531	nd.
	4. meranie	0,0761	0,0797	0,4373	nd.
	5. meranie	0,0593	0,0768	0,3109	nd.
	6. meranie	nd.	nd.	0,1689	nd.
Achat	1. meranie	2,6888	0,4125	0,9052	0,2614
	2. meranie	0,2017	0,0598	0,6440	0,1895
	3. meranie	0,1861	nd.	0,5141	0,1037
	4. meranie	0,1061	nd.	0,5066	0,1013
	5. meranie	0,1026	nd.	0,4717	nd.
	6. meranie	nd.	nd.	0,4597	nd.
Olivín	1. meranie	1,7463	0,7067	0,6215	0,3738
	2. meranie	0,2008	0,1727	0,5804	0,3366
	3. meranie	0,1403	0,0797	0,4593	0,3203
	4. meranie	0,1336	0,0738	0,4399	0,3136
	5. meranie	0,1274	nd.	0,4134	nd.
	6. meranie	0,0849	nd.	0,2650	nd.
Jantar	1. meranie	0,3750	0,1158	1,3140	0,5596
	2. meranie	0,2253	0,0738	1,1863	0,2524
	3. meranie	0,1796	0,0713	0,8666	0,2495
	4. meranie	0,0373	nd.	0,5830	0,1971
	5. meranie	nd.	nd.	0,3631	nd.
	6. meranie	nd.	nd.	nd.	nd.
Svit	1. meranie	0,3865	0,1589	0,7420	0,4619
	2. meranie	0,3608	0,1432	0,5742	0,3590
	3. meranie	0,1398	0,1121	0,4602	0,3048
	4. meranie	0,1274	0,0147	0,3790	0,1683
	5. meranie	0,1191	nd.	0,3657	nd.
	6. meranie	0,1097	nd.	0,3000	nd.
Xantos	1. meranie	0,7792	0,1510	1,1300	0,6988
	2. meranie	0,2609	0,1378	1,0203	0,6558
	3. meranie	0,2394	0,0501	0,5353	0,5612
	4. meranie	0,2175	0,0290	0,5115	0,4112
	5. meranie	0,1468	nd.	0,3095	nd.
	6. meranie	0,1368	nd.	0,3021	nd.

nd. – pod hranicou detekcie

Z výsledkov z tabuľky 2 je evidentné, že vo všetkých odrodách hrachu v plnej zrelosti s narastajúcou dobou skladovania štatisticky významne ($P < 0,01$) klesali hodnoty obsahu sledovaných flavonoidov. Signifikantný pokles hodnôt bol zistený v obsahu oboch izoflavónov v odrodách Jadeit, Achat a Olivín na začiatku skladovania. Počas 2 mesiacov skladovania klesla hodnota množstva genisteínu o 78,7 % a daidzeínu o 88,4 % oproti priemernej hodnote získanej pri naskladnení zelenosemenných odrôd hrachu. Rozdiely v obsahu daidzeínu i genisteínu v zelených odrodách zistené v nasledujúcich odberoch už neboli štatisticky významné. Jantar, aj po 7 mesiacoch skladovania strukoviny.

V prípade žltosemenných odrôd hrachu (Jantar, Svit, Xantos) dochádzalo síce k významnej, ale plynulej degradácii izoflavónov počas celého úseku skladovania. Najnižší úbytok daidzeínu bol pozorovaný v odrode Svit, napriek nízkej počiatkovej hodnote porovnateľnej s východiskovou hodnotou v odrode Jantar. V odrodách Jantar, Jadeit a Achat boli konečné hodnoty obsahu daidzeínu na nedetekovateľnej úrovni. Obsah genisteínu klesol pod medzu stanoviteľnosti po uplynutí 5 mesiacov (v priemere) od uskladnenia oboch typov hrachov.

Obsah kemferolu vo všetkých prípadoch hrachu siateho klesal pozvoľne a bol detegovaný, s výnimkou odrody

Štatistická významnosť poklesu kemferolu ($P < 0,01$) bola zaznamenaná počas celého úseku skladovania u oboch typov hrachov. Na základe percentuálneho vyjadrenia konečných hodnôt kemferolu voči počiatočným hodnotám možno zostaviť nasledovné poradie odrôd hrachu: Achat (50,7 %) > Olivín (42,6 %) > Svit (40,4 %) > Xantos (26,7 %) > Jadeit (11,3 %) > Jantar (nd.).

Nasledujúcim hodnoteným flavonoidom bol apigenín. S narastajúcou dobou skladovania obsah apigenínu pozvoľne klesal, pričom rozdiely zistené v jeho obsahu medzi jednotlivými mesiacmi odberu vzoriek počas skladovania boli väčšinou štatisticky významné. Zaujímavý je náhly výrazný pokles apigenínu pod hranicu stanoviteľnosti zaznamenaný v 5. odbere (meraní) vo všetkých odrodách hrachu.

Z výsledkov stanovenia obsahu flavonoidov v 1. meraní vo vzorkách hrachu možno stanoviť nasledovné poradie:

daidzeín: Achat > Jadeit > Olivín > Xantos > Svit > Jantar

genisteín: Olivín > Jadeit > Achat > Svit > Xantos > Jantar

kemferol: Jadeit > Jantar > Xantos > Achat > Svit > Olivín

apigenín: Xantos > Jantar > Jadeit > Svit > Olivín > Achat

Z výsledkov stanovenia obsahu flavonoidov v 6. meraní vo vzorkách hrachu možno stanoviť nasledovné poradie:

daidzeín: Xantos > Svit > Olivín > Jadeit ≈ Achat ≈ Jantar

genisteín: Jadeit ≈ Achat ≈ Olivín ≈ Jantar ≈ Svit ≈ Xantos

kemferol: Achat > Xantos ≈ Svit > Olivín > Jadeit > Jantar

apigenín: Jadeit ≈ Achat ≈ Olivín ≈ Jantar ≈ Svit ≈ Xantos

Zelenosemenná odroda Jadeit sa javila ako odroda s najoptimálnejším zastúpením všetkých sledovaných flavonoidov, a aj obsah celkových polyfenolov ju favorizoval pre použitie v praxi. Z porovnania hodnôt však vyplýva, že skladovaním si zelenosemenné odrody Jadeit a Achat zachovali iba kemferol, v odrode Olivín aj daidzeín, zatiaľ čo žltosemenné odrody Xantos a Svit mali priemerný obsah kemferolu a relatívne najvyšší obsah

daidzeínu. Napriek nedetekovateľným hodnotám obsahu genisteínu a apigenínu možno aj tieto odrody považovať na základe získaných konečných výsledkov za priaznivé z hľadiska obsahu sledovaných flavonoidov.

Výsledky v tabuľke 2 jednoznačne dokumentujú výrazný pokles obsahu flavonoidov v hrachu, čo koreluje so závermi **Bilbao et al. (2000)**, ktorí skúmali vplyv skladovania na obsah polyfenolov vo viacerých druhoch strukovín. Všeobecne možno konštatovať, že po 7 mesiacoch uchovávaní strukovín v prirodzených podmienkach bola v oboch typoch hrachu tendencia zachovania obsahu kemferolu a v menšej miere i daidzeínu. V prípade žltých odrôd bol zaznamenaný pozvoľný úbytok daidzeínu, a to i napriek nízkym východiskovým hodnotám, v porovnaní so zelenosemennými odrodami. Najvýraznejšie zmenám v hrachu podliehajú genisteín a jeho polohový izomér apigenín. Vo viacerých prípadoch hodnoty genisteínu a apigenínu dosiahli hranicu detekcie už po 5 mesiacoch skladovania. Najradikálnejší pokles hodnôt v odrodách hrachu bol však spozorovaný v prípade obsahu apigenínu v odrode Jadeit a obsahu genisteínu odrody Achat, ktoré už po 4 mesiacoch skladovania klesli pod hranicu detekcie. Tvorba oboch spomínaných flavonoidov prebieha rovnakou genetickou dráhou, a práve príbuznosť oboch látok by mohla byť vysvetlením ich analogického správania, a to nielen v produkcii nižšieho množstva v semenách hrachov, ale aj významnej degradácii ($P < 0,01$) oboch fenolov medzi jednotlivými mesiacmi odberu vzoriek. Uvedené skutočnosti poukazujú na to, že počas celého úseku skladovania dochádzalo k postupnému narušaniu štruktúry flavonoidov enzýmami polyfenoloxidázou a peroxidázou, čo viedlo následne k poklesu ich obsahu v hodnotených strukovinách.

vyšší obsah kemferolu vo všetkých odrodách hrachu siateho klesal pozvoľne a bol detegovaný aj po 7 mesiacoch skladovania strukoviny. Významná tendencia poklesu obsahu flavonoidov medzi jednotlivými mesiacmi odberu vzoriek poukazuje na to, že počas celého úseku skladovania dochádzalo k postupnému narušaniu štruktúry flavonoidov enzýmami polyfenoloxidázou a peroxidázou.

Prezentované výsledky dopĺňajú súčasné poznatky o obsahu bioaktívnych látok vo vybraných slovenských odrodách a druhoch strukovín, ako aj o ich zmene vo vzťahu k dobe skladovania. Ak by sa za jeden z určujúcich dôvodov konzumácie strukovín v našich podmienkach bral obsah sledovaných flavonoidov, tak uvedené poznatky z tohto pohľadu naznačujú, že je najvhodnejšie konzumovať strukoviny v krátkom čase po ich zbere. Pomerne vysoké koncentrácie kemferolu a daidzeínu stanovené aj po dlhšej dobe skladovania súčasne poukazujú na vhodnosť využívania sóje v našom jedálnom lístku pre deklarovaný priaznivý vplyv flavonoidov na zdravie človeka počas celého roka. Častejšie zastúpenie strukovín vo výžive by znamenalo nielen racionálne využitie zdroja hodnotných bielkovín a komplexné krytie potreby nevyhnutných živín, ale aj zabezpečenie nezanedbateľného príjmu polyfenolických látok potravou, čo môže byť jednou z ciest prevencie moderných civilizačných ochorení našej populácie.

ZÁVER

Hodnoteným objektom výskumu boli odrody hrachu siateho v plnej zrelosti. Môžeme konštatovať, že zelenosemenné odrody hrachu majú vyšší obsah flavonoidov ako žltosemenné odrody hrachu. Medzi oboma typmi hrachov však existujú niektoré významné rozdiely, napr. v obsahu daidzeínu, ktorý sa vyskytuje vo významne vyšších koncentráciách v zelenosemenných odrodách ako žltosemenných odrodách. Naopak, koncentrácia kemferolu, ako dominantného flavonoidu slovenských strukovín, bola vyššia u analyzovaných žltých odrôd hrachu. Zo stanovenej sumy obsahu flavonoidov vyplýva, že najbohatšími zdrojmi boli odrody Jadeit spomedzi zelených a odroda Xantos spomedzi žltých hrachov. Kvalita semien hrachu siateho bola sledovaná aj vo vťahu k dobe skladovania strukovín v prirodzených podmienkach. Najradikálnejší pokles hodnôt bol zaznamenaný v prípade genisteínu a apigenínu, ktorých obsahy neboli detegované už po 5 mesiacoch skladovania. Genetická príbuznosť (polohové izoméry) oboch flavonoidov by mohla byť vysvetlením analogického správania sa genisteínu a apigenínu, a to nielen v tvorbe nižšieho množstva v semenách hrachov, ale aj ich významnej degradácii. Všeobecne stanovený

LITERATÚRA

- BENINGER, C. W., HOSFIELD, G. L., BASSETT, M. J. 1999. Flavonoid composition of three genotypes of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) differing in seedcoat color. In *Journal of the American Society for Horticultural Science*, vol. 124, 1999, no. 5, p. 514-518.
- BILBAO, T., HAMPE, S., SMITH, R. A., PUERTA, F., LEDESMA, L. 2000. Presence of natural antinutrients and toxins red beans and pea during storage at ambient. In *Alimentaria*, 314, 2000, p. 147-150.
- DUEÑAS, M., ESTRELLA, I., HERNANDEZ, T. 2004. Occurrence of phenolic compounds in the seed coat and the cotyledon of peas (*Pisum sativum* L.). In *European Food Research and Technology*, vol. 219, 2004, no. 2, p. 116-123.
- HEMPEL, J., BOHM, H. 1996. Quality and quantity of prevailing flavonoid glycosides of yellow and green French bean. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 44, 1996, no. 8, p. 2114-2116.
- KALOGEROPOULOS, N., CHIOU, A., IOANNOU, M., HASSAPIDOU, M., KARATHANOS, VT., ADRIKOPOULOS, NK. 2010. Nutritional evaluation and bioactive microconstituents (phytosterols, tocopherols, polyphenols, triterpenic acids) in cooked dry legumes usually consumed in the Mediterranean countries. In *Food Chemistry*, vol. 121, 2010, p. 682-690.
- LACHMAN, J., HAMOUZ, K., ORSÁK, M. 2005. Červeně a modře zbarvené brambory. Významný zdroj antioxidantů v lidské výživě. In *Chemické listy*, vol. 99, 2005, no. 6, p. 474-482.
- MAGÁLOVÁ, T. 1999. Výživa a nádorové ochorenia ženského prsníka. In *Bratisl. Lek. Listy*, vol. 100, 1999, no. 9, p. 503-514.
- TROSZYNSKA, A., ESTERELLA, I. LOPEZAMORES, L., HERNANDEZ, T. 2002. Antioxidants activity of pea seed coat acetone extract. In *Lebensmittel, Wissenschaft und Technologie*, vol. 35, 2002, no. 2, p. 154-158.
- TROSZYNSKA, A., AMAROWICZ, R., LAMPARSKI, G., WOLEJSZO, A., BARYLKO-PIKIELNA, N. 2006. Investigation of astringency of extracts obtained from selected tannins-rich legume seeds. In *Food Quality and Preference*, vol. 17, 2006, p. 31-35.
- WANG, G., MURPHY, P. 1990. A simplified HPLC methods for the determination of phytoestrogens in soybean and its processed products. In *J. Agric. Food Chem.*, 38, 1990, p. 185-190.

Kontaktná adresa:

Ing. Mária Timoracká, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra, Slovakia, e-mail: maria.timoracka@uniag.sk.

doc. RNDr. Alena Vollmannová, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra, Slovakia, e-mail: alena.vollmannova@uniag.sk.

DETERMINATION OF ACRYLAMIDE IN FOOD BY GAS AND LIQUID CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY*Miriam Vlčáková, Michaela Vieriková***ABSTRACT**

Acrylamide in food was determined by gas chromatography – mass spectrometry (GC-MS) after bromination of acrylamide and underivatized acrylamide was quantified by ultra performance liquid chromatography–mass spectrometry (UPLC-MS). Two different sample preparation methods were used and optimised. The GC-MS method was used for various food matrices like breads, potato crisps, potato crackers, french fries. The UPLC-MS method was used for analysis of coffee. The limit of detection and limit of quantification for acrylamide were $7 \mu\text{g.kg}^{-1}$ and $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$ by GC-MS, $9 \mu\text{g.kg}^{-1}$ and $30 \mu\text{g.kg}^{-1}$ by UPLC-MS. For both methods the reproducibility, given as relative standard deviation was $< 5\%$, and the recovery was close to 100 %

Keywords: acrylamide, food, LC-MS

ÚVOD

Akrylamid ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CONH}_2$, 2-propénamid) je tuhá biela kryštalická látka bez vône s relatívnou molekulovou hmotnosťou 71,08. Teplota topenia akrylamidu: $84,5 \pm 0,3^\circ\text{C}$, teplota varu: 136°C pri 3,3 kPa/25 mm Hg. Je rozpustný vo vode, acetóne a etanole, má vysokú mobilitu v pôde a podzemných vodách. Akrylamid je difunkčný monomér – obsahuje reaktívnu elektrofilnú dvojitzú väzbu a amidovú skupinu. Je silný chromofór pre UV detekciu, má vlastnosti slabšej kyseliny aj zásady.

Akrylamid môže byť prítomný v životnom prostredí ako dôsledok antropogénnych ale aj prirodzených procesov. Má široké použitie vo vedeckom výskume, kde sa využíva jeho schopnosť selektívne modifikovať SH-skupiny v štruktúrnych a funkčných proteínoch (Eriksson, 2005). Na priemyselné účely sa akrylamid syntetizuje hydratáciou akrylonitrilu a používa sa na výrobu polyakrylamidu (EPA, 1996).

Akrylamid sa nepridáva do potravín v žiadnej forme. Jeho prítomnosť v potravinách môže byť zapríčinená kontamináciou z vonkajšieho prostredia alebo vzniká počas tepelnej úpravy potravín. Stopové množstvá akrylamidu v potravinách je možné zistiť po použití akrylamidových polymérov alebo kopolymérov počas technologického spracovania potravín alebo ako dôsledok ich použitia v obaloch na potraviny.

Obsah zvyškového akrylamidu je limitovaný v aditívnych látkach, vo vode na oplachovanie ovocia a zeleniny, v papierových obaloch na potraviny aj v modifikovanom škrobe. Tieto zdroje vysvetľujú prítomnosť akrylamidu vo väčšine potravín v koncentráciách zhruba $15\text{--}350 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Vysoké koncentrácie akrylamidu (až do $12\,000 \mu\text{g.kg}^{-1}$) boli zistené najmä v tepelne spracovaných potravinách. Ide o potraviny upravované pri teplotách vyšších ako 120°C , pečením, smažením, grilovaním alebo mikrovlnným ohrevom, obsahujúce zároveň proteíny a sacharidy.

K vzniku akrylamidu v potravinách dochádza počas tepelného spracovania potravín. Za hlavný mechanizmus jeho vzniku je všeobecne považovaná reakcia medzi voľnou geneticky kódovanou neesenciálnou aminokyselinou asparagínom a karbonylovými zlúčeninami (Mottram et al., 2002; Becalski et al., 2003; Stadler et al., 2003; JIFSAN, 2004) ako súčasť

Maillardovej reakcie, ktorá patrí medzi najvýznamnejšie a najrozšírenejšie chemické reakcie počas skladovania a spracovania potravín.

Akrylamid je podľa Medzinárodnej agentúry pre výskum rakoviny IARC klasifikovaný v skupine 2A ako pravdepodobne karcinogénny pre ľudí. U ľudí bol potvrdený neurotoxický účinok.

Prehľady používaných stanovení akrylamidu boli viackrát publikované vo forme review (Wenzl et al., 2004; Castle et Eriksson, 2005; Zhang et al., 2005). Najpoužívanějšími technikami stanovenia sú plynová a kvapalinová chromatografia.

Akrylamid možno bromáciou na dvojitzú väzbu skonvertovať na 2,3-dibromopropionamidu a ten následne stanoviť pomocou plynovej chromatografie s detektorom elektrónového zachytu (GC ECD) alebo plameňovo ionizačného detektora (GC FID) (Tekel et al., 1989). Debromináciou 2,3-dibromopropionamidu možno získať stabilnejší 2-bromopropénamid a ten následne stanoviť pomocou GC ECD a GC FID (Andrawes et al., 1987; Martin et al., 1990). Akrylamid je možné stanoviť po bromácii alebo na priamo technikou plynovej chromatografie v spojení s hmotnostnou spektrometriou (GC MS) (Biedermann et al., 2002; Tateo et Bononi, 2003; Matthäus et al., 2004; Ciesarová et al., 2004).

Vzhľadom na to, že akrylamid neposkytuje špecifické absorpčné maximá pri stanovení pomocou DAD detekcie, spravidla sa analyzuje v oblasti pod 200 nm , kde je značné množstvo interferentov, je možné jeho stanovenie bez bromácie len pri vyšších koncentráciách (Skelly et al., 1978; Husser, 1978; Shanker et al., 1990; Ver Vers, 1999). Po bromácii je možné stanovenie aj nižších koncentrácií (Brown and Rhead, 1979; Brown et al., 1982). Najpoužívanjšou technikou je kvapalinová chromatografia s hmotnostnou spektrometriou. Na analýzu nie je príliš vhodná reverzno-fázová chromatografia, nakoľko akrylamid sa na tomto type fáz nezadržiava. Zo stacionárnych fáz sa využívajú: C18 – hydrophylic end capping – Aquasil C18, (Becalski et al., 2003; Becalski et al., 2004), 100 % porous graphitic carbon - Hypercarb® (Ahn et al., 2002; Rosém et al., 2002; Becalski et al., 2003; Leung et al., 2003), C18 with polar end capping – Synergi™ Hydro-RP (Roach et al., 2003, Andrzejewski et al., 2004). Po separácii sa eluát analyzuje hmotnostným

spektrometrom ionizácia elektropray positive (Ahn et al., 2002; Gutsche et al., 2002; Rosém et al., 2002, Becalski et al., 2003; Hartig et al., 2003; Leung et al., 2003; Ono

et al., 2003; Riediker & Stadler, 2003; Roach et al., 2003; Andrzejewski et al., 2004; Granby & Faght, 2004; Hoenicke, et al. 2004b; Shis et al., 2004).

MATERIÁL A METÓDY

GC-MS/MS

Do odmerného valca sa naváži zhomogenizovaná vzorka. Pridá sa vnútorný štandard D₃ akrylamid a redistilovaná voda a 10 minút sa mixuje na Ultraturaxe. Obsah sa prenesie do polypropylénovej centrifugačnej skúmavky a 10 min sa centrifuguje pri 23 000 x g. Supernatant sa prefiltruje cez filter Whatman GF/A. Pridá sa KBr, ktorý miešaním rozpustíme. Upraví sa pH na 1-3 koncentrovaným HBr, potom sa pridá nasýtená brómová voda a zamieša sa. Vzorka sa vloží do ľadového kúpeľa v tme a nechá sa reagovať 1 hodinu. Prebytok brómu sa odstráni pridaním 1M Na₂S₂O₃ .H₂O opatrne po kvapkách až do odfarbenia. Pridá sa vyžíhaný Na₂SO₄ krúživým pohybom sa opatrne zamieša tak, aby vzniknutá zrazenina ostala neporušená. Roztok sa prevedie do 250ml deliaceho lievika a extrahuje sa 2x octanom etylnatým. Organická fáza sa presuší cez vrstvu bezvodého Na₂SO₄ a filter sa premyje octanom etylnatým. Spojené organické fázy sa odparia na RVO a do sucha sa dofúkajú dusíkom. Reziduá sa rozpustia v octane etylnatom. Takto pripravené reziduá vzoriek sú injektované „on column“ do GC/MS/MS systému. Teplotný program kolóny CP Sil 24 CB LOW BLEED/MS izotermicky 2min. pri 55 °C, potom 17,5 °C /min. do 220 °C, držať pri 220 °C 2min., 30 °C/min. do 270 °C a izotermicky 3 min. Teplotný program injektora 0,2min. pri 65 °C, potom 150 °C/min. do 220 °C, izotermicky 10min. 220 °C a schlaďiť na 65 °C. Nástrek je 1µl. Analýza je prevedená použitím elektrónovej ionizácie 70 eV a selektívneho iónového monitoringu. Pri identifikácii analytov sa sledujú parent ióny a pri kvantifikácii analytov produkt ióny podľa tabuľky 1.

Tabuľka 1 Parametre nastavenia iónov akrylamidu a vnútorného štandardu akrylamidu D₃

Analyt	Rodičovský ión (m/z)	RT (min.)	Segment	Dcérsky ión (m/z)	CID RF (m/z)	CID Volt (V)
Akrylamid	152	11,08	2	135, 109	48	20
Akrylamid D ₃	155	11,08	2	137	48	20

m/z – molekulová hmotnosť, RT – retenčný čas, CID – separácia indukovaná kolíziou, RF – rezonančná frekvencia

UPLC-MS/MS

Do odmernej banky sa naváži zhomogenizovaná vzorka. Pridá sa deionizovaná voda. Pretrepe sa a umiestni na ultrazvuk na 10 min. Počas trepania sa pridá 2ml Carez I.

a 2 ml Carez II. Umiestni sa na vodný kúpeľ s teplotou 60°C na 10 min. Nechá sa ochlaďiť. Pridá sa acetonitril a hexán. Zatvorí sa, pretrepe a umiestni na 10 min. na ultrazvuk. Prefiltruje sa cez filtračný papier Watman 5 do odmerného valca.

Príprava sklenenej kolóny: Do spodnej časti kolóny sa umiestni vata. Kolóna sa naplní hydromatrixom. Na kolónu sa nanesie výluh. Nechá sa postáť 15 min. Eluuje sa octanom etylnatým. Odparí na RVO. Dofúka sa dosucha pod prúdom dusíka. Reziduá sa rozpustia v 1 ml vody. Cez sklenený lievik, v ktorom je umiestnená sklená vata, sa preleje do vialiek. Takto pripravené reziduá vzoriek sú injektované do UPLC/MS/MS systému. Na analýzu akrylamidu a vnútorného štandardu D₃ akrylamid sa použije chromatografická kolóna : Waters Acquity UPLC BEH C18 1,7 µm, 2,1 x 100 mm teplota: 30 °C, prietok: 0,3 ml/min., eluent: A- 0,1 % kyselina mravčia, B- 0,1 % kyselina mravčia v acetonitrile.

Na kvantifikáciu akrylamidu bola použitá metóda UPLC/MS/MS s elektropray ionizáciou v pozitívnom móde. Akrylamid je identifikovaný selektívnym reakčným monitoringom (SRM). Monitorované tranzície sú v tabuľke 2.

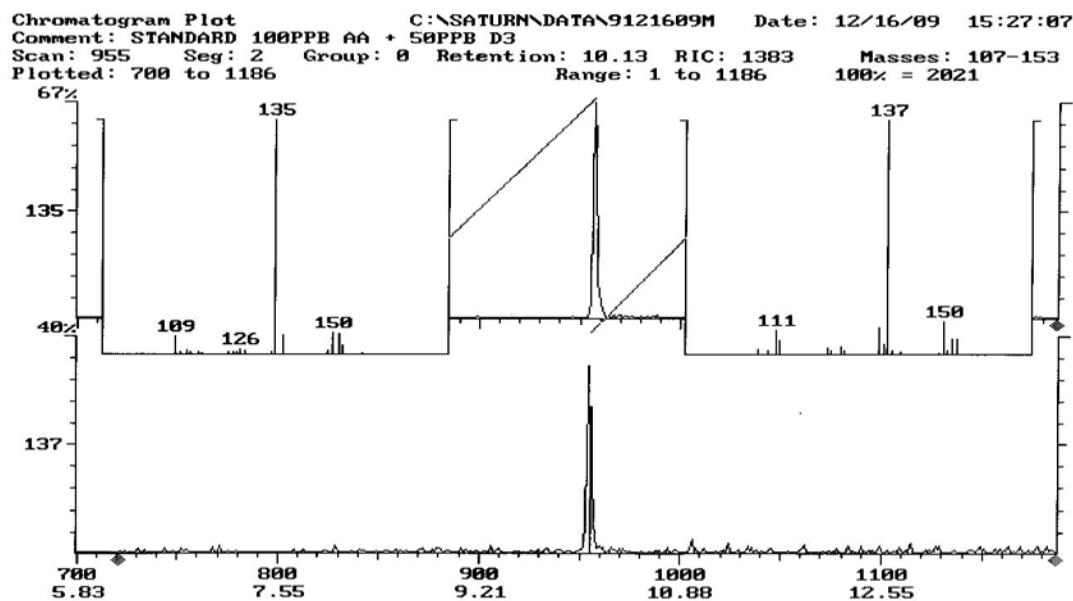
Tabuľka 2 Tranzície štandardu akrylamidu a vnútorného štandardu akrylamidu D₃

Analyt	RT (min.)	Rodičovský ión (m/z)	Dcérsky ión (m/z)	Napätie na kapiláre (V)	Kolízna energia (eV)
Akrylamid	1,18	71,8	54,8	18	9
Akrylamid D ₃	1,17	74,7	57,7	22	11

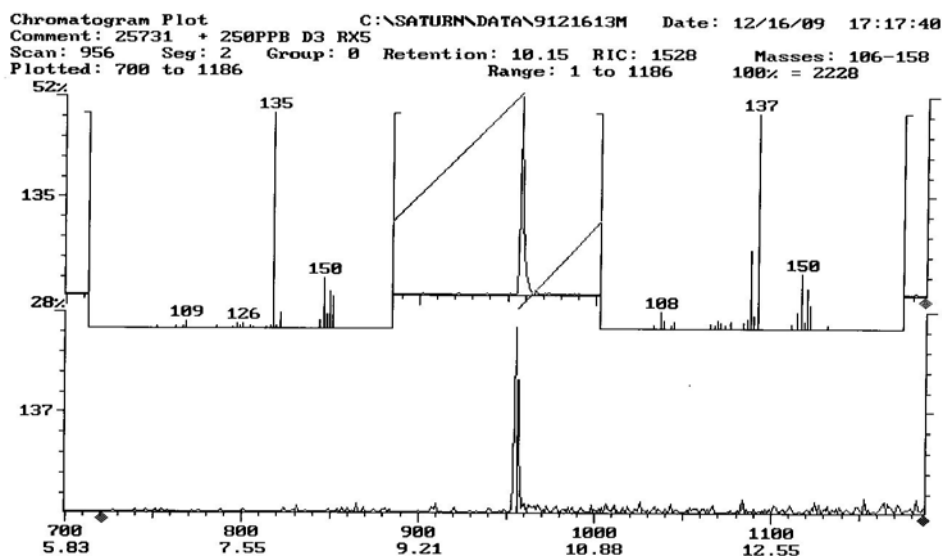
m/z – molekulová hmotnosť, RT – retenčný čas, CID – separácia indukovaná kolíziou, RF – rezonančná frekvencia

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Akrylamid v potravinách bol stanovený plynovou chromatografiou s hmotnostnou detekciou (GC-MS) po bromácií akrylamidu a nederivatizovaný kvapalinovou chromatografiou s hmotnostnou detekciou (UPLC-MS). GC-MS metóda bola použitá pre rôzne potravinové matrice ako sú chlieb, zemiakové lupienky, zemiakové hranolky, zemiakové kreky. Chromatografický záznam štandardu akrylamidu (koncentrácia 100 µg.l⁻¹) a vnútorného štandardu akrylamidu D₃ (koncentrácia 50 µg.l⁻¹) je na obrázku 1 a vzorky – sušienky – s obsahom akrylamidu 405 µg.kg⁻¹ na obrázku 2. Bromácia akrylamidu má výhodu v tom, že vzniká viac prchavá zlúčenina, ktorá zvyšuje selektivitu stanovenia.



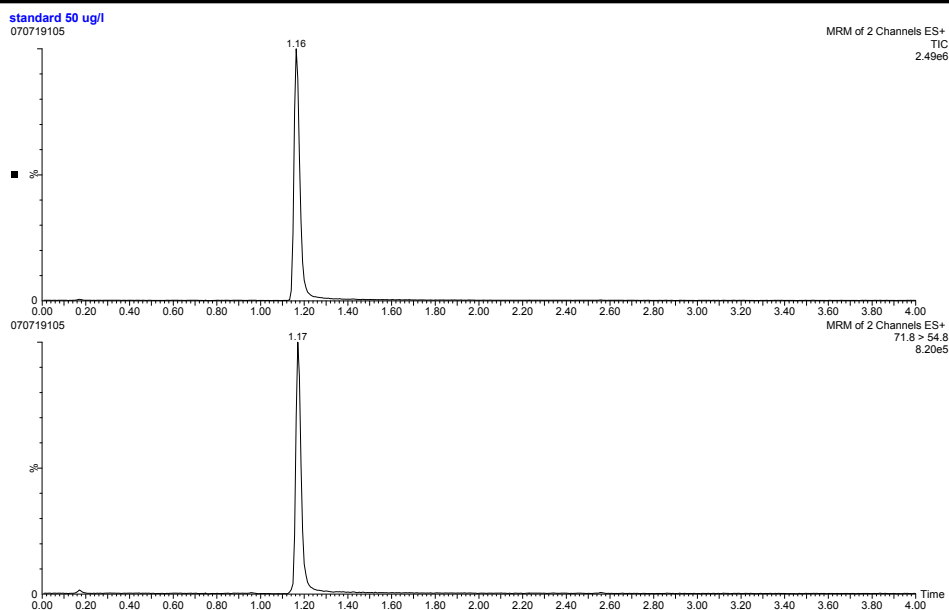
Obrázok 1 Chromatografický záznam štandardu akrylamidu (koncentrácia $100 \mu\text{g.l}^{-1}$) + vnútorného štandardu akrylamidu D_3 (koncentrácia $50 \mu\text{g.l}^{-1}$) na kolóne Sil 24 CB LOW BLEED/MS, 30 m x 0,25 mm, GC-MS-MS metóda, positive EI mode, MRM



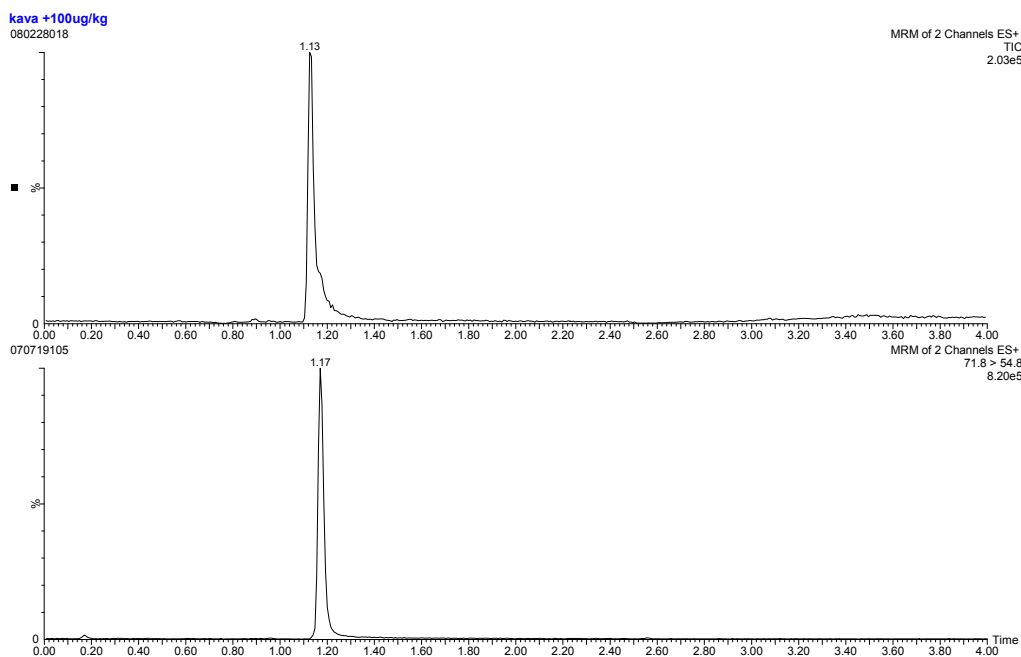
Obrázok 2 Chromatografický záznam vzorky - sušenky s obsahom akrylamidu $405 \mu\text{g.kg}^{-1}$, na kolóne Sil 24 CB LOW BLEED/MS, 30 m x 0,25 mm, GC-MS-MS metóda, positive EI mode, MRM

Metóda UPLC-MS bola použitá na stanovenie akrylamidu v káve z dôvodu problematického stanovenia metódou GC-MS, kde bola pozorovaná značná iónová supresia v retenčnom čase akrylamidu. Metóda UPLC-MS bola použitá pre stanovenie akrylamidu nielen v káve, ale aj

v iných potravinových matriciach. Chromatografický záznam štandardu akrylamidu (koncentrácia $50 \mu\text{g.l}^{-1}$) a vnútorného štandardu akrylamidu D_3 (koncentrácia $50 \mu\text{g.l}^{-1}$) je na obrázku 3 a vzorky – káva – s obsahom akrylamidu $405 \mu\text{g.kg}^{-1}$ na obrázku 4.



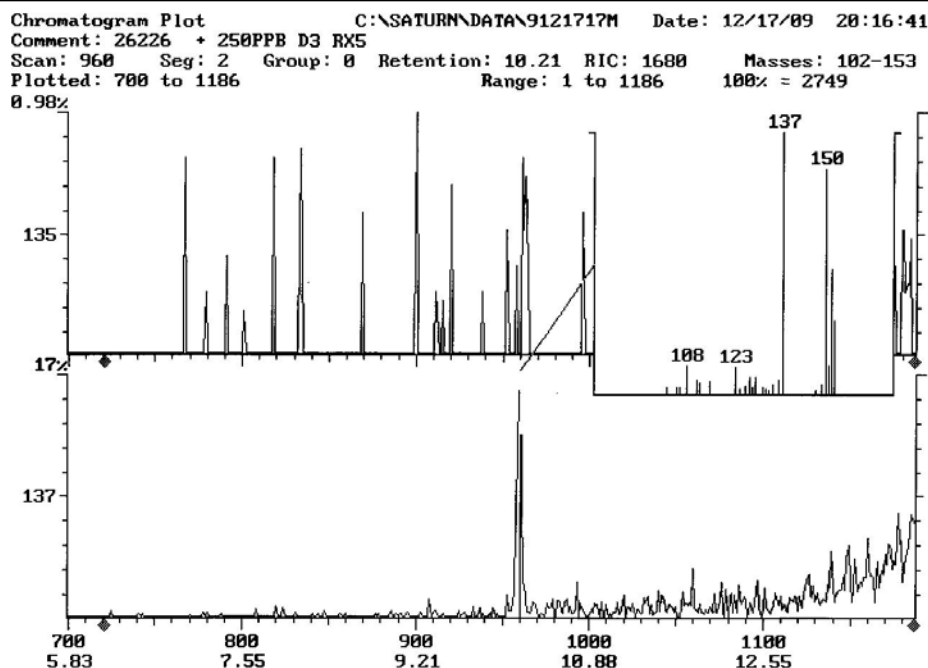
Obrázok 3 Chromatografický záznam štandardu akrylamidu (koncentrácia $50 \mu\text{g.l}^{-1}$) + vnútorného štandardu akrylamidu D_3 (koncentrácia $50 \mu\text{g.l}^{-1}$) na Acquity UPLC BEH C_{18} kolóne použitím gradientovej UPLC-MS-MS metódy, flow-rate $0,3\text{ml.min}^{-1}$, positive ESI mode, MRM.



Obrázok 4 Chromatografický záznam kávy fortifikovanej akrylamidom ($100 \mu\text{g.kg}^{-1}$), na Acquity UPLC BEH C_{18} kolóne použitím gradientovej UPLC-MS-MS metódy, flow-rate $0,3\text{ml.min}^{-1}$, positive ESI

Vďaka selektivite, ktorú ponúka MS-MS, môžeme pozorovať minimum interferencií. Dvadsať negatívnych vzoriek bolo analyzovaných pre overenie interferujúcich

píkov v oblasti, v ktorej sme očakávali elúciu akrylamidu. Chromatografický záznam negatívnej vzorky je na obrázku 5.



Obrázok 5 Chromatografický záznam negatívnej vzorky , na kolóne Sil 24 CB LOW BLEED/MS, 30 m x 0,25 mm, GC-MS-MS metóda, positive EI mode, MRM

Metóda GC-MS ako aj UPLC-MS bola validovaná podľa Rozhodnutia Komisie 2002/657/ES s implementáciou Smernice Rady 96/23/ES pre výkon analytických metód.

Počas troch rokov monitoringu bolo analyzovaných 293 vzoriek pochádzajúcich zo slovenskej obchodnej siete a

výroby. Najvyšší obsah akrylamidu bol zistený v zemiakových lupienkoch $4180 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Naopak najnižšie obsahy boli zaznamenané vo vzorkách chleba $12 \mu\text{g.kg}^{-1}$ a vo vzorke detské piškóty $14 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Výsledky analýz sú uvedené v tabuľke 3.

Tabuľka 3 Výsledky monitoringu akrylamidu

komodita	Počet vzoriek	Priemerná hodnota akrylamidu ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	Maximálna hodnota akrylamidu ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)
Zemiakové lupienky	71	470	4108
Zemiakové hranolky	25	234	1406
Chlieb	42	12	61
Detské piškóty	22	14	43
Sušienky	28	559	2650
Raňajkové cereálie	19	50	270
Zrnková káva	19	246	361
Instantná káva	14	386	761
Kávovinové náhradky	13	1949	3976
Iné výrobky	40	30	494

ZÁVER

Na stanovenie akrylamidu v potravinách sa využívajú dve analytické techniky GC-MS a UPLC-MS. Metóda GC-MS zahŕňa extrakciu vodou, bromáciu na dvojité väzby akrylamidu a extrakciu octanom etylatým. Metóda

UPLC-MS extrakciu vodou, prečistenie metódou SPE, a HPLC kolóne s reverznou fázou. Metódy boli použité na stanovenie akrylamidu vo vzorkách potravín pochádzajúcich zo slovenskej obchodnej siete a výroby.

LITERATÚRA

AHN, J. S., CASTLE, L., CLARKE, D. B., LLOYD, A. S., PHILO, M. R., SPECK, D. R. 2002. Verifications of the findings of acrylamide in heated foods. In *Food Additives and Contaminants*, vol. 19, 2002, no. 12, p. 1116-1124.

ANDRAWES, F., GREENHOUSE, S., DRANEY, D. 1987. Chemistry of acrylamide bromination for trace analysis by gas

chromatography – mass spectrometry. In *J. Chromatogr.* 1987, no 399, p. 269-275.

ANDRZEJEWSKI, D., ROACH, J.A. G., GAY, M. L., MUSSER, S. M. 2004. Analysis of coffee for the presence of acrylamide by LC-MS/MS. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 52, 2004, no. 7, p.1996-2002.

BIEDERMANN, N., BIEDERMANN-BREM, S., NOTI, A.- GROB, K., EGLI, P., MÄNDLI H. 2002 Two GC-MS

methods for the analysis of acrylamide in foods. In *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*, vol. 93, 2002, no 6, p. 638-652.

BECALSKI, A., LAU, B. P. Y., LEWIS, D., SEAMAN, S. W. 2003. Acrylamide in foods: Occurrence, sources, and modelling. In *J. Agr. Food Chem.*, vol. 51, 2003, no 3, p. 802-808.

BECALSKI A., LAU, B. P. Y., LEWIS, D., SEAMAN, S. W., HAYWARD, S., SAHAGIAN, M., RAMESH, M., LECLERC, Y. 2004. Acrylamide in French fries: Influence of free amino acids and sugars. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 52, 2004, p. 3801-3806.

BROWN, L., RHEAD, M. 1979. Liquid chromatographic determination of acrylamide monomer in natural and polluted aqueous environments. In *The Analyst*, vol. 1979, p. 391-399.

BROWN, L., RHEAD, M., HILL, D., BANCROFT, K. C. 1982. Qualitative and quantitative studies on the in situ adsorption, degradation and toxicity of acrylamide by the spiking of the waters of two sewage works and a river. In *Water Research*, vol. 16, 1982, p. 579-591.

CASTLE, L., ERIKSSON, S. 2005. Analytical methods used to measure acrylamide concentrations in foods. In *Journal of AOAC International*, vol. 88, 2005, no 1, p. 274-284.

CIESAROVÁ, Z., BALASOVÁ, V., KISS, E., KOLEK, E., ŠIMKO, P., KOVÁČ, M. 2004. Comparison of two methods of acrylamide determination and dietary intake of acrylamide from potatoes crisps. In *Czech J. Food Sci.* issue 22 (special issue), 2004, p. 251-254.

ERIKSSON, S. 2005. Acrylamide in food products: Identification, formation and analytical methodology, Akademický: Stockholm, Sweden, 2005; 1-58.

EUROPEAN LEGISLATION: Commission Decision 2002/657/EC.

EPA – Method 8032A, Acrylamide by Gas Chromatography, December 1996.

GUTSCHE, B., WEIBHAAR, R., BUHLERT J. 2002. Acrylamid in Lebensmitteln-Ergebnisse aus der amtlichen Lebensmittelüberwachung Baden-Württembergs. In *Deut. Lebensm-Rundsch.*, vol. 98, 2002, p. 437-443.

GRANBY, K., FAGHT, S. 2004. *Analysis of acrylamide in coffee and dietary exposure to acrylamide from coffee*. In *Analytica Chimica Acta*, 2004. vol. 520, p.177-182.

HARTIG, L., HUMMERT, C., BUHLERT, J., VON CZAPIEWSKI, K., SCHREIBER, A. Detection of acrylamide in starch – enriched food with HPLC/MS/MS. Applied Biosystems Application Note No 02.

HOENICKE, K., GATERMANN, R., HARDER, W., HARTIG, L. 2004. Analysis of acrylamide in different foodstuffs using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and gas chromatography – tandem mass spectrometry. In *Analytica Chimica Acta*, vol. 520, 2004, p. 207-215.

JIFSAN: 2004 Acrylamide in food Workshop, Chicago, April 2004.

LEUNG, K. S., LIN, A., TSANG, C. K., YEUNG S. T. K. 2003. Acrylamide in Asian foods in Hong Kong. In *Food Addit. Contam.* vol. 20, 2003, no. 12, 1105-1113.

MARTIN, E., SAMEC, J., VOGEL, J. 1990. Détermination de l'acrylamide dans l'eau par chromatographie en phase gazeuse (GC). In *Travaux de Chimie Alimentaire et d'Hygiène*, vol. 81, 1990, p. 327-330.

MATTHÄUS, B., HAASE, N. U., VOSMANN, K. 2004. Factors affecting concentration of acrylamide during deep-fat frying of potatoes. In *Eur. J. Lipid Sci. Tech.* vol. 106, 2004, p. 793-801.

MOTTRAM, D. S., WEDZICHA, B. L., DODSON, A. T. 2002. Acrylamide is formed in the Maillard reaction. In *Nature*, vol. 419, 2002, p. 448-449.

ONO, H., CHUDA, Y., OHNISHI-KAMEYAMA, M., YADA, H., ISHIZAKA, M., KOBAYASHI, H., YOSHIDA, M. 2003. Analysis of acrylamide by LC-MS/MS and GC/MS in processed Japanese Foods. In *Food Addit. Contam.*, vol. 20, 2003, no. 3, p. 215-220.

RIEDIKER, S., STADLER, R. H. 2003: Analysis of acrylamide in food by isotope-dilution liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry. In *Journal of Chromatography A*, vol. 1020, 2003, issue 1, p.121-130.

ROSÉN, J., HELLENÄS, K. E. 2002. Analysis of acrylamide in cooked foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry. In *Analyst*, vol. 127, 2002, no 7, p. 880-882.

ROACH, J. A. G – ANDRZEJEWSKI, D., GAY, M. L., NORTRUP, D., MUSSER, S. M., RUGGED. 2003 LC-MS/MS survey analysis for acrylamide in foods. In *J. Agr. Food Chem.*, vol. 51, 2003, no 26, p. 7547-7554.

SHANKER, R., RAMAKRISHNA, C., SETH, P. K. 1990. Microbial degradation of acrylamide monomer. In *Arch. Microbiol.*, vol. 154, 1990, p. 192-198.

SHIS, F. F., BOUÉ, S. M., DAIGLE, K. W., SHIS, B. Y. 2004. Effect of flour sources on acrylamide formation and oil uptake in fried batters. In *Journal of the American oil Chemists Society*, vol. 81, 2004, no 3, p. 265-268.

STADLER, R. H., VERYEGNASSI, L., VARGA, N., GRIGOROV, M., STUDER, A., RIEDIKER, S., SCHILTER, B. 2003. Formation of vinyllogous compounds in model Maillard reaction systems. In *Chemical Research and Toxicology*, vol. 16, 2003, p.1242.

TATEO, F., BONONI, M. 2003. Preliminary study on acrylamide in baby foods on the Italian market. In *Ital. J. Food Sci.* vol. 15, 2003, no. 4, p. 593-599.

TEKEL, L., FARKAŠ, P., KOVÁČ, M. 1989. Determination of acrylamide in sugar by capillary GLC with alkali flame – ionization detection. In *Food Addit. Contam.*, vol. 6, 1989, p. 377-381.

WENZL, T., MUSSER, S., ULBERTH, F., ANKLAM, E. 2004. Detailed report on the second European inter-laboratory comparison study on the determination of acrylamide in food – Acrylamide in crispbread samples. In EUR 21272 EN, 2004, 49 pp.

VER VERS, L. M. 1999. Determination of acrylamide monomer in polyacrylamide degradation studies by high-performance liquid chromatography. In *J. Chromatogr. Sci.*, vol. 37, 1999, p. 486-494.

ZHANG, Y., ZHANG, G., ZHANG, Y. 2005. Occurrence and analytical methods of acrylamide in heat-treated foods Review and recent developments. In *Journal of Chromatography A*, vol. 1075, 2005, p. 1-21.

Kontaktná adresa:

Ing. Miriam Vlčáková, State Veterinary and Food Institution, Janoškova 1611/58, 026 01 Dolný Kubín, Slovakia, E-mail: vlcakova@svpu.sk.

RNDr. Michaela Vieriková, State Veterinary and Food Institution, Janoškova 1611/58, 026 01 Dolný Kubín, Slovakia, E-mail: vierikova@svpu.sk.

INFLUENCE OF SOFT MEAT PRODUCTS STORAGE ON THEIR MICROBIOLOGICAL SAFETY

Lucia Zeleňáková, Kristína Kulichová, Jana Kopčeková

ABSTRACT

The aim of the topic was to analyze the microbiological quality of soft meat products (ham sausage) in relation to the retention period. We focused on the determination of total count of microorganisms, *Enterobacteriaceae* and coliforms. The results shown that the strongest growth of microorganisms was recorded at the 21st storage day of ham at 2 to 6 °C. It is essential to keep the cold chain and to comply with the requirements set by the manufacturer.

Keywords: microbiological safety, soft meat products, total count of microorganisms

ÚVOD

Mäso ako potravina znamená v užšom slova zmysle čerstvé alebo upravené časti kostrového svalstva teplokrvných zvierat, v širšom slova zmysle sem patria aj orgány, mäsové výrobky a údeniny a vlastne aj skryté tuky (Hrubý, 2001).

Podľa Nariadenia Európskeho parlamentu a rady (ES) č. 853/2004 mäso predstavujú jedlé časti zvierat vrátane krvi. Všetko mäso vrátane mletého mäsa a mäsových prípravkov, použité na výrobu mäsových výrobkov musí spĺňať požiadavky na čerstvé mäso.

Mäso je významnou zložkou našej dennej stravy. Celkovo je mäso zdrojom plnohodnotných bielkovín, minerálnych látok a vitamínov skupiny B, hlavne B₁₂ (Ingr, 2002; Valsta, Tapanainen a Männistö, 2005; Scollan, Hocquette a Nuernberg, 2006). Rozdelenie mäsa na červené a biele nie je príliš objektívne, je skôr symbolické. Farba mäsa (svetlosť, intenzita, odtieň a tón) je vlastnosť mäsa veľmi premenlivá. Hlavnou príčinou farebného prejavu mäsa je jeho obsah prirodzených farbív – myoglobínu (asi 90 %), hemoglobínu (asi 10 %) a oxidoredukčných enzýmov (Ingr, 2002).

Podľa Pipeka (1995) sú okrem mäsa dôležitou zložkou stravy človeka aj mäsové výrobky, ktorých výroba má veľmi starú históriu. Zo začiatku to bolo nasolené mäso, drobenie a miešanie so zmesami bylín. V súčasnosti je výroba mäsových výrobkov najrozsiahljšou a najzložitejšou fázou opracovania čerstvého mäsa.

V zmysle Výnosu MP a MZ SR č. 1895/2004-100 sa mäsový výrobok definuje ako výrobok pripravený z mäsa alebo s mäsom, ktorý bol podrobený takému ošetrovaniu, že povrch jeho rezu ukazuje, že tento výrobok nemá vlastnosti čerstvého mäsa. Podľa uvedeného Výnosu je sortiment mäsových výrobkov rozdelený do nasledovných skupín: mäkké mäsové výrobky, trvanlivé mäsové výrobky, varené mäsové výrobky, pečené mäsové výrobky, solené mäsa, mäsové polokonzervy a mäsové konzervy, ostatné mäsové výrobky.

Mäsové výrobky sú väčšinou z nutričného hľadiska menej vhodné potraviny ako chudé mäsa, snád s výnimkou šunky. Je to spôsobené tým, že väčšina týchto výrobkov má vysoký obsah tuku, napr. v tirolskej saláme je pomer bielkoviny: tuky=1:4, u špekačiek 1:3 a málokedy tento pomer klesne pod hodnoty 1:2 (v šunkovej saláme je 1:1, v šunke 3:1). Druhou nevýhodou údenárskych výrobkov je vysoký obsah soli. Tá má síce na jednej strane určité konzervačné účinky, takže zvyšuje trvanlivosť, navyše má schopnosť udržať pridanú vodu,

čím sa môže zlepšiť chuť výrobkov, ale práve soľ je príčinou vysokého príjmu sodíka, ktorý je vysoko rizikový hlavne pre možnosti vzniku hypertenzie a ochorenia obličiek (Hrubý, 2001). Sheard, Nute a Chappell (1998) sledovali chemické zloženie a energetickú hodnotu mäsových výrobkov pred a po tepelnej úprave. Párky boli smažené a grilované. Počiatočná hmotnosť výrobkov bola 100 g a po tepelnej úprave bola hmotnosť párkov 78 g, obsah tuku klesol z 22 na 17 g a energetická hodnota klesla z 1215 na 1016 kJ.

Z hygienického hľadiska je nevyhnutné zabezpečiť, aby počas celej výroby boli v maximálnej miere eliminované potenciálne riziká kontaminácie či už suroviny alebo hotového výrobku. Balené mäsové výrobky sa skladujú pri teplotách stanovených výrobcom (tab. 1). Tiež doba údržnosti, doba spotreby, prípadné záručná doba sú stanovené výrobcom a musia byť uvedené na obaloch (Staruch, 2009).

V súčasnosti je mikrobiologická bezpečnosť potravín v pozornosti konzumentov a potravinárskych odvetví. *Escherichia coli* a koliformné baktérie sú monitorované ako mikrobiologický indikátor hygienickej kvality vody alebo ako hlavný indikátor hygienických podmienok v prostredí spracovania potravín. Detekcia týchto baktérií je bežnou praxou pre potravinárske odvetvia (Feng, Weagant a Grant, 2002).

Tabuľka 1 Odporúčaná doba skladovania mäsa a mäsových výrobkov pri rôznych teplotách domácnosti

Druh mäsa mäsového výrobku	Teplota skladovania výrobkov		
	do 5 °C	do 15 °C	nad 15 °C
Mleté mäso	8 hodinová príprava len pre priamu spotrebu v rovnaký deň		
Mäso v drobných kúskoch, kúskoch	8 hod	2 hod	-
Mäsové karbonátky hotové	12 hod	4 hod	-
Mäkké a varené výrobky	26 hod	2 hod	6 hod
Bravčová masť	3 mesiace	14 dní	3 dni

V niektorých potravinárskych odvetviach boli prijaté kroky na detekciu potravinových patogénnych mikroorganizmov ako *Salmonella sp.*, *Bacillus cereus*

a *Staphylococcus aureus* v potravinách (Hsu a Tsen, 2001).

Mikrobiologická kvalita je určená počtom mikroorganizmov prítomných v potravinách. Ak mikrobiologická záťaž dosiahne určitý limit, potravina je považovaná za pokazenú a nevhodnú na konzumáciu pre ľudí. Prediktívna mikrobiológia sa snaží kvantifikovať rastovú reakciu mikroorganizmov na podmienky prostredia, a preto je to užitočný nástroj na stanovenie mikrobiologickej trvanlivosti potravín (McMeekin et al., 2003).

Životné prostredie patogénov v týchto modeloch je predstavované teplotou, kyslosťou, obsahom solí, ochrannou atmosférou plynov a prítomnosťou konzervačného prostriedku (Malakar, 2000).

Na spoľahlivú, presnú a rýchlu kontrolu mikrobiologickej kvality potravín alebo prostredia potravinárskeho závodu sa používajú rôzne mikrobiologické metódy. Tie musia spĺňať nasledovné kvalitatívne požiadavky: citlivosť, spoľahlivosť, jednoduchosť, presnosť, rýchle vyhodnotenie analýz a cenová dostupnosť.

Golian, Zelenáková a Pavličová (2006) sa zaoberali kontrolou hygieny pri spracovaní mäsa, pričom na detekciu mikroorganizmov (celkový počet mikroorganizmov, čeľaď *Enterobacteriaceae*) aplikovali klasickú sterovú metódu, ako aj metódu 3MTM PetrifilmTM, ktorá patrí medzi nové a vyvíjajúce sa mikrobiologické metódy. Cieľom ich práce bolo odoberať z jednotlivých odberových miest stery a pomocou uvedených metód ich mikrobiologicky analyzovať a hodnotiť. Pre stanovenie CPM odobrali spolu 100 vzoriek a pre stanovenie *Enterobacteriaceae* 80 vzoriek.

Lopašovský, Lagin a Bobková (2008) a Pavličová a Chovanec (2005) použili na kontrolu hygieny tiel jatočných zvierat, ako aj mäsa na bitúnkoch platničky 3MTM PetrifilmTM, ktorými určili prítomnosť koliformných baktérií. Uvedené platničky aplikovali svojom výskume aj Lopašovský a Popelka (2006), ktorí túto mikrobiologickú metódu porovnávali s metódou na báze bioluminiscencie.

MATERIÁL A METÓDY

Cieľom práce bolo analyzovať mikrobiologickú kvalitu mäkkých mäsových výrobkov vo vzťahu k dobe uchovávaní. V zmysle stanoveného cieľa sme sa zamerali na senzoricke i mikrobiologické vyšetrenie kvality šunkovej salámy, ktorá patrí do skupiny mäkkých mäsových výrobkov vyrábaných z bravčového mäsa, podrobených tepelnému ošetreniu a soleniu.

V zmysle uvedeného sme z potravinárskeho podniku počas 5 mesiacov odobrali vzorky rovnakého druhu šunkovej salámy (celé balenie o hmotnosti cca 1 kg), ktoré sme následne na Katedre hygieny a bezpečnosti potravín analyzovali. Mikrobiologickej a senzorickej analýze, zameranej na stanovenie celkového počtu mikroorganizmov, ako aj na prítomnosť koliformných baktérií a enterobaktérií, boli podrobené vzorky v deň výroby (A), následne po 7 (B), 14 (C) a 21 dňoch (D) uchovávaní v chladničke pri teplote 2–6 °C.

Z jednotlivých balení šunkovej salámy sme počas sledovaného obdobia za aseptických podmienok odobrali vzorky o hmotnosti 25 g, ktoré sme následne vložili do 225 ml peptónového roztoku a zhomogenizovali. Takto

Z ich práce vyplynulo, že pri monitorovaní hygieny pracovného prostredia pri väčšom počte odobratých vzoriek je výhodnejšie použiť bioluminiscenčné metódy, lebo vyššie investičné náklady sa v krátkom čas ekonomicky zhodnotia. Použitím platničiek PetrifilmTM sa vynaložia nižšie investičné náklady, zistí sa medzidruhovú špecifikáciu sledovaných mikroorganizmov a výsledky možno získať podľa druhu zisťovaných mikroorganizmov najskôr o 24 hodín.

Význam Petrifilmov spočíva v tom, že zvyšujú efektivitu laboratória, keď redukujú predovšetkým čas potrebný na prípravu médií, prípravu vzoriek, uľahčujú samotnú manipuláciu počas testovania a chránia životné prostredie pri likvidácii použitého materiálu. Vplyv používania Petrifilm platničiek sa tiež prejaví na ekonomike prevádzky, keď umožňuje testovanie prostredia, testovanie medziproduktov počas výroby alebo finálnych výrobkov, zvyšuje efektivitu laboratória, znižuje potreby s narastajúcimi nárokmi a nákladmi laboratória, zvyšuje spoľahlivosť testovania, umožňuje rýchlejšie získanie výsledkov, znižuje množstvá použitého agarového média a tým aj celkové množstvo odpadu, znižuje počet riedení na vzorku a poskytuje jednotné testovanie (Horriere, 2006a). Pripravené kultivačné médium obsahuje vo vode rozpustné gélotvorné činidlo a nutrienty štandardnej metódy (PCA) a tetrazólium ako indikátor pre jednoduchšie odčítanie kolónií. Interpretácia spočíva v odčítaní všetkých červených/ružových kolónií bez ohľadu na rozdiely vo farbe a veľkosti. Metóda je schválená AOAC OMA, AFNOR v súlade s ISO 4833 a NordVal (Horriere, 2006b).

Kozelová et al. (2009) odporúčajú využívanie progresívnejších metód, medzi ktoré patrí aj PCR, ktorá slúži v potravinárskom priemysle na určenie a potvrdenie pôvodu a kvality potravín, ako aj na detekciu mikrobiálnej kontaminácie mäsových výrobkov. V konečnom dôsledku by hlavná pozornosť mala byť sústredená predovšetkým na prevenciu mikrobiologických rizík a tým aj na mikrobiologickú bezpečnosť mäsa a mäsových výrobkov.

sme získali základné riedenie 10⁻¹, z ktorého bola pripravená sada ďalších riedení. Na mikrobiologický rozbor vzoriek sme použili platničky PetrifilmTM a 3MTM PetrifilmTM, ktoré patria medzi certifikované a komerčne dostupné analytické metódy. Po inkubácii vzoriek (30 °C ± 1 °C po dobu 48 ± 2 hod u CPM a 37 °C po dobu 24 hod u koliformných baktérií a enterobaktérií) sme oproti svetelnému zdroju pomocou lupy počítali narastené kolónie, ktoré sme prepočítali na 1 g výrobku.

Pri stanovení metodiky sme vychádzali z Nariadenia komisie (ES) č. 1441/2007, ktorým sa stanovujú mikrobiologické kritériá pre mäso a produkty z neho. V zmysle uvedeného nariadenia je povinnosťou prevádzkovateľa potravinárskeho podniku sledovať kritériá bezpečnosti (*Salmonella*), ako aj kritériá hygieny procesu (celkový počet mikroorganizmov a počet *E. coli*). Treba podotknúť, že hoci stanovenie celkového počtu mikroorganizmov nie je striktne určené pre mäkké mäsové výrobky, zaujímalo nás, aký vplyv na ich mikrobiologickú bezpečnosť bude mať ich uchovávanie v chladničke po dobu 21 dní. Vnútropodniková norma, ktorú sme mali

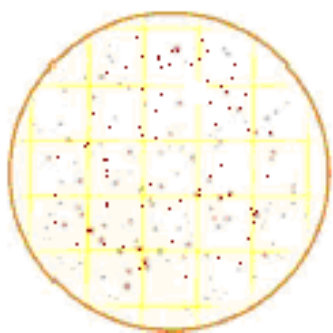
k dispozícii, stanovovala $5,0 \cdot 10^5$ KTJ v 1 g v rámci doby

potreby tohto mäsového výrobku bez porušenia obalu.

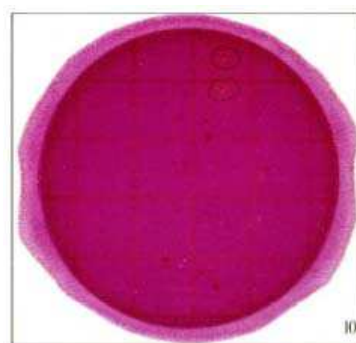
VÝSLEDKY

V zmysle stanoveného cieľa sme analyzovali vzorky šunkovej salámy na prítomnosť celkového počtu mikroorganizmov, enterobaktérií a koliformných baktérií v závislosti od doby uchovávaní v chladničke pri teplote 2–6 °C. V tab. 2 sú uvedené výsledky stanovenia CPM v analyzovaných vzorkách. Z tabuľky vyplýva, že vzorky odoberané v deň výroby, ako aj po 7 dňoch spĺňali mikrobiologické kritériá stanovené vnútropodnikovým predpisom vo všetkých mesiacoch. Treba zároveň podotknúť, že vzorky neboli analyzované v mieste výroby, ale až po prenesení do laboratória za aseptických podmienok, ako aj pri dodržaní chladiaceho reťazca. Zároveň možno konštatovať, že rast mikroorganizmov

v závislosti od doby uchovávaní bol najvýraznejší jednak v letných mesiacoch, ale aj v mesiaci október, pričom CPM dosahoval vyššiu hodnotu už v deň výroby šunkovej salámy. Priemerná hodnota CPM v 1 g výrobku dosiahla hodnotu $9,98 \cdot 10^4$ v deň výroby. Po 7 dňoch uchovávaní v chladničke sa CPM zvýšil na $2,73 \cdot 10^5$, po 14 dňoch na hodnotu $1,01 \cdot 10^6$ a na 21 deň na hodnotu $1,05 \cdot 10^7$. Variačný koeficient sa pohyboval v rozmedzí 11 % (po 14 dňoch) až 21,8 % (po 7 dňoch). Ako vyplýva z obr. 2, najvýraznejší nárast celkového počtu mikroorganizmov bol zaznamenaný na 21 deň, pričom možno zároveň konštatovať, že mikrobiologické zmeny boli sprevádzané aj zmenami senzorickými (osliznutosť na 21 deň a zápach).



Obrázok 1 Celkový počet mikroorganizmov



Obrázok 2 Čelad' *Enterobacteriaceae*

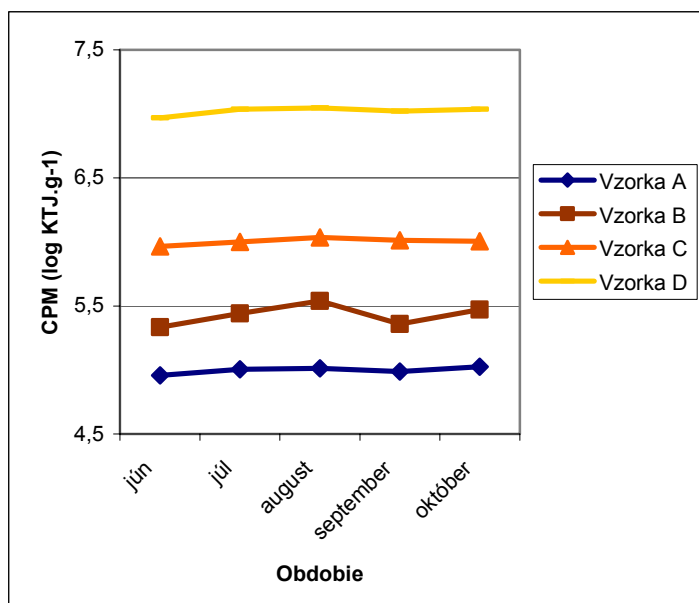
Tabuľka 2 Stanovenie celkového počtu mikroorganizmov v závislosti od doby uchovávaní šunkovej salámy

Obdobie	KTJ.g ⁻¹			
	Vzorka A (n = 25)	Vzorka B (n = 25)	Vzorka C (n = 25)	Vzorka D (n = 25)
jún	$9,09 \cdot 10^4$	$2,15 \cdot 10^5$	$9,24 \cdot 10^5$	$9,3 \cdot 10^6$
júl	$1,02 \cdot 10^5$	$2,77 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^6$	$1,08 \cdot 10^7$
august	$1,03 \cdot 10^5$	$3,47 \cdot 10^5$	$1,09 \cdot 10^6$	$1,11 \cdot 10^7$
september	$9,75 \cdot 10^4$	$2,29 \cdot 10^5$	$1,03 \cdot 10^6$	$1,05 \cdot 10^7$
október	$1,06 \cdot 10^5$	$2,97 \cdot 10^5$	$1,03 \cdot 10^6$	$1,09 \cdot 10^7$
$\bar{x}$	$9,98 \cdot 10^4$	$2,73 \cdot 10^5$	$1,01 \cdot 10^6$	$1,05 \cdot 10^7$
$x_{\min}$	$8,34 \cdot 10^4$	$1,94 \cdot 10^5$	$8,12 \cdot 10^5$	$8,33 \cdot 10^6$
$x_{\max}$	$1,21 \cdot 10^5$	$4,05 \cdot 10^5$	$1,27 \cdot 10^6$	$1,33 \cdot 10^7$
s	$1,1 \cdot 10^4$	$5,95 \cdot 10^4$	$1,11 \cdot 10^5$	$1,49 \cdot 10^6$
$v_k, \%$	11,02	21,8	11	14,19

Okrem stanovenia CPM boli analýzy zamerané aj na stanovenie koliformných baktérií a enterobaktérií, pričom možno konštatovať, že ani v jednej zo skúmaných vzoriek sa tieto druhy mikroorganizmov nevyskytovali.

Výrobca určil dobu spotreby do 21 dní odo dňa výroby pri zachovaní celistvosti obalu. Napriek tomu, že sme túto podmienku počas výskumu neuplatnili, možno konštatovať, že uchovávanie mäsových výrobkov pri

chladničkových teplotách je bezpečné v prípade, ak sa dodržia všetky požiadavky výrobcov. Z toho vyplýva, že nákup väčších balení, ktoré spotrebiteľ následne konzumuje počas viacerých dní nie je vhodný z hľadiska zachovania senzorických i mikrobiologických vlastností mäsových výrobkov. Po otvorení obalu je nutné takýto výrobok skonzumovať spravidla do 24, resp. 48 hodín.



Obrázok 3 Zmeny CPM v závislosti od doby uchovávanía šunkovej salámy

DISKUSIA

Potravinársky priemysel podlieha neustálemu tlaku zo strany spotrebiteľov, požadujúcich bezpečné a kvalitné potraviny. Preto je potrebná kontrola hygieny v prevádzkach na výrobu mäsových výrobkov. Mikrobiologická kvalita je určená počtom mikroorganizmov prítomných v potravinách. Ak mikrobiologická záťaž dosiahne určitý limit, potravina je považovaná za pokazenú a nevhodnú na konzumáciu pre ľudí. Prediktívna mikrobiológia sa snaží kvantifikovať rastovú reakciu mikroorganizmov na podmienky prostredia, a preto je to užitočný nástroj na stanovenie mikrobiologickej trvanlivosti potravín (McMeekin et al., 2003). S týmto konštatovaním súhlasíme, čo potvrdzujú aj naše výsledky. Výskumom sme preukázali, že podmienky uchovávanía mäsových výrobkov výrazne ovplyvňujú ich

ZÁVER

Cieľom práce bolo hodnotiť mikrobiologické ukazovatele kvality vybraných druhov mäkkých mäsových výrobkov (šunková saláma vyrobená z bravčového mäsa) v závislosti od doby uchovávanía pri teplotách 2–6 °C. Treba zároveň podotknúť, že vzorky neboli analyzované v mieste výroby, ale až po prenesení do laboratória za aseptických podmienok, ako aj pri dodržaní chladiarenského reťazca. Analyzovali sme 25 vzoriek šunkovej salámy, z ktorých všetky vzorky na začiatku stanovenia, ako aj v prvý a siedmy deň uchovávanía vyhovovali stanovenej vnútropodnikovej norme na CPM (max. $5,00 \cdot 10^5$ KTJ.g⁻¹). Priemerný počet mikroorganizmov v 14 deň však prekročil podnikový limit na hodnotu $1,01 \cdot 10^6$ KTJ.g⁻¹ a v deň spotreby dokonca na $1,05 \cdot 10^7$ KTJ.g⁻¹. Mikrobiologické zmeny boli sprevádzané senzorickými zmenami (povrchové oslznutie, sivozelenej farby, neprijemný zápach). Z výsledkov analýz teda vyplýva, že hodnoty celkového počtu mikroorganizmov

senzorickú i mikrobiologickú kvalitu. Na spoľahlivú, presnú a rýchlu kontrolu mikrobiologickej kvality potravín

alebo prostredia potravinárskeho závodu sa používajú rôzne mikrobiologické metódy. Tie musia spĺňať nasledovné kvalitatívne požiadavky: citlivosť, spoľahlivosť, jednoduchosť, presnosť, rýchle vyhodnotenie analýz a cenová dostupnosť. Detekcia pomocou Petrifilm™ a 3M™ Petrifilm™ je rýchla, ľahká, nevyžaduje si odbornú spôsobilosť a používanie Petriho misiek a ďalších materiálov. Je schopná zachytiť aj najmenšie množstvo baktérii. Na testovanie prítomnosti patogénnych mikroorganizmov sa používajú rôzne časovo i materiálne náročné metódy, ktoré si taktiež vyžadujú vysokokvalifikovaný personál.

stúpali s dobou uchovávanía, pričom najvýraznejší nárast bol zaznamenaný v 21 deň a počas letných mesiacov. Zároveň možno konštatovať, že ani v jednej z analyzovaných vzoriek neboli zistené koliformné baktérie ani baktérie z čeľade *Enterobacteriaceae*.

Prvoradou úlohou výrobcov potravín je efektívna výroba požadovaného množstva a sortimentu bezpečných potravinárskych výrobkov. Z hľadiska zabezpečenia kvality a bezpečnosti mäsových výrobkov je nevyhnutné aplikovať širokú škálu preventívnych opatrení, medzi ktoré patria najmä:

- fungovanie vnútropodnikového kontrolného systému v rámci kontroly kvality a bezpečnosti mäsových výrobkov,
- aplikácia legislatívnych predpisov,
- zavedenie, validácia a verifikácia systému HACCP
- uplatňovanie zásad správnej výroby a hygienickej praxe a pod.

LITERATÚRA

- FENG, P., WEAGANT, S. D., GRANT, M. A. 2002. Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria. Bacteriological analytical manual, u. S. Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, 2002, 350 p.
- GOLIAN, J., ZELENÁKOVÁ, L., PAVLIČOVÁ, S. 2006. Kontrola hygieny pri spracovaní mäsa pomocou petrifilm platní. In *Biologické aspekty zvyšovania kvality surovín a potravín živočíšneho pôvodu*. Nitra : SPU, 2006. p. 179–184. ISBN 80-8069-738-8.
- HORRIERE, F. 2006a. Petrifilm – predstavenie a využitie. Seminár : Výhody používania doštičiek Petrifilm pri mikrobiologickom testovaní. Nitra : ŠVPÚ, 2006.
- HORRIERE, F. 2006b. Proces validácie Petrifilmu versus klasické mikrobiologické metódy v akreditovaných laboratóriách. Seminár : Výhody používania doštičiek Petrifilm pri mikrobiologickom testovaní. Nitra : ŠVPÚ, 2006.
- HSU, S. C., TSEN, H. Y. 2001. PCR primers designed from malic acid dehydrogenase gene and their use for detection of *Escherichia coli* in water and milk samples. In *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 64, 2001, p. 1-11.
- INGR, I. 2002. Červené alebo biele? In *Výživa a potraviny*, vol. 57, 2002, no. 1, p. 39-40.
- KOZELOVÁ, D., BOBKOVÁ, A., LOPAŠOVSKÝ, Ľ., ŠNIRC, M. 2009. Intolerancia organizmu na vybrané rastlinné komodity. Príznaky, diagnostika a detekcia príčinných alergénov. In *Potravinárstvo*, vol. 3, 2009, no. 4, p. 38-43, ISSN 1338-0230.
- KOZELOVÁ, D., BOBKOVÁ, A., LOPAŠOVSKÝ, Ľ., ŠNIRC, M. 2009. Intolerancia organizmu na vybrané rastlinné komodity. Príznaky, diagnostika a detekcia príčinných alergénov. In *Potravinárstvo*, vol. 3, 2009, no. 4, p. 38-43, ISSN 1338-0230.
- LOPAŠOVSKÝ, Ľ., POPELKA, P. 2006. Využitie moderných metód pri monitorovaní prostredia bitútku. In *Bezpečnosť a kontrola potravín* (medzinárodná vedecká konferencia). Nitra : SPU, 2006. p. 70–73. ISBN 80-8069-681-0.
- LOPAŠOVSKÝ, Ľ., LAGIN, L., BOBKOVÁ, A. 2008. Kontrola hygieny pri zabíjaní ošpaných na vybranom bitútku. In *Bezpečnosť a kvalita surovín a potravín* (medzinárodná vedecká konferencia). Nitra : SPU, 2008. p. 88. ISBN 978-80-8069-997-0.
- MALAKAR, P. K. 2002. Modeling microbial interactions and food structure in predictive microbiology. Thesis Wageningen university, 2002, p. 10–22.
- MCMEEKIN, T. A., ROSS, T., BARANYI, J., ROBERTS, T. A. 1996. Effects of parametrization on the performance of empirical models in predictive microbiology. In *Food Microbiology*, vol. 13, 1996, p. 65-83.
- Nariadenie európskeho parlamentu a rady (ES) č. 853/2004, ktorým sa ustanovujú osobitné hygienické predpisy pre potraviny živočíšneho pôvodu.
- Nariadenie komisie (ES) č. 1441/2007 z 1. decembra 2007, ktorým sa mení a dopĺňa nariadenie (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériách pre potraviny.
- PAVLIČOVÁ, S., CHOVANEC, P. 2005. Kontrola úrovne hygieny tiel jatočných zvierat vo vybraných bitútkoch pomocou Petrifilm platní (zborník prednášok). Bratislava : SAV, 2005. s. 173–177. ISBN 80-227-2300-2.
- PIPEK, P. 1995. *Technologie masa I.*, Praha, 1995, ISBN 80-7080-173-3.
- SCOLLAN, N., HOCQUETTE, J., NUERNBERG, K., DANNENBERGER, D., RICHARDSON, I., MOLONEY, A. 2006. Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. In *Meat Science*, vol. 74, 2006, no. 1, p. 17-33.
- SHEARD, P. R., NUTE, G. R., CHAPPELL, A. G. 1998. The effect of cooking on the chemical composition of meat products with special reference to fat loss. In *Meat Science*, vol. 49, 1998, no. 2, p. 175-191.
- STARUCH, L. 2009. Mäsové polotovary. In Kerestész, J. *Biotechnológia, výživa a zdravie*. 2009. 205–229. ISBN 978-80-970205-9-0.
- VALSTA, L. M., TAPANAINEN, H., MÄNNISTÖ, S. 2005. Meat fats in nutrition. In *Meat Science*, vol. 70, 2005, no. 3, p. 525-530.
- Výnos MP a MZ SR č. 1895/2004-100, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu upravujúca mäsové výrobky.

Kontaktná adresa:

Ing. Lucia Zelenáková, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: Lucia.Zelenakova@uniag.sk

Ing. Kristína Kulichová, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: kristina.kulichova@centrum.sk

Ing. Jana Kopčeková, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Agrobiological Sciences and Food Resources, Department of Human Nutrition, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia, e-mail: Jana.Kopceková@uniag.sk

POKYNY PRE PRISPIEVATEĽOV**Príjem príspevkov:**

- Príspevky zasielajte pomocou elektronického systému časopisu Potravinárstvo®. Najskôr sa zaregistrujte, následne sa prihláste do Vami vytvoreného účtu a nahrajte článok do elektronického systému. Po nahratí sledujte proces spracovania príspevku, všetka komunikácia s autorom sa vedie len cez elektronický systém časopisu Potravinárstvo®. Pre registráciu a prihlásenie použite webovú stránku časopisu: www.potravinarstvo.com.

Upozornenie:

- Každý autor musí byť zaregistrovaný v databáze časopisu Potravinárstvo®.
- Príspevok môže byť napísaný v angličtine, slovenčine alebo češtine. Odporúčaný rozsah príspevku je 10 až 20 strán.
- Text príspevku musí byť v súlade so štylistickými a bibliografickými požiadavkami, ktoré sú opísané vo vzorovom dokumente, ktorý je k dispozícii na webovej stránke časopisu.
- Každý príspevok je oponovaný transparentným a anonymným spôsobom.
- Autor dostane pokyny pre opravu príspevku od editora.
- Príspevky môžu prejsť jazykovou korektúrou v redakcii časopisu.
- Redakcia časopisu Potravinárstvo® si vyhradzuje právo zamietnutia alebo odloženia uverejnenia príspevku na základe rozhodnutia redakčnej rady.
- Redakcia časopisu Potravinárstvo® nezodpovedá za obsah jednotlivých príspevkov a inzerátov a ani za prípadné škody vzniknuté tretím stranám v súvislosti s ich publikovaním v časopise Potravinárstvo®, za tieto škody zodpovedajú autori príspevkov a inzerenti. Za obsah jednotlivých príspevkov zodpovedajú autori. Za obsah jednotlivých inzerátov zodpovedajú inzerenti.
- Zverejnením príspevku nevzniká autorovi nárok na honorár.
- Autor garantuje, že príspevok nebol pred publikovaním v časopise Potravinárstvo® zverejnený v inom printovom alebo elektronickom médiu za odplatu (ak bol príspevok už zverejnený, musí to uviesť editorovi v poznámke počas elektronického podania príspevku).
- Autor zaručuje, že príspevok nebude zverejnený inde v akomkoľvek jazyku bez súhlasu majiteľa autorských práv, že nebudú porušené práva tretích strán, a že vydavateľ nie je právne zodpovedný pri uplatňovaní si nárokov tretích strán na náhradu škody spojenú s publikovaním príspevku v časopise Potravinárstvo®.
- Autori a inzerenti majú zákonnú zodpovednosť za informácie uverejnené v článkoch alebo reklame publikovaných v časopise Potravinárstvo®.
- Časopis Potravinárstvo®, redaktori a redakčná rada nie sú zodpovední za škody alebo nároky na náhradu škody tretím stranám vzniknutým v dôsledku alebo v súvislosti s publikovaním príspevkov alebo reklamy v časopise Potravinárstvo®.

Autorské práva:

- Autori uverejňujú príspevky v časopise Potravinárstvo® za týchto podmienok:
 1. Autori si ponechávajú autorské právo, avšak časopis Potravinárstvo® má právo prvého vydania príspevku. Autor súčasne súhlasí s licenčnou dohodou Creative Commons Attribution License, ktorá umožňuje ďalšie zdieľanie príspevku a jeho spracovanie. Licencia je k dispozícii v elektronickom systéme časopisu Potravinárstvo®.
 2. Autori môžu vstupovať do samostatných, ďalších zmluvných vzťahov pre neexkluzívnu distribúciu príspevku (napr. publikovanie príspevku v knihe alebo na internetovej stránke) avšak pri takejto publikácii musia uviesť, že pôvodné prvé uverejnenie príspevku bolo v časopise Potravinárstvo®.
 3. Autori môžu ďalej publikovať ich príspevok online (napr. na internetových stránkach inštitúcií alebo ich vlastných internetových stránkach) pred, počas a po procese podávania príspevku do časopisu Potravinárstvo®, pretože takéto úsilie môže viesť k väčšej citovanosti príspevku publikovaného v časopise Potravinárstvo®.

Ochrana osobných údajov:

- Mená, osobné údaje a e-mailové adresy uvedené užívateľmi tejto internetovej stránky budú použité výlučne len pre účely tohto časopisu a nebudú k dispozícii pre akýkoľvek iný účel alebo tretím stranám.

FROM FARM TO FORK - EUROPEAN FOOD SAFETY LEGISLATION TRAINING PROGRAMME (F⁴ESL)

F⁴ESL - From Farm to Fork European Food Safety Legislation Training Programme is an innovative and integrated online training programme on EU Food Safety Legislation ensuring vocational education for stakeholders of food chain via newest learning methods, and is going to be piloted across all European countries in 2 sessions, in 2011.

Aim: F⁴ESL aims to fill the legislation gaps for each profession working in food sector with a common “from farm to fork” food safety approach covering all related EU regulations. Since it is difficult to read and comprehend all the legislations; simple and comprehensible language will be used in the F⁴ESL training, besides case studies about regulations to make them easier to understand.

Curriculum: The training program will be developed by a Pan European committee of professionals as to bring about a state of the art curriculum which consists of 5 modules: Introduction, Legislation on product, Legislation on process, Labeling, and Public Powers.

Five European member countries (Bulgaria, Latvia, Slovakia, Spain, Turkey) and a candidate country (Holland) participated in this project to share their knowledge and experiences on food safety legislation and e-learning technology. **Target Group:** F⁴ESL e-learning program will have an easy access to whole EU members and will be continuously updated according to the changing EU regulations. The language of the program will be English, Turkish and Bulgarian. About 500 trainees are planned to be trained by F⁴ESL free of charge.

The target group of the Project includes:

- Food producers and processors
- Official controllers/inspectors
- Members of unions, chambers and associations related with food and food safety
- Local bodies
- Importers & Exporters
- University and graduate students from relevant departments

Project Logo:



Web page: www.f4esl.eu

H A C C P

C O N S U L T I N G

- **HACCP**
- **IFS**
- **BRC**
- **ISO 22000**
- **ISO 9001**
- **Akreditované školenia**
- **Recenzia etikiet**
- **Prevádzkové poriadky**
- **Audity**

HACCP Consulting
0908164361, 0904138562
www.haccp.szm.sk

METHODS FOR FISH SPECIES IDENTIFICATION IN FOOD PRODUCTS

*Pavol Bajžík, Jozef Golian, Radoslav Židek, Jozef Čapla, Ľubomír Belej, Matúš Ondrejka, Ľubica Mrázová, Lenka Maršálková.....*1-5

ESTIMATION OF THE BURDEN OF PESTICIDE RESIDUES IN SLOVAK POPULATION

*Zuzana Grancová Bielková, Jozef Sokol.....*6-9

NEW METHODOLOGIES FOR BIOFILMS CONTROL IN FOOD INDUSTRY

*Jozef Čapla, Peter Zajác, Vladimír Vietoris, Pavol Bajžík.....*10-13

HEALTH AND HYGIENIC CONDITIONS OF EWE'S MILK PROCESSING FROM THE ASPECT OF FOOD SAFETY

*Eva Dudriková, Lucia Poláková, Jana Pukáčová.....*14-18

THE CONSUMPTION OF ACIDOPHYLUS DRINKS AND YOGURTS IN SELECTED POPULATION OF PUPILS IN YEARS 2004 AND 2008

*Marta Habánová, Marta Lorková, Jana Kopčeková.....*19-23

VERIFICATION OF THE FOOD SAFETY MANAGEMENT SYSTEM IN DEEP FROZEN FOOD PRODUCTION PLANT

*Erika Kolajová, Lucia Zeleňáková, Jozef Čapla, Peter Zajác.....*24-29

ANALYZING CONSUMERS' OPINION ON ORGANIC FOOD, THEIR SAFETY AND AVAILABILITY IN THE SLOVAK FOOD MARKET

*Dagmar Kozelová, Eva Matejková, Artan Qineti.....*30-35

BETA GLUCAN DEGRADATION DURING POST HARVEST MATURATION OF MALTING BARLEY WITH EMPHASIS ON MALT QUALITY

*Miriám Líšková, Helena Frančáková, Ján Mareček.....*36-39

INFLUENCE OF THE RIPENING ONTO THE GROWTH OF SELECTED PROBIOTIC CULTURES IN LOW – COOKED CHEESE

*Viera Lovayová, Eva Dudriková, Radomíra Nemcová, Kvetoslava Rimárová.....*40-45

OXIDATIVE STABILITY OF CHILLED CHICKEN MEAT AFTER FEEDING OF SELECTED PLANTS

*Slavomír Marcinčák, Peter Popelka, Jana Šimková, Dana Marcinčáková, Mária Martonová.....*46-49

PROTEIN AND FAT IN BREAST MUSCLES OF BROILERS IN APPLICATION WELFARE PRINCIPLES IN PRACTICAL CONDITIONS

*Ján Medveď, Mária Angelovičová.....*50-52

QUALITY OF HEMP SEED OIL DEPENDING ON ITS OBTAINING

*Ivana Poustková, Ľuboš Babička, Lenka Kouřimská, Gabriela Siegrová, Ladislav Staruch.....*53-57

DETERMINATION OF FLAVONOIDS CONTENT IN COLOURED PEAS (*PISUM SATIVUM* L.) IN RELATION TO CULTIVAR'S DEPENDENCE AND STORAGE DURATION UNDER NATURAL CONDITIONS

*Mária Timoracká, Alena Vollmannová.....*58-62

DETERMINATION OF ACRYLAMIDE IN FOOD BY GAS AND LIQUID CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY

*Miriám Vlčáková, Michaela Vieriková.....*63-68

INFLUENCE OF SOFT MEAT PRODUCTS STORAGE ON THEIR MICROBIOLOGICAL SAFETY

*Lucia Zeleňáková, Kristína Kulichová, Jana Kopčeková.....*69-73



In *2005* Leaf International decided to invest in Slovakia, acquired *58,000 square meters* of land and *constructed 30,000 square meters* production facility in *2007*. The first two lines were installed in *September 2006*, first product shipped in *November 2006* and four lines are running at the moment.

For Leaf, this is a strategic investment, intended to create the cornerstone of Leaf's manufacturing base in Slovakia. We present:

- * BEST IN CLASS QUALITY STANDARDS
- * MODERN FOOD MANUFACTURING FACILITY
- * COST COMPETITIVE PLATFORM FOR GROWTH
- * CORE OF MANUFACTURING FOOTPRINT

Currently the company *employs 300 people* - since the end of *2007* the factory supplies some of the Leaf's most important products to many European countries.

With the aim to grow and to become to be the most admired company in the confectionary business, we are looking for the right people to build one Leaf - Our Leaf! We are looking for new colleagues for all strategic departments - production, R&D, quality, engineering, maintenance,...



If you are align with our core values, which are passion, teamplay, focus and are looking for challenging and exciting work, please send an application to:



recruitment@leaf.eu

tel.: 036/6355531

LEAF Slovakia, Gena 5555/60, 934 01 Levice, Slovakia