

3

2012



Vedecký časopis pre potravinárstvo

Scientific Journal for Food Industry

číslo

www.potravinarstvo.com

Volume 6
Issue 3
October 2012

potravinárstvo 3 (6)
ISSN 1337-0960 (online)

Potravinárstvo

Vedecký časopis pre potravinárstvo

Šéfredaktor:

Ing. Peter Zajác, PhD.
SPU Nitra

Zástupca šéf redaktora:

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

Redaktori:

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

Predseda redakčnej rady:

prof. 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:** 6, č. 3/2012 • 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 v elektronickej forme • **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 • **Cena čísla:** nepredajné • **Distribuuje:** Združenie HACCP Consulting • **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, DOAJ, Google Scholar a CrossRef • **Názov a skratka pomocou ktorých je časopis indexovaný v medzinárodných databázach:** *Potravinarstvo, Potr.*

Všetky práva vyhradené, © 2012 Potravinárstvo®
Evidenčné číslo Ministerstva kultúry SR: 3771/09
ISSN 1338-0230 (tlačená verzia)



Katedra hygieny a bezpečnosti
potravín

H A C C P
CONSULTING

NUTRITIONAL AND HEALTH BENEFITS OF BUCKWHEAT

Martina Danihelová, Ernest Šturdík

ABSTRACT

Buckwheat represents a raw material interesting in term of its nutritional and health beneficial suitability. Buckwheat grain is a source of valuable proteins, starch with low glycemic index or high amount of unsaturated fatty acids. It contains compounds with prophylactic value, too. Buckwheat is one of the richest sources of flavonoids. The highest content of dietary fibre is in bran fraction, where it counts for 40 %. Present phytosterols are usefull in lowering blood cholesterol. Buckwheat is better source of magnesium, potassium, phosphorus, zinc, manganese and copper than other cereals. Among vitamins the most abundant is pyridoxin. Buckwheat is effective in management of many diseases, mainly cardiovascular and digestion disorders, cancer, diabetes and obesity. In the last decades buckwheat is an interesting material not only for development of new functional foods, but for the preparation of concentrates with healing buckwheat components, too.

Keywords: buckwheat, commercialization, human health, nutrition, prophylactic compounds

ÚVOD

Obilniny predstavujú pre prevažnú časť ľudstva základnú potravinu, ktorá je pre nich zdrojom predovšetkým sacharidov, ale taktiež vysokohodnotných bielkovín, vitamínov, minerálnych látok a vlákniny. Z hľadiska objemu konzumu majú medzi ostatnými poľnohospodárskymi produktmi výsadné postavenie.

Pohánku vo všeobecnosti nezaraďujeme medzi cereálie, avšak jej semená sú zvyčajne klasifikované medzi cereálne zrná, nakoľko majú podobné chemické zloženie i využitie. Pohánka je jednoročná bylina. Patrí do čeľade stavikrvovitých (*Polygonaceae*), rodu *Fagopyrum* (Obrázok 1). Za pôvodnú oblasť výskytu pohánky sa považuje juhovýchodná Ázia (najmä oblasť Himaláji), odkiaľ sa rozšírila do ďalších lokalít (Gajdošová, Šturdík, 2004).



Obrázok 1 Pohánka jedlá (*Fagopyrum esculentum*)
(Thomé, 2003)

Na našom území sa jej pestovanie datuje od 12. až 13. storočia. Táto plodina je nenáročná na podmienky životného prostredia. Dá sa jej i v horských a bezvápenných pôdach. V 18. storočí jej produkciu oslabil začiatok pestovania zemiakov. Po objavení viacerých jej zdraviu prospešných zložiek a účinkov je záujem o ňu opäť na vzostupe (Petr et al., 2004).

Pohánka sa primárne pestuje za účelom získania jej plodov – zŕn pre ľudskú výživu. Zrno pohánky má v priereze trojuholníkovitý tvar (Obrázok 1). Podobne ako ostatné cereálie pozostáva zo šupky, škrobnatého endospermu a zárodok (Mazza, Oomah, 2003). Spomedzi viacerých odrôd pohánky je 9 z nich poľnohospodársky a nutrične významných. Bežne sa pestujú 2 odrody: Pohánka jedlá (*Fagopyrum esculentum*) a Pohánka tatárska (*Fagopyrum tataricum*) (Krkošková, Mrázová, 2005).

Svetová ročná produkcia pohánky predstavuje cca 1,5 milióna tony. Najväčšími producentmi sú Čína a Rusko. Slovenská republika sa so svojím objemom pestovania zaraďuje medzi najmenších pestovateľov (Tabuľka 1) (FAO, faostat.fao.org/site/567/default.aspx#anchor).

Tabuľka 1 Produkcia pohánky vo svete za rok 2010
(FAO, faostat.fao.org/site/567/default.aspx#anchor)

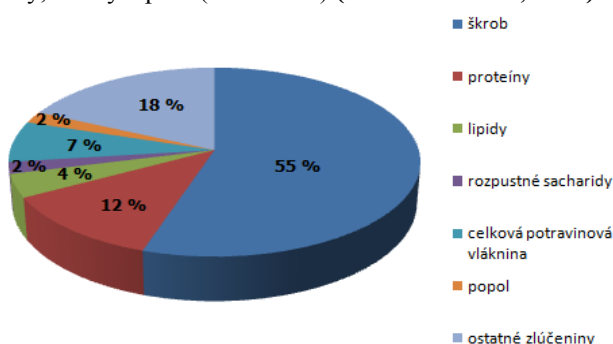
Krajina	Produkcia (t)
Čína	590 000
Ruská federácia	339 290
Ukrajina	133 700
Spojené štáty americké	82 600
Poľsko	74 400
Japonsko	29 700
Česká republika	1 800
Slovinsko	1 370
Chorvátsko	380
Maďarsko	289
Slovensko	70

Hoci produkcia pohánky v celosvetovom meradle i vo väčšine jednotlivých krajín zaznamenáva klesajúci trend, počet odborných publikácií zaoberajúcich sa touto plodinou ročne vzrastá o niekoľko stoviek.

Zámerom nášho rešeršného článku je poskytnúť najnovší prehľad o zastúpení nutrične a profylakticky významných zložiek v pohánke z hľadiska jej jednotlivých častí. Dôraz sa kladie na ich prospešný účinok v prevencii ochorení. Článok taktiež sumarizuje súčasné možnosti komerčného využitia pohánky ako suroviny pre prípravu funkčných potravín resp. výživových doplnkov.

NUTRIČNÉ CHARAKTERISTIKY

Celé zrnó pohánky v priemere obsahuje 55 % škrobu, 12 % proteínov, 4 % lipidov, 2 % rozpustných sacharidov, 7 % celkovej potravinovej vlákniny, 2 % popola a 18 % ostatných zlúčenín, ako sú organické kyseliny, fenolové látky, taníny a pod. (Obrázok 2) (Steadman et al., 2001).



Obrázok 2 Pomerné zastúpenie jednotlivých zložiek v zrne Pohánky jedlej (*Fagopyrum esculentum*) (vytvorené podľa Steadman et al., 2001)

Hlavnou zložkou zrna pohánky je škrob, pričom jeho množstvo je v jednotlivých druhoch rozdielne. Akumuluje sa v endosperme, kde plní funkciu zásoby energie pre rast rastliny. V celom zrne predstavuje podiel cca 55 %, pričom múka pozostávajúca prevažne z centrálneho endospermu obsahuje 75 % škrobu, v obalových vrstvách je ho naopak minimálne množstvo, okolo 18 % (Steadman et al., 2001).

Obsah amylózy v granulách škrobu sa pohybuje najčastejšie v rozmedzí 15 až 25 %, avšak niektoré odrody dosahujú hodnoty až do 50 % (Qin et al., 2010). Pohánkový škrob je vďaka tomu ťažšie stráviteľný než pšeničný, preto výrobky z neho majú nízky glykemický index, čo je zo zdravotného hľadiska výhodné (Kreft, Germ, 2008). Približne tretina z celkového obsahu škrobu predstavuje jeho rezistentnú (teda neštiepiteľnú) formu (Christa, Soral-Šmietana, 2008).

Proteíny predstavujú v zrne pohánky podiel cca 12 %. Podobne ako škob majú najmä zásobnú funkciu. Sú preto koncentrované v zárodok, kde môžu predstavovať až 36 %. Múka z endospermu obsahuje 6 % proteínov, obalové vrstvy ešte menej (iba 4 %) (Steadman et al., 2001). Polovicu všetkých bielkovín tvoria globulíny, albumínov je asi 25 % a glutelínov sú cca 4 %. Pohánková múka je vhodná pre celiatikov pre nízky obsah prolaminov, ktoré sú pre nich toxické (Gajdošová, Šturdík, 2004).

Pohánkové bielkoviny sa vyznačujú vyšším obsahom lyzínu a arginínu, vďaka čomu majú vysokú biologickú

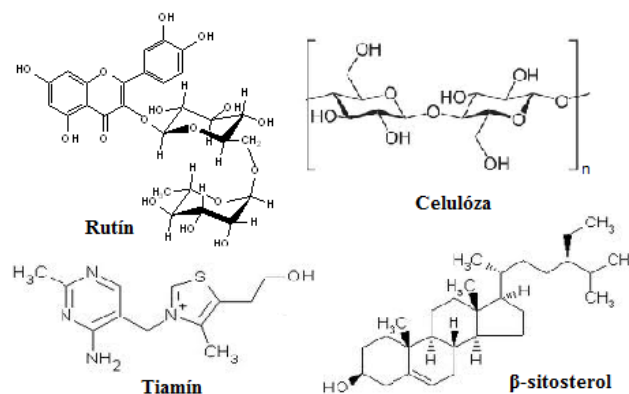
hodnotu, avšak v porovnaní s proteínmi pšenice, jačmeňa, raže a kukurice sú horšie stráviteľné (Christa, Soral-Šmietana, 2008). Nízky pomer aminokyselín lyzín/arginín a metionín/glycín hovorí o možnom účinku pohánkových proteínov pri znižovaní hladiny cholesterolu (Carroll, Kurowska, 1995).

V priemernom pohánkovom zrne sa nachádzajú 4 % lipidov. Ich najvyššia koncentrácia bola zistená v embryu (11 %), kde slúžia pre výživu zárodok. Obalové vrstvy naopak obsahujú lipidov menej než 1 % (Steadman et al., 2001; Vojtišková et al., 2012).

Z celkových lipidov viac ako dve tretiny tvoria triacylglyceroly, 10 % pripadá na fosfolipidy a 5 % je glykolipidov (Gajdošová, Šturdík, 2004). Zo zastúpených mastných kyselín je 80 % nenasýtených a 20 % nasýtených. Spomedzi nasýtených mastných kyselín tvorí dominantnú časť kyselina palmitová. Z nenasýtených mastných kyselín pohánkové lipidy obsahujú najmä kyselinu olejovú, linolovú a linolénovú. I vďaka vysokému obsahu nenasýtených, a to najmä polynenasýtených mastných kyselín, má pohánka popredné postavenie medzi ostatnými cereáliami (Christa, Soral-Šmietana, 2008).

PROFYLAKTICKÉ ZLOŽKY

Okrem vysokohodnotných bielkovín a lipidov obsahuje zrnó pohánky i ďalšie látky, ktoré sú prospešné pre ľudské zdravie. Profylaktickým pôsobením môžu tieto pozitívne ovplyvňovať vznik a rozvoj viacerých ochorení (Obrázok 3).



Obrázok 3 Vybrané profylaktické zlúčeniny pohánky

VLÁKNINA

Potravinová vláknina pozostáva z oligosacharidov, polysacharidov a iných hydrofilných derivátov. Podľa afinity k vode ju možno rozdeliť na rozpustnú a nerozpustnú. Nerozpustná potravinová vláknina zahŕňa celulózu, ligníny a niektoré necelulózové polysacharidy, rozpustnú vlákninu tvoria pektíny a ďalšie necelulózové polysacharidy (Brownlee, 2011).

Celé zrnó obsahuje 7 % celkovej potravinovej vlákniny. V bielej múke pozostávajúcej najmä zo škrobnatého endospermu sa nachádzajú iba 3 % celkovej vlákniny. Najbohatšou časťou zrna na vlákninu sú jeho obalové vrstvy. Tieto majú až 40 % celkovej potravinovej vlákniny, z ktorej 25 % tvorí jej rozpustná zložka (Steadman et al., 2001). Podobný obsah vlákniny (41 %) majú i pšeničné otruby (Scherz, Senser, 1994).

Otruby bez šupiek obsahujú 16 % vlákniny, z nej až tri štvrtiny predstavuje rozpustná vláknina. Z toho vyplýva,

že najvyšší podiel nerozpustnej vlákniny sa nachádza v šupkách zrna pohánky (Steadman et al., 2001). Pohánkové otruby bez šupiek sú svojím obsahom vlákniny (17 %) porovnateľné s ovsenými otrubami (Lee, Prosky, DeVries, 1992).

Rozpustná vláknina spomaľuje vyprázdňovanie žalúdka a predlžuje prestup stravy v tenkom čreve. Nerozpustná vláknina naopak zrýchľuje prestup žalúdkom, tenkým a hrubým črevom. Zvyčajne sa využíva ako napučiavacie činidlo pri prevencii a liečbe zápchy. Rozpustná a v menšej miere i nerozpustná vláknina sú fermentované mikroflórou tráviaceho traktu, pričom sa produkujú mastné kyseliny s krátkym reťazcom a plyny, ktoré môžu účinkovať pri znižovaní hladiny cholesterolu v krvi a rizika rakoviny hrubého čreva (Roberfroid, 1993).

FLAVONOIDY

Flavonoidy predstavujú skupinu rastlinných pigmentov. Sú to polyfenoloné látky, ktoré zaraďujeme medzi sekundárne metabolity rastlín. Ovplyvňujú nielen organoleptické vlastnosti jedál a nápojov na báze rastlín (najmä chuť a farbu), ale svojimi prospešnými vlastnosťami taktiež prispievajú k ich nutričnej kvalite.

Celkový obsah flavonoidov v pohánke závisí nielen od konkrétnej odrody, ale tiež od environmentálnych a kultivačných podmienok. Preto sa môžu údaje z literatúry líšiť niekedy aj o celý rád. Všeobecne je obsah flavonoidov v odrode *Fagopyrum tataricum* oveľa vyšší (2038 mg/100 g) než u *Fagopyrum esculentum* (37 mg/100 g) (Jiang et al., 2007).

Hlavným a obsahovo dominantným flavonoidom v pohánke je rutín. Zrno Pohánky jedlej podľa odbornej literatúry obsahuje 10 až 47 mg rutínu/100 g s najčastejšou hodnotou cca 20 mg/100 g, v zrne Pohánky tatárskej sa nachádza 500 až 2000 mg rutínu/100 g s najčastejšou hodnotou 1500 mg/100 g (Oomah, Mazza, 1996; Holasova et al., 2002; Fabjan et al., 2003; Park et al., 2004; Peng, Liu, Ye, 2004; Jiang et al., 2007; Guo et al., 2011). Naproti tomu v čínskych kultivaroch sú pre obe odrody uvádzané vyššie hodnoty (Pohánka jedlá 520 mg rutínu/100 g a Pohánka tatárska 2280 mg rutínu/100 g) (Zhanrong, Xiulian, 2007). V pohánkových šupkách je niekoľkonásobne viac rutínu (28 mg/100 g) než v jej endosperme (4,9 mg/100 g) (Peng, Liu, Ye, 2004).

Obsah rutínu významne závisí aj od lokalizácie v rastline (Tabuľka 2). Najvyššie hodnoty sa nachádzajú v kvetoch, kde sa jeho hladina pohybuje v závislosti od odrody až do výšky niekoľkých percent. O niečo menej bohatšie na rutín sú pohánkové listy. Ďalej v poradí nasledujú pohánkové zrná. Najchudobnejšie na rutín sú stonka a koreň (Park et al., 2004).

Tabuľka 2 Obsah rutínu v jednotlivých častiach rastliny pohánky *Fagopyrum* sp. (Park et al., 2004)

Rastlinná časť	Obsah rutínu (mg/100 g)	
	<i>Fagopyrum esculentum</i>	<i>Fagopyrum tataricum</i>
kvet	372,8	3518,6
list	115,6	2876,0
zrno	22,6	1469,8
stonka	17,4	482,6
koreň	10,1	22,3

Okrem rutínu boli v pohánke determinované i niektoré ďalšie flavonoidy. Sú nimi najmä kvercetín, kvercitrín, izokvercitrín, katechín, epikatechín, orientín, izoorientín, vitexín, hyperín, luteolín, kempferol a ich deriváty (Tian, Li, Patil, 2002; Verardo et al., 2010). Výskumy preukázali u mnohých spomedzi flavonoidov viaceré zdravie prospešné účinky ako napr. antioxidačné, protizápalové, kardioprotektívne, antivirálne či protirakovinové (Yao et al., 2004). Rutín je vhodný najmä pre prevenciu kardiovaskulárnych ochorení, nakoľko zvyšuje pružnosť cievnych kapilár, znižuje krvný tlak a hladinu cholesterolu v krvi (Perez-Vizcaino, Duarte, 2010).

FYTOSTEROLY A FAGOPYRÍNY

Fytosteroly predstavujú rastlinné steroly, ktoré sú súčasťou pohánkových lipidov. Štruktúrou sú veľmi podobné cholesterolu a preto kompetitívne inhibujú jeho absorpciu (Moghadasian, Frohlich, 1999). Popri znižovaní cholesterolu v krvi boli u nich popísané i antivirálne a protinádorové účinky (Li, Zhang, 2001).

Fytosteroly sú v pohánke prítomné najmä v zárodku a endosperme. Najviac zastúpeným je β -sitosterol v množstve 700 mg/kg, ktorý predstavuje 70 % z celkového množstva pohánkových fytosterolov. Ďalej sa v pohánke vyskytuje i kampesterol v množstve 95 mg/kg a stopové množstvá sigmasterolu (Horbowicz, Obendorf, 1992).

Fagopyríny sú dusíkaté deriváty hypericínu. Vo svojej molekule obsahujú naftodiantrónovú štruktúru. Ich množstvo v zrnách pohánky nie je vysoké a ich izolácia je zložitá. Fagopyríny sa vyskytujú najmä v listoch a kvetoch, kde dosahujú hodnotu u Pohánky tatárskej cca 1 mg/g a v prípade Pohánky jedlej cca 0,5 mg/g (Eguchi, Anase, Osuga, 2009). Fagopyríny zvyšujú precitlivosť na svetlo u dobytky. U ľudí sa táto nevyskytla. Na druhej strane boli publikované práce o možnom pozitívnom pôsobení fagopyrínov pri liečbe diabetu II. typu (Li, Zhang, 2001).

VITAMÍNY SKUPINY B

Celkový obsah týchto vitamínov je v zrne Pohánky tatárskej vyšší než v Pohánke jedlej. Sú koncentrované najmä v embryu a obalových vrstvách. Spomedzi vitamínov skupiny B sú prítomné najmä vitamín B1 (tiamín), vitamín B2 (riboflavín) a vitamín B6 (pyridoxín) (Bonafaccia, Marocchini, Kreft, 2003).

Otruby obsahujú najviac vitamínu B6 (cca 0,6 mg/100 g). Toto množstvo predstavuje 6 % celkovej odporúčenej dennej dávky pyridoxínu. Vitamíny B1 a B2 sú v otrubách prítomné v polovičnom až tretinovom množstve v porovnaní s vitamínom B6 (Bonafaccia, Marocchini, Kreft, 2003).

Pohánka je zaujímavá i prítomnosťou tiamín-viažucich proteínov. Tieto napomáhajú jeho transportu a uskladneniu v rastlinách. Okrem zvýšenia stability tiamínu zlepšujú i jeho biodostupnosť. Preto vitamín B1 prítomný v pohánke je lepšie využiteľný (Li, Zhang, 2001).

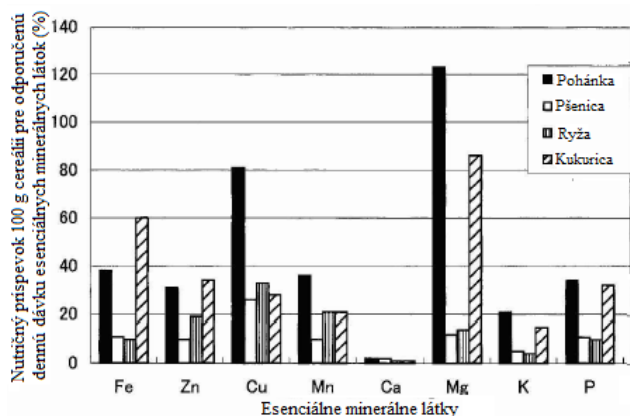
MINERÁLNE LÁTKY

Zrná pohánky sú dobrým zdrojom mnohých esenciálnych minerálnych látok. Pohánka tatárska je bohatšia na

minerály než Pohánka jedľá. Z pohľadu celého zrna je väčšina z nich lokalizovaná v okrajových a obalových vrstvách a tiež v embryu (Bonafaccia et al., 2003).

Pohánková múka obsahuje vysoké hladiny horčíka, draslíka, fosforu, železa, zinku, medi a mangánu. Horčík, draslík a fosfor sú prítomné v množstve cca 400 mg/100 g. Vápnika je 12 mg/100 g, železa a zinku do 3 mg/100 g, mangánu cca 1,5 mg/100 g a medi iba 0,5 mg/100 g pohánkovej múky (Ikeda et al., 2006).

V porovnaní s ostatnými cereáliami je pohánka vhodnejším zdrojom najmä horčíka, draslíka, fosforu, zinku, mangánu a medi. 100 g pohánkovej múky poskytuje približne 10 až 100 % odporúčenej dennej dávky pre zinok, meď, mangán, horčík, draslík, fosfor a železo, avšak iba niekoľko percent odporúčenej dennej dávky pre vápnik (Obrázok 4) (Ikeda et al., 2006).



Obrázok 4 Nutričný príspevok cereálnych múk ku odporúčenej dennej dávke pre esenciálne minerálne látky (Ikeda et al., 2006)

VPLYV NA ĽUDSKÉ ZDRAVIE

Nakoľko pohánka obsahuje viaceré zdravie prospešné zložky, tieto sa môžu po jej konzumácii prejavovať pozitívnymi účinkami na ľudský organizmus. Preukázané boli najmä prospešné účinky pohánky v prevencii obezity, diabetu, srdcovo-cievnych a nádorových ochorení a porúch tráviaceho systému.

POHÁNKA A SRDCOVO-CIEVNE OCHORENIA

Na kardioprotektívnych účinkoch sa pohánka podieľa viacerými svojimi vlastnosťami (Obrázok 5). Znižuje hladinu krvného tlaku a cholesterolu, má antioxidantné a protizápalové účinky, vykazuje antiobezitné pôsobenie (Ratan, Kothiyal, 2011).



Obrázok 5 Potenciálne účinky pohánky pri ochrane srdcovo-cievneho systému

Vodný extrakt šupiek Pohánky jedlej (*Fagopyrum esculentum*) účinne chráni LDL pred oxidáciou a silne inhibuje peroxidáciu lipidov v podmienkach *in vitro*. U myši, ktorým počas 14 dní bolo do stravy pridávaných 0,75 % tohto extraktu, bola pozorovaná znížená hladina produktov lipidovej peroxidácie a zvýšená aktivita antioxidantného pôsobiaceho enzýmu superoxiddismutázy v porovnaní s kontrolnou skupinou (Mukoda, Sun, Ishiguro, 2001).

Výhonky Pohánky jedlej i Pohánky tatárskej znižovali tvorbu peroxidu a tiež eliminovali superoxidové anióny v bunkách pečene HepG2. Výhonky Pohánky tatárskej znižovali oxidačný stres v bunkách oveľa účinnejšie než výhonky Pohánky jedlej, čo môže byť spôsobené 5-násobne vyšším obsahom rutínu v Pohánke tatárskej v porovnaní s Pohánkou jedlou (Liu et al., 2008).

Výsledky dvojito zaslepenej štúdie u žien konzumujúcich pohánkové sušienky po dobu 2 týždňov napovedajú, že pohánka vykazuje protizápalové účinky, nakoľko jej konzumácia znížila v krvnom sére hladinu myeloperoxidázy, ktorá je považovaná za indikátor zápalu (Wieslander et al., 2011).

Wang et al. (2009) uskutočnili pokus s potkanmi, ktorým do potravy zahrnuli 0,2 až 1 % extraktu otrúb Pohánky tatárskej. U týchto potkanov v porovnaní s kontrolnou skupinou pozorovali zníženie celkových triglyceridov a cholesterolu a znížený aterogénny index v krvnej plazme, čo nasvedčuje potenciálnemu antiobezitnému pôsobeniu pohánky.

Konzumácia pohánky u potkanov, ktorým bola predtým podávaná strava bohatá na lipidy, u nich významne zlepšila niektoré faktory rizika kardiovaskulárnych ochorení. Spôsobila zníženie hladiny triglyceridov, celkového a LDL cholesterolu, zvýšenie hladiny HDL cholesterolu ako aj rozšírenie lumenu aorty, čo je z hľadiska rizika kardiovaskulárnych ochorení pozitívne (Son, Kim, Lee, 2008).

Lee et al. (2010) preukázali na štúdiu s potkanmi hypolipidemický účinok kvetov a listov pohánky. Tieto boli v práškovej forme podávané potkanom v množstve 5 %. U experimentálnych zvierat sa znížila koncentrácia celkového cholesterolu a triglyceridov, pričom množstvo triglyceridov a sterolov v stolici bolo zvýšené. Autori pripisujú tento účinok synergickému spolupôsobeniu fenolových zlúčenín a vlákniny prítomnej v kvetoch a listoch pohánky.

Kim et al. (2009) uskutočnili štúdiu s hypertenznými potkanmi, ktorým do stravy pridávali vodný extrakt z pohánkového zrna. Po 5-týždennom prijíme extraktu v množstve 600 mg/kg bolo u potkanov pozorované zníženie krvného tlaku. Významné bolo tiež zníženie oxidačného poškodenia v endotelových bunkách aorty znížením imunoreaktivity nitrotyrozínu, ktorý je markerom tvorby peroxynitritu.

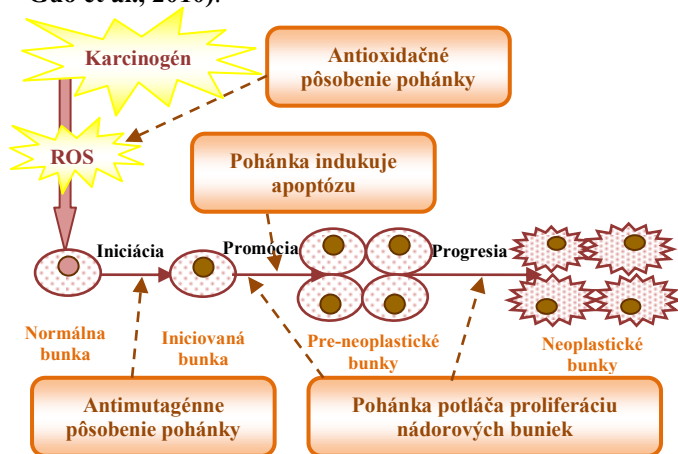
Z pohánkovej múky bola izolovaná nová zlúčenina, ktorá inhibuje angiotenzín I-konvertujúci enzým (ACE). Ide o hydroxynikotinamín. Jeho 50 %-ný inhibičný účinok voči tomuto enzýmu má hodnotu iba 0,08 μ M (Aoyagi, 2006). V pohánkovej múke sa vyskytuje v množstve 16 až 28 mg/100 g (Higasa et al., 2011). Metanolové a etanolové extrakty pohánkových zŕn vykazovali silný inhibičný účinok voči trombínu, čo sa môže využívať

na prevenciu alebo liečbu nadmernej tvorby zranení (Sohn et al., 2006).

Podľa štúdie autorov He et al. (1995) bola u ľudí v juhozápadnej Číne konzumácia pohánky spojená so zníženou hladinou celkového cholesterolu a LDL cholesterolu a zvýšeným množstvom HDL cholesterolu v krvnom sére.

POHÁNKA A RAKOVINA

Získané dáta z laboratórnych a epidemiologických meraní napovedajú, že pohánka vďaka obsahu zdraviu prospešných zložiek môže zohrávať významnú úlohu v prevencii rakoviny. Pohánkové extrakty účinne inhibovali rast nádorových buniek pľúc, pečene, hrubého čreva, prsníka, žalúdka či krčka maternice (Chan, 2003; Kim et al., 2007). Spomedzi mechanizmov protinádorového pôsobenia bola identifikovaná najmä indukcia apoptózy, inhibícia proliferácie rakovinových buniek, antioxidačné a antimutagénne pôsobenie (Obrázok 6) (Cao et al., 2008; Brindzová et al., 2009; Guo et al., 2010).



Obrázok 6 Extrakty pohánky blokujú a potláčajú proces karcinogenézy

Hinnenburg et al. (2006) zistili, že extrakt z rastliny Pohánky satej inhiboval peroxidáciu kyseliny linolovej vyvolanú účinkom UV-žiarenia. V porovnaní so samotným rutinom či komerčným UV absorbentom preukázal pohánkový extrakt lepšie fotoprotektívne účinky. Etanolové extrakty semien Pohánky tatárskej už pri koncentrácii 50 µg/ml inhibovali rast ľudských melanómových buniek (Park, Park, 2004). Etanolové extrakty Pohánky jedlej i tatárskej účinne ochránili DNA pred poškodením hydroxylovými radikálmi v podmienkach *in vitro* (Cao et al., 2008).

Pohánkové šupy vykazujú protinádorové účinky voči viacerým nádorovým bunkovým líniam *in vitro*. V koncentrácii 0,25 až 1 mg/ml účinne potláčali rast nádorových buniek prsníka (MCF-7), pečene (Hep3B), pľúc (A549), žalúdka (AGS) či krčka maternice (HeLa) až do 93 %, pričom normálne bunky zostávali neovplyvnené. Pripravený extrakt v dávke 25 a 50 mg/kg spôsobil pokles tvorby nádorov o 20 % a 42 % u myši s implantovaným sarkómom pľúc (Kim et al., 2007).

Extrakt Pohánky viacročnej (*Fagopyrum cymosum*) bol testovaný na viaceré nádorové bunkové línie. V podmienkach *in vitro* inhiboval rast nádorových buniek pľúc, pečene, hrubého čreva, krvi a kostí, pričom na

nádorové bunky prostaty, krčka maternice, vaječníkov a mozgu nebol účinný. V súčinnosti s daunomycínom bol pozorovaný synergický inhibičný účinok na ľudské nádorové bunky pľúc (H460) (Chan, 2003).

Zheng et al. (2012) izolovali z koreňa Pohánky tatárskej fenolové glykozidy s cytotoxickým účinkom. Najúčinnnejším spomedzi nich bol tatarizid C s 50%-ným inhibičným účinkom voči nádorovým bunkám pľúc (A549), kolorekta (HCT116), prsníka (ZR-75-30) a leukémie (HL-60) v rozmedzí 6,44 až 7,49 µg/ml.

Flavonoidy Pohánky tatárskej indukovali apoptózu ľudských leukemických buniek HL-60 (Ren et al., 2003). Guo et al. (2010) izolovali z vodného extraktu Pohánky tatárskej protinádorovo účinný proteín, ktorý inhiboval proliferáciu nádorových buniek prsníka. Preukázali, že hlavným mechanizmom jeho protinádorového pôsobenia je indukcia apoptózy.

Extrakty Pohánky satej pri testovaní Amesovým testom preukázali antimutagénny potenciál, zatiaľ čo mutagénne účinky sa v danom teste neprejavili (Brindzová et al., 2009).

U obyvateľov Číny bola na základe výsledkov 5-ročnej štúdie konzumácia pohánky v inverznom vzťahu k incidencii rakoviny pľúc (Shen et al., 2008).

POHÁNKOVÁ ALERGIA

Okrem priaznivých zdravotných účinkov bol publikovaný aj výskyt alergických reakcií v súvislosti s konzumáciou pohánky u niektorých jedincov. Ľudia môžu byť citliví aj na prach z pohánkovej múky po dlhodobej expozícii (Kuryan et al., 2009).

Väčšinou ide o alergické reakcie spojené s produkciou imunoglobulínu E. Hlavnými symptómami sú astma, alergická nádcha, žihľavka a opuch podkožného tkaniva (angioedém), ktoré sa objavujú v krátkom čase po konzumácii pohánky. V najhoršom prípade sa môže objaviť krvácanie spojené s rýchlym poklesom krvného tlaku, teda anafylaktický šok (Krkošková, Mrázová, 2005).

Ako alergény boli identifikované nízkomolekulové proteíny a glykoproteíny. Tieto proteíny sú zastúpené s ostatnými zásobnými proteínmi v celom zrne, pričom viac sa ich nachádza vo vonkajších vrstvách (Morita et al., 2006).

V uvedených súvislostiach je snaha eliminovať alergénne proteíny z pohánkových zŕn. Využívajú sa napr. enzymatické modifikácie či kontrolované fermentácie kmeňmi kvasiniek a vláknitých húb (Handoyo et al., 2006).

KOMERČNÉ VYUŽITIE POHÁNKY

Pohánku možno využiť pre rôzne účely, predovšetkým ako potravinu, krmovinu, liečivú a medonosnú rastlinu. Hlavným účelom pestovania pohánky je získanie jej plodov, t. j. zŕn pre ľudskú výživu (Gajdošová, Šturdík, 2004).

Odstránením šupiek zo zrna dostaneme krúpy a ich mletím múku. Vo svete sa vyrába mnoho funkčných potravín na báze pohánky. V Číne, Japonsku a v Taliansku sú obľúbené pohánkové rezance, tzv. „soba noodle“. Vyrábajú sa z cesta pripraveného z pohánkovej múky a vody. V Rusku a Poľsku sa z krúpov a múky pripravuje polievka a kaša. V Európe a Severnej Amerike sa

pohánková múka mieša so pšeničnou pre prípravu rôznych pekárskych a cukrárskych výrobkov (Obrázok 7) (Li, Zhang, 2001; Zielińska, Szawara-Nowak, Michalska, 2007).

Vo východnej Európe sa pražené pohánkové krúpy, tzv. „kasha“, podávajú ako alternatíva ryže. V Číne sa vyrába dokonca pohánkové víno, v Amerike zasa pohánkové pivo. Z pohánkových krúpov sa pripravujú i raňajkové cereálie resp. cereálne nápoje. Zo zelených častí rastliny príp. z pohánkových šúp možno pripraviť čaj (obrázok č. 7) (Park et al., 2000; Li, Zhang, 2001; Zielińska, Szawara-Nowak, Michalska, 2007).



Obrázok 7 Tradičné pohánkové jedlá a nápoje

V mnohých laboratóriách po celom svete sa vyvíjajú postupy izolácie a purifikácie koncentrátov látok z pohánky s nutraceutickým účinkom. V tejto súvislosti treba upozorniť na viacero patentov.

Kwong et al. (2006) majú patentovanú prípravu extraktu z otrúb Pohánky tatárskej, ktorý možno využiť pri liečbe cukrovky, nakoľko je schopný znižovať hladinu glukózy v krvi. Predmetom ďalšieho patentu je extrakt zrna Pohánky jedlej, ktorý obsahuje inhibítor transportéru glukózy, preto dokáže regulovať príjem glukózy do krvi (Kawa, Taylor, Zahradka, 2011).

Peptidy z hydrolyzáta pohánkovej múky vykazujú inhibičné účinky voči angiotenzín-konvertujúcemu enzýmu (ACE). Preto ich možno využiť na reguláciu krvného tlaku (Wu, Muir, Aluko, 2009). Znižujúce účinky na krvný tlak majú tiež pohánkové extrakty, ktorých dominantnou zložkou sú flavonoly (Verhoeven, Wiseman, 2008). Vodný extrakt listov pohánky je súčasťou prípravku s antiobezitným účinkom (Bok et al., 2011).

Vodný extrakt z kvetov a semien pupenca a pohánky inhibuje rast nádorových buniek, angiogénu a má tiež imunostimulačné účinky. Normálne bunky zostávajú pritom minimálne ovplyvnené (Meng, Riordan, Riordan, 2002). Extrakciou koreňov pohánky alkoholom možno získať extrakt s potenciálnymi protinádorovými účinkami (Hui, 2008).

Pohánka môže mať i neuroprotektívne účinky. Kosuna (2006) vo svojom patente deklaruje, že etanolový extrakt semien pohánky zlepšuje mozgové funkcie, schopnosť učiť sa i vylepšovať pamäť, eliminuje symptómy Alzheimerovej choroby.

ZÁVER

Pohánka je plodinou, ktorú ľudstvo pestuje už oddávna. Základný výskum začal cca pred sto rokmi. Zistilo sa, že pohánka obsahuje nutrične hodnotné bielkoviny, škrob s nízkym glykemickým indexom, vysoký podiel nenasýtených mastných kyselín. Tieto zistenia ju stavajú na popredné miesto spomedzi ostatných cereálií.

Okrem základných nutričných zložiek vyniká pohánka i obsahom ďalších zlúčenín, ktoré majú na ľudský organizmus profylaktické účinky. Z nich významný je obsah rutínu, pričom Pohánka tatárska obsahuje niekoľkonásobne vyššie množstvo tohto flavonoidu než Pohánka jedlá. Najviac sa ho nachádza v kvetoch, kde môže predstavovať až niekoľko percent. Spomedzi ostatných látok je významné zastúpenie fytosterolov, ktoré sú účinné pri znižovaní hladiny cholesterolu v krvi. 100 g pohánkovej múky poskytuje približne 10 až 100 % odporúčenej dennej dávky pre zinok, meď, mangán, horčík, draslík, fosfor a železo. Prítomné sú i vitamíny skupiny B a potravinová vláknina.

Vďaka obsahu prospešných zložiek má pohánka svoje miesto v prevencii viacerých ochorení. Znižuje hladinu krvného tlaku a cholesterolu, má antioxidantné, antiobezitné a protizápalové účinky, čím priaznivo pôsobí na incidenciu srdcovo-cievnych ochorení. V rámci prevencie rakoviny potláča jej iniciačné i progresné etapy.

Na trhu sú dnes dostupné viaceré produkty na báze pohánky. Jedná sa o tradičné jedlá, ktoré sa pripravujú z pohánkovej múky, krúpov či otrúb. Veľký záujem je najmä o vývoj nových funkčných potravín, ktoré sú z hľadiska neprítomnosti gluténu zaujímavé i pre ľudí trpiacich celiakiou. Narastá záujem taktiež o vývoj koncentrátov látok z pohánky. Ide najmä o koncentráty flavonoidov a proteínov, ktoré možno využiť v prevencii diabetu, obezity, kardiovaskulárnych či nádorových ochorení.

LITERATÚRA

- AOYAGI, Y. 2006. An angiotensin-I converting enzyme inhibitor from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) flour. In *Phytochemistry*, vol. 67, 2006, no. 6, p. 618-621.
- BOK, S. H., KIM, M. H., KIM, E. E., CHOI, M. S., MOON, S. S., CHANG, K. T. 2011. Powder or extracts of plant leaves with anti-obesity effects and anti-obesity food comprising them. United States Patent US7867525.
- BONAFACCIA, G., GAMBELLI, L., FABIAN, N., KREFT, I. 2003. Trace elements in flour and bran from common and tartary buckwheat. In *Food Chemistry*, vol. 83, 2003, no. 1, p. 1-5.
- BONAFACCIA, G., MAROCCHINI, M., KREFT, I. 2003. Composition and technological properties of the flour and bran from common and tartary buckwheat. In *Food Chemistry*, vol. 80, 2003, no. 1, p. 9-15.
- BRINDZOVÁ, L., MIKULÁŠOVÁ, M., TAKÁCSOVÁ, M., MOŠOVSKÁ, S., OPATTOVÁ, A. 2009. Evaluation of the mutagenicity and antimutagenicity of extracts from oat, buckwheat and wheat bran in the *Salmonella*/microsome assay. In *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 22, 2009, no. 1, p. 87-90.
- BROWNLEE, I. A. 2011. The physiological roles of dietary fibre. In *Food Hydrocolloids*, vol. 25, 2011, no. 2, p. 238-250.
- CARROLL, K. K., KUROWSKA, E. M. 1995. Soy consumption and cholesterol reduction: review of animal and

- human studies. In *Journal of Nutrition*, vol. 125, 1995, no. 3, p. 594-597.
- CAO, W., CHEN, W. J., SUO, Z. R., YAO, Y. P. 2008. Protective effects of ethanolic extracts of buckwheat groats on DNA damage caused by hydroxyl radicals. In *Food Research International*, vol. 41, 2008, no. 9, p. 924-929.
- CHAN, P. K. 2003. Inhibition of tumor growth in vitro by the extract of fagopyrum cymosum (fago-c). In *Life Sciences*, vol. 72, 2003, no. 16, p. 1851-1858.
- CHRISTA, K. SORAL-ŠMIETANA, M. 2008. Buckwheat grains and buckwheat products – nutritional and prophylactic value of their components – a review. In *Czech Journal of Food Sciences*, vol. 26, 2008, no. 3, p. 153-162.
- EGUCHI, K., ANASE, T., OSUGA, H. 2009. Development of a high-performance liquid chromatography method to determine the fagopyrin content of tartary buckwheat (*Fagopyrum tartaricum* Gaertn.) and common buckwheat (*F. esculentum* Moench). In *Plant Production Science*, vol. 12, 2009, no. 4, p. 475-480.
- FABIAN, N., RODE, J., KOSIR, I. J., WANG, Z., ZHANG, Z., KREFT, I. 2003. Tartary buckwheat (*Fagopyrum tartaricum* Gaertn.) as a source of dietary rutin and quercitrin. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 51, 2003, no. 22, p. 6452-6455.
- FAO. Crops production. [online] s.a. [cit.11.02.2012] Retrieved from web: <faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>.
- GAJDOŠOVÁ, A., ŠTURDÍK, E. 2004. Biologické, chemické a nutrično-zdravotné charakteristiky pekárskeho cereálii. In *Nova Biotechnologica*, vol. 4, 2004, no. 1, p. 133-154.
- GUO, X., ZHU, K., ZHANG, H., YAO, H. 2010. Anti-tumor activity of a novel protein from tartary buckwheat. In *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 11, 2010, no. 12, p. 5201-5211.
- GUO, X. D., MA, Y. J., PARRY, J., GAO, J. M., YU, L. L., WANG, M. 2011. Phenolics content and antioxidant activity of tartary buckwheat from different locations. In *Molecules*, vol. 16, 2011, no. 12, p. 9850-9867.
- HANDOYO, T., MAEDA, T., URISU, A., ADACHI, T., MORITA, N. 2006. Hypoallergenic buckwheat flour preparation by *Rhizopus oligosporus* and its application to soba noodle. In *Food Research International*, vol. 39, 2006, no. 5, p. 598-605.
- HE, J., KLAG, M. J., WHELTON, P. K., MO, J. P., CHEN, J. Y., QIAN, M. C., MO, P. S., HE, G. Q. 1995. Oats and buckwheat intakes and cardiovascular disease risk factors in an ethnic minority of China. In *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 61, 1995, no. 2, p. 366-372.
- HIGASA, S., FUJIHARA, S., HAYASHI, A., KIMOTO, K., AOYAGI, Y. 2011. Distribution of a novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory substance (2"-hydroxynicotianamine) in the flour, plant parts, and processed products of buckwheat. In *Food Chemistry*, vol. 125, 2011, no. 2, p. 607-613.
- HINNENBURG, I., KEMPE, S., RÜTTINGER, H. H., NEUBERT, R. H. 2006. Antioxidant and photoprotective properties of an extract from buckwheat herb (*Fagopyrum esculentum* MOENCH). In *Pharmazie*, vol. 61, 2006, no. 3, p. 237-240.
- HOLASOVA, M., FIEDLEROVA, V., SMRCINOVA, H., ORSAK, M., LACHMAN, J., VAVREINOVA, S. 2002. Buckwheat – the source of antioxidant activity in functional foods. In *Food Research International*, vol. 35, 2002, no. 2-3, p. 207-211.
- HORBOWICZ, M., OBENDORF, R. L. 1992. Changes in sterols and fatty acids of buckwheat endosperm and embryo during seed development. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 40, 1992, no. 5, p. 745-750.
- HUI, K. M. 2008. Pharmaceutical compositions. United States Patent US7329422.
- IKEDA, S., YAMASHITA, Y., TOMURA, K., KREFT, I. 2006. Nutritional comparison in mineral characteristics between buckwheat and cereals. In *Fagopyrum*, vol. 23, 2006, p. 61-65.
- JIANG, P., BURCZYNSKI, F., CAMPBELL, C., PIERCE, G., AUSTRIA, J. A., BRIGGS, C. J. 2007. Rutin and flavonoid contents in three buckwheat species *Fagopyrum esculentum*, *F. tartaricum*, and *F. homotropicum* and their protective effects against lipid peroxidation. In *Food Research International*, vol. 40, 2007, no. 3, p. 356-364.
- KAWA, J. M., TAYLOR, C. G., ZAHRADKA, P. C. 2011. Compositions and methods for management of diabetes. United States Patent US7993687.
- KIM, S. H., CUI, C. B., KANG, I. J., KIM, S. Y., HAM, S. S. 2007. Cytotoxic effect of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hull against cancer cells. In *Journal of Medicinal Food*, vol. 10, 2007, no. 2, p. 232-238.
- KIM, D. W., HWANG, I. K., LIM, S. S., YOO, K. Y., LI, H., KIM, Y. S., KWON, D. Y., MOON, W. K., KIM, D. W., WON, M. H. 2009. Germinated buckwheat extract decreases blood pressure and nitrotyrosine immunoreactivity in aortic endothelial cells in spontaneously hypertensive rats. In *Phytotherapy Research*, vol. 23, 2009, no. 7, p. 993-998.
- KOSUNA, K. I. 2006. Composition for the treatment of symptoms and conditions associated with ageing. United States Patent US7011856.
- KREFT, I., GERM, M. 2008. Organically grown buckwheat as a healthy food and a source of natural antioxidants. In *Agronomy Journal*, vol. 70, 2008, no. 4, p. 397-406.
- KRKOŠKOVÁ, B., MRÁZOVÁ, Z. 2005. Prophylactic components of buckwheat. In *Food Research International*, vol. 38, 2005, no. 5, p. 561-568.
- KURYAN, J., AGOSTINO, N. D., BONAGURA, V. R., BOXER, M. 2009. Buckwheat pillow exposure predisposes to buckwheat food-induced anaphylaxis: a case series. In *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, vol. 123, 2009, no. 2, p. 188.
- KWONG, C. W. K., REN, G., LAU, C. W. V., LAM, C. T., SHEN, Z. F. 2006. Buckwheat compound and method of obtaining the same for treatment of hyperglycemia. United States Patent US20060029690.
- LEE, S. C., PROSKY, L., DEVRIES, J. W. 1992. Determination of total, soluble nad insoluble dietary fiber in foods – enzymatic-gravimetric method, MES-TRIS buffer: collaborative study. In *Journal of AOAC International*, vol. 75, 1992, p. 395-416.
- LEE, J. S., BOK, S. H., JEON, S. M., KIM, H. J., DO, K. M., PARK, Y. B., CHOI, M. S. 2010. Antihyperlipidemic effects of buckwheat leaf and flower in rats fed a high-fed diet. In *Food Chemistry*, vol. 119, 2010, no. 1, p. 235-240.
- LI, S., ZHANG, Q. H. 2001. Advances in the development of functional foods from buckwheat. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 41, 2001, no. 6, p. 451-464.
- LIU, C. L., CHEN, Y. S., YANG, J. H., CHIANG, B. H. 2008. Antioxidant activity of tartary (*Fagopyrum tartaricum* (L.) Gaertn.) and common (*Fagopyrum esculentum moench*) buckwheat sprouts. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 56, 2008, no. 1, p. 173-178.
- MAZZA, G., OOMAH, B. D. 2003. Buckwheat. In: CABALLERO, B., Encyclopedia of food sciences and

nutrition, Oxford : Academic Press, 2003, p. 692-699, ISBN 978-0-12-227055-0.

MENG, X., RIORDAN, H. D., RIORDAN, N. H. 2002. High molecular weight extracts of *Convolvulus arvensis* (field bindweed) and *Polygonum Convolvulus* (wild buckwheat). United States Patent US20020127284.

MOGHADASIAN, M. H., FROHLICH, J. J. 1999. Effects of dietary phytosterols on cholesterol metabolism and atherosclerosis: clinical and experimental evidence. In *American Journal of Medicine*, vol. 107, 1999, no. 6, p. 588-594.

MORITA, N., MAEDA, T., SAI, R., MIYAKE, K., YOSHIOKA, H., URISU, A., ADACHI, T. 2006. Studies on distribution of protein and allergen in graded flours prepared from whole buckwheat grains. In *Food Research International*, vol. 39, 2006, no. 7, p. 782-790.

MUKODA, T., SUN, B., ISHIGURO, A. 2001. Antioxidant activities of buckwheat hull extract toward various oxidative stress *in vitro* and *in vivo*. In *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 24, 2001, no. 3, p. 209-213.

OOMAH, B. D., MAZZA, G. 1996. Flavonoids and antioxidative activities in buckwheat. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 44, 1996, no. 7, p. 1746-1750.

PARK, C. H., KIM, Y. B., CHOI, Y. S., HEO, K., KIM, S. L., LEE, K. C., CHANG, K. J., LEE, H. B. 2000. Rutin content in food products processed from groats, leaves and flowers of buckwheat. In *Fagopyrum*, vol. 17, 2000, p. 63-66.

PARK, B. J., PARK, C. H. 2004. Cytotoxic activities of tartary buckwheat against human cancer cells. In *Proceedings of the 9th International Symposium on Buckwheat*, Prague 2004, p. 665-668.

PARK, B. J., PARK, J. I., CHANG, K. J., PARK, C. H. 2004. Comparison in rutin content in seed and plant of tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*). In *Proceedings of the 9th International Symposium on Buckwheat*, Prague 2004, p. 626-629.

PENG, Y., LIU, F., YE, J. 2004. Determination of phenolic compounds in the hull and flour of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) by capillary electrophoresis with electrochemical detection. In *Analytical Letters*, vol. 37, 2004, no. 13, p. 2789-2803.

PEREZ-VIZCAINO, F., DUARTE, J. 2010. Flavonols and cardiovascular disease. In *Molecular Aspects of Medicine*, vol. 31, 2010, no. 6, p. 478-494.

PETR, J., KALINOVÁ, J., MOUDRÝ, J., MICHALOVÁ, A. 2004. Historical and current status of buckwheat culture and use in the Czech Republic. In *Proceedings of the 9th International Symposium on Buckwheat*, Prague 2004, p. 30-33.

QIN, P., WANG, Q., SHAN, F., HOU, Z., REN, G. 2010. Nutritional composition and flavonoids content of flour from different buckwheat cultivars. In *International Journal of Food Science & Technology*, vol. 45, 2010, no. 5, p. 951-958.

RATAN, P., KOTHIYAL, P. 2011. *Fagopyrum esculentum* Moench (common buckwheat) edible plant of Himalayas: A review. In *Asian Journal of Pharmacy and Life Science*, vol. 1, 2011, no. 4, p. 426-442.

REN, W., QIAO, Z., WANG, H., ZHU, L., ZHANG, L., LU, Y., ZHANG, Z., WANG, Z. 2003. Molecular basis of Fas and cytochrome c pathways of apoptosis induced by tartary buckwheat flavonoid in HL-60 cells. In *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, vol. 25, 2003, no. 6, p. 431-436.

ROBERFROID, M. 1993. Dietary fiber, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects.

In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 33, 1993, no. 6, p. 103-148.

SCHERZ, H., SENSER, F. 1994. *Food composition and nutrition tables*, Boca Raton : CRC Press, 1994, 1030 p., ISBN 978-0849375507.

SHEN, M., CHAPMAN, R. S., HE, X., LIU, L. Z., LAI, H., CHEN, W., LAN, Q. 2008. Dietary factors, food contamination and lung cancer risk in Xuanwei, China. In *Lung Cancer*, vol. 61, 2008, no. 3, p. 275-282.

SOHN, H. Y., KWON, C. S., SON, K. H., KWON, G. S., RYU, H. Y., KUM, E. J. Antithrombin and thrombosis prevention activity of buckwheat seed, *Fagopyrum esculentum* Moench. In *Journal of The Korean Society of Food Science and Nutrition*, vol. 35, 2006, no. 2, p. 132-138.

SON, B. K., KIM, J. Y., LEE, S. S. 2008. Effect of adlay, buckwheat and barley on lipid metabolism and aorta histopathology in rats fed an obesogenic diet. In *Annals of Nutrition and Metabolism*, vol. 52, 2008, no. 3, p. 181-187.

STEADMAN, K. J., BURGOON, M. S., LEWIS, B. A., EDWARDSON, S. E., OBENDORF, R. L. 2001. Buckwheat seed milling fractions: Description, macronutrient composition and dietary fibre. In *Journal of Cereal Science*, vol. 33, 2001, no. 3, p. 271-278.

TIAL, Q., LI, D., PATIL, B. S. 2002. Identification and determination of flavonoids in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench, Polygonaceae) by high-performance liquid chromatography with electrospray ionisation mass spectrometry and photodiode array ultraviolet detection. In *Phytochemical Analysis*, vol. 13, 2002, no. 5, p. 251-256.

THOMÉ, O. W. 2003. Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz. [online] s.a. [cit.11.02.2012] Dostupné na inetrnete: <<http://www.biolib.de/>>.

VERARDO, V., ARRÁEZ-ROMÁN, D., SEGURA-CARRETERO, A., MARCONI, E., FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A., CABONI, M. F. 2010. Identification of buckwheat phenolic compounds by reverse phase high performance liquid chromatography-electrospray ionization-time of flight-mass spectrometry (RP-HPLC-ESI-TOF-MS). In *Journal of Cereal Science*, vol. 52, 2010, no. 2, p. 170-176.

VERHOEYEN, M. E., WISEMAN, S. A. 2008. Use of plants with increased levels of flavonol glycosides in reducing hypertension. United States Patent US20080107792.

VOJTIŠKOVÁ, P., KMENTOVÁ, K., KUBÁŇ, V., KRÁČMAR, S. 2012. Chemical composition of buckwheat plant (*Fagopyrum esculentum*) and selected buckwheat products. In *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, vol. 1, 2012, p. 1011-1019.

WANG, M., LIU, J. R., GAO, J. M., PARRY, J. W., WEI, Y. M. 2009. Antioxidant activity of Tartary buckwheat bran extract and its effect on the lipid profile of hyperlipidemic rats. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 57, 2009, no. 11, p. 5106-5112.

WIESLANDER, G., FABJAN, N., VOGRINČIČ, M., KREFT, I., JANSON, C., SPETZ-NYSTRÖM, U., VOMBERGAR, B., TAGESSON, C., LEANDERSON, P., NORBÄCK, D. 2011. Eating buckwheat cookies is associated with the reduction in serum levels of myeloperoxidase and cholesterol: A double blind crossover study in day-care centre staffs. In *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, vol. 225, 2011, no. 2, p. 123-130.

WU, J. P., MUIR, A. D., ALUKO, R. E. 2009. ACE inhibitory peptides from plant materials. United States Patent US7566690.

YAO, L. H., JIANG, Y. M., SHI, J., TOMÁS-BARBERÁN, F. A., DATTA, N., SINGANUSONG, R., CHEN, S. S., 2004. Flavonoids in foods and their health benefits. In *Plant Foods for Human Nutrition*, vol. 59, 2004, no. 3, p. 113-122.

ZHANRONG, Y., XIULIAN, L. 2007. Determination of rutin content on chinese buckwheat cultivars. In *Proceedings of the 10th International Symposium on Buckwheat*, China 2007, p. 465-468.

ZHENG, C., HU, C., MA, X., PENG, C., ZHANG, H., QIN, L. 2012. Cytotoxic phenylpropanoid glycosides from *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn. In *Food Chemistry*, vol. 132, 2012, no. 1, p. 433-438.

ZIELIŃSKA, D., SZAWARA-NOWAK, D., MICHALSKA, A. 2007. Antioxidant capacity of thermally-treated buckwheat. In *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, vol. 57, 2007, no. 4, p. 465-470.

Acknowledgments:

This article was part of the project funded by the Agency of the Ministry of Education, Science, Research and Sport of The Slovak Republic for EU Structural Funds entitled "Evaluation of natural substances and their choice for the prevention and treatment of lifestyle diseases" (ITMS 26240220040).

Contact address:

Mgr. Martina Danihelová, Institute of Biochemistry, Nutrition and Health Protection, Department of Nutrition and Food Assessment, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology in Bratislava, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovakia, 02/59325400, E-mail: martina.danihelova@stuba.sk.

doc. Ing. Ernest Šturdík, CSc., Institute of Biochemistry, Nutrition and Health Protection, Department of Nutrition and Food Assessment, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology in Bratislava, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovakia, 02/59325524, E-mail: ernest.sturdik@stuba.sk.

BAKERY ENZYMES IN CEREAL TECHNOLOGIES

Eubomír Mikuš, Ladislav Dodok, Mária Kováčová, Ladislav Staruch, Václav Koman

ABSTRACT

Bread is the most common and traditional food in the world. For years, enzymes such as malt and fungal alpha-amylase have been used in bread making. Due to the changes in the baking industry and the ever-increasing demand for more natural products, enzymes have gained real importance in bread-making. If an enzyme is added, it is often destroyed by the heat during the baking process. For generations, enzymes have been used for the improvement of texture and appearance, enhancement of nutritional values and generation of appealing flavours and aromas. Enzymes used in bakery industry constitute nearly one third of the market. The bakery products have undergone radical improvements in quality over the past years in terms of flavour, texture and shelf-life. The biggest contributor for these improvements is the usage of enzymes. Present work seeks to systematically describe bakery enzymes, their classification, benefits, usage and chemical reactions in the bread making process.

Keywords: bakery products, enzymes, bread, volume, shelf-life

ÚVOD

S intenzifikáciou mechanických postupov v cereálnych technológiách vyplynula potreba súbežne zabezpečovať aj optimalizáciu základných biochemických, chemických a fyzikálnych procesov v týchto technológiách.

K týmto účelom slúži rad zlepšujúcich prostriedkov. Sú to predovšetkým enzýmy, povrchovo aktívne látky (emulgátory), oxidačné, redukčné činidlá, hydrokoloidy, atď.

Ďalším dôvodom ich používania je tiež menlivosť vlastnej základnej suroviny - múky. Atraktívne je aj použitie istých zlepšovadiel za účelom vývoja nových druhov cereálnych výrobkov. Aktuálne je aj ich využitie pri snahe o predĺženie trvanlivosti finálnych výrobkov. Vývoj v celej tejto oblasti smeruje od využitia jednotlivých zlepšovadiel až ku komplexným zmesiam za účelom dosiahnutia viacerých účinkov.

VÝZNAM, HISTÓRIA A VYUŽITIE ENZÝMOV

Enzýmy sú bielkovinové biokatalyzátory urýchľujúce už pri teplotách okolo 37 °C chemické reakcie niekoľkonásobne rýchlejšie ako je tomu pri reakciách nekatalyzovaných. Sú špecifické pre katalýzu určitého typu reakcií (Hampl et al., 1985).

Pri riešení danej problematiky musíme mať na zreteli, že pri múkach osobitne sa stretávame s realitou, že v tejto základnej surovine sa už nachádza niekoľko druhov enzýmov, ale v rôznych množstvách.

Preto sa snažíme v určitých prípadoch ich účinky zosilniť zvýšením ich množstva (jednotlivo, alebo v rôznych kombináciách).

Z enzýmov najskôr bola v cereálnych technológiách používaná amyláza vo forme sladovej múky za účelom zvýšenia amylolytickej aktivity pšeničnej múky na požadovanú úroveň. Následným enzýmom bola v praxi využívaná lipoxigenáza, ktorá sa pridávala vo forme enzýmovo aktívnej sójovej múky, alebo čiastočne

prečisteného preparátu, hlavne za účelom získania svetlejšej striedky finálnych výrobkov (Poutanen, 1997).

Postupom času s rastúcimi požiadavkami na zvýšenie kvality múk, nástupom nových technológií, vplyvom rozširovania sortimentu cereálnych výrobkov sa pristúpilo k aplikácii ďalších enzýmov a enzýmových preparátov ako sú proteázy, hemicelulázy, lipázy a ď.

Rozdelenie enzýmov používaných v cereálnych technológiách:

- amylázy,
- hemicelulázy,
- proteázy,
- lipázy,
- lipoxigenázy,
- glukózaoxidáza,
- transglutamináza.

VPLYV PODMIENOK PROSTREDIA NA AKTIVITU ENZÝMOV

Podmienky prostredia podstatným spôsobom ovplyvňujú kinetiku enzýmových reakcií. Okrem druhu a koncentrácie substrátu majú veľký vplyv pH prostredia, teplota, obsah vody, ióny, prípadne niektoré ďalšie.

Reakčná rýchlosť enzýmov je funkciou koncentrácie substrátu. Zvyšovaním koncentrácie substrátu najskôr rýchlosť reakcie rastie, potom sa rast spomaľuje až po dosiahnutie maxima.

Každý enzým vykazuje optimálnu aktivitu pri určitých hodnotách pH prostredia. Pri extrémnych hodnotách pH (nízkych i vysokých) sú enzýmy inaktivované.

Výrazný vplyv na aktivitu enzýmov má teplota. Jej zvyšovaním rastie rýchlosť enzýmovej reakcie, ale súčasne môže vzrastať i rýchlosť rozkladu komplexu enzýmov a substrátu, môže sa meniť afinita k aktivátorom a inhibítorom. Po dosiahnutí optimálnej teploty reakčná

rýchlosť enzýmov klesá, postupne dochádza k denaturácii bielkovinovej časti enzýmu a tým k jeho inaktivácii (Davídek et al., 1983).

Jednotlivé enzýmy majú optimálnu a inaktivačnú teplotu i hodnotu pH značne rozdielnu. Pri nižšej aktivite vody je enzýmovej reakcii sprístupnená iba malá časť substrátu. Pri nízkom obsahu vody sú enzýmy termostabilnejšie. Aktivita enzýmov (okrem ich množstva) môže byť ovplyvňovaná aj pôsobením rôznych látok a to pozitívne (aktivátory - sú napr. niektoré ióny Ca, Mg, Zn, atď., anióny, organické látky). Kovové ióny zrejme sprostredkovávajú vznik komplexov medzi enzýmom a substrátom, alebo ho spevňujú. Mnohé tiež aktivujú enzým tým, že väzbou na iné miesta molekuly enzýmu vyvolávajú priaznivú zmenu štruktúry aktívneho centra. Negatívne pôsobia inhibítory, ktoré brzdia enzýmové reakcie. Inhibítorov je veľké množstvo a sú najrôznejšej povahy s rôznymi účinkami (napr. blokujú rôzne funkčné skupiny, ktoré sú súčasťou aktívnych centier) (Šícho et al., 1981).

AMYLÁZY

Amylázy, ktoré boli prvými enzýmami pridávanými do cesta sú najčastejšie predmetom výskumu v oblasti využitia enzýmov v cereálnych technológiách aj v súčasnej dobe (Dodok, 1988).

Zatiaľ čo boli pôvodné amylázy používané predovšetkým na generovanie skvasiteľných cukrov, v súčasnej dobe sa sústreďuje pozornosť skôr na ich schopnosť spomaľovať proces „starnutia“ striedky chleba a pečiva.

Najznámejšie enzýmy štiepiace škrob múky (amylózu, amylopektín) a jeho deriváty (dextríny, oligosacharidy) sú alfa a beta amyláza.

Alfa-amyláza katalyzuje hydrolyzu vnútorných alfa 1,4-glykozidových väzieb a je označovaná starším názvom ako dextrinogénna endoamyláza, pretože štiepi škrob vo vnútri molekuly na degradačné produkty, predovšetkým na dextríny (Maarel et al., 2002).

Beta-amyláza je špecifická pre obdobné substráty ako alfa-amyláza ale s tým rozdielom, že ako exoamyláza pôsobí iba na vonkajšie reťazce a odštiepuje z nich maltózu od neredukujúceho konca. Hydrolyza pokračuje až do bodu vetvenia reťazca, ktorý je pre tento enzým bariérou ďalšej činnosti. Z amylopektínu tak vznikajú vedľa maltózy tzv. limitné (hraničné) dextríny a malé množstvo vysokomolekulových dextrínov. V múke beta-amyláza štiepením dextrínov za vzniku maltózy prispieva k lepšej plynutvornosti múky. Beta-amyláza oveľa účinnejšie pôsobí na dextríny ako na škrob. Ešte väčšie množstvo maltózy sa tvorí jej pôsobením na škrobový maz (Goesaert et al., 2009).

Amylázy majú rôzny pôvod. Najčastejšie sa alfa-amyláza pridáva vo forme sladovej múčky z jačmeňa. Ďalším zdrojom amyláz sú vlákňité huby alebo baktérie.

Alfa-amyláza pridávaná vo forme sladovej múčky má však rad nedostatkov a preto sa v zmesiach dáva prednosť použitiu preparátov napr. amyláz vláknitých húb, ktoré sú tepelne menej rezistentné a teda pri pečení sa rýchlejšie inaktivujú (Příhoda et al., 2003).

Alfa-amylázy vláknitých húb sa pridávajú všade tam, kde je potrebné zvýšiť koncentráciu skvasiteľných cukrov.

Výhodou týchto preparátov je tiež nízka, alebo žiadna proteolytická aktivita (najmä

v porovnaní so sladovou múčkou, ktorá po prekročení určitej teploty nepriaznivo ovplyvňuje štruktúrno-mechanické vlastnosti ciest). Aplikácia alfa-amylázy vláknitých húb je vhodná pri použití múky s nízkou amylolytickou aktivitou. Na rozdiel od cereálnej amylázy je inaktivovaná pri počiatkových teplotách pečenia, čím sa zaručí, že sa nebudú tvoriť dextríny spôsobujúce nežiaducu lepkosť. Priaznivým efektom alfa-amylázy vláknitých húb je aj zväčšenie objemu výrobku (Velíšek et al., 2009).

Bakteriálna alfa-amyláza produkovaná kmeňom *Bacillus subtilis* je výrazne termostabilnejšia ako alfa-amyláza vláknitých húb. Svoju aktivitu si udržiava pomerne veľmi dlho (91°C i viac).

Termostabilná bakteriálna alfa-amyláza má značný vplyv na kvalitu finálneho výrobku. Je schopná spomaliť starnutie vplyvom hydrolyzy glykozidových väzieb v amorfnej oblasti zmazovaného škrobu v teplotnom rozmedzí, kde amylázy vláknitých húb už boli deaktivované. Má však aj nevýhodu, že je náchylná k predávkovaniu. Vplyvom svojej termostability štiepi škrob vo vnútri výrobku počas celej doby jeho pečenia, spôsobuje jeho nadmernú degradáciu. Zvýšený obsah rozpustných dextrínov spôsobuje gumovitú a lepkavú striedku (Příhoda et al., 1996).

Výhodnejšie postavenie má maltogénna amyláza, ktorá má termostabilitu medzi amylázou vláknitých húb a bakteriálnou amylázou. Je schopná štiepiť glykozidové väzby počas mazovania škrobu pri pečení, avšak štiepi iba časť škrobových molekúl. Je inaktivovaná v neskorších štádiách pečenia. Takto upravená amyláza pôsobí iba proti starnutiu, nemá vplyv na objem ani textúru striedky, nehrozí jej predávkovanie. Používa sa v kombinácii s ostatnými enzýmami (Takácsová et al., 1996).

Optimum pH alfa-amylázy prítomnej v múke je asi 5,5. Alfa-amyláza sa na rozdiel od beta-amylázy inaktivuje pod pH 3,3. Jej aktivita sa znižuje nízkym aj vyšším pH. Alfa-amyláza má vyššiu tepelnú stabilitu ako beta amyláza. Jej teplotné optimum je v rozsahu 60 až 70 °C, inaktivuje sa pri teplote asi 85°C. Silnými inhibítormi alfa-amylázy sú soli striebra a medi. V pšeničnom zrne sa vyskytujú tiež jej inhibítory a to v albumínovej frakcii (Bartlová et al., 1976).

Teplotné optimum pôsobenia beta-amylázy je 55 až 60 °C, inaktivuje sa pri teplote 70 až 75 °C. Optimum pH beta-amylázy je asi 5,2. Beta-amyláza v porovnaní s alfa-amylázou intenzívnejšie pôsobí v kyslejšom prostredí. Inhibítorom beta-amylázy je napr. kyselina askorbová. Účinok beta-amyláz brzdia ióny vápnika, najmä pri vysokej teplote a vysokom pH (Duxbury, 1990).

VÝZNAM VYUŽITIA AMYLOLYTICKÝCH ENZÝMOV V CEREÁLNYCH TECHNOLOGIÁCH

- zvyšujú množstvo redukujúcich cukrov v ceste s čím súvisí zvyšovanie plynutvornej schopnosti cesta a následného zvyšovania objemu výrobku. Štiepenie škrobu a tvorba kvasných plynov pôsobením amyláz si vyžaduje určitý čas, podmienky, preto sa prídavok amylolytických enzýmov prejaví na cestách

s dostatočnou dobou zrenia a kysnutia, ale aj s malým prídavkom cukru (pri cestách s prídavkom nad 4 % cukru sa účinok amyláz väčšinou už neprejaví zvýšeným objemom výrobku) (**Gupta et al., 2003**).

- prifarbovanie kôrky: K zlepšeniu sfarbenia kôrky dochádza vplyvom tvoriacich sa dextrínov pôsobením amyláz, ale i vplyvom vyšších teplôt pri pečení, kedy dochádza okrem tvorby dextrínov (tepelná dextrinácia škrobu) aj k tvorbe Maillardových reakcií. K tomuto ešte pristupuje ďalší faktor - karamelizácia sacharózy (zvlášť má význam pri trvanlivom pečive) (**Hegenbart, 1994**).
- zlepšenie textúry, pružnosti, pórovitosti striedky: K zlepšeniu textúry striedky vplyvom sladových a mikromicétnych amyláz dochádza pravdepodobne z dôvodu zníženia konzistencie cesta a tým k zlepšeniu jeho spracovateľnosti (**Hegenbart, 1994**).
- zlepšenie organoleptických vlastností výrobku (zintenzívnenie vône, sfarbenia, zlepšenia chuti) a to už tvorbou týchto látok počas kvasného procesu a následne aj v priebehu pečenia vplyvom Maillardových reakcií, ďalšie vplyvy počas pečenia sú tepelná dextrinácia škrobu a karamelizácia sacharózy (**Hegenbart, 1994**).
- spomalenie starnutia výrobku: Čo sa týka trvanlivosti pekárskeho výrobku, ktoré sa prejavujú pozitívne udržiavaním jemnosti, vláčnosti a elasticitou striedky (na opačnej strane negatívne starnutím striedky - zvýšením jej tuhosti, drobnosťou ale aj celkovým tvrdnutím výrobku) výskum prináša stále nové objasnenia okrem vplyvu amyláz, čo je téma veľmi obsiahla a vyžaduje si samostatné väčšie pojednanie (**Hegenbart, 1994**).

HEMICELULÁZY (PENTOZANÁZY, XYLANÁZY)

Termín hemicelulózy je spoločným názvom pre štruktúrne necelulóзовé polysacharidy bunecných stien rastlín, ktoré vyplňajú priestory medzi celulóзовými vláknami. Zaraďujú sa k nim dve hlavné skupiny polysacharidov: heteroglukany (hlavne xyloglukany a beta-glukany) a heteroxylany, v menšom množstve sa vyskytujú heteromannany atď. (**Labell, 1991**).

Heteroxylany sú hlavnými polysacharidmi primárnych bunecných stien jednoklíčolistových rastlín a lignifikovaných buniek jedno a dvojklíčolistových rastlín, ktoré majú ako zložky potravy značný význam. Vzhľadom na primárnu štruktúru sa niektoré heteroxylany nazývajú arabinoxylany a často dosiaľ tiež starším názvom pentózany. Majú vysokú schopnosť viazať vodu. Sú rozpustné (asi 35 % z celkového množstva) a nerozpustné (**Leggio et al., 1999**).

Vodou nerozpustný arabinoxylan je schopný naviazať približne desaťnásobok jeho hmotnosti. Táto je dôležitým činiteľom v ceste. Pri optimálnom prídavku endoxylanázy sa odbúravajú vodou nerozpustné arabinoxylany do takej miery, že prebieha mierne uvoľnenie vody. Táto voda je prerozdelená medzi ďalšie zložky cesta a je napríklad viazaná aj do štruktúry lepku. To má za následok zlepšenie vývinu a ťažnosti lepku, zlepšenie retencie plynov (zväčšenie objemu výrobku) a menší odpor voči kysnutiu. Vodou rozpustné frakcie vytvárajú viskózne vodné roztoky. Viskozita roztoku je závislá na molekulovej hmotnosti a forme polyméru prítomného v roztoku. Endoxylanázová aktivita bakteriálnej hemicelulózy je schopná odbúrať vodou rozpustné frakcie, čo má za

následok zmenu viskozity (**Benešová et al., 1997; Damen et al., 2012**).

Pri vyšších obsahoch vodou rozpustných frakcií arabinoxylanov, ktorých sa dosiahne pôsobením vyšších dávok hemiceluláz, nie je už možné predpokladať vyššie objemy výrobkov. Najpravdepodobnejším vysvetlením tohto javu je, že keď je odbúrané pomerne veľa vodou rozpustných frakcií arabinoxylanov, zníži sa viskozita a pravdepodobne bude cesto nestabilné, čo povedie k zníženiu objemu výrobku. Ak je pôsobenie enzýmu riadené smerom k získaniu vodou nerozpustných frakcií, výsledkom môže byť dobrá kvalita cesta a výrobku, a to hlavne jeho objem. Rôzne typy hemiceluláz spôsobujú suchšie alebo menej suché cestá s rôznymi objemami výrobkov (**Lúčny, 1984**).

Endoxylanáza vláknitých húb, ak hydrolyzuje prednostne vodou nerozpustné frakcie arabinoxylanov a má pravdepodobne menšiu afinitu k rozpustným frakciám, čo má za následok suchšie cestá (optimálne viazanie vody v ceste) a získavanie väčších objemov výrobku (**Káš et al., 1983; Wang et al., 2004**).

Avšak prerozdelenie zadržanej vody môže tiež ovplyvniť interakcie medzi rôznymi polymérmi v ceste. Pri odbúraní arabinoxylanu endoxylanázou majú kovalentné väzby medzi arabinoxylanmi a lepkom menší vplyv na pevnosť cesta. Majú vplyv aj na zníženú rýchlosť retrogradácie škrobu a teda na starnutie pekárskeho výrobku (**Hampl et al., 1981; Jiang et al., 2005**).

Zhrnutie účinkov endoxylanázy vláknitých húb:

- zlepšenie vývinu cesta,
- optimalizácia ťažnosti lepku a retencie plynu,
- zlepšenie odolnosti cesta a stability kysnutia,
- zlepšenie rastu objemu v peci a objemu výrobku,
- zlepšenie štruktúry striedky (jemná, pravidelná) a jej elasticity.

PROTEÁZY

Enzymovú hydrolyzu bielkovín katalyzujú proteázy. Rozdeľujú sa na proteínázy (endopeptidázy), ktoré štiepia peptidové väzby vnútri polypeptidového reťazca a peptidázy (exopeptidázy), ktoré štiepia polypeptidový reťazec len na jeho koncoch (odštiepujú koncové aminokyseliny, prípadne dipeptidy, tripeptidy).

Enzýmy tejto skupiny môžu byť cereálneho, mikromicétného alebo bakteriálneho pôvodu.

Pôsobenie proteáz, ktorým dochádza k oslabeniu lepku, je do istej miery obdobný účinkom redukčných činidiel a tým dôležitým rozdielom, že štiepenie činnosťou proteáz je určované nielen veľkosťou prídavku ale i dĺžkou pôsobenia. Táto časová závislosť je hlavným faktorom pri určovaní optimálneho spôsobu aplikácie proteáz.

Prvotným a základným výsledkom proteolýzy v ceste je deagregujúci účinok proteínázy na bielkoviny, avšak bez rozštiepenia peptidových väzieb (štiepia sa iné väzby).

Narušenie medzimolekulových spojení, zmeny a oslabenie terciárnej štruktúry v molekulách bielkoviny, uľahčujú a zrýchľujú napučovanie a v dôsledku peptizácie zväčšujú časť bielkoviny, prechádzajúcej do kvapalnej fázy cesta. Zodpovedajú tomu aj zmeny fyzikálnych vlastností lepkovej štruktúry cesta, prejavujúce sa jej oslabením.

Proteinázy majú optimum účinnosti pH v oblasti 3,8 až 4,6 a teplotu približne 45 °C.

Medzi aktivátory preteinázy patrí napr. cysteín, glutatión a inhibítormi sú oxidačné činidlá.

Peptidázy nemajú v pekárstve veľký význam, hlavná pozornosť sa sústreďuje na proteinázy. V múke sa nachádzajú vo väčšom množstve, ale v inaktívnej forme. Ich aktivitu vyvolávajú aktivátory, ktoré sa môžu dostať do cesta napríklad droždím.

Oxidáciou strácajú aktivátory účinnosť a proteázy zostávajú v inaktívnej forme. Oxidácia aktivátorov sa dosiahne prídavkom vhodných zlúčenín (kyselina L-askorbová, z ďalších ale u nás zakázaných sú to bromičnany, jodičnany). Aktivátory bývajú oxidované aj bez prídavku cudzorodých oxidačných látok a to za prístupu vzduchu, čo sa deje pri manipulácii s múkou v silách, ale aj počas skladovania múk. V múkach z prerasteného obilia sa zvyšuje aj obsah preteolytických enzýmov. Najviac aktívne v obilke sú proteolytické enzýmy nachádzajúce sa v klíčku (**Arendt et al., 2007**).

Proteázy sa používajú pri silných múkach, na zoslabenie lepku. Ich pôsobením je cesto ťažnejšie a voľnejšie. Pri optimálnom prídavku môže dôjsť aj k zníženiu doby miesenia vplyvom hydrolýzy peptidových väzieb. Pri ich aplikácii musí byť však zvýšená opatrnosť, aby nedošlo až k prílišnej hydrolýze, ktorá by mala za následok podstatné zoslabenie lepkovej bielkoviny a tým aj zníženie objemu výrobku. Ich vhodné použitie v pekárskej technológii je najmä pri cestách na šišky, hamburgery, pizzy a muffiny. Najväčšie použitie nachádzajú pri výrobe niektorých druhov trvanlivého pečiva - predovšetkým oblátok, v kombinácii s inými enzýmami pri cestách krekrových, kde sa prejavuje ich účinok hlavne pri tvarovaní cesta ale aj všeobecne zlepšením krehkosti výrobku (**Goesaert et al., 2005**).

Základné funkčné účinky proteáz (**Moodie, 2001**):

- redukovanie doby miesenia (pri vhodnej teplote, pH a sile múky až o 25 %),
- zlepšenie spracovateľnosti cesta,
- zvýšená retencia plynu (lepok opracovaný optimálnym množstvom proteáz je ťažnejší a zadržiava viac plynu),
- rýchlejšie a rovnomernejšie vyplňovanie foriemi cestom v dôsledku zlepšenia tokových vlastností cesta,
- zlepšenie kvality finálnych výrobkov, predovšetkým tvaru, textúry a pórovitosti striedky (dochádza aj k predlžovaniu doby čerstvosti),
- zintenzívnenie farby kôrky (vznik voľných aminokyselín prispieva k zlepšeniu farby v dôsledku Maillardovej reakcie),
- ovplyvnenie chuti a arómy výrobkov produktami Maillardového typu výsledkami interakcií karbonylových zlúčenín s aminokyselinami uvoľnenými proteolytickým štiepením proteínov.

LIPÁZY

V cereálnej technológii sa využívajú lipázy vláknitých húb, ktoré katalyzujú hydrolýzu triacylglycerolov na di a mono acylglyceroly. Monoacylglyceroly sa môžu

ďalej hydrolyzovať na voľné mastné kyseliny a glycerol. Uvoľňované monoacylglyceroly a mastné kyseliny môžu tvoriť komplex s helixom amylózy škrobu. Vplyvom tohto komplexu je potlačená retrogradácia škrobu, čo spôsobuje zmäknutie striedky a predĺženie jej čerstvosti. Okrem toho lipázy pôsobia pozitívne na zlepšenie reologických vlastností ciest, zlepšenie štruktúry a pružnosti striedky (ktorá je tiež svetlejšia) a k nárastu objemu finálneho výrobku (**Hasan et al., 2006; Moayedallaie et al., 2010**).

Použitie lipolytického enzýmu podstatne redukuje potrebu emulgátorov, prípadne ich možno v niektorých prípadoch aj vylúčiť (**Kapoor et al., 2012**).

Z obilnín má najmenej aktívnu lipázu pšeničné zrno a ovos najviac aktívnu. Pri prerastaní zrna sa taktiež zvyšuje aktivita lipázy. V obilke sa vyskytuje najviac v klíčku, potom v periférnych vrstvách zrna a najmenej v endosperme. Maximálnu aktivitu dosahuje pri pH asi 7,5 a teplote 38 °C. Pri teplote 50 °C sa inaktivuje. V múkach pôsobia lipázy hlavne v procese ich uskladňovania, najmä pri vyššej vlhkosti a teplote štiepením tukov, s čím súvisí zvyšovanie kyslosti múky (**Sharma et al., 2001**).

LIPYOXYGENÁZY

Lipoxigenáza (lipoxidáza) katalyzuje oxidáciu nenasýtených mastných kyselín, na hydroperoxydy, ktoré reagujú s lepkovými bielkovinami, ale aj s farebnými pigmentami, čoho dôsledkom sú žiaduce vlastnosti cesta. Tento proces doteraz nie je ešte komplexne uspokojivo vysvetlený. Je predpoklad, že je spôsobený reakciami lipidov, lipidových voľných radikálov, hydroperoxidov a možno ešte niektorých štiepných produktov vznikajúcich pri týchto reakciách (**Junqueira et al., 2007**).

V pekárskej technológii sa používa lipoxigenáza predovšetkým vo forme aktívnej sójovej múky, sójových extraktov, preparátov zo zeleného hrášku, alebo ako čistý enzým. Účinky lipoxigenázy sa prejavujú v zlepšení farby striedky (deštrukcia karotenoidov), ovplyvnením arómy a chuti hotových výrobkov, v zlepšení reologických vlastností ciest ale aj zvýšením objemu finálneho výrobku. Jej vplyv na cesto sa prejavuje zvýšením tolerancie ciest k mieseniu a ich spracovaniu. Je obdobný ako pri prípravkoch určených na spevnenie cesta.

Pri jej aplikácii môže však dôjsť aj k nepriaznivému efektu prejavujúcemu sa zhoršením senzorických vlastností vplyvom oxidačného tuchnutia.

Lipoxigenáza pôsobí v širokom teplotnom rozmedzí od 40 °C až do -20 °C, jej najväčšia aktivita sa pozorovala pri teplote 30 až 40 °C, inaktivácia nastáva pri teplote 60 °C. Má negatívny vplyv na akosť uskladnenej múky. V zrne pšenice a raži sa vyskytuje v pomerne malom množstve (**Baysal et al., 2007**).

GLUKÓZAOXIDÁZA

Tento enzým reaguje s glukózou za postupnej tvorby kyseliny glukurónovej a peroxidu vodíka, ktorý je silným oxidačným prostriedkom zosilňujúcim lepkovú sieť prostredníctvom oxidácie tiolových skupín na disulfidové. Oxidačné prostriedky v cereálnej technológii (napr. bromičnan) môžu byť nahradené enzýmami, alebo zmesou enzýmov, ktoré sú založené na uvedenom princípe. K tomuto enzýmu je ešte možné použiť aj ďalšie enzýmy so synergickým účinkom (**Caballero et al., 2007**).

TRANSGLUTAMINÁZA

Transglutamináza (proteín-glutamin-glutamyl-transferáza) modifikuje funkciu bielkovín. Mikrobiálna transglutamináza (TGM) tvorí nedisulfidové kovalentné priečne väzby v proteínoch. Má obdobný pozitívny vplyv ako tradičné oxidačné potravinárske aditíva, ktoré vytvárajú disulfidové väzby. TGM katalyzuje acyl-transferázové reakcie, pri ktorých sa vytvárajú priečne väzby v proteínoch zo zvyškov lyzínu a glutamínu, bez redukcie nutritívnej hodnoty zvyškov lyzínu. Uvedené reakcie vedú teda k ochrannému efektu na lyzín v potravinových bielkovinách a v konečnom dôsledku ku zvýšeniu nutritívnej hodnoty potravín. Zmeny v proteínovej štruktúre spôsobené TGM významne vplyvajú nielen na vlastnosti cesta, ale aj finálnych výrobkov. TGM znižuje lepivosť cesta a zlepšuje zadržiavanie plynu v ceste, čo má za následok zväčšenie objemu pekárskych výrobkov. Okrem toho pomáha vylepšiť kvalitu slabej múky, zvyšuje jej väznosť, zlepšuje kvalitu pekárskych produktov, predlžuje ich čerstvosť a má uplatnenie aj pri výrobe mrazených ciest a polotovarov. Upečené výrobky majú okrem vyššieho objemu aj menej popraskanú kôrku, menšiu drobivosť a lepšiu štruktúru striedky. Pôsobí pomerne v širokom rozsahu pH, kjej inaktivácii dochádza počas pečenia (Gallagher et al., 2009).

ZÁVER

Enzýmy, ktoré sa nachádzajú v múkach, prípadne v niektorých surovinách ako i tie, ktoré sa aplikujú do cesta za rôznym účelom, sú jednými z najdôležitejších substancií v cereálnych technológiách. Zastávajú trvale dôležité miesto a to buď jednotlivito, alebo v komplexe enzýmov a to nielen počas úprav ciest, ich tvorby a spracovania ale aj s prejavmi vo finálnom výrobku (vplyv na objem, tvar, štruktúru striedky, organoleptické vlastnosti, trvanlivosť).

Ich pozitívne účinky možno ešte zvýrazniť prídavkom ďalších zlepšujúcich prostriedkov ako sú emulgátory, kyselina askorbová a ďalšie.

LITERATÚRA

ARENDE, E. K., RYAN, L. A. M., BELLO, F. D. 2007. Impact of sordough on the texture of bread. In *Food Microbiology*, vol. 24, 2007, p. 165-174.

BARTLOVÁ, D. 1976. Amyloglukozidáza a amylolytické enzýmy dosud používané v pekárskom průmyslu. In *Mlýnsko-pekárský průmysl*, vol. 22, 1976, p. 10-11.

BAYSAL, T., DEMIRDOVEN, A. 2007. Lipoxxygenase in fruits and vegetables: A review. In *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 40, 2007, p. 491-496.

BENEŠOVÁ, L. 1997. Potravinářství IV. UZPI, 1997, p. 57-82.

CABALLERO, P. A., GÓMEZ, M., ROSELL, C. M. 2007. Improvement of dough rheology, bread quality and bread shelf-life by enzyme combination. In *Journal of Food Engineering*, vol. 81, 2007, p. 42-53.

DAMEN, B., POLLET, A., DORNEZ, E., BROEKAERT, W. F., HAESSENDONCK, I. V., TROGH, I., ARNAUT, F., DELCOUR, J. A., COURTIN, CH. M. 2012. Xylanase-mediated in situ production of arabinoxylan oligosaccharides with prebiotic potential in whole meal breads and breads enriched with arabinoxylan rich materials. In *Food Chemistry*, vol. 131, 2012, p. 111-118.

DAVÍDEK, J., JANÍČEK, G., POKORNÝ, J. 1983. *Chemie potravin*. SNTL, ALFA, 1983, 632 p.

DODOK, L. 1988. *Chémia a technológia trvanlivého pečiva*. Alfa, 1988, 300 p.

DUXBURY, D. D. 1990. Fungal enzyme provides extended shelf-life, tolerance and stability. In *Food processing*, vol. 51, 1990, p. 92-94.

GALLAGHER, E. 2009. Improving gluten-free bread quality through the application of enzymes. In *Agro food industry hi-tech*, vol. 20, 2009, p. 34-37.

GOESAERT, H., BRIJS, K., VERAVERBEKE, W. S., COURTIN, C. M., GEBRUERS, K., DELCOUR, J. A. 2005. Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. In *Trends in Food Science & Technology*, vol. 16, 2005, p. 12-30.

GOESAERT, H., SLADE, L., LEVINE, H., DELCOUR, J. A. 2009. Amylases and bread firming – an integrated view. In *Journal of Cereal Science*, vol. 50, 2009, p. 345-352.

GUPTA, R., GIGRAS, P., MOHAPATRA, H., GOSWAMI, V. K., CHAUHAN, B. 2003. Microbial α -amylases: a biotechnological perspective. In *Process Biochemistry*, vol. 38, 2003, p. 1599-1616.

HAMPL, J. 1981. *Jakost pekárských a cukrárenských výrobků*. SNTL, 1981, 232 p.

HAMPL, J., PŘÍHODA, J. 1985. *Cereální chemie a technologie II*. VŠCHT, 1985, 248 p.

HASAN, F., SHAH, A. A., HAMEED, A. 2006. Industrial applications of microbial lipases. In *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 39, 2006, p. 235-251.

HEGENBART, S. 1994. Understanding Enzyme Function in Bakery Foods. In *Food Product Design*, [online] [November 1, 1994] [cit. 27.2.2012] Retrieved from the web: <<http://www.foodproductdesign.com/articles/1994/11/understanding-enzyme-function-in-bakery-foods.aspx>>.

JIANG, Z., LI, X., YANG, S., LI, L., TAN, S. 2005. Improvement of the breadmaking quality of wheat flour by the hyperthermophilic xylanase B from *Thermotoga maritima*. In *Food Research International*, vol. 38, 2005, p. 37-43.

JUNQUEIRA, R. M., CASTRO, I. A., AREAS, J. A. G., SILVA, A. C. C., SCHOLZ, M. B. S., MENDES, S. 2007. Application of response surface methodology for the optimization of oxidants in wheat flour. In *Food Chemistry*, vol. 101, 2007, p. 131-137.

KAPOOR, M., GUPTA, M. N. 2012. Lipase promiscuity and its biochemical applications. In *Process Biochemistry*, in press.

KÁŠ, J., HOLAS, J. 1983. Súčasný a budúci trendy cereálnej enzymologie. In *Mlýnsko-pekárský průmysl*, vol. 29, 1983, p. 161-163.

LABELL, F. 1991. Enzymes for baking improve volume. In *Food processing*, vol. 52, 1991, p. 134-135.

LEGGIO, L. L., PICKERSGILL, R. W. 1999. Xylanase-oligosaccharide interactions studied by a competitive enzyme assay. In *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 25, 1999, p. 701-709.

LÚČNY, M. 1984. Význam zlepšovacích přípravků pro pekárský průmysl. In *Mlýnsko-pekárský průmysl*, vol. 30, 1984, p. 304-308.

MAAREL, M. J. E. C., VEEN, B., UIDEHAAG, J. C. M., LEEMHUIS, H., DIJKHUIZEN, L. 2002. Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. In *Journal of Biotechnology*, vol. 94, 2002, p. 137-155.

MOAYEDALLAIE, S., MIRZAEI, M., PATERSON, J. 2010. Bread improvers: Comparison of a range of lipases with

a traditional emulsifier. In *Food Chemistry*, vol. 122, 2010, p. 495-499.

MOODIE, P. 2001. Traditional Baking Enzymes – Proteases. In *Enzyme Development Corporation*, 2001, p. 1-10. [online], [2001], [cit. 14.2.2012]. Retrieved from the web: <<http://www.enzymedevelopment.com/pdf/TRADITIONAL%20BAKING%20ENZYMES-PROTEASES%20AIB%205-01.pdf>>.

POUTANEN, K. 1997. Enzymes: An important tool in the improvement of the quality of cereal foods. In *Trends in Food Science & Technology*, vol. 8, 1997, p. 300-306.

PŘÍHODA, J., HUMPOLÍKOVÁ, O., NOVOTNÁ, D. 2003. Základy pekárenské technologie. Pekař a cukrář s.r.o., 2003, 363 p.

PŘÍHODA, J., NOVOTNÁ, D. 1996. Zlepšovací prostředky v pekárenské a cukrářské technologii. In *Ročenka pekaře a cukráře*, 1996, p. 29-38.

SHARMA, R., CHISTI, Y., BANERJEE, U. CH. 2001. Production, purification, characterization, and applications of lipases. In *Biotechnology Advances*, vol. 19, 2001, p. 627-662.

ŠÍCHO, V., VODRÁŽKA, Z., KRÁLOVÁ, B. 1981. Potravinářská biochemie. SNTL, ALFA, 1981, 360 p.

TAKÁCSOVÁ, M., PRÍBELA, A. 1966. *Chémia potravín*. STU, 1996, p. 86-88.

VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J. 2009. *Chemie potravín I*. OSSIS, 2009, 580 p.

WANG, M., VLIET, T., HAMER, R. J. 2004. Evidence that pentosans and xylanase affect the re-agglomeration of the gluten network. In *Journal of Cereal Science*, vol. 39, 2004, p. 341-349.

Acknowledgments:

The work was supported by The Agency of the Ministry of Education, Science, Research and Sport of the Slovak Republic for the Structural Funds of EU, OP R&D of ERDF in the frame of the Project "Evaluation of natural substances and their selection for prevention and treatment

of lifestyle diseases" (ITMS 26240220040) and by the agency APVV in the frame of project Nr. 0310-06 and VMSP-II-0024-09.

Contact address:

Lubomír Mikuš, Department of Nutrition and Food Assessment, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovak Republic,

E-mail: lubomir.mikus@stuba.sk

Ladislav Dodok, Department of Nutrition and Food Assessment, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovak Republic,

E-mail: ladislav.dodok@stuba.sk

Mária Kováčová, Department of Nutrition and Food Assessment, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovak Republic,

E-mail: maria_kovacova@stuba.sk

Ladislav Staruch, Department of Food Science and Technology, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovak Republic,

E-mail: ladislav.staruch@stuba.sk

Václav Koman, Department of Food Science and Technology, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovak Republic,

E-mail: vaclav.koman@stuba.sk

COMPARISON AND ASSESSMENT OF LEPTIN RECEPTOR EXPRESSION BY THE FOLLOWING ORIGAMI AETHEROLEUM STUDY AT BROILER CHICKENS COBB 500

Lubica Mrázová, Radoslav Židek, Mária Angelovičová, Martin Král

ABSTRACT

The recently discovered protein, leptin, is a 16 kD protein consisting of 146 amino acids which is synthesized primarily by adipose tissue and is secreted into the bloodstream after cleavage of the 21 amino acids signal peptide. Leptin impacts feed intake, the neuroendocrine-axis, metabolism and immunological processes. Leptin was first identified as the gene product found deficient in the obese ob/ob mouse. The hypothalamus appears to be the primary site of action, since leptin receptors are located within hypothalamic areas associated with control of appetite, reproduction and growth. Using herbs and essential oils depends on their antimicrobial activity. Most plants have favorable multifunctional properties, which are the specific content of bioactive components. Some authors characterize phytochemical substance such as natural substances plant origin, which leave no residues in animal products and is not necessary to keep the trade period before slaughter animals. Analyses suggest that the structural function of the receptor exists as a dimer constructively in the plasma membrane. Each receptor dimer pair is reversibly bound to one molecule of leptin. When bound, signaling pathways are responsible for beginning the activation receptor associated Janus kinase 2 (JAK2) and tyrosine phosphorylation of two key residues in the intracellular part of receptor. The aim of our experiment was to optimize the methodology for monitoring the expression of the leptin receptor extracellular avian model. We used samples of internal organs and abdominal fat chickens that were fed spirit and also fat and organ samples from broiler chickens from the control group. In heart tissue, spleen, liver at a relatively high concentration of total cDNA in the sample length leptin receptor extracellular fragment located in the expected quantities.

Keywords: leptin receptor, gene expression, broiler chickens, origami aetheroleum

INTRODUCTION

Since its discovery in mammals (Zhang et al., 1994) leptin has been established as a regulator of multiple physiological functions ranging from its effects as a hormone in the coordination of energy balance, metabolism and neuroendocrine pathways (Ahima et al., 2000), to its role as a cytokine in the regulation of immune responses (Matarese et al., 2005). Expression of the ob gene and circulating leptin concentrations are highly correlated with percentage of body fat in rodents (Soukas et al., 2000) and the degree of obesity in humans (Auwerx and Staels, 1998). The leptin receptor (LEPR) was identified soon after leptin itself by expression cloning from mouse choroid plexus (Tartaglia et al., 1995).

It belongs to the class I. cytokine receptor superfamily that includes the receptors for interleukin 6, leukemia inhibitory factor, granulocyte-colony stimulating factor and glycoprotein 130. The LEPR is expressed in multiple isoforms derived from one gene that contains 17 common coding exons and several alternatively spliced exons (Wang et al., 1996).

Weight loss and weight gain, which result in changes in the amount of adipose tissue, alter *LEP* mRNA in adipocytes and serum leptin levels. Increase in adipose

tissue mass with weight gain results in a significant increase in circulating leptin while a decrease in fat mass with weight loss reduces serum leptin (Rosenblum et al., 1996).

These observations thus support the concept that leptin provides a signal to the central nervous system of the size of energy stores in the body. However, extreme changes in energy intake such as fasting reduce serum leptin, suggesting a role for the hormone in coordinating the neuroendocrine response to caloric deprivation (Vaisei et al., 1996).

Such a response would include initiation of food seeking behavior to increase energy intake, and activation of processes to reduce energy expenditure, both to insure survival should the fast be prolonged. Serum leptin levels are rapidly decreased with short-term fasting (24-72 h) in both animals and humans (O'Rourke et al., 2002).

Leptin is also involved in reproductive function. Indeed, it has been shown in mice that leptin directly enhances insulin - and gonadotropin - stimulated ovarian steroidogenesis (Kunová, 2011).

The rapid fall in leptin with fasting is disproportionately greater than the small reduction in adipose tissue mass that occurs over the same time period. Thus it is reasonable to

suggest that serum leptin during fasting serves as a peripheral signal to the central nervous system that caloric restriction is occurring, rather than as a signal of current energy stores in the body. A chicken gene has been cloned that shows 60 % overall nucleotide sequence identity with mammalian LEPRs and contains the predicted exon boundaries and conserved motifs found in the long isoform, Rb, of the mammalian receptor (**Horev et al., 2000**).

A turkey LEPR has also recently been characterized that shares 94 % nucleotide sequence identity with the chicken sequence (**Horev et al., 2000**).

The structural conservation of the avian LEPR gene, together with its mapping to a chromosomal region syntenic with its mammalian counterpart (**Dunn et al., 2000**) suggests that the physiological role of leptin and its receptor in birds and mammals may be similar. However, there is uncertainty about the identity of the ligand for the avian LEPR because reports that a cDNA encoding chicken leptin had been cloned (**Liu et al., 2006**) have not been confirmed (**Lee et al., 1996**).

In turn, polymorphism in the corresponding gene have been proposed as predictors of relative differences among individuals for those traits (**Schenkel et al., 2005**).

The focus of this study was to detect extracellular expression of leptin receptor on the analysis of cDNA for the type of final fattening broiler chickens Cobb 500. Another aim of study was to focus on the tissue distribution of leptin receptor expression in selected organs broiler chickens.

MATERIAL AND METHODOLOGY

Analysis was performed on samples which were obtained from the group experiment with broiler chickens. This experiment was located on poultry a farm with a hall designed for holding pieces 24000 broiler chickens for meat production. To detect the leptin receptor, we used tissue samples of internal organs and abdominal fat broiler chickens Cobb 500. Chickens were kept in the hall on deep litter with the recommended conditions and needs of farming. The experiment has been using his technology, feeding and watering. The experimental group was composed of 100 pieces of final fattening by the Cobb

500, from which we chose 10 pieces of equal body weight 1800 g on end fattening 40 days.

These broiler chickens were used as representative samples from which we used the internal organs and abdominal fat for analysis. The RNA we isolated crushed in mortar tissue sections of heart, spleen, liver and abdominal fat using the SV Total RNA Isolation System Trial Size kit (Promega, Madison USA).

The RNA was transcribed using reverse transcriptase – IMPROM-II™ Reverse Transcription System kit (Promega, Madison USA) with random hexamers as primers. The reaction mixture contained RNA, InPromII 5x buffer, MgCl₂, dNTP mix, RNAsin MIX 40pmol.μl-1 and InPromII RT. Reaction mixture was complete by redestinated water to required volume. Reaction carried out in thermal cycler (PTC-150™ MiniCycler, Research, Watertown USA). Reaction was following by heating the RNA and Random Hex at 70 °C for 5 minutes. Cycle of reverse transcription started at 25 °C for 5 minutes. Cycles comprised at 42 °C for 50 minutes. This was followed 70 °C for 15 minutes and then the temperature was lowered to 20 °C for 1 second.

This reaction mixture for PCR contained cDNA, 1.80 mM MgCl₂, 0.25 mM dNTPs mix. Primers were used, which we analyzed the identification of the extracellular receptor 0.20 pmol.μl-1 Cassy-F 5'-marker GTC CAC GAG ATT CAT CCC AG-3' and 0.20 pmol.μl-1 Cassy-R marker 5'-CCT GAG ATG CAG AGA TGC TC-3' (Cassy et al., 2004). Further primers were used for positive control and quality of isolated RNA during reverse transcription of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) GAPDH-F-marker 5'-GTGTTATCATCTCAGCTCC-CTCAG marker and GAPDH-R-marker 5'-AAAGGTGG-AAGAATGGCTGTCACC (**Liu et al., 2006**). Other components were 0.80 U HotStart Polymerase GoTaq, redestinated water up to volume of 30 ml. Mixture contained buffer GoTaq green 5x buffer (Promega, Madison USA) and amplification was carried out in thermal cycler (PTC-150™ MiniCycler, Research, Watertown USA). PCR reaction procedure was following: PCR cycle started with pre-denaturation at 95 °C for 3 minutes. Subsequently, repeated 40 cycles comprising denaturation at 95 °C for 30 seconds and extension at 72 °C for 1 minute. The final extension fragments were at 72 °C for 5 minutes.



Fig 1: heart, spleen, liver and abdominal fat

RESULTS AND DISCUSSION

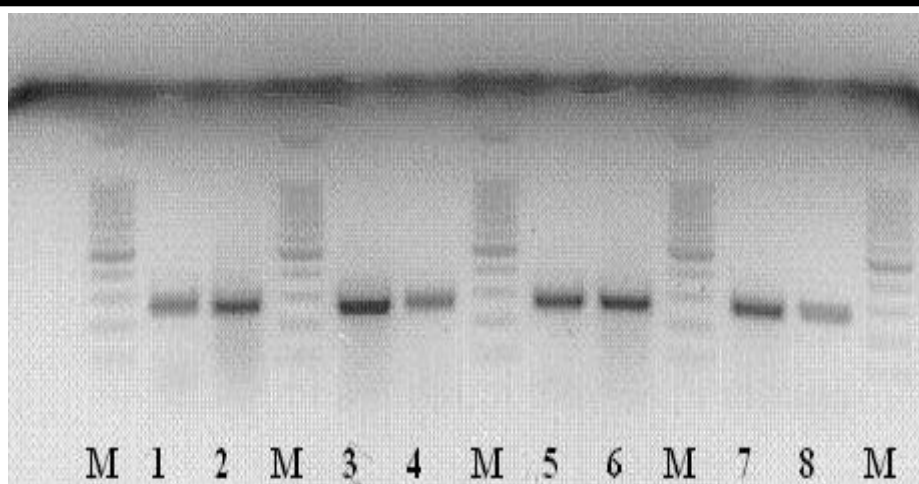
The aim of our experiment was to optimize the methodology for study the expression of the leptin receptor extracellular avian model. We used samples of internal organs and abdominal fat of the broiler chickens that were fed spirit and also fat and organ samples from chickens from the control group. During the experiment, we succeeded isolate RNA from the heart, spleen, liver and inside of abdominal fat. The obtained total RNA after reverse transcription to cDNA was the template that we used to identify selected leptin receptor. In our experiment, we used weight marker 100 bp in size.

As shown in figure 2, in all organs analyzed we were able to isolated total RNA, which in the subsequent reverse transcription and PCR reaction using primer pairs Cassy-F and Cassy-R gave rise to fragments 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 8. As indicated by the track number 4, the lowest content of isolated RNA was achieved abdominal fat, which we obtained from broiler chickens fed with origami aetheroleum, and track number 8, which we obtained from broiler chickens which we took from the control group. M is marker for the identification of extracellular leptin receptor. Interesting results offer track number 4, which should indicate the presence of leptin receptor in the national abdominal fat. This track was located fragment, which did not correspond to its length expectancy fragment bounded designed primers (Cassy-F and Cassy-R

- 273bp), but was less than control GAPDH fragment length of 533bp (Liu et al., 2006).

Unlike Kunová et al. (2011) that followed leptin in other species of animals for meat production, we have research on leptin receptor in chickens for meat production. The material tracking leptin receptor, we selected internal organs such as heart, liver, spleen and abdominal fat.

It follows that, using primers and procedures described in the methodology of work can be studied extracellular expression of leptin receptor at broiler chickens Cobb 500. In heart tissue, spleen and liver is studied in leptin receptor expressed in the expected quantities. The tissue abdominal fat appears to be truncated RNA, which could cause alternative splicing molecules (splicing). As the final fattening type Cobb 500 has long focused on reducing the fat abdominal fat and increasing the volume of the breast muscle, we will give this issue more.



M - Weight marker, pathways 1, 5 - heart tissue, 2, 6 spleen tissue, 3, 7 liver tissue, 4, 8 fat tissue, pathways 1, 2, 3, 4 tissues, organs and fat of chickens fed Origami aetheroleum, pathways 5, 6, 7, 8 organs and fat tissue control, fragment 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 fragment CASSY

Fig 2: Expression of leptin receptor in internal organs and abdominal fat broiler chickens

CONCLUSION

In our experiment, we succeeded isolated total RNA from tissues of internal organs such as heart, spleen, liver, and abdominal fat. In heart tissue, spleen, liver at a relatively high concentration of total cDNA in the sample length leptin receptor fragment located in the expected quantities. Abdominal fat for the presence of leptin receptor fragment showed that its length did not correspond to the expected length of the fragment bounded by the proposed ceasefire. Furthermore, we found that using a primer and the procedures described can be observed extracellular expression of leptin receptor in broiler chickens Cobb 500. In body fat tissue is RNA found in abbreviated form. The resulting was determined by UV-spectrophotometric quantification of DNA. This issue we will continue to pay.

REFERENCES

- AUWERX, R. S., STAELS, B. 1998. Leptin. In *Lancet*, vol. 351, 1998, p. 737-742.
- CASSY, S., METAYER, S., CROCHET, S., RIDEAU, N., COLLIN, A., TESSERAUD, S. 2004. Leptin receptor in the chicken ovary: potential involvement in ovarian dysfunction of ad libitum-fed broiler breeder hens. In *Reproductive Biology and Endocrinology*, vol. 2, 2005, no. 72, p. 178-186.
- HOREV, G., EINAT, P., AHARONI, T., ESHDAT, Y., FRIEDMAN-EINAT, M. 2000. Molecular cloning and properties of the chicken leptin-receptor (CLEPR) gene. In *Molecular and Cellular Endocrinology*, vol. 162, 2000, p. 95-106.
- KUNOVÁ, S., HLEBA, L., HAŠČÍK, P., ČUBOŇ, J., KAČÁNIOVÁ, M. 2011. Determination of leptin expression in beef cattle blood samples used by RTQ PCR. In *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, vol. 1, 2011, no.1, p. 21-38.
- LEE, G. H., PROENCA, R., MONTEZ, J. M., CARROLL, K. M., DARVISHZADEH, J. G., LEE, J. I. 1996. Abnormal splicing of the leptin receptor. in diabetic mice. In *Nature*, vol. 379, 1996, p. 632-635.
- LIU, X., DUNN, J. C., SHARP, P. J., BOSWELL, T. 2006. Molecular cloning and tissue distribution of a short form chicken leptin receptor mRNA. In *Domestic Animal Endocrinology*, vol. 32, 2007, p. 155-166.
- MATARESE, G., MOSCHOS, S., MANTZOROS, C. S. 2005. Leptin in immunology. In *Journal of Immunology*, vol. 174, 2005, p. 3137-3142.
- O'ROURKE L., SHEPHERD, P. R. 2002. Biphasic regulation of extracellular-signal-regulated protein kinase by leptin in macrophages: role in regulating STAT3 Ser727 phosphorylation and DNA binding. In *Journal of Biochemistry*, vol. 364, 2002, p. 875-879.
- RICHARDS, M. P., POCH, S. M. 2003. Molecular cloning and expression of the turkey leptin receptor gene. In *Comparative Biochemistry and Physiology*, vol. 136, 2003. p. 833-847.
- ROSENBLUM, C. I., TOTA, M., CULLY, D., SMITH, T., COLLUM, R., QURESHI, S., HESS, J. F., PHILLIPS, M. S., HEY, P. J., VONGS, A., FONG, T. M., XU, L., CHEN, H. Y., SMITH, R. G., SCHINDLER, C., VAN DER PLOEG, L. H. 1996. Functional STAT 1 and 3 signaling by the leptin receptor (OB-R); reduced expression of the rat fatty leptin receptor in transfected cells. In *Endocrinology*, vol. 137, 1996, p. 5178-5181.
- SCHENKEL, F. S., MILLER, S. P., YE, X., MOORE, S. S. 2005. Association of single nucleotide polymorphism in the leptin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. In *Journal of Animal Science*, vol. 83, 2005, p. 2009-2020.
- SOUKAS, A., COHEN, P., SOCCI, N. D., FRIEDMAN, J. M. 2000. Leptin-specific patterns of gene expression in white adipose tissue. In *Genes and Development*, vol. 14, 2000, p. 963-980.
- VAISSE, C., HALASS, J. V., HORVATH, C. M., DARNELL, J. E., STOFFEL, M., FRIEDMAN, J. M. 1996. Leptin activation of Stat3 in the hypothalamus of wild-type and ob/ob mice but not db/db mice. In *Nature Genetics*, vol. 14, 1996, p. 95-97.
- TARTAGLIA, L. A., DEMBSKI, M., WONG, X., DENG, N., CULPEPPER, J., DEVOS, R. 1995. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. In *Cell Technology*, vol. 83, 1995, p. 1263-1271.

WANG, M. Y., ZHOU, Y. T., NEWGARD, C. B., UNGER, R. H. 1996. A novel leptin receptor isoform in rat. In *FEBS Letters*, vol. 392, 1996, p. 87-90.

ZHANG, Y., PROENCA, R., MAFFEI, M., BARONE, M., LEOPOLD, L., FRIEDMAN, J. M. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. In *Nature Medicine*, vol. 372, 1994, p. 425-432.

Acknowledgments:

This work was supported by Scientific Grant Agency No financial support. VEGA 1/0007/11.

Contact address:

Lubica 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.

Radoslav Židek, 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: r.a.d.o.z.i.d.e.k@gmail.com.

Mária Angelovičová, 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: maria.angelovicova@gmail.com.

Martin Král, 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: martinxkral@gmail.com.

ACTIVE PACKAGING SYSTEM FOR MEAT AND MEAT PRODUCTS

Adriana Pavelková, Erika Flimelová

ABSTRACT

In the recent past, food packaging was used to enable marketing of products and to provide passive protection against environmental contaminations or influences that affect the shelf life of the products. However, unlike traditional packaging, which must be totally inert, active packaging is designed to interact with the contents and/or the surrounding environment. Interest in the use of active packaging systems for meat and meat products has increased in recent years. Active packaging systems are developed with the goal of extending shelf life for foods and increasing the period of time that the food is high quality. Developments in active packaging have led to advances in many areas, including delayed oxidation and controlled respiration rate, microbial growth, and moisture migration. Active packaging technologies include some physical, chemical, or biological action which changes interactions between a package, product, and/or headspace of the package in order to get a desired outcome. Active packaging systems discussed include oxygen scavengers, carbon dioxide scavengers and emitters, moisture control agents, flavour/odour absorbers and releasers and antimicrobial packaging technologies. Active packaging is typically found in two types of systems; sachets and pads which are placed inside of packages, and active ingredients that are incorporated directly into packaging materials. Recognition of the benefits of active packaging technologies by the food industry, development of economically viable packaging systems and increased consumer acceptance is necessary for commercial realisation of these packaging technologies.

Keywords: active packaging, meat, meat products, shelf life

ÚVOD

V posledných rokoch narastá záujem o aplikáciu a použitie nových technológií balenia potravín z dôvodu zvýšených požiadaviek kladených na hygienu a bezpečnosť potravín, ktoré spolu s požiadavkami zo strany predajcov a spotrebiteľov predlžujú trvanlivosť, nútia sektor zaoberajúci sa balením potravín hľadať nové, modernejšie systémy ich balenia. Existuje niekoľko baliacich systémov určených pre krátkodobé ako i dlhodobé skladovanie potravín s cieľom zachovať všetky atribúty kvality na požadovanej úrovni. Medzi systémy, ktoré nachádzajú čoraz väčšie uplatnenie aj pri balení mäsa a mäsových produktov patrí tiež aktívne balenie.

Aktívne balenie je v literatúre klasifikované rôznymi definíciami (Robertson, 2006). Podľa niektorých bolo aktívne balenie opisované ako podskupina inteligentného balenia, ako začlenenie určitých aditívnych látok do obalového filmu alebo samotného obalu s cieľom udržať a predĺžiť trvanlivosť (Day, 2003; Day, 2001). Obal môžeme nazývať aktívnym, keď vykonáva niektorú požadovanú úlohu v konzervovaní potravín inú ako poskytujú vnútornú bariéru pre vonkajšie podmienky (Hutton, 2003; Rooney, 1995). Robertson (2006) správne identifikuje „požadovanú“ a „vnútornú“ ako kľúčové slová v definícii, pretože všetky obalové prostriedky, okrem skla, nie sú úplne inertné a môžu uvoľňovať nežiaduce zložky do potraviny alebo absorbovať nežiaduce zložky z potraviny. Aktívne balenie je inovatívny koncept, ktorý by mohol byť definovaný ako systém balenia, kde obal, produkt a prostredie sa ovplyvňujú a menia stav balenej potraviny, predlžujú

trvanlivosť a zlepšujú bezpečnosť alebo senzorické vlastnosti produktu, teda zachovávajú jeho kvalitu (Kerry et al., 2006; European Commission, 2004; Ahvenainen, 2003; Suppakul et al., 2003; Vermeiren et al., 2002). V aktívnom balení, sú účinné technológie zamerané predovšetkým na zvýšenie ochrany alebo trvanlivosti výrobku ako odpovede na interakciu medzi výrobkom, obalom a prostredím, hoci môžu vykonávať aj ďalšie funkcie. Systém môže tiež zahŕňať aj zámerné pozmeňovanie prostredia balenia pri špecifických podmienkach a čase prostredníctvom aktívnych alebo pasívnych prostriedkov, ale bez potrebných vstupov a následného monitorovania s kontrolovanou atmosférou balenia (Zhao et al., 1994).

Trvanlivosť balenej potraviny je závislá na mnohých faktoroch, vnútorných ako pH, aktivita vody, obsah živín, výskyt antimikrobiálnych látok, redox potenciál, vlastnosti biologických štruktúr, a vonkajších ako teplota skladovania, relatívna vlhkosť, zloženie atmosféry. Tieto faktory majú priamy vplyv na chemické, biochemické, fyzikálne a mikrobiologické mechanizmy kazenia jednotlivých potravín a ich trvanlivosť. Zvážením a vyhodnotením všetkých týchto faktorov je možné zvoliť správne aktívne obalové technológie pre zachovanie kvality a predĺženie trvanlivosti (Day, 2001). Funkcie a technológie aktívneho balenia zahŕňajú systémy na kontrolu vlhkosti, kyslíkové absorbéry alebo zachytávače (scavenger), O₂ generátory, regulátory CO₂, regulátory vône, zachytávače etylénu, antimikrobiálne obalové technológie, mikrovlnné susceptory (Brody et al., 2008;

Vermeiren et al., 1999; Rooney, 1998; Rooney, 1995; Hurme et al., 2002; Smith et al., 1990).

Niektoré príklady aplikácií aktívneho balenia pre mäso sú uvedené v tabuľke 1.

Tabuľka 1 Príklady aplikácií aktívneho balenia pre mäso (Coma, 2006)

Koncept	Potravina
O ₂ scavenger	Saláma, údené mäso
CO ₂ scavenger	Hovädzie plátky sušeného mäsa, hydínové produkty
CO ₂ emitory	Čerstvé mäso
Regulátory vlhkosti	Mäso
Biocídne systémy	Všeobecne mäso a potraviny

TYPY ABSORBÉROV

Absorbéry kyslíka

Kyslíkové absorbéry sú najviac komerčne významnou podskupinou aktívneho balenia, pretože kyslík môže mať výrazný negatívny vplyv na potraviny. Môžu prispieť k udržaniu kvality a nutričnej hodnoty potravinárskych výrobkov spomalením metabolizmu, redukciou oxidačného žltnutia (rancidity), potlačením nežiaducej oxidácii labilných pigmentov a vitamínov, kontrolovaním enzýmového odfarbovania a inhibovaním rastu aeróbných mikroorganizmov a vláknitých mikroskopických húb (Brody et al., 2008; Day, 2001; Rooney, 2005; Rooney, 1995).

Problémy ohľadom absorpcie kyslíka počas balenia možno rozdeliť na základe pôvodu kyslíka, ktorý je potrebné odstrániť, do 2 skupín. Po prvé, kyslík v priestore balenia, ktorý je prítomný v čase uzatvárania väčšiny obalov potravín a nápojov. Odstránenie časti alebo všetkého takého kyslíka je nutné z dôvodu potlačenia rôznych degradačných procesov, ktoré sa vyskytujú v potravinách. Po druhé, ide o kyslík, ktorý vstupuje do balenia permeáciou a po uzavretí je nutné ho odstrániť pokiaľ možno ešte pred kontaktom s potravinou. V tomto prípade je kyslíkový absorbér odporúčaný ako chemická bariéra (Day, 2008).

Pre mäsové výrobky, najmä pre čerstvé a varené mäso a mäsové produkty, sú v súčasnosti dostupné rôzne obalové systémy a technológie. Balenie čerstvého mäsa sa vykonáva, aby sa zabránilo nevhodnej enzymatickej aktivite, strate hmotnosti, prípadne aby sa zabezpečil myoglobín alebo vhodná (čerešňovo-červená) farba mäsa, udržal prijateľný vzhľad, vôňa a chuť a oddialil nástup mikrobiálneho kazení (Brody, 1997; Brody, 1996). Keď posudzujeme spracované mäsové výrobky, musia byť brané do úvahy faktory, ako dehydratácia, oxidácia lipidov, zmena farby a vône (Mondry, 1996).

Napríklad, čerstvé červené mäso môže byť jednoducho položené na podnos a balené pre kyslík priepustným filmom (obalom) alebo umiestnené v plynnom prostredí obsahujúcom vysoké koncentrácie kyslíka (O₂) a oxidu uhličitého (CO₂), označované ako balenie v modifikovanej atmosfére (MAP) (Brody, 1996). Atmosféra v balení MAP sa môže zmeniť počas skladovania, čoho príčinou sú reakcie medzi zložkami atmosféry a produktom ako aj v dôsledku prenosu plynov dnu alebo von cez obalový materiál (Stiles, 1991). Hlavné plyny, ktoré sa používajú

v MAP sú CO₂ s funkciou inhibovať rast kaziacich mikroorganizmov (Seideman a Durland, 1984), dusík (N₂) používaný ako inertný plyn pre zníženie proporcie iných plynov alebo pre udržanie tvaru balenia (Bell a Bourke, 1996) a O₂, ktorého hlavnou funkciou je získať oxidovanú formu svalového pigmentu, oxy-myoglobín. Vzhľad, najmä farba, je dôležitý kvalitatívny atribút, ktorý ovplyvňuje spotrebiteľa pri nákupe. V čerstvom červenom mäse sa myoglobín vyskytuje v troch chemických formách. Deoxy-myoglobín, ktorý je ružový a po vystavení ovzdušiu je rýchlo oxidovaný na oxy-myoglobín červenej farby. Postupne sa oxy-myoglobín oxiduje na hnedý metmyoglobín, ktorý je spojený so stratou čerstvosti, avšak aj nízke koncentrácie O₂ podporujú oxidáciu oxy-myoglobínu na metmyoglobín. Preto, aby sa minimalizovala tvorba metmyoglobínu v čerstvom červenom mäse, musí byť kyslík v obale minimalizovaný pod 0,05 % (Faustman a Cassens, 1990). Vysoké hladiny kyslíka v rámci balenia v modifikovanej atmosfére tiež podporujú oxidáciu svalových lipidov s postupným vplyvom na farbu čerstvého mäsa (O'Grady et al., 1998). Výsledkom oxidácie lipidov je tvorba rôznych nežiaducich produktov rozkladu so súčasnou tvorbou nežiaducich chutí a pachov. U varených údených balených mäsových výrobkoch (napr. varená šunka) faktory ako percento zvyškového kyslíka, prenos O₂ obalovým materiálom, skladovacia teplota, intenzita svetla a zloženie výrobku sú kritickými faktormi ovplyvňujúcimi farebnú stabilitu a konečnú akceptovateľnosť spotrebiteľmi (Møller et al., 2003). Nitrosylmyoglobín tvorený reakciou medzi myoglobulínom a dusitanom je denaturovaný pri varení na nitrosylmyochróm, ktorý dáva charakteristickú ružovú farbu varenej šunky (Juncher et al., 2003). Pôsobenie svetla v kombinácii s kyslíkom má zásadný význam pre farebnú stálosť varenej údenej šunky, a to aj pri nízkych hladinách O₂, môže spôsobiť oxidáciu nitrosylmyochrómu na denaturovaný metmyoglobín, ktorý vytvára nežiaducu farbu na povrchu mäsa (Møller et al., 2000). Oxidácia lipidov je všeobecne nízka u varených údených mäsových produktov (Morrissey a Tichivangana, 1985). Komerčné odfarbenie u balenej varenej údenej šunky je spojené s nízkou hladinou zvyškového kyslíka a je odstránené použitím kyslíkových absorbérov (oxygen scavenger) alebo kyslíkových vyplachovacích filmov. Pokiaľ ide o údené čerstvé červené mäso, kyslíkový zachytávač použitý v kombinácii so zmesou CO₂ / N₂ predlžuje farebnú stabilitu čerstvého hovädzieho mäsa (Allen et al., 1996).

Hlavnou výhodou použitia kyslíkových absorbérov je schopnosť zníženia hladiny kyslíka na menej ako 0,01 %, čo je oveľa menej ako typická koncentrácia zvyškového kyslíka 0,3 - 3 % dosiahnutá pomocou MAP. Kyslíkové absorbéry môžu byť použité samostatne alebo v kombinácii s balením v modifikovanej atmosfére (Day, 2008).

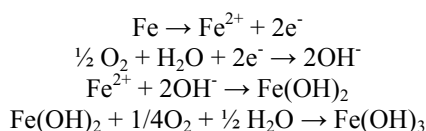
Vysoké hladiny kyslíka prítomné v obaloch potravín môžu uľahčiť rast mikroorganizmov, vývoj nežiaducich chutí a pachov, zmeny farby a nutričné straty a tým spôsobiť významné zníženie trvanlivosti potravín (Vermeiren et al., 1999; Hurme et al., 1995; Randell et al., 1995; Andersen, Rasmussen, 1992; Smith et al., 1990). Navyše, ak má absorbér dostatočnú kapacitu, môže tiež absorbovať kyslík prítomný v dôsledku netesnosti cez

dierky a predĺžiť tak trvanlivosť balenej potraviny (Hurme, 2002; Hurme et al., 1995).

Preto, kontrola hladiny O_2 v obale je dôležitá pre obmedzenie týchto nežiaducich zmien a reakcií v potravinách. Kyslík absorbujúce systémy poskytujú alternatívu k vákuu a plynovým vyplachovacím technológiám ako prostriedok pre zlepšenie kvality a trvanlivosti (Ozdemir a Floros, 2004). Hoci potraviny senzitivne na kyslík môžu byť balené pomocou MAP alebo vákuu, tieto techniky nie vždy umožnia kompletné odstránenie kyslíka, ktorý prestupuje cez obal alebo sa nachádza vo svalových vláknach alebo medzi plátkami mäsa (Kerry et al., 2006). Použitie kyslíkového zachytávača, ktorý absorbuje zvyškový kyslík po balení môže minimalizovať kvalitatívne zmeny u potravín citlivých na O_2 (Vermeiren et al., 1999). Existujúce kyslíkové zachytávacie technológie využívajúce jeden alebo viac z nasledujúcich konceptov: oxidácia práškoveho železa, oxidácia kyseliny askorbovej, oxidácia fotosenzitívnych farbív, enzymatické oxidácie (napr. glukooxidáza alebo alkoholoxidáza), nenasýtených mastných kyselín (napr. olejová alebo linolénová), ryžový extrakt alebo imobilizované kvasinky na pevný substrát (Floros et al., 1997).

Kyslíkové zachytávače môžu byť použité vo forme vrečka, štítku, filmu (inkorporované do filmu), karty, uzatváracej fólie, alebo koncentráta (Kerry et al., 2006; Suppakul et al., 2003). Okrem toho môže obalová technológia manipulovať s permselektivitou, čo je selektívne prenikanie rôznych plynov obalovým materiálom. Prostredníctvom povlaku, mikroperforácie, laminácie, koextrúzie a pod. môže permselektivita upravovať atmosférickú koncentráciu plynov vo vnútri balenia, vo vzťahu ku oxidácii alebo respirácii potravín (Brody et al., 2008).

Väčšina v súčasnosti používaných absorbérov kyslíka je na báze železa, vo forme prášku, pričom 1 g železa reaguje s 300 ml kyslíka. Avšak jednou z nevýhod je, že nemôžu prejsť detektormi kovu, ktoré sú zvyčajne umiestnené na konci baliacej linky. Tento problém (kovové škvrny, detektory kovov) sa dá vyriešiť, napríklad použitím nekovových kyslíkových absorbérov využívajúcich organické redukčné činidlá ako kyselina askorbová, askorbáty alebo katechol alebo enzymové systémy využívajúce glukooxidázy alebo etanoloxidázy začlenené do vrecúška, štítkov alebo imobilizované na povrch obalového filmu (Day, 2003).



Kyslíkové absorbéry boli po prvýkrát uvedené na trh v Japonsku v roku 1976 firmou Mitsubishi Gas Chemical Co. Ltd pod obchodným názvom AgelessTM.

Medzi najpoužívanejšie patria absorbéry Ageless® pracujúce na báze železa, vo forme vrečka, ktoré sú určené k zníženiu hladiny kyslíka na menej ako 1 %. Ďalšími sú ATCO® (Emco Packaging systems UK, Standa Industrie,

Fr), FreshPax® (Multisorb Technologies Inc., USA), Oxsorb® (Pillsbury CO., USA).

Absorbér sa volí zodpovedajúcej veľkosti v závislosti na hladine kyslíka v priestore balenia. Dôležitá je aj voľba obalového materiálu, ktorý musí mať relatívne dobré bariérové účinky voči kyslíku, inak sa absorbér pomerne rýchlo nasýti a stratí svoju schopnosť viazať kyslík (Smith et al., 1990).

Vedecká literatúra obsahuje mnoho štúdií, ktoré skúmajú vplyv kyslíkových zachytávačov (vrečka) na zmenu farby čerstvého mäsa (Tewari et al., 2001; Vermeiren et al., 1999; Gill a McGinnis, 1995). Gill a McGinnis (1995) vykonali štúdiu absorpcie O_2 s komerčným kyslíkovým scavengerom (FreshPax 200R) a uvádzajú, že povrchovým zmenám farby môže byť zabránené aplikáciou veľkého množstva zachytávačov použitých v každom balení pre dosiahnutie zvyškového O_2 menej ako 10 ppm do 2 hodín pri skladovacej teplote 1,5 °C. Zahrnutie kyslíkových zachytávačov (Ageless® SS200) do balení prepláchnutých 50 % CO_2 a 50 % N_2 preukazuje zlepšilo farebnú stabilitu svalov *M. longissimus dorsi* a *M. psoas major* v porovnaní s kontrolami (Allen et al., 1996). Tewari et al. (2001) sledovali vplyv dvoch komerčných kyslíkových zachytávačov (Ageless® Fe-100 a FreshPax® R-2000) v spojení s kontrolovanou atmosférou na zmenu farby *M. psoas major* v balení plnených dusikom a skladovaných pri 1±0,5 °C. U steakov balených bez zachytávačov sa prejavila výraznejšia zmena farby a preukázateľne vyšší podiel metmyoglobínu v porovnaní so steakmi balenými so zachytávačmi. Prevencia tvorby metmyoglobínu bola ovplyvnená počtom, nie typom použitých zachytávačov. Payne et al. (1998) skúmali účinok vákuu, kontrolovanej atmosféry s CO_2 , balenia vypláchnutého s CO_2 , balenia vypláchnutého s CO_2 a obsahujúceho kyslíkový zachytávač Ageless (Z50) a balenia obsahujúceho samotný kyslíkový zachytávač na stratu kvapkaním, zmenu mikrobiálnych a senzorických vlastností svalu *M. longissimus lumborum* skladovaného 20 týždňov pri -1,5 °C. Hovädzie mäso v obale vypláchnutom s CO_2 a obsahujúcom kyslíkový zachytávač malo nižšiu stratu odkvapkávania ako štandardný systém kontrolovanej atmosféry. Obaly prepláchnuté CO_2 a tie ktoré obsahovali samostatný kyslíkový zachytávač dosiahli lepšie výsledky v závislosti na požadovanej dobe skladovania. Okrem čerstvého hovädzieho mäsa bola technológia kyslíkového zachytávania tiež aplikovaná na mäso bravčové (Doherty a Allen, 1998) a bravčové výrobky, kde Martínez et al. (2006) uvádzajú, že u čerstvých bravčových klobás skladovaných v 20 % CO_2 , 80 % N_2 spolu s kyslíkovým zachytávačom (Agelles FX-40) po dobu 20 dní pri teplote 2±1 °C sa znížili počty psychrotrofných aeróbov a predĺžila sa trvanlivosť, pokiaľ ide o farbu a stabilitu lipidov.

Alternatívu k vreckám predstavuje inkorporácia kyslíkových zachytávačov do samotnej štruktúry balenia čo eliminuje riziko náhodného pretrhnutia vrečka a neúmyselnej spotreby jeho obsahu (Suppakul et al., 2003). Prikladom je Cryovac® OS 2000TM (Cryovac Division, Sealed Air Corporation, USA) polymérový UV svetlom aktivovaný kyslíkový zachytávač vo forme filmu, ktorý je štruktúrne zložený z vrstvy kyslíkového zachytávača extrudovaného do viacvrstvého filmu,

s možnosťou zníženia hladiny kyslíka v priestore balenia z 1 % na ppm úroveň za 4-10 dní v porovnaní s kyslíkovo vyplachovacími vreckami. OS 2000TM vyplachovací film má široké použitie na rôzne druhy výrobkov vrátane sušených alebo údených mäsových výrobkov a spracovaného mäsa. Podobný UV svetlom aktivovaný kyslíkový zachytávač ZERO2TM sa používa napr. aj na zníženie odfarbenia krájaného mäsa (Kerry et al., 2006).

Kontrola vlhkosti

Hlavnou príčinou kazenia potravín je prebytok vlhkosti. Potlačenie vlhkosti pomocou rôznych absorbérov alebo desikantov je veľmi efektívne pri zachovaní kvality potravín a predĺženia trvanlivosti inhibíciou mikrobiálneho rastu a vlhkosti súvisiacou s degradáciou textúry a chuti.

Potraviny, ktoré sú citlivé na poškodenie vlhkosťou musia byť balené v materiáloch s vysokou bariérovou schopnosťou voči vlhkosti. Určité množstvo vlhkosti sa môže dostať do obalu počas balenia alebo distribúcie. K nežiaducemu hromadeniu vody môže dôjsť v obaloch z dôvodu transpirácie poľnohospodárskych plodín, odkvapkávania tkanivovej tekutiny z mäsa alebo kolísania teploty u balení s vysokou vlhkosťou. Hlavným účelom kontroly kvapalnej vody je znížiť vodnú aktivitu produktov, čím sa potláča mikrobiálny rast (Vermeiren et al., 1999). Ďalšími negatívnymi dôsledkami je napríklad zahmlievanie obalových filmov. Cieľom je absorbovať vodu z obalu, ale tiež zachytiť vlhkosť v plynnej fáze za účelom zníženia aktivity vody na povrchu potravín. Vysoká aktivita vody potravín viedla k použitiu plastov s prídavkom antikondenzačných látok, ktoré znižujú povrchové napätie medzi kondenzátom a filmom. To prispieva k priehľadnosti filmu a umožňuje zákazníkom jasne vidieť balenú potravinu (Rooney, 1995) hoci to nemá vplyv na množstvo kvapalnej vody vo vnútri balenia. Niekoľko spoločností vyrába kvapkové absorbenty v podobe listov alebo vankúšikov, ako Cryovac® Dri-Loc® (Sealed Air Corporation, USA), Thermarite® alebo Peaksorb® (Austrália), ToppanTM (Japonsko) a Fresh-R-PaxTM (Maxwell Chase Technologies, LLC, USA) pre kontrolu tekutiny v potravinách s vysokou aktivitou vody ako mäso a hydina. Tieto systémy, ktoré tvoria podložky skladajúce sa z 2 vrstiev mikroporézneho netkaného plastového filmu (fólie) ako PE alebo PP, medzi ktorými je umiestnený superabsorbčný polymér schopný absorbovať až 500-násobok vlastnej hmotnosti. Medzi typické polymérne superabsorbenty patria polyakrylátové soli, karboxylmetylcelulóza a kopolyméry škrobu, ktoré majú veľmi silnú afinitu k vode (Day, 2003; Reynolds, 2007). Tieto vrstvy (listy) sa používajú ako kvapky absorbujúce podložky pod celé kura alebo kuracie kúsky (Suppakul et al., 2003).

Mäsové výrobky môžu byť citlivé na dehydratačné procesy. Nadmerné odparovanie vody cez obalový materiál môže viesť k vysychaniu balenej potraviny alebo k podpore oxidácie lipidov. Aby sa tomu zabránilo a udržala sa požadovaná vlhkosť v priestore balenia, musia byť použité filmy s vhodnou priepustnosťou pre vodné pary alebo vrecká na kontrolu vlhkosti (Standa, Francúzsko). Na druhej strane, desikanty (absorbčné vrstvy, vrecká so silikagélom atď.) sú úspešne používané pri niektorých mäsových výrobkoch, ktoré majú nižšiu

vodnú aktivitu, čo prispieva k redukcii rastu vláknitých mikroskopických húb, kvasiniek a baktérií na potravinách s vysokým obsahom vody, ako napríklad hotové jedlá. Príkladom použitia je odstraňovanie topiaceho sa ľadu z mrazeného mäsa alebo mrazenej krvi alebo mrazenej tkanivovej tekutiny z mäsa, aby bolo balenie atraktívnejšie pre spotrebiteľa (Vermeiren et al., 1999).

Iný prístup kontroly vlhkosti je zachytiť vlhkosť v plynnej fáze s cieľom znížiť vodnú aktivitu na povrchu potravín redukciou vnútornej relatívnej vlhkosti. To môže byť vykonané umiestnením jednej alebo viac zvlhčujúcich látok medzi dve vrstvy pre vodu priepustné plastové fólie. Napríklad japonská spoločnosť Showa Denko Co. Ltd vyvinula film PitchitTM, ktorý sa skladá z vrstvy zvlhčujúcej látky z karbohydrátu a propylénglykolu vloženú medzi 2 vrstvy plastového filmu z polyvinylalkoholu (PVA). Je určený pre čerstvé mäso, ryby a hydinu. Po zabalení potraviny do tohto filmu, je povrch potraviny dehydrovaný osmotickým tlakom, čo vedie k mikrobiologickej inhibícii a predĺženiu trvanlivosti o 3-4 dni počas chladiarenského skladovania (Rooney, 1995; Labuza a Breene, 1989).

Absorpcia chuťových zložiek

Absorpcia chuťových zložiek potraviny obalovým materiálom môže mať za následok stratu chuti, jej intenzity a zmenu organoleptického profilu potraviny (Vermeiren et al., 1999). Chuťové zložky inkorporované do obalového materiálu môžu byť použité na minimalizáciu skalpovania chuti. Uvoľnená chuť môže tiež poskytnúť prostriedky maskovania cudzích pachov pochádzajúcich z potraviny alebo obalu. Chuťou obohatené obalové materiály môžu zlepšiť chuťové vlastnosti výrobku tým, že uvoľňujú žiaduce chute do potraviny a opúzdrujú žiaduce arómy. Avšak tento systém nie je veľmi využívaný v prípade balenia mäsových výrobkov (Coma, 2006).

Absorbéry/emitory CO₂

Pokiaľ ide o zachytávače CO₂, tento typ aktívneho balenia je často spájaný s balením v modifikovanej atmosfére. Na ochranu mäsa sa CO₂ generátory využívajú hlavne v dôsledku ich inhibičnej aktivity proti celému radu aeróbnym baktériám a vláknitým mikroskopickým húb. CO₂ je plyn s priamym antimikrobiálnym účinkom majúci za následok oneskorenie lag fázy a generačnej doby logaritmického rastu (Suppakul et al., 2003).

Vzhľadom k tomu, že priepustnosť CO₂ cez väčšinu plastových fólií je 3-5-krát vyššia ako u kyslíka, musí byť pre udržanie požadovanej koncentrácie v rámci obalu CO₂ nepretržite produkovaný (Ozdemir a Floros, 2004). Odstránenie kyslíka z obalu vytvára čiastočné vákuum, ktoré môže mať za následok kolaps flexibilného obalu. Tiež keď je balenie prepláchnuté zmesou plynov vrátane CO₂, oxid uhličitý sa rozpúšťa v produkte vytvárajúc čiastočné vákuum. V takýchto prípadoch je žiaduce súčasné uvoľňovanie CO₂ z vložených vreciek, ktoré spotrebúvajú kyslík. Tieto systémy sú založené buď na báze železa alebo zmesi kyseliny askorbovej a hydrogenuhličitanu sodného (Rooney, 1995). Príklady komerčne dostupných systémov, ktoré kombinujú CO₂ generátor a kyslíkový zachytávač sú Agelles® G

a FreshPax® M. Oxid uhličitý môže byť pridávaný do balenia pre jeho rôzne inhibičné vplyvy na niektoré druhy mikroorganizmov v potravinách ako sú čerstvé mäso, hydina, syry, pečivo (Lopez-Rubio et al., 2004). Použitie emitov CO₂ môže byť kontroverzné pre použitie v aktívnom balení pre čerstvé mäsové výrobky. Podľa Coma (2008) mierne hladiny CO₂ (10-20 %) inhibujú aeróbne baktérie ako *Pseudomonas*, zatiaľ čo rast baktérii mliečného kysnutia je stimulovaný. Okrem toho, patogénny ako *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum* a *Listeria monocytogenes* sú minimálne ovplyvnené koncentráciou CO₂ nižšou ako 50 %. Problémom je, že môžu byť vytvorené podmienky, v ktorých môžu prosperovať patogénne baktérie, kde normálne kaziace baktérie nemôžu rásť, čo bolo potvrdené v práci Lövenklev et al. (2004), ktorý uvádzajú vysokú produkciu toxínu *Clostridium botulinum* v prostredí s vysokou hladinou CO₂. Avšak, Vermeiren et al. (1999) navrhujú pre väčšinu aplikácií mäsa a hydiny vysokú hladinu CO₂ (10-80 %), ako prevenciu povrchového rastu mikroorganizmov a predĺženia trvanlivosti týchto výrobkov.

CO₂ emitujúce vrecká alebo etikety môžu byť použité samostatne alebo v kombinácii s kyslíkovým absorbérom. Prikladom je obal Verifraise, ktorý bol použitý k predĺženiu trvanlivosti čerstvého mäsa a rýb (Rooney,

1995). Tento inovatívny balík pozostáva zo štandardného MAP zásobníka (podnosu), ktorý má perforované falošné dno, pod ktorým je umiestnené pórovité vrecko obsahujúce bicarbonát sodný/askorbát na zachytenie šťavy vytekajúcej z baleného mäsa. Šťava kvapká do vrečka, CO₂ je emitovaný, teda nahradí všetok CO₂ absorbovaný mäsom, čo slúži ako prevencia kolapsu balenia. Inhibícia kaziacich baktérii využitím technológie aktívneho balenia môže redukovať bakteriálnu kompetívnosť a teda umožniť rast a produkciu toxínu neproteolytickým *C. botulinum* alebo rast iných patogénnych baktérii (Sivertsvik, 2003). Lövenklev et al. (2004) uvádzajú, že zatiaľ čo pri vysokej koncentrácii CO₂ klesla rýchlosť rastu neproteolytického *C. botulinum* typu B, prejavy a tvorba toxínu bola veľmi zvýšená, čo znamená, že riziko botulizmu môže byť zvýšené namiesto zníženia, ak je použitý MAP systém. Je potrebný ďalší výskum v oblasti bezpečnostného rizika spojeného s použitím CO₂ v balení potravín. Absorbéry (vrecká) CO₂ pozostávajú buď z Ca(OH)₂ a NaOH alebo hydroxidu draselného, oxidu vápenatého a silikagélu, môžu byť použité na odstránenie CO₂ počas skladovania, aby sa zabránilo pretrhnutiu obalu. Možné aplikácie zahŕňajú ich použitie v obaloch dehydratovaných hydínových výrobkoch a hovädzieho mäsa (Ahvenainen, 2003).

ZÁVER

Zmeny v preferenciách a vnímania spotrebiteľov viedli k inováciám a vývoju nových obalových technológií, medzi ktoré môžeme zaradiť aj aktívne balenie. Aktívne balenie je vhodné na predĺženie trvanlivosti rôznych potravín, teda aj mäsa a rôznych mäsových výrobkov. Formy aktívneho balenia dôležité pre mäso a mäsové výrobky zahŕňajú kyslíkové absorbéry, absorbéry

a emitory oxidu uhličitého, absorbéry na kontrolu vlhkosti a chuťových látok a samotnú kategóriu tvorí aplikácia antimikrobiálnych látok. Na záver môžeme konštatovať, že aplikácia aktívneho balenia v potravinárskom priemysle umožňuje rozvoj ďalším obalovým systémom a prispieva k zvýšenej ochrane a bezpečnosti potravín.

LITERATÚRA

- AHVENAINEN, R., 2003. Active and intelligent packaging: an introduction. In Ahvenainen, R. (Ed.), *Novel food packaging techniques*, Cambridge, UK : Woodhead Publishing Ltd., p. 5-21. ISBN 978-1-85573-675-7.
- ALLEN, P., DOHERTY, A. M., BUCKLEY, D. J., KERRY, J., O'GRADY, M. N., MONAHAN, F. J., 1996. Effect of oxygen scavengers and vitamin E supplementation on colour stability of MAP beef. In *Proceedings 42nd international congress of meat science and technology*, September 1996, Lillehammer, Norway. p. 88-89.
- ANDERSEN, H. J., RASMUSSEN, M. A., 1992. Interactive packaging as protection against photodegradation of the colour of pasteurized, sliced ham. In *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 27, 1992, no. 1, p. 1-8.
- BELL, R. G., BOURKE, B. J., 1996. Recent developments in packaging of meat and meat products. In *Proceedings of the international developments in process efficiency and quality in the meat industry*, 1996, Dublin Castle, Ireland, p. 99-119.
- BRODY, A. L., 1996. Integrating aseptic and modified atmosphere packaging to fulfill a vision of tomorrow. In *Food Technology*, vol. 50, 1996, no. 4, p. 56-66.
- BRODY, A.L., 1997. Packaging of food. In Brody, A. L., Marsh, K. S. 1997. *The Wiley encyclopedia of packaging* (2nd ed.). New York : Wiley, 1997, p. 699-704. ISBN 978-0471063971.

- BRODY, A. L., BUGUSU, B., HAN, J. H., KOELSCH SAND, C., MCHUGH, T., 2008. Innovative Food Packaging Solutions. In *Journal of Food Science*, vol. 73, 2008, no. 8, p. 107-116.
- COMA, V., 2006. Perspectives for the Active Packaging of Meat Products. In NOLLET, L. M. L., TOLDRÁ, F. 2006. *Advances Technologies for Meat Processing*. CRC Press : Taylor & Francis Group, 2006. p. 449-472. ISBN 978-1-57444-587-9.
- DAY, B. P. F., 2001. Active packaging – a fresh approach. In *Brand© – The journal of Brand Technology*, vol. 1, 2001, no. 1, p. 32-41.
- DAY, B. P. F., 2003. Active packaging. In Coles, R., McDowell, D., Kirwan, M. 2003. *Food Packaging Technologies*. Blackwell Publishing Ltd : UK, 2003. p. 282-302.
- DAY, B. P. F., 2008. Active Packaging of Food. In Kerry, J., Butler, J. 2008. *Smart Packaging Technologies for Fast Moving Consumer Goods*. England : John Wiley & Sons, Ltd., 2008, p. 1-18. ISBN 978-0-470-02802-5.
- DOHERTY, A. M., ALLEN, P., 1998. The effect of oxygen scavengers on the colour stability and shelf life of CO₂ packaged pork. In *Journal of Muscle Foods*, vol. 9, 1998, no. 4, p. 351-363.
- European Commission (2004). *Commission Regulation (EC) No. 1925/ 2004 of October 2004 laying down detailed rules*

for implementing certain provisions of Council Regulation (EC) No. 1798/2003 concerning administrative cooperation in the field of value-added tax. Official Journal, L331, 13-18.

FAUSTMAN, C., CASSENS, R. G., 1990. The biochemical basis for discoloration in freshmeat: a review. In *Journal of Muscle Foods*, vol. 1, 1990, no. 3, p. 217-243.

FLOROS, J. D., DOCK, L. L., HAN, J. H., 1997. Active packaging technologies and applications. In *Food Cosmetics and Drug Packaging*, vol. 20, 1997, no. 10-17.

GILL, C. O., MCGINNIS, J. C., 1995. The use of oxygen scavengers to prevent the transient discoloration of ground beef packaged under controlled, oxygen-depleted atmospheres. In *Meat Science*, vol. 41, 1995, no 1, p. 19-27.

HURME, E., 2002. Active and intelligent packaging. In OHLSSON, T., BENGTTSSON, N., 2002. *Minimal processing technologies in the food industry*. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Ltd., 2002, p. 87-123. ISBN 978-1-85573-547-7.

HURME, E., RANDELL, K., AHVENAINEN, R., 1995. The effect of leakage and oxygen absorbers on the quality of gas-packed foodstuffs and the detection of leakage. In the IAPRI 9th World Conference on Packaging. Brussels, Belgian Packaging Institute, p. 45-52.

HURME, E., SIPILÄINEN-MALM, T., AHVENAINEN, R. 2002. Active and intelligent packaging. In OHLSSON, T., BENGTTSSON, N. 2002. *Minimal processing technologies in the food industry*. Woodhead Publishing Limited : England, 2002, p. 87-123. ISBN 1 85573 547 4.

HUTTON, T., 2003. Food packaging: An introduction. Key topics in food science and technology – Number 7. Chipping Campden, Gloucestershire, UK: Campden and Chorleywood Food Research Association Group, p. 108.

JUNCHER, D., RÖNN, B., HANSEN, T. B., HENCKEL, P., KARLSSON, A., SKIBSTED, L. H., BERTELSEN, G., 2003. Effect of pre-slaughter physiological conditions on the oxidative stability of colour and lipid during chill storage of sliced, retail packed roast ham. In *Meat Science*, vol. 63, 2003, no. 2, p. 151-159.

KERRY, J. P., O'GRADY, M. N., HOGAN, S. A., 2006. Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review. In *Meat Science*, vol. 74, 2006, no. 1, p. 113-130.

LABUZA, T. P., BREENE, W. M., 1989. Applications of active packaging for improvement of shelflife and nutritional quality of fresh and extended shelf-life foods. In *Journal of Food Processing and Preservation*, vol. 13, 1989, no. p. 1-69.

LOPEZ-RUBIO, A., ALMENAR E., HERNANDEZ-MUNOZ, P., LAGARON, J. M., CATALA, R., GAVARA, R. 2004. Overview of active polymer-based packaging technologies for food applications. In *Food Rev. Int.*, vol. 20, 2004, no. 4, p. 357-87.

LÖVENKLEV, M., ARTIN, I., HAGBERG, O., BORCH, E., HOLST, E., RÅDSTRÖM, P., 2004. Quantitative interaction effects of carbon dioxide, sodium chloride, and sodium nitrite on neurotoxin gene expression in nonproteolytic *Clostridium botulinum* type B. In *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 70, 2004, no. 5, p. 2928-2934.

MARTÍNEZ, L., DJENANE, D., CILLA, I., BELTRÁN, J. A., RONCALÉS, P., 2006. Effect of varying oxygen concentrations on the shelf-life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. In *Food Chemistry*, vol. 94, 2006, No. 2, p. 219-225.

MONDRY, H., 1996. Packaging systems for processed meat. In Taylor, S. A., Raimundo, A., Severini, M., Smulders, F. J. M. 1996. *Meat quality and meat packaging*.

ECCEAMST : Utrecht, Holland, p. 323-333. ISBN 9075319142.

MORRISSEY, P. A., TICHIVANGANA, J. Z., 1985. The antioxidative activities of nitrite and nitrosylmyoglobin in cooked meats. In *Meat Science*, vol. 14, 1985, no. 3, p. 175-190.

MØLLER, J. K. S., JENSEN, J. S., OLSEN, M. B., SKIBSTED, L. S., BERTELSEN, G., 2000. Effect of residual oxygen on colour stability during chill storage of sliced, pasteurised ham packaged in modified atmosphere. In *Meat Science*, vol. 54, 2000, no. 4, p. 399-405.

MØLLER, J. K. S., JAKOBSEN, M., WEBER, C. J., MARTINUSSEN, T., SKIBSTED, L. H., BERTELSEN, G., 2003. Optimization of colour stability of cured ham during packaging and retail display by a multifactorial design. In *Meat Science*, vol. 63, 2003, no. 2, p. 169-175.

OZDEMIR, M., FLOROS, J. D., 2004. Active food packaging technologies. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 44, 2004, no. 3, p. 185-193.

O'GRADY, M. N., MONAHAN, F. J., BAILEY, J., ALLEN, P., BUCKLEY, D. J., KEANE, M. G., 1998. Colour-stabilising effect of muscle vitamin E in minced beef stored in high oxygen packs. In *Meat Science*, vol. 50, 1998, no. 1, p. 73-80.

PAYNE, S. R., DURHAM, C. J., SCOTT, S. M., DEVINE, C. E., 1998. The effects of non-vacuum packaging systems on drip loss from chilled beef. In *Meat Science*, vol. 49, 1998, no. 3, p. 277-287.

RANDELL, K., HURME, E., AHVENAINEN, R. and LATVA-KALA, K., 1995. Effect of oxygen absorption and package leaking on the quality of sliced ham. In Ackermann, P., JÄGERSTAD, M., OHLSSON, T. 1995. *Foods and Packaging Materials: Chemical Interactions*. The Royal Society of Chemistry: Cambridge, p. 211-16. ISBN 9780854047208.

REYNOLDS, G., 2007. Superabsorbent soaks up packaging problems. [online], [2007], [cit. 2011-01-10]. Retrieved from the web:

<http://www.foodproductiondaily.com/Packaging/Superabsorbent-soaks-up-packaging-problems>.

ROBERTSON, G. L., 2006. *Food Packaging – Principles and Practice*. 2nd edition, CRC Press, Boca Raton : USA. 2006. p. 291. ISBN 978-1-4200-7844-2

ROONEY, M. L., 1995. *Active Food Packaging*. London, UK : Chapman & Hall, 1995, 275 p. ISBN 0 7514 0191 9.

ROONEY, M. L., 1998. Oxygen scavenging plastics for retention of food quality. In *Proceedings of Conference on Advances in Plastics – Materials and Processing Technology for Packaging*. Pira International, Leatherhead, Surrey, UK, 25 February.

ROONEY, M. L., 2005. Introduction to active food packaging technologies. In HAN, J. H., 2005. *Innovations in Food Packaging*. London, UK: Elsevier Ltd., 2005. p. 63-69. ISBN 0123116325.

SEIDEMAN, S. C., DURLAND, P. R., 1984. The utilization of modified atmosphere packaging for fresh meat: a review. In *Journal of Food Quality*, vol. 6, 1984, no. 3, p. 239-252.

SIVERTSVIK, M., ROSNES, J. T., BERGSLIEN, H., 2002. Modified atmosphere packaging. In OHLSSON, T., BENGTTSSON, N., 2002. *Minimal processing technologies in the food industry*. Woodhead Publishing Ltd.: Cambridge, UK. 2002, p. 61-86. ISBN 978-1-85573-547-7.

SMITH, J. P., RAMASWAMY, H. S., SIMPSON, B. K., 1990. Developments in food packaging technology. Part II: Storage aspects. In *Trends in Food Science & Technology*, vol. 1, 1990, p. 111-18.

STILES, M. E., 1991: Modified atmosphere packaging of meat, poultry and their products. In OORAIKUL, B., STILES, M.E., 1991. *Modified atmosphere packaging of food*. New York: Ellis Horwood. 1991, p. 118-147. ISBN 978-0442311926.

SUPPAKUL, P., MILTZ, J., SONNEVELD, K., BIGGER, S. W., 2003. Active packaging technologies with an emphasis on antimicrobial packaging and its applications. In *Journal of Food Science*, vol. 68, 2003, no. 3, p. 408-420.

TEWARI, G., JAYAS, D. S., JEREMIAH, L. E., HOLLEY, R. A., 2001. Prevention of transient discoloration of beef. In *Journal of Food Science*, vol. 66, 2001, no. 3, p. 506-510.

VERMEIREN, L., DEVLIEGHERE, F., VAN BEEST, M., DE KRUIJF, N., DEBEVERE, J., 1999. Developments in the active packaging of foods. In *Trends in Food Science and Technology*, vol. 10, 1999, issue 3, p. 77-86.

VERMEIREN, L., DEVLIEGHERE, F., DEBEVERE, J., 2002. Effectiveness of some recent antimicrobial packaging concepts. In *Food Additives and Contaminants*, vol. 19, 2002, supplement 1, p. 163-171.

ZHAO, Y., WELLS, J. H., MCMILLIN, K. W., 1994. Application of dynamic modified atmosphere packaging systems for fresh red meats: review. In *Journal of Muscle Foods*, vol. 5, 1994, issue 3, p. 299-328.

Contact address:

Ing. Adriana Pavelková, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Evaluation and Processing of Animal Product, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic, E-mail: Adriana.Pavelkova@uniag.sk

Ing. Erika Flimelová, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Evaluation and Processing of Animal Product, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic, E-mail: Erika.Flimelova@uniag.sk

NUTRITION LABELLING OF FOOD AND ALLERGEN IN FOOD

Ondrej Revák, Jozef Golian

ABSTRACT

The new regulation introduced mandatory nutrition labelling and ordering food manufacturers provide information on energy and six nutrients: fat, saturated fatty acids, carbohydrates, sugars, protein and salt - in that order, and per 100 g or 100 ml. This information should be included in the nutritional table in one visual field (usually on the back cover), moreover, can also be expressed on per serving. It is important to realize that this regulation requires manufacturers indicate the nutritional value in one field of vision, usually on the "back cover" designation in the principal field (e.g. "on the front cover") remains voluntary. Food allergy is a significant public health issue worldwide. Regulatory risk management strategies for allergic consumers have focused on providing information about the presence of food allergens through label declarations. A number of countries and regulatory bodies have recognized the importance of providing this information by enacting laws, regulations or standards for food allergen labelling of "priority allergens. Increasing volume of the international food trade suggests that there would be value in supporting sensitive consumers by harmonizing (to the extent possible) these regulatory frameworks. As a first step toward this goal, an inventory of allergen labelling regulations was assembled and analyzed to identify commonalities, differences, and future needs.

Keywords: labelling of food, nutrition value, allergens of food, EU laws

ÚVOD

Po 8 rokoch rokovaní nahrádza smernicu 90/496/EHS z roku 1990 a smernicu 2000/13/ES nové nariadenie o označovaní potravín (**Smernica Rady (90/496/EHS)**, Smernica 2000/13/ES, Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 1169/2011). Nové nariadenie zavádza povinné nutričné označovanie a nariaďuje výrobcom potravín uvádzať informácie o energetickej hodnote a 6 živinách: tukoch, nasýtených mastných kyselinách, sacharidoch, cukroch, bielkovinách a soli – v uvedenom poradí a v prepočte na 100 g alebo 100 ml výrobku (**Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 1169/2011**). Tieto informácie by mali byť uvedené v nutričnej tabuľke v jednom zornom poli (obyčajne na zadnej strane obalu), navyše môžu byť vyjadrené aj v prepočte na jednu porciu. Ďalšie živiny (t.j. mononenasýtené a polynenasýtené mastné kyseliny, polyoly, škrob, vláknina, vitamíny a minerálne látky) môžu byť uvedené dobrovoľne. Je dôležité uviesť si, že toto nariadenie zaväzuje výrobcov označiť nutričné hodnoty v jednom zornom poli, obyčajne na „zadnej strane obalu“ výrobku, označovanie v hlavnom zornom poli (napr. „na prednej strane obalu“) ostáva dobrovoľné. Osobitné pravidlá platia, ak sa informácia opakuje aj na prednej strane obalu, ako napríklad obsah energie – samostatne alebo spolu s obsahom tuku, nasýtených mastných kyselín, cukru a soli. V takýchto prípadoch musí byť energetická hodnota uvedená v absolútnych množstvách na 100 g (ml) a navyše môže byť vyjadrená aj na jednu porciu. Nové nariadenie zachováva požiadavku na označenie energie aj v kilojouloch (kJ) aj kilokalóriách (kcal) na 100 g (ml) (4,2 kJ v každej kcal). Ak je tento údaj uvedený v prepočte na jednu porciu alebo jednotku (napr. množstvo v sušenke), musí sa uviesť aj veľkosť porcie alebo jednotky, spolu s počtom porcií alebo

jednotiek v balení. Pre väčšinu etikiet na obaloch potravín sa pri všetkých povinných informáciách o potravinách vyžaduje minimálna veľkosť písma 1,2 mm. Pri menšom balení (s najväčšou plochou menej ako 80 cm²) je požiadavka na minimálnu veľkosť písma menšia (0,9 mm). Navyše, dobrovoľné informácie (napr. slogany alebo tvrdenia) sa nesmú uvádzať spôsobom, ktorý by zasahoval do prezentácie povinných informácií.

Označovanie alergénov

Potravinová alergia je imúnne-sprostredkovaná precitlivosť na potravinové bielkoviny (**Boyce et al., 2011**). Potravinová alergia je významný problém verejného zdravia, ktorá postihuje až 3-5 % dospelých (**Gupta et al., 2011; Sicherer, 2011**). IgE-sprostredkovaná precitlivosť na potraviny, tiež označovaná ako potravinová alergia, sa podľa odhadov týka až 4 % detí (**Sancho a Mills, 2010**). Genetická predispozícia hrá dôležitú úlohu v rozvoji alergií, ale veľmi málo je známe o genetike potravinovej alergie. Genetické aspekty sú špecificky skúmané vo vzťahu k deťom s potravinovými alergiami, a ich rodičov, aby sa dali identifikovať potenciálne zdedené faktory (**Mills et al., 2007**). Alergický ľudia často rôzne reagujú na jednotlivé proteíny obsiahnuté v potravinách, ale charakterizácia provokačných materiálov s ohľadom na ich obsah a profil alergénnych bielkovín je doteraz venovaná malá pozornosť (**Crevel et al., 2008**). Na rozdiel od iných alimentárnych rizík, manažment rizika a dostupné možnosti pre alergických konzumentov sú obmedzené, pretože rizikom je jedlo, alebo zložka potraviny ktorá môže obsahovať alergénne kontaminanty. To znamená, že stratégie manažmentu rizika v alergénnych potravinách sa zameriava na komunikáciu o riziku v podobe etikiet, ktoré, nesú označenia o alergénnych látkach prítomných

v potravine. O viacerých potravinách sa preukázalo, že sú zodpovedné za väčšinu alergických reakcií na potraviny. Ak sú prítomné v potrave, musia byť zreteľne uvedené a zdôraznené v zozname zložiek. Požiadavky na uvádzanie informácií týkajúcich sa alergénov sa vzťahujú aj na iné než balené potraviny, vrátane jedál predávaných v reštauráciách a kaviarňach. V tabuľke 1 sú uvedené alergénne potraviny, ako ich označujú jednotlivé štáty. Definície ako označovanie, prebaľovanie potravín, aditív a technologických prídavných látok definuje nariadenie 2000/13/EC (Cheftel, 2005).

Spojené štáty (USA), konkrétne úrad Food and Drug

Podľa prieskumu (Cornelisse-Vermaat, Voordouw, Yiakoumaki, Theodoridis et al., 2008), ktorí zistili že, potraviny s obsahom alergénov a potraviny, ktoré spôsobujú intoleranciu u spotrebiteľov, samotný spotrebiteľ uvažujú, že trávajú viac času na nakupovanie s cieľom nájsť bezpečné výrobky. V Austrálii zaviedli databázu s potravinovými alergénmi. Databáza obsahuje len tie živiny, ktoré musia byť deklarované v označení, aby sa zabránilo zámene. Ak si potravinárska spoločnosť vyžaduje ďalšie výživové údaje, ktoré môžu byť podľa vnútroštátnych referenčných tabuliek zloženia potravín, nájdú ich v tejto databáze (Cunningham a Sobolewski,

Tab.1 Alergénne potraviny

Potravina	Kódex ^b	EÚ ^c	Austrália/ Nový Zéland	Kanada	Čína	Hong Kong	Japonsko	Kórea	Mexiko	USA
Pšenica/ Cereálie	x	x	x	x	x	x	x ^d	x ^e	x	x
Vajcia	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Mlieko	x	x	x	x	x	x		x	x	x
Arašidy	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Ryby	x	x	x	x	x	x		x ^e	x	x
Kôrovce	x	x	x	x	x	x	x ^d	x ^e	x	x
Sója	x	x	x	x	x	x		x	x	x
Vlašské orechy	x	x	x	x	x	x			x	x
Sezam		x	x	x						
Morské plody/ Mäkkýše		x		x						
Horčica		x		x						
Zeler		x								
Lupina		x								
Iné							x ^d	x ^e		

Zdroj: Gendel, 2012

b – Nasledujúce krajiny používajú Kódex Alimentarius znení v ich regulačných rámcov: Barbados, Čile, Papua Nová Guinea, Filipíny, Svätý Vincent a Grenadiny. Papua Nová Guinea používa formuláciu termínu „mäkkýše“ namiesto kôrovcov. Nie je jasné či formulácia zahŕňa aj mäkkýše. Mongolsko cituje Kódex Alimentarius štandardným odkazom.

c – Tieto krajiny používajú prílohu III a, nariadenia 2003/89/EC.: Argentína, Švajčiarsko a Ukrajina.

d – Krevety a kraby sú uvedené len ako kôrovce. K obilniam priradujú pšenicu a pohánku. „Iné“ obsahuje aj ďalšie potraviny, pri ktorých sa označenie odporúča, ale nevyžaduje: ustrice, chobotnice, lososie ikry, kaviár, pomaranče, kivi, hovädzie mäso, vlašské orechy, losos, makrela, sójové bôby, kuracie mäso, banány, bravčové stehno, huby matsutake, broskyne, sladké zemiaky, jablká a želatína.

e – Makrelu zaraďujú medzi ryby a medzi kôrovce sú uvedené iba krevety a kraby. Obilniny zahŕňajú pšenicu a pohánku. „Iné“ zahŕňa bravčové, broskyne a rajčiny.

Administration (FDA) je zodpovedný za označovanie potravín. FDA vytvorilo samostatné centrum, ktoré dohliada na označovanie potravín: Center for Food Safety and Applied Nutrition, špeciálne Office of Nutritional Products, Labeling, and Dietary Supplements je zodpovedný za nutričné označovanie a alergény (Brandt a LeGault, 2003). USA tiež implementovali novú legislatívu, ktorá sa snaží chrániť alergických konzumentov, s názvom Food Allergen Labeling and Consumer Protection Act (FALCPA). Táto legislatíva je účinná od 1. januára 2006 (Crevel et al., 2008). Všetky zoznamy alergénov zahŕňajú obilniny, aj keď počet a druhové zastúpenie sa líši (Tab. 2). V USA je zaradená iba pšenica, kým v Japonsku a Kórei je zahrnutá pšenica a pohánka. Európska únia, Kódex Alimentarius, Austrália, Nový Zéland a Hong Kong špecifikujú „obilniny obsahujúce lepok“ s uvedeným zoznamom identifikujúce jednotlivé druhy. Pritom nie je jasné či uvedenie údaje o obsahu lepku má chrániť ľudí trpiacich ochorením celiakia, alebo všeobecne pred obsahom lepku ako potravinového alergénu.

2011).

Detekcia alergénnych látok

Európska komisia požiadala Vedecký výbor pre potraviny, potom úrad EFSA, aby dali vedecký základ pre identifikáciu alergénnych zložiek potravín pre účely potravín označovanie a možnosť stanovenia prahových dávok a identifikácia faktorov, vrátane spracovania potravín, ktoré by mohli odstrániť alebo znížiť na alergénnosť zložky potravín (Humières a Wal, 2004). V súčasnej dobe, metódy používané na detekciu alergénnych proteínov v potravinách sú predovšetkým ELISA, polymerázová reťazová reakcia (PCR) a real-time-PCR, posledné dve metódy sú založené na detekcii DNA markerov a nie proteínu (van Hengel, 2007). Zahrievanie a technologické spracovanie potravín môže viesť k zmenám v cieľovej časti proteínov, ktoré ovplyvňujú konečnú detekciu, predovšetkým pri použití imunologických metód. Za účelom odstránenia týchto nedostatkov, metódy založené na hmotnostnej spektrometrii (MS), tieto metódy môžu byť užitočné pre konečné potvrdenie prítomnosti alergénov v rôznych komoditách (Monaci a Visconti, 2009). Ďalšou metódou

detekcie a kvantifikácie alergénov napríklad parvalbumínu je možné pomocou c-ELISA. Rozsah citlivosti metódy je

faktor pri rozhodovaní sa spotrebiteľov o kúpe, alebo ktorých obal je príliš malý na uvedenie povinných

Tab. 2 Potravinové skupiny označovaných potravín vo svete

Potravina	Kódex Alimentarius	EÚ	Austrália/ Nový Zéland	Kanada	Čína	Hong Kong	Japonsko	Kórea	Mexiko	USA
Obilniny	Obilniny obsahujúce lepok, t.j. pšenica, ryža, jačmeň, ovos, pšenica špaldová a ich hybridy	Obilniny obsahujúce lepok, t.j. pšenica, ryža, jačmeň, ovos, pšenica špaldová, kamut a ich hybridy	Ako Kódex Alimentarius	Pšenica a tritikále + „lepok“ ako proteín z jačmeňa, ovsá, raže, tritikále, pšenica a ich hybridy	Cereálne produkty obsahujúce lepok, ako proteíny z jačmeňa, ovsá, ryže, tritikále pšenica a ich hybridy.	Ako Kódex	Pšenica, pohánka	Pšenica, pohánka	Obilniny obsahujúce lepok	pšenica
Ryby								Makrela		Napr. ostriež, platesa, treska
Kôrovce					Napr. Krevety, homáre, kraby		Krevety, kraby	Krevety, krab		Napr. krevety, kraby, homáre.
Orechy		Mandle, brazílske orechy, kešu orechy, makadam o-vé orechy, pekanové orechy, pistácie a vlašské orechy.	Mandle, brazílske orechy, kešu orechy, makadamové orechy, pekanové orechy, piniové orechy, pistácie a vlašské orechy.							Napr. mandle, pekanové orechy.

Zdroj: Gendel, 2012

v rozmedzí 0,04 až 0,3 mg.kg⁻¹ potraviny (Cai et al., 2013).

Požiadavky na jazyk označovania v EÚ

Bude sa požadovať, aby povinné informácie o potravinách boli uvedené v jazyku ľahko zrozumiteľnom pre spotrebiteľov. Členské štáty, v ktorých sa potravina predáva, môžu okrem toho stanoviť, že informácie budú uvedené v jednom alebo viacerých úradných jazykoch EÚ.

Požiadavky pri predaji na diaľku

Ak je potravina predávaná "na diaľku" (napr. cez internet, alebo katalógy) povinné informácie na etikete musia byť k dispozícii pred ukončením nákupu. Tieto informácie musia byť zobrazené aj na každom materiáli podporujúcim predaj na diaľku, alebo uverejnené prostredníctvom iných vhodných prostriedkov (napr. webové stránky alebo katalóg).

Vstup do platnosti nariadenia 1169/2011

Na všetkých balených potravinách predávaných v rámci EÚ musia byť uvedené nutričné informácie v súlade s novými pravidlami do troch rokov od ich formálneho prijatia, ak už údaje boli uvádzané, t.j. do decembra 2014. Ak však nutričné údaje neboli uvádzané, povinnosť splniť nové zákonné požiadavky bude povinná do piatich rokov po ich formálnom prijatí, t.j. v decembri 2016.

Výnimky

Nové nariadenie zbavuje určité kategórie potravín povinnosti záväzne uvádzať nutričné informácie. Výnimky zahŕňajú nespracované potraviny alebo položky, pri ktorých sa nutričné informácie nepovažujú za rozhodujúci

požiadaviek na označovanie. Alkoholické nápoje sú dočasne oslobodené od požiadavky uvádzať zoznam zložiek a nutričné informácie. Do troch rokov po nadobudnutí účinnosti tohto nariadenia však bude Európska komisia skúmať túto otázku a prípadne navrhne zmeny.

Zámerom nového nariadenia o označovaní je umožniť spotrebiteľom robiť lepšie informované rozhodnutia o výžive. Naďalej však ostáva výzvou vytvárať a podporovať záujem a motiváciu spotrebiteľov zdravo sa stravovať. Poskytovanie ucelených informácií o potravinárskych výrobkoch azda pomôže dosiahnuť väčšiu pozornosť a využívanie nutričných informácií. Široká verejnosť ale aj výrobcovia potravín sa snažia nájsť kompromis, ako čo najlepšie vyrobiť a označiť alergénne výrobky. Nové metódy kvantifikácie a detekcie dovoľujú detegovať aj malé množstvá alergénnej potraviny, ktorá môže mať negatívny vplyv na zdravotný stav konzumenta. Databázy a kvalitné informačné systémy, napomáhajú ľuďom alergickým na rôzne druhy potravín. Keďže kvalita životného prostredia sa väčšou industrializáciou zhoršuje, ale aj konzumácia exotických druhov potravín sa stáva dostupnejšou, môžeme povedať že prevalencia alergických ochorení bude neustále na vzostupe. Preto dôsledné označovanie alergénnych potravín a skúmanie potenciálnych alergénov bude prioritou číslo jedna v ochrane spotrebiteľa, pred alergickými ochoreniami z potravín.

LITERATÚRA

- BOYCE, J. A., ASSA'AD, A., BURKS, A. W., JONES, S. M., SAMPSON, H. A., WOOD, R. A., PLAUT, M., COOPER, S. F., FENTON, M. J., ARSHAD, S. H., BAHNA, S. L., BECK, L. A., BYRD-BREDBENNER, C., CAMARGO, C. A. JR., EICHENFIELD, L., FURUTA, G. T., HANIFIN, J. M., JONES, C., KRAFT, M., LEVY, B. D., LIEBERMAN, P., LUCCIOLI, S., MCCALL, K. M., SCHNEIDER, L. C., SIMON, R. A., SIMONS, F. E., TEACH, S. J., YAWN, B. P., SCHWANINGER, J. M. 2011. Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: summary of the NIAID-sponsored expert panel report. In *Nutrition Research*, Vol. 31, 1, January 2011, p. 61–75.
- BRANDT, MARY BENDER, LORI A. LEGAULT. 2003. What's new on nutrition labeling at the United States Food and Drug Administration? *Journal of Food Composition and Analysis* 16, June 2003, p.383–393.
- CAI, QIU-FENG; WANG, XI-CHANG; LIU, GUANG-MING; ZHANG, LIN; RUAN, MI-MI; LIU, YUAN; CAO, MIN-JIE. 2013. Development of a monoclonal antibody-based competitive enzyme linked-immunosorbent assay (c-ELISA) for quantification of silver carp parvalbumin. In *Food Control* vol. 29, issue 1 January, 2013. p. 241–247.
- CHEFTEL, J CLAUDE. Food Chemistry Food and nutrition labelling in the European Union. In *Food Chemistry* 93, 2005, 531–550.
- CORNELISSE-VERMAAT, JUDITH R., JANTINE VOORDOUW, VASSILIKI YIAKOUMAKI, GREGORY THEODORIDIS, AND LYNN J FREWER. Food-allergic consumers' labelling preferences: a cross-cultural comparison. *European journal of Public Health* 18, April 2008, p. 115–20.
- CREVEL, R. W., BALLMER-WEBER, B. K., HOLZHAUSER, T., HOURIHANE, J. O., KNULST, A. C., MACKIE, A. R., TIMMERMANS, F., TAYLOR, S. L. 2008. Thresholds for food allergens and their value to different stakeholders. In *Allergy* 63, May 2008, 597–609.
- CUNNINGHAM, J., R. SOBOLEWSKI. Food composition databases for nutrition labelling: Experience from Australia. In *Journal of Food Composition and Analysis* 24, June 2011, p. 682–685.
- GUPTA, R. S., SPRINGSTON, E. E., WARRIER, M. R., SMITH, B., KUMAR, R., PONGRACIC, J., HOLL, J. L. 2011. The prevalence, severity, and distribution of childhood food allergy in the United States. In *Pediatrics* 128, p. 9–17.
- VAN HENGEL, ARJON J. Food allergen detection methods and the challenge to protect food-allergic consumers. In *Analytical and bioanalytical chemistry* 389, September 2007, p. 111–118.
- HUMIÈRES, J, J. M WAL. EU regulation: what's new in terms of labelling of food allergens? In *Allergy* 59, 12, p.1259–61.
- CREVEL, R. W., BALLMER-WEBER, B. K., HOLZHAUSER, T., HOURIHANE, J. O., KNULST, A. C., MACKIE, A. R., TIMMERMANS, F., TAYLOR, S. L. Thresholds for food allergens and their value to different stakeholders. In *Allergy* 2008, 597–609.
- MILLS, E.N., MACKIE, A.R., BURNEY, P., BEYER, K., FREWER, L., MADSEN, C., BOTJES, E., CREVEL, R.W., VAN REE, R. 2007. The prevalence, cost and basis of food allergy across Europe. In *Allergy* 62, July 2007, 717–722.
- MONACI, LINDA, AND ANGELO VISCONTI. Mass spectrometry-based proteomics methods for analysis of food allergens. In *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 28, May 2009, 581–591.
- SANCHO, A. I., MILLS, E.N. 2010. Proteomic approaches for qualitative and quantitative characterisation of food allergens. In *Regulatory Toxicology and Pharmacology*: RTP 58, December 2010, p. 42 – 46.
- SICHERER, S.H., 2011. Epidemiology of food allergy. In *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 127, p. 594–602.
- Smernica Rady z 24. septembra 1990 o nutričnom označovaní potravín (90/496/EHS)*
- Smernica 2000/13/ES Európskeho parlamentu a Rady z 20. marca 2000 o aproximácii právnych predpisov členských štátov, týkajúcich sa označovania, prezentácie a reklamy potravín*
- Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 1169/2011 z 25. októbra 2011 o poskytovaní informácií o potravinách spotrebiteľom*

Acknowledgment

This work was supported by **VEGA 1/1074/11**.

Contact address:

Ondrej Revák, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Hygiene and Food Safety, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra Slovakia, E-mail: xrevak@is.uniag.sk

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



POLYPHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF WINES FROM THE SOBRANCE WINE REGION

Eva Špakovská, Slavomír Marcinčák, Martin Bača, Peter Turek

ABSTRACT

The purpose of this study was to compare the content of total polyphenols and antioxidant properties of wines from the Sobrance wine region. White wines generally showed lower content of polyphenols and also possess lower scavenging capacity against DPPH radical than red wines. However, when we compared antioxidant properties of wines to protect polyunsaturated fatty acids against oxidation using to TBA method, no differences were detected. The antioxidative capacity of white wines was comparable to red wines and was higher than antioxidant capacity of ascorbic acid solution (0.2 %). The best antioxidant properties were recorded in Cabernet sauvignon (2010) and Frankovka modra (2009) wines.

Key words: antioxidant activity, polyphenol, red wine, white wine

Keywords: antioxidant activity, polyphenol, red wine, white wine

ÚVOD

Dnešná doba prináša veľa stresu, zlej životosprávy a nárast srdcovo-cievnych ochorení. Preto sa konzumenti stále viac obracajú k potravinám s antioxidantnými vlastnosťami. O priaznivých zdravotných účinkoch vína sa vedelo už v najstarších dobách, kedy už v staroveku a stredoveku lekári odporúčali svojim pacientom umiernenú konzumáciu vína (Gažarová et al., 2010). Zdravotné účinky vína sú spájané s antioxidantnou aktivitou t.j. schopnosťou prítomných zložiek eliminovať voľné radikály v organizme a tak zabrániť oxidačnému stresu (Soleas et al., 2006; Slezák, 2003). Konzumácia vín v primeranej miere priaznivo pôsobí aj na srdcovo-cievny systém. Biele, ale hlavne červené víno je považované za bohatý zdroj antioxidantných fenolových zložiek (resveratrol, flavonoidy, fenolové kyseliny, taníny) (Yochum et al., 1999). Podľa najnovších vedeckých výskumov víno obsahuje viac ako 500 rôznych komponentov, z toho až 200 druhov fenolových zlúčenín a antioxidantov (Chlebo, 2009). Na obsah fenolových látok vo víne okrem odrody hrozna a klimatických podmienok vplyva aj samotný postup pri výrobe vína (Villano et al., 2006). Preto sa vyšší obsah fenolových látok predpokladá v červenom víne, najmä kvôli dlhšiemu kontaktu muštu a šupiek, naopak nižší obsah je prítomný v bielych vínach, ktoré nie sú macerované so šupkami a zrnkami (Minussi et al., 2003). Koľko fenolových látok z hrozna získame, to výrazne závisí od stupňa zrelosti hrozna a od metód spracovania muštov a vína (Gambacorta et al., 2011; Slezák, 2003). Pôvod hrozna, t.j. „terroir“ môže byť tiež dôležitým faktorom obsahu fenolových látok.

Východoslovenská vinohradnícka oblasť sa rozprestiera hlavne na južných svahoch Vihorlatských vrchov. Podnebie sa vyznačuje výrazne vyšším stupňom kontinentality ako na západe Slovenska. Na druhej strane má však počasie stabilnejší ráz. Južný Zemplín disponuje teplým, mierne suchým podnebí, kým južné svahy

Vihorlatských vrchov mierne teplým, avšak vlhkejším podnebí. Množstvo slnečných dní spolu s úrodnou vulkanickou pôdou dodávajú vlnám nenapodobiteľnú chuť, vôňu i farbu, ich ušľachtilú a atraktívnu podobu. Všetky tieto faktory dotvárajú pôvod vína a určujú charakter vína z danej oblasti.

V práci sme porovnali obsah polyfenolov a antioxidantnú aktivitu vín zo Sobranceckého vinohradníckeho rajónu. Hodnotili sme vplyv odrody a ročníka na antioxidantnú aktivitu vína.

MATERIÁL A METÓDY

V práci boli analyzované vína z vinárstva PD Choňkovce. Vinohrady sa nachádzajú v Sobranceckom vinohradníckom rajóne zahŕňajúce obce Choňkovce, Horňa, Koňuš a Hlivištia. Vína boli Ústredným kontrolným a skúšobným ústavom poľnohospodárskym certifikované ako akostné vína s prívlastkom a akostné odrodové vína s Chráneným označením pôvodu (CHOP), ročníkov 2007, 2008, 2009 a 2010. Analyzované vína sú uvedené v tabuľke 1.

Tabuľka 1 Zoznam analyzovaných vín

Víno biele	Ročník + prívlastok	skratka
Rulandské biele	2010, akostné, CHOP	RB10
Müller Thurgau	2010, akostné, CHOP	MT10
Tramín červený	2010, akostné, CHOP	TČ10
Ryzling rýnsky	2008, neskorý zber	RR08
Víno červené		
Frankovka modrá	2008, akostné	FM08
Frankovka modrá	2009, akostné	FM09
Frankovka modrá	2010, akostné, CHOP	FM10
Cabernet	2007, výber z hrozna	CS07
Sauvignon		
Cabernet	2010, akostné, CHOP	CS10
Sauvignon		
Rulandské modré	2010, akostné, CHOP	RM10

Koncentrácia celkových polyfenolov bola meraná pomocou Folin-Ciocalteu testu (Singleton et al., 1999).

Obsah celkových polyfenolov bol štandardizovaný kyselinou galovou a vyjadrený ako ekvivalentné množstvo kyseliny galovej (GAE, g) v 1 litri vína.

Antioxidačná aktivita vín bola hodnotená dvoma metódami a porovnaná s antioxidačnou silou 0,2 % roztoku kyseliny askorbovej (AA 0,2 %). Na stanovenie schopnosti vín zachytávať voľné radikály bola použitá metóda DPPH (2,2-Diphenyl-1-picerylhydrazyl) radikálu (Heilerová et al., 2003).

Eliminácia DPPH radikálu sa prejavuje znížením absorbancie pri 515 nm. Pokles absorbancie sme zaznamenávali v časovom intervale 5 minút. Účinnosť vín zachytávať voľné radikály bola vypočítaná podľa vzorca:

$$\% \text{ inhibície} = [(A_0 - AA) / A_0] \times 100,$$

kde : A_0 – absorbancia DPPH radikálu ($t = 0$ min.)

AA – absorbancia testovanej vzorky ($t = 5$ min.)

Antioxidačná schopnosť vín bola meraná aj modifikovanou TBA metódou (Miguel et al., 2004). Pri danej metóde antioxidačná schopnosť vín je analyzovaná schopnosťou vín chrániť médium bohaté na polynenasýtené mastné kyseliny (vaječný žltok) pred oxidáciou. Výsledky sú vyjadrené ako antioxidačný index (AI, %), pričom kontrola je úplne zoxidovaná a testované vzorky vyjadrujú percento antioxidačnej ochrany pred oxidáciou (AI, %).

Výsledky boli vypočítané podľa vzorca:

$$AI = (1 - t/c) \times 100 (\%),$$

kde:

c – absorbancia kontroly

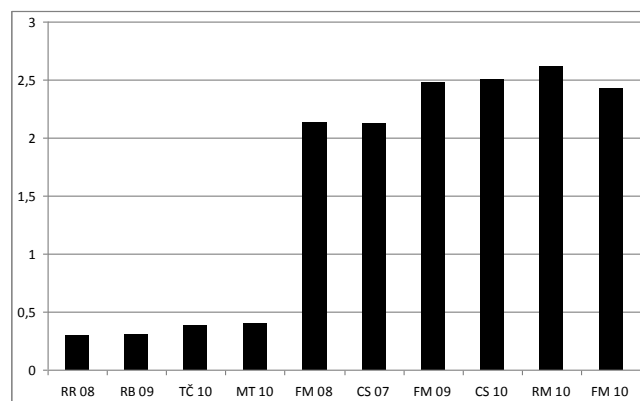
t – absorbancia testovanej vzorky.

Štatistické spracovanie výsledkov bolo vykonané štatistickým programom Graph Pad Prism 4.0 (2003). Výsledky sú vyjadrené ako aritmetický priemer ($\bar{x}$) a štandardná odchýlka (sd). Jednotlivé výsledky medzi skupinami boli navzájom štatisticky porovnané jednocestným ANOVA testom. Pre porovnanie štatistických rozdielov medzi hodnotami pokusných skupín bol použitý Tukeyov porovnávací test a $P < 0,05$ bolo považované ako štatisticky významný rozdiel.

VÝSLEDKY

Obsah polyfenolov v jednotlivých vzorkách vín, vyjadrený ako ekvivalentné množstvo kyseliny galovej, je uvedený v grafe 1. Obsah polyfenolov v bielych vínach sa pohyboval v rozmedzí od 0,299 – 0,407 g.l⁻¹. Z bielych vín bol najvyšší obsah polyfenolov vo víne Muller Thurgau (2010, CHOP). U červených vín bol obsah polyfenolov v rozmedzí od 2,13 – 2,65 g.l⁻¹. Najvyšší obsah polyfenolov sme zaznamenali vo víne Rulandké modré (2010, CHOP). Vysoký obsah polyfenolov bol zaznamenaný aj vo víne Cabernet Sauvignon (2010, CHOP; 2,50 g.l⁻¹) a vo víne Frankovka modrá (2009, CHOP; 2,48 g.l⁻¹).

Na obsah polyfenolov vo víne mal vplyv aj ročník vína. Pri porovnaní vín Frankovka modrá z ročníkov 2008, 2009 a 2010 (akostné, CHOP) bol vyšší obsah polyfenolov vo vínach ročníka 2009 (2,43 g.l⁻¹) a 2010 (2,48 g.l⁻¹) oproti vínam ročníka 2008 (2,13 g.l⁻¹; $P < 0,05$). Taktiež aj ostatné vína ročníka 2010 mali vyšší obsah polyfenolov ako vína z iných ročníkov.



Obr. 1 Obsah celkových polyfenolov (g.l⁻¹) v jednotlivých vínach

Výsledky stanovenia antioxidačnej aktivity pomocou DPPH radikálu a metódou stanovenia tiobarbiturového čísla sú uvedené v tabuľke 2. Pri stanovení antioxidačnej sily zachytávať DPPH radikál vykazovali červené vína vyššiu účinnosť ako vína biele. Najlepšiu antioxidačnú aktivitu inhibície DPPH radikálu preukázali vína odrody Cabernet Sauvignon, ročník 2007 (90,89 %). Pri porovnaní antioxidačnej aktivity metódou eliminácie DPPH radikálu, vína odrody Cabernet Sauvignon, ročník 2007 vykazovali podobnú aktivitu ako kontrolná vzorka (0,2 % roztok kyseliny askorbovej). Ostatné červené vína v porovnaní s roztokom kyseliny askorbovej vykazovali výrazne nižšiu antioxidačnú aktivitu (80 – 84 %; $P < 0,05$). Pri porovnaní vín odrody Frankovka modrá, ročník 2008, 2009 a 2010 sme medzi vínami nezaznamenali výrazne rozdiely a ich antioxidačná aktivita bola porovnateľná (FM08 – 84,22; FM09 – 80,63; FM10 – 80,70 %). Pri porovnaní vzťahu obsahu celkových polyfenolov vo víne a antioxidačnej aktivity červených vín sledovanej metódou DPPH radikálu môžeme konštatovať, že antioxidačná aktivita nie úplne korelovala s obsahom celkových polyfenolov. Najvyšší obsah vín odrody Frankovka modrá bol stanovený u vín ročníka 2009 avšak najvyššia aktivita vychytávania DPPH radikálu bola stanovená u vín ročníka 2010.

Antioxidačná aktivita sledovaná metódou DPPH radikálu u bielych vín bola výrazne nižšia a pohybovala sa v rozmedzí 42,78 – 62,75 %. Najlepšiu antioxidačnú aktivitu sme zaznamenali u vín odrody Müller Thurgau, ročník 2010 (62,75 %). Naopak najnižšia aktivita bola zaznamenaná u vín odrody Rizling rýnsky, ročník 2008 (42,78 %). Pri porovnaní vzťahu obsahu celkových polyfenolov vo víne a antioxidačnej aktivity bielych vín sledovanej metódou DPPH radikálu môžeme konštatovať, že antioxidačná aktivita jednotlivých vín rástla s obsahom celkových polyfenolov.

Výsledky stanovenia antioxidačného indexu (AI) TBA metódou sú uvedené v tabuľke 2. Pri tejto metóde pridané vzorky vína pôsobia ako ochranný antioxidačný faktor proti oxidácii polynenasýtených mastných kyselín (PNMK) vaječného žltka a tvorbe rozkladných produktov oxidácie. Výsledky antioxidačnej sily bielych vín boli porovnateľné s výsledkami vín červených ($P > 0,05$). Antioxidačný index ochrany PNMK vaječného žltka bielych vín odrody Müller Thurgau, ročník 2010 bol 74,82 % a u odrody Tramín červený, ročník 2010 bol

73,15 %, čo bolo porovnateľné s AI červených vín odrody Frankovka modrá, ročník 2008 (73,0 %) a dokonca vyššia ako AI vín Frankovka modra ročník 2010 (62,82 %). Štatisticky výrazné nižšie hodnoty boli zaznamenané iba u vzoriek vín Rulandské biele (2010, CHOP, AI – 50,60 %). Naopak najlepšie výsledky AI stanovené TBA metódou dosiahli vína Cabernet sauvignon (2007, VZH a 2010, CHOP) a Frankovka modrá (2009, CHOP).

DISKUSIA

V súčasnosti je už známe a aj vedecky potvrdené, že umiernená konzumácia vína, má priaznivý vplyv na zdravie človeka (Gažarová et al., 2010). Obsah polyfenolov je dôležitým faktorom kvality hrozna a vína (Gómez et al. 2011). Polyfenoly patria medzi zložky, ktoré majú priaznivý vplyv na zdravie. Zo získaných výsledkov vyplýva, že obsah polyfenolov v červených vínach zo Sobraneckého vinohradníckeho rajónu je priemerne 6,8 násobne vyšší ako u vín bielych. Obsah polyfenolov u bielych vín sa pohyboval v rozmedzí od 0,299 - 0,407 g.l⁻¹. Podobne aj Staško et al. (2008) konštatujú výrazne vyšší obsah fenolových zložiek v červených vínach ako vo vínach bielych. Odroda hrozna má vplyv na obsah polyfenolov vo víne (Ružič et al., 2011). Na obsah polyfenolov má však najvýraznejší vplyv technológia výroby vína (Villano et al., 2006). Dôvodom, prečo v červenom víne je viac antioxidantov, je fakt, že pri výrobe červeného vína sa ponecháva šupka hrozna po určitú dobu fermentovať, čím dochádza k uvoľneniu antioxidantných zložiek (flavonoidov, antokyánov) do vína. (Minussi et al., 2003; Netzel et al., 2003).

Tabuľka 2 Antioxidačná aktivita vín

Víno	DPPH AI (%)	TBA AI (%)
RB10	47,36 ± 1,78 ^d	50,60 ± 4,22 ^c
MT10	62,75 ± 0,80 ^c	74,82 ± 3,56 ^b
TČ10	56,45 ± 1,86 ^c	73,15 ± 3,95 ^b
RR08	42,78 ± 1,22 ^d	70,03 ± 3,87 ^b
FM08	84,22 ± 2,56 ^b	73,00 ± 2,82 ^b
FM09	80,63 ± 0,86 ^b	87,54 ± 4,03 ^a
FM10	80,70 ± 0,76 ^b	62,82 ± 4,31 ^b
CS07	90,89 ± 1,06 ^a	78,85 ± 2,36 ^a
CS10	81,90 ± 0,51 ^b	86,08 ± 2,77 ^a
RM10	81,91 ± 0,54 ^b	68,23 ± 3,56 ^b
AA 0,2 %	96,9 ± 0,43 ^a	71,2 ± 1,47 ^b

a,b,c,d – hodnoty s rozdielnym označením v stĺpci sú štatisticky rozdielne (P < 0,05), AA – kyselina askorbová

Pri porovnaní výsledkov vín zo Sobraneckého vinohradníckeho rajónu s vínami iných krajín sa stretávame s rozdielnymi hodnotami celkového obsahu polyfenolov v červených vínach. Podľa Lucena et al. (2010), hodnoty celkového obsahu polyfenolov v Brazílskych červených vínach sa v testovaných vzorkách pohybovali v rozmedzí 3,2 – 5,9 g.l⁻¹, čo je približne dvojnásobok hodnôt nameraných vo vzorkách vína zo Sobraneckého vinohradníckeho rajónu. Pomer jednotlivých látok vo víne spôsobujú okrem iného aj pôdna a klimatické podmienky (Slezák, 2003). V tomto prípade môžeme týmto faktorom pripísať rozhodujúcu úlohu. Fernandez-Pachon et al. (2004) konštatujú, že v červených vínach z južného Španielska zakúpených

v obchodnej sieti je sedemnásobne viac celkových polyfenolov ako vo vínach bielych. Priemerný obsah polyfenolov v bielych vínach bol 256 mg.l⁻¹ a u vín červených 1877 mg.kg⁻¹. Tieto výsledky výrazne kopírujú naše zistenia u vín zo Sobraneckého vinohradníckeho rajónu. Podobné výsledky obsahu celkových polyfenolov ako v našom experimente dosiahol aj Staško et al. (2008) pri porovnaní Slovenských červených vín z Pezinskej oblasti a červených vín produkovaných v Rakúsku. U vín z Pezinskej oblasti stanovili obsah celkových polyfenolov v rozmedzí 2,240 – 2,299 g.l⁻¹ a u vín produkovaných v Rakúsku v rozmedzí od 1,4 do 3,38 g.l⁻¹. U bielych vín bol obsah celkových polyfenolov u vín zo Slovenska ako aj z Rakúska prakticky rovnaký a pohyboval sa od 0,25 – 0,39 g.l⁻¹. Pri porovnaní našich výsledkov s výsledkami Staška et al. (2008), môžeme konštatovať, že vína s Východoslovenskej vinohradníckej oblasti obsahujú porovnateľné, alebo aj vyššie množstvo celkových polyfenolov ako vína z Malokarpatskej vinohradníckej oblasti a vína z Rakúska.

Pri stanovení antioxidačnej sily zachytávať DPPH radikál vykazovali červené vína zo Sobraneckého vinohradníckeho rajónu vyššiu účinnosť ako vína biele. To čiastočne súvisí s obsahom polyfenolov, ako hlavných aktívnych zložiek vo víne, ktoré sú schopné zhasť voľné radikály (Staško et al. 2008). Podobne aj Xanthopoulou et al. (2010), konštatujú dvojnásobne vyššiu antioxidačnú aktivitu inhibície 50 % DPPH radikálu u vín červených ako u vín bielych. Taktiež konštatujú vysokú koreláciu medzi obsahom polyfenolov vo vínach a ich antioxidačnou aktivitou metódou inhibície DPPH radikálu. Získané výsledky červených vín zo Sobraneckého rajónu nepotvrdili vysokú koreláciu medzi obsahom polyfenolov a antioxidačnej aktivity inhibície DPPH radikálu. Vína s vysokým obsahom celkových polyfenolov (RM10, CS10) dosahovali nižšiu antioxidačnú aktivitu ako ostatné vína s nižším obsahom polyfenolov (CS07, FM08).

Pri stanovení antioxidačného indexu TBA metódou, pri ktorej vzorky vína pôsobia ako ochranný antioxidačný faktor proti oxidácii polynenasýtených mastných kyselín (PNMK) vaječného žltka a tvorbe rozkladných produktov oxidácie získané výsledky nevykazovali tak výrazné rozdiely medzi červenými a bielymi vínami ako to bolo zaznamenané pri stanovení obsahu polyfenolov a inhibícií DPPH radikálu. Môžeme konštatovať, že antioxidačná aktivita ochrany PNMK je u červených vín vyššia, ale nie tak výrazná ako je výrazný rozdiel v obsahu celkových polyfenolov medzi červenými a bielymi vínami. Vína Ryzling rýnsky (2008), Müller Thurgau, (2010) a Tramín červený, (2010) mali antioxidačnú schopnosť ochrany mastných kyselín porovnateľnú s antioxidačnou schopnosťou viacerých červených vín. Podobne aj Xanthopoulou et al. (2010) stanovili porovnateľnú antioxidačnú aktivitu extraktov z bielych a červených vín pri ochrane kyseliny linolovej pred oxidáciou.

ZÁVER

Na základe výsledkov nášho experimentu môžeme konštatovať, že vína zo Sobraneckého vinohradníckeho rajónu majú veľmi dobré antioxidačné vlastnosti. Červené vína majú výrazne vyšší obsah polyfenolov a lepšiu schopnosť vychytávať DPPH radikál ako vína biele. Taktiež antioxidačná aktivita červených vín chrániť

polynensýtené masné kyseliny pred oxidáciou bola na veľmi dobrej úrovni. Avšak aj biele vína veľmi dobre chránili tuky pred oxidáciou a ich antioxidantná sila bola porovnateľná s červenými vínami. Najlepšie antioxidačné vlastnosti boli zaznamenané pri vínach Frankovka modrá (2009, CHOP) a Cabernet sauvignon (2010, CHOP).

LITERATÚRA

- FERNANDEZ-PACHON, M. S., VILLANO, D., GARCIA-PARRILLA, M. C., TRONCOSO, A. M. 2004. Antioxidant activity of wines and relation with their polyphenolic composition. In *Analitica Chimica Acta*, vol. 513, 2004, p. 113-118.
- GAMBACORTA, G., ANTONACCI, D., PATI, S., LA GATTA, M., FACCIA, M., COLETTA, A., LA NOTTE, E. 2011. Influence of winemaking Technologies on phenolic composition of Italian red wines. In *European Food Research and Technology*, vol. 233, 2011, p. 1057-1066.
- GAŽAROVÁ, M., HABÁNOVÁ, M., CHLEBO, P., KOPČEKOVÁ, J. 2010. Effect of moderate red wine consumption on the development and progression of metabolic syndrome as a complex risk factor cardiovascular disease and *diabetes mellitus* II. In *Potravinárstvo*, vol. 4., 2010, no. 4, p. 22-27.
- GÓMEZ-GALLENO, M. A., GARCIA-CARPINTERO, E. G., SANCHEZ-PALOMO, E., HERMOSIN-GUTIERREZ, I., GONZALES-VINAS, M. A. 2011. Study of phenolic composition and sensory properties of red grape varieties in danger of extinction from the Spanish region. In *European Food Research and Technology*, 2011,
- GRAPH PAD PRISM, 2003. GraphPad Prism version 4.00 for Windows, In *GraphPad Software*, 2003, San Diego, California
- HEILEROVÁ L., BUČKOVÁ M., TARAPČÍK P., ŠILHÁR S., LABUDA J. 2003. Comparison of antioxidative activity data for aqueous extracts of lemon balm, oregano, thyme and agrimony obtained by conventional methods and the DNA- Based Biosensor. In *Czech Journal of Food Science*. vol. 21, 2003, no. 2, p. 78-84.
- CHLEBO, P. 2009. Víno a antioxidanty. In: Keresteš, J. (Ed.) *Biotechnologie, výživa a zdravie*. Uniprint, Považská Bystrica, 2009, p. 345-353. ISBN 978-80-970205-9-0
- LUCENA, A. P. S., NASCIMENTO, J. A. C., MACIEL, J. X., TAVARES, J. M. 2004. Antioxidant activity and phenolics content of selected Brazilian wines. In *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 23, 2010, p. 30-36.
- MIGUEL, G., SIMOES, M., FIGUEIREDO, A. C., BARROSO, J. G., PEDRO, L. G., CARVALHO, L. 2004. Composition and antioxidant activities of essential oils of *Thymus caespitius*, *Thymus camphoratus* and *Thymus mastichina*. In *Food Chemistry*, vol. 86, 2004, p. 183-188.
- MINUSSI, R. C., ROSSI, M., BOLOGNA, L., CORDI, L., ROTILIO, D., PASTORE, G. M., DURÁN, N. 2003. Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. In *Food Chemistry*, vol. 82, 2003, p. 409-416.
- NETZEL, M., STRASS, G., BITSCH, I., KONITZ, R., CHRISTMANN, M., BITSCH, R. 2003. Effect of grape processing on selected antioxidant phenolic in red wine. In *Journal of Food Engineering*, vol. 56, 2003, p. 223-238.
- RUŽIČ, I., ŠKERGET, M., KNEZ, Ž. 2011. Phenolic content and antioxidant potential of macerated white wines. In *European Food Research and Technology*, vol. 233, 2011, p. 465-472.
- SLEZÁK, F. 2003. Víno a zdravie. In *Vinič a víno*, vol. 3, 2003, no. 1, p. 19-20.
- SINGLETON V. I., ORTOFER R., LAMUELA-RAVENTOS R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substances and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. In: Packer L. (ed): *Methods in Enzymology*. Orlando, Academic Press, 1999, p. 152-178.
- SOLEAS G. J., GRASS L., JOSEPHY P. D., GOLBERG D. M., DIAMANDIS E. P. 2006. A comparison of the anticarcinogenic properties of four red wine polyphenols. In *Clinical Biochemistry*, vol. 39, 2006, p. 492-497.
- STAŠKO A., BREZOVA, V., MAZÚR, M., CERTÍK, M., KALIŇAK, M., GESCHEIDT, G. 2008. A comparative study on the antioxidant properties of Slovakian and Austrian wines. In *LWT - FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY*, vol. 41, 2008, p. 2126-2135.
- VILLANO, D., FERNANDEZ-PACHÓN, M. S., TRONCOSO, A. M., GARCIA-PARRILLA, M. C. 2006. Influence of enological practices on the antioxidant activity of wines. In *Food Chemistry*, vol. 95, 2006, 394-404.
- XANTHOPOULOU, M. N., FRAGOPOULOU, E., KALATHARA, K., NOMIKOS, T., KARANTONIS, H. C., ANTONOPOULOU, S. 2010. Antioxidant and anti-inflammatory activity of red and white wine extracts. In *Food Chemistry*, vol. 120, 2010, p. 665-672.
- YOCHUM, L., KUSHI, L. H., MEYER, K., FOLSOM, A. R. 1999. Dietary flavonoid intake and risk of cardiovascular disease in postmenopausal women. In *American Journal of Epidemiology*, vol. 149, 1999, 943-949.

Contact address:

Ing. Eva Špakovská, PD Vinohrady Choňkovce, Winery Moldava n/B., Rožňavská 78, 045 01 Moldava n/B; www.chonkovce.sk, E-mail: e.spakovska@centrum.sk,
 doc. MVDr. Slavomír Marcinčák, PhD. Department of Food Hygiene and Food Technology, Institute of Meat Hygiene and Technology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81, Košice, Slovakia, E-mail: marcincak@uvm.sk
 prof. MVDr. Peter Turek, PhD. Department of Food Hygiene and Food Technology, Institute of Meat Hygiene and Technology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81, Košice, Slovakia, E-mail: turek@uvm.sk
 MVDr. Martin Bača, Department of Food Hygiene and Food Technology, Institute of Meat Hygiene and Technology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 041 81, Košice, Slovakia, E-mail: mvdrbaca.martin@gmail.com

A INPUT OF CADMIUM FROM SOIL INTO LENTIL AND FABABEAN SEEDS IN RELATION TO THE CONTENT OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS

Mária Timoracká, Alena Vollmannová, Beáta Volnová, Dalaram S. Ismael

ABSTRACT

In the plant, the polyphenols create in the defense mechanism against stress conditions, such as heavy metals. In view of the above aspects, therefore we will work focused on monitoring the influence of accumulation of cadmium on the formation of polyphenols in lentil and faba bean in a model vegetation conditions, in which have been deliberately added dose of Cd with 5,10,15 multiple as the limit value claimed by the limits of the Law no. 220/2004 Z.z. to assess the state of soil contamination. In all scenarios exceed the maximum permitted levels for Food Codex SR for cadmium in grains of both crops. Influence of soil contamination on the content of polyphenols was significantly confirmed, although the content of polyphenols in some variants show some tendency with increasing dose of heavy metal, but results both indicate that the formation of polyphenols (as response to stress) is probably genetically determined.

Keywords: faba bean, lentil, Cd contamination, polyphenol

ÚVOD

Kontaminácia pôd a následne aj potravín ťažkými kovmi je jedným z hlavných činiteľov, ktoré sa podieľajú na zdravotnom stave obyvateľstva, preto monitoring a bezpečnosť potravín z hľadiska obsahu rizikových kovov by mali byť jednou z priorít výrobcov potravín i konzumentov. Z tohto dôvodu je nevyhnutné hľadať riešenia znižovania negatívnych vplyvov zvýšených obsahov rizikových prvkov v pôde na jednotlivé zložky potravinového reťazca. Jedno z riešení ponúka aj samotný obranný systém rastlín. Stres, ktorý je vyvolaný účinkom ťažkých kovov, môže vyvolávať v rastlinných pletivách aj pozitívny účinok, napr. aktivovať antioxidačný systém bunky. Predpokladá sa, že na antioxidačnom účinku, okrem iných mechanizmov a substrátov, sa podieľajú aj rastlinné polyfenoly svojou schopnosťou zhasťovať reaktívne kyslíkové radikály a obmedzovať tvorbu ďalších radikálov chelatáciou niektorých iónov prechodných prvkov, ktoré sú schopné generovať vysoko reaktívne hydroxylové radikály. To znamená, že nadlimitná koncentrácia toxických prvkov môže pôsobiť na rastlinu ako environmentálny stresový faktor a vyvolať zvýšenú tvorbu polyfenolických látok s antioxidačným účinkom.

Cieľom našej práce bolo v modelových podmienkach vegetačného nádobového pokusu sledovať mieru kumulácie vybraných ťažkých kovov a tvorby polyfenolov v semene strukovín (šošovica, bôb) v závislosti od miery kontaminácie kadmium – prvkom, ktorý je prítomný v pôde v nadlimitnej koncentrácii na väčšine územia Slovenskej republiky.

MATERIÁL A METÓDY

Pre náš experiment bola použitá forma nádobového pokusu. Pôda v nádobách sa zmiešala s pieskom (5 kg pôdy + 1 kg kremičitého piesku), do ktorej boli postupne

zasadené skúmané vzorky šošovice (odroda Nelka) a bôbu (odroda Merlin). Vzhľadom k stanovenému obsahu živín v pôde sa formou základného hnojenia upravil ich obsah superfosfátom (22 g), KCl (60 %, 4,9 g) a močovinou (4,2 g) tak, aby ich obsahy boli dobré v pokusnej pôde. Pôda bola postupne zaťažovaná stupňovanými dávkami kadmia vo forme vo vodorozpustnej soli $\text{CdCl}_2 \cdot 2 \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ (dávka sa prepočítala cez stanovenú hodnotu Cd v pôde vzhľadom k limitnej hodnote). Do pôdy boli zámerne pridávané dávky Cd s 5, 10, 15-násobným prekročením ich limitnej hodnoty v pôde udávanej limitmi podľa Zákona v č. 220/2004 Z.z. pre zhodnotenie stavu kontaminácie pôd. Každý variant mal 4 opakovania (Tabuľka 1).

Použité analytické metódy

V každej pôdnej vzorke sa stanovovali nasledovné charakteristiky: pôdna reakcia, obsah celkového dusíka v pôde podľa Kjeldahla, obsah rastlinám prístupného fosforu, draslíka a horčíka a „mobilnej formy“ vápnika v pôde vo výluhu podľa Melicha II, obsah humusu v pôde Ťurinovou metódou v modifikácii podľa Nikitina. Pre hodnotenie pôdnej hygieny sa stanovovali obsahy ťažkých kovov vo výluhu NH_4NO_3 ($c=1 \text{ mol.dm}^{-3}$) a HNO_3 ($c=2 \text{ mol.dm}^{-3}$). Pseudototálne obsahy rizikových ťažkých kovov boli stanovené po mineralizácii vzoriek pôdy lúčavkou kráľovskou. V semenách bôbu sa stanovovali obsahy ťažkých kovov a celkových polyfenolov.

Analytickou metódou stanovenia obsahov prvkov v pôde i rastlinách bola plameňová atomová absorpčná spektrometria (prístroj AA240FS Varian, CA). Obsah rastlinám prístupného fosforu sa stanovil spektrofotometricky na prístroji Shimadzu 1024 (Japonsko).

Obsah celkových polyfenolov sa stanovil použitím Folin-Ciocalteauovho skúmadla spektrofotometricky na prístroji Shimadzu 1024 (Japonsko).

Tabuľka 1 Varianty kontaminácie pôdy kadmium

variant	hnojenie + Cd		
		LH*	0,7 mg Cd.kg⁻¹
A	NPK	stanovená hodnota	0,9 mg Cd.kg ⁻¹
B	NPK + 4,6 mg Cd.kg ⁻¹	5 násobok limitnej hodnoty	
C	NPK + 9,1 mg Cd.kg ⁻¹	10 násobok limitnej hodnoty	
D	NPK + 13,5 mg Cd.kg ⁻¹	15 násobok limitnej hodnoty	

* limitná hodnota - Zákon č. 220/2004 Z.z.

Výsledky boli vyhodnotené podľa:

- zákona č. 220/2004 Z.z. pre zhodnotenie stavu kontaminácie pôd – výluh v NH_4NO_3 ($c=1 \text{ mol.dm}^{-3}$) a lúčavke kráľovskej
- Rozhodnutia Ministerstva pôdohospodárstva SR č. 531/1994-540 o najvyšších prípustných hodnotách rizikových látok v pôde – výluh v HNO_3 ($c=2 \text{ mol.dm}^{-3}$)
- Potravinového kódexu Slovenskej republiky

Pri hodnotení biologického materiálu bola použitá štatistická metóda analýzy variancií t-test pre závislé vzorky na hladine významnosti $\alpha = 0,05$. Vzťahy medzi obsahmi ťažkých kovov navzájom a obsahmi celkových polyfenolov sa vyjadrili korelačnými vzťahmi. Na štatistické spracovanie údajov sa použil program EXCEL 2010 a Statistica Vs. 6.0. Cz software.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Hodnotenie pôdy z lokality odberu

V modelových podmienkach vegetačných nádobových pokusov bola použitá pôda z lokality Výčapy – Opatovce. Výsledky stanovenia pôdnej reakcie, obsahov prístupných živín, celkových obsahov ťažkých kovov a obsahov rizikových látok vo výluhu $2 \text{ mol.dm}^{-3} \text{ HNO}_3$ a $1 \text{ mol.dm}^{-3} \text{ NH}_4\text{NO}_3$ v pôdných vzorkách z jednotlivých lokalít odberu sú uvedené v tabuľkách 2-3.

Obsah prítomných makroprvkov sa stanovili metódou podľa Melicha II (UKSÚP Bratislava – Zvolen, 1995). Pôda z lokality Výčapy – Opatovce sa vyznačovala veľmi nízkym obsahom fosforu, dobrým obsahom draslíka a vysokým obsahom horčíka, pričom optimálna zásoba živín sa má pohybovať približne na hladine 100 – 125 mg P.kg⁻¹ pôdy; 140 – 220 mg K.kg⁻¹ pôdy a 110 – 180 mg Mg.kg⁻¹ pôdy. Pretože obsah fosforu bol nízky, pôdu sme upravili podľa základného hnojenia na obsah fosforu dobrý. Obsah prístupného dusíka sa vyhodnotil ako dobrý. Obsah humusu sa hodnotil podľa Kódexu správnej poľnohospodárskej praxe SR 1994 MP SR. Jeho hodnota je stredne humózná a pôdna reakcia pH_{KCl} bola extrémne kyslá.

Obsah ťažkých kovov stanovený v lúčavke kráľovskej, tzv. pseudototálny obsah z lokality Výčapy – Opatovce sa porovnával s limitnou hodnotou. Hodnoty obsahov všetkých sledovaných prvkov boli pod limitnou hodnotou s výnimkou Co, ktorého totálny obsah dosiahol a Cd, ktorého obsah prekročil (o 22,3 %) hodnotu stanovenú **zákonom č. 220/2004 Z. z.** Vyšší obsah kadmia v pôdnom extrakte lúčavky kráľovskej nemusí byť príčinou jeho zvýšeného obsahu v semene plodiny, preto pre posúdenie hygienického stavu pôd je dôležitejšie, ak sú k dispozícii stanovené mobilné formy rizikových prvkov, ktoré sú rozhodujúce v procese transferu pôda - rastlina.

Tabuľka 2 Agrochemická charakteristika a obsah živín (mg.kg⁻¹) v pôde z lokality Výčapy – Opatovce

Agrochemická charakteristika	pH	pH	Cox	humus	
	(H ₂ O)	(KCl)	(%)	(%)	
	5,98	4,36	1,52	2,63	
Makroprvky	N	K	Ca	Mg	P
	2975	212,5	1459,5	256	19,8

Tabuľka 3 Obsah ťažkých kovov (mg.kg⁻¹) v rôznych extraktach pôdy z lokality Výčapy – Opatovce

Ťažké kovy	Zn	Cu	Mn	Fe	Cr	Cd	Pb	Co	Ni
lúčavka kráľovská	52,4	45,8	621,2	25500	31,8	0,9	22,2	15	31,6
<i>limitná hodnota*</i>	150	60	-	-	70	0,7	70	15	50
HNO₃	5,3	9,1	141	894	1,9	0,2	8,9	1,8	6,4
<i>referenčná hodnota**</i>	40	20	-	-	10	0,3	30	-	10
NH₄NO₃	0,24	0,06	12,08	0,15	0,07	0,03	0,22	0,17	0,46
<i>kritická hodnota*</i>	2	1	-	-	-	0,1	0,1	-	1,5

* Zákon č. 220/2004 Z. z., ** Rozhodnutie MP SR 531/1994-540

Stanovili sa obsahy ťažkých kovov vo výluhu HNO_3 ($c = 2 \text{ mol.dm}^{-3}$), tzn. ich potenciálne uvoľniteľné formy. Porovnávaním hodnôt v tabuľke 3 oproti referenčnej hodnote môžeme konštatovať, že obsahy ťažkých kovov boli pod referenčnou hodnotou určenou podľa **Rozhodnutia MP SR č. 531/1994-540**. Nakoniec sa hodnotili obsahy ťažkých kovov vo výluhu NH_4NO_3 ($c = 1 \text{ mol.dm}^{-3}$), tzn. mobilné formy rizikových prvkov v pôde. Všetky stanovené hodnoty boli nižšie ako kritická hodnota, maximálna prípustná hodnota bola prekročená len v prípade obsahu mobilných foriem Pb.

Hodnotenie obsahu ťažkých kovov v semenách strukovín

Cieľom tohto prešetrovania bolo zistiť vplyv úrovne kontaminácie pôdy kadmium na jeho obsah v dopestovaných semenách bôbu a šošovice. Výsledky boli hodnotené podľa **Potravinového kódexu SR (PK SR)**. Slovenská republika má stanovené limity pre maximálne hodnoty vybraných rizikových prvkov, ktoré sa nachádzajú v strukovinách, t.j. pre kadmium, olovo, chróm, meď, nikel a zinok sú maximálne hodnoty 0,1; 1,0; 4,0; 15,0; 6,0; 50 mg.kg^{-1} . Limity pre kontaminanty v slovenských potravinárskych komoditách sú v súlade s limitmi EÚ (**Cimboláková, Nováková, 2009**).

Porovnávaním údajov z tabuliek 4-5 môžeme konštatovať, že vo všetkých variantoch boli prekročené maximálne prípustné množstvá určené PK SR pre obsah kadmia a niklu.

Zámerné pridávanie stupňovaných dávok kadmia do pôdy sa štatisticky významne ($P > 0,05$) prejavilo v jeho obsahu v semene bôbu ($R=0,92$), a aj šošovice ($R=0,82$). Z hodnôt obsahov Cd uvedených v tabuľkách 4-5 môžeme tiež usudzovať, že miera kumulácie kadmia v jednotlivých variantoch bola porovnateľná pre obe plodiny. V každom variante oboch plodín bolo prekročené maximálne prípustné množstvo určené PK SR pre kadmium (0,1 mg.kg^{-1}), čo môže byť spôsobené vysokou mobilitou tohto prvku v pôde. V prípade bôbu aj šošovice bol najvyšší obsah Cd zaznamenaný vo variante D s najvyššou záťažou pôdy. V bôbe bola nameraná priemerná hodnotu 5,02 mg.kg^{-1} , čo predstavuje 16,2-násobne zvýšenie oproti kontrolnej hodnote (0,31 mg.kg^{-1}). V šošovici bolo zaznamenané 13,6-násobné zvýšenie obsahu Cd v porovnaní s kontrolným variantom.

Pre názornosť je v grafickom prevedení znázornené prekročenie limitnej hodnoty obsahu Cd v jednotlivých variantoch v semene bôbu (graf 1) a šošovice (graf 2).

Na základe údajov v tabuľkách 4-5 sme ďalej zistili, že maximálne prípustné množstvá určené Potravinovým kódexom SR boli prekročené i v prípade obsahu niklu (0,6 mg.kg^{-1}).

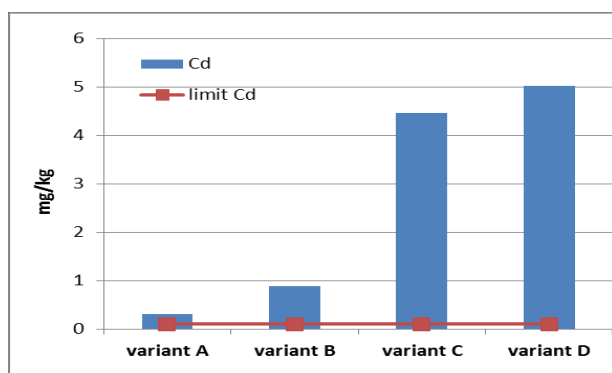
Tabuľka 4 Obsah ťažkých kovov (mg.kg^{-1}) v semene bôbu po aplikácii stupňovaných dávok kadmia do pôdy (Výčapy-Opatovce) ($n=4$)

Variant	Zn	Cu	Co	Ni	Cr	Pb	Cd
A	40,95	7,00	1,27	9,28	0,65	0,65	0,31
B	42,13	7,87	1,287	10,15	0,76	0,55	0,88
C	43,78	8,97	1,48	9,66	0,56	0,65	4,46
D	47,21	9,25	1,28	9,56	0,62	0,70	5,02

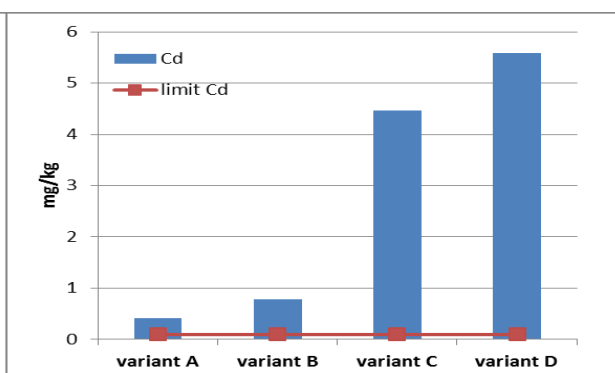
Tabuľka 5 Obsah ťažkých kovov (mg.kg^{-1}) v semene šošovice po aplikácii stupňovaných dávok kadmia do pôdy (Výčapy-Opatovce) ($n=4$)

Variant	Zn	Cu	Co	Ni	Cr	Pb	Cd
A	50,98	5,55	0,88	7,76	0,57	1,00	0,41
B	45,46	5,30	0,65	7,71	0,5	0,67	0,78
C	49,12	10,20	0,86	8,77	0,52	0,82	4,47
D	45,8	7,91	0,73	7,70	0,62	0,88	5,58

Graf 1 Obsah Cd v semene bôbu



Graf 2 Obsah Cd v semene šošovice



Kabata-Pendias, Pendias (1995) opísali vzťah medzi kadmim a niklom ako antagonistický, ale aj synergický. Podľa **Kalavrouzotis et al. (2009)** zvyšujúce sa koncentrácie Cd štatisticky významne znižujú obsah Ni v pletivách rastlín (antagonistický vzťah). Medzi obsahom kadmia a niklu v semenách ovsu zistila **Bystrická (2011)** stredne silnú pozitívnu štatistickú závislosť (synergický vzťah). V našom experimente nebola potvrdená závislosť ($P > 0,05$) medzi obsahom kadmia a niklu v semenách strukovín. V prípade zinku sme zaznamenali mierne zvýšenie oproti limitu PK SR len v kontrolnom variante šošovice (variant A). Strukoviny sú známe ako akumulátory zinku (**Gencelep et al., 2009**) a koncentrácia zinku v testovaných plodinách sa pohybovala od 40, 95 do 50,98 mg.kg⁻¹. Testovaním hodnôt obsahov kadmia a zinku sme nezaznamenali štatisticky významný vzťah v semene šošovice, ale v prípade bôbu bola zistená štatistická významnosť hladín Zn a Cd ($P > 0,05$).

Dobříková (2004) zistila, že kombináciou kationov v sústave Cd + Zn, resp. Cd + Ni sa súčasne preukázala vyššia akumulácia Cd v semene bôbu ako pri variante, kde sa kadmium aplikovalo izolovane. Napriek tomu zaznamenala i prípady, kedy vytvorený systém kadmia a kationov akumuláciu Cd v sušine znížil. **Dobříková (2004)** vysvetľuje uvedené skutočnosti na základe kompetitívnej interakcie medzi Cd²⁺ a Zn²⁺ (príjem Cd²⁺ je inhibovaný Zn²⁺ a príjem Zn²⁺ inhibovaný Cd²⁺) i na základe skutočnosti, že obidva kationy majú spoločný transportný systém cez plazmatickú membránu koreňových buniek. **Bystrická (2011)** pri rovnakej stupňovanej záťaži pôdy kadmim (rovnaké podmienky variantov ako v našom pokuse) nezaznamenala štatisticky významný vzťah medzi obsahom kadmia a zinku v semene pseudocereálií. **Nöel et al. (2006)** však dospeli k záveru, že rastúci obsah Cd vyvolal výraznú akumuláciu zinku.

Stanovenie obsahu celkových polyfenolov v strukovinách

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. Typ odrody, lokalizácia rastu a kontaminácia pôdy (**Musilová, 2009; Lachman et al., 2006**) môžu mať vplyv na obsah polyfenolov. V modelových podmienkach vegetačného pokusu sme preto overovali aj schopnosť konzumných častí sledovaných strukovín kumulovať olovo a kadmium vo vzťahu k tvorbe polyfenolických látok. V semene bôbu a šošovice bol obsah celkových polyfenolov vyjadrený ako ekvivalent tanínu v mg.kg⁻¹ suchého materiálu (Tab. 6 a 7). Stanovenie obsahu celkových polyfenolov sme vyhodnotili štatisticky t-testom a korelačnými vzťahmi. Porovnávaním hodnôt obsahov celkových polyfenolov medzi jednotlivými variantmi bôbu so stupňovanými dávkami Cd sme zaznamenali pokles obsahu polyfenolov, okrem variantu B (s prídavkom 4,6 mg Cd), kde bol obsah polyfenolických látok štatisticky nevýznamne zvýšený o takmer 5 % v porovnaní s kontrolným variantom A. V semene bôbu sme maximálnu priemernú hodnotu dosiahli vo variante B, ktorá mala hodnotu 2820,06 mg tanínu.kg⁻¹ a minimálna priemerná hodnota bola vo variante D (najvyššia záťaž pôdy), kde hodnota bola 2491,02 mg tanínu.kg⁻¹. Testovaním hodnôt medzi obsahom kumulovaného kadmia a obsahom celkových polyfenolov v semene bôbu sme zistili štatisticky stredne významnú negatívnu závislosť ($R = -0,54$, $P > 0,05$). **Bystrická (2011)** udáva štatisticky preukaznú pozitívnu koreláciu medzi kumuláciou kadmia a obsahom celkových polyfenolov pseudocereáliách. **Musilová (2009)** nezistila významný vzťah medzi uvedenými sledovanými parametrami v zemiakových hlľuzách.

Tabuľka 6 Obsah kadmia a celkových polyfenolov (mg.kg⁻¹) v semene bôbu po aplikácii stupňovaných dávok kadmia do pôdy (Výčapy-Opatovce) (n=4)

Variant	Cd	obsah celkových polyfenolov*
A: NPK	0,31 ± 0,03	2695,65 ± 6,86 a
B: NPK + 4,6 mg Cd.kg ⁻¹	0,88 ± 0,11	2820,06 ± 9,07 a
C: NPK + 9,1 mg Cd.kg ⁻¹	4,46 ± 0,47	2620,06 ± 11,46 a
D: NPK + 13,5 mg Cd.kg ⁻¹	5,02 ± 0,79	2491,02 ± 2,92 a,b

Tabuľka 7 Obsah kadmia a celkových polyfenolov (mg.kg⁻¹) v semene šošovice po aplikácii stupňovaných dávok kadmia do pôdy (Výčapy-Opatovce) (n=4)

Variant	Cd	obsah celkových polyfenolov*
A: NPK	0,41 ± 0,03	1160,54 ± 11,06a
B: NPK + 4,6 mg Cd.kg ⁻¹	0,78 ± 0,21	1082,50 ± 10,57a
C: NPK + 9,1 mg Cd.kg ⁻¹	4,47 ± 0,27	1809,63 ± 9,03a,b
D: NPK + 13,5 mg Cd.kg ⁻¹	5,58 ± 0,30	1274,98 ± 6,14 a

* rozdielne písmená - štatistická preukaznosť pri hladine významnosti $\alpha = 0,05$

V prípade testovania vzťahu prídavku kadmia do pôdy, obsahu kumulovaného kadmia vo vzťahu k obsahu polyfenolov v šošovici nie je možné určiť jednoznačnú tendenciu alebo závislosť medzi sledovanými parametrami. Korelačný koeficient je veľmi nízky ($R=0,13$, $P>0,05$). Zatiaľ čo v kontrolnom variante hodnota celkových polyfenolov predstavovala $1160,54 \text{ mg.kg}^{-1}$, najvyššiu hodnotu sme zaznamenali vo variante C (priemerná hodnota $1809,63 \text{ mg.kg}^{-1}$), a to o takmer 20 % vyššiu oproti kontrolnému variantu. Pri najvyššej záťaži pôdy kadmom - variant D - nastal signifikantný pokles obsahu polyfenolických látok na hodnotu $1274,98 \text{ mg tanínu.kg}^{-1}$.

ZÁVER

V našej práci sme sa zaoberali vplyvom cielenej kontaminácie pôdy toxickým prvkom - kadmom, jeho kumuláciou v semene bôbu a šošovice a následne sme posudzovali indukovanú tvorbu polyfenolov v konzumnej časti strukovín. Na základe výsledkov môžeme konštatovať, že u kadmia sme zistili jeho nadlimitný obsah v semene oboch strukovín vo všetkých sledovaných variantoch pokusu. Je to dané jeho vysokou mobilitou v pôdach, z čoho vyplýva jeho vysoký príjem rastlinami. Obsahy polyfenolov v jednotlivých variantoch oboch strukovín vykazovali nejednoznačnú tendenciu. Môžeme konštatovať, že obsah polyfenolov strukovínach sa môže zvýšiť po pridaní kadmia alebo olova do pôdy (ako odpoveď na stresovú situáciu), ale súčasne výsledky naznačujú, že tvorba polyfenolov je podmienená pravdepodobne geneticky a tiež závisí od druhu plodiny.

LITERATÚRA

- BYSTRICKÁ, J. 2011. Polyfenoly vo vzťahu k antioxidačnej aktivite vybraných pseudocereálií : habilitačná práca. Nitra : SPU, 2011. 190 p.
- CIMBOLÁKOVÁ, I., NOVÁKOVÁ, J. 2009. Heavy metals – the important element of the food chain. In *Potravinárstvo*, vol. 3, 2009, no. 3, p. 14-16.
- DOBRIKOVÁ, E. 2004. Možnosti znižovania fytotoxicity kadmia vplyvom kationov Zn^{2+} , Ni^{2+} a Mn^{2+} : dizertačná práca. Nitra : SPU, 2004. 120 s.
- GENÇCELEP, H., UZUN, Y., TUNÇTÜRK, Y., DEMIREL, K. 2009. Determination of mineral content of wild-grown edible mushrooms. In *Food Chemistry*, vol. 133, 2009, p. 1033-1036.
- KABALA-PENDIAS, A., PENDIAS, H. 1992. *Trace Elements in Soil And Plants*. 2nd edition. London : CRC Press, 1992. 365 p.

LACHMAN, J., HAMOUZ, K., ČEPL, J., PIVEC, V., ŠULC, M., DVOŘÁK, P. 2006. Vliv vybraných faktorů na obsah polyfenolů a antioxidační aktivitu hlíz brambor. In *Chemické listy*, vol. 100, 2006, s. 522-527.

MUSILOVÁ, J. 2009. Vzťah vybraných rizikových kovov k nutričným komponentom ľuľka zemiakového (*Solanum tuberosum* L.) : habilitačná práca. Nitra : SPU, 2009. 120 p.

NÖEL, L., HUYNH-DELERME, C., GUERIN, T., HUET, H., FRÉMY, J. M., KOLF-CLAUW, M. 2006. Cadmium accumulation and interactions with zinc, copper, and manganese. In *Biometals*, vol. 99, 2006, no. 6, p. 473-481.

Rozhodnutie MP SR No. 531/1994-540 o najvyšších prípustných hodnotách rizikových látok v pôde. MP SR:

Vestník MP SR, roč. XXVI, časť I., rozhodnutie 3, číslo 531/1994.

KALAVROUZOTIS, I. K., KOUKOULAKIS, P. H., MANOURIS, G., PAPADOPOULOS, A. H. 2009. Interactions between cadmium, lead, cobalt, and nickel in broccoli, irrigated with treated municipal wastewater. In *European Water*, vol. 25, 2009, no. 26, p. 13-23.

Potravinový kódex, 2004. Výnos Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky z 15. marca 2004 No 608/3/2004 - 100, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky upravujúca kontaminanty v potravinách.

Contact address:

Ing. Mária Timoracká PhD., Slovak Agricultural University in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 949 01 Nitra, Slovak Republic, E-mail: maria.timoracka@uniag.sk

prof. RNDr. Alena Vollmannová, PhD., Slovak Agricultural University in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 949 01 Nitra, Slovak Republic, E-mail: alena.vollmannova@uniag.sk

Ing. Beáta Volnová, Slovak Agricultural University in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 949 01 Nitra, Slovak Republic, E-mail: beata.volnova@uniag.sk

Dalaram S. Ismael, Slovak Agricultural University in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 949 01 Nitra, Slovak Republic, E-mail: dlaram.dizayee@gmail.com



ANALYSIS OF SELECTED DETERMINANTS OF ALIMENTATION HYGIENE OF SCHOOL CHILDREN

Lucia Zeleňáková, Dagmar Kozelová, Miriam Pietriková

ABSTRACT

The aim of the work was an analysis of nutrition and hygienic habits of students while staying at school as well as analysis of catering hygiene in the school catering establishment. Method for obtaining information, a questionnaire was developed for this purpose (355 respondents, aged 7 – 15 years). We have focused on the awareness of the issues of healthy nutrition, the observance of the principles of personal hygiene, prioritising certain dishes and drinks, the food, the overall level of quality of the knowledge of the risk and the overall level of hygiene of catering in the school meals catering establishment. The results have shown that it is necessary to increase the awareness and education in the areas of healthy eating and hygiene principles and achieve the mutual cooperation of students, families, and schools.

Keywords: food, dinner, alimentation hygiene, personal hygiene, school dining room

ÚVOD

Stravovanie detí v zariadeniach školského stravovania plní viacero funkcií: poskytnutie optimálnej výživy, podpora fyzickej i duševnej schopnosti a výkonnosti, plnenie sociálnej a výchovnej úlohy. Okrem zabezpečenia kvality pokrmov v školských stravovacích prevádzkach je nevyhnutné upriamiť pozornosť na vzdelávanie detí školského veku v oblasti hygieny výživy a stravovania (Zeleňáková et al., 2011).

Hygiena patrí v stravovaní k základným pojmom. Nedostatky v osobnej a prevádzkovej hygieny sú veľmi nebezpečné. Napriek tomu alebo práve preto, že hygienické návyky získavame už v detstve, považujeme ich často za tak samozrejmé, že si ani neuvedomujeme, ako v nich môžeme chybovať. Ak navyše pracujeme v gastronomických prevádzkach, môžu mať naše chyby závažné dôsledky nielen pre nás, ale i pre zákazníkov. O zvýšenej nutnosti dbať na osobnú hygienu sa začína hovoriť vždy viac vo chvíli, keď dôjde k väčším zdravotným problémom (Nejezová, 2009).

Podľa Šlaisovej (2010), rodičia považujú osobnú hygienu za jeden z najdôležitejších aspektov výchovy detí, minimálne rovnako významný ako slušné správanie, pohyb, zdravé stravovanie a dobré výsledky v škole. Dobrá hygiena je vo výchove považovaná za dôležitejšiu ako napríklad viera a tradície. Rodičia chcú, aby si deti umývali ruky najmä v týchto situáciách:

- po návšteve toalety (97 %),
- pred jedlom (93 %),
- po príchode domov zo školy (87 %),
- po hre so zvieratami (84 %),
- po jedle (34 %).

Každoročne sa vyskytujú alimentárne ochorenia z jedál, ktoré boli pripravené a konzumované v zariadeniach školského stravovania a z tohto dôvodu musia byť vytvorené mikrobiálne bariéry pri príprave a podávaní

pokrmov, aby bola minimalizovaná nákaza (Mižák a Mižáková, 2003).

Pre obmedzenie prenosu nákaz v školských jedálňach je najdôležitejšie dodržiavanie prevádzkovej a osobnej hygieny. Pracovníčky jedální by si mali dôkladne umývať ruky, najmä po použití WC a po manipulácii s rizikovými potravinami. Odporúča sa mať jednorazové rukavice, najmä vtedy, keď sa jedlá pripravujú rukami. V tejto dobe je obzvlášť dôležité pripomenúť, aby kuchárky nenosili na rukách prstene a nemali dlhé nechty, pod ktorými sa mikroorganizmy môžu hromadiť. Ďalej je nutné potraviny, ktoré sa už tepelne neupravujú, napríklad zeleninové šaláty, ovocie, riadne očistiť a umyť pitnou vodou (Ludvík, 2011).

Epidemiológia výskytu alimentárnych ochorení je ukazovateľom miery nedodržania hygienických zásad pri výrobe potravín, nedodržania požiadaviek vyplývajúcich z platných právnych noriem, ale i nepostačujúceho monitoringu príslušných kontrolných systémov, či aplikácie menej prísnych sankcií. Ak hovoríme o rizikách ochorení z potravín, musíme zvažovať možnosť vzniku klasických alimentárnych nákaz a otráv (Golian a Zeleňáková, 2010).

Z hľadiska zabezpečenia kvality a bezpečnosti vyrábaných pokrmov je nevyhnutné najmä budovanie materiálneho, technického, marketingového, ako aj personálneho zázemia v zariadeniach spoločného stravovania. Následne je dôležitá optimalizácia štruktúry kontrolných orgánov, spôsobov vykonávania kontroly a účinnosti represívnych opatrení (Zeleňáková et al., 2011).

Cieľom práce bolo zhodnotiť kvalitu stravovania detí vo veku 7 – 15 rokov počas pobytu v škole, jednak z hľadiska uplatňovania hygienických návykov, ako aj z hľadiska hygieny stravovania v školskej jedálni.

MATERIÁL A METODIKA

Pre splnenie vytýčeného cieľa práce sme oslovili 355 žiakov 2. až 9. ročníka dvoch základných škôl, z ktorých jedna sa nachádza vo východoslovenskom a druhá v západoslovenskom regióne. Sociálna štruktúra respondentov je uvedená v tab. 1. Pre získanie podkladov pre výskum sme použili metódu anonymného dotazníka, ktorý sme žiakom dali v školskom roku 2010/2011. Bezprostredne pred vyplňaním dotazníka boli žiaci krátkou inštrukciou oboznámení s cieľom výskumu a s postupom vyplňania. Návratnosť dotazníka bola 100 %. Dotazník bol rozdelený do dvoch častí. Respondenti sa vyjadrili k 3 kvalifikačným otázkam (charakteristika súboru respondentov) a k 22 otázkam týkajúcich sa uplatňovania hygienických návykov, ako aj posúdenia úrovne hygieny výživy a stravovania v školskej jedálni.

Pri organizovaní výskumu sme v súlade so stanoveným cieľom vychádzali z nasledovných hypotéz:

1. Predpokladáme, že žiaci vyšších ročníkov (6. až 9. ročník) dbajú viac na dodržiavanie zásad osobnej hygieny než žiaci nižších ročníkov (2. až 5. ročník).
2. Predpokladáme, že dievčatá dbajú viac na dodržiavanie zásad osobnej hygieny než chlapci.
3. Predpokladáme, že medzi regiónmi Slovenska neexistuje rozdiel v dodržiavaní zásad osobnej hygieny.
4. Predpokladáme, že žiaci vyšších ročníkov (6. až 9. ročník) sa stravujú častejšie doma než v škole v porovnaní so žiakmi nižších ročníkov (2. až 5. ročník).
5. Predpokladáme, že dievčatá sa stravujú častejšie v škole v porovnaní s chlapcami.
6. Predpokladáme, že žiaci na východnom Slovensku sa stravujú častejšie v škole porovnaní so žiakmi západného Slovenska.
7. Predpokladáme, že žiaci vyšších ročníkov (6. až 9. ročník) považujú hygienu stravovania v školskej jedálni skôr za uspokojivú až neuspokojivú v porovnaní so žiakmi nižších ročníkov (2. až 5. ročník).

Tabuľka 1 Sociálna štruktúra respondentov

Štruktúra respondentov		Počet	
		Absolútne vyjadrenie	Relatívne vyjadrenie (%)
ročník	2.	19	5,3
	3.	72	20,2
	4.	52	14,6
	5.	54	15,2
	6.	47	13,2
	7.	33	9,3
	8.	40	11,2
	9.	38	10,7
pohlavie	chlapci	162	45,6
	dievčatá	193	54,4
región	zs	182	51,3
	vs	173	48,7
spolu		355	100

Legenda: zs – západoslovenský región, vs – východoslovenský región

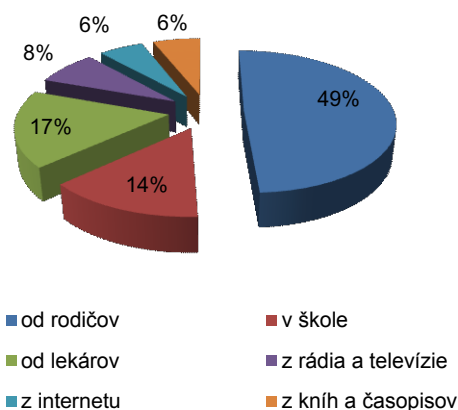
Z metodologického hľadiska sme v rámci štatistického hodnotenia dosiahnutých výsledkov použili okrem základných metód deskriptívnej štatistiky aj metódu merania asociácií. Existencia štatisticky významných vzťahov bola overovaná χ^2 testu štvorcovej kontingencie. Štatistickú preukaznosť vzťahov sme posudzovali na základe významnosti testovacej charakteristiky (p-hodnoty). Za štatisticky významnú preukaznosť považujeme vzťah, pri ktorom je p-hodnota menšia ako hladina významnosti $\alpha = 0,05$. Tesnosť závislosti bola overovaná pomocou koeficientu kontingencie a Cramerovho koeficientu. Výpočty sme realizovali v štatistickom softvéri Statgraphics. Ostatné výsledky sme prezentovali tabuľkovou a grafickou formou.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V zmysle stanoveného cieľa sme analyzovali názory žiakov vo veku 7 – 15 rokov žijúcich v dvoch regiónoch Slovenska na úroveň hygieny výživy a stravovania v školskom stravovacom zariadení, ako aj počas pobytu v škole. Zamerali sme sa na nasledovné oblasti: informovanosť detí o problematike hygieny stravovania; možnosti stravovania detí počas pobytu v škole; posúdenie druhu a množstva stravy, dodržiavanie zásad osobnej hygieny, hodnotenie celkovej úrovne hygieny stravovania a kvality jedla v školskej jedálni.

Z prieskumu vyplynulo, že deti majú dostatok informácií o zdravej výžive, stravovaní a dodržiavaní zásad osobnej hygieny (obr. 1). Z celkového počtu oslovených žiakov až 49 % uviedlo, že predmetné informácie získavajú od rodičov, 17 % od lekárov, 14 % v škole, 8 % z rádia a televízie a len 6 % z kníh, časopisov a z internetu. To znamená, že primárnym zdrojom informovanosti v danej oblasti je pre deti rodina.

Úloha rodičov v oblasti stravovania detí podľa Orolínovej (2006) pozostáva z nasledovných bodov: a) podporovať zdravé stravovacie návyky a pravidelnú fyzickú aktivitu u detí, b) aktívne limitovať čas, ktorý ich dieťa strávi pozeraním televízie a najmä reklám, c) pomáhať deťom a vzdelávať ich pri rozhodovaní sa pre zdravé jedlo, d) monitorovať body mass index (BMI) dieťaťa a radiť sa s odborníkmi.



Obr.1 Informovanosť žiakov o hygiene stravovania

Pomocou χ^2 testu štvorcovej kontingencie bola testovaná existencia závislosti odpovedí na otázky týkajúce sa principiálneho dodržiavania zásad osobnej hygieny žiakov počas pobytu v škole vo vzťahu k trom klasifikačným otázkam (pohlavie, ročník a región). Výsledky testovania sa nachádzajú v tab. 2.

Závislosť dodržiavania osobnej hygieny (otázka 10: „Dodržiavaš počas pobytu v škole zásady osobnej hygieny?“) a ročníka štúdia bola v princípe potvrdená (hypotéza 1). Zaznamenali sme však opačný trend, totiž, že so zvyšujúcim sa vekom žiakov rastie sklon skôr k negatívnym hodnoteniam. Silná závislosť bola zistená aj z hľadiska regionálneho porovnania. V tomto prípade sa zamietá nulová hypotéza (H_0) a prijíma sa alternatíva, z ktorej vyplýva, že deti pochádzajúce zo západného Slovenska viac uplatňujú zásady osobnej hygieny ako deti z východného Slovenska. Taktiež sa nepotvrdila hypotéza 2, z ktorej vyplynulo, že dievčatá dbajú viac na dodržiavanie zásad osobnej hygieny než chlapci.

Umývanie si rúk (otázky 11, 12 a 13) bolo ďalšou oblasťou, ktorú sme v rámci hodnotenia dodržiavania zásad osobnej hygieny sledovali. Hypotézy k uvedenej otázke sme však osobitne nezaďovali. Ako vyplýva z tab. 2, medzi ročníkom štúdia, resp. pohlavím žiakov neexistovala závislosť, z ktorej by vyplynulo, že si starší žiaci, resp. dievčatá častejšie a dôkladnejšie umývajú ruky po použití WC (otázka 11: „Ako často si umývaš ruky po použití WC?“).

existoval rozdiel. V triede si umývajú ruky viacej mladší žiaci (57 %), pričom tí starší si umývajú ruky väčšinou v predsieni spoločných WC (31 %). V skupine starší žiaci sa našli aj takí (3 %), ktorí si ruky neumývajú vôbec.

Zaujímavé výsledky sme zaznamenali analýzou odpovedí na otázku 13 („Umývaš si ruky pred konzumáciou desiaty alebo obeda?“). Veľmi silná závislosť bola potvrdená z hľadiska ročníka štúdia, čo je zaujímavý precedens, keďže medzi umývaním rúk po použití WC a vekom žiakov závislosť zistená nebola. Závislosť bola zistená aj v prípade regiónov. Naopak, pohlavie žiakov nemalo vplyv na dôslednosť umývania si rúk pred konzumáciou pokrmov.

V umývaní rúk pred jedlom **Schnitzerová et al. (2010)** zaznamenala rozloženie odpovedí podobne, v pomere 66 % : 29 % : 4 %, čo nepredstavuje výrazný rozdiel s výsledkami nášho prieskumu, v ktorom 52 % opýtaných uviedlo odpoveď vždy a často, 13 % zriedka a 14 % detí uviedlo, že nikdy si neumýva ruky pred jedlom, čo považujeme za alarmujúce zistenie.

Ďalšia skupina otázok, ktoré sme žiakom položili, sa týkala možnosti ich stravovania počas pobytu v škole. Pokiaľ ide o desiatu, skúsenosti sú také, že deti na prvom stupni si ešte nosia zdravé desiate. Na druhom stupni im už skôr dajú rodičia peniaze a deti si zvyčajne kúpia čipsy a sladké nápoje. Je to už aj vec prestíže a porovnávania, ale okolo siedmej, ôsmej triedy sa upokoja a už si sami pripravujú desiate (**Liba a Petrasová, 2006**).

Tabuľka 2 Výsledky testovania existencie závislosti odpovedí na otázky 10, 11, 12, 13 a klasifikačných otázok

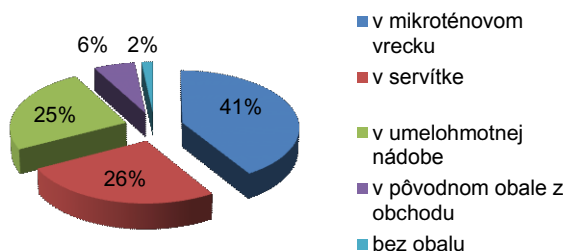
Klasifikačná otázka	χ^2 charakteristika	p-hodnota	Záver testu: Existuje závislosť?	Koeficient kontingencie	Cramerov koeficient
otázka 10					
pohlavie	1,901	0,9285	nie	0,07299	0,73188
ročník	17,0812	0,0043	áno (silná)	0,2143	0,2194
región	16,2076	0,0063	áno (silná)	0,209	0,2137
otázka 11					
pohlavie	6,5497	0,2563	nie	0,13459	0,1358
ročník	10,444	0,0636	nie	0,1690	0,17152
región	12,139	0,0329	áno	0,1818	0,1849
otázka 12					
pohlavie	13,5326	0,01887	áno	0,1916	0,1952
ročník	18,8936	0,00201	áno (silná)	0,2248	0,2307
región	6,0946	0,2971	nie	0,1299	0,1310
otázka 13					
pohlavie	1,406	0,9236	nie	0,0628	0,0629
ročník	58,1364	$2,948 \cdot 10^{-11}$	áno (silná)	0,3751	0,4047
región	9,1755	0,1023	áno	0,1587	0,1608

Naopak, zistili sme, že región, z ktorého žiaci pochádzali, mal preukazný vplyv na dôslednosť umývania si rúk. Počet žiakov, ktorí z jednotlivých regiónov odpovedali kladne, resp. záporne bol však rovnaký.

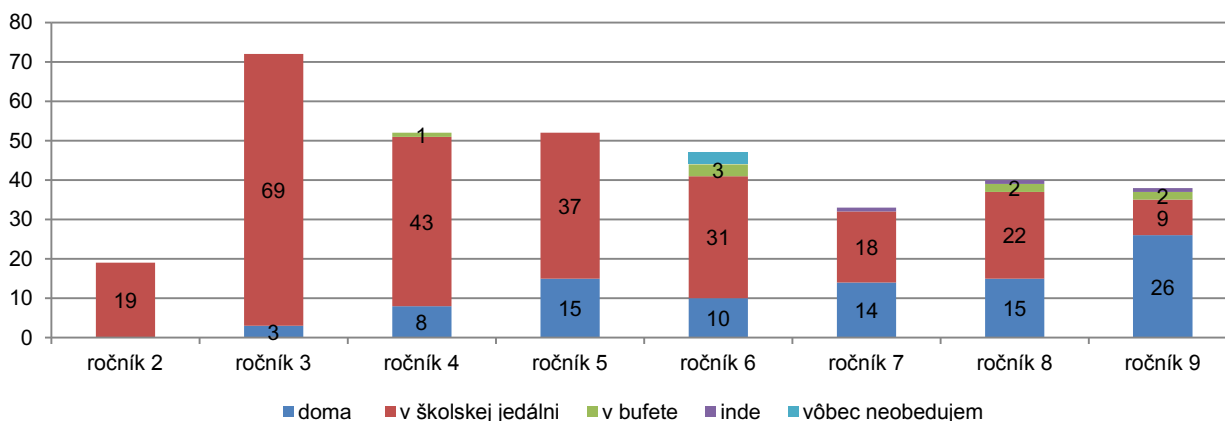
V otázke 12 („Kde si po použití WC umývaš ruky?“) nás zaujímalo, či existuje závislosť medzi lokalizáciou WC v priestoroch školy a sledovanými ukazovateľmi. Zistili sme, že 21 % žien a 21 % mužov si umýva ruky v predsieni spoločných WC a v triede. Naopak, z hľadiska ročníkov

V prieskume, ktorý sme uskutočnili, až 66 % žiakov zje desiatu počas prvých prestávok, 19 % po 4 – 6 hodine, 4 % v školskom klube a 11 % si nezjednú desiatu prinesie domov. Z hygienického hľadiska nás zaujímalo, aké spôsoby uchovávania desiaty počas pobytu v škole žiaci využívajú. Z obrázku 2 vyplýva, že až 41 % uprednostňuje uchovávanie desiaty v mikroténovom vrecku, 26 % v papierovom obrúsku a dokonca 2 % bez obalu. Za najvhodnejší spôsob sa z hygienického hľadiska považuje

uchovávanie v umelohmotnej nádobe, ktorú uviedlo len 25 % respondentov.



Obr. 2 Obal na desiatu



Obr. 3 Miesta najčastejšieho stravovania žiakov počas obeda vo vzťahu k ročníku

Výhodou školskej stravy je plnohodnotný teplý pokrm, obed v primeranom čase a prepracovaný jedálny lístok. Okrem toho, školské obedy sú plánované, jedlá sú pestro obmieňané, musia spĺňať prísne hygienické normy.

Podľa minuloročnej štatistiky Úradu verejného zdravotníctva sa z celkového počtu detí základných škôl na Slovensku stravovalo iba 59,8 % žiakov (Szárázová et al., 2006). Szárázová et al. (2009) zároveň zistili, že žiaci často využívajú školský bufet na nákup čipsov, sladkostí a sladených nápojov. Sortiment tovaru v bufetoch pritom nezodpovedá požiadavkám zdravej výživy školákov.

Z nášho prieskumu (obr. 3) vyplynulo, že žiaci vyšších ročníkov sa stravujú častejšie doma než v škole v porovnaní so žiakmi nižších ročníkov (potvrdila sa hypotéza 4). Naopak, nepotvrdila sa hypotéza 5 a 6, z ktorej vyplývalo, že spôsob stravovania počas obednej prestávky závisí od pohlavia, či regiónu. Zistili sme, že v školskej jedálni sa stravuje najviac detí z druhého (100 %) a tretieho (96 %) ročníka a najmenej z deviateho (24 %), ktorí sa zároveň najčastejšie stravujú doma (69 %).

Zo štatistických údajov SR (URL 1) pre rok 2011 vyplýva, že z počtu 485 736 žiakov sa stravuje v škole 29 % z nižších ročníkov a 26 % z vyšších ročníkov. Ak

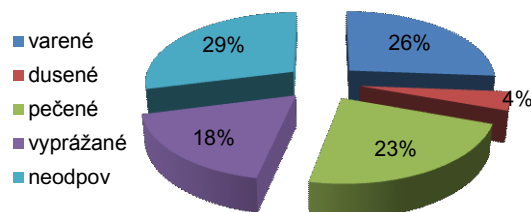
hodnotíme trend stravovania žiakov v školských stravovacích zariadeniach, možno konštatovať, že so zvyšujúcim stupňom ročníka sa znižuje záujem o stravovanie v školských jedálňach.

Z hľadiska preferovania druhu tepelnej úpravy (obr. 4), 26 % žiakov uviedlo, že preferuje varené jedlá, 23 % žiakov pečené (patria k najobľúbenejším) a 18 % obľubuje vyprážané jedlá, ktoré sa z výživového hľadiska považujú za nezdravé. Len 4 % respondentov uprednostňuje dusené jedlá. Žiaci zároveň uviedli, že na pokrmoch pripravených v školskej jedálni im prekáža najmä nevýrazná chuť a farba.

Ako uvádza Vadovičová (2012), viacerí školskí stravníci vynechávajú polievky a zjedia len obľúbené jedlá.

Oslovení žiaci uviedli, že s výskytom akýchkoľvek nečistôt v jedle sa stretli zriedka (64 %), pričom najväčší podiel tvorili kamienky v ryži a vlasy. Z hľadiska výskytu zdravotných ťažkostí po konzumácii jedla pripravovaného v školskej jedálni iba 43 % žiakov zo západoslovenského a 57 % z východoslovenského regiónu uviedlo, že nadúvanie a hnačky sa vyskytli zriedka, pričom za najrizikovejšie skupiny potravín boli označované šalát,

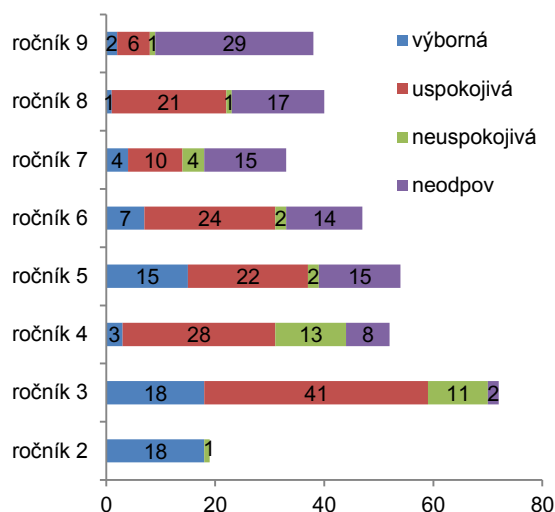
majonéza, vajcia a mliečne výrobky.



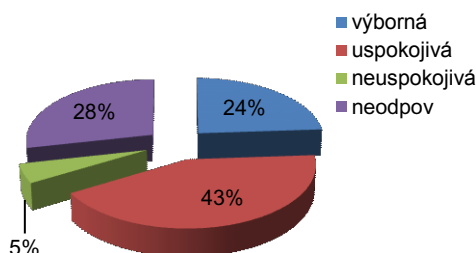
Obr. 4 Preferovanie druhu tepelnej úpravy jedla

V grafe 5 sme porovnávali spokojnosť žiakov s celkovou úrovňou hygieny stravovania (čistota príborov, pohárov, obrusov, tanierov, spôsobu podávania stravy) v školskej jedálni vo vzťahu k ročníku. Podľa 38 % žiakov nižších ročníkov sú podmienky stravovania v škole „výborné až uspokojivé“. Uvedenú odpoveď však uviedlo len 23 % žiakov vyšších ročníkov. Najviac im prekážali špinavé

pribory, taniere a chýbajúce podnosy. Ďalšia otázka (obr. 6) bola zameraná na celkovú spokojnosť s kvalitou jedla v školskej jedálni (chuť, množstvo, spôsob tepelnej úpravy, zloženie stravy a pod.). Až 67 % žiakov uviedlo, že kvalita jedál pripravovaných v školskej jedálni je výborná až uspokojivá a len u 5 % neuspokojivá.



Obr. 5 Celková úroveň hygieny stravovania vo vzťahu k ročníku



Obr. 6 Celková úroveň kvality jedla

Pomocou χ^2 testu štvorcovej kontingencie bola testovaná existencia závislosti odpovedí na otázky týkajúce sa hygieny stravovania v školskej jedálni (otázky 20 až 22) vo vzťahu k trom klasifikačným otázkam (pohlavie, ročník a región). Výsledky sú uvedené v tab. 3.

Hodnotením spôsobu výdaja stravy kuchárkami (otázka 20) vo vzťahu k pohlaviu, veku a regiónu sme zistili, že veľmi silná závislosť existovala iba medzi vekom detí a testovanou otázkou. Z výsledkov zároveň vyplynulo, že najmä žiaci vyšších ročníkov kritickejšie posudzovali hygienické aspekty výdaja stravy kuchárkami. Z hľadiska pohlavia, či regiónu, z ktorého žiaci pochádzali, závislosť preukázaná nebola.

Hypotéza 7, v ktorej sme predpokladali, že žiaci vyšších ročníkov považujú hygienu stravovania v školskej jedálni skôr za uspokojivú až neuspokojivú v porovnaní so žiakmi nižších ročníkov (otázka 21: „Aká je celková úroveň hygieny stravovania v školskej jedálni?“), sa potvrdila. Zistili sme tiež, že závislosť bola potvrdená (hypotéza 8) aj z hľadiska regionálnej príslušnosti. Tu však môžeme konštatovať, že sa našiel rovnaký počet respondentov, ktorí uvádzali kladné, resp. záporné odpovede. Naopak, závislosť nebola zistená v prípade pohlavia respondentov (hypotéza 9), kde sme predpokladali, že chlapci považujú hygienu stravovania v školskej jedálni skôr za uspokojivú až neuspokojivú v porovnaní s dievčatami.

Hypotézy k otázke 22 („Aká je celková úroveň kvality jedla v školskej jedálni?“) sme osobitne nestanovovali, avšak z tab. 3 vyplýva, že jediná závislosť bola potvrdená z hľadiska veku (ročníka) respondentov. Analýzou sme tiež zistili, že so zvyšujúcim sa vekom detí prevažovali negatívne odpovede. Naopak, nebol preukázaný rozdiel medzi dievčatami a chlapcami vo vzťahu k skúmanej otázke. Pokiaľ ide o región, ani tam sme nezaznamenali závislosť. Avšak, hlbšou analýzou kladných a záporných odpovedí sme zistili, že deti pochádzajúce zo západného Slovenska hodnotili celkovú úroveň kvality jedla skôr pozitívne.

Tabuľka 3 Výsledky testovania existencie závislosti odpovedí na otázky 20, 21 a 22 a klasifikačných otázok

Klasifikačná otázka	χ^2 charakteristika	p-hodnota	Záver testu: Existuje závislosť?	Koeficient kontingencie	Cramerov koeficient
otázka 20					
pohlavie	6,6259	0,0848	nie	0,1354	0,1366
ročník	60,6609	$4,25 \cdot 10^{-13}$	áno (silná)	0,382	0,4134
región	6,4079	0,0934	nie	0,1332	0,1344
otázka 21					
pohlavie	0,1418	0,9864	nie	0,01998	0,019988
ročník	61,2191	$3,23 \cdot 10^{-13}$	áno (silná)	0,3835	0,4153
región	8,514	0,0965	áno	0,1530	0,1549
otázka 22					
pohlavie	2,6949	0,4411	nie	0,0868	0,0871
ročník	72,102	$1,51 \cdot 10^{-15}$	áno (silná)	0,4109	0,4507
región	4,4454	0,2172	nie	0,1112	0,1119

Jung et al. (2009) uskutočnili v Kórei prieskum spokojnosti študentov so školským stravovaním, obsluhou, kvalitou služieb, prostredím a celkovou hygienou stravovania. Prieskum bol vykonaný formou dotazníka, na 680 študentoch šiestich stredných škôl. Z výsledkov vyplynulo, že vyššia spokojnosť čo sa týka množstva, rozmanitosti, pestrosti jedál a celkových finančných nákladov bola ponuka školskej jedálne ako ponuka bufetov. V oblasti čistoty a hygieny prevažovali práve bufety.

Obdobné výsledky zaznamenal aj Story a French (2004). Z toho vyplýva, že je potrebné zvýšiť úroveň hygieny, čistoty a kultúry stravovania v školských jedálňach.

ZÁVERY

Ak hodnotíme trend stravovania žiakov v školských stravovacích zariadeniach, možno konštatovať, že so zvyšujúcim sa stupňom ročníka, sa znižuje záujem o stravovanie v školských jedálňach. Potešujúce je, že celková úroveň kvality jedla bola v našom prieskume hodnotená pozitívne v 67 % a neuspokojivo len v 5 %. Ako nedostatky boli uvádzané slabá pestrosť, malé porcie, studené, prípadne nedochutené jedlá. Deťom najviac chutia vyprážané rezne, buchty, koláče, šišky a najmenej omáčky.

V protiklade k týmto výsledkom, celková úroveň hygieny stravovania v školskej jedálni však bola hodnotená skôr negatívne. Žiaci nižších ročníkov sú spokojní na 38 % a žiaci vyšších ročníkov len na 23 %. Prekážajú im špinavé príbory, taniere, chýbajúce podnosy. Za rizikové potraviny mladší žiaci považujú sladkosti, chipsy, masné a vyprážané jedlá a starší žiaci majonézy, vajcia, huby a fast foodovú stravu. Z uvedeného vyplýva, že výživové, ale i hygienické aspekty sú dôležitými činiteľmi pri stravovaní v školských jedálňach. Na zlepšenie tejto situácie je dôležité spoločné úsilie lekárov, rodičov a učiteľov, ktoré by malo usmerňovať deti k zdravšiemu životnému štýlu a osvojovaniu si správnych hygienických návykov. Deťom treba dať príležitosť nadobudnúť maximálne vedomosti, návyky a príležitosti pri oboznamovaní sa so zdravým životným štýlom, aby v dospelosti mali dostatok kompetencií a mohli si upevňovať zdravie.

LITERATÚRA

- GOLIAN, J., ZELENÁKOVÁ, L. 2010. Prevencia alimentárnych nákaz v zariadeniach spoločného stravovania. In *Ochorenia z potravín*. Nitra: SPU, 2010, p. 3-51. ISBN 978-80-552-0328-7.
- JUNG, J., LEE, Y., OH, Y. 2009. Comparison of student's satisfaction on school foodservice environment by the eating place and gender. In *Nutr. Res. Pract.* Vol. 4, 2009, no. 3, p. 295-299.
- LIBA, J., PETRASOVÁ, A. 2006. Stravovacie návyky žiakov mladšieho školského veku vo vzťahu k zdraviu. In *2. konferencia Škola a zdravie 21*. Brno, 2006. p. 1-6.
- LUDVÍK, P. 2011. Co rodiče nevedí o školním stravování [online]. 2011, [cit. 2012-04-08]. Retrieved from the web: <http://www.jidelny.cz/show.aspx?id=1152>.

MIŽÁK, M., MIŽÁKOVÁ, A. 2003. Výskyt a prevencia ochorení z potravín. In *Zborník príspevkov z medzinárodnej konferencie EÚ – Legislatívny proces v potravinárstve*. Košice: UVL, 2003.

NEJEZOVÁ, V. 2009. Hygiena v jedálňach [online]. 2009, [cit. 2012-05-07]. Retrieved from the web: <http://www.jedalne.sk/show.aspx?id=181>.

OROLÍNOVÁ, M. 2006. Vplyv masmédií na vedomosti o zdravej výžive a stravovacie návyky. In *Teória a prax výchovy k zdravej výžive v školách*. Bratislava: TU a VEDA, 2006, p. 233. ISBN 80-224-0920-0.

SCHNITZEROVÁ, E., GREGOVÁ, S., ŠMÍDEKOVÁ, I., MASICA, I. 2010. Primárna prevencia črevných parazitárnych nákaz u detí predškolského veku vo vybraných MŠ v okolí Košíc. In *Životné podmienky a zdravie*. Bratislava: Úrad VZ, 2010. p. 297-305. ISBN 978-80-7159-176-4.

STORY, M., FRENCH, S. 2004. Food advertising and Marketing directed at children and Adolescents in the US. In *Int. J. Behav. Nutr. Phys. Act.* Vol. 1, 2004, no. 3, p. 1-17.

SZÁRAZOVÁ, M., JANUŠOVÁ, T., KAVCOVÁ, E. 2006. Sonda do výživových zvyklostí starších žiakov. In *Životné podmienky a zdravie*. Bratislava: Úrad verejného zdravotníctva SR, 2006. p. 162-166.

SZÁRAZOVÁ, M., JANUŠOVÁ, T., BERNASOVSKÁ, K., KAVCOVÁ, E. 2009. Stravovacie návyky – preferencie mladých adolescentov. In *Životné podmienky a zdravie*. Úrad verejného zdravotníctva SR, 2009, p. 153-157. ISBN 978-80-7159-173-3.

ŠLAISOVÁ, J. 2010. Hygiena, ekologická výroba [online]. 2010, [cit. 2012-05-05]. Retrieved from the web: <http://vladahadrava.xf.cz/hygiene.html>.

ZELENÁKOVÁ, L., ČAPLA, J., ZAJÁC, P. 2011. Hygiena výživy a stravovania. Nitra: SPU, 2011, p. 7. ISBN 978-80-552-0546-5.

URL 1: Štatistická ročenka – stravovanie detí a mládeže 2011 [online]. 2012 [cit. 2012-03-28]. Retrieved from the web: <http://www.uips.sk/prehlady-skol/statisticka-rocenka---stravovanie-deti-a-mladeze>.

VADOVIČOVÁ, P. 2010. Prevencia obezity na školách. In *Právny kuriér pre školy*, 2010, p. 8-10.

Kontaktná adresa:

Ing. Lucia Zelenáková, PhD., Slovak University of Agricultural in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Science, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 949 76 Nitra. Slovak Republic, E-mail: Lucia.Zelenakova@uniag.sk

Ing. Dagmar Kozelová, PhD., Slovak University of Agricultural in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Science, Department of Food Hygiene and Safety, Tr. A. Hlinku 949 76 Nitra. Slovak Republic, E-mail: Dagmar.Kozelova@uniag.sk

Ing. Miriam Pietriková, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Economics and Management, Department of Statistics and Operation research, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra Slovakia, E-mail: miriam.pietrikova@uniag.sk



Efficiency of real-time PCR for 18S rRNA amplification of *Sorbus domestica*, L.

Jana Žiarovská, Petronela Poláčeková

ABSTRACT

Nowadays, the awareness is given more and more to underutilized and unusual fruits. One of them is *Sorbus domestica*, L. not only as an endangered species, but as well as a promising and economically usable crop. The work was aimed for finding a total genomic DNA isolating method from fresh plant material and confirmation of the optimized method by the detection of 18S rRNA gene using real-time PCR. Two commercial isolation kits were tested - Invisorb® SpinPlant Mini Kit and Wizard® Genomic DNA. Higher purity and yield of DNA isolation kit showed Invisorb kit. The effective and pure PCR amplification was confirmed for Invisorb, too when 20 ng undiluted DNA at annealing temperature of 64.5 °C.

Keywords: *Sorbus domestica*, L., real-time PCR, 18S rRNA

ÚVOD

Menej využívané druhy rastlín predstavujú vo výžive človeka viaceré možnosti prechádzajúce od netradičného spštenia jedálneho lístka cez cenný zdroj fytotherapeutických látok až po kandidátov na veľkopesované druhy budúcnosti.

Jarabina oskorušová je druhom, ktorý odhliadnuc od poskytovania dreva vysokej kvality, je známy plodmi s významnými liečivými účinkami používanými ako v ľudovej medicíne pri črevných ochoreniach a chudokrvnosti, tak vo farmaceutickom priemysle, kde sa extrakt z plodov používa na zastavenie krvácania a tiež ako diuretikum (Velgošová a Velgoš, 1988; Pagan a Pagano, 2000). Na spštenie stravy sa môžu plody pridávať do ovocných mäs a pudíngov či už v čerstvom stave alebo konzervované. Využívajú sa na prípravu marmelád a muštov. Veľmi vhodné je aj sušenie, plody potom slúžia ako hrozienka so špecifickou a odlišnou chuťou. Jedlá sa samotné alebo sa pridávajú do cereálií, pudíngov a pod (Brindza et al., 2009).

Jednoznačné stanovenie prítomnosti konkrétnej zložky v zmeskových materiáloch a potravinách sa dnes využíva pri potvrdzovaní pravosti potravín (Zeľňáková et al., 2010; Bajžík et al., 2010), či analýzach prítomnosti alergénnych alebo zdraviu škodlivých látok (Škultéty, Jurčáková, 2011; Bajžík et al., 2011) pomocou ELISA, PCR a real-time PCR metód.

Real-time PCR je metodicky postavená na meraní nárastu signálu fluorescencie v závislosti na zvyšujúcom sa počte amplifikovaných kópií cieľového produktu umožňuje široký rozsah kvantifikácie rádovo 7-8 logaritmických dekád, vysokú presnosť (< 2 % štandardná odchýlka) a vysokú senzitivitu (< 5 kópií), pričom vysoká špecifita je zaistená dvoma primermi a jednou sondou (Wong, Medrano, 2005).

Detekcia produktu reakcie využíva fluorescenčne značené molekuly, ktoré zodpovedajú množstvu amplifikovanej DNA v každom cykle. Florescenčne značené môžu byť sekvenčne špecifické primery či sondy alebo farbivá

viažuce sa na DNA. Pri absolútnej kvantifikácii počtu kópií amplifikovaného produktu sa ako štandard využívajú sekvencie metabolických génov alebo génov RNA. Gén 18S rRNA je jedným z najdôležitejších molekulárných markerov, ktorý sa používa v rôznych aplikáciách ako molekulárne fylogenetické analýzy a sledovanie biodiverzity (Lin et al., 2000; Meyer et al., 2010; Benali et al., 2011).

Všeobecne platí, že sekvencie génu r RNA sú ľahko prístupné vďaka vysoko konzervovaným hraničným oblastiam umožňujúcim použitie univerzálnych prajmerov. Ich opakované usporiadanie v rámci genómu poskytuje dostatočné množstvo templátu pre PCR reakciu (Meyer et al., 2010).

Cieľom práce bola analýza efektivity zrnovania 18SrRNA v genóme *Sorbus domestica*, L. real-time PCR metódou vo vzťahu k použitej izolačnej súprave a vypracovanie metodického postupu pre 18S rRNA marker konštrukcie štandardnej krivky v real-time analýzach vyhodnocovania prítomnosti obsahu jarabiny oskorušovej v potravinách či liečivách.

MATERIÁL A METÓDY

K identifikácii 18S rRNA génu bolo použitých 5 náhodne vybraných vzoriek odobraných z jedného stromu *Sorbus domestica*, L. Materiál na izoláciu DNA bol odobraný vo forme listov z jedinca rastúceho v Botanickej záhrade SPU. Následne bol sterilizovaný v 70 % etanole. Ako zmäčkovadlo bola použitá destilovaná voda. Materiál na izoláciu bol spracovaný podľa pokynov izolačnej súpravy Invisorb® SpinPlant Mini Kit, Invitrogen a Wizard® Genomic DNA podľa návodu výrobcu a kvalita a kvantita DNA bola stanovená prístrojom Qubit™ Fluorometer Invitrogen. Materiál z každej odobranej vzorky bol izolovaný oboma izolačnými súpravami.

Zmnoženie sekvencie bolo zabezpečené dvojicou prajmerov s nasledovným poradím nukleotidov: priamy prajmer 5'GGCCAAGGAAGTTTGAGGCAA 3' a spätný prajmer 5'TGGGGTTATTTAGCTGGTGTGTACA 3'.

Pre PCR reakciu detegujúcu intenzitu fluorescenčného signálu v reálnom čase bol pripravený roztok pozostávajúci z iQ™ SYBR® GreenSupermix (Biorad), 20 ng neriedenej celkovej genomickej DNA a 400 nmol prajmerov v termocykléri CFX96 Real-time detection systém.

Časový a teplotný profil PCR reakcie ako aj následnej analýzy teploty topenia amplifikovaného produktu bol nasledovný: 95 °C počas 3 minút nasledovných 95 °C - 15 s., 61 °C - 30 s., 72 °C - 40 s. Tento cyklus sa opakoval 45 krát. Odčítanie fluorescence vznikajúceho produktu prebehlo po fáze predlžovania a analýzy teploty topenia boli odčítavané počas 0,5 sec v teplotných nárastoch 0,5 °C.

Pre výpočet T_m samotného produktu PCR reakcie bol softvér slúžiaci ako oligonukleotidová kalkulačka, ktorá slúži na získavanie vlastností jedno a dvojreťazcovej DNA alebo RNA sekvencie voľne dostupná na www.basic.northwestern.edu/biotools/oligocalc.html.

Postup PCR reakcie bol nasledovný: preinkubácia 95 °C na 4 min., 40 cyklov obsahujúcich denaturáciu pri 95 °C na 45 sekúnd, nasadenie pri 61 °C po dobu 45 sekúnd a predlžovanie pri 72 °C po dobu 1,5 min. záverečný predlžovací krok bol pri teplote 72 °C počas 7 min. a schladenie na teplotu 20 °C na čas 0,01 sekúnd.

Získané PCR fragmenty boli vizualizované na 1 % agarózovom géle pomocou ethidiumbromidu pri 125 V.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Invisorb® SpinPlant Mini Kit umožňuje rýchlu a efektívnu izoláciu genómovej DNA vo vysokej kvalite z najrôznejších druhov rastlín (čerstvého, mrazeného alebo sušeného rastlinného materiálu, napríklad listy, korene, plody alebo semená). Tento kit v sebe spája rozrušenie bunkových stien a cytoplazmatických membrán rastlinného materiálu s vysoko účinnou väzbou genomickej DNA na povrch rotačného filtra bez chaotropných iónov. Izolačný protokol poskytuje vysoký výnos a čistotu izolovanej genómovej DNA. Čas nevyhnutný pre celý postup je znížený na minimum, pričom až 100 mg čerstvého rastlinného materiálu je možné spracovať do 20 minútach po úvodnej inkubácii vzorky.

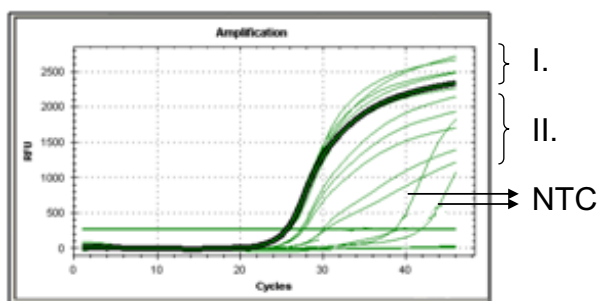
Wizard® Genomic DNA izolačný kit je určený na izoláciu DNA z bielych krviniek, tkanivových kultúr a živočíšnych tkanív, rastlinných tkanív, kvasníc a grampozitívnych a gramnegatívnych baktérií. Je založený na štvorkrokovom - rozrušenie a rozklad buniek a jadier, degradácia proteínov zrážaním solí za súčasného zabezpečenia vysokej molekulovej hmotnosti genomickej DNA v roztoku. Nakoniec sa genomická DNA čistí zrážaním izopropanolom.

Obe izolačné súpravy poskytujú izolát celkovej genomickej DNA, ktorá, vzhľadom k vysokej čistote, je pripravená na použitie pre širokú škálu ďalších aplikácií ako sú analýzy molekulárných markérov, enzymatické štiepenie, sekvenovanie a klonovanie.

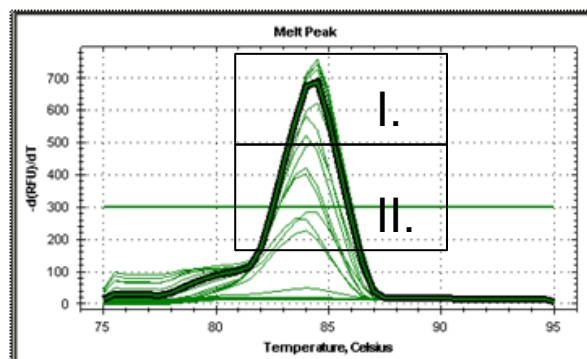
Tabuľka 1 Porovnanie výťažnosti získaného množstva DNA oboma použitými izolačnými súpravami.

Vzorka číslo	Výrobca	Množstvo genomickej DNA ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)	Výrobca	Priemer ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)
J1B (B)	Wizard	3,863	Invisorb	19,7
J2B (B)		7,99		18,77
J3B (B)		5,904		17
J4B (B)		5,92		17,36
J6B (B)		15,94		21,33

Na vyhodnotenie efektivity reakcie v závislosti na izolačnej súprave bola použitá amplifikačná krivka, krivka topenia produktu a vrchol topenia produktu. Na to, aby reakcia prebehla štandardne, musí krivka dosiahnuť všetky tri fázy PCR- exponenciálnu, lineárnu aj fázu nasýtenia. Prahový cyklus C_t bol určený na hodnote 300 RFU.



Obrázok 1 Priebeh nárastu fluorescence počas real-time PCR. I. – vzorky izolované komerčnou súpravou Invisorb; II. – vzorky izolované komečnou súpravou Wizard; NTC – kontrola bez DNA



Obrázok 2 Krivky teploty topenia produktu zmnoženého v real-time PCR. I. – vzorky izolované komerčnou súpravou Invisorb; II. – vzorky izolované komečnou súpravou Wizard

Vzorky izolované súpravou Invisorb (ilustrované zvýraznením vzorky J6B) pri použití 20ng DNA a 4 μM prajmera dosiahli prahový cyklus na úrovni 25, pričom krivka zobrazujúca nárast fluorescence prebiehala pri všetkých štandardne. Obrázok 1 ilustruje, že dosiahla fázu nasýtenia a konečný bod fluorescence bol zaznamenaný pri hodnote 2295 RFU.

Aj ostatné vzorky, kde bola celková genomická DNA izolovaná súpravou Invisorb boli charakterizované krivkami, ktoré dosiahli fázu nasýtenia a mali štandardný priebeh.

Pri vzorkách pochádzajúcich z izolácie Wizardom bola zaznamenaná výrazná zmena v priebehu krivky nárastu fluorescence oproti vzorkám izolovaným Wizardom. Amplifikačná krivka neprebehla štandardne a nedosiahla ani lineárnu fázu. Reakcia začala prebiehať, no v dôsledku nevyhovujúcich podmienok – kvalita izolácie nevyhovujúca druhu *Sorbus domestica*, L. pre účely real-time PCR – nastala derivácia RFU a krivka sa ďalej nevyvíjala v dôsledku nízkej fluorescence v PCR.

Tabuľka 2 Hodnoty parametrov Real-Time PCR pre analyzované vzorky jarabiny

Vzorka	Izolačná súprava	Prah cyklu c_t	Koncový bod RFU
J1B (B)	Invisorb	25,29	2434
J2B (B)		27,48	1873
J3B (B)		25,60	2295
J4B (B)		26,09	2229
J6B (B)		25,79	2652
J1B (B)	Wizard	30,00	1307
J2B (B)		27,70	1652
J3B (B)		30,37	1115
J4B (B)		25,43	2459
J6B (B)		34,16	589

Potvrdenie amplifikácie žiadaneho produktu bolo uskutočnené analýzou teploty topenia produktu vznikajúceho v reakcii a zhodne pre všetky vzorky dosahovala hodnotu 84 - 84,5 °C, pričom iba pri vzorkách izolovaných súpravou Invisorb bola krivka topenia dostatočne preukazne vypovedajúca o ako efektívite, tak aj dostatočnom množstve zmnoženého 18S rRNA génu.

Z analýz vyplýva odporúčenie vhodnosti izolačného kitu Invisorb ako jednoznačne vhodnejšieho k primárnemu spracovaniu biologického materiálu jarabiny na účely izolácie celkovej genomickej DNA. Pri rôznych typoch rastlinného materiálu je však situácia odlišná, a v prípade napríklad ľanu siateho, je izolačný kit Wizard dostatočne citlivý a vhodný (Žiarovská et al., 2012).

ZÁVER

Nutnosť testovania rôznych metodických prístupov je pri analýzach rastlinného, prípadne potravinárskeho materiálu v prípade real-time PCR analýz nevyhnutnosťou, keďže v dôsledku vysokej citlivosti a presnosti je táto metóda silne náchylná k detekcii rôznych nešpecifických produktov vznikajúcich počas reakcie. Predovšetkým pri použití nešpecifických farbív sa vyskytujú problémy s nešpecifickým signálom (Wittwer, et al., 1997).

V molekulárnej biológii existuje niekoľko metód na meranie množstva cieľových sekvencií nukleových kyselín. Tieto metódy sa však vyznačujú viacerými nedostatkami. Sú časovo náročné, prácne, nedostatočne citlivé, vyžadujú použitie rádioaktivity alebo sa vyznačujú možnou pravdepodobnosťou krížovej kontaminácie (Reischl et al., 2002). PCR techniky pri optimalizovanom systéme poskytujú efektívnu možnosť presného potvrdenia či vyvrátenia prítomnosti analyzovaných súčastí.

LITERATÚRA

BAJZÍK, P., GOLIAN, J., ŽIDEK, R., ČAPLA, J., BELEJ, L., ONDREJKA, M., MRÁZOVÁ, L., MARŠÁLKOVÁ, L.

2010. Methods for fish species identification in foodproducts, In *Potravinárstvo*, vol. 4, 2010, no. 3, p. 1-5.

BAJZÍK, P., ŽIDEK, R., GOLIAN, J., BELEJ, L., ČAPLA, J., MARŠÁLKOVÁ, L., REVÁK, O. Optimisation of species identification of common carp (*Cyprinus carpio*) using SYBR® GREEN I real-time PCR method. In *Potravinárstvo*, vol. 5, 2011, no. 3, p. 1-5.

BENALI, S., MOHAMED, B., EDDINE, H. J., NEEMA, C. 2011. Advances of Molecular Markers Application in Plant Pathology Research. In *European Journal of Scientific Research*, vol. 50, 2011, no.1, p.110-123.

BRINDZA, J., ČERVEŇÁKOVÁ, J., TÓTH, D., BÍRO, D., ŠAJBIDOR, J. 2009. Unutilized potential of True Service Tree (*Sorbus domestica*, L.) In *Acta Hort.* (ISHS) vol. 806, 2009, p. 717-726.

LIN, J.J., FLEMING, R., KUO, J., MATTHEWS, B. F., SAUNDERS, J.A. 2000. Detection of Plant Genes Using a Rapid, Nonorganic DNA Purification Method. In *BioTechniques*, vol. 28, 2000, p. 346-350.

MEYER, A., TODT, CH., MIKKELSEN, N. T., LIEB, B. 2010. Fast evolving 18S rRNA sequences from Solenogastres (*Mollusca*) resist standard PCR amplification and give new insights into mollus substitution rate heterogeneity. In *BMC Evolutionary Biology*, 2010, vol. 10.

REISCHL, U., WITTEW, C. T., COCKERILL, F. 2002. Rapid Cycle Real-time PCR: Methods and Applications; Microbiology and FoodAnalysis. New York Springer-Verlag, 2002.

ŠKULTÉTY, O., JURČÁKOVÁ, A. 2011. EVA GREEN real-time PCR used to detect cellery as an allergen in food, In *Potravinárstvo*, vol. 5, 2011, no. 2, p. 70-72.

WITTEW, C. T., RIRIE, K. M., ANDREW, R. V. 1997. The Light Cycler: a microvolume multisample fluorimeter with rapid temperature control. In *Biotechniques*, vol. 22, 1997, p. 176-181.

WONG, M. L., MEDRANO, J. F. 2005. Real-time PCR form RNA quantitation. In *BioTechniques*, vol. 39, 2005, p. 75-85

ZELEŇÁKOVÁ, L., ŽIDEK, R., ČANIGOVÁ, M., PAULOV, J., GALLISOVÁ, T. 2010. Evaluation of ELISA method to detection of cowβ-lactoglobulin in sheepmilk and sheepmilk products, In *Potravinárstvo*, vol. 4, 2010, no. 4, p. 80-84.

ŽIAROVSKÁ, J., RAŽNÁ, K., SENKOVÁ, S., ŠTEFÚNOVÁ, V., BEŽO M. Variability of *Linum usitatissimum* L. based on molecular markers. In *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*, vol. 7, 2012, p. 50-58.

Acknowledgments:

Táto práca bola podporená grantom Excelentné centrum ochrany a využívania agrobiodiverzity - ECOVA, na základe podpory operačného programu Výskum a vývoj financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Contact address:

Ing. PaedDr. Jana Žiarovská, PhD., Slovak University of Agriculture, Faculty of Agrobiolgy and Food Resources, Department of Plant Genetics and Breeding, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, E-mail: jana.ziarovska@uniag.sk

Ing. Petronela Poláčeková, Slovak University of Agriculture, Faculty of Agrobiolgy and Food Resources, Department of Plant Genetics and Breeding, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, E-mail: Petronela.polacekova@uniag.sk

FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA
SLOVENSKEJ POĽNOHOSPODÁRSKEJ UNIVERZITY V NITRE
KATEDRA HYGIENY A BEZPEČNOSTI POTRAVÍN



**KATEDRA HYGIENY
A BEZPEČNOSTI POTRAVÍN**

IX. VEDECKÁ KONFERENCIA S MEDZINÁRODNOU ÚČASŤOU

**BEZPEČNOSŤ A KONTROLA
POTRAVÍN**

28. – 29. marca 2012
Nitra, Slovenská republika

Prihláška

na vedeckú konferenciu s medzinárodnou účasťou

Bezpečnosť a kontrola potravín v dňoch 28. –29. marca 2012

Priezvisko a meno, tituly:

Pracovisko a adresa:

Tel.: E-mail:

Prihlasujem:

prednášku:.....

poster:

Objednávka na ubytovanie

Žiadam o ubytovanie na noc*:

z 27.3. na 28. 3. 2012 ☐ áno ☐ nie

z 28. 3. na 29. 3. 2012 ☐ áno ☐ nie

.....
podpis účastníka

* Ubytovanie si hradí každý účastník sám na mieste.

Ubytovanie je možné telefonicky zabezpečiť do 10. marca 2012:

Hotel Agroinštitút Nitra, tel.: +421 37 7910 111, www.agroinstitut.sk,

Hotel Olympia, Nitra, tel.: +421 37 65 36 727-9, www.hotelolympia.sk,

ŠD Poľnohospodár, tel: +421 37 65 34 541, www.uniag.sk

FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA

**SLOVENSKEJ POĽNOHOSPODÁRSKEJ UNIVERZITY
V NITRE**

KATEDRA HYGIENY A BEZPEČNOSTI POTRAVÍN



**IX. VEDECKÁ KONFERENCIA S MEDZINÁRODNOU
ÚČASŤOU**

**BEZPEČNOSŤ A KONTROLA
POTRAVÍN**

**28. – 29. marca 2012
Nitra, Slovenská republika**



Školenia pre potravinárske firmy

Školenia sú akreditované Ministerstvom školstva SR

- **Školenie:** Zásady Správnej výrobnjej praxe a systému HACCP. Osobná hygiena a prevádzková hygiena.
- **Školenie:** Systém manažérstva bezpečnosti potravín podľa STN EN ISO 22000:2005
- **Individuálny prístup, školenie priamo u Vás, modelové situácie**

**Vydávame osvedčenie o absolvovaní školenia s
celoživotnou platnosťou**

- HACCP
- IFS
- BRC
- ISO 22000
- ISO 9001
- Recenzia etikiet
- Prevádzkové poriadky
- Audity

HACCP Consulting
0908164361, 0904138562
www.haccp.szm.sk

NUTRITIONAL AND HEALTH BENEFITS OF BUCKWHEAT

Martina Danihelová, Ernest Šturdík.....1-9

BAKERY ENZYMES IN CEREAL TECHNOLOGIES

Ľubomír Mikuš, Ladislav Dodok, Mária Kováčová, Ladislav Staruch, Václav Koman.....10-15

**COMPARISON AND ASSESSMENT OF LEPTIN RECEPTOR EXPRESSION BY THE FOLLOWING ORIGAMI AETHEROLEUM
STUDY AT BROILER CHICKENS COBB 500**

Ľubica Mrázová, Radoslav Židek, Mária Angelovičová, Martin Král.....16-20

ACTIVE PACKAGING SYSTEM FOR MEAT AND MEAT PRODUCTS

Adriana Pavelková, Erika Flimelová.....21-27

NUTRITION LABELLING OF FOOD AND ALLERGEN IN FOOD

Ondrej Revák, Jozef Golian.....28-31

POLYPHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF WINES FROM THE SOBRANCE WINE REGION

Eva Špakovská, Slavomír Marcinčák, Martin Bača, Peter Turek.....32-35

INPUT OF CADMIUM FROM SOIL INTO LENTIL AND FABABEAN SEEDS

Mária Timoracká, Alena Vollmannová, Dalaram Ismael.....36-40

ANALYSIS OF SELECTED DETERMINANTS OF ALIMENTATION HYGIENE OF SCHOOL CHILDREN

Lucia Zeleňáková, Dagmar Kozelová, Miriam Pietriková.....41-46

EFFICIENCY OF REAL-TIME PCR FOR 18S RRNA AMPLIFICATION OF *SORBUS DOMESTICA*, L.

Jana Žiarovská, Petronela Poláčeková.....47-49

H A C C P

CONSULTING

PODPORUJEME VEDU A VÝSKUM

www.haccp.sk