

2

2010



Vedecký časopis pre potravinárstvo

číslo

www.potravinarstvo.com

ročník 4
číslo 2
apríl 2010

potravinárstvo 2 (4)
ISSN 1338-0230 (tlačaná verzia)
ISSN 1337-0960 (elektronická verzia)

Potravinárstvo

Vedecký časopis pre potravinárstvo

Šéfredaktor:

Ing. Peter Zajác, PhD.
SPU Nitra

Zástupca šéf redaktora:

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

Redaktori:

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

Predseda redakčnej rady:

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

Redakčná rada:

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

Potravinárstvo

Scientific journal of food science

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,
Wroclav, Poland
Roman Labuda,
Tuln, Austria
Zuzana Bírošová,
Ministry of Agriculture SR

• **Potravinárstvo**® • **Ročník:** 4, č. 2/2010 • Vedecký časopis pre potravinárstvo • Scientific journal of food science • **Vydavateľ:** Ing. Peter Zajác, HACCP Consulting. Slivková 12, 951 01 Nitrianske Hrnčiarovce. Vydavateľ úzko spolupracuje s Katedrou hygieny a bezpečnosti potravín, FBP, SPU v Nitre • **Nakladateľ:** Združenie HACCP Consulting. Slivková 12, 951 01 Nitrianske Hrnčiarovce • **Periodicita:** vychádza 4x do roka • **Internetová stránka časopisu:** www.potravinarstvo.com • **Adresa redakcie:** Slivková 12, 951 01 Nitrianske Hrnčiarovce • **E-mail:** info@potravinarstvo.com • **Tel.:** +421908164361, +421904138562 • **Jazyková úprava:** Publikované články neprešli jazykovou úpravou • **Grafická úprava:** Flame-studio Nitra • **Tlač:** SPU Nitra • **Cena čísla:** nepredajné • **Distribuuje:** Združenie HACCP Consulting • **Náklad:** 150 ks • **Miesto vydania:** Nitra • **Právne informácie a autorské práva:** Za obsah jednotlivých článkov zodpovedajú autori. Za obsah inzerátov zodpovedajú inzerenti • Časopis je excerptovaný do medzinárodného systému AGRIS FAO.

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



Katedra hygieny a bezpečnosti
potravín



VPLYV PRÍDAVKU OVSA A ŠOŠOVICE NA OBSAH VYBRANÝCH PRVKOV V CHLEBE

INFLUENCE OF ADDITION OF OAT AND LENTIL ON THE CONTENT OF THE DETECTED COMPONENTS IN BREAD

Tatiana Bojňanská, Alena Vollmannová, Helena Frančáková

ABSTRACT

In this paper, the results obtained by bread products analysis made with the addition of oats and lentils, which increased its nutrition value are presented. Breads were prepared with addition of 10 %, 20 %, 30 %, 40 % and 50 % of oat and lentil which were analyzed for Fe, Mn, Zn, Cu, Co, Ni, Cr, Pb and Cd content. Prepared products were evaluated also from viewpoint of their technological and nutritional value. Use of oat in bread increased with the addition of a quantity of 50 % content of nutritionally significant elements such as Fe (3.2 times), Mn (3.13 times), Zn (2.23 times), Cu (2.01 times) and Cr (1.2 times). The addition of lentils increased particularly Cu content (3.55 times), Zn (2.96 times) and Mn (1.29 times). None of the samples showed exceeded maximum limit (1.0 mg.kg⁻¹) for lead. Based on the analysis results it was confirmed, that the most problematic element in our soils and subsequently in the foodstuffs is cadmium. Exceeded values (< 0.1 mg.kg⁻¹) were detected in 8 samples from 11, in finished products the values were within the limits ranging from 0.090 mg.kg⁻¹ Cd to 0.180 mg.kg⁻¹ Cd.

Keywords: bread product, addition, mineral component, heavy metal

ÚVOD

Jedným z najdôležitejších zdrojov výživy sú rastlinné suroviny vrátane cereálií, pseudocereálií a strukovín. Funkcia potravín v našich podmienkach nespočíva len v utíšení hladu a zachovaní života, potraviny by mali zároveň podporovať zdravie a v žiadnom prípade nesmú ohrozovať zdravotný stav konzumentov. Medzi základné výrobky z obilnín patrí chlieb a pečivo, ich priemerná spotreba na Slovensku sa spolu v ostatných rokoch pohybuje na úrovni okolo 70 kg na osobu a rok, čím tvoria veľmi významnú skupinu potravín v spotrebnom koši a v značnej miere ovplyvňujú zdravotný stav konzumentov.

V dôsledku dlhodobej environmentálnej záťaže sú na Slovensku oblasti so zvýšeným pôdnym obsahom rizikových ťažkých kovov, resp. s pôdami kontaminovanými ťažkými kovmi, čo v súvislosti s využívaním takýchto pôd na pestovanie surovín na výrobu základných potravín vnáša určité riziká týkajúce sa hygienickej kvality potravín (Lahučký et al., 2001, Vollmannová et al., 2003). Kontrolu cudzorodých látok v potravinovom reťazci na Slovensku realizuje rezort pôdohospodárstva od roku 1986, kvôli zabezpečeniu objektívnych informácií bol od roku 1991 zavedený monitoring cudzorodých látok. Od roku 1991 bolo celkovo odobraných 34 454 vzoriek, z ktorých 7,1 % nevyhovelo stanoveným limitným hodnotám. Na tomto počte sa najvýznamnejšie podieľali kadmium, ortuť, olovo, dusičnany, nikel a arzén. Najviac nevyhovujúcich vzoriek bolo zaznamenaných v napájacej vode, pôde a v surovinách rastlinného pôvodu, z regionálneho hľadiska sa nadlimitné analýzy vyskytovali hlavne v okresoch Gelnica, Spišská Nová Ves, Prievidza, Žilina a Levice (Dostupné na internete: <www.land.gov.sk/index.php?navID=94&id=531>).

Cieľom práce bolo pripraviť bochníky chleba s prídavkom šošovice a ovsu a zistiť, v akých hodnotách sa v nich pohybuje obsah vybraných minerálnych prvkov dôležitých z nutričného a hygienického hľadiska.

MATERIÁL A METODIKA

V reologickom a pekárskom laboratóriu Katedry skladovania a spracovania rastlinných produktov FBP SPU v Nitre bol v zmysle štandardných metodík pripravený chlieb, ktorý bol analyzovaný na množstvo Fe, Mn, Zn, Cu, Co, Ni, Cr, Pb a Cd metódou AAS (AAS Varian AA Spectr Duo 240FS/240Z/UltrAA). Analyzované boli aj vstupné suroviny, tj. pšeničná múka hladká T 512 a homogenizovaný ovos a šošovica použité v pekárskech pokusoch. Pripravené výrobky boli hodnotené z hľadiska ich technologickej a nutričnej kvality.

Pokusné bochníky boli pripravené ako kontrolné (podiel pšeničnej múky T 512 100 %) a vyrobené s prídavkom ovsu a šošovice v množstve 10 %, 20 %, 30 %, 40 % a 50 %, čím bola zvýšená ich nutričná hodnota (množstvo a zloženie bielkovín a minerálnych látok, obohatenie vlákninou a pod.).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Základným predpokladom optimálnej výživy sú potraviny, ktoré prispievajú k zdraviu človeka. Problematike zabezpečenia bezpečnosti potravín je na celom svete venovaná veľká pozornosť, a aj keď je v Európe bezpečnosť potravín na vysokej úrovni, kontrolu zameranú predovšetkým na rizikové komodity, lokality a parametre, vrátane došetrenia príčin kontaminácie, nie je možné zanedbať.

V súvislosti so súčasným stavom industriálnej spoločnosti je neoddiskutovateľný fakt, že človek musí koexistovať s chemickými látkami od embryonálneho štádia vývoja až po smrť. Veľmi závažným problémom je kontaminácia potravinového reťazca ťažkými kovmi, ktorých špecifikom je to, že nepodliehajú procesom prirodzenej degradácie a stávajú sa stálou zložkou výživového reťazca.

Chlieb je základnou potravinou, ktorá sa konzumuje denne, a preto je jeho prípadná kontaminácia veľmi riziková. Okrem hygienickej kvality musí spĺňať aj ďalšie atribúty – technologickú a senzorickú kvalitu. Nami pripravené bochníky s prídavkom ovsu a šošovice boli z

technologického hľadiska hodnotené ako horšie v porovnaní s čisto pšeničnými, prídavok sa negatívne prejavil predovšetkým znižovaním objemu, merného objemu a objemovej výdatnosti pekárskeho výrobku. Z nutričného hľadiska boli všetky výrobky hodnotené ako cennejšie, s pozitívnym vplyvom na zdravotný stav konzumenta. V chlebe stúpala obsah dusíkatých látok s priaznivou biologickou hodnotou, obsah vitamínov, minerálnych látok, rezistentného škrobu a zvyšovala sa ich antioxidantná aktivita (**Bojňanská a Fikselová, 2009, Bojňanská et al., 2009**).

Z prvkov, ktoré boli v rámci výskumu kvantitatívne stanovené sú železo, zinok, meď a chróm uvedené v tabuľkách odporúčaných výživových dávok (**Vestník MZ SR 1997**). Pri železe, ktoré je pre ľudský organizmus nenahraditeľným prvkom, je odporúčané denné množstvo od 8 do 28 mg v závislosti od veku, pohlavia a náročnosti vykonávanej práce. Obilniny vo všeobecnosti nemajú vysoký obsah železa, ale ovos a šošovicu môžeme na základe našich výsledkov považovať za výborné zdroje nehémového železa. Aby mohla v organizme prebiehať pre resorbciu potrebná redukcia železitých iónov Fe^{3+} na železnaté ióny Fe^{2+} musia byť prítomné aj ióny Cu^{2+} (**Melicherčík a Melicherčíková, 1997**). V chlebe s prídavkom ovsu 50 % sa zvýšil obsah železa až na 320 % v porovnaní s kontrolou, pri šošovici boli výsledky obdobné. Denná konzumácia 250 g takéhoto čerstvého chleba by pokryla dennú potrebu železa pre muža vykonávajúceho stredne namáhavú prácu na takmer 50 %, čo je možné už považovať za významný prínos.

Významným biogénnym prvkom je zinok, ktorý je súčasťou mnohých enzýmov, má dôležitú funkciu pri syntéze bielkovín, ovplyvňuje metabolizmus sacharidov, lipidov, podporuje imunitný systém (**Melicherčík a Melicherčíková, 1997**). Odporúčané množstvo zinku sa

pohybuje od 5 do 16 mg denne, pre muža vykonávajúceho stredne namáhavú prácu je denná potreba 12 mg, čo takmer na 30 % pokryje konzumácia chleba s prídavkom 50 % šošovice v množstve 250 g denne.

Medzi biogénne prvky patrí aj meď, ktorej denná potreba má byť od 0,5 do 2,5 mg, čo je rovnako možné zabezpečiť cereálnou stravou, predovšetkým chlebom obohateným šošovicou, ktorá je významným zdrojom medi. Odporúčané denné množstvo chleba a pečiva (215 g denne), pokiaľ by bol tento pripravený zo zmesi so šošovicou v množstve 50 %, by zabezpečil denný príjem na úrovni približne 0,65 mg Cu. Nedostatok medi v organizme spôsobuje patologické zmeny, jeho nadbytok v organizme je však toxický, blokuje membránový prenos (**Melicherčík a Melicherčíková, 1997**). Desiata hlava druhej časti Potravinového kódexu SR uvádza najvyššie prípustné množstvá kontaminantov v potravinách platné v Slovenskej republike (Výnos Ministerstva pôdohospodárstva SR a Ministerstva zdravotníctva SR č. 608/3/2004 – 100), kde v rámci chemických prvkov figuruje aj meď, ktorej najvyššie prípustné množstvo pre výrobky z obilia je 10 mg.kg⁻¹. Tento limit nebol prekročený v žiadnom z hodnotených výrobkov.

Ďalším, z fyziologického hľadiska esenciálnym, ale pri vyššom množstve toxickým prvkom je chróm. V organizme pomáha vytvárať glukózový tolerančný faktor vplývajúci s inzulínom na koncentráciu cukru v krvi (**Melicherčík a Melicherčíková, 1997**). Zasahuje aj do látkovej výmeny tukov a znižuje hladinu cholesterolu v krvi. V žiadnej z hodnotených potravín nebolo prekročené najvyššie povolené množstvo tohto prvku (4 mg.kg⁻¹ platné pre „ostatné potraviny“).

Súčasná legislatíva SR uvádza najvyššie prípustné množstvá pre nasledovné chemické prvky: Cd, Pb, Hg, As, Sn, Al, Cr, Cu a Ni (Výnos Ministerstva pôdohospodárstva

Tabuľka 1: Obsah olova a kadmia v surovinách použitých na výrobu chleba a v pokusných bochníkoch

	Pb, mg.kg ⁻¹			Cd, mg.kg ⁻¹		
	100 % sušina	konzumná forma	max, mg.kg ⁻¹	100 % sušina	konzumná forma	max, mg.kg ⁻¹
<i>Pšeničná múka</i>	<i>0,130</i>			<i>0,234</i>		
<i>Ovos</i>	<i>0,500</i>			<i>0,264</i>		
<i>Šošovica</i>	<i>0,370</i>			<i>0,107</i>		
Chlieb (pšeničná múka 100 %)	0,560	0,308	1,0	0,260	0,143	0,1
Chlieb (10 % ovos)	0,400	0,220	1,0	0,174	0,096	0,1
Chlieb (20 % ovos)	0,680	0,374	1,0	0,284	0,156	0,1
Chlieb (30 % ovos)	0,660	0,363	1,0	0,328	0,180	0,1
Chlieb (40 % ovos)	0,720	0,396	1,0	0,252	0,139	0,1
Chlieb (50 % ovos)	0,820	0,451	1,0	0,242	0,133	0,1
Chlieb s ovsom, priemer	0,656	0,361		0,256	0,141	
Chlieb (10 % šošovica)	0,370	0,204	1,0	0,237	0,130	0,1
Chlieb (20 % šošovica)	0,300	0,165	1,0	0,163	0,090	0,1
Chlieb (30 % šošovica)	0,330	0,182	1,0	0,253	0,139	0,1
Chlieb (40 % šošovica)	0,370	0,204	1,0	0,227	0,125	0,1
Chlieb (50 % šošovica)	0,430	0,237	1,0	0,223	0,123	0,1
Chlieb so šošovicou, priemer	0,360	0,198		0,221	0,121	

SR a Ministerstva zdravotníctva SR č. 608/3/2004 – 100). Z týchto v nami vyrobených cereálnych potravinách boli hodnotené Cd, Pb, Ni, Cu a Cr. Najvyššie prípustné množstvo ťažkých kovov v potravinách predstavuje ich tolerovateľnú hornú hranicu výskytu v potravinách v číselnom vyjadrení, čím zabezpečuje minimalizáciu odhadovaného zdravotného rizika pre ľudí, za predpokladu dodržiavania primeraných stravovacích zvyklostí. Vzhľadom na to, že Cu a Cr sú aj prvkami uvádzanými v odporúčaných výživových tabuľkách, ich výskyt v nami hodnotených surovinách a potravinách už bol vyhodnotený.

Čo sa týka niklu, jeho esenciálnosť je nepopierateľná, aj keď v prípade vysokého príjmu môže dôjsť k akútnym alebo chronickým otravám, resp. pri kontakte s Ni zlúčeninami sú pozorované nežiaduce kožné prejavy. Na základe našich výsledkov bolo potvrdené, že jeho prirodzenými zdrojmi sú predovšetkým rastliny, najmä zrná ovsu, v ktorých bol obsah Ni tesne pod limitom najvyššieho prípustného množstva pre výroby z obilnín.

Pri olove, ktoré je vysoko rizikovým prvkom s významnou schopnosťou kumulácie, nebol v žiadnej zo vzoriek prekročený maximálny limit ($1,0 \text{ mg.kg}^{-1}$). Akumulácii olova v tele zabraňujú primerané dávky Ca a vitamín A, ktorý aktivuje enzýmy brániace jeho vstrebávaniu (Bencko et al., 1998).

Viaceri autori, ktorí mapujú situáciu ohľadom kadmia v pôdach na Slovensku (Lahučký et al. 2001, Takáč et al., 2008, Tomáš 2002, Vollmannová et al., 2003, Vollmannová et al., 2007, Margitanová et al., 2009) uvádzajú, a na základe výsledkov našich analýz bolo potvrdené, že najproblematickejším prvkom v našich pôdach a následne aj potravinách je kadmium. Vo všetkých nami hodnotených vzorkách, tzn. ako vo vstupných surovinách (múka, šošovica a ovos), tak aj v hotových výrobkoch vo vyjadrení na sušinu 100 % boli namerané vysoké hodnoty kadmia, ktoré sa pohybovali v rozpätí od $0,107 \text{ mg.kg}^{-1}$ Cd (šošovica) do $0,328 \text{ mg.kg}^{-1}$ Cd (chlieb s prídavkom ovsu 30 %). Aj pri monitoringu realizovanom kontrolnými orgánmi SR v rokoch 1991 až 2006 bol najvyšší podiel nadlimitných vzoriek v súvislosti s kadmium, pričom išlo predovšetkým o pôdu a obilniny. Základným zdrojom vstupu kadmia do potravinového reťazca je aplikácia fosforečných hnojív, produkcia železa, ocele a spaľovanie uhlia (Egyudová a Šturdík 2004, Lahučký et al., 2001). Ľudia sú vystavení príjmu kadmia cez potravinový reťazec, fajčením, pôdou, dýchaním a pitnou vodou (Smolders, 2004). Hlavným zdrojom prívodu kadmia v strave sú obilniny, zelená listová zelenina a zemiaky (Cosano et al., 2003). Vysoké koncentrácie kadmia môžu obsahovať rastliny rastúce blízko zdrojov kontaminácie z priemyslu (Klein a Snodgrass, 2003), v ostatnom čase sa do popredia dostáva aj pojem „dialkový transport“ kadmia, čiže ani oblasti bez priemyselných zón nemusia byť automaticky čisté.

Priemerný obsah Cd v kontrolnom chlebe v konzumnej forme bol $0,143 \text{ mg.kg}^{-1}$ Cd a obsah kadmia v chleboch s prídavkami ovsu a šošovice bol nižší. Najnižšia hodnota bola zistená v chleboch s prídavkom šošovice, čiže zdrojmi kadmia v týchto potravinách boli použité základné suroviny, predovšetkým pšeničná múka. Obdobne vysoké hodnoty v požívatinách ($0,5 - 1,0 \text{ mg.kg}^{-1}$) zistili aj

Janušová et al. (2004), pričom v celodennej strave testovaných konzumentov bolo množstvo prijatého kadmia priemerne $0,024 \text{ mg.kg}^{-1}$ (v rozpätí od $0,0-0,053 \text{ mg.kg}^{-1}$). Konzumácia nami vyrobeného a analyzovaného chleba v množstve 215 g (v konzumnom stave) by do organizmu priniesla priemerne $0,0284 \text{ mg}$ kadmia za deň. Pri posudzovaní najvyššieho prípustného množstva sa limitné hodnoty vzťahujú na konzumnú formu potravín, to znamená pri chlebe jeho čerstvý stav s obsahom sušiny približne 55 %. Hodnoty množstva Pb a Cd uvedené v tabuľke 1 sú uvedené v prepočte na 100 % sušinu a na konzumnú formu.

V zmysle uvedeného boli nadlimitné hodnoty ($> 0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ pre „ostatné potraviny“) namerané v ôsmich z jedenástich bochníkov upečených s prídavkom ovsu a šošovice. Nadlimitné obsahy kadmia a olova v zelenine zistila aj Szabová et al. (1998), ale ich pokusy boli založené na pôdach s aplikáciou čistiarenských kalov, na rozdiel od našich, v rámci ktorých boli suroviny na výrobu chleba a pečiva kupované v obchodnej sieti.

Najvyššie prípustné množstvo kadmia pre potraviny je legislatívou dané až na úroveň $0,8 \text{ mg.kg}^{-1}$ resp. $1,0 \text{ mg.kg}^{-1}$, ale tieto hodnoty platia pre mak, resp. huby, čaj a želatínu. Ukladaniu kadmia v organizme zabraňuje kyselina askorbová (Melicherčík a Melicherčíková, 1997), významným antagonistom kadmia je zinok, ktorý okrem protektívneho účinku voči nepriaznivým vplyvom kadmia zohráva významnú úlohu v podpore imunity, plodnosti, proteínovej syntézy atď. Jeho toxicita je pomerne malá a preto by bolo možné odporučiť suplementáciu zinku do potravín, najmä do tých s potenciálne vyšším obsahom kadmia.

ZÁVER

Na základe technologického, nutričného a hygienického hodnotenia chleba pripraveného s prídavkom ovsu a šošovice v množstve do 50 % je možné skonštatovať, že technologická kvalita chleba s prídavkami bola v porovnaní s kontrolným chlebom vyrobeným len zo pšeničnej múky horšia, čo sa prejavilo predovšetkým nižším objemom výrobkov. Na druhej strane, v takýchto výrobkoch bola výrazne vyššia nutričná kvalita, týkajúca sa okrem bielkovín, vlákniny a ďalších nutrične významných zložiek, aj minerálnych prvkov s esenciálnymi funkciami v organizme človeka. Použitie ovsu zvýšilo v chlebe s jeho prídavkom v množstve 50 % obsah nutrične významných prvkov ako Fe (3,2 násobne), Mn (3,13 násobne), Zn (2,23 násobne), Cu (2,01 násobne) a Cr (1,2 násobne). Prídavok šošovice zvýšil predovšetkým obsah Cu (3,55 násobne), Zn (2,96 násobne) a Mn (1,29 násobne).

Obsah olova v žiadnej zo surovín a vyrobených potravín neprekročil legislatívne daný limit. Pri kadmium bola situácia horšia, z 11 pripravených druhov chleba malo nadlimitný obsah kadmia 8, čo je 72,7 % a zistené hodnoty sa pohybovali v rozpätí od $0,090 - 0,180 \text{ mg.kg}^{-1}$.

LITERATÚRA

ANONYMUS 2008. Výsledky 16 ročného monitoringu cudzorodých látok v potravinovom reťazci. Dostupné na internete: <www.land.gov.sk/index.php?navID-94&id=531> [9.6.2008]

- BENCKO V., CIKRT M., LENER J. 1998. Toxické kovy v životním a pracovním prostředí člověka. Praha: Grada Publishing (2. vydanie), 1998, 288 s.
- BOJŇANSKÁ T., FIKSELOVÁ M. 2009. Antioxidačný účinok a obsah rutínu v pšeničných chleboch s rozličným prídavkom pohánky (Antioxidant effect and rutin content of wheat breads substituted by different amount of buck wheat In *Antioxidanty 2009* [elektronický zdroj] : zborník z I. ročníka vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou, 6. máj 2009. Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita, s.19-25. ISBN 978-80-552-0209-9.
- BOJŇANSKÁ T., CHLEBO P., GAŽAR R., HORNA A. 2009. Buckwheat enrichment bread production and its nutrition benefits. In *European Journal of Plant Science and Biotechnology*, Global Science Books, Volume 3, Special Issue 1, 2009, ISSN 1752-3842, ISBN 978-4-903313-42-9, p. 49-55
- COSANO Z.G., LÓPEZ AMARO M.A. 2003. Properties and determination of cadmium. Academic Press, Oxford, 2003, p. 733-745.
- EGYUDOVÁ I., ŠTURDÍK E. 2004. Heavy metals and pesticides in foods. In *Nova Biotechnologica*, 2004, 155-173
- JANUŠOVÁ T., GÁLIKOVÁ E., SZÁRAZOVÁ M., DOSTÁL A. 2004. Vybrané xenobiotiká vo výžive martinských medikov. In *Životné podmienky a zdravie*. Zborník vedeckých prác. Bratislava: Úrad verejného zdravotníctva SR, 2004, 368 s., ISBN 80-7159-146-7
- KLEIN W.R., SNODGRASS W.R. 2003. Heavy metal toxicology. Academic Press, Oxford, 2003, p. 3050-3056.
- LAHUČKÝ L., VOLLMANNOVÁ A., KULICH J., TOMÁŠ J. 2001. Mobility of cadmium in various soil types / subtypes. In *Journal of Central European Agriculture*, Vol. 2, 2001, No. 3-4, p. 235-240
- MARGITANOVÁ E., VOLLMANNOVÁ A., KRÍŽOVÁ, L., SZABÓOVÁ, G., HARANGOZO, E. 2007. Kumulácia rizikových kovov zrnou pseudocereálií. In *Potravinárstvo* : vedecký časopis pre potravinárstvo. roč. 3, č. 3 (2009), s. 51-54, ISSN 1338-0230.
- MELICHERČÍK, M., MELICHERČÍKOVÁ, D. 1997. Bioanorganická chémia. Chemické prvky a ľudský organizmus. Bratislava: Príroda, 1997, 188 s. ISBN 80-70-01028-9
- SMOLDERS E. 2004. Risk assessment of metals-cadmium as a case study. Dostupné na internete: <<http://www.ktbl.de/english/projects/aromis/smolders.pdf>>
- SZABOVÁ T., LEŠČINSKÁ M., GONDOVÁ A. 1998. Heavy metal cumulation in crops after the sewage sludge application. In *Acta Montanistica Slovaca*, Vol. 3, 1998, No.4, p. 478 - 481
- TAKÁČ P., KOZÁKOVÁ L., VALKOVÁ M., ZELENÁK F. 2008. Ťažké kovy v pôdach stredného Spiša. In *Acta Montanistica Slovaca*, Vol. 13, 2008, No. 1, p. 82-86
- TOMÁŠ J. 2002. Kontaminácia pôd v okolí chemického závodu Strážske z hľadiska obsahu ťažkých kovov. In *Rizikové faktory potravinového reťazca*, Nitra: SPU, 2002, s.158-164, ISBN 80-8069-076-6
- Vestník MZ SR 1997 SOTO 1586/1997 z 28. apríla 1997, čiastka 7 – 8 „Odporúčané výživové dávky pre obyvateľstvo v Slovenskej republike“
- VOLLMANNOVÁ A., LAHUČKÝ L., TOMÁŠ J., TÓTH T. 2003. Liming of extremely acid soil with respect to input of some heavy metals into plants. In *Acta fytotechnica et zootechnica*, Vol. 6, 2003, No.2
- VOLLMANNOVÁ A., TOMÁŠ J., HARANGOZO E., LAHUČKÝ L. 2007. Príjem kadmia vybranými minoritnými plodinami využívanými na výrobu funkčných potravín vo vzťahu k obsahu celkových polyfenolov. In *XXXVIII. symposium o nových smerech výroby a hodnocení potravin* [elektronický zdroj] : sborník příspěvků, Skalský Dvůr, 21.-23.5.2007. Praha: Výzkumný ústav potravinářský, 2008. ISSN 1802-1433
- Výnos Ministerstva pôdohospodárstva SR a Ministerstva zdravotníctva SR č. 608/3/2004 – 100, aktualizované výnosom č. 1907/2004-100 a č. 3372/2004-100

Kontaktná adresa:

doc. Ing. Tatiana Bojňanská, CSc. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FBP, KSSRP, Trieda Andreja Hlinku 2. Tel. 037 6414 703
e-mail: Tatiana.Bojnanska@uniag.sk

VLIV AEROBNÍHO/ANAEROBNÍHO PROSTŘEDÍ NA DEKARBOXYLÁZOVOU AKTIVITU VYBRANÝCH BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ

EFFECT OF AERO-/ANAEROBIOSIS ON DEKARBOXYLASE ACTIVITY OF SELECTED LACTIC ACID BACTERIA

Leona Buňková, František Buňka, Eva Pollaková, Tereza Podešvová, Vladimír Dráb, Stanislav Kráčmar

ABSTRACT

Biogenic amines are undesirable compounds produced in foods mainly through bacterial decarboxylase activity. The aim of this study was to investigate some environmental conditions (particularly aero/anaerobiosis, sodium chloride concentration (0–2% w/w), and amount of lactose (0–1% w/w)) on the activity of tyrosine decarboxylase enzymes of selected six technological important *Lactococcus lactis* strains. The levels of parameters tested were chosen according to real situation in fermented dairy products technology (especially cheese-making). Tyramine was determined by the ion-exchange chromatography with post-column ninhydrine derivatization and spectrophotometric detection. Tyrosine decarboxylation occurred during the active growth phase. Under the model conditions used, oxygen availability had influence on tyramine production, anaerobiosis seemed to favour the enzyme activity because all *L. lactis* strains produced higher tyramine amount.

Keywords: *Lactococcus*, tyramine, ion-exchange chromatography, aero/anaerobiosis.

ÚVOD

Biogenní aminy jsou nízkomolekulární alifatické, aromatické nebo heterocyklické bazické sloučeniny odvozené od aminokyselin. Jsou významnými sloučeninami, které se vyskytují v živých organizmech jako metabolické meziproducty a producty, které vykazují biologickou aktivitu. Základní podmínkou vzniku biogenních aminů je přítomnost aminokyselin v daném substrátu, přítomnost mikroorganismů s dekarboxylázovou aktivitou a vhodné podmínky pro růst a množení mikroorganismů. (Fernández et al., 2007; Landete et al., 2007; Bover-Cid et al., 2008).

Tvorba biogenních aminů bakteriemi může být ovlivněna mnohými vnějšími faktory, které mohou ovlivňovat zejména kinetiku dekarboxylázových reakcí. Mezi vnější faktory, které ovlivňují tvorbu biogenních aminů u bakterií, patří teplota a pH prostředí, aero-/anaerobióza, dostupnost zdrojů uhlíku (např. glukózy), přítomnost růstových faktorů, růstová fáze buněk, koncentrace NaCl (vodní aktivita) aj. (Greif et al., 1997, 1998, 2006; Gardini et al., 2001, 2005; Santos et al., 2003; Fernández et al., 2007; Bover-Cid et al., 2008; Emborg and Dalggaard, 2008a, b). Kromě výše zmíněných faktorů mohou produkci biogenních aminů ovlivňovat další chemické látky, např. etanol, některé sacharidy, fenolické sloučeniny nebo oxid siřičitý (Gardini et al., 2005; Alberto et al., 2007; Mazzoli et al., 2009).

Biogenní aminy mohou být produkovány i kmeny BMK, které se běžně využívají pro technologické účely jako starterové kultury (Buňková et al., 2009), a proto je vhodné tyto kmeny před použitím v mlékárenství otestovat na dekarboxylázovou aktivitu. Stejně tak by pro technologické účely bylo vhodné znát kinetiku tvorby biogenních aminů za podobných podmínek prostředí, které mohou nastat během technologického procesu výroby fermentovaných mléčných výrobků. Tyto informace se však v soudobé odborné literatuře vyskytují jen zřídka.

Cílem této studie tedy bylo sledovat vliv aerobního a anaerobního prostředí na produkci tyraminu u 6 kmenů bakterií rodu *Lactococcus* (Buňková et al., 2009). Tyto bakterie se v průběhu biotechnologického procesu výroby mléčných výrobků využívají jako starterové kultury.

MATERIÁL A METODIKA

Vliv aerobního a anaerobního prostředí na produkci tyraminu byl testován u 3 kmenů *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (CCDM 48, CCDM 53 a CCDM 141) a 3 kmenů *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (CCDM 824, CCDM 946 a CCDM 1004). Všechny kmeny byly získány ze Sbírký kultur mlékářských mikroorganismů Laktoflora® (CCDM).

Kultivace výše zmíněných kmenů, pozitivních na produkci tyraminu, probíhala v bujónu M17 s přidavkem 0,2 % (w/v) tyrozinu při 10 ± 1 °C v rozmezí 1 až 15 dnů. Příslušné kultivační médium o objemu 5 ml bylo zaočkováno vždy 25 µl suspenze bakterií narostených přes noc v M17 bujónu s přidavkem 0,2 % tyrozinu. Kultivační médium bylo obohaceno o laktózu v koncentraci 0,5 % (w/v) a NaCl (0; 1 a 2 % w/v).

Vliv aerobního/anaerobního prostředí na produkci biogenních aminů byl sledován tak, že polovina zkumavek byla kultivována aerobně a druhá anaerobně. Anaerobního prostředí bylo dosaženo zakápnutím kultivačního média sterilním parafinovým olejem (1 ml). Odběr vzorků pro analýzy probíhal 0., 1., 5., 10. a 15. den kultivace a to tak, že vždy byly náhodně odebrány od každého kmene a každé úrovně faktoru 2 zkumavky. Celý experiment byl opakován třikrát.

Po inkubaci bakterií byly buňky odstraněny centrifugací (10000 × g, 5 min) a supernatant byl filtrován přes 0,45 µm filtr. Produkce tyraminu byla zjišťována pomocí iontově-výměnné chromatografie (IEC; Automatický analyzátor aminokyselin AAA400, Ingos Praha, ČR) v médiu po odstranění buněk a po filtraci podle Buňková et al. (2009). Každý izolát byl analyzován alespoň třikrát. Standard tyraminu byl získán ze Sigma-Aldrich. Výsledky IEC byly statisticky vyhodnoceny pomocí Kruskal-Wallisova testu a Wilcoxonova testu.

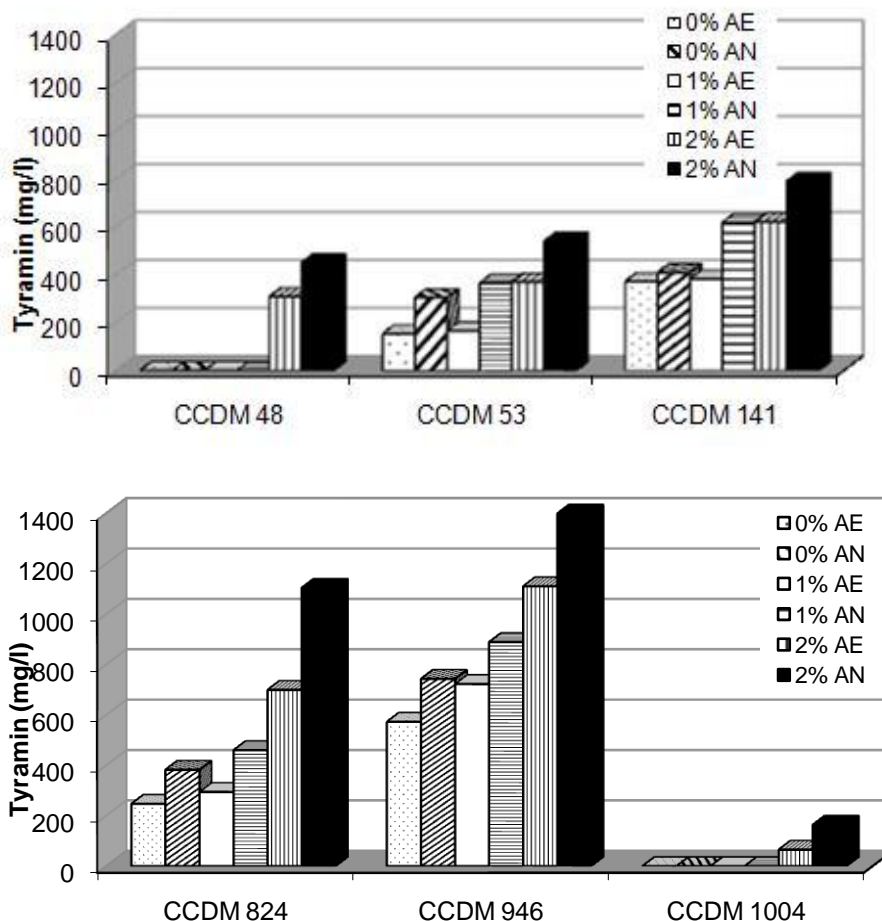
VÝSLEDKY A DISKUZE

V předcházející studii (Buňková et al., 2009) byla u 6 kmenů *L. lactis* zjištěna produkce biogenního aminu tyraminu. Tyto kmeny byly nyní využity pro testování vlivu aerobního a anaerobního prostředí na produkci

tyraminu. Teplota kultivace byla volena tak, aby se přiblížila podmínkám technologického procesu výroby přírodních sýrů a aby tato studie napomohla předvídat průběh tvorby biogenních aminů ve fermentovaných mléčných výrobcích (zejména přírodních sýrech), které prochází zrácím procesem. Testované kmeny laktokoků byly proto kultivovány při teplotě 10 ± 1 °C, která se využívá během technologického procesu zrání přírodních sýrů. U všech testovaných kmenů se maximální produkce tyraminu po 10. dnu kultivace již neměnila.

Z testovaných kmenů *L. lactis* subsp. *lactis* (CCDM 48, CCDM 53 a CCDM 141) byl jako nejproduktivnější označen kmen *L. lactis* subsp. *lactis* CCDM 141, u něhož byla zjištěna maximální produkce tyraminu až 790 mg/l kultivačního média. U testovaných kmenů *L. lactis* subsp. *lactis* byla pozorována nejvyšší produkce tyraminu v médiu obohaceném o 2 % NaCl po kultivaci v anaerobním prostředí (Obrázek 1A). K nejvyšší produkci tyraminu došlo při kultivaci bez přítomnosti kyslíku. K produkci tyraminu u kmene *L. lactis* subsp. *lactis* CCDM 48 došlo pouze tehdy, pokud byly tyto bakterie kultivovány v přítomnosti nejvyšší aplikované koncentrace soli (2 % NaCl). V ostatních případech (bez NaCl a 1 % NaCl)

tyraminu byla pozorována při kultivaci v prostředí se 2 % NaCl bez přístupu kyslíku. Tato zjištěná produkce tyraminu se statisticky významně odlišovala ($P < 0,05$) od produkce zjištěné při kultivaci za ostatních testovaných podmínek (Obrázek 1B). Testovaný kmen *L. lactis* subsp. *cremoris* CCDM 1004 se do jisté míry choval podobně jako kmen *L. lactis* CCDM 48. Dekarboxylázová aktivita byla u kmene CCDM 1004 poměrně slabá a tyramin byl detekován pouze během kultivace v prostředí se 2 % NaCl. Mnoho studií se věnuje vlivu nejrůznějších faktorů vnějšího prostředí (např. teploty, pH, přítomnosti sacharidů, NaCl a jiných chemických látek) na produkci biogenních aminů u bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* (Greif et al., 1997, 1998, 2006; Emborg and Dalggaard, 2008a, b) nebo u mléčných bakterií rodu *Lactobacillus* (Alberto et al., 2007; Arena et al., 2008; Bover-Cid et al., 2008; Mazzoli et al., 2009), *Enterococcus* (Gardini et al., 2001; Fernández et al., 2007) a *Oenococcus* (Gardini et al., 2005). Avšak studií, věnujících se faktorům, které ovlivňují produkci biogenních aminů u bakterií rodu *Lactococcus*, není příliš mnoho. Z důvodu absence studií vlivu podmínek prostředí na produkci biogenních aminů u laktokoků a také proto, že se jedná o technologicky



Obrázek 1: Produkce tyraminu po 15 dnech kultivace při 10 ± 1 °C u testovaných kmenů *L. lactis* subsp. *lactis* (A) a *L. lactis* subsp. *cremoris* (B) v M17 bujónu s 0,5 % laktózy a 0, 1 nebo 2 % NaCl v aerobním (AE) a anaerobním (AN) prostředí.

nebyla u tohoto kmene přítomnost tyraminu detekována. U testovaných bakterií *L. lactis* subsp. *cremoris* byla zaznamenána největší produkce tyraminu u kmene CCDM 946 (až 1400 mg.l^{-1} kultivačního média), nejnižší pak u CCDM 1004. U všech testovaných kmenů *L. lactis* subsp. *cremoris* lze pozorovat trend, že maximální produkce

významné bakterie hojně využívané v mlékárenství, jsme sledovali vliv aerobního a anaerobního prostředí na dekarboxylázovou aktivitu tyramin pozitivních bakterií rodu *Lactococcus*.

Výsledky naší studie ukazují, že 4 z 6 testovaných kmenů laktokoků (*L. lactis* subsp. *lactis* CCDM 53, CCDM 141 a

L. lactis subsp. *cremoris* CCDM 824 a CCDM 946) produkovaly tyramin za každých podmínek, které byly testovány. Zbývající 2 kmeny (*L. lactis* subsp. *lactis* CCDM 48 a *L. lactis* subsp. *cremoris* CCDM 1004) vykazovaly produkci tyraminu pouze za určitých podmínek (kultivace v prostředí se 2 % NaCl). Tyto výsledky prokazují, že schopnost produkce biogenních aminů bakteriemi závisí na kultivačních podmínkách a zároveň, že tato vlastnost je charakteristikou daného kmene (Arena and Manca de Nadra, 2001; Bover-Cid et al., 2001) Jestliže srovnáme růst testovaných laktokoků a křivku produkce biogenních aminů, zjistíme, že produkce biogenních aminů započala během logaritmické fáze jejich růstu. Podobný trend zaznamenali u *Lb. curvatus* také Bover-Cid et al. (2008).

U všech testovaných technologicky významných kmenů *L. lactis* byla za daných podmínek zjištěna vyšší produkce tyraminu za anaerobních podmínek. Bover-Cid et al. (2008) nezjistili výraznější vliv v dostupnosti kyslíku na produkci biogenních aminů u *Lactobacillus curvatus*, a zároveň však poukazují na to, že anaerobní prostředí pravděpodobně napomáhá dekarboxylázové aktivitě enzymů.

ZÁVĚR

U všech testovaných kmenů *L. lactis*, pozitivních na produkci tyraminu, byla zjištěna vyšší produkce tohoto biogenního aminu po kultivaci bez přístupu kyslíku. Zároveň bylo detekováno nejvyšší množství tyraminu v kultivačním médiu s přidávkou 2 % NaCl.

LITERATURA

- ALBERTO, M. R., ARENA, M. E., MANCA DE NADRA, M. C., 2007. Putrescine production from agmatine by *Lactobacillus hilgardii*: Effect of phenolic compounds. In *Food Control*, roč. 18, 2007, s. 898-903.
- ARENA, M. E., LANDETE, J. M., MANCA DE NADRA, M. C., PARDO, I., FERRER, S., 2008. Factors affecting the production of putrescine from agmatine by *Lactobacillus hilgardii* X₁B isolated from wine. In *Journal of Applied Microbiology*, roč. 105, 2008, s. 158-165.
- ARENA, M.E., MANCA DE NADRA, M. C., 2001. Biogenic amine production by *Lactobacillus*. In *Journal of Applied Microbiology*, roč. 90, 2001, s. 158-162.
- BOVER-CID, S., HUGAS, M., IZQUIERDO-PULIDO, M., VIDAL-CAROU, M. C., 2001. Amino acid-decarboxylase activity of bacteria isolated from fermented pork sausages. In *International Journal of Food Microbiology*, roč. 66, 2001, s. 185-189.
- BOVER-CID, S., MIGUÉLEZ-ARRIZADO, M. J., BECKER, B., HOLZAPFEL, W. H., VIDAL-CAROU, M. C., 2008. Amino acid decarboxylation by *Lactobacillus curvatus* CTC273 affected by the pH and glucose availability. In *Food Microbiology*, roč. 25, 2008, s. 269-277.
- BUŇKOVÁ, L., BUŇKA, F., HLOBILOVÁ, M., VAŇÁTKOVÁ, Z., NOVÁKOVÁ, D., DRÁB, V., 2009. Tyramine production of technological important strains of *Lactobacillus*, *Lactococcus* and *Streptococcus*. In *European Food Research and Technology*, roč. 229, 2009, s. 533-538.
- EMBORG, J., DALGAARD, P., 2008a. Modelling the effect of temperature, carbon dioxide, water activity and pH on growth and histamine formation on *Morganella psychrotolerans*. In *International Journal of Food Microbiology*, roč. 128, 2008, s. 226-233.
- EMBORG, J., DALGAARD, P., 2008b. Growth, inactivation and histamine formation of *Morganella*

psychrotolerans and *Morganella morganii* – development and evaluation of predictive models. In *International Journal of Food Microbiology*, roč. 128, 2008, s. 234-243.

FERNÁNDEZ, M., LINARES, D. M., RODRÍGUEZ, A., ALVAREZ, M. A., 2007. Factors affecting tyramine production in *Enterococcus durans* IPLA 655. In *Applied Microbiology and Biotechnology*, roč. 73, 2007, s. 1400-1406.

GARDINI, F., MARTUSCELLI, M., CARUSO, M. C., GALGANO, F., CRUDELE, M. A., FAVATI, F., GUERZONI, M. E., SUZZI, G., 2001. Effects of pH, temperature and NaCl concentration on the growth kinetics, proteolytic activity and biogenic amine production of *Enterococcus faecalis*. In *International Journal of Food Microbiology*, roč. 64, 2001, s. 105-117.

GARDINI, F., ZACCARELLI, A., BELLETI, N., FAUSTINI, F., CAVAZZA, A., MARTUSCELLI, M., MASTROCOLA, D., SUZZI, G., 2005. Factors influencing biogenic amine production by a strain of *Oenococcus oeni* in a model system. In *Food Control*, roč. 16, 2005, s. 609-616.

Štúdium rastu a produkcie biogénnych aminov nektorými mikroorganizmami za modelových podmienok. In *Czech Journal of Food Science*, roč. 17, 1998, s. 15-21.

GREIF, G., GREIFOVÁ, M., KAROVIČOVÁ, J., 1997. Tvorba kadaverínu a amoniaku činnosťou niektorých baktérií za modelových podmienok. In *Czech Journal of Food Science*, roč. 16, 1997, s. 53-56.

GREIF, G., GREIFOVÁ, M., KAROVIČOVÁ, J., 2006. Effects of NaCl concentration and initial pH value on biogenic amine formation dynamics by *Enterobacter* spp. bacteria in model conditions. In *Journal of Food and Nutrition Research*, roč. 45, 2006, s. 21-29.

LANDETE, J. M., FERRER, S., PARDO, I., 2007. Biogenic amine production by lactic acid bacteria, acetic bacteria and yeast isolated from wine. In *Food Control*, roč. 18, 2007, s. 1569-1574.

MAZZOLI, R., LAMBERTI, C., COISSON, J. D., PURROTTI, M., ARLORIO, M., GIUFFRIDA, M. G., GIUNTA, C., PESSIONE, E., 2009. Influence of ethanol, malate and arginine on histamine production of *Lactobacillus hilgardii* isolated from Italian red wine. In *Amino Acids*, roč. 36, 2009, s. 81-89.

SANTOS, W. C., SOUZA, M. R., CERQUEIRA, M. M. O. P., GLÓRIA, M. B. A., 2003. Bioactive amine formation in milk by *Lactococcus* in the presence or not of rennet and NaCl at 20 and 32 °C. In *Food Chemistry*, roč. 81, 2003, s. 595-606.

Poděkování

Práce vznikla za podpory projektu MŠMT: MSM 7088352101.

Kontaktní adresa:

RNDr. Leona Buňková, Ph.D. Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky.
Tel: 00420 576 031 154, email: bunkova@ft.utb.cz,
doc. Ing. František Buňka, Ph.D., Bc. Eva Pollaková, Bc. Tereza Podešvová, Ústav technologie a mikrobiologie potravin,
prof. Ing. Stanislav Kráčmar, DrSc., Ústav biochemie a analýzy potravin,
Fakulta technologická, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, nám. T.G. Masaryka 275, 762 72 Zlín, Česká republika.
Vladimír Dráb, Sběrka kultur mlékařských mikroorganismů Laktoflora, MILCOM, Soběslavská 841, 390 02 Tábor, Česká republika

ŠTRUKTURÁLNE ZMENY SEMENNÍKOV PO INTRAPERITONEÁLNEJ APLIKÁCII DIAZINONU A SELÉNU

STRUCTURAL CHANGES IN THE TESTIS CAUSED BY DIAZINON AND SELENIUM

Michal Cabaj, Róbert Toman, Mária Adamkovičová, Peter Massányi, Branislav Šiška, Norbert Lukáč, Jozef Golian

ABSTRACT

The aim of this study was to find the structural changes in the rat testis after a diazinon, selenium and their combined administration. The testis structural changes after the diazinon intraperitoneal administration of 20 mg.kg⁻¹ b.w., selenium 2 mg.kg⁻¹ b.w. and both diazinon 20 mg.kg⁻¹ b.w. and selenium 2 mg.kg⁻¹ b.w. were evaluated by histological and morphometric methods in light microscopy. 36 hours after the diazinon i.p. administration, the vacuolization of the seminiferous epithelium, evacuation of germ cells into the tubule lumen, epithelium necrosis and disintegration, interstitium extension and fibrotization were observed. The germ cells released from the basal lamina and subsequently they were visible in the tubule lumen. Blood vessels were damaged and morphometric analysis have shown their significant dilatation ($P < 0.05$). Diazinon causes the damage of the germinal epithelium in the testes leading to the spermatogenesis failure. The infertility can then appear. In selenium treated group disintegration of cellular associations in the seminiferous epithelium, damaged and separating spermatids lines, reduced spermatogenesis and significant vacuolization of seminiferous epithelium ($P < 0.0001$) were observed. Similar changes as in selenium treated group occurred, significant vacuolization of seminiferous epithelium ($P < 0.05$) was seen. In combined diazinon and selenium treated group protective effects of selenium in seminiferous epithelium and interstitium were noticed. Further investigation of diazinon and selenium is needed to practical use this results.

Keywords: diazinon, selenium, testis, histology, morphometry, rat

ÚVOD

Diazinon je organofosforečný pesticíd, určený na ničenie rôzneho škodlivého hmyzu. Patrí sem pôdny hmyz, škodcovia na ovocí, zelenine, krmive, kultúrnych plodinách a rozmanitý hmyz v ňom zamorených oblastiach, domácnostiach. Používa sa tiež na reguláciu kožných parazitov zvierat. Má dlhú perzistenciu a relatívne nízku toxicitu pre cicavce (EPA, 2006; Melendres et al., 1993). Toxicita diazinonu je zapríčinená inhibíciou enzymatického - cholinesterázového odbúravania cholinergných mediátorov nervového vzruchu (acetylcholínu) na takto inervovaných miestach organizmu. Pôsobenie sa prejavuje navonok príznakmi otravy, ako sú bolesti hlavy, úzkosť, slabosť, strach, rozšírené zrenice, rozmazané videnie, nevoľnosť, zvracanie, kŕče brucha, hnačka, sťažené dýchanie, kóma až smrť (ATSDR, 2008). Diazinon vykazuje silný účinok na pohlavný systém samcov. Organofosforečné pesticídy všeobecne spôsobujú zníženie počtu spermíí (Recio-Vega et al., 2008). Na molekulárnej úrovni diazinon spôsobuje oxidatívny stres a tým zvýšenú peroxidáciu lipidov, čo sa prejavuje na bunkových organelách, bunkách a nimi tvorených štruktúrach – tkanivách, orgánoch (Okamura et al., 2009; Harris et al., 2009; Oostingh et al., 2009; Salazar-Arredondo et al., 2008; Sarabia et al., 2009). Zaznamenané boli genotoxické účinky diazinonu na DNA spermíí potkanov a myši (Sarabia et al., 2009a; Salazar-Arredondo et al., 2008). Diazinon spôsobuje histopatologické zmeny a zvýšenie lokálnej apoptózy v semeníkoch myši (Sarabia et al., 2009b). Toxické účinky diazinonu sa teda prejavujú komplexne na fyziologických, biochemických a histopatologických zmenách zasiahnutého organizmu (Yehia et al., 2007). Niektorí autori navrhujú využívať účinky silných antioxidantov

(melatonínu) na zníženie negatívnych účinkov diazinonu (Sarabia et al., 2009b)

Selén je esenciálny mikroelement s rozmanitými funkciami v živom organizme. Pri vysokých dávkach pôsobí toxicky. Ako kofaktor sa zúčastňuje dejodácie tyreoidálnych hormónov (ATSDR, 2003). Je súčasťou antioxidantných enzýmov ako seléndependentnej glutatiónpoxidázy a ďalších antioxidantných pôsobiacich látok ochraňujúcich membrány buniek a DNA pred poškodením voľnými radikálmi. Selén teda zohráva významnú úlohu pri vzniku nádorových, kardiovaskulárnych, ale aj iných ochorení, funkciách imunitného systému, starnutí organizmu a pri pôsobení toxických látok (Wojtczak, 2003; Sun, Mu a Ma et al., 2005; ATSDR, 2003). Pôsobí ochranné pred toxickými účinkami niektorých ťažkých kovov – kadmia, ortuti, hlinníka (Xu et al., 2003; Mozofarian, 2009; El-Demerash, 2004; Abubakar et al., 2003). Výrazné je pôsobenie na pohlavný systém samcov. Pri prekročení optimálnych dávok pôsobí toxicky na štruktúry semenníka (Kaur a Kaur, 2000; Parshad a Sud, 1989; Chowdhury a Venkatakrishna-Bhat, 1983; Nebbia et al., 1987). Selén vo forme selénoproteínu P a seléndependentnej fosfolipidovej hydroxiperoxidovej glutatiónpoxidázy (PHGPx) je u cicavcov nevyhnutný pre normálny priebeh spermatogenézy (Boitani a Puglishi, 2008). Zistené boli pozitívne účinky selénu na Leydigove bunky a sekréciu testosterónu u mužov (Akinloye et al., 2005). Známe sú účinky selénu v prevencii rakoviny prostaty (Clark et al., 1998). Selén podporuje plodnosť samcov a mužov zvýšenou produkciou a zlepšením pohyblivosti spermíí (Keskes-Ammar et al., 2003). Mnohí autori navrhujú využívať rôzne formy selénu ako indikátor parametrov kvality ejakulátu u zvierat (Stradioli et al., 2009; Kaoruko, 1999) a ľudí (Shinohara et al., 2005; Foresta,

Flohé a Garolla, 2002). Selén samostatne alebo v kombinácii s vitamínom E alebo N-acetylcysteínom sa odporúča využívať na liečbu niektorých foriem neplodnosti mužov (Keskes-Ammar et al, 2003; Safarinejad a Safarinejad, 2009).

Takmer neznáme sú účinky kombinácie a interakcií diazinonu a selénu. Kashanian et al. (2008) uvádzajú ochranné pôsobenie selénu pred škodlivými účinkami diazinonu na DNA týmusu teliat. Autori inej štúdie zaznamenali oproti účinku samotného diazinonu výraznejší, ale štatisticky nepreukazný pokles aktivity cholinesterázy v krvnej plazme potkanov po podaní kombinácie selénu a diazinonu, čo značí možné znásobenie účinku na pokles aktivity cholinesterázy (Šiška et al., 2008) s následným účinkom na tkanivá.

Cieľom experimentu bolo popísať a vyhodnotiť štrukturálne zmeny semenníka potkana po intraperitoneálnom podaní selénu, diazinonu a ich kombinácie.

MATERIÁL A METODIKA

40 samcov potkanov línie Wistar vo veku 3 mesiace bolo náhodne rozdelených do štyroch skupín po 10 nasledovne – kontrolná skupina (K), skupina s podaním selénu (Se), diazinonu (DZN) a kombinácie diazinonu a selénu (DZN+Se). Zvieratá boli umiestnené individuálne v plastových nádobách na podstielke z drevených hoblín. V priestoroch pokusného zariadenia sa dodržiavali základné nároky na životné podmienky (teplota 20 – 22 °C, vlhkosť 55 ± 10 %, 12 hodinový svetelný režim) a neobmedzený prístup k vode a krmivu. Samcom skupiny Se bol podaný jednorazovo intraperitoneálne selén (Reachem, Bratislava) vo forme seleničitanu sodného v dávke 2 mg.kg⁻¹. Samcom skupiny DZN sa aplikoval jednorazovo intraperitoneálne diazinon (Sigma-Aldrich, USA) v dávke 20 mg.kg⁻¹. Tretej skupine samcov (DZN+Se) bol podaný diazinon v dávke 20 mg.kg⁻¹ a selén 2 mg.kg⁻¹ v samostatnej aplikácii v rovnakom čase. Po 36

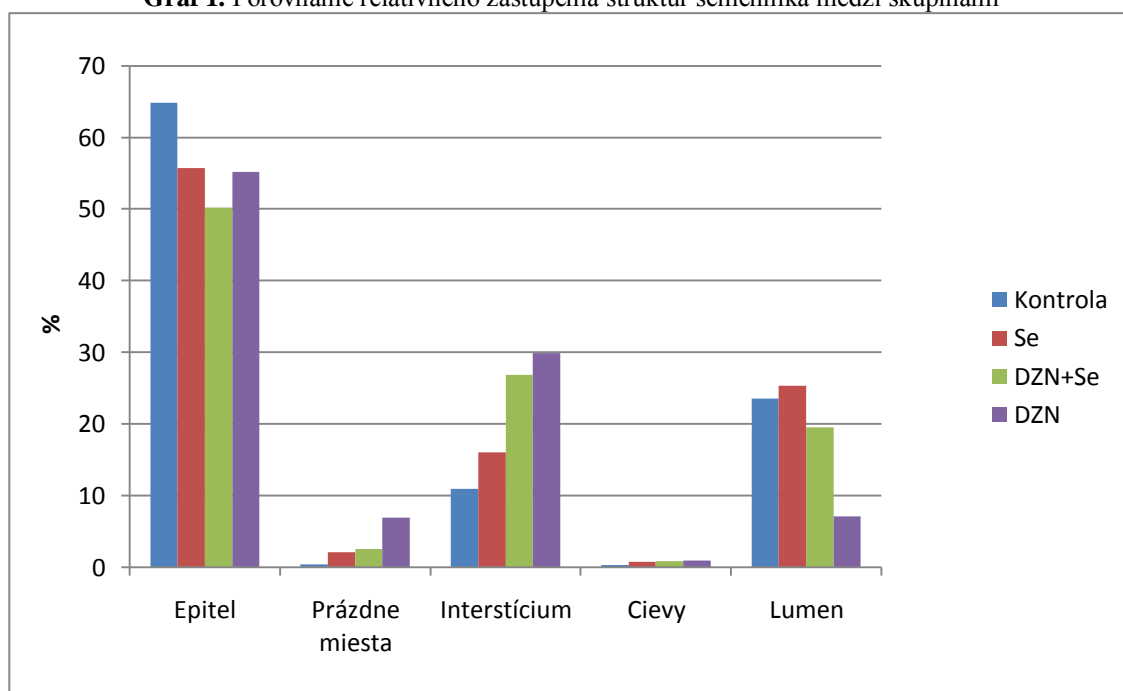
hodinách boli všetci samci usmrtení humánnym spôsobom, vykonala sa anatomická pitva a odobrali sa vzorky semenníkov, ktoré sa fixovali v modifikovanom Davidsonovom roztoku (Latendresse et al., 2002). Vzorky sa oľadili hematoxilín-eozínom a skúmali sa v svetelnom mikroskope Nikon Eclipse E600. Hodnotenie mikrofotografií bolo uskutočnené komputerovaným systémom vyhodnocovania pomocou PC morfometrického softwaru M.I.S. Quick Photo a mikroskopom Olympus AX 70. V semenníku sa vyjadřilo percentuálne zastúpenie semenotvorného epitelu semenníka, prázdnych miest v semenotvornom epiteli, lúmenu semenotvorných kanálikov, interstícia, krvných ciev v interstíciu. Rozdiely medzi jednotlivými skupinami boli vyjadřené ako rozdiely variability rozptylu priemerov jednotlivých vzoriek medzi skupinami, čo bolo štatisticky zhodnotený jednocestnou analýzou rozptylu (ANOVA) v software Minitab v. 15.1.30.0 na hladine preukaznosti α=0,05.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na mikroskopických preparátoch kontrolnej skupiny bola pozorovaná normálna štruktúra semenotvorných kanálikov a intersticiálneho tkaniva. Semenotvorné kanáliky mali kruhovitý až výrazne elipsovité tvar. Boli zreteľne ohraničené neporušenou bazálnou membránou s prebiehajúcou spermatogenezou. Na bazálnu membránu nasadali Sertolihov, spermatogónie, spermatocyty, spermatidy až po spermie uvoľňujúce sa do lúmenu semenotvorného kanáliku. Priestor medzi jednotlivými kanálikmi vyplňalo úzke intersticiálne tkanivo s viditeľnými krvnými cievami a Leydigovými bunkami (Obrázok 1). Relatívne zastúpenie hodnotených štruktúr medzi skupinami udáva graf 1 a tabuľka 1.

Po intraperitoneálnom podaní 20 mg.kg⁻¹ diazinonu sme pozorovali výrazné poškodenia semenotvorného epitelu a rozšírenie intersticiálneho tkaniva. Na mnohých miestach sa od epitelu oddeľovala bazálna membrána. Porušením štruktúry až rozpadom semenotvorného epitelu vznikli v

Graf 1. Porovnanie relatívneho zastúpenia štruktúr semenníka medzi skupinami



Tabuľka 1 Porovnanie relatívneho zastúpenia štruktúr semenníka medzi skupinami (%)

Skupina	Semenotvorný epitel	Prázdne miesta v epiteli	Interstícium	Cievy	Lúmen kanálik
	X ± SD				
Kontrola	64,82±7,24	0,38±1,02	10,93±4,31	0,29±0,53	23,58±8,91
Se	55,74±9,11	2,07±2,28***	16,10±6,73	0,76±3,01	25,33±9,48
DZN+Se	50,18±7,63	2,56±2,10*	26,89±9,60	0,84±1,66	19,53±9,61
DZN	55,16±9,90	6,90±5,55	29,87±9,45	0,94±1,45	7,14±8,29

X-priemer, SD-štandardná odchýlka; * P<0,05; *** P<0,0001

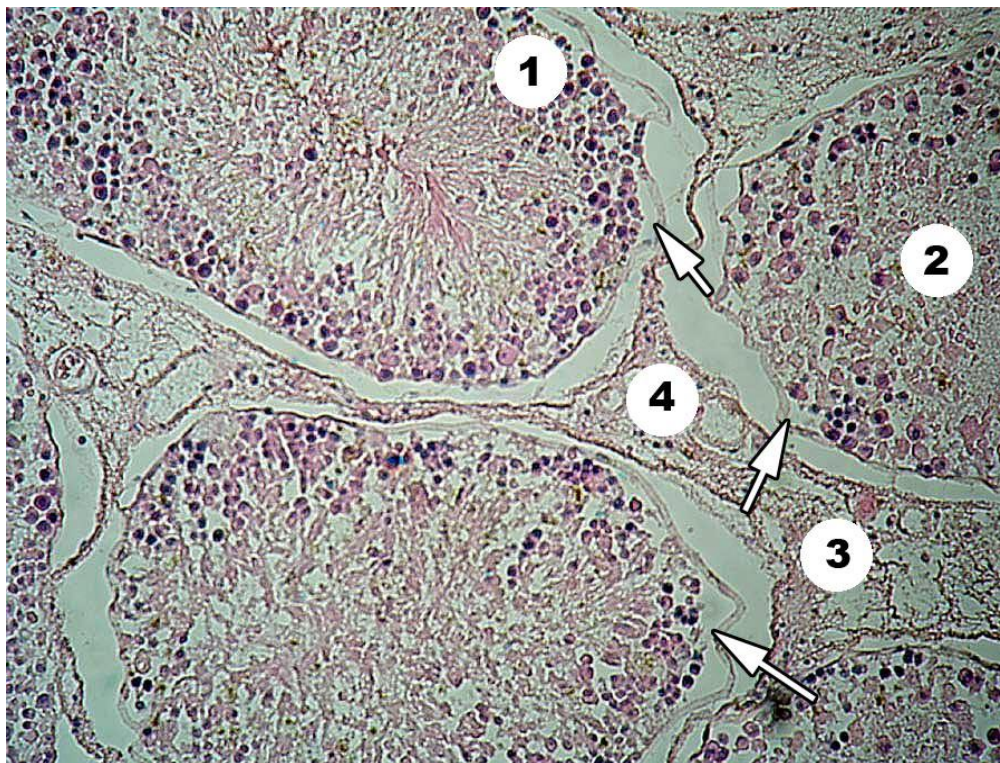
epiteli prázdne miesta. Výrazná bola deluminizácia kanálikov spôsobená týmto rozpadom a uvoľnením sa zárodočných buniek zo semenotvorného epitelu do lúmenu kanáliku. V ľahších prípadoch boli v lúmene kanáliku pozorované masy poškodených alebo odumretých spermií, v najťažších prípadoch bolo pozorované úplné zastavenie spermatogenézy po rozpade a dezintegrácii nekrotizovaného epitelu. Podobné poškodenia semenotvorného epitelu vo forme poškodenia spermatíd a v zmenách ich veľkosti pozorovali **Dutta a Meijer (2003)** pri sledovaní účinku diazinonu na semenníky rýb. Takisto **Piña-Guzmán et al. (2005)** pozorovali poškodenia spermatíd po intraperitoneálnom podaní diazinonu myšiam (8,12 mg.kg⁻¹ po dobu 8 a 15 dní). Zmeny v narušení spermatogenézy pozorovali aj **El-Hoda a Zidan (2009)** pri orálnom podávaní 50 mg.kg⁻¹ diazinonu počas 65 dní potkanom. Zistili zmeny v počte, pohyblivosti spermií

a ich morfológických abnormalitách. Tiež **El-Aziz et al. (1994)** pozorovali pri orálnom podávaní diazinonu potkanom v dávke 1,5 alebo 3 mg.kg⁻¹ počas 65 dní zvýšené percento odumretých alebo morfológicky abnormálnych spermií a ich zníženú oplodňovaciu schopnosť oproti kontrole. **Earl et al. (1971)** pozoroval u biglov po podávaní kapsúl obsahujúcich diazinon v kukuričnom oleji (20 mg.kg⁻¹ počas 8 mesiacov) rovnako, ako v našom experimente zastavenie spermatogenézy. Pozorované bolo aj výrazné rozšírenie interstícia so zmožením kolagénových vlákien – fibrotizácia tkaniva a nekrotizácia Leydigových buniek. Tieto zmeny by potencióálne mohli súvisieť aj s následnou produkciou testosterónu. Rozličné zmeny v koncentráciách testosterónu po aplikácii diazinonu zaznamenali viacerí autori. **El-Aziz et al. (1994)** zistil po orálnom podávaní diazinonu potkanom v dávke 1,5 alebo 3 mg.kg⁻¹ počas 65 dní pokles hladiny plazmatického testosterónu a zníženú oplodňovaciu schopnosť oproti kontrolnej skupine. Podobné výsledky v poklese hladiny testosterónu zaznamenal po orálnom podávaní 50 mg.kg⁻¹ živej hmotnosti diazinonu po dobu 65 dní **El-Hoda a Zidan (2009)** u potkanov. Naproti tomu, **Alahyary et al.**

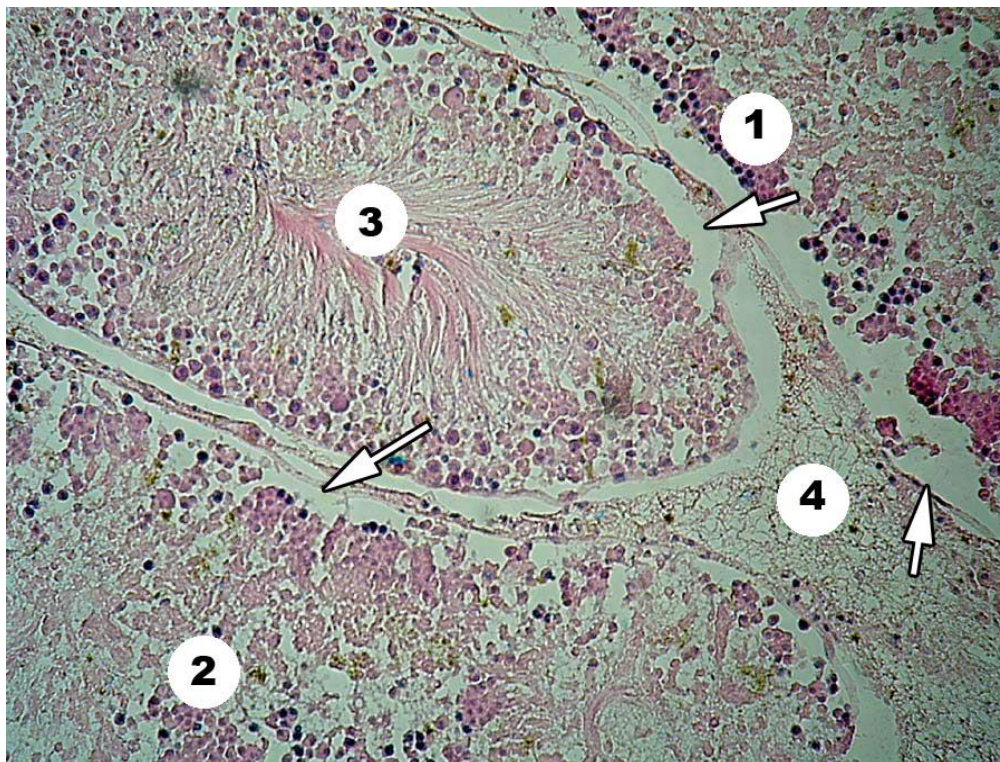


Obrázok 1: Semenník potkana kontrolnej skupiny (200x, HE).

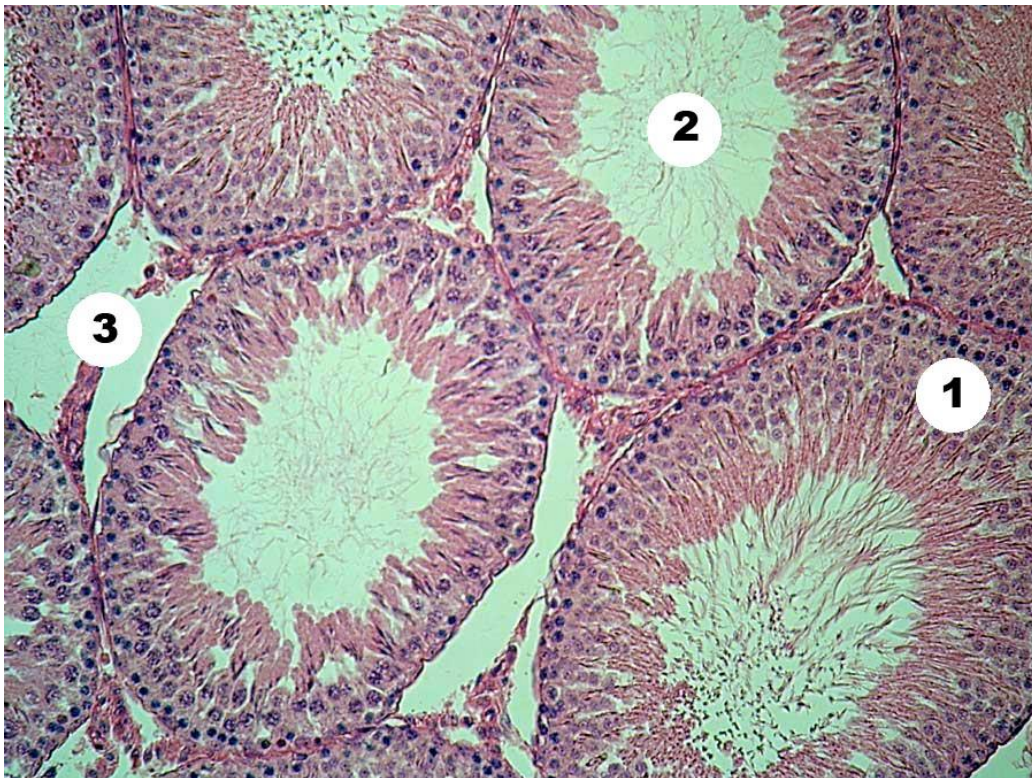
1-semenotvorný epitel, 2-lúmen kanáliku so spermiami, 3-intersticiálne tkanivo, 4-krvná cieva.



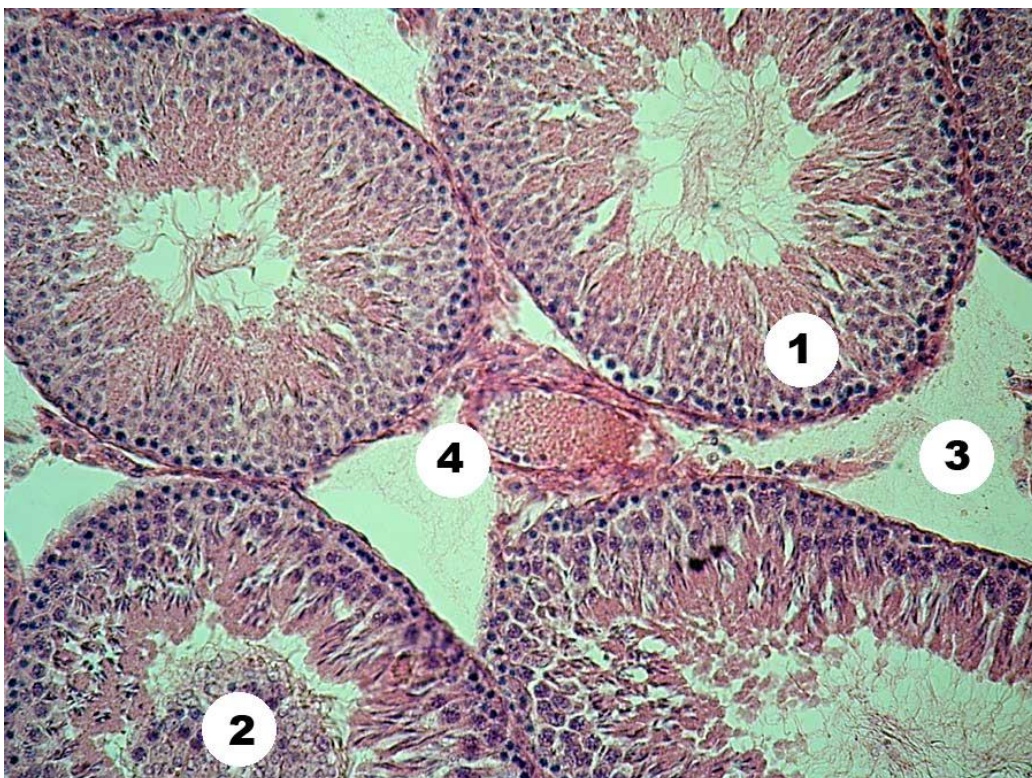
Obrázok 2a. Semenník potkana po i.p. podaní diazinonu (200x, HE).
 1-dezintegrováný nekrotizovaný epitel, 2-lúmen vyplnený bunkami epitelu, 3-rozšírené interstícium s nekrotizovanými Leydigovými bunkami, 4-dilatovaná poškodená cieva, šípka-odlupovanie epitelu od bazálnej membrány.



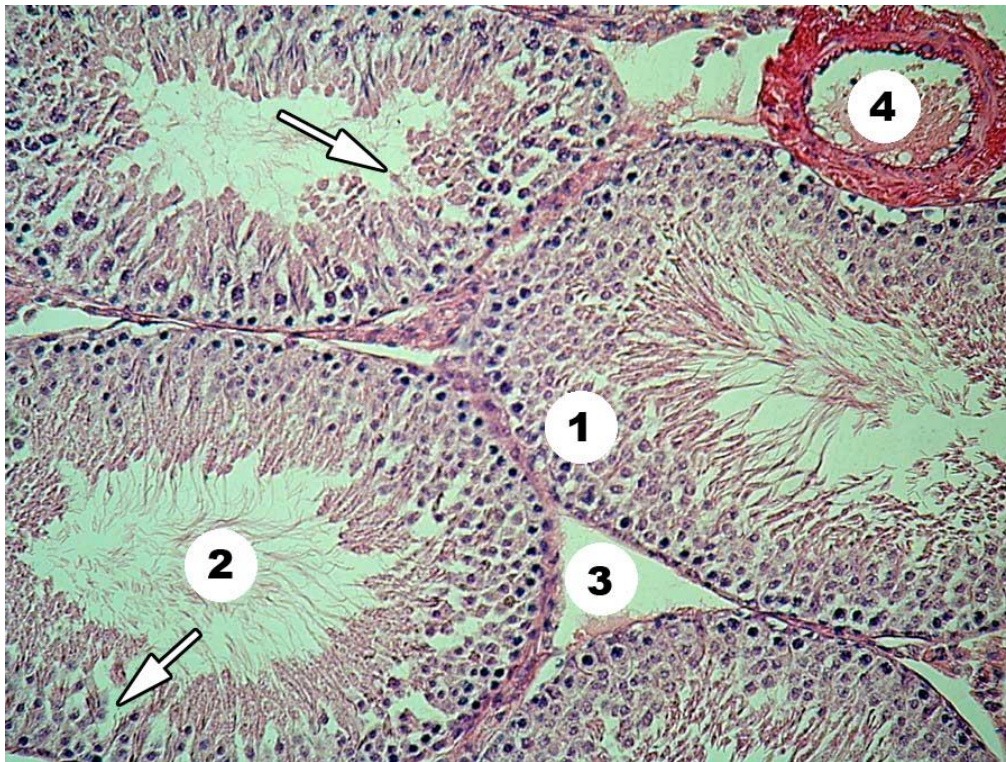
Obrázok 2b: Semenník potkana po i.p. podaní diazinonu (200x, HE).
 1-nekrotizovaný epitel, 2-odumreté bunky epitelu v lúmene kanáliku, 3-lúmen kanáliku s dezintegrovaným epitelom a rozpadávajúcimi sa spermiami, 4-rozšírené interstícium, šípka-odlupovanie epitelu od bazálnej membrány.



Obrázok 3a: Semenník potkana po i.p. podaní selénu (200x, HE).
1-semenotvorný epitel, 2-intersticiálne tkanivo, 3-lúmen kanáliku so spermiami .



Obrázok 3b: Semenník potkana po i.p. podaní selénu (200x, HE).
1-semenotvorný epitel, 2-lúmen s odlúpnutými bunkami epitelu, 3-intersticiálne tkanivo, 4-krvná cieva.



Obrázok 4a: Semenník potkana p i.p. podaní diazinonu a selénu (200x, HE).
1-semenotvorný epitel, 2-lúmen so spermiami, 3-intersticiálne tkanivo, 4-krvná cieva, šípka-prázdne miesta v epiteli.



Obrázok 4b: Semenník potkana po i.p. podaní diazinonu a selénu (200x, HE).
1-semenotvorný epitel, 2-lúmen s odlúpnutými bunkami epiteli, 3-intersticiálne tkanivo, 4-krvná cieva, šípka-prázdne miesta v epiteli.

(2008) zaznamenal po orálnom podávaní diazinonu potkanom v subakútnom teste počas 28 dní zvýšenie plazmatickej hladiny testosterónu. **El-Hoda a Zidan (2009)** pozorovali u potkanov zníženú sekréciu folikulostimulačného hormónu a luteinizačného hormónu pri podávaní 50 mg.kg⁻¹ diazinonu orálne počas 65 dní, ako hormónov hypofýzy zabezpečujúcich sekréciu testosterónu a normálny priebeh spermatogenézy v semenníkoch. V našom experimente boli cievy oproti kontrolnej skupine poškodené, zmnôžené a dilatované, čo štatisticky potvrdilo aj morfometrické hodnotenie zvýšením relatívneho zastúpenia ciev (P<0,05). Najčastejšie pozorované zmeny sú vyznačené na obrázku 3.

V skupine s podaním 2 mg.kg⁻¹ selénu sa prejavili degeneratívne histopatologické zmeny v spojení buniek semenotvorného epitelu. To spôsobovalo v niektorých kanálikoch uvoľňovanie buniek epitelu, deluminizáciu kanálikov a štatisticky vysokopreukazný vznik prázdnych miest v epiteli (P<0,0001). Došlo tiež k zníženiu výšky epitelu. Uvádzané zmeny sú viditeľné na obrázku 2. Podobné zmeny v znížení výšky epitelu a počtu spermatogénnych buniek, poškodení bunkových spojení boli pozorované po perorálnom podávaní 6 a 8 ppm selénu potkanom po dobu 6, resp. 9 týždňov (**Kaur a Kaur, 2000**). Ďalší autori uvádzajú podobné výsledky po skrmovaní na selén bohatej pšenice potkanmi. Zaznamenali poškodenie semenotvorného epitelu – poškodenie spermatogénnych buniek, tvorenie zhlukov spermatíd a uvoľňovanie spermatogénnych buniek do priestorov lúmenu kanálikov. Tieto zmeny boli závislé od dávky a dĺžky času podávania selénu (**Parshad a Sud, 1989**). **Nebbia et al. (1987)** zaznamenali u potkanov po podávaní 16 ppm selénu potkanom v pitnej vode degenerované spermatídy, oligospermiu a intertubulárny edém. Uvádzajú od dávky závislé zmeny v poškodení štruktúr semenníka. **Chowdhury a Venkatakrishna-Bhat (1983)** zaznamenali po orálnom podávaní 6 a 10 µg Se počas 90 dní významné poškodenia spermatogénnych buniek a celkovú degeneráciu semenníka, čo viedlo k atrofii semenníkov.

Histopatologické zmeny po podaní kombinácie diazinonu 20 mg.kg⁻¹ a selénu 2 mg.kg⁻¹ (obrázok 4) boli podobné ako v skupine s podaním selénu, no zároveň boli omnoho menej výrazné ako v skupine s podaním diazinonu. Poškodené boli spojenia buniek semenotvorného epitelu, čo spôsobovalo ich uvoľňovanie do lúmenu a štatisticky významný nárast prázdnych miest (P<0,05), ktorý bol však nižší ako v skupine so samostatným podaním selénu (P<0,0001). Výrazné bolo poškodenie spermatíd až ich úplné odlupovanie a strata ich vrstiev do lúmenu, čím sa znižovala výška epitelu a nastal pokles spermatogenézy. Kombinácia diazinonu a selénu znižovala vzájomné samostatné toxické účinky doteraz neznámou interakciou. To je dôležité zistenie pre možnosť zníženia toxicity organofosforečných pesticídov. Podobne **Kashanian et al.**

(2008) uvádzajú ochranné pôsobenie selénu pred škodlivými účinkami diazinonu na DNA týmusu teliat. Sú potrebné ďalšie výskumy na objasnenie danej problematiky.

ZÁVER

Výsledky intraperitoneálneho podania diazinonu ukázali, že spôsobuje výrazné poškodenie semenotvorného epitelu a intersticiálneho tkaniva. Narúša štruktúru až dezintegruje nekrotizovaný semenotvorný epitel, utlmuje až zastavuje spermatogenézu, rozširuje intersticiálne tkanivo, poškodzuje a rozširuje cievy. Takéto poškodenie funkčných tkanív semenníka môže spôsobiť narušenie plodnosti až neplodnosť pri akútnych otravách. Selén po i.p. podaní spôsobuje degeneratívne zmeny v spojení buniek semenotvorného epitelu, narúša jeho celistvosť a štruktúru najmä oddeľovaním spermatíd z epitelu, čím sa priamo narúša spermatogenéza, čo môže viesť k zníženiu plodnosti po akútnom predávkovaní selénom, alebo otravách. Kombinácia intraperitoneálne podaného diazinonu a selénu vykazuje ochranný vplyv selénu voči účinkom diazinonu. Poškodenia po interakcii diazinonu a selénu v organizme sú podobné účinkom samostatne podaného selénu – zmeny celistvosti a štruktúry epitelu, poškodenie a uvoľnenie spermatíd, narušenie spermatogenézy. Ochranné pôsobenie je potrebné ďalej skúmať, sú potrebné ďalšie, najmä biochemické výskumy na objasnenie účinkov a následné využívanie selénu proti škodlivým účinkom diazinonu a potencionálne aj ďalších organofosforečných pesticídov v praxi.

LITERATÚRA

- ABUKABAR, M. G., TAYLOR, A., FERNS, G. A., 2004. The effects of aluminium and selenium supplementation on brain and liver antioxidant status in the rat. In *Afr. J. Biotechnol.*, roč. 3, 2004, č. 1 s. 88-93.
- AKINLOYE, O., AROWOJOLU, A. O., SHITTU, O. B., ADEJUWON, C. A., OSOTIMEHIN, B., 2005. Selenium status of idiopathic infertile Nigerian males. In: *Biol. Trace Elem. Res.*, roč. 104, 2005, č. 1, s. 9-18.
- ALAHYARY, P., POOR, M. I., AZARBAIJANI F. F., NEJATI, V. 2008. The potential toxicity of diazinon on physiological factors in male rat. In *Pak. J. Biol. Sci.*, roč. 11, 2008, č. 1, s. 127-30.
- ATSDR - Agency for toxic substances and disease registry, 2003. Toxicological profile for selenium. U.S. Department of health and human services, 2003. 457 s.
- ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2008. Toxicological profile for selenium. U.S. Department of health and human services, 2008. 298 s.
- BOITANI, C., PUGLISI, R., 2008. Selenium, a key element in spermatogenesis and male fertility. In *Adv. Exp. Med. Biol.*, roč. 63, 2008, č. 6, s. 65-73.

- CLARK, L. C., DALKIN, B., KRONGRAD, A., COMBS, G. F., TURNBULL, B. W., SLATE, E. H., WITHERINGTON, R., HERLONG, J. H., JANOSKO, E., CARPENTER, D., BOROSSO, C., FALK, S., ROUNDER, J., 1998. Decreased incidence of prostate cancer with selenium supplementation: results of a double-blind cancer prevention trial. In *British Journal of Urology*, roč. 81, 1998, č. 6, s. 730-734.
- CHOWDHURY, A. R., VENKATAKRISHNA-BHATT, H., 1983. Effect of selenium dioxide on the testes of rat. In *Indian J. Physiol. Pharmacol.*, roč. 27, 1983, č. 3, s. 237-240.
- DUTTA, H. M., MEIJER H. J. 2003. Sublethal effects of diazinon on the structure of the testis of bluegill, *Lepomis macrochirus*: a microscopic analysis. In *Environ. Pollut.*, roč. 125, 2003, č. 3, s. 355-360.
- EARL, F. L., MELVEGER, B. E., REINWALL, J. E. et al. 1971. Diazinon toxicity--comparative studies in dogs and miniature swine. In *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, roč. 18, 1971, č. 2, s. 285-295.
- EL-DEMERASH, F. M., 2004. Antioxidant effect of vitamin E and selenium on lipid peroxidation, enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminium. In *J. Trace Elem. Med. Biol.*, roč. 18, 2004, č. 1, s. 113-121.
- EL-AZIZ, A. M. I., SAHLAB, A. M., EL-KHALIK A. M. 1994. Influence of diazinon and deltamethrin on reproductive organs and fertility of male rats. In *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.*, roč. 101, 1994, č. 6, s. 230-232.
- EL-HODA, N., ZIDAN, A. 2009. Evaluation of the reproductive toxicity of chlorpyrifos methyl, diazinon and profenofos pesticides in male rat. In *Int. J. of Pharm.*, roč. 5, 2009, č. 1, s. 51-57.
- EPA - Environmental Protection Agency, 2006. Interim reregistration eligibility decision. Diazinon. Washington, D. C.: U. S. Environmental Protection Agency, 2006.
- FORESTA, C., FLOHÉ, L., GAROLLA, A., ROVERI, A., URSINI, F., MAIORINO, M., 2002. Male fertility is linked to the selenoprotein phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. In *Biol. Reprod.*, roč. 67, 2002, č. 3, s. 967-971.
- HARRIS, W., SACHANA, M., FLASKOS, J., HARGREAVES, A. J., 2009. Proteomic analysis of differentiating neuroblastoma cells treated with sub-lethal neurite inhibitory concentrations of diazinon: identification of novel biomarkers of effect. In *Toxicol Appl Pharmacol.*, roč. 240, 2009, č. 2, s. 159-165.
- KAORUKO, M., SHUJI, H., KAZUHIKO, H., ATSUKO, S., MOMOKO, CH., YUTAKA, I., 1999. Selenium-dependent phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx) mRNA in rat spermatozoa. In *Biomed Res. Trace Elem.*, roč. 10, 1999, č. 1, s. 19-23.
- KASHANIAN, S., GHOLIVAND, M. B., AHMADI, F., RAVAN, H., 2008. Interaction of diazinon with DNA and the protective role of selenium in DNA damage. In *DNA Cell Biol.*, roč. 27, 2008, č. 6, s. 325-332.
- KAUR, R., KAUR, K., 2000. Effects of dietary selenium (SE) on morphology of testis and cauda epididymis in rats. In *Indian J. Physiol. Pharmacol.*, roč. 44, 2000, č. 3, s. 265-272.
- KESKES-AMMAR, L., FEKI-CHAKROUN, N., REBAI, T., SAHNOUN, Z., GHOZZI, H., HAMMAMI, S., ZGHAL, K., FKI, H., DAMAK, J., BAHLOUL, A., 2003. Sperm oxidative stress and the effect of an oral vitamin E and selenium supplement on semen quality in infertile men. In *Arch. Androl.*, roč. 49, 2003, č. 2, s. 83-94.
- LATENDRESSE, J. R., WARBRITTON, A. R., JONASSEN, H., CREASY, D. M., 2002. Fixation of testes and eyes using a modified Davidson's fluid: comparison with Bouin's fluid and conventional Davidson's fluid. In *Toxicol. Pathol.*, roč. 30, 2002, č. 4, s. 524-533.
- MELENDRES, J., SEDIK, L., WESTER, R. C. 1993. Percutaneous absorption of diazinon in humans. In *Food Chem. Toxicol.*, roč. 3, 1993, č. 8, s. 569-572.
- MOZAFARIAN, D., 2009. Fish, mercury, selenium and cardiovascular risk: current evidence and unanswered questions. In *Int. J. Environ. Res. Public Health.*, roč. 6, 2009, č. 6, s. 1894-1916.
- NEBBIA, C., BRANDO, C., BURDINO, E., RASERO, R., VALENZA, F., ARISIO, R., UGAZIO, G., 1987. Effects of the chronic administration of sodium selenite on rat testes. In *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, roč. 58, 1987, č. 2, s. 183-197.
- OKAMURA, A., KAMIJIMA, M., OHTANI, K., YAMANOSHITA, O., NAKAMURA, D., ITO, Y., MIYATA, M., UHEYAMA, J., SUZUKI, T., IMAI, R., TAKAGI, K., NAKAJIMA, T., 2009. Broken sperm, cytoplasmic droplets and reduced sperm motility are principal markers of decreased sperm quality due to organophosphorus pesticides in rats. In *J. Occup. Health.*, roč. 51, 2009, č. 6, s. 478-487.
- OOSTINGH, G. J., WICHMANN, G., SCHMITTNER, M., LEHMANN, I., DUSCHL, A., 2009. The cytotoxic effects of the organophosphates chlorpyrifos and diazinon differ from their immunomodulating effects. In *J. Immunotoxicol.*, roč. 6, 2009, č. 2, s. 136-145.
- PARSHAD, R. K., SUD, M., 1989. Effect of selenium-rich wheat on rat spermatogenesis. In *Andrologia*, roč. 21, 1989, č. 5, s. 486-489
- PIÑA-GUZMÁN, B., SOLÍS-HEREDIA, M. J., QUINTANILLA-VEGA B. 2005. Diazinon alters sperm chromatin structure in mice by phosphorylating nuclear protamines. In *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, roč. 202, 2005, č. 2, s. 189-198.
- RECIO-VEGA R., OCAMPO-GÓMEZ G., BORJA-ABURTO V.H., MORAN-MARTÍNEZ J., CEBRIAN-GARCIA M. E. 2008. Organophosphorus pesticide exposure decreases sperm quality: association between sperm parameters and urinary pesticide levels. In *J. Appl. Toxicol.*, roč. 28, 2008, č. 5, s. 674-680.
- SAFARINEJAD, M. R., SAFARINEJAD, S., 2009. Efficacy of selenium and/or N-acetyl-cysteine for improving semen parameters in infertile men: a double-blind, placebo

controlled, randomized study. In *J. Urol.*, roč. 181, 2009, č. 2, s. 741-751.

SALAZAR-ARREDONDO, E., DE JESÚS SOLÍS-HEREDIA, M., ROJAS-GARCÍA, E., HERNÁNDEZ-OCHOA, I., QUINTANILLA-VEGA, B., 2008. Sperm chromatin alteration and DNA damage by methyl-parathion, chlorpyrifos and diazinon and their oxon metabolites in human spermatozoa. In *Reprod. Toxicol.*, roč. 25, 2008, č. 4, s. 455-460.

SARABIA, L., MAURER, I., BUSTOS-OBREGÓN, E., 2009 a). Melatonin prevents damage elicited by the organophosphorous pesticide diazinon on mouse sperm DNA. In *Ecotoxicol. Environ. Safety*, roč. 72, 2009, č. 2, s. 663-668.

SARABIA, L., MAURER, I., BUSTOS-OBREGÓN, E., 2009 b). Melatonin prevents damage elicited by the organophosphorous pesticide diazinon on the mouse testis. In *Ecotoxicol. Environ. Safety*, roč. 72, 2009, č. 3, s. 938-942.

SHINOHARA, A., CHIBA, M., TAKEUCHI, H., KINOSHITA, K., INABA, Y., 2005. Trace elements and sperm parameters in semen of male partners of infertile couples. In *Nippon Eiseigaku Zasshi.*, roč. 60, 2005, č. 4, s. 418-425.

STRADAIOLI, G., SYLLA, L., MONACI, M., MAIORINO, M., 2009. Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in bull spermatozoa provides a unique marker in the quest for semen quality analysis. In *Theriogenology*, roč. 72, 2009, č. 1, s.91-98.

SUN, Y., MU, Y., MA, S., GONG, P., YAN, G., LIU, J., SHEN, J., LUO, G., 2005. The molecular mechanism of protecting cells against oxidative stress by 2-selenium-bridged beta-cyclodextrin with glutathione peroxidase activity. In *Biochim. Biophys. Acta*, roč. 17, 2005, č. 3, s. 199-204.

ŠIŠKA, B., TOMAN, R., GOLIAN, J., KRAČÍROVÁ, A., HLUCHÝ, S., 2008. Selenium and diazinon interaction and effect on rat serum cholinesterase activity after intraperitoneal administration. In *Met. Ions Biol. Med.*, roč. 10, 2008, č. 1, s. 615-620.

WOJTCZAK, A., 2003. Selenium as an anticarcinogenic agent. In *Acta Pol. Pharm.*, roč. 60, 2003, č. 3, s. 215-217.

XU, D. X., SHEN, H. M., ZHU, Q. X., CHUA, L., WANG, Q. N., CHIA, S. E., ONG, C. N., 2003. The associations among semen quality, oxidative DNA damage in human spermatozoa and concentrations of cadmium, lead and selenium in seminal plasma. In *Mutat. Res.*, roč. 53, 2003, č. 1-2, s. 155-163.

YEHIA, M. A., EL-BANNA, S. G., OKAB, A. B., 2007. Diazinon toxicity affects histophysiological and biochemical parameters in rabbits. In *Exp. Toxicol. Pathol.*, roč. 59, 2007, č. 3-4, 215-225.

Práca bola finančne podporená projektom VEGA 1/0568/09.

Kontaktná adresa:

Ing. Michal Cabaj, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FAPZ, Katedra veterinárskych disciplín, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra, tel.: 037 641 4503, E-mail: michal.cabaj@uniag.sk

Hlinku 2, 94976 Nitra

doc. Ing. Róbert Toman, Dr., Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FAPZ, Katedra veterinárskych disciplín, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra

Ing. Mária Adamkovičová, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FAPZ, Katedra veterinárskych disciplín, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra

doc. MVDr. Peter Massányi, PhD., Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FBP, Katedra fyziológie živočíchov, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra

Ing. Branislav Šiška, PhD., Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FBP, Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra

doc. Ing. Norbert Lukáč, PhD., Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FBP, Katedra fyziológie živočíchov, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra

doc. Ing. Jozef Golian, Dr., Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FBP, Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra

VÝSKYT ENTEROKOKOV V KRAVSKOM MLIEKU A ICH REZISTENCIA NA ANTIBIOTIKÁ

PRESENCE OF ENTEROCOCCI IN COW MILK AND THEIR ANTIBIOTIC RESISTANCE

Jana Fabianová, Viera Ducková, Margita Čanigová, Miroslav Kročko

ABSTRACT

Enterococci represent an important part of contaminate microflora in raw milk and dairy products. They constitute significant part of nosocomial pathogens with a remarkable capacity of expressing resistance to several antimicrobial agents. We aimed to assess occurrence and antibiotic resistance of enterococci in the raw milk samples and pasteurized milk samples. In this study total bacterial count, psychrotrophic count and count of enterococci were determined in raw milk cistern samples, storage tank milk samples and milk samples after pasteurization. A collection of 46 enterococcal isolates were identified and screened for their antibiotic resistance. Isolates of *E. faecalis* were dominant in raw milk samples (56.5 %). Sensitive to teicoplanine (30 mcg/disk) were 97.9 % of enterococcal isolates and 15.2 % isolates were resistant to vancomycin (30 mcg/disk).

Keywords: enterococci, raw milk, antibiotic resistance

ÚVOD

Enterokoky patria medzi ubiquitné mikroorganizmy. Za ich prirodzené miesto výskytu sa najčastejšie označuje tráviaci trakt cicavcov (Franz et al., 1999; Ortigosa et al., 2008). Prítomnosť enterokokov v mlieku a mliečnych výrobkov sa spája predovšetkým s nedodržaním hygienických a sanitačných zásad pri získavaní, manipulácii s mliekom a pri jeho spracovaní (Cogan et al., 2001). Do surového mlieka sa môžu dostať z viacerých zdrojov primárnej alebo sekundárnej kontaminácie. Zdrojom kontaminácie mlieka enterokokmi môže byť povrch vemená, krmivo, výkaly, voda, prach ale aj ruky a odev dojičov. Ďalší zdroj predstavujú plochy zariadení a nástrojov používaných v prvovýrobe mlieka alebo v spracovateľskom závode. Greifová et al. (2003) uvádzajú, že enterokoky sa pravidelne nachádzajú v dojacích strojoch alebo na inom náradí a zariadení. Priemerné zastúpenie enterokokov v surovom mlieku je v rozpätí 0-50 % z celkovej mikroflóry mlieka, pričom medzi prevládajúcimi druhmi enterokokov v kravských výkaloch a v surovom kravskom mlieku nie je žiadna spojitosť (Görner a Valík, 2004). Tiež výsledky iných autorov (Gelsomino et al., 2002; Kagkli et al., 2007) potvrdzujú, že ich prítomnosť sa nie vždy spája s fekálnou kontamináciou. Vďaka ich psychrotrofnému charakteru, termorezistencii a schopnosti prežívať v rôznych substrátoch a podmienkach, sa môže počet enterokokov v mlieku počas jeho chladenia, skladovania a prepravy zvýšiť a taktiež môžu prežiť pasterizačnú teplotu. Práve preto sa enterokoky stávajú súčasťou mikroflóry nielen surového ale aj pasterizovaného mlieka (Giraffa, 2003). Počty enterokokov, tak ako aj iných mikroorganizmov v surovom mlieku, kolíšu aj v závislosti od teploty a doby skladovania mlieka (Panfili et al., 2008). Na základe dosiahnutých výsledkov Riboldi et al. (2009) konštatovali, že enterokoky môžu prežívať teploty pasterizácie. Ako najviac zastúpeným druhom v pasterizovanom mlieku zistili *E. faecium* (26 %). Termorezistenciu niektorých druhov enterokokov dokazujú aj výsledky autorov Batish et al. (2006), ktorí zistili, že z celkovo 224 izolátov deoxyribonukleáza pozitívnych enterokokov 21,9 % prežilo teplotu pasterizácie. Takéto enterokoky (n=37) sa

izolovali z odtučneného sušeného mlieka, dojčenských mliečnych výrobkov a zo sladeného kondenzovaného mlieka. Ako dominantné termorezistentné druhy identifikovali *E. faecalis*, *E. faecium* a *E. faecalis* var. *zymogenes*. Z doposiaľ publikovaných výsledkov vyplýva, že pre mliekarenský priemysel tvoria druhy *E. faecalis* a *E. faecium* najvýznamnejšie druhy enterokokov (Zago et al., 2009).

Nebezpečenstvo enterokokov spočíva v ich patogenite, ktorá je daná rezistenciou k širokému spektru antibiotík a ďalšími faktormi virulencie, a zároveň schopnosťou prežívať nepriaznivé podmienky prostredia (Foulquie Moreno et al., 2006). Okrem prirodzenej rezistencie na niekoľko antibiotík je pre enterokoky charakteristická aj ich jedinečná schopnosť výmeny genetického materiálu, čím si dokážu získať rezistenciu voči viacerým antibiotikám ako sú aminoglykozidy (gentamicín, streptomycín), glykopeptidy (vankomycín a teikoplanín), tetracyklíny (tetracyklín), makrolidy (erytromycín), chloramfenikol (Huys et al., 2004). Zástupcovia rodu *Enterococcus* sa z pohľadu antimikrobiálnej rezistencie stali významnou skupinou mikroorganizmov predovšetkým preto, že sa stali ubiquitárne rozšírenými baktériami v okolitom prostredí (Fracalanza et al., 2007). Záujem sa zvýšil predovšetkým o vankomycín rezistentné enterokoky spôsobujúce závažné zdravotné problémy nielen v USA, ale taktiež v Európe a prvé kmene sa dokázali už aj na Slovensku (Jarčuška et al., 2006).

Zdrojom enterokokov rezistentných na antibiotiká môže byť aj surové mlieko. Šustáčková et al. (2003) zistili u izolátov druhu *E. faecalis* pochádzajúcich z mlieka prevládajúcu rezistenciu na tetracyklín, streptomycín a chloramfenikol, zatiaľ čo izoláty druhu *E. faecium* mali rezistenciu na erytromycín. Rezistenciu na vankomycín na intermediálnej úrovni (MIC=8 µg.ml⁻¹) zistili iba u jedného izolátu *E. faecalis* a jedného izolátu *E. faecium*. Gomes et al. (2008) najčastejšie z mlieka izolovali druh *E. faecalis*. V porovnaní s izolátmi druhu *E. faecium* u izolátov druhu *E. faecalis* zistili častejšie výskyt rezistencie na tetracyklín, erytromycín a gentamicín. Prítomnosť enterokokov s klinicky významnou rezistenciou na antibiotiká preto indikuje potrebu

efektívnej stratégie kontroly na zníženie kontaminácie týmito mikroorganizmami v potravinách živočíšneho pôvodu, ktoré môžu predstavovať ich potenciálny rezervoár a byť tak príčinou zdravotných problémov (Fracalanza et al., 2007).

Cieľom práce bolo kvantifikovať enterokoky prítomné v kravskom mlieku, identifikovať ich pomocou biochemických a molekulárnych metód, sledovať ich termorezistenciu a stanoviť rezistenciu voči vybraným druhom antibiotík používaných v liečbe ľudí.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky surového mlieka sa odoberali z cisterien zvozných vozidiel (n=18) a zo zásobných tankov (n =18). Vzorky

al. (2000). Elektroforetická separácia DNA fragmentov sa uskutočnila v 2 % agarózovom géli pri 200 V, 180 mA, 15 min.

Identifikované kmene rodu *Enterococcus* sp. sa podrobili hodnoteniu rezistencie na antibiotiká diskovou difúznou metódou na Mueller Hinton agare (*HiMedia Laboratories*, India) s použitím nasledovných antibiotických diskov a koncentráciou: Ampicilín 10 mcg/disk, Erytromycín 15 mcg/disk, Tetracyklín 30 mcg/disk, Teikoplanin 30 mcg/disk, Gentamicin 10 mcg/disk a Vankomycín 30 mcg/disk (*HiMedia Laboratories*, India). Zaradenie jednotlivých kmeňov medzi rezistentné, stredne rezistentné a citlivé sa uskutočnilo podľa kritérií CLSI (2006).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Tabuľka 1: Priemerné počty sledovaných skupín mikroorganizmov (CFU.ml⁻¹) v surovom a pasterizovanom mlieku

Sledovaná skupina	Priemerné počty sledovaných mikroorganizmov v CFU.ml ⁻¹		
	Cisternové vzorky (4-6 °C)	Vzorky zo zásobného tanku (6-10 °C)	Vzorky pasterizovaného mlieka
CPM	1,87. 10 ⁶	2,47. 10 ⁶	7,40.10 ¹
CPP	1,51. 10 ⁶	1,97. 10 ⁶	1,60.10 ¹
CPE	8,30. 10 ³	9,70. 10 ³	< 1.10 ¹

mlieka sa odobrali taktiež po pasterizácii mlieka (n=18). Odobraté vzorky sa následne vyšetrili štandardnou kultivačnou metódou. Celkový počet mezofilných mikroorganizmov (CPM) sa stanovil pri teplote 30 ± 1°C po 72 ± 2 hodinách kultivácie na GTK agare (*HiMedia Laboratories*, India). Počet psychrotrofných mikroorganizmov (CPP) sa stanovil po 10 dňovej kultivácii pri teplote 6,5 ± 1°C na GTK agare (*HiMedia Laboratories*, India) s prídavkom sušeného odstredeného mlieka. Počet enterokokov (CPE) sa zistil na selektívnom diagnostickom médiu Slanetz-Bartley (*Biokar Diagnostic*, Francúzsko) kultiváciou pri teplote 37 ± 1°C po 48 ± 2 hodinách kultivácie. Počty jednotlivých sledovaných skupín mikroorganizmov sa vyjadrili ako geometrický priemer.

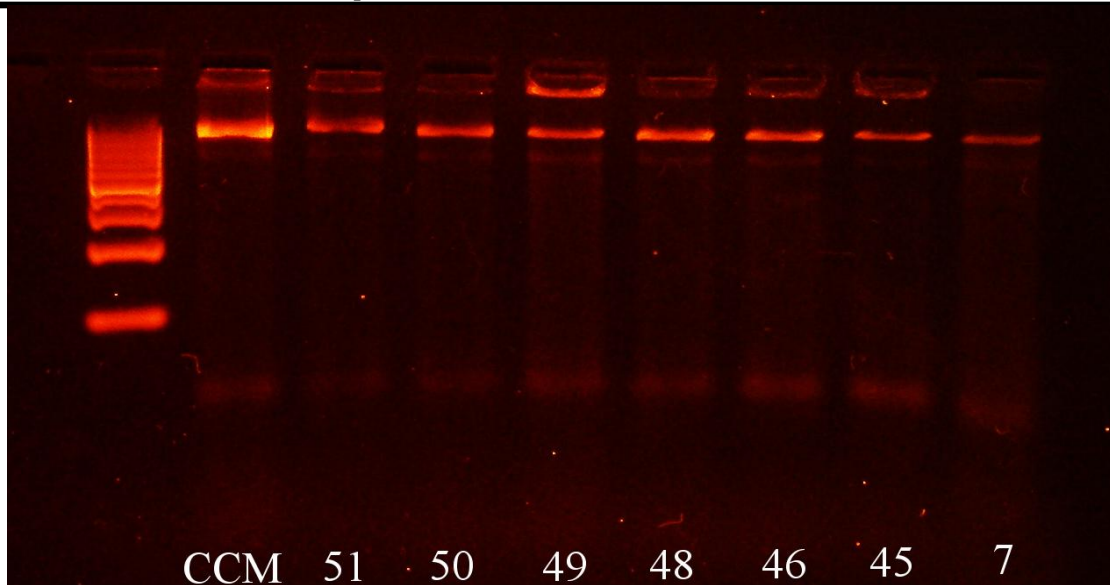
Suspektné kolónie enterokokov vyrastených na Slanetz – Bartley agare sa podrobili rodovému potvrdeniu rastom na selektívnom žľč-eskulín-azidovom médiu (*Biokar Diagnostic*, Francúzsko) po 24 hodinách kultivácie pri teplote 37 ± 1°C, negatívnym katalázovým a pozitívnym PYRA – testom (*Lachema*, Česká republika). Uskutočnilo sa potvrdenie príslušnosti ku G⁺ baktériam. Potvrdené kmene sa druhovo identifikovali pomocou komerčného EN-COCCUS testu (*Lachema*, Česká republika). Izoláty enterokokov identifikované pomocou EN-COCCUS testu (*Lachema*, ČR) ako druh *E. faecalis* sa podrobili potvrdeniu pomocou PCR metódy s použitím nasledovnej sekvencie primerov – For: ATC AAG TAC AGT TAG TCT, Rev: ACG ATT GAA AGC TAA CTG (941bp). Z čistej 24 hodinovej kultúry sa pomocou komerčného kitu InstaGene matrixu (*BioRad*, USA) pripravil lyzát z ktorého sa 5µl pridalo do 20µl mixu pripraveného z: 2,5µl 10 x PCR buffer (*Fermentas*, Germany), 0,5µl 10mM dNTP set (*Fermentas*, Germany), 2,5µl MgCl₂ (*Fermentas*, Germany), 0,2µl Taq polymerázy (*Fermentas*, Germany) a 0,5µl z každého 10pmol/µl primeru (*Fermentas*, Germany). Teplotný profil sa nastavil podľa Kariyama et

Priemerné počty sledovaných skupín mikroorganizmov v surovom a pasterizovanom mlieku sú uvedené v tabuľke 1. Počet enterokokov stanovený v cisternových vzorkách mlieka sa pohyboval v rozmedzí od 1,3.10³ do 2,9.10⁴ KTJ.ml⁻¹ a vo vzorkách zo zásobného tanku v rozmedzí od 2,1.10³ do 3,2.10⁴ KTJ.ml⁻¹.

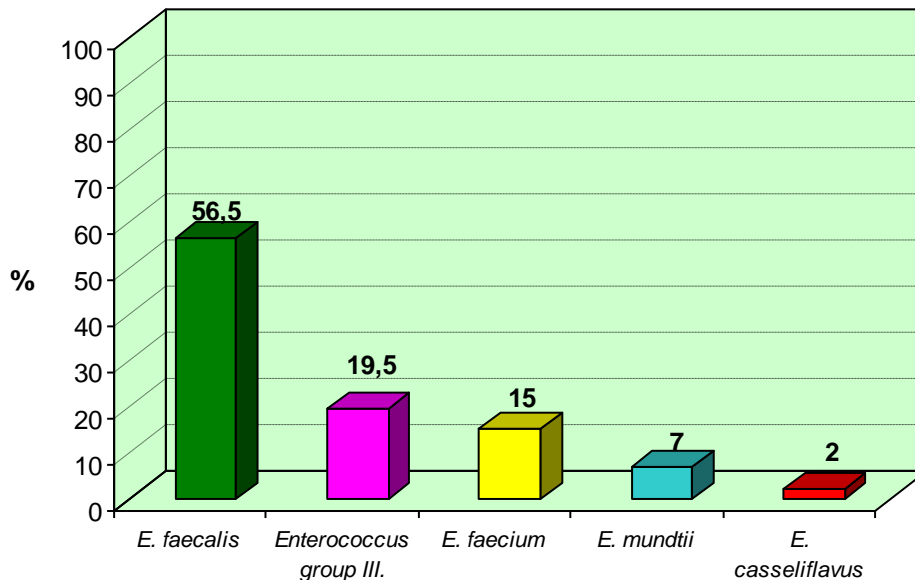
Počty sledovaných skupín mikroorganizmov sa v surovom mlieku počas skladovania zvyšovali.

Görner a Valík (2004) zistili v surovom kravskom mlieku počty enterokokov v rozmedzí 1,0.10⁴ – 5,0.10⁴ KTJ.ml⁻¹. Panfili et al. (2008) sledovali počty enterokokov pri skladovaní mlieka pri teplote 4 °C a následne pri teplote 22 °C. Z ich výsledkov vyplýva pomerne konštantný počet enterokokov pri nižšej teplote, kým pri teplote 22 °C sa ich počty zvyšovali. Na porovnanie, počet enterokokov v sledovaných vzorkách mlieka pochádzajúcich zo zásobného tanku sa zvýšil už pri teplote skladovania od 6°C do 10°C. Viacerí autori (Sorqvist, 2003; Görner a Valík, 2004; Fracalanza et al., 2007; Riboldi et al., 2009) uvádzajú tiež prítomnosť enterokokov v pasterizovanom mlieku. V nami odobratých vzorkách pasterizovaného mlieka (šetrná pasterizácia) sa prítomnosť enterokokov nepotvrdila.

Kučerová et al. (2009) sledovali prítomnosť a vlastnosti enterokokov v mlieku a mliečnych výrobkoch. Zistili nasledovné počty enterokokov: v surovom mlieku (n=6) 10³ - 10⁵ KTJ.ml⁻¹, v čerstvých syroch (n=5) 10² - 10⁶ KTJ.g⁻¹ a v polotučných syroch (n=5) 10³-10⁵ KTJ.g⁻¹. Z týchto izolovaných enterokokov identifikovali druhy *E. faecalis* a *E. faecium*. Z dostupných publikovaných výsledkov vyplýva, že v mliečnych výrobkoch sa najčastejšie vyskytujú druhy *E. faecalis* a *E. faecium* (Zago et al., 2009). V našich vzorkách mlieka odobratých z cisterny a zásobného tanku sa identifikovali druhy *E. faecalis*, *E. faecium*, *Enterococcus group III.*, *E. mundtii* a *E. casseliflavus*. Identifikácia izolátov druhu *E.*



Obrázok 1: Potvrdenie druhu *E. faecalis* u 7 izolátov enterokokov pomocou PCR metódy 100bp DNA marker (*Fermentas*, Germany), *E. faecalis* CCM 4224, amplifikované produkty DNA izolátov *E. faecalis* (941bp).



Obrázok 2: Prehľad izolovaných druhov rodu *Enterococcus* (n=46) zo surového mlieka.

faecalis pomocou PCR metódy je znázornená na obrázku 1.

Druhové zastúpenie izolovaných kmeňov enterokokov (n=46) zo surového kravského mlieka je znázornené na obrázku 2. Izoláty druhu *E. faecalis* tvorili dominantnú časť vo vyšetovaných vzorkách surového mlieka z cisterny ako aj zo zásobného tanku. Tento druh podľa viacerých autorov (Teixeira et al., 2005; Gomes et al., 2008) sa najčastejšie izoluje z mliekarenských zariadení a mlieka.

Cítak et al. (2005) izolovali zo surového mlieka celkovo 177 izolátov, ktoré následne identifikovali pomocou API 20 Strep systému a biochemických testov. Podľa nich sa v mlieku najčastejšie vyskytovali druhy *E. faecalis* a *E. faecium*. Priamo zo surového mlieka alebo mliečnych

výrobkov izolovali aj druhy *E. durans*, *E. italicus* a *E. malodoratus* (Fortina et al., 2004). Na porovnanie Franz et al. (1999) z mliečnych výrobkov izolovali najmä druhy *E. faecalis* a *E. casseliflavus*. Cítak et al. (2006) uvádzajú ako najviac zastúpený druh v kravskom mlieku *E. faecalis* (54,2 %), nasledovaný druhom *E. faecium* (29 %), *E. durans* (6,2 %), *E. hirae* (5 %) a *E. gallinarum* (3 %).

Identifikované enterokoky, ktoré sa izolovali zo surového mlieka sa následne vyšetřili na rezistenciu voči antibiotikám: erytromycín, vankomycín, ampicilín, tetracyklín, teikoplanín a gentamicín. Testované kmene enterokokov preukázali najvyššiu citlivosť na teikoplanín (97,9 %). Izoláty testovaných kmeňov enterokokov preukázali najvyššiu rezistenciu na tetracyklín. Tieto

izoláty (n=7) sa pomocou biochemických testov a PCR s druhom *E. faecium*. Nedokázala sa rezistencia izolátov

Tabuľka 2: Citlivosť zástupcov rodu *Enterococcus* (n=46) izolovaných zo surového mlieka (z cisterien a zásobného tanku) na vybrané antibiotiká (vyjadrená v % izolátov)

DRUH ANTIBIOTIKA	CITLIVÉ	STREDNE REZISTENTNÉ	REZISTENTNÉ
Vankomycín 30 [mcg/disk]	95,5	-	4,5
Tetracyklín 30 [mcg/disk]	54,4	30,4	15,2
Teikoplanín 30 [mcg/disk]	97,9	2,1	0
Erytromycín 15 [mcg/disk]	87	6,5	6,5
Gentamicín 10 [mcg/disk]	60,9	30,4	8,7
Ampicilín 10 [mcg/disk]	6,5	89,1	4,4

analýzou identifikovali ako druh *E. faecalis*. Izoláty druhu *E. faecalis* mali taktiež rezistenciu aj na ostatné druhy antibiotík. Jeden izolát druhu *E. faecium*, preukázal antibiotickú rezistenciu len na ampicilín.

Citak et al. (2006) vo vzorkách surového mlieka zistili vysokú rezistenciu u enterokokov na erytromycín (95 %) a streptomycín (97 %). Valenzuela et al. (2008) taktiež zistili ako najčastejší druh rezistentný na antibiotiká izolovaný z mlieka a syrov *E. faecalis*. Rezistenciu potvrdili predovšetkým na rifampicín (8/9), na ciprofloxacín (6/9), levofloxacín (6/9), quinupristín/dalfopristín (6/9) a erytromycín (5/9). Nasledovala rezistencia na tetracyklín (4/9), nitrofurantoin (2/9), vankomycín (1/9) a streptomycín (2/9). Zistili vysoký počet izolátov *E. faecium* rezistentných na nitrofurantoin (12/16), ciprofloxacín (12/16), rifampicín (11/16) a levofloxacín (8/16). Nasledovala rezistencia na erytromycín (4/16), vankomycín (2/16), teikoplanín (2/16), quinupristín/dalfopristín (2/16), tetracyklín (1/16) a streptomycín (2/16). Medzi izolátmi oboch druhov nezistili rezistenciu na ampicilín, penicilín, chloramfenikol a gentamicín. Gomes et al. (2008) pri hodnotení brazílskych syrov zistili väčšiu rezistenciu na antibiotiká u izolátov druhu *E. faecalis* v porovnaní s *E. faecium*. U izolátov druhu *E. faecalis* zistili 31 % rezistentných na tetracyklín, 10 % na erytromycín a 22,5 % na gentamicín. Ako multi-rezistentné (gentamicín, erytromycín a tetracyklín) stanovili 3 izoláty *E. faecalis*. Taktiež zistili 3 vankomycín rezistentné izoláty, ale zároveň citlivé na ostatné testované antibiotiká. Rezistenciu druhu *E. faecium* zistili na antibiotiká tetracyklín (6,5 % izolátov) a na erytromycín (9 %). Výsledky Valenzuela et al. (2009) dokázali vysoký počet kmeňov enterokokov rezistentných na rifampicín, ciprofloxacín, levofloxacín, tetracyklín a erytromycín. Uvádzajú, že niekoľko izolátov *E. faecalis* a *E. faecium* prejavilo rezistenciu na všetky testované antibiotiká okrem vankomycínu. Citak et al. (2004) sledovali rezistenciu enterokokov voči 13 rôznym antibiotikám, pričom u väčšiny izolovaných enterokokov zistili rezistenciu na streptomycín, erytromycín, oxacilín a vankomycín. Na vankomycín zistili 96,8 % rezistentných izolátov *E. faecalis* a 7 % rezistentných izolátov *E. faecium*.

Naše výsledky potvrdili, že rezistencia na antibiotiká ampicilín, tetracyklín, erytromycín, gentamicín sa častejšie vyskytovala u izolátov druhu *E. faecalis* v porovnaní

druhu *E. faecalis* na teikoplanín. Vyššia variabilita antibiotickej rezistencie u *E. faecalis* môže byť spôsobená lepšou schopnosťou výmeny genetického materiálu druhu *E. faecalis* v porovnaní s inými druhmi enterokokov (Gomes et al., 2008).

ZÁVER

Výsledky práce potvrdili, že enterokoky patria k bežným kontaminantom surového mlieka, pričom ich virulencia a antibiotická rezistencia predstavuje negatívny aspekt ich výskytu v mlieku. Na základe uvedených výsledkov možno tiež konštatovať, že jednotlivé kmene enterokokov prejavili rôznu antibiotickú rezistenciu k sledovaným antibiotikám. Prítomnosť enterokokov s klinicky významnou rezistenciou na antibiotiká preto indikuje potrebu efektívnej stratégie kontroly na zníženie kontaminácie týmito mikroorganizmami v potravinách živočíšneho pôvodu, ktoré môžu predstavovať ich potenciálny rezervoár a byť tak príčinou zdravotných problémov. Vzhľadom k známej schopnosti enterokokov odolávať pôsobeniu nepriaznivých vonkajších podmienok je potrebné nepodceňovať a dodržiavať všetky zásady hygieny a sanitácie pri získavaní a spracovaní mlieka a tak obmedziť šírenie enterokokov do potravinového reťazca aj vzhľadom v poslednom období často dokazovanej rezistencii na antibiotiká.

LITERATÚRA

- BATISH, V. K., CHANDER H., RANGANATHAN, B. 2006. Heat resistance and other characteristics of deoxyribonuclease positive Enterococci isolated from milk and milk products. In *Journal of Food Science*, vol. 50 (3), 2006, p. 834 – 835.
- CITAK, S., YUCEL, N., ORHAN, S. 2004. Antibiotic resistance and incidence of *Enterococcus* species in Turkish white cheese. In *International Journal of Dairy Technology*, vol. 57 (1), 2004, p. 27.
- CITAK, S., YUCEL, N., MENDI, A. 2005. Antibiotic resistance of enterococcal isolates in raw milk. In *Journal of Food Processing and Preservation*, vol 29, 2005, p. 183–195.
- CITAK, S., GUNDOGAN, N., MENDI, A. 2006. Occurrence, isolation and antibiotic resistance of *Enterococcus* species isolated from raw milk samples in Turkey. In *Milchwissenschaft*, vol. 61 (2), 2006, p. 150-152.
- CLSI, 2006. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard – Ninth Edition, M2

- A9. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, PA, 37 s.
- COGAN, T. M., REA, M. C., GELSONIMO, R. et al. 2001. Enterococci in food fermentation: Functional and safety aspects. In *Armis* (online). 2001, no. 4547 (cit. 2001-08-30) p. 120-130.
- FORTINA, M. G., RICCI, G., MORA, D. et al. 2004. Molecular analysis of artisanal Italian cheeses reveals *Enterococcus italicus* sp. nov. In *International Journal of Evolutionary Microbiology*, vol. 54, 2004, p. 1717-1721.
- FOULQUIE MORENO, M. R., SARATINOPOULUS, P., TSAKALIDOU, E. et al. 2006. The role and application of enterococci in food and health. In *International Journal of Systematic Bacteriology*, vol. 106, 2006, p. 1-24.
- FRACALANZZA, S. A. P., SCHEIDEGGER, E. M. D., DOS SANTOS P. F. et al. 2007. Antimicrobial resistance profiles of enterococci isolated from poultry meat and pasteurized milk in Rio de Janeiro, Brazil. In: *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, vol. 102 (7), 2007, p. 853-859.
- FRANZ, C. M. A. P., HOLZAPFEL, W. H., STILES, M. E. 1999. Enterococci at the crossroads of food safety? In *International Journal Food Microbiology*, vol. 47, 1999, p. 1-24.
- GELSOMINO, R., VANCANNEYT, M., COGAN, T. M., et al. 2002. Sources of Enterococci in Farmhouse Raw-Milk Cheese. In *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 68 (7), 2002, p. 3560-3565.
- GIRAFFA, G. 2003. Functionality of enterococci in dairy products. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 88, 2003, p. 212-222.
- GOMES, B. C., ESTEVES, C. T., PALAZZO, I. C. V. et al. 2008. Prevalence and characterization of *Enterococcus* spp. isolated from Brazilian foods. In *Food Microbiology*, vol. 25 (5), 2008, p. 668 – 675.
- GÖRNER, C., VALÍK, E. 2004. *Aplikovaná mikrobiológia požívatin*. Bratislava: Malé Centrum, 2004, 528 s. ISBN 80-967064-9-7.
- GREIFOVÁ, M., GREIF, G., LEŠKOVÁ, E. et al. 2003. Enterokoky – ich hodnotenie v mliekarenskej technológii. In *Mliekarstvo*, roč. 34 (2), 2003, s. 42-44.
- HUYS, G. D., HAENE K., COLLARD, J. C. et al. 2004. Prevalence and molecular characterization of tetracycline resistance in *Enterococcus* isolates from food. In *Applied Environmental Microbiology*, vol. 70, 2004, p. 1555-1562.
- JARČUŠKA, P., NOVOTNÝ, R., KYSLAN, K. et al. 2006. Rezistencia na antiinfektíva – známe a neznáme aspekty. In *Slovenský veterinársky časopis*, roč. 31 (6), 2006, s. 37-38.
- KAGKLI, D. M., VANCANNEYT, M., VANDAMME, P. 2007. Contamination of milk by enterococci and coliforms from bovine faeces. In *Journal of Applied Microbiology*, vol. 103 (5), 2007, p. 1393-1405.
- KARIYAMA, R., MITSUHATA, R., CHOW, J. W. et al. 2000. Simple a reliable multiplex PCR assay fo surveillance isolates of vancomycin-resistant Enterococci. In *J. Clin. Microbiol.*, vol. 38, 2000, p. 3092-3095.
- KUČEROVÁ, K., SVOBODOVÁ, H., TŮMA, Š. et al. 2009. Production of Biogenic Amines by Enterococci. In *Czech Journal of Food Science*, vol. 27, 2009, special issue 2., p. 50-55.
- ORTIGOSA, M., IRIGOYEN, A., URDIN, M., et al., 2008. Sources of enterococci in Idiazábal-type cheese. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 125 (2), 2008, p. 146-152.
- PANFILI, G., FRATIANNI, A., DI CRISCIO T. et al. 2008. Influence of microorganisms on retinol isomerization in milk. In *Journal of Dairy Research*, vol. 75 (1), 2008, p. 37-43.
- RIBOLDI G. P., FRAZZONI, J., D'AZEVEDO, P. A. et al., 2009. Antimicrobial resistance profile of *Enterococcus* spp. isolated from food in Southern Brazil. In *Brazilian Journal of Microbiology*, vol. 40, 2009, p. 125-128.
- SORQVIST, S. 2003. Heat resistance in liquids of *Enterococcus* spp., *Listeria* spp., *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. In *Acta Veterinaria Scandinavica*, vol. 44 (1-2), 2003, p. 1-19.
- ŠUSTÁČKOVÁ, A., NÁPRAVNÍKOVÁ, E., NAVRÁTILOVÁ, et al., 2003. Potraviny živočišného pôvodu jako vektor rezistence k antibakteriálním látkam. In *Aktuálne problémy riešené v agrokomplexe*, zborník z medzinárodného vedeckého seminára, Nitra: 2003, s. 328-342.
- TEIXEIRA, P., LOPES, Z., AZEREDO, J. 2005. Physico-chemical surface characterization of a bacterial population isolated from a milking machine. In *Food Microbiology*, vol. 22 (2-3), 2005, p. 247-251.
- VALENZUELA, A. S., OMAR, N. B., ABRIOUEL, H. et al. 2008. Risk factors in enterococci isolated from foods in Morocco: Determination of antimicrobial resistance and incidence of virulence traits. In *Food and Chemical Toxicology*, vol. 49 (8), 2008, p. 2648-2652.
- VALENZUELA, A. S., OMAR, N. B., ABRIOUEL, H. et al. 2009. Virulence factors, antibiotic resistance, and bacteriocins in enterococci from artisan foods of animal origin. In *Food Control*, vol. 20, 2009, p. 381-385.
- ZAGO, M., BONVINI, B., CARMINATI, D. et al. 2009. Detection and quantification of *Enterococcus gilvus* in cheese by real-time PCR In *Systematic and Applied Microbiology*, vol. 32, 2009, p. 514-521.

Pod'akovanie

Práca sa riešila za finančnej podpory grantovej výskumnej úlohy VEGA projektu č. 1/0410/09.

Kontaktná adresa: Ing. Jana Fabianová, LEVICKÉ MLIEKÁRNE a.s., Júrska cesta č. 2, Levice, 934 01. e-mail: jfabianova@levmilk.sk

PHYSICOCHEMICAL QUALITY OF SELECTED STRAWBERRY JAMS WITH FRUCTOSE

Dorota Galkowska, Teresa Fortuna, Weronika Prochwicz-Zagórska

ABSTRACT

Four different commercially available strawberry jams with fructose were characterized in relation to acidity and reducing sugar, ash, micro- and macroelement contents. The results showed that the jams differed in active and total acidity, ash, as well as reducing sugar content. Differences between the jams were more pronounced for microelements than for macroelements.

Keywords: strawberry jam, fructose, chemical composition

INTRODUCTION

Strawberry fruits are very popular among berries and are widely consumed fresh or as derived products such as jams, puree, juices, nectar or ice cream. In the Polish market the most common strawberry products consumed are the jams, especially because of their low cost, all year availability and organoleptic properties (Anonim, 2002). Jam is one of the most popular shelf-stable products made from fruits, both at the household and commercial levels. To manufacture fruit jams, fruits and sugar are combined in similar ratios, and cooked to produce a tasty product of sufficiently high sugar content with satisfactory storage qualities. Nowadays, consumers are increasingly better informed about diet and health, and as a result, desire more foods which offer, in addition to convenience, high quality, safety, optimum nutrient balance, less fat and sugar and fewer calories. At the same time foods must remain tasty and at an economical price (Abdullah and Cheng Cheng, 2001). Jams sweetened with fructose are an example of food for diabetics. Fructose is natural and healthy sweetener that balances the sugar level in blood and reduces appetite. Fructose seems to have a beneficial effect on the heart muscle and reduces the decay risk. Fructose is low-calorie sweetener, and consumed in appropriate amounts prevents both obesity and obesity related ailments like: diabetes, high blood pressure, and arteriosclerosis (White J.S., 2008).

MATERIAL AND METHODS

Four different brands of strawberry jams with fructose were obtained from local market (Krakow, Poland), indicated as A, B, C, D: (A) Melangerie Diät Diabetic Strawberry Extra Jam, LIDL Stiftung & Co. KG, Neckarsulm, Germany, (B) Strawberry jam with fructose, Radix-Bis, Rotmanka, Poland, (C) Dietetic strawberry Jam with Fructose, Stovit Group Sp. z o.o., Bygdoszcz, Poland, (D) Dietetic strawberry Jam with Fructose, BioFan, Piekary Śląskie, Poland.

Jam samples were thoroughly homogenized and undergo the following physicochemical analyses: moisture content [PN-90/A-75101/03], active acidity (PN-A-75101-06:1990), titratable acidity (PN-A-75101-04:1990), reducing sugar content by the Fehling method (PN-A-75101-07:1990) and total ash content (PN-A-75101-08:1990). The content of mineral elements (Na, K, Mg, Ca, Fe, Mn, Zn, Cu) was also evaluated by Atomic Absorption Spectrometry method in Avanta Sigma GBC (Australia) spectrometer with an air-acetylene flame atomization. The gel samples were dry mineralized

according to PN-A-75101-08:1990, and then the resulted ash was solubilized in 0,1M nitric acid.

RESULTS AND DISCUSSIONS

The results of the physicochemical analysis of strawberry jams are presented in Tables 1-4.

Water content of the strawberry jams varied from 57.1-71.1% (Table 1). The strawberry jams had a pH of 4.66 – 4.89 \pm 0.01 with no significant differences within C and D jams (Table 1). These values were higher than these reported in literature (Rada-Mendoza et al., 2002, Suutarinen et al., 2000). The differences may result from the concentration of added citric acid during jam production. The titratable acidity was estimated by the sample titration using standard 0.1 mol·L⁻¹ solution of NaOH and the results were expressed as citric acid content in jam. The titratable acidity of all the samples showed to be statistically different from each other (α = 0.05) (Table 1). The values of this parameter meet the Polish Standard's requirements (PN-A-75100:1994) and are also similar to those found in literature (Kallio et al., 2000). It is worth to notice that the increase in pH values of the jams was not accompanied with the decrease in the titratable acidity values. The highest titratable acidity was stated in the A jam, whereas the lowest one in the D jam. All the analysed jams differed statistically in the concentration of ash (Table 1). The content of ash in the strawberry jams was estimated to be from 0.737 \pm 0.018 to 1.096 \pm 0.036 g per 100 g of dry mass of jam. These values are in accordance with the available literature data (Castro et al., 2002; Kunachowicz et al., 2005).

The results of sugar content determination are presented in Table 2. The mean values for reducing sugar components varied in the ranges 28.31-41.50 g per 100 g of jam. These values are typical for low-sweetened jams and are comparable with data presented in the literature (Jarczyk and Berdowski, 1999; Kunachowicz et al., 2005; PN-A-75100:1994). The A jam contained higher amounts of sugars compared to the other jams. The differences in sugar contents between the analysed jams can mainly result from different amounts of fructose used to production of jams, as well as from possible differences in sugar content of the strawberries.

Table 1 Physicochemical properties of jams (mean values and standard deviations)

Kind of jam	Dry mass in %	pH	Titrateable acidity expressed as citric acid, in g.100 g ⁻¹	Ash content, in g.100 g ⁻¹ d.w.
A	42.9±0.3	4.66±0.01	0.96±0.001	0.737±0.018
B	28.9±0.5 a	4.89±0.01	0.71±0.006	1.096±0.036
C	29.5±0.4 ab	4.84±0.01 a	0.64±0.003	0.746±0.038
D	30.2±0.3 b	4.83±0.01 a	0.56±0.001	0.779±0.018

Means with the same letters in the columns do not differ significantly at $\alpha = 0,05$.

Table 2 Reducing sugar content in jams (mean values and standard deviations)

Kind of jam	Reducing sugar content, in g/100 g
A	41.50±0.48
B	28.31±0.20 a
C	28.74±0.16 a
D	29.82±0.14

Means with the same letters in the columns do not differ significantly at $\alpha = 0,05$.

The mineral content of jams is shown in Tables 3 and 4. As for macroelements, all considered samples contained a high amounts of potassium and sodium and relative low amounts of calcium and magnesium (Table 3). Analysis of variance showed that the differences in potassium content in jams between B, C and D samples were not statistically significant for $\alpha = 0.05$.

The amount of mineral elements in jam depends mainly on the concentrations of the elements in the processed fruits. The chemical composition of strawberries is influenced by cultivar and also by other factors such as production area, soil and climate, agricultural practices, quality of the irrigation water and eventually the storage and commercialization conditions. Mineral element composition could be influenced by heating of fruits during the production of jam, as well as by dilution with sugar (Castro, 2002; Plessi et al., 2007). In our study the sodium concentrations in all the jams were higher than those found in the literature (Kunachowicz et al., 2005;

of the Ca and K determined in the strawberry jams were some lower than these reported by Kunachowicz et al. (2005). Among the determined macroelements of the strawberry jams magnesium occurred in relatively small amount, however this phenomenon is common for fruit jams (Plessi et al., 2007).

The concentrations of zinc and copper in the analyzed jams were in accordance with Polish Standard's requirements (PN-A-75100:1994). As it can be seen in Table 4, iron was the most abundant metal in the jams with an average content of 2034 $\mu\text{g}\cdot\text{g}100^{-1}$ dried weight. The B and D jams did not differed significantly in zinc, manganese and iron contents. Moreover, the amounts of zinc, copper and manganese determined in the above jams were higher than the respective values determined in A and C jams (Table 4). All the results presented in Table 4 are in sufficient accord with the data published in the literature (Kunachowicz et al., 2005).

Table 3 Macroelements contents in jams expressed as mg.100⁻¹ g dried weight (mean values)

Kind of jam	Mg	Ca	Na	K
A	16.46 a	29.62 ab	33.36	140.72
B	22.62	55.44	91.81 a	187.62 a
C	18.48 b	34.05 a	86.59 a	191.05 a
D	17.27 ab	27.26 b	85.52	198.86 a

Means with the same letters in the columns do not differ significantly at $\alpha = 0,05$.

Plessi et al., (2007). On the other hand, the mean contents.

Table 4 Microelements contents in jams expressed as $\mu\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ dried weight (mean values)

Kind of jam	Zn	Cu	Mn	Fe
A	221.77	62.6 a	498.2	974.5 a
B	428.90 a	131.4	653.7 a	2092.7 bc
C	306.01	88.6 a	420.5	3061.2 c
D	396.06 a	215.4	704.3 a	2009.1 ab

Means with the same letters in the columns do not differ significantly at $\alpha = 0,05$.

CONCLUSIONS

Physicochemical quality parameters of strawberry jams with fructose are influenced by the raw material and processing conditions. The jam A, that was produced in Germany, was characterized by higher dry mass, total acidity and reducing sugar contents as compared to the Polish jams. The amounts of ash and micro- and macroelements determined in B, C, D jams were greater than these stated for the A jam. All the physicochemical parameters of Polish strawberry diabetic jams (B, C, D) did not exceed allowable levels indicated in Polish Standard's quality requirements.

REFERENCE

ABDULLAH A, CHENG CHENG T., 2001. Optimization of reduced calorie tropical mixed fruits jam. *Food Qual. Pref.*, 12, 63-68.

ANONIM, 2002. Słodkie przetwory owocowe – rynek produktów dzemowych. *Hurt & Detal*, 2(12).

CASTRO I., GONCALVES O., TEIXEIRA J.A., VICENTE A.A., 2002. Comparative study of Selva and Camarosa strawberries for the commercial market. *J. Food Sci.*, 67, 2132-2137.

JARCZYK A., BERDOWSKI J.B., 1999. Przetwórstwo owoców i warzyw. Cz. I. *WSiP, Warszawa*.

KALLIO H., HAKALA M., PELKKIKANGAS A.-M., LAPVETELÄINEN A., 2000. Sugars and acids of strawberry varieties. *Eur. Food Res. Technol.*, 212, 81-85.

KUNACHOWICZ H., NADOLNA I., PRZYGODA B., IWANOW K., 2005. Tabele wartości odżywczej produktów spożywczych i potraw. *Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa*.

PLESSI M., BERTELLI D., ALBASINI A., 2007. Distribution of metals and phenolic compounds as criterion to

evaluate variety of berries and related jams. *Food Chemistry*, 100, 419-427.

PN-90/A-75101/03. *Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie zawartości suchej masy metodą wagową.*

PN-A-75100:1994. *Przetwory owocowe. Dżemy.*

PN-A-75101-04:1990. *Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie kwasowości ogólnej.*

PN-A-75101-06:1990. *Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie pH metodą potencjometryczną.*

PN-A-75101-07:1990. *Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie zawartości cukrów i ekstraktu bezcukrowego.*

PN-A-75101-08:1990. *Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie zawartości popiołu i jego alkaliczności.*

RADA-MENDOZA M., OLANO A., VILLAMIEL M., 2002. Determination of hydroxymethylfurfural in commercial jams and in fruit-based infant foods. *Food Chem.*, 513-516.

SUUTARINEN J., HONKAPÄÄ K., HEINIÖ R.-L., AUTIO K., MOKKILA M., 2000. The effect of different prefreezing treatments on the structure of strawberries before and after jam making. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 33, 188-201.

WHILE J.S., 2008. Weak association between sweeteners or sweetened beverages and diabetes. *J. Nutr.*, 138, 138.

Contact address:

Dorota Gałkowska, PhD, Department of Analysis and Evaluation of Food Quality, University of Agriculture, Balicka Street 122, 30-149 Kraków, Poland, e-mail: d.galkowska@ur.krakow.pl

PREVALENCE OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN FISH PROCESSING FACTORY

Karine Grigoryan, Grigor Badalyan, Djulietta Andriasyan

ABSTRACT

The aim of the presented work was the risk assessment of distribution and prevalence of *Staphylococcus aureus* during processing of cold-smoked fish. There were totally analyzed 80 samples of fish and 50 swab samples at all stages of the processing. *Staphylococcus aureus* was detected in 74% of analyzed samples. Brining stage was the important critical control point in cold-smoked fish processing.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, cold -smoked fish, brine

INTRODUCTION

Safety of fish products and their quality assurance is one of the main problems of food industry today. The presence or absence of foodborne pathogens in a fish product is a function of the harvest environment, sanitary conditions, and practices associated with equipment and personnel in the processing environment (FDA, 2001; Huss, 2003). The handling of fish products during the manufacturing process involves a risk of contamination by *Staphylococcus aureus*, a Gram-positive microorganism causing foodborne human intoxication (Ash, 1997; Shena et al., 2007). These bacteria are salt-tolerant and therefore can contaminate all cured preparations such as cold smoked fish, caviar and fish-based preserves (Hayes, 1995). Fish contains large amount of proteins and their breakdown into amino acids support the growth of *Staph. aureus*. *Staphylococcus spp.* may be isolated from newly caught fish, especially in warm waters (Gram and Huss, 2000). *Staphylococcus* is not found in the normal microflora of fish. This microorganism could be associated with salt (Hansen et al., 1995) or the raw fish (Ferreira et al., 2007) used in the processing. Contamination of fish products through contaminated surfaces has also been observed in many cases (Reij et al., 2003). According to Basti et al., (2003) some kinds of salt smoked fish may be considered as risk of *L. monocytogenes* and *Staph. aureus* infection and intoxication for Iranian consumers respectively. An assessment on the potential microbiological hazard associated with smoked fish fillets under refrigerated storage was made. *Staph. aureus* survived better at both storage temperatures ($T = -10^{\circ}\text{C} - 5^{\circ}\text{C}$) (Mariappan et al., 2004). According to Enclund (2004) contamination of fish by pathogens particularly such as *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* 0157:H7, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*, and *Listeria monocytogenes*, may occur prior to harvest, during capture, processing, distribution and/or storage. Himelbloom's studies have shown, that strips handled without gloves contained 10^5 *Staphylococcus aureus*/g. Sanitary handling and air quality control will enhance seafood safety while maintaining product quality attributes. (Himelbloom et al., 1998).

In smoked and dried king salmon processed by Alaska Natives, coagulase-negative *Staphylococcus* species comprised 75% of the staphylococci isolates (Himelbloom et al., 1998). Most of the species of *staphylococci*, that have been isolated from fish are coagulase negative, namely, *Staphylococcus epidermidis*, *S. xylosus*, *S. lentus*, *S. capitis*, *S. lugdunensis*, *S. hominis*, *S. warneri*, *S. cohnii*,

S. chromogenes. High *Staph. aureus* counts (10^4 - 10^5 .g⁻¹) occurred and reached 5% of total *staphylococci* counts. Up to 10^4 *Staph. aureus* cells.g⁻¹ can be tolerated in ready-to-eat seafoods (FDA, 2004). Enterotoxin production is typically associated with coagulase-positive *Staph. aureus* when cell populations are 10^5 .g⁻¹ (Jablonski and Bohach, 1997).

The aim of the study was the assessment of prevalence of *Staph. aureus* during manufacturing of cold smoked trout.

MATERIAL AND METHODS

Sampling

There were totally analyzed 80 samples of fish and 50 swab samples.

Fish samples were taken from every step of processing: receiving raw materials, cleaning, separation of fillets, brining, cold smoking, packaging, storing. All samples of fish were collected and placed in sterile polyethylene bags, transported to laboratory and analyzed immediately upon arrival (ISO, 6887-3:2003). Swab samples were taken from all surfaces and tools by Transport swabs (MS 651, Hi Media) (APHA,1992).

Detection of *Staph. aureus*.

For determination of species of *Staph. aureus*, 10g of each samples of fish fillets were removed aseptically using a scalpel and forceps, and then transferred to sterile tubes with 90ml Baird *Staphylococcus* Enrichment Broth Salt (M-1091, Hi media) (ISO, 68881-1999). Tubes were incubated for 24 hours at 37°C. Then samples from every tube were taken with microbiological loop and spread on the surface of solid media Baird-Parker agar (M-043, Hi Media) and Mannitol salt agar (MM-118, Hi Media). All plates were examined visually for typical colony types and morphological characteristics. For confirmation of *S. aureus* strains Hicrom Aureus agar (M1468, Hi Media) was used and following biochemical tests were provided. Those results were confirmed by HiStaph TM-identification kit (Hi Media). For confirmation of DNAase reaction of *Staphylococcus aureus*, 3M Petrifilm Rapid *Staphylococcus aureus* Count plate (3MPetriFilmTM) was used.

Physical-chemical analysis

Moisture was determined by drying oven with the plates being weight until constant weight was reached AOAC 950.46B ; Novoa et al., 1994). Definition of pH was spent with pH-meter (OAKTON, USA). Determination of aw of samples was spent with AquaLab (Decagon Devices, Pullman, WA, USA). Concentration of sodium chloride was

measured by titrimetry methods accordance with the product was decreased to 6×10^2 cfu.g⁻¹. High level of

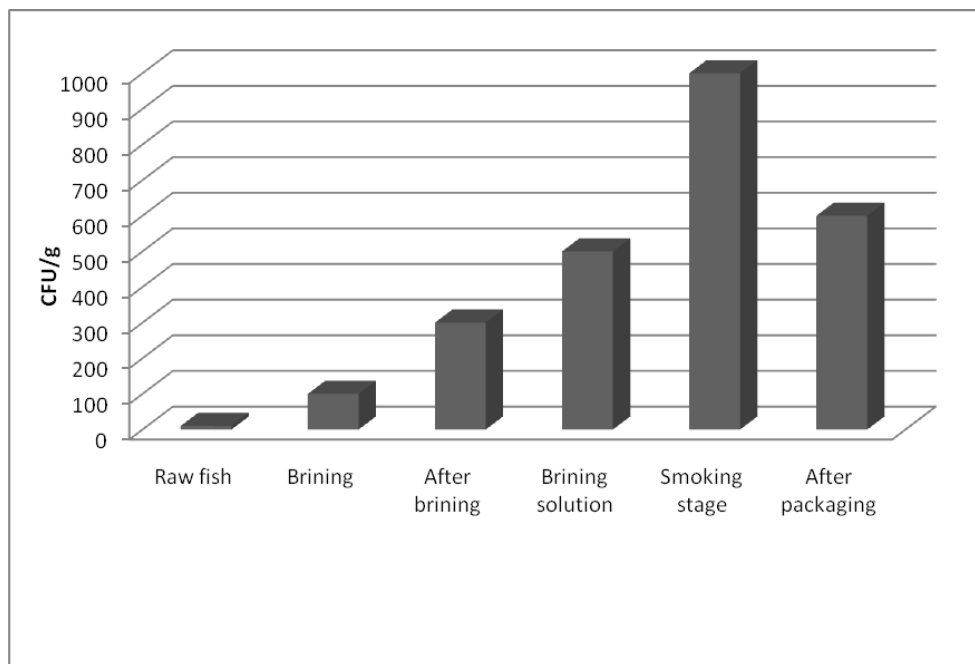


Fig. 1 Prevalence of *Staphylococcus aureus* at every technological step of manufacturing of cold smoked trout.

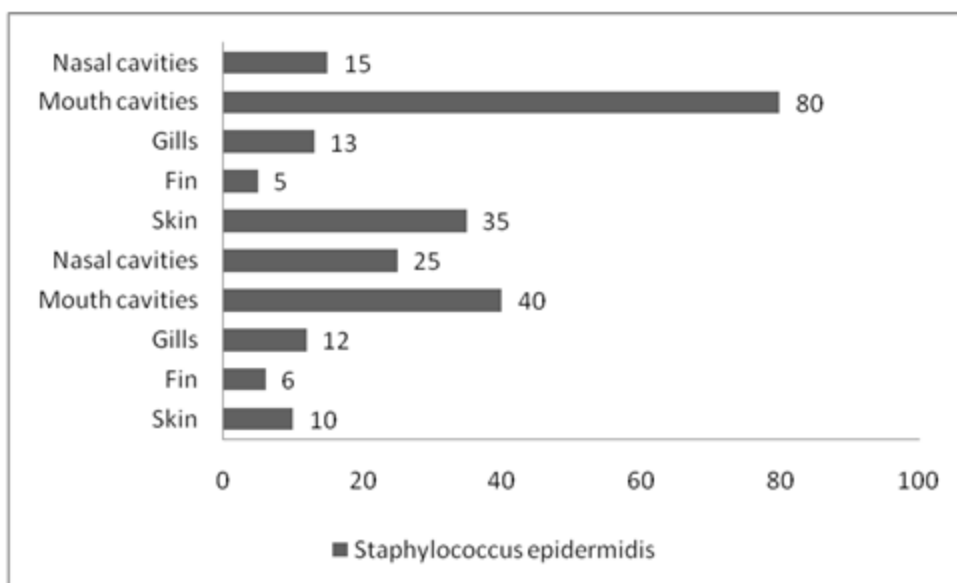


Fig. 2 Distribution of *Staphylococcus aureus* on skin, in gills, nasal and mouth cavities of live fish.

AOAC 937.09.

RESULTS AND DISCUSSION

Contamination level of raw fish by *Staphylococcus aureus* was low (10 cfu.g⁻¹). In samples of frozen fish there was no prevalence of *Staph aureus*. At the beginning of brining stage, contamination level of fish by *Staph. aureus* was 100 cfu.g⁻¹. On third day of brining the contamination level increased up to 3×10^2 cfu.g⁻¹. In the samples of brining solution quantity of *Staphylococcus aureus* reached 5×10^2 cfu.g⁻¹. At the smoking stage the further increase up to 10^3 cfu.g⁻¹ was observed. After packaging and during storage, contamination level of the ready

contamination of ready product by *Staph. aureus* was observed in 74% of the analysed samples.

There was studied the distribution and prevalence of *Staphylococcus aureus* on skin, in gills, nasal and mouth cavities of live fish by swabbing method. Results have shown the presence of only coagulase – negative *Staphylococci*, particularly *Staphylococcus epidermidis*.

Swab samples were taken from all processing surfaces and tools (included hooks and racks).

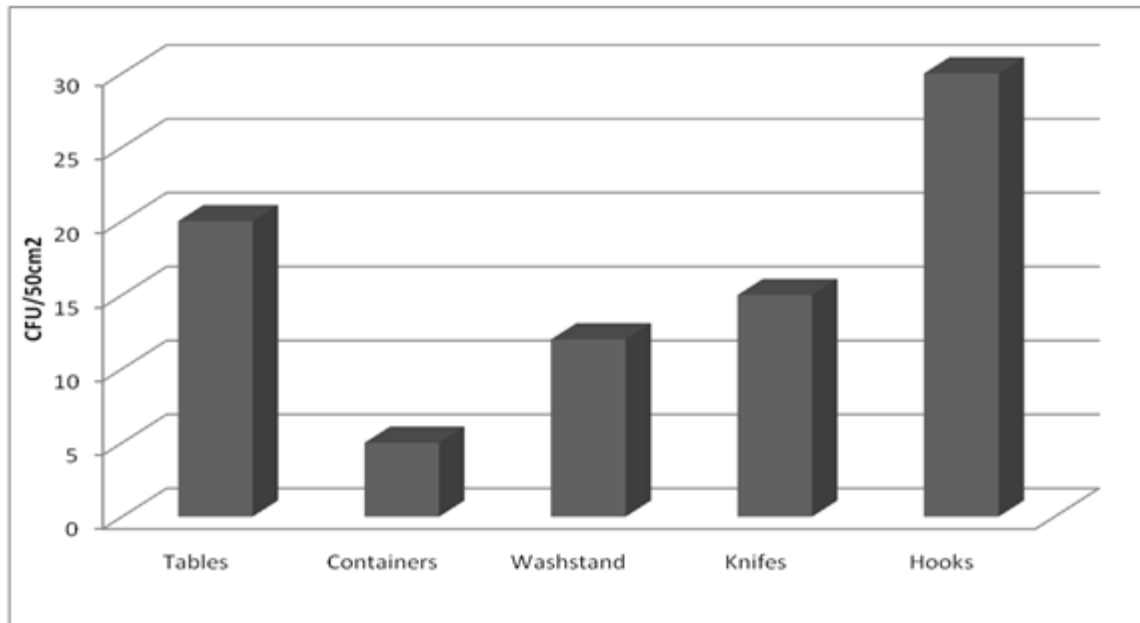


Fig. 3 Recovery count number of *Staphylococcus aureus* from contact surfaces.

High contamination level of hooks and surfaces of tables was observed. Contamination level of hooks and surfaces of tables was 28 cfu.50cm⁻² and 18 cfu.50cm⁻² respectively.

Table 1: Physical-chemical parameters of fish samples during processing

Samples	pH	a _w	NaCl %
raw material	6.9	0.986	-
cleaned fish	6.75	0.975	-
salting	5.60	0.941	5.54
after salting	5.43	0.929	6.1
smoked fish	5.39	0.927	5.2
packaged fish	5.36	0.925	4.3
storage	5.27	0.926	4.2

In all stages the physicochemical parameters were exact and at the same favorable for prevalence of *Staphylococcus spp.* In accordance with Varnam and Evans (1991), the mentioned parameters have a following ratio – pH = 4; NaCl (%) = 10-15; aw = 0.83.

Increase in contamination level was observed at the beginning of brining process. During this stage the microorganisms which are not able to grow at high concentration of salt in comparison with *Staph. aureus* are destroyed. One of the primary sources of contamination of fish by *Staphylococcus aureus* was the multiple use of the same brine solution. Our experiments have shown, that using of the dry – salting technology together with preservatives contributes to considerable decrease in the level of contamination of product after salting process.

CONCLUSION

The primary factors affecting on prevalence of *Staphylococcus aureus* and contamination level of ready to eat fish were identified in this study.

Results of our studies have shown that the brining stage is the important critical control point, during processing of cold smoked fish. Our experiments have shown, that using the dry – salting technology together with preservatives contributes to considerable decrease in the level of contamination of product after salting process. When using liquid brine solution the contamination level of fish is 4x10³ cfu/g, using the dry - salt mixture decreases in the contamination level to 10 cfu/g is occurred. Observance of hygienic requirements while preparing liquid brine solution, and also frequencies of its use accordance with (Storey et al., 1882; CAC/RCP 25-1979) are the important conditions promoting prevention of development and prevalence of *Staphylococcus aureus*.

REFERENCE

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION Health (APHA). 1992. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 1992, 3 Edition. Washington, DC.
- ASH, M., 1997. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Enterotoxins. In: Foodborne microorganisms of public health importance, 5th Edition, (Eds) HOCKING, A.D., ARNOLD, G., JENSON I., NEWTON, K., SUTHERLAND, P., 1997, pp 313-332. AIFST (NSW Branch), Sydney.
- BASTI, A. A., MISAGHI, A., SULEHI, T. Z., 2003. The study of fungal and bacterial pathogens in salted cold smoked fish in Iran. OIE, Seminar, Biotech., 2003, Nov.9-13.
- [CAC] Codex Alimentarius Commission. 1979. *Recommended International Code of Practice for Smoked Fish. Rome: Codex Alimentarius CAC/RCP 25-1.*
- EKLUND, M. W. , PETERSON, M. E., POYSKY, F. T. , PARANJPYE, R. N. , PELROY G. A. , Control of bacterial pathogens during processing of cold-smoked and dried salmon strips. 2004 . *J. Food Protection*, V.67, N 2, 2004, p. 374-351.

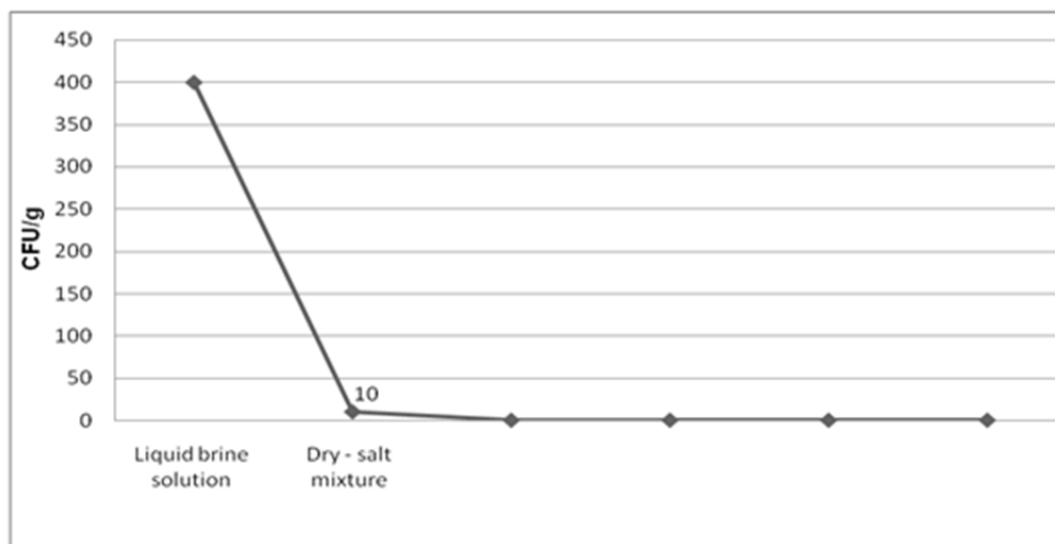


Fig. 4 Level of contamination by *Staphylococcus aureus* when using different salting technologies

GRAM, L., HUSS, H. H., 2000. Fish and shellfish products. In: LUND, B. M., BAIRD-PARKER, T. C., GOULD G.W. (eds) The Microbiological Safety and Quality of Foods. Aspen Publishers Inc., Gaithersberg, Maryland, USA., 2000, pp. 472-506.

FERREIRA, J. G., HAWKINS, A. J. S., BRICKER, S.B., 2007. Management of productivity, environmental effects and profitability of shellfish aquaculture – The Farm Aquaculture Resource Management (FARM) model. *Aquaculture*, V.264, 2007, p.160-174.

FDA., 2001. Processing Parameters Needed to Control Pathogens in Cold Smoked Fish., 2001, p.979.

HANSEN, L., GILL, T., TRUDELSTRUP, T., HUSS, H. H., 1995. Effects of salt and storage temperature on chemical, microbiological and sensory changes in cold-smoked salmon. *Food Res. Int.* V. 28, 1995, p.123-130.

EC (European Commission) 2001a. COMMISSION REGULATION (EC) No. 466/2001 setting maximum levels of certain contaminants of foodstuffs. Official Journal of the European Communities L77, 2001, pp. 1-14.

HIMELBLOOM B. H., CRAPO C. A., 1998. Factors Influencing the Microbial Quality of Cold-Smoked Salmon Strips, *J.of food Science*, V.63, N1, 1998, p.356-358.

HUSS, H. H. 2003. Assessment and management of seafood safety and quality. Food Agriculture Organisation (FAO)., 2003, Fisheries Technical Paper 444.Rome: FAO.

JABLONCSI L. M., BOHACH G. A., 1997. *Staphylococcus aureus*. In Food Microbiology: fundamentals and frontiers, (Eds) DOYLE, M. P., BEUCHAT, L. R., MONTWILLE, T. D., 1997, pp 353-375. ASM Press, Washington, D.C., USA.

ISO 6887-3:2003 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination -- Part 3: Specific rules for the preparation of fish and fishery products

ISO 68881-1999 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) - Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium.

MARIAPPAN, S., SUGUMAR, G., SUKUMAR, D. Survival of *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* and *Vibrio parahaemolyticus* in hot-smoked fish fillets under low temperature storage. *Indian J.of Microbiology*,

SHENA, S. S., SANJECV S., 2007. Prevelence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in fishery products and fish processing factory work. *Food Control*, V.18, 12, 2007, p. 1565-1568

STOREY R M., 1982. Smoking. In: AITKEN, A., MACKIE, I. M., MERRITT J. H., WINDSOR M. L., editors. Fish.handling and processing. 2nd ed. Aberdeen: Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Torry Research Station; Edinburgh: HMSO., 1982, p. 98–114.

Contact address:

Dr. Karine Grigoryan, Ph.D. Yerevan State University; 1 A. Manoogyan, 0025, Yerevan, Armenia; Tel.:(37410) 55 23 52; e-mail: foodlab@inbox.ru

Grigor Badalyan, Ph.D. student., Yerevan State University; 1 A. Manoogyan, 0025, Yerevan, Armenia; Tel.:(37410) 55 23 52; t-vail: badgri@mail.ru

Djulieta Andriasyan, Ph.D. student Yerevan State University; 1 A. Manoogyan, 0025, Yerevan, Armenia; Tel.:(37410) 55 23 52; e-mail: julietta@gmail.com

VPLYV APLIKÁCIE PROPOLISU NA MÄSOVÜ ÜŽITKOVOSŤ KURČIAT ROSS 308

THE INFLUENCE OF PROPOLIS APPLICATION TO MEAT UTILITY ON ROSS 308 BROILER CHICKENS

Peter Haščík, Martin Melich, Miroslava Kačániová, Gabriel Pál, Michal Mihok, Juraj Čuboň, Martin Mellen, Klára Vavrišinová

ABSTRACT

The aim of the experiment was to monitor the impact of propolis extract (experimental group) for meat utility of the Ross 308 chicken. The dosage of propolis was 0.2 g/kg KKZ-1 through the fattening (40 days). Application of propolis increased ($P \leq 0.01$) slaughter weight (+76.80 g) and carcass weight (+67.90 g) in hens compared to the control group (1790.60 g, resp. 1266.54 g). In group with roosters slaughter weight (+70.80 g) and carcass weight (+56.00 g) were also increased ($P \geq 0.05$) in the experimental group compared to control (2086.20 g, resp. 1475.20 g). Offal weight in both sexes was lower ($P \geq 0.05$) in the experimental group (135.55 g - ♀, 158.21 g - ♂) compared to control (140.75 g - ♀, 168.55 g - ♂). Carcass yield was higher in hens ($P \geq 0.05$) in the experimental group (78.71 %) versus control (78.60 %). The evaluation of meat utility Ross 308 chickens without distinction of sex did not show significant differences ($P \geq 0.05$), but a slight increase in slaughter weight and in the carcass weight in group with application of propolis extract in their fattening. Contrary slightly lower offal weight (-7.77 g) and carcass yield (-0.21 %) were found in the experimental group of chickens without distinction of sex ($P \geq 0.05$) compared to control group (weight of offal - 154.65 g, carcass yield - 78.69 %). We recommend the application of propolis as a possible supplement in the fattening of chickens, as it increases the performance parameters of meat and may also positively affect the economy of production.

Keywords: propolis, meat utility, chicken, Ross 308

ÚVOD

Propolis je živcový materiál, ktorý má dlhú históriu, nakoľko je používaný v ľudovom liečiteľstve minimálne 300 rokov pred Kristom (Ghisalberti, 1979). Je to produkt s charakteristickou vôňou, výbornými lepivými a dezinfekčnými účinkami zozbieraný včelami z pukov kvetov, častí stromov a výlučkov rastlín a následne spracovaný pomocou včelích enzýmov a zmiešaný s voskom (Valle, 2000). Jeho farba sa mení od zelenej, červenej až na tmavo hnedú. Všeobecne je propolis zložený z 30 % vosku, 50 % živice, 10 % základných a aromatických olejov, 5 % peľu a ďalších látok (Burdock, 1998). Zloženie propolisu sa často líši v závislosti od druhu rastliny, ktorú možno nájsť v určitej oblasti (Ghisalberti, 1979; Markham et al., 1996). Ghisalberti (1979), resp. Cheng a Wong (1996) zároveň dodávajú, že zložky propolisu sa značne líšia aj v dôsledku klímy, miesta, ročného obdobia a preto jeho chemický vzorec nie je stabilný.

Rôzni autori potvrdzujú, že propolis má účinky antikarcinogénne (Burdock, 1998), antioxidačné (Sun et al., 2000; Isla et al., 2001), protizápalové (Miyataka et al., 1997), antibakteriálne (Pepeljnjak et al., 1985; Veliková et al., 2000), antifungicídne (Ota et al., 2001), antihepatotoxické (Banskota et al., 2001) a v neposlednom rade ho je možné využiť tak v humánnej ako aj veterinárnej medicíne.

V priebehu posledných desaťročí sa sledovali rôzne náhrady, resp. doplnky do kŕmnych zmesí hydiny ako náhrada za často cenovo náročné komponenty, resp. ako doplnky ovplyvňujúce kvalitu mäsa a vajec (Kočí, 1983; Jones a Wiseman, 1985; Haščík et al. 1994; Angelovičová, 1999; Polák, 2003; Pokorná, 2003, Arpášová et al., 2009 ab a i.). Dôležitým zásahom v hydínarskej veľkovýrobe mäsa a vajec v Slovenskej republike bol jej vstup do Európskej únie, kedy začala

nová éra za podmienok a nariadení Európskeho spoločenstva (ES). Jedným zo základných opatrení ES bolo vyradenie živočíšnych múčok a rastových stimulátorov, resp. antibiotík z kŕmnych zmesí pre hydinu a preto nastala opäť doba aplikácie a overovania nových možných doplnkov vo výžive hydiny s kladným dopadom na mikrobiólu gastrointestinálneho traktu (Corrier et al., 1995; Kačániová et al., 2005, 2006ab, 2007; Nováková et al., 2008), jatočného produktu, resp. vajec (Carazzoni et al., 1998; Demeterová, 2004; Marcin et al., 2004; Angelovičová et al., 2005, 2006; Mudroňová et al., 2005; Haščík et al., 2005b, 2007, 2008, 2009; Opletal, 2006; Tuberoso et al., 2005; Basile et al., 2006; Bozin et al., 2006; Singh et al. 2006; Trevisan et al., 2006; Liptaiová et al., 2009 a i.).

Ako doplnky sa využívajú v poslednej dobe mnohé probiotické, prebiotické, enzymatické, minerálne, vitamínové, resp. rastlinné preparáty, ale aj napríklad včelie produkty (peľ, propolis), ktoré v konečnom dôsledku majú mať pozitívny vplyv na zdravotný stav, hospodárske využitie krmiva, kvalitu produktu ako aj ekonomiku výroby hydínarskeho priemyslu (Haščík et al., 2005ab, 2007; Angelovičová et al., 2006, 2008, Angelovičová a Angelovič, 2009; Shalmany a Shivazad, 2006; Seven et al., 2008 a i.).

V nadväznosti na uvedené literárne zdroje bolo cieľom nášho experimentu preveriť vplyv aplikácie extraktu propolisu v kŕmnych zmesiach výkrmových kurčiat hybridnej kombinácie Ross 308 na ich základné parametre mäsovej úžitkovosti.

MATERIÁL A METÓDY

Experiment sme realizovali v testovacej stanici hydiny Katedry hydínarstva a malých hospodárskych zvierat, pri FAPZ SPU v Nitre na výkrmových kurčatách hybridnej

potravinarstvo

kombinácie Ross 308. Do pokusu bolo zaradených 180 ks jednodňových kurčiat a následne boli vytvorené 2 skupiny zvierat: kontrolná (K) a pokusná (P) po 90 ks

spätým chladičom po dobu 1 hodiny. Zmes sme po extrakcii a ochladiení centrifugovali. Získaný supernatant sme odparili na rotačnej vákuovej odparke pri teplote

Tabuľka 1: Mäsová úžitkovosť sliepočiek kurčiat Ross 308

Sledovaný ukazovateľ	Skupina	\bar{x}	s	min.	max.	v %	t-test
Porážková hmotnosť (g)	Kontrolná	1790,60	30,37	1753,00	1830,00	1,69	K:P ++
	Pokusná	1867,40	25,79	1835,00	1897,00	1,38	
Hmotnosť JOT (g)	Kontrolná	1266,54	24,64	1242,00	1305,70	1,95	K:P ++
	Pokusná	1334,40	36,89	1302,20	1377,00	2,76	
Hmotnosť drobov (g)	Kontrolná	140,75	11,69	127,29	157,72	8,31	K:P -
	Pokusná	135,55	5,09	130,08	142,19	3,75	
Jatočná výťažnosť (%)	Kontrolná	78,60	1,01	77,034	79,662	1,28	K:P -
	Pokusná	78,71	1,07	77,27	80,14	1,35	

Pozn.: $P \geq 0,05$ - ; $P \leq 0,05$ +; $P \leq 0,01$ ++, K – kontrolná skupina, P – pokusná skupina

kurčiat. Vlastný výkrm trval 40 dní. Kurčatá boli kŕmené systémom ad libidum rovnakou štartérovou KKZ HYD-01 (sypká forma) do 21. dňa veku a od 22. dňa do 40. dňa výkrmu KKZ HYD-02 (sypká forma) v oboch sledovaných skupinách. Skrmované KKZ HYD-01 a HYD-02 boli vyrobené bez antibiotických preparátov a kokcidiostatík. Priemerná výživná hodnota podávaných kŕmnych zmesí počas experimentu bola rovnaká v oboch skupinách, ale pokusnej skupine bol navyše do kŕmnych zmesí HYD-01 a HYD-02 pridávaný extrakt propolisu vo výške 0,2 g/kg KKZ-1. Propolisový extrakt sme pripravili z rozomletého propolisu. Navážka propolisu bola 150 g a množstvo použitého 80 %-tného etanolu 500 cm³. Extrakcia prebiehala vo vodnom kúpeli pri 80° C pod

kúpeľa 40-50 °C a následne zväžili. Odparok v množstve 45 g sme rozpustili v 1000 cm³ etanolu o koncentrácii 96 %.

Na konci výkrmu (40. deň) bolo z každej skupiny experimentu vybratých po 60 ks kurčiat na jatočný rozbor (30 ks sliepočiek a 30 ks kohútikov), ktorý sa uskutočnil na Katedre hodnotenia a spracovania živočíšnych produktov pri FBP SPU Nitra, spolu s následným sledovaním základných hodnôt ich mäsovej úžitkovosti (porážková hmotnosť, hmotnosť jatočne opracovaného tela, hmotnosť drobov, jatočná výťažnosť). Výsledky mäsovej úžitkovosti boli spracované štatistickým programom Statgraphics, kde boli vypočítané základné štatistické charakteristiky (aritmetický priemer,

Tabuľka 2: Mäsová úžitkovosť kohútov kurčiat Ross 308

Sledovaný ukazovateľ	Skupina	\bar{x}	s	min.	max.	v %	t-test
Porážková hmotnosť (g)	Kontrolná	2086,20	102,48	1971,00	2214,00	4,91	K:P -
	Pokusná	2157,00	65,16	2078,00	2244,00	3,02	
Hmotnosť JOT (g)	Kontrolná	1475,20	82,45	1379,00	1575,00	5,59	K:P -
	Pokusná	1531,20	77,95	1430,00	1645,00	5,09	
Hmotnosť drobov (g)	Kontrolná	168,55	16,98	146,71	187,71	10,07	K:P -
	Pokusná	158,21	11,07	140,31	170,16	6,99	
Jatočná výťažnosť (%)	Kontrolná	78,78	0,65	78,31	79,89	0,83	K:P -
	Pokusná	78,26	1,44	76,67	80,33	1,85	

Pozn.: $P \geq 0,05$ -, K – kontrolná skupina, P – pokusná skupina

smerodajná odchýlka, minimum, maximum, koeficient variability) a na určenie preukaznosti rozdielov medzi sledovanými skupinami bol použitý F-test s následným t- testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Základné ukazovatele mäsovej úžitkovosti kurčiat hybridnej kombinácie Ross 308 bez (kontrolná skupina) a s použitím extraktu propolisu do kŕmnych zmesí (pokusná skupina) sú znázornené a vyhodnotené v tabuľke 1 až 3.

Priemerná porážková hmotnosť kurčiat hybridnej kombinácie Ross 308 bez ohľadu na pohlavie bola v kontrolnej skupine 1938,40 g, t.j. o 73,80 g nižšia ($P \geq 0,05$) ako v pokusnej skupine (2012,20 g). Vyhodnotením porážkovej hmotnosti podľa pohlavia bola táto vyššia u kohútikov aj sliepočiek v pokusnej skupine (σ - 2157,00 g; ϕ - 1867,40 g) oproti kontrolnej skupine (σ - 2086,00 g, ϕ - 1790,60 g ; P - 1867,40 g), ale významné rozdiely medzi skupinami sa potvrdili len pri porážkovej hmotnosti u sliepočiek ($P \leq 0,01$).

Porážková hmotnosť kurčiat Ross 308 v našom experimente dosiahla približne rovnaké hodnoty ako zistili u rovnakého hybridu **Haščík et al. (2007)** s úrovňou 2014,25 g pri aplikácii probiotík cez vodný zdroj. **Podobne Shalmany et al. (2006)**, resp. **Seven et al. (2008)** zistili pozitívny vplyv propolisu v kŕmnych zmesiach kurčiat rôznych hybridných kombinácií na hospodárske využitie krmiva, resp. na ich zvýšenie úžitkovosti na konci výkrmu. Vyššie hodnoty porážkovej hmotnosti u hybridnej kombinácie Ross 308 uvádza **Rychlá a Řezníček (2000)**, **Benková (2001)**, resp. **Straková et al. (2002)**, ktorí zistili porážkovú hmotnosť po 42. dňoch výkrmu v priemere 2240,0 g až 2700 g. Dôležitým zistením nášho experimentu je, že podobne ako uvádzajú **Kumprechtová et al. (1999)**, **Haščík et al. (2005a, 2009)**, **Angelovičová et al. (2005)**, **Shalmany et al. (2006)**, resp. **Seven et al. (2008)** bol aj v našom experimente zaznamenaný pozitívny trend zvýšenej porážkovej hmotnosti kurčiat na konci výkrmu pri

zpracovaní extraktu propolisu v ich výžive, resp. pri aplikácii probiotík a iných doplnkov vo výžive kurčiat ako zistili vyššie citovaní autori.

Vyhodnotením hmotnosti JOT bez rozdielu pohlavia sa zachovala podobná tendencia ako pri porážkovej hmotnosti, kde nižšia hmotnosť JOT ($P \geq 0,05$) o 61,96 g bola v kontrolnej skupine (1370,84 g) ako v pokusnej skupine (1432,80 g). Podľa pohlavia bola hmotnosť JOT v pokusnej skupine u kohútikov (1531,20 g) ako aj u sliepočiek (1334,40 g) vyššia ako v kontrolnej skupine (σ - 1475,20; ϕ - 1266,54 g), ale vyššie hodnoty v hmotnosti JOT sa v pokusnej skupine štatisticky preukazne ($P \leq 0,01$) zistili len u sliepočiek oproti kontrole. Dosiahnuté hodnoty hmotnosti JOT kurčiat Ross 308 oboch pohlaví v kontrolnej skupine sú nižšie ako vo svojich prácach zistili u kurčiat rôznych hybridných kombinácií **Simeonová a Ingr (2000)**, **Benková et al. (2002)**, **Straková et al. (2002)**, **Haščík et al. (2005a)**, **Angelovičová et al. (2005)** a iní. Porovnaním hmotnosti JOT kurčiat Ross 308 v pokusnej skupine sme dosiahli podobné výsledky ako **Simeonová a Ingr (2000)**, **Arpášová et al. (2002)** a **Haščík et al. (2005a)**. **Seven et al. (2008)** zistili podobne ako v našom experimente taktiež zvýšenú hodnotu hmotnosti JOT (1376 g) bez rozdielu pohlavia pri aplikácii propolisu vo výžive kurčiat Ross 308.

Jatočná výťažnosť kurčiat Ross 308 bez rozdielu pohlavia bola v kontrolnej skupine mierne vyššia (78,69 %) oproti pokusnej skupine (78,48 %) ale bez významných rozdielov ($P \geq 0,05$). Podľa pohlavia bola u kohútikov ($P \geq 0,05$) mierne vyššia jatočná výťažnosť v kontrolnej skupine (78,78 %) oproti pokusnej skupine (78,26 %). Pri sliepočkách sme zistili opačnú tendenciu, kde štatisticky nepreukazne ($P \geq 0,05$) bola vyššia jatočná výťažnosť u sliepočiek v pokusnej skupine (78,71 %) oproti kontrolnej (78,60 %). Hodnoty jatočnej výťažnosti u hybridnej kombinácie Ross 308 v sledovaných skupinách experimentu pri výkrmu do 40. dňa ich veku sú pomerne vysoké, nakoľko prekračujú v priemere úroveň normovanej výťažnosti až o 6,48, resp. 6,69 %. Tendenciu

Tabuľka 3: Mäsová úžitkovosť kurčiat Ross 308 bez ohľadu na pohlavie

Sledovaný ukazovateľ	Skupina	\bar{x}	s	min.	max.	v %	t-test
Porážková hmotnosť (g)	Kontrolná	1938,40	171,32	1753,00	2214,00	8,84	K:P -
	Pokusná	2012,20	159,62	1835,00	2244,00	7,93	
Hmotnosť JOT (g)	Kontrolná	1370,84	124,04	1242,00	1575,00	9,05	K:P -
	Pokusná	1432,80	118,58	1302,00	1645,00	8,28	
Hmotnosť drobov (g)	Kontrolná	154,65	20,09	127,29	187,71	12,99	K:P -
	Pokusná	146,88	14,44	130,08	170,16	9,83	
Jatočná výťažnosť (%)	Kontrolná	78,69	0,81	77,03	79,89	1,02	K:P -
	Pokusná	78,483	1,22	76,67	80,33	1,56	

Pozn.: $P \geq 0,05$ -, K – kontrolná skupina, P – pokusná skupina

zvýšenia jatočnej výťažnosti rôznych hybridných kombinácií kurčiat oproti normovanej výťažnosti potvrdzujú aj výsledky Uhrína et al. (1993), Králik et al. (1999), Strakovej et al. (2002) ako aj Haščika et al. (2004, 2005a, 2009). Zároveň aj Shalmany et al. (2006) a Seven et al. (2008) pri aplikácii propolisu u kurčiat Ross 308 zistili podobne ako v našom experimente jeho pozitívny vplyv na jatočnú výťažnosť, kde hodnoty boli od 76 do 77 %, t.j. zvýšenie v priemere o 1 až 2 %.

ZÁVER

Z výsledkov experimentu vyplýva, že propolis aplikovaný cez kŕmne zmesi kurčiatom Ross 308 počas celej doby výkrmu (40 dní) svojim účinkom zvýšil porážkovú hmotnosť u sliepok na konci výkrmu ($P \leq 0,01$), hmotnosť JOT ($P \leq 0,01$), ale mierne znížil ($P \geq 0,05$) hmotnosť drobov a jatočnú výťažnosť. U kohútov sa dosiahla podobná tendencia ako u sliepok, kde vyššie hodnoty ($P \geq 0,05$) porážkovej hmotnosti a hmotnosti JOT boli v skupine kŕmenou s doplnkom extraktu propolisu a mierne nižšie hodnoty ($P \geq 0,05$) boli v hmotnosti drobov a v jatočnej výťažnosti.

Aplikácia propolisu na základe výsledkov experimentu a výsledkov aj iných autorov potvrdzuje jeho vhodnosť zapracovania do kŕmnych zmesí pre kurčatá, nakoľko jeho pôsobením sa zvyšujú parametre mäsovej úžitkovosti kurčiat a pozitívne môže byť ovplyvnená aj celková ekonomika výroby hydinového mäsa, ktorého prevažnú časť tvoria výkrmové kurčatá a zároveň jeho aplikácia nenaruša vlastnú pohodu zvierat.

LITERATÚRA

ANGELOVIČOVÁ, M. 1999. Výživa a kŕmenie vysokoužitkovej hydiny. In: Nitra, SPU, 1999, s. 39-41, ISBN 80-7137-60.

ANGELOVIČOVÁ, M., MELEN, M., TURIANICA, I., ANGELOVIČ, M. 2005. Použitie jódovaného oleja vo výžive výkrmových kurčiat. In: 6. Kabrtovy dietetické dny. Brno : FVU, 2005, s. 74-82.

ANGELOVIČOVÁ, M., MELLEN, M., ANGELOVIČ, M. 2006. Uplatnenie biotechnologického postupu náhrady kŕmneho antibiotika premixom škoricovej silice vo výžive výkrmových kurčiat. In: Biotechnológie 2006, JU: České Budejovice, 2006, s. 134-136. ISBN 8085-645-53-X.

ANGELOVIČOVÁ, M., LADYKOVÁ, M., LIPTAIOVÁ, D., MOČÁR, K.- ŠTOFAN, D. 2008. Riešenie náhrady kŕmnych antibiotík rastlinnými silicami pri výrobe kurčacieho mäsa In: IX. potravinárska konferencia : otvorené fórum o stave bezpečnosti, kvality a kontroly potravín, Bratislava 12. - 13. februára 2008. Košice, s. 41-45.

ANGELOVIČOVÁ, M., ANGELOVIČ, M. 2009. Zhodnotenie efektivity výkrmu kurčiat vo vŕahu k ich produkcii. In: Bezpečnosť a kontrola potravín : zborník prác z medzinárodnej vedeckej konferencie, SPU Nitra, 1. - 2. apríl 2009., s. 199-203, ISBN 978-80-552-0193-1.

ARPÁŠOVÁ, H., JEDLIČKA, J., TOMAN, R., HAŠČÍK, P., ČUBOŇ, J. 2002. Vplyv zmagnetizovaného krmiva na rast kurčiat. In: Sborník z mezinárodní konference:

„Technologické systémy v chovu drúbeže“, MZLU, Brno, 2002, s. 183-185, ISBN 80-7157-579-8.

ARPÁŠOVÁ, H., PETROVIČ, V., MELLEN, M., KAČÁNIOVÁ, M., ČOBANOVÁ, K., LENG, E. 2009a. The effects of supplementing sodium selenite and selenized yeast to the diet for laying hens on the quality and mineral content of eggs. In: *Journal of Animal and Feed Sci.*, vol. 18, 2009, no. 1, pp. 90-100.

ARPÁŠOVÁ, H., MELLEN, M., KAČÁNIOVÁ, M., HAŠČÍK, P., PETROVIČ, V., ČOBANOVÁ, K., LENG, E. 2009b. Effects of dietary supplementation of sodium selenite and selenized yeast on selected qualitative parameters of laying hens eggs. In: *Slovak Journal Anim. Sci.*, vol. 42, 2009, no. 1, pp. 27-33.

BANSKOTA, A. H., TEZUKA, Y., ADNYANA, I. K. 2001. Hepatoprotective and anti *Helicobacter pylori* activities of constituents from Brazilian propolis. In: *Phytomedicine*, vol. 8, 2001, pp. 16-23.

BASILE, A., SENATORE, F., GARGANO, R. et al. 2006. Antibacterial and antioxidant activities in *Sidertis italica*(miller) Greuter et Burdet essential oils. In: *J. Ethnopharmacol.*, vol. 107, 2006, pp. 240-248.

BENKOVÁ, J. 2001. Analýza jatočnej kvality a nutričnej hodnoty genofondu importovaných kurčiat do SR v roku 2001. In: Správa za účelovú činnosť. Nitra, VUŽV, SCHŠH Ivánka pri Dunaji, 2001, s. 1-16.

BENKOVÁ, J., BAUNGARTNER, J., LICHVÁR, I. 2002. Vzťah genotypu, pohlavia a výživy kurčiat hybridnej kombinácie Hybro G. In Zborník z vedeckej konferencie: „Chov hydiny a malých hospodárskych zvierat v 3. tisícročí“, Nitra, SPU, 2002, s. 59-62, ISBN 80-8069-074-X.

BOZIN, B., MIMICA-DUKIC, N., SIMIN, N. et al. 2006. Charakterization of the volatile composition of essential oils of some lamiaceae spices and the microbial and antioxidant activities of the entire oils. In: *J. Agric. Food Chem.*, vol. 54, 2006, p. 1822-1828.

BURDOCK, G. A. 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). In: *Food and Chemical Toxicology*, vol. 36, 1998, pp. 347-363.

CARAZZONI, V., ADAMI, A., CASTROVILLI, C. 1998. Performance of broiler chicken supplemented with *Bacillus coagulans* as probiotic. In: *Brit. Poultry Sci.*, vol. 39, 1998, pp. 526-529.

CORRIER, D. E., NISBET, D. J., SCANLAN, C. M., HOLLISTER, A. G., CALWELL, D. J., THOMAS, L. A., HARGIS, B. M., TOMKINS, T., DELOACH, J. R. 1995. Treatment of commercial broiler chickens with a characterized culture of cecal bacteria to reduce salmonellae colonization. In: *Poult. Sci.* vol. 74, 1995, no. 6, pp. 1093-1101.

DEMETEROVÁ, M. 2004. Súčasné trendy vo výžive hydiny. In: *Slovenský veterinársky časopis*, roč. 29, 2004, č. 5, s. 38-40.

GHISALBERTI, E. L. 1979. Propolis: a review. In: *Bee World*, vol. 60, 1979, pp. 59-84.

- HAŠČÍK, P., KOVÁČ, M., HANZLÍK, K. 1994. Náhrada sójového extrahovaného šrotu repkovými výliskami v druhej fáze výkrmu brojlerových kurčiat. In: *Živočišna výroba*, 1994, č. 12, s. 1041-1048.
- HAŠČÍK, P., ČUBOŇ, J., VAGAČ, V. 2004. Hodnotenie senzorickej kvality hydínového mäsa vplyvom probiotického preparátu IMB 52. In: *Maso*, roč. 15, 2004, č.1, s.62-65.
- HAŠČÍK, P., ČUBOŇ, J., HORŇIAKOVÁ, E., KRIVÁNEK, L., KULÍŠEK, V. 2005a. Vzťah medzi aplikáciou probiotického preparátu a množstvom abdominálneho tuku u výkrmových kurčiat. In: *Agriculture (Poľnohospodárstvo)*, roč. 51, Nitra, 2005, č. 11, s. 574-579, ISSN 0551-3677.
- HAŠČÍK, P., WEIS, J., ČUBOŇ, J., KULÍŠEK, V., MAKOVICKÝ, P., KAČÁNIOVÁ, M. 2005b. Vplyv probiotického preparátu v KKZ brojlerových kurčiat ROSS 308 na chemické zloženie mäsa. In: *Acta fytotechnica et zootechnica*, roč. 8, 2005, č. 1, s. 20-24, ISSN 1335- 258X.
- HAŠČÍK, P., ČUBOŇ, J., KAČÁNIOVÁ, M., UBREŽIOVÁ, I. 2007. Vpvyv nových trendov na ekonomiku výroby hydínového mäsa. In: *Acta oeconomica er informatica*, roč. 10, 2007, č. 1, s. 17-20.
- HAŠČÍK, P., KAČÁNIOVÁ, M., ČUBOŇ, J., KULÍŠEK, V., VAVRIŠINOVÁ, K., ARPÁŠOVÁ, H. 2008. Probiotiká ako možný vektor pri tvorbe bielkovín v mäse výkrmových kurčiat. In: *Proteiny 2008 : sborník príspevků V. ročníku mezinárodní konference*, Univerzita Tomáše Bati , Zlín, 21.-22. května 2008, s. 45-49, ISBN 978-80-7318-706-4.
- HAŠČÍK, P., KAČÁNIOVÁ, M., ČUBOŇ, J., BOBKO, M., VAVRIŠINOVÁ, K., ARPÁŠOVÁ, H., MIHOK, M., PAVLIČOVÁ, S. 2009. Effect of *Lactobacillus fermentum* application by water to chicken Ross 308 at meat chemical composition. In: *Potravinárstvo*, vol. 3, 2009, no. 2, pp. 22-27.
- CHENG, P. C., WONG, G. 1996. Honey bee propolis: prospects in medicine. In: *Bee World* vol. 77,1996, pp. 8-15.
- ISLA, M. I., MORENO, M. I. N., SAMPIETRO, A. R., VATTUONE, M.A. 2001. Antioxidant activity of Argentina propolis extracts. In: *J. Ethnopharmacol.*, vol. 76, 2001, pp.165-170.
- JONES, R. J., WISEMAN, J. 1985. Chemical Composition and Nutritive Value of Naked Oats (*Avena nuda L.*) in Broiler Diets. In: *Brit. Poult. Sci.*, vol. 26, 1985, no. 3, pp. 529-535.
- KAČÁNIOVÁ, M., ČUBOŇ, J., HAŠČÍK, P., PAVLIČOVÁ, S. 2005. Effect of *Enterococcus faecium* on some characteristic in the intestine of chickens and its typisation by PCR. In: *Acta fytotechnica et zootechnica*, vol. 8, 2005, no. 1, p. 17-20.
- KAČÁNIOVÁ, M., KMEŤ, V., ČUBOŇ, J. 2006a. The Effect *Enterococcus faecium* to the Digestive Tract of Poultry as a Probiotic. In: *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 2006, vol. 30, pp. 291– 298.
- KAČÁNIOVÁ, M., PETROVÁ, J., HAŠČÍK, P., ČUBOŇ, J., PAVLIČOVÁ, S. 2006b. Colonization of gastrointestinal tract of turkeys after probiotics and prebiotics application. In: *Slovak J. Anim. Sci.*, vol. 39, 2006, no. 3, pp. 155-159.
- KAČÁNIOVÁ, M., FIKSELOVÁ, M., PAVLIČOVÁ, S., SUDZINA, M., SUDZINOVÁ, J., HAŠČÍK, P. 2007. Rody *Sporolactobacillus*, *Bacillus* a *Brevibacillus* používané ako probiotiká. In: *Agromagazin*, roč. 8, 2007, č. 10, s. 34–35.
- KOČÍ, Š. 1983. Účinnosť doplnkov syntetických aminokyselín v nízkoproteínových krmných zmesiach produkčných sliepok. In: *Záverečná správa, Výskumný ústav hydínárstva, Ivánka pri Dunaji*, 1983, 27 s.
- KRÁLIK, G. , KUŠEC, G., SCITOVSKI, R. 1999. Růst a kvalita jatečného trupu u brojlerů. In: *Czech. J. Anim. Sci.*, roč. 49, 1999, č. 5, s. 233-239.
- KUMPRECHTOVÁ, D., ZOBAC, P., KUMPRECHT, I. 1999. Vliv kontinuální aplikace vybraných probiotických preparátů na úžitkovost kuřecích brojlerů a vylučování dusíka exkrementy. In: *Výroba drůbežihho masa*, Brno, MZLU, 1999, s. 71–74.
- LIPTAIOVÁ, D., HAGAROVÁ, M., KLIMENT, M., MRÁZOVÁ, E., ANGELOVIČOVÁ, M., ANGELOVIČ, M., MOČÁR, K. - ŠTOFAN, D. 2009. Obohatenie krmných zmesí so *Sacharomyces cerevisiae* vo vzťahu k ich bielkovinovej a produkčnej účinnosti u výkrmových kurčiat. In: *Acta fytotechnica et zootechnica*, mimoriadne číslo, Nitra, SPU, 2009, s. 369-375.
- MARCIN, A., MOLNÁROVÁ, I., VALIGA, J. et al. 2004. Využitie krmných aditív rastlinného pôvodu, modifikujúcich metabolickú aktivitu v gastrointestinálnom trakte, vo výžive hospodárskych zvierat. In: *Správa za účelovú činnosť, Michalovce : Oblastný výskumný ústav agroekológie*, 2004.
- MARKHAM, K.R., MITCHELL, K.A., WILKINS, A. L., DALDY, J.A., LU, Y. 1996. HPLC and GC-MS identification of the major organic constituents in New Zealand propolis. In: *Phytochemistry* , vol. 42, 1996, pp. 205-211.
- MIYATAKA, H., NISHIKI, M., MATSUMOTO, H., FUJIMOTO, T., MATSUKA, M., SATOH, T. 1997. Evaluation of Brazilian and Chinese propolis by enzymatic and physicochemical methods. In: *Biol. Pharm. Bull.*, vol. 20, 1997, pp. 496-501.
- MUDROŇOVÁ, D., NEMCOVÁ, R., GANCARČÍKOVÁ, S., JONECOVÁ, Z., BOMBA, A. 2005. Alternatíva antibiotík v odchove mláďat HZ. In: *Slovenský chov*, roč. 11, 2005, č. 1, s. 33-35.
- NOVÁKOVÁ, I., KAČÁNIOVÁ, M., HAŠČÍK, P., FIKSELOVÁ, M., MOČÁR, K., LIPTAIOVÁ, D., ŠTOFAN, D., PAVLIČOVÁ, S., TRAKOVICKÁ, A. 2008. Účinok podávania probiotík na podporu mikroflóry gastrointestinálneho traktu výkrmových kurčiat. In: *Bezpečnosť a kvalita surovín a potravín*, SPU, Nitra, 2008, s. 398-402, ISBN 978-80-8069-996-3.
- OPLETAL, L. 2006. Performing nature – aplikovaná príroda. In: *Slovenský chov*, 2006, roč. 11 , 2006, č. 6, s. 44.
- OTA, C., UNTERKICHER, C., FANTINATO, V., SHIMIZU, M. T. 2001. Antifungal activity of propolis on different species of *Candida*. In: *Mycoses*, vol. 44, 2001, pp. 375-378.
- PEPELJNIAK, S., JALSENIAK, I., MAYSINGER, D. 1985. Flavonoid content in propolis extracts and growth

- inhibition of *Bacillus subtilis*. In: *Pharmazie*, vol. 40, 1985, pp. 122–123.
- POLÁK, R. 2003. Vplyv použitia enzýmu 3 – fytáza na úžitkové parametre vo výkrme brojlerov. In: *Slovenský chov*, roč. VII, 2003, č. 7, s. 30-31.
- POKORNÁ, V. 2003. Vliv enzymových preparátů 3, fytázy a endo - xylanázy v krmných směsích BR 1 – 3 na ukazatele výkrmu brojlerových kuřat. In: *Krmivářství*, roč. 7, 2003, č. 3, s. 21-24.
- RYCHLÁ, J., ŘEZNÍČEK, M. 2000. Vyhodnocení výkrmu brojlerů v Roženticích. In *Náš chov*, roč. LX, 2000, č. 11, s. 35–36.
- SEVEN, T. P., SEVEN, I., YILMAZ, M., SIMSEK, G. Ü. 2008. The effects of Turkish propolis on growth and carcass characteristics in broilers under heat stress. In: *Animal Feed Science and Technology*, vol. 146, 2008, pp. 137-148.
- SHALMANY, S. K., SHIVAZAD, M. 2006. The effect of diet propolis supplementation on Ross broiler chicks performance. In: *International J. Poult. Sci.*, vol. 5, no.1, 2006, pp. 84-88.
- SIMEONOVÁ, J., INGR, I. 2000. Výkrm kohoutků a slepiček do vyššího věku a hmotnosti ve vztahu k výtěžnosti masa a jatečných částí. In: *Maso*, roč. 11, 2000, č. 5, s. 13-16.
- SINGH, G., MARIMUTHU, P., DE HELUANI, C. S. et al. 2006. Antioxidant and biocidal activities of *Carum nigrum* essential oil, oleoresin, and their selected components. In: *J. Agric. Food. Chem.*, vol. 54, 2006, p. 174-181.
- STRAKOVÁ, E., SUCHÝ, P., PAŽOUT, V. 2002. Efekt výkrmu brojlerových kuřat do vyššího věku a hmotnosti. In *Technologické systémy v chovu drůbeže (sbor. z mezin. konfer.)*, Brno, MZLU, 2002, s. 165-168, ISBN 80–7157–579–8.
- SUN, F., HAYAMI, S., HARUNA, S., OGIRI, Y., TANAKA, K., YAMADA, Y., IKEDA, K., YAMADA, H., SUGIMOTO, H., KAWAI, N., KOJO, S. 2000. In: vivo antioxidative activity of propolis evaluated by the interaction with vitamin C and vitamin E and the level of lipid hydroperoxides in rats. In: *J. Agric. Food Chem.*, vol. 48, 2000, pp. 1462-1465.
- TREVISAN, M. T., VASCONCELOS, SILVA, M. G., PFUNDSTEIN, B. et al. 2006. Charakterization of the volatil pattern and antioxidant capacity of essential oils from different species of the genus *Ocimum*. In: *J. Agri. Food Chem.*, vol. 52, 2006, pp. 4378-4382.
- TUBEROSO, C. I., KOWALCZYK, A., CORONEO, V. et al. 2005. Chemical composition and antioxidant, antimicrobial and antifungal activities of the essential oils of *Achillea ligustica* all. In: *J. Agric. Food Chem.*, vol. 53, 2005, pp. 10148 - 10153.
- UHRÍN, V., HORVÁTHOVÁ, V., HORNIÁKOVÁ, E., CHMELNIČNÁ, Ľ., BULLA, J. 1993: Kvalita hydínového mäsa. In *Acta Zootechnica*, Nitra, VŠP, 1993, 111 s., ISBN–80–7137–124–6.
- VALLE, M. L. 2000. Quantitative determination of antibacterian capacities of propolis. In: *Apiacta*, vol. 35, 2000, pp. 152-161.
- VELIKOVA, M., BANKOVÁ, V., TSVETKOVA, I., KUJUMGIEV, A., MARCUCCI, M.C. 2000. Antibacterial ent-kaurene from Brazilian propolis of native stingless bees. In: *Fitoterapia*, vol. 71, 2000, pp. 693–696.

Pod'akovanie: Práca bola riešená v rámci projektu VEGA 1/0360/09.

Kontaktná adresa:

doc. Ing. Peter Haščík, PhD. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Katedra hodnotenia a spracovania živočíšnych produktov. Tr. A .Hlinku 2, 949 76 Nitra, email: peter.hascik@uniag.sk

MIGRACE FTALÁTŮ Z PLASTOVÉ NÁDŽE DO ROSTLINNÝCH OLEJŮ JAKO SOUČÁSTÍ KRMNÝCH SMĚSÍ POUŽÍVANÝCH K VÝKRMU KUŘECÍCH BROJLERŮ

MIGRATION OF PHTHALATES FROM PLASTIC TANK TO VEGETABLE OIL AS A PART OF FEEDING MIXTURES USED FOR CHICKEN BROILERS FATTENING

Alžbeta Jarošová, Vlasta Stancová, Jiří Harazim, Pavel Suchý

ABSTRACT

The concentrations of phthalic acid esters (PAEs) as di-n-butyl phthalate (DBP) and di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) were measured in samples of rapeseed oil, which was used as a feed. First samples were collected during the production process and second after the storage in plastic tank (21 days). The results of measurements are that there is 2.93-10.10 mg PAEs.kg⁻¹ in the oil before storage and 22.73-61.55 mg PAEs.kg⁻¹ after storage.

For the monitoring of distribution and accumulation of PAEs in animal tissues and organs (muscles, adipose tissue, skin and liver) broiler chicks ROSS 308 were used. The chicks were divided into 4 groups (50 chicks each). All the chicks were fed by commercial diets (complete feed, KKS) for broiler chicks (starter – BR1; grower – BR2 and finisher – BR3). The experimental diets were supplemented with vegetable oil (RO) with low (group N) or high (group V) phthalate content, or animal fat with high phthalate content (group Z). Neither the control diets (K) nor the grower (BR1) diets contained vegetable oil or animal fat. DBP and DEHP were found in all tissues of all chicks. The highest concentration of DBP of 1.28 ± 1.00 mg.kg⁻¹ of fresh sample (an average value from 8 chicks) was determined in the adipose tissue of V chicks. The highest concentration of DEHP of 3.27 ± 2.87 mg.kg⁻¹ of fresh sample (average of 8 chicks) was also determined in the V group.

Keywords: DBP, DEHP, analysis, monitoring, contamination, feed material, plastic

ÚVOD

Estery kyseliny ftalové (PAE) představují početnou skupinu průmyslových chemikálií se širokým využitím asi od 30. let 20. století. Mezi nejčastěji se vyskytující ftaláty patří di-(2-ethylhexyl) ftalát (DEHP) a di-n-butyl ftalát (DBP). Ftaláty se staly ubiquitárními kontaminanty životního prostředí, nacházíme je v půdě, vodě, ovzduší, těle zvířat i lidí (Schettler, 2006). V dnešní době jsou lidé působení ftalátů vystaveni během celého života, dokonce i během prenatálního vývoje. Přítomnost těchto kontaminantů byla zjištěna i v mateřském mléce (Zhu et al., 2006). Za nejrizikovější skupinu populace jsou považovány děti. Expozice ftalátů u dětí je vzhledem k jejich tělesné hmotnosti dvakrát tak vysoká než u dospělých (Koch et al., 2006). Další ohroženou skupinou jsou i pacienti léčení hemodialýzou, kteří jsou působení ftalátů ze zdravotnických materiálů (dialyzační, infuzní sety) vystaveni dlouhodobě (Tickner et al., 2001). Akutní toxicita ftalátů je velice nízká, z pohledu chronické toxicity byly prokázány jejich negativní účinky. DEHP vykazuje vývojovou (Högberg et al., 2008) a reprodukční toxicitu (Martino-Andrade a Chahoud, 2010) u zvířat a u lidí narušuje endokrinní systém (Koch et al., 2006).

PAE se používají jako plastifikátory, které umožňují pružnost PVC materiálu. Plastifikátory nejsou v matrici plastu pevně vázány, proto se uvolňují do prostředí a látek, se kterými přicházejí do kontaktu. Nejčastěji používaným plastifikátorem je DEHP. Většina potravin, která přišla do kontaktu s plastovými obaly, obsahovala DEHP a DBP (Wormuth et al., 2006). Jejich přítomnost byla zjištěna i v kompletních krmných směsích (KKS), (Raszyk et al., 1998) a krmných složkách pro hospodářská zvířata (Jarošová et al., 2009a). Ke kontaminaci KKS dochází i z rizikových komponent, vyluhováním z plastů, obalů (Harazim et al., 2008).

Cílem práce bylo prokázat, že zvyšující se hladiny PAE v krmivu působí zvyšování obsahu PAE ve tkáních a orgánech kuřat.

MATERIÁL

Řepkový olej

Vzorky řepkového oleje byly odebírány u výrobce krmné suroviny, který je registrován podle Nařízení č. 183/2005 o hygieně krmiv, v průběhu technologického procesu výroby přímo za olejovými lisami. Lisování probíhalo po dobu pěti dnů a v průběhu lisování bylo v pravidelných intervalech odebráno 8 vzorků (n=8, A1 až A8). Bezprostředně po vylisování byl olej přečerpáván do plastové nádrže (2x3x2m), kde byl skladován po dobu 21 dnů. Po ukončení doby skladování byl řepkový olej přečerpáván z plastové nádrže do cisterny nákladního auta. V průběhu přečerpávání bylo v pravidelných intervalech odebráno 8 vzorků (n=8, C1 až C8).

Byla analyzována i plastová nádrž, v které byl olej skladován.

Kuřecí brojleři

Do pokusu bylo zařazeno 200 kusů jednodenních kuřat ROSS 308. Kuřata byla rozdělena do 4 skupin (v každé skupině 50 kuřat) – Tab 1.

Výkrm probíhal do 42. dne. Brojlerová kuřata byla krmena komerčně vyrobenými kompletními krmnými směslemi (KKS) pro brojlerová kuřata (BR1; BR2 a BR3), podle stáří kuřat. Do KKS byl přidáván rostlinný olej (RO) s nízkým (skupina kuřat „N“), nebo vysokým obsahem ftalátů (skupina kuřat „V“), nebo živočišný tuk (ŽT) s vysokým obsahem ftalátů (skupina kuřat „Ž“). Přidávané rostlinné oleje a tuk byly odebrány od registrovaných výrobců krmných surovin. Rostlinný řepkový olej, který

byl určen jak pro humánní výživu, tak pro výživu zvířat, byl ihned po vylisování přečerpáván a skladován ve dvou nádržích, z nichž jedna byla ocelová (nízký obsah ftalátů), jedna plastová (vysoký obsah ftalátů). Rostlinné oleje byly odebrány z nádrží po 21 dnech skladování.

Obsahy DBP a DEHP ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v krmivech, která byla podávána kuřatům kontrolní skupiny (K), kuřatům skupiny s nízkým obsahem ftalátů (N), kuřatům skupiny s vysokým obsahem ftalátů (V) a kuřatům skupiny s přidavkem živočišného tuku (Ž) jsou uvedeny v Tab 2.

Kuřata hybrida ROSS 308 byla chována v akreditované experimentální stáji Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně (VFU Brno), (Jarošová et al., 2009b).

Pro chemickou analýzu bylo náhodným výběrem z každé skupiny vybráno 8 kuřat (4 slepičky a 4 kohoutci). Průměrné hmotnosti (kg) (průměr \pm SD.) kontrolních (K) a pokusných kuřat (N, V, Ž) před porážkou byly: K – 2,42 \pm 0,33; N – 2,39 \pm 0,30; V – 2,30 \pm 0,43; 2,50 \pm 0,35 a pohybovaly se od 1,56 do 3,14 kg. Kuřata po omračení byla pařena horkou vodou a oškubána tak, aby nedošlo k poškození kůže. Jatečná těla kuřat byla zpracována a

METODY

Vzorky olejů byly odebírány do skleněných láhví a skladovány při chladírenských teplotách do 5 °C.

Vzorky krmiv požitě k výkrmu kuřat byly odebírány do mikroténových sáčků a do doby analýzy zamrazeny a bezprostředně před analýzou lyofilizovány.

Vzorky tkání byly odebrány ihned po poražení zvířat, homogenizovány, naváženy do aluminiových misek (50-300g) a zamrazeny. Postupně byly zmrazené vzorky lyofilizovány.

Rezidua PAE byla extrahována n-hexanem. Od koextraktů byly PAE separovány gelovou permeační chromatografií na gelu Bio beads S-X3. Pro dočištění eluátů bylo použito čistícího postupu s koncentrovanou kyselinou sírovou. Stanovení PAE bylo provedeno vysoko účinnou kapalinovou chromatografií (HPLC), kapalinový chromatograf Agilent Technologies LC/MSD VL, na koloně Cogent e-Colum C 18, zrnění 5 μm , délka 150 mm, Super Link s UV a MS detekcí, mobilní fáze acetonitril: voda (99:1). Vyhodnocení bylo provedeno programem Agilent chemstation.

Pro stanovení PAE byly použity zavedené metody pro

Tab 1: Skupiny kuřat a kompletní krmné směsi (KKS) BR1, BR2, BR3 bez přidavku tuku (skupina kuřat K), s přidavkem rostlinného oleje (RO) s nízkým obsahem ftalátů (skupina kuřat N), rostlinného oleje s vysokým obsahem ftalátů (skupina kuřat V) a KKS s přidavkem živočišného tuku (ŽT) s vysokým obsahem ftalátů (skupina kuřat Ž) používaných v průběhu výkrmu kuřat od 1. do 42. (1–21, 22–35, 36–42) dne

Skupiny kuřat	Krmivo použité v průběhu výkrmu		
	1–21	22–35	36–42
	[den]		
K	KKS BR1 (netukovaná)	KKS BR2 (netukovaná)	KKS BR3 (netukovaná)
N	KKS BR1 (netukovaná)	KKS BR2 s přidavkem 5 % RO s nízkým obsahem ftalátů	KKS BR3 s přidavkem 3 % RO s nízkým obsahem ftalátů
V	KKS BR1 (netukovaná)	KKS BR2 s přidavkem 5 % RO s vysokým obsahem ftalátů	KKS BR3 s přidavkem 3 % RO s vysokým obsahem ftalátů
Ž	KKS BR1 (netukovaná)	KKS BR2 s přidavkem 5 % ŽT s vysokým obsahem ftalátů	KKS BR3 s přidavkem 3 % ŽT s vysokým obsahem ftalátů

chemická analýza provedena na Ústavu technologie potravin Mendelovy univerzity v Brně. Na obsah DEHP a DBP byla analyzována svalovina (směsný vzorek prsní a stehenní svaloviny levé půlky), kůže a mezenteriální tuk. Játra byla pro malou hmotnost analyzována jako směsný vzorek (homogenát 8 jater z každé skupiny).

U kontrolních i pokusných kuřat bylo stanovení DEHP a DBP provedeno individuálně u každého kuřete.

stanovení ftalátů v potravinách (Jarošová et al., 1998 a 1999). Souběžně u každého vzorku byla stanovena sušina a obsah tuku soxhletem.

Všechny vzorky byly analyzovány v duplikátech. Koncentrace DEHP a DBP jsou vztaheny na původní vzorek.

Tab 2: Koncentrace DBP a DEHP ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v použitých tucích a kompletních krmných směsích, která přijímala kuřata skupin K, N, V a Ž od 1. do 42. dne

Krmivo	DBP	DEHP	Σ DBP + DEHP
	[$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$]		
KKS BR1 – K, N, V, Ž	0,96	0,48	1,44
KKS BR2 – K	1,37	0,52	1,89
KKS BR3 – K	1,02	0,76	1,78
rostlinný olej s nízkým obsahem ftalátů – N	15,56	2,25	17,81
rostlinný olej s vysokým obsahem ftalátů – V	51,35	7,0	58,35
živočišný tuk s vysokým obsahem ftalátů – Ž	43,28	2,10	45,38
KKS BR2 – N	2,15	0,63	2,78
KKS BR3 – N	1,49	0,83	2,32
KKS BR2 – V	3,94	0,87	4,81
KKS BR3 – V	2,56	0,97	3,53
KKS BR2 – Ž	3,53	0,63	4,16
KKS BR3 – Ž	2,32	0,82	3,14

Získané výsledky byly statisticky vyhodnoceny pomocí programu Unistat 5.1. Pro zpracování dat byla použita ANOVA a následně mnohonásobné srovnání pomocí Tukey-HSD testu k nalezení dvojic skupin se statisticky významnými rozdíly (Zar, 1999).

DBP se nejvíce kumuloval v tuku kuřat. Průměrné koncentrace DBP v tuku jednotlivých skupin kuřat se pohybovaly v rozmezí 0,55 až 1,28 mg.kg⁻¹. Nejvyšší koncentrace DBP v tuku byla zjištěna u skupiny kuřat „V“ a to 1,28±1,00 mg.kg⁻¹. V kůži kuřat byla zjištěna druhá

Tab. 3: Průměrné hodnoty DBP a DEHP (x ± S.D) v mg.kg⁻¹ původního vzorku ve svalovině, tuku, kůži a játrech kuřat kontrolní skupiny (K), skupiny kuřat krmných krmivem s nízkým obsahem ftalátů (N), skupiny kuřat krmných krmivem s vysokým obsahem ftalátů (V), skupiny kuřat krmných krmivem s přidavkem živočišného tuku (Ž), (n = 8)

Vzorky	K	N	V	Ž
	kontrolní skupina kuřat	kuřata krmna krmivem s nízkým obsahem ftalátů	kuřata krmna krmivem s vysokým obsahem ftalátů	kuřata krmna přidavkem živočišného tuku do krmiva
	mg.kg ⁻¹			
Svalovina				
DBP	0,22±0,10 (0,10–0,36)	0,08±0,04 (0,03–0,15) a,b	0,15±0,07 (0,07–0,33)	0,22±0,19 (0,07–0,55)
DEHP	0,35±0,08 (0,20–0,45)	0,08±0,04 (0,03–0,14)	0,32±0,18 (0,09–0,62)	0,39±0,30 (0,19–1,15)
Tuk				
DBP	0,55±0,36 0,24–1,45	0,59±0,46 < 0,20–1,70	1,28±1,00 0,28–2,56	0,89±0,74 0,34–2,54
DEHP	1,38±0,91 0,31–3,08	1,92±1,35 0,67–4,96	3,27±2,87 0,71–9,85	1,85±1,27 0,25–3,84
Kůže				
DBP	0,39±0,23 < 0,20–0,78	0,51±0,39 0,20–1,49	0,57±0,37 0,23–1,14	0,44±0,17 0,21–0,73
DEHP	1,18±1,36 0,31–4,68	1,10±0,55 0,58–1,95	1,38±1,07 0,33–3,61	1,60±,01 <,20–3,02
Játra*				
DBP	0,05	0,03	0,11	0,13
DEHP	0,16	0,16	0,24	0,23

*analyzována jako směsný vzorek

Mez stanovitelnosti DBP a DEHP v tukových maticích – 0,2 mg.kg⁻¹ Mez stanovitelnosti DBP a DEHP pro živočišný a rostl. materiál s nízkým obsahem tuku – 0,03 mg.kg⁻¹, a – vůči K statisticky významné (P < 0,05), b – vůči Ž statisticky významné (P < 0,05)

VÝSLEDKY A DISKUSE

Analýzou plastové nádrže byl zjištěn obsah PAE (suma DBP a DEHP) 335,52 mg.kg⁻¹ původního vzorku. Koncentrace sumy PAE u lisovaného oleje před skladováním se pohybovala od 2,93 do 10,10 mg.kg⁻¹. Po 21 dnech skladování řepkového oleje v plastové nádrži dosáhla koncentrace PAE hodnot od 22,73 do 61,55 mg.kg⁻¹. Byl zjištěn vysoce průkazný rozdíl obsahů DBP, DEHP a sumy DBP a DEHP mezi olejem vzorkovaným bezprostředně po vylisování a olejem vzorkovaným po 21 dnech skladování (P < 0,01), (Harazim et al., 2008).

Výsledky našeho experimentu jsou v souladu se zjištěním Imhof et al. (1994), který uvádí, že estery kyseliny ftalové jsou rovněž v mléčných produktech, a že možnými zdroji jsou vzduch, voda, krmiva a migrace z obalových materiálů. Rovněž Latini (2005) uvádí, že DEHP je nejrozšířeněji užívaným změkčovadlem v PVC materiálech. Experimentem zjištěna skutečnost, že došlo k průniku esterů kyseliny ftalové ze skladovací plastové nádrže do řepkového oleje nás přimělo k provedení pokusu s kuřecími brojlery, u kterých se sledoval vliv obsahu ftalátů v krmivu na jejich distribuci a kumulaci ve tkáních a orgánech.

Koncentrace DBP a DEHP ve svalovině, v tuku, kůži a játrech kuřat kontrolní skupiny (K), kuřat skupiny krmných krmivem s nízkým obsahem ftalátů (N), kuřat skupiny krmných krmivem s vysokým obsahem ftalátů (V) a kuřat skupiny krmných krmivem s přidavkem živočišného tuku (Ž) jsou uvedeny v Tab. 3.

nejvyšší koncentrace DBP. Průměrné koncentrace DBP v kůži kuřat jednotlivých skupin kolísaly v úzkém rozsahu 0,39 až 0,57 mg.kg⁻¹. Nejvyšší koncentrace DBP v kůži byla rovněž zjištěna u skupiny kuřat „V“ a to 0,57±0,37 mg.kg⁻¹. Průměrné koncentrace DBP ve svalovině kuřat jednotlivých skupin se pohybovaly v rozsahu 0,08 až 0,22 mg.kg⁻¹. Nejnižší koncentrace DBP byly zjištěny v játrech kuřat. Průměrné koncentrace DBP v játrech jednotlivých skupin se pohybovaly v rozsahu 0,03 až 0,13 mg.kg⁻¹.

DEHP se podobně jako DBP nejvíce kumuloval v tuku kuřat. Průměrné koncentrace DEHP v tuku u jednotlivých skupin kuřat se pohybovaly v rozmezí 1,38 až 3,27 mg.kg⁻¹. Nejvyšší koncentrace DEHP v tuku byla zjištěna u skupiny kuřat „V“ a to 3,27±2,87 mg.kg⁻¹. V kůži kuřat byla zjištěna druhá nejvyšší koncentrace DEHP. Průměrné koncentrace DEHP v kůži kuřat jednotlivých skupin kolísaly v rozsahu 1,10 až 1,60 mg.kg⁻¹. Nejvyšší koncentrace DEHP v kůži byla zjištěna u skupiny kuřat „Ž“ a to 1,60±1,01 mg.kg⁻¹.

Průměrné koncentrace DEHP ve svalovině kuřat jednotlivých skupin se pohybovaly v rozsahu 0,08 až 0,39 mg.kg⁻¹. Nejvyšší koncentrace DEHP ve svalovině byla zjištěna u skupiny kuřat „Ž“ a to 0,39±0,30 mg.kg⁻¹. Nejnižší koncentrace DEHP byly zjištěny v játrech kuřat. Průměrné koncentrace DEHP v játrech jednotlivých skupin kuřat se pohybovaly v rozsahu 0,16 až 0,24 mg.kg⁻¹.

Ve svalovině, tuku, kůži i játrech byl obsah DEHP vždy vyšší, než obsah DBP. Ve svalovině 1,0 až 2,1 krát, v tuku

2,1 až 3,2 krát, v kůži 2,2 až 3,6 krát a játrech 1,8 až 5,3 krát.

Z hlediska kumulace byly v tuku a kůži u všech skupin kuřat zjištěny nejvyšší hodnoty ftalátů (sumy DBP a DEHP). Kuřata, která přijímala krmivo s vysokým obsahem ftalátů (V), stejně jako kuřata, která přijímala krmivo s přidávkou živočišného tuku (Ž) měla výrazně vyšší obsahy ftalátů v tuku, kůži a játrech, než kuřata kontrolní skupiny (K) a skupiny s nízkým obsahem ftalátů v krmivu (N).

Zjištěné rozdíly v koncentracích DBP a DEHP nebyly statisticky významné. Výjimkou byla koncentrace DEHP ve vzorcích svaloviny skupiny N, která byla testována jako statisticky významně nižší oproti skupinám K a Ž, koncentrace DBP a DEHP ve svalovině se však pohybovaly v blízkosti meze stanovitelnosti.

V naší předešlé práci (Jarošová et al., 1999) byla modelovými pokusy sledována distribuce a kumulace DEHP a DBP v tělesných tkáních prasat a brojlerů po perorálním podávání ftalátů. U brojlerů byly zjištěny tyto průměrné hodnoty: obsah DBP v kůži 0,9; ve svalovině 0,19; v mezenterálním tuku 3,13 a v játrech 0,27 mg.kg⁻¹ původního vzorku; obsah DEHP v kůži 8,28; ve svalovině 1,93; v mezenterálním tuku 18,20 a v játrech 0,32 mg.kg⁻¹ původního vzorku. V předkládané práci byly zjištěny hodnoty ftalátů poněkud nižší, hlavně v obsahu DEHP a DBP v kůži a tuku, což souviselo s obsahem PAE v krmné dávce.

ZÁVĚR

Hlavním zdrojem kontaminace rostlinného oleje byla plastová nádrž, ve které byl olej před expedicí skladován. Měsíční skladování rostlinného oleje v plastové nádrži výrazně zvyšuje obsah ftalátů v rostlinném oleji.

Zjištěné výsledky dokumentují, že komerční krmné směsi pro kuřata (KKS BR1, KKS BR2, KKS BR3) používané k výkrmu kuřat obsahují hladiny ftalátů (suma DBP a DEHP), mají za následek zvyšování obsahu ftalátů v orgánech a tkáních kuřat. K nejvyšší kumulaci ftalátů dochází v tuku kuřat. Tuk představuje vhodný indikátor kontaminace kuřat ftaláty. Byl prokázán průnik ftalátů z plastové skladovací nádrže do rostlinného oleje, což může mít za následek ohrožení potravního řetězce. Kompetentní orgány by měly legislativně stanovit maximální povolené koncentrace v potravinách a krmivech.

LITERATURA

HARAZIM, J., JAROŠOVÁ, A., KRÁTKÁ, L., STANCOVA, V., SUCHÝ, P., 2008. Contamination of feedstuffs with phthalic acid esters. *Toxicology Letters*, 2008, 180: 67. ISSN 0378-4274.

HÖGBERG, J., HANBERG, A., BERGLUND, M., SKERFVING, S., REMBERGER, M., CALAFAT, A. M., FILIPSSON, A. F., JANSSON, B., JOHANSSON, N., APPELGREN, M., HAKANSSON, H., 2008. Phthalate Diesters and Their Metabolites in Human Breast Milk, Blood or Serum, and Urine as Biomarkers of Exposure in Vulnerable Populations. *Environmental Health Perspectives*, 116(3), 2008, p. 334–339. ISSN 0091-6765.

IMHOF, R., GAUCH, R., SIEBER, R., BOSSET, J., 1994. About some volatile organic pollutants in milk and dairy products. *Mitteilungen aus dem Gebiete der*

Lebensmitteluntersuchung und Hygiene. 85(6). 1994, p. 681–703.

JAROŠOVÁ, A., GAJDUŠKOVÁ, V., RASZYK, J., ŠEVELA, K., 1998. Determination of phthalic acid esters (PAEs) in biological materials by HPLC. *Czech Journal of Food Sciences*, 16, 1998, 122–130. ISSN 1212-1800.

JAROŠOVÁ, A., GAJDUŠKOVÁ, V., RASZYK, J., ŠEVELA, K., 1999. Di-2-ethylhexyl phthalate and di-n-butyl phthalate in the tissues of pigs and broiler chicks after their oral administration. *Veterinarni Medicina*, 44 (3), 1999, p. 61–70. ISSN 0375-8427.

JAROŠOVÁ, A., HARAZIM, J., KRÁTKÁ, L., KOLENČIKOVÁ, D., 2009a. Screening of phthalic acid esters in feed ingredients, premixes and feed additives in the Czech republic. *Environmental Chemistry Letters*, Published online: 11 september 2009 (DOI 10.1007/s 10311-009-0237-7). ISSN 1804-0152.

JAROŠOVÁ, A., HARAZIM, J., SUCHÝ, P., KRÁTKÁ, L., STANCOVA, V., 2009b. The distribution and accumulation of phthalates in the organs and tissues of chicks after the administration of feedstuffs with different phthalate concentrations. *Veterinarni Medicina*, 54 (9), 2009, p. 427–434. ISSN 0375-8427.

KOCH, H. M., PREUSS, R., ANGERER, J. L., 2006. Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP): human metabolism and internal exposure-- an update and latest results. *International Journal of Andrology*, 29 (1), 2006, p. 155–165. ISSN 0105-6263.

LATINI, G., 2005. Monitoring phthalate exposure in human. *Clinica Chimica Acta*, 36, 2005, p. 20–29. ISSN 1803-7364.

MARTINO-ANDRADE, A. J., CHAHOUD, I., 2010. Reproductive toxicity of phthalate esters. *Molecular Nutrition & Food Research*, 54(1), 2010, P. 148–57. ISSN 1613-4125.

RASZYK, J., GAJDUŠKOVÁ, V., JAROŠOVÁ, A., SALAVA, J., PALÁC, J., 1998. Occurrence of phthalic acid esters (PAEs) in combined feedstuffs and adipose tissues of swine and cattle. *Veterinarni Medicina*, 43, 1998, p. 93–95. ISSN 0375-8427.

SCHETTLER, T., 2006. Human exposure to phthalates via consumer products. *International Journal of Andrology*, 29, 2006, p. 134–139. ISSN 1365-2605.

TICKNER, J. A., SCHETTLER, T., GUIDOTTI, T., McCALLY, M., ROSSI, M., 2001. Health risks posed by use of Di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) in PVC medical devices: a critical review. *American Journal of Industrial Medicine*, 39(1), 2001, p. 100–111. ISSN 0271-3586.

WORMUTH, M., SCHERINGER, M., VOLLENWEIDER, M., HUNGERBUHLER, K., 2006. What are the sources of exposure to eight frequently used phthalic acid esters in Europeans? *Risk Analysis*, 26, 2006, p. 803–824. ISSN 1573-9147.

ZAR, J. H., 1999. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, Uppwar Saddle River, N. J. ZHU, J., PHILIPS, S. P., FENG, Y. L., YANG, X., 2006. Phthalate esters in human milk: Concentration variations over a 6-month postpartum time. *Environmental science & technology*, 40 (17), 2006, p. 5276–5281. ISSN: 0013-936X.

Poděkování:

Studie byla řešena za podpory MZe ČR, Národní agentura pro zemědělský výzkum (NAZV), projekt QG 60066.

Kontaktní adresa:

doc. Ing. Alžbeta Jarošová, Ph.D., Mendelova univerzita v Brně, Ústav technologie potravin, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, Tel. : +420 545 133 191; fax : + 420 545 133 190, e-mail: ualja@mendelu.cz



nutriLínia

www.nutrilinia.biz

nutriLínia® is the new diagnostic range for the detection of Allergens, Antibiotics, Hormones, Mycotoxins, Pathogens and pharmaceutical Residues in Food & Feed

nutriLínia® هي مجموعة كواشف جديدة لغرض تشخيص مسببات الحساسية، المضادات الحيوية، الهرمونات، السموم الفطرية، مسببات الأمراض وبقايا العقاقير في المواد الغذائية والعلفي

nutriLínia® je nová diagnostická rada na detekciu alergénov, antibiotík, hormónov, mykotoxínov, patogénov a farmaceutických rezíduí v potravinách a krmivách

www.nutrilinia.biz

H A C C P
CONSULTING

www.haccp.szm.sk



KATEDRA HYGIENY A BEZPEČNOSTI POTRAVÍN

www.bezpecnostpotravin.sk

**Fakulta biotechnológie a potravinárstva
SPU Nitra**

ŠLACHTENIE JAČMEŇA JARNÉHO NA SLADOVNÍCKU KVALITU SPRING BARLEY BREEDING FOR MALTING QUALITY

Klára Križanová, Vratislav Psota, Ludovít Sleziak, Alžbeta Žofajová, Jozef Gubiš

ABSTRACT

The aim of this contribution is to illustrate the results of spring barley breeding for malting quality and point out an important position of variety in production of qualitative raw material for malting and beer industry as well as the system of evaluation the qualitative parameters of breeding materials and adaptation of barley breeding programmes to the new requirements of malting and beer industry. As an example of the results obtained most recently description is made of the Ezer, Levan, Donaris, Sladar spring barley varieties with very good malting quality and effective resistance to powdery mildew. Cultivation of these varieties and malting barley production with reduced use of pesticides is environmentally friendly alternative.

Keywords: spring barley, variety, plant breeding, malting quality, malting quality parameter

ÚVOD

Jačmeň je druhá najrozšírenejšia obilnina v Slovenskej republike a to nie len z hľadiska pestovateľských plôch, ale aj ako tradičná plodina na výrobu sladu a piva. Na Slovensku, ktoré má ideálne podmienky na dopestovanie kvalitnej suroviny pre spracovateľský priemysel sa jačmeň pestuje v dvoch formách - jarnej a ozimnej. Podľa údajov žatevného dispečingu Slovenskej poľnohospodárskej a potravinárskej komory bola v roku 2009 pestovateľská plocha jačmeňa v Slovenskej republike 196 823 ha, z toho jačmeňa jarného 178 756 ha a jačmeňa ozimného 18 068 ha. Produkcia na úrovni 644 000 t predstavuje približne 28 %-ný pokles oproti roku 2008. Na základe dosiahnutých výsledkov je zrejme, že tohtoročná úroda, pri ustálenej domácej spotrebe na úrovni 600 000 ton, pokryje potreby Slovenska (Adam, 2009). Na Slovensku sa ročne vyrobí asi 260 000 t sladu, z toho sa 20 % použije na domácu výrobu a 80 % ide na vývoz. Zo svetového pohľadu patrí Slovensko medzi 10 najväčších vývozcov sladu.

Z celkovej produkcie jačmeňa sa na výrobu sladu spotrebuje asi 385 000 až 395 000 t jačmeňa, prevažne jarnej formy. Klesajúca tendencia pestovateľských plôch jačmeňa jarného na Slovensku kladie narastajúce požiadavky na zvyšovanie efektívnosti pestovania jačmeňa a na splnenie potrieb sladovníckeho priemyslu. Hlavnou požiadavkou je dopestovať jačmeň s takými znakmi sladovníckej kvality, ktoré zodpovedajú zámerom sladovníckeho, resp. pivovarníckemu priemyslu. Kľúčové postavenie v systéme pivovarníckeho priemyslu - sladovnícky priemysel - pestovateľ - má odroda so svojimi biologickými, hospodárskymi, agronomickými a predovšetkým technologickými znakmi sladovníckej kvality, ktoré sú rozhodujúce pre jej úspešnosť a uplatnenie na trhu.

V procese systematického šľachtenia jačmeňa jarného je zvyšovanie úrovne technologických znakov sladovníckej kvality najdôležitejšou a najviac preferovanou oblasťou v šľachtení na kvalitu. Kvalita zrna je súhrnom viacerých znakov a vlastností do veľkej miery ovplyvnených podmienkami prostredia, odrodou a variabilitou. Základné

princípy šľachtenia na sladovnícku kvalitu v predchádzajúcich rokoch vychádzali z tzv. ideotypu jačmeňa a zároveň aj z definovania úžitkových smerov. Vychádzali z poznatkov o vzájomných vzťahoch a väzbách medzi jednotlivými znakmi, z komplexného posúdenia fyziologických a biochemických procesov v zrne (Prugar, Hraška 1989). Obsah dusíkatých látok je základným kvalitatívnym znakom sladovníckej kvality. Prokeš (2000) uvádza, že obsah bielkovín v zrne jačmeňa jarného môže kolísať od 8 do 12 %, ale aj do 16 %. Optimálne hranice sú v rozpätí 10,2-11,0 % (Psota, Kosař 2002). Znak bielkoviny v zrne má najnižšiu váhu (0,01), z dôvodu vplyvu ročníka, predplodiny a ošetrovania počas vegetácie na obsah bielkovín v zrne. Štatisticky preukazný vplyv týchto faktorov uvádza Hrubý et al. (2009). Významný šľachtiteľský úspech sa dosiahol v technologicky najviac hodnotenom znaku (váha znaku 0,30) s významným ekonomickým dopadom, t.j. v obsahu extraktu sladu. Jeho nárast predstavuje viac ako 1 % (Špunarová, Psota, Špunar 2002).

Sladovnícka kvalita musí zodpovedať požiadavkám spracovateľského priemyslu. Požiadavky na úroveň technologických znakov sladovníckeho jačmeňa sa menili v závislosti od úrovne poznatkov o biochemických a fyziologických procesoch, technických možnostiach, podľa nárokov a požiadaviek spracovateľov a zvýšením nárokov na ekonomickú efektívnosť výroby sladu a piva. Tieto znaky museli byť postupne prehodnocované a priebežne zapracované do genotypu nových šľachtiteľských materiálov.

MATERIÁL A METODIKA

Kvalitu odrôd vyjadruje tzv. ukazovateľ sladovníckej kvality prijatý v roku 1995 (Psota a et al., 1995), aktualizovaný v roku 2002 (Psota, Kosař 2002). Hodnotí sa osem technologických znakov a to obsah bielkovín v zrne (NLb), extrakt sladu (E), relatívny extrakt pri 45°C (RE 45), Kolbachovo číslo (K), diastatická mohutnosť (DM), konečný stupeň prekvasenia (KSP), friabilita (F), obsah betaglukánov (BGw) v sladine. K jednotlivým technologickým znakom boli na základe ich významu pre

spracovateľský priemysel určené váhy a medzné hodnoty, zodpovedajúce bodovému hodnoteniu „9“ najlepší (optimálny) a „1“ najhorší (neprijateľný).

Výsledok hodnotenia sa vyjadruje v rámci deväťbodovej stupnice, odrody sa podľa dosiahnutého počtu bodov zaraďujú do skupín. Odrody, ktoré dosiahnu v rámci ukazovateľa sladovníckej kvality hodnoty 4,00 bodov a menej sú označené ako odrody nesladovnícke. Za

umožňuje vyjadrenie hodnoty jednotlivých technologických znakov sladovníckej kvality v bodovej stupnici, poskytuje šľachtiteľom, pestovateľom a spracovateľom základné informácie o výsledkoch mikrosladovacích skúšok, resp. základné informácie o kvalite analyzovanej odrody jačmeňa.

V Listine registrovaných odrôd pre rok 2009 je zapísaných 49 odrôd jačmeňa jarného. 18 odrôd pochádza zo slovenských šľachtiteľských pracovísk, z toho 1 odroda

Tabuľka 1: Limitné hodnoty a váhy kvalitatívnych znakov (Psota, Kosař 2002).

Znaky/Jednotky	Neprijateľná hranica	Optimálna hranica	Váha znaku
	1	9	
Bielkoviny v zrne (%)	9,5 11,7	10,2 11,0	0,01
Extrakt (%)	81,5	83,0	0,30
Relatívny extrakt pri 45 °C (%)	35 53	40 48	0,20
Kolbachovo číslo (%)	40 53	42 48	0,10
Diastatická mohutnosť (WK)	220	300	0,10
Konečný stupeň prekvaseň (%)	79	82	0,10
Friabilita (%)	79	86	0,10
Obsah betaglukánov v sladine (mg.l ⁻¹)	250	100	0,10

nesladovnícku odrodu je považovaná aj odroda, ktorá v niektorom z technologických znakov dosiahne len 1 bod, aj keď ukazovateľ sladovníckej kvality bude vyšší ako 4,00 bodov. Za odrody štandardné sú považované odrody, ktoré dosiahnu bodové ohodnotenie v rozpätí 4,00-5,99 bodov. Odrody, ktoré dosiahnu po trojročnom skúšaní minimálne 6,00 bodov sú považované za odrody výberové s vynikajúcou technologickou kvalitou.

Okrem horeuvedených 8 znakov sa v posledných rokoch venuje pozornosť aj niektorým špecifickým vlastnostiam, napr. optickým vlastnostiam sladiny, sleduje sa zákal a čirosť sladiny, sleduje sa enzým lyxigenáza, ktorého aktivita ovplyvňuje senzorické vlastnosti.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V Slovenskej republike je do štátnych odrodových skúšok každoročne prihlásených niekoľko desiatok odrôd a novošľachtencov jačmeňa jarného. Počas trojročného obdobia sa v rôznych agroekologických podmienkach okrem iných úžitkových vlastností na základe žiadosti prihlasovateľa sleduje aj sladovnícka kvalita. Slovenská republika, rovnako ako aj Česká republika, má prepracovanejší systém hodnotenia genotypov jačmeňa v rámci štátnych odrodových skúšok ako väčšina štátov EÚ. Na rovnakej resp. lepšej úrovni je systém v Nemecku, Francúzsku a vo Veľkej Británii. Systém hodnotenia

(Argument) z ISTROPOL Solary a 17 odrôd zo Šľachtiteľskej stanice HORDEUM s.r.o. Sládkovičovo (Cyril, Donaris, Expres, Ezer, Garant, Jubilant, Kompakt, Levan, Ludan, Nadir, Nitran, Pax, Poprad, Pribina, Progres, Sladar, Slaven). Odrody Donaris, Expres, Ezer, Jubilant, Kompakt, Levan, Ludan, Nadir, Nitran, Sladar patria medzi sladovnícke odrody jačmeňa jarného. Odrody Expres (1999), Jubilant (1991), Kompakt (1995), Nitran (2003) patria k odrodám, ktoré pestovateľovi pri dodržaní technológie pestovania sladovníckeho jačmeňa priniesli vždy istý zisk vo forme dopestovania kvalitnej suroviny pre sladovnícky priemysel.

Odroda Kompakt patrila medzi najviac preferované odrody nielen v Slovenskej republike, ale aj v Českej republike a po 12 rokoch od jej registrácie bola zapísaná aj do Listiny registrovaných odrôd v Chorvátsku (v roku 2007). Odroda Kompakt je vzorovým príkladom vývoja znakov sladovníckej kvality v 90-tych rokoch, keď sa program šľachtenia na sladovnícku kvalitu rozšíril o ďalšie dva ukazovatele a to friabilitu a obsah betaglukánov v sladine. Friabilita a obsah betaglukánov v sladine neboli hodnotené do roku 1990. Obidva ukazovatele charakterizujú degradáciu bunkových stien, vysoký obsah betaglukánov v sladine spôsobuje problémy pri filtrácii piva (Špunarová, Psota, Špunar 2002). Odroda Kompakt sa vyznačovala optimálnymi a stabilnými hodnotami

znakov sladovníckej kvality v závislosti od ročníka a pôdnoklimatických podmienok. Obsah betaglukánov v sladine v porovnaní s ostatnými odrodami bol veľmi nízky. Počas skúšania v ŠOS v Českej republike v rokoch 1992-1994 bol priemerný obsah betaglukánov v sladine 69 mg.l⁻¹, v porovnaní s kontrolnými odrodami Rubín (159), Akcent (157). V Slovenskej republike počas skúšania v ŠOS v rokoch 1992-1994 dosiahol priemernú hodnotu 89 mg.l⁻¹, v porovnaní s kontrolnými odrodami Rubín (218), Akcent (205). Neprijateľná hranica betaglukánov v sladine vo vtedy platnom systéme hodnotenia bola 150 mg.l⁻¹ sladiny a bola limitujúcim faktorom registrácie odrôd s inak veľmi dobrými biologickými a kvalitatívnymi vlastnosťami, až na obsah betaglukánov v sladine. Akceptovateľná hranica sa upravila v roku 2002 do 250 mg.l⁻¹ (Psota, Kosař 2002). Odroda Kompakt na základe maximálneho akceptovania požiadaviek sladovníckeho priemyslu a pivovarnického priemyslu patrila medzi odrody s najväčšími pestovateľskými plochami v oboch republikách.

Tabuľka 2: Aktivita enzýmu lipoxygenáza v μ.mg⁻¹.

Odroda	Štát	Lokalita Vígľaš	Lokalita Veľké Ripňany
Nadir	SK	101	78
Timori	NL	7	5

V roku 2003 na základe požiadavky sladovníckeho a pivovarnického priemyslu sa začala venovať pozornosť

čirosti sladiny s nasledovnou stupnicou hodnotenia: 1 – číra, 2 – slabý opál, 3 – opál. Príčinou zákalu je pravdepodobne labilný stav bielkovín v koloidnom roztoku sladiny. Pre šľachtiteľov pribudol ďalší selekčný znak a s ním súvisiace analýzy šľachtiteľského materiálu. Odroda Nitran bola registrovaná v Slovenskej republike v roku 2003, v Českej republike a v Maďarsku v roku 2004. Nitran má vysokú extraktívnosť a vysokú aktivitu všetkých sledovaných enzymatických skupín. Viskozita sladiny má optimálnu úroveň, friabilita je vysoká a obsah betaglukánov v sladine nízky. Odroda Nitran spĺňa požiadavku sladovníckeho priemyslu na čírosť sladiny. Sladinu má číru s farbou 3,3 j.EBC. Patrí medzi odrody jačmeňa jarného s výberovou sladovníckou kvalitou v Českej republike s bodovým ohodnotením 8 (Psota, Jurečka 2004) a v Slovenskej republike s bodovým ohodnotením 9 (Psota, Svorad 2003), na základe mikroskladovacích analýz. Výberová sladovnícka kvalita a stabilita technologických znakov v závislosti od ročníkového vplyvu predurčila zaradenie odrody Nitran ako štandardnú odrodu na sladovnícku kvalitu v štátnych odrodových skúškach a ako národnú štandardnú odrodu v pokusoch EBC v Slovenskej republike.

Holandská odroda jačmeňa jarného Timori sa vyznačuje mimoriadne nízkou aktivitou lipoxygenázy (LOX). LOX je enzým, ktorého aktivita je spojená s negatívnymi senzorickými zmenami, ku ktorým dochádza pri starnutí piva. V tabuľke 2 uvádzame aktivitu LOX μ.mg⁻¹ v slade pri odrode Timori a pri odrode Nadir registrovanej v

Tabuľka 3: Agronomické a hospodárske vlastnosti odrôd Sladar, Donaris, Levan, Ezer.

Odroda	Sladar	Donaris	Levan	Ezer
Dĺžka vegetačnej doby (dni)	107	107	107	113
Výška (cm)	70	69	68	72
Odolnosť proti poliehaniu	8	8	9	8
Odolnosť proti : múčnatke trávovej	9	9	9	9
hnedej škvrnitosti	6	6	6	7
rhynchospóriovej	8	8	8	8
škvrnitosti				
hrdзи jačmennej	8	8	8	8
HTS (g)	46	43	42	47
Podiel zrna nad sitom 2,5 mm (%)	99	98	92-96	94-96
Úroda zrna v % na priemer kontrol:				
Slovenská republika	106	102	106	98
Kukuričná oblasť	106	101	106	106
Repná oblasť	109	105	111	112
Zemiaková a horská oblasť	104	99	103	106

Bodové hodnotenie: 9 = odolná proti poliehaniu a chorobám,
1 = náchylná na poliehanie a ku chorobám

Slovenskej republiky v roku 2006 (Psota, Svorad 2006), (Špunar et al. 2005).

Predpokladom úspešnosti odrody jačmeňa jarného na trhu je jeho akceptácia sladovníckym priemyslom a následne pestovateľom, ktorý svoj sortiment odrôd prispôsobuje požiadavkám spracovateľa. V súčasnosti, v prostredí vysokej konkurencie odrôd, môžu mať odrody so špecifickými vlastnosťami, ktoré zvyšujú senzorickú stabilitu a kvalitu piva väčšie predpoklady na uplatnenie na trhu. Pre šľachtiteľa to znamená napr. selekciu genotypov s nízkou alebo nulovou aktivitou lipoxygenázy.

Medzi najnovšie sladovnícke odrody jačmeňa jarného,

odroda Levan registrovaná v roku 2008 a odroda Ezer registrovaná v Slovenskej republiky a v Maďarsku v roku 2004. Odroda Sladar pod označením SK 6226 ukončila v roku 2009 registračné skúšky v Českej republiky a o jej registrácii rozhodne ÚKZÚZ Českej republiky. Významné agronomické a hospodárske vlastnosti týchto odrôd počas skúšania v štátnych odrodových skúškach v Slovenskej republiky sú uvedené v tab. 3.

Na základe mikroskladovacích skúšok a následného analytického rozboru, slad odrody Sladar poskytoval nadpriemerné hodnoty extraktu (83,4%), konečný stupeň prekvasenia dosahoval v priemere 82,7 %, friabilita 86 %,

Tabuľka 4: Výsledky mikroskladovacích analýz odrôd Sladar, Donaris (Psota et al. 2009).

Znak	Bielkoviny v zrne	Extrakt v sušine sladu	Relatívny extrakt pri 45 °C	Kolbachov o číslo	Diastatická mohutnosť	Konečný stupeň prekvasenia	Friabilita	Obsah beta-glukánov v sladine
Odroda	%	%	%	%	j.WK	%	%	mg.l ⁻¹
Nitran	10,9	82,8	44,0	46,6	401	83,2	89	151
Xanadu	11,2	83,1	45,7	46,4	395	80,8	83	97
Sladar	10,8	83,4	43,5	46,6	328	82,7	86	249
Donaris	11,0	82,7	40,8	44,8	353	82,8	85	199

Tabuľka 5: Výsledky mikroskladovacích analýz odrody Levan v kukuričnej výrobnjej oblasti (Psota 2006, 2007, 2008).

Znak	Bielkoviny v zrne	Extrakt v sušine sladu	Relatívny extrakt pri 45 °C	Kolbachov o číslo	Diastatická mohutnosť	Konečný stupeň prekvasenia	Friabilita	Obsah beta-glukánov v sladine
Odroda	%	%	%	%	j.WK	%	%	mg.l ⁻¹
Xanadu	11,5	82,2	43,4	43,7	412	78,9	87,0	91,7
Nitran	11,3	81,4	40,1	43,5	413	82,8	87,0	163,0
Levan	11,2	83,1	40,4	45,9	267	81,1	86,0	112,0

Tabuľka 6: Výsledky mikroskladovacích analýz odrody Levan v repnej výrobnjej oblasti (Psota 2006, 2007, 2008).

Znak	Bielkoviny v zrne	Extrakt v sušine sladu	Relatívny extrakt pri 45 °C	Kolbachov o číslo	Diastatická mohutnosť	Konečný stupeň prekvasenia	Friabilita	Obsah beta-glukánov v sladine
Odroda	%	%	%	%	j.WK	%	%	mg.l ⁻¹
Xanadu	11,5	83,0	44,1	46,0	409	80,4	87,0	121,0
Nitran	11,3	82,1	44,5	47,1	435	83,4	87,0	124,0
Levan	11,2	83,3	42,7	46,2	264	81,6	86,0	159,0

Tabuľka 7: Technologické hodnoty sladovníckej kvality odrody Ezer (Psota, Svorad 2004).

Znak	Bielkoviny v zrne	Extrakt v sušine sladu	Relatívny extrakt pri 45 °C	Kolbachov o číslo	Diastatická mohutnosť	Konečný stupeň prekvasenia	Friabilita	Obsah beta-glukánov v sladine
Odroda	%	%	%	%	j.WK	%	%	mg.l ⁻¹
Ezer	10,2	82,0	40,5	44,6	320	83,7	89,0	156

ktoré boli vyšľachtené na pracovisku HORDEUM s.r.o. patria odrody Donaris a Sladar, registrované v roku 2009,

zloženie sladiny je priaznivé. VÚPS a.s. , Sladařský ústav v Brne zaraďuje odrodu Sladar vzhľadom k dosiahnutým

hodnotám technologických znakov k odrodám s výberovou sladovníckou kvalitou (Psota et al. 2009). Huby z rodu *Fusarium* môžu spôsobovať vážne straty na kvalite a hygienickej bezpečnosti hlavne v prípade spracovania jačmeňa jarného na slad. Proces sladovania môže významne ovplyvniť množstvo mykotoxínov. Na jednej strane môže dôjsť ku zníženiu v dôsledku jeho vyplavenia, na druhej strane ku zvýšeniu v dôsledku vyššej relatívnej vlhkosti a teploty v podmienkach sladovní (Zimolka et al. 2006). Rezistentná odroda zatiaľ neexistuje, preto aj odrody s vyššou toleranciou sú významným prínosom pri riešení tejto problematiky. Počas registračných skúšok v Českej republike v rokoch 2007-2009 bola hodnotená odolnosť odrody Sladar (SK 6226) proti infekcii húb rodu *Fusarium* bodovým hodnotením 7,1. Odroda je zaradená do ďalších fytopatologických testov na overenie jej tolerantnosti k infekcii hubami rodu *Fusarium*.

Slad odrody Donaris poskytoval v priemere hodnoty extraktu (82,7 %), konečný stupeň prekvasenia bol na optimálnej úrovni 82,8 %, friabilita 85 %, obsah betaglukánov v sladine dosahoval 199 mg.l⁻¹. VÚPS a.s., Sladařský ústav v Brne zaraďuje odrodu Donaris vzhľadom k dosiahnutým hodnotám technologických znakov k odrodám s výberovou sladovníckou kvalitou (Psota et al. 2009). Výsledky mikroskladovacích analýz odrôd Sladar, Donaris a kontrolných odrôd Nitran a Xanadu uvádzame v tabuľke 4.

VÚPS, a.s. Sladařský ústav v Brne zaraďil odrodu Levan k odrodám s výberovou sladovníckou kvalitou (Psota, Svorad 2008). Výsledky mikroskladovacích analýz ukazovateľov sladovníckej kvality odrody Levan z kukuričnej a repnej výrobných oblastí uvádzame v tab. 5 a 6 (Psota 2006, 2007, 2008):

Odroda Levan mala v roku 2009 v Slovenskej republike 71,5 ha množiteľských plôch v jednotlivých generáciách množenia. Na základe prvých výsledkov analýz sladovníckej kvality v spoločnosti HEINEKEN SLOVAKIA a.s je predpoklad rozšírenia pestovateľských plôch na makroskladovacie pokusy v roku 2010 v rozsahu 150 až 200 ha. Levan pre overovacie makroskladovacie pokusy v roku 2009 pestovali PD Kalná nad Hronom a POD Abrahám. Odroda na výmere 100 ha dosiahla priemernú úrodu 4,8 t.ha⁻¹. Priemerná úroda jačmeňa jarného na Slovensku bola 3,23 t.ha⁻¹ a v uvedených regiónoch (Levice a Galanta) na úrovni 3,9 t.ha⁻¹. Ak zoberieme do úvahy nárast úrody o 0,9 t.ha⁻¹ a cenu jačmeňa jarného na úrovni 85 € za tonu, tak celkový ekonomický prínos z pestovateľskej plochy 100 ha bol pri tejto odrode 7 650 €. Samozrejme, že sa jedná o prvý rok hodnotenia ekonomickej efektívnosti pestovania tejto odrody. V rokoch 2010, 2011 a 2012 budeme naďalej sledovať ukazovatele technologickej kvality, úrodnosť odrody a jej uplatnenie v prvovýrobe.

Ezer je stredne skorá sladovnícka odroda jačmeňa jarného stredne vysokého typu, s dobrou odolnosťou proti poliehaniu a dobrou odnožovacou schopnosťou,

priemerný počet produktívnych klasov je 900.m⁻². Sladovnícka kvalita a hospodárske vlastnosti odrody Ezer boli testované aj v skúškach Európskej pivovarníckej konvencie v roku 2007. Na základe mikroskladovacích skúšok a následného analytického rozboru slad odrody Ezer poskytoval priemerný obsah extraktu 82 %, proteolytické a amylolytické rozlúštenie bolo nadpriemerné. Optimálne zloženie sladiny sa prejavilo na vysokej hodnote konečného stupňa prekvasenia. VÚPS, a.s. Sladařský ústav v Brne zaraďil odrodu Ezer k odrodám so sladovníckou kvalitou (Psota, Svorad 2004). Technologické hodnoty sladovníckej kvality uvádzame v tab.7.

V roku 2009 bolo do uznávacieho pokračovania v jednotlivých generáciách množenia celkovo prihlásených 299,8 ha odrody sladovníckeho jačmeňa Ezer. Odroda je v súčasnosti v makroskladovacích pokusoch spoločnosti HEINEKEN SLOVENSKO a.s. a jej ďalšie rozšírenie bude závisieť od dosiahnutých výsledkov technologickej kvality.

ZÁVER

Šľachtiteľský proces je dlhodobý, rozdelený do niekoľkých etáp, z ktorých každá etapa má podstatný význam pre dosiahnutie registrácie odrody a jej rozšírenie v pestovateľskej praxi a v spracovateľskom priemysle. Nová odroda má poskytovať vysokú, stabilnú a kvalitnú úrodu pri meniacich sa podmienkach prostredia. Odrody Ezer, Sladar, Donaris a Levan majú efektívnu odolnosť proti múčnatke trávovej, ktorá je hospodársky najvýznamnejšou chorobou jačmeňa v Slovenskej republike. Pestovanie odrôd s efektívnou odolnosťou proti múčnatke trávovej predstavuje významný intenzifikačný faktor v oblasti ochrany životného prostredia a dopestovania kvalitnej suroviny pre spracovateľský priemysel. Pestovanie týchto sladovníckych odrôd má význam nielen z hľadiska ekologického, ale aj ekonomického, pretože pestovateľovi nevzniknú náklady na použitie fungicídov. Odrody Levan, Ezer, Donaris a Sladar sú vhodné aj pre ekologické pestovateľské systémy. Uvedenie týchto odrôd jačmeňa jarného s výberovou sladovníckou kvalitou a zároveň účinnou odolnosťou proti múčnatke trávovej do pestovateľskej praxe zvýši podiel domácich odrôd, ktoré vznikli v rovnakých agroekologických podmienkach v akých sa budú pestovať.

LITERATÚRA

ADAM, Š., 2009. Okresná konferencia rastlinných výrobkov, Sládkovičovo, 30. September 2009, Zborník.

HRUBÝ, J., VEJRAŽKA, K., Badalíková, B., PROCHÁZKOVÁ, B., JANEČEK, M., 2009. Obsah N-látek a výnos zrna sladovníckeho ječmene v monokultúrnych systémoch pestování. Kvasný průmysl. 55, 2009, č. 6., s. 143-149. ISSN 0023-5830.

PROKEŠ, J., 2000. Technologický význam dusíkatých látok v ječmeni a slad. Kvasny Prum. 46, 2000, s. 277-279.

PRUGAR, J., HRAŠKA, Š., 1989. Kvalita jačmeňa, Príroda, Bratislava 1989, s., ISBN 80-07-00353-3.

PSOTA, V., 2006: Evaluation of Malting Barley Varieties, Harvest 2005. Final report, Brno 2006

PSOTA, V., 2007: Evaluation of Malting Barley Varieties, Harvest 2006. Final report, Brno 2007

PSOTA, V., 2008: Evaluation of Malting Barley Varieties, Harvest 2007. Final report, Brno 2008

PSOTA, V., SACHAMBULA, L., SVORAD, M., 2009. Odrůdy ječmene registrované ve Slovenské republice v roce 2009. [Barley varieties registered in the Slovak Republic in 2009]. *Kvasny Prum.*, 55, 2009, č. 11-12, s. 326-330.

PSOTA, V., JUREČKA, D., 2004. Registrace odrůd ječmene v České republice v roce 2004 [Registration of barley varieties in the Czech Republic in 2004]. *Kvasny Prum.*, 50, 2004 (6), s. 158-161.

PSOTA, V., KOSAŘ, K., LANGER, I., PAŘÍZEK, P., DZUBÁK, I., NOVOTNÝ, R., DOVIČOVIČOVÁ, E., DOBEŠ, I., FIALA, V., KROFTA, V., 1995. Ukazatel sladovnické jakosti. *Kvasný průmysl* 41 (12), 1995, s. 393-394.

PSOTA, V., KOSAŘ, K., 2002. Ukazatel sladovnické kvality. *Kvasný průmysl* 48, 2002, č. 6. s. 142-148.

PSOTA, V., SVORAD, M., 2003. Odrůdy ječmene registrované ve Slovenské republice v roce 2003 [Barley varieties registered in the Slovak Republic in the year 2003]. *Kvasny Prum.* 49, 2003 (11-12), s. 336-339.

PSOTA, V., SVORAD, M., 2004. Odrůdy ječmene registrované ve Slovenské republice v roce 2004 [Barley varieties registered in the Slovak Republic in the year 2004]. *Kvasny Prum.*, 50, 2004 č.4, s. 94-96.

PSOTA, V., SVORAD, M., 2006. Odrůdy ječmene registrované ve Slovenské republice v roce 2006 [Barley varieties registered in the Slovak Republic in 2006]. *Kvasny Prum.*, 52, 2006, č. 9, s. 287-290.

PSOTA, V., SVORAD, M., 2008. Odrůdy ječmene registrované ve Slovenské republice v roce 2008 [Barley varieties registered in the Slovak republic in 2008]. *Kvasny Prum.*, 54, 2008 č.9, s. 264-268.

ŠPUNAR, J., ŠPUNAROVÁ, M., NESVADBA, Z., 2005. Breeding of malting barley and the possibilities of breeder's adaptation to changeable demands of malt and beer industry in Czech Republic and Europe. Internet <www.Ressources.ciheam.org/om/pdf/a81/00800859.pdf>.

ŠPUNAROVÁ, M., PSOTA, V., ŠPUNAR, J., 2002. Problematika šlechtění ječmene na sladovnickou kvalitu. *Obilninářske listy*, 10, 2002, 4, s. 81-84.

ZIMOLKA, J., et al., 2006. Ječmen. Profi Press, Praha 2006, s. 108., ISBN 80-86726-18-5

Pod'akovanie:

Práca bola realizovaná za finančnej podpory projektu VMSP-P-0047-09 "Tvorba rezistentných typov rastlín jačmeňa siateho f. jarná a pšenice letnej f. ozimná so zlepšenými vlastnosťami genómu pre zvýšenie pridanej hodnoty".

Kontaktná adresa:

Ing. Klára Križanová, Ph.D., HORDEUM s.r.o., Nový Dvor 1052, 925 21 Sládkovičovo, č.t. 031 784 2212, e-mail: krizanova@hordeum.sk;

Ing. Vratislav Psota, Ph.D., Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s., Sladařský ústav, Mostecká 7, CZ-614 00 Brno, e-mail: psota@beerresearch.cz;

Ing. Ľudovít Sleziač, CSc., HORDEUM s.r.o., Nový Dvor

1052, 925 21 Sládkovičovo, e-mail: sleziač@hordeum.sk;

Ing. Alžbeta Žofajová, Ph.D., e-mail: zofajova@vurv.sk;

Ing. Jozef Gubiš, Ph.D., e-mail: gubis@vurv.sk, Centrum

výskumu rastlinnej výroby Piešťany – Výskumný ústav rastlinnej výroby, Bratislavská cesta 122, 921 01 Piešťany

POUŽITIE ŠKORICOVEJ SILICE PER OS NA OBSAH TUKU V KURACOM MÄSE

THE EFFECT OF CINNAMOMI AETHEROLEUM USED PER OS ON FAT CONTENT IN BROILERS MEAT

Daniela Liptaiová, Mária Angelovičová, Kamil Močár, Dávid Štofán

ABSTRACT

The aim of the topic was to verify the effect of feed mixtures enriched with 0.1, 0.05 and 0.025% proportion of cinnamomi aetheroleum to the fat content in chicken meat with skin. The type of broilers Ross 308 was used within experiment. Cinnamomi aetheroleum was mixed with the corn flour and homogenized with other stuff of feed mixtures. Broilers were fed ad libitum. The content of fat was analyzed by chemical analyze of meat with skin which took place in the end of the experiment. The results of experiment show, that decreasing of cinnamomi aetheroleum proportion in feed mixture increased body weight and the weight of broilers carcass, whereby differences were statistically significant between broilers groups, which were fed with feed mixtures with 0.1% and 0.025% proportion of cinnamomi aetheroleum and with 0.05% and 0.025% proportion of cinnamomi aetheroleum. Lowest content of fat 9.5 g.100 g⁻¹ in broilers meat with skin was in meat of broilers which were fed with feed mixtures with 0.05% proportion of cinnamomi aetheroleum. At 0.01% cinnamomi aetheroleum proportion in feed mixture 9.9 g.100 g⁻¹ of fat content was noticed and the content of fat in broilers meat with skin increased to 10.45 g.100 g⁻¹ at 0.025% proportion of cinnamomi aetheroleum. Differences in fat content between groups were not statistically significant.

Keywords: meat, broiler, carcass, fat, feed mixture, cinammomi aetheroleum

ÚVOD

Rastúci dopyt spotrebiteľov na zdravé, výživné a plnohodnotné potraviny zvyšuje tlak na producentov, aby inovovali a rozvíjali využívané techniky a technológie spracovávania potravín, čo vedie k produkcii bezpečnejších potravín s vysokou výživnou a senzoricou kvalitou.

Z výživného hľadiska je hydínové mäso výhodné vzhľadom na vysoký obsah bielkovín, esenciálnych nenasýtených mastných kyselín, minerálnych látok, nízky obsah tukov a cholesterolu. V priemere mäso brojlerových kurčiat obsahuje od 3,5 až 5,0 g.100 g⁻¹ tuku (Pipová et al., 1995).

Obsah lipidov v hydínovom mäse závisí najmä od druhovej príslušnosti, ale tiež od veku, spôsobu výživy a ďalších faktorov. Biologický význam tukov však vyplýva z ich nepostrádateľnosti pre človeka, nakoľko ich prijíma najmä vo forme triglyceridov, fosfolipidov, glykolipidov, ktoré sú rezervoárom energie, nosičom vitamínov rozpustných v tuku a dodávateľom esenciálnych mastných kyselín. Tvorba tzv. funkčných potravín pre ľudskú výživu je v súčasnom období v popredí záujmu tak humánneho, ako aj poľnohospodárskeho a potravinárskeho výskumu. Z tohto pohľadu je hydínové mäso veľmi vhodnou komoditou. Produkcia mladej hydiny nevyžaduje dlhé obdobie chovu, či výkrmu, teda je rýchlo obrátková a produkcia hydínového mäsa, obohateného o špecifické látky, majúce priaznivý vplyv na zdravie človeka nemusí byť pri správne zvolenej metóde aplikácie zvieratám finančne náročná (Swain et al., 2000; Paton et al., 2002; Cantor et al., 2003; Surai, 2000; Leng et al., 2003; Mad'arič a Kadrabová, 2003; Bobček, 2002).

Vysoké pretučnenie brojlerových kurčiat predstavuje ekonomickú stratu pri výkrme na jednej strane a na druhej strane znižuje výťažnosť, zvyšuje množstvo jatočného odpadu a zvyšuje kalorickú hodnotu svaloviny. Podiel podkožného tuku brojlerov je 23-26 % deponovaný na prsiach, na stehnách 30 % a na chrbte 44-47 %. Hoci snaha

hydínarských odborníkov je znížiť obsah tuku v jatočnom trupe hydiny, je tento nepostrádateľnou zložkou výživy človeka. Organizmus človeka prijíma tuky prevažne vo forme triglyceridov, fosfolipidov, glykolipidov, ktoré sú zásobnou energetickou zložkou a súčasne nosičom vitamínov, rozpustných v tuku a dodávateľom esenciálnych mastných kyselín (Benková, 2009).

Pre zvieratá v Európskej únii sú zakázané všetky antibiotiká stimulujúce rast od roku 2006. V súčasnosti existuje mnoho návrhov projektov náhrady kŕmnych antibiotík probiotikami, prebiotikami, rastlinnými silicami a manooligosacharidmi.

Existujú aktuálne literárne poznatky z ostatných rokov o metódach získavania rastlinných silíc, ich zložení a antimikrobiálnych účinkov (Apetrei et al., 2004; Aprotosoie et al., 2004; Růžičková, 2004; Slavkovská et al., 2004).

Rastlinné kŕmne doplnky zo skupiny bylín sa vyznačujú protizápalovými a bakteriostatickými účinkami. Rovnako efektívne pôsobia ako antimikrobiálne látky v tráviacej sústave a upokojujúce látky. Zlepšujú chuťnosť krmív, stráviteľnosť živín krmiva, zvyšujú prírastky telesnej hmotnosti, zlepšujú konverziu krmiva a zároveň senzoricke vlastnosti mäsa. Svojím obsahom alkaloidov, glykozidov, flavonoidov, organických kyselín a unikavých látok stimulujú vnútorné orgány zvierat. Na základe poznatkov literatúry (Grabowski, 1990; Majdonski, 1991; Fritz et al., 1995) byliny pridané do kŕmnych zmesí pre výkrmové kurčatá priaznivo ovplyvnili výsledky fyziologických a produkčných ukazovateľov a rovnako aj kvalitu mäsa.

Silice sú zmesou zlúčenín a ich chemické zloženie a koncentrácie ich zložiek sú rozličné. Škoricový aldehyd, základná zložka škoricovej silice, tvorí približne podiel 60 až 75 % z účinných látok (Duke, 1986).

Odlíšnosť v zložení účinných látok jednotlivých rastlinných silíc závisí od druhu silice (Schilcher, 1985; Janssen et al., 1987; Deans a Waterman, 1993).

Podľa doterajších literárnych poznatkov rastlinné silice boli charakteristické svojimi antimikrobiálnymi účinkami (Deans a Ritchie, 1987; Paster et al., 1990; Reddy et al., 1991; Lis-Blatchin et al., 1998; Smith-Palmer et al., 1998; Hammer et al., 1999) a sú vhodnou alternatívnou náhradou za kŕmne antibiotiká.

Cieľom príspevku bolo sledovanie a vyhodnotenie výsledkov chemickej analýzy kurčacieho mäsa na obsah tuku.

MATERIÁL A METÓDY

V pokusoch bol použitý finálny výkrmový typ kurčiat Ross 308 a kŕmne zmesi štartérovú, rastovú a finálnu,

Tabuľka 1: Schéma pokusu

	Typ kurčiat	Fáza výkrmu	Skupina	Pokusná účinná látka v kŕmnej zmesi
Pokus	Ross 308	štartérová, rastová, finálna	kontrolná 1. pokusná 2. pokusná 3. pokusná	- 0,1 % škoricovej silice 0,05 % škoricovej silice 0,025 % škoricovej silice

ktoré sme obohatili rozličným množstvom škoricovej silice (tabuľka 1). Pokusy sme uskutočnili v hydinárskej farme, v hale s možnosťou výkrmu 24 000 kurčiat. Pri vhodných dverách sme vytvorili boxy. Každý bol určený pre jednu skupinu. Boxy sme vzájomne medzi sebou oddelili perforovaným pletivom od haly a plastovými ohradami medzi sebou. Veľkosť plochy v každom boxe umožňovala kurčatám neobmedzený prístup ku krmivu a vode ako aj vykonávanie prirodzených aktivít. Hustotu zástavu výkrmových kurčiat sme uskutočnili v zmysle Smernice Rady 2007/43/ES zo dňa 28. júna 2007, ktorou sa stanovujú minimálne princípy ochrany kurčiat chovaných na produkciu mäsa. Kurčatá boli ustajnené na hlbokéj podstielke. Spodnú vrstvu 8 cm tvorili drevné piliny, na ktorých bola 5 cm vrstva pomiaganej pšeničnej slamy.

Celkové výkrmové obdobie sme rozdelili na tri fázy:

- štartérová, určená pre kurčatá vo veku od 1. až 18. dňa, počas ktorej kurčatá prijímali štartérovú kŕmnu zmes,
- rastová, pre kurčatá vo veku 19 až 31 dní s rastovou kŕmnu zmesou,
- finálna, pre kurčatá vo veku 32 až 38 dní s finálnou kŕmnu zmesou.

Kurčatá do veku 14 dní skrmovali krmivo z tanierových kŕmidiel a vodu z klobúkových napájačiek umiestnených na podlahe. Po 14 dňoch veku kurčiat do konca výkrmového obdobia sme použili tubusové kŕmidlá a vedrové napájačky. Mikroklimatické podmienky boli regulované v súlade s odporúčaniami pre daný výkrmový typ kurčiat a vekovú kategóriu (teplota, svetelný režim a výmena vzduchu).

Tuky sa stanovili ako zvyšok získaný po rozpúšťadle a vysušením extraktu vzorky vázkovo. Na jatočné spracovanie a chemickú analýzu mäsa bolo náhodne vybratých 12 kurčiat z každej skupiny v približne vyrovnannej telesnej hmotnosti 1591,0 až 1698,0 g.

Údaje boli vyhodnotené podľa základnej štatistickej charakteristiky (\bar{x} = aritmetický priemer, s = smerodajná odchýlka, v_k = variačný koeficient). Rozdiely hodnôt ukazovateľov medzi skupinami boli vyhodnotené na

základe testov ANOVA v programovom systéme SAS, verzia 6,4. Výsledky boli spracované formou tabuliek a grafov.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Priemerná hmotnosť jatočne opracovaného tela kurčiat bola pri skrmovaní kŕmnych zmesí s podielom škoricovej silice 0,1 % 1060,42 g pri priemernej telesnej hmotnosti kurčiat 1591,00 g, pri skrmovaní kŕmnych zmesí s 0,05 % -ným podielom škoricovej silice 1076,67 g s telesnou hmotnosťou 1603,00 g, pri skrmovaní kŕmnych zmesí s podielom škoricovej silice 0,025 % 1195,75 g o telesnej hmotnosti 1698,00 g. V kontrolnej skupine, v ktorej kurčatá skrmovali kŕmne zmesi bez škoricovej silice kurčatá vážili 1651,00 g a ich priemerná hmotnosť jatočne opracovaného tela bola 1124,17 g. Pri skrmovaní kŕmnych zmesí s rozličným podielom škoricovej silice bolo kolísanie hodnôt jatočne opracovaného tela kurčiat najnižšie s podielom 0,05 % ($s = 47,94$ g a $v_k = 4,45$ %)

a najvyššie s podielom 0,025 % ($s = 101,37$ g a $v_k = 8,48$ %). Rozdiely v hmotnosti jatočného tela boli štatisticky preukazné ($P < 0,05$) u kurčiat, ktoré skrmovali kŕmne zmesi s podielom 0,05 a 0,025 % škoricovej silice a u kurčiat, ktoré skrmovali kŕmne zmesi s podielom 0,1 a 0,025 % škoricovej silice.

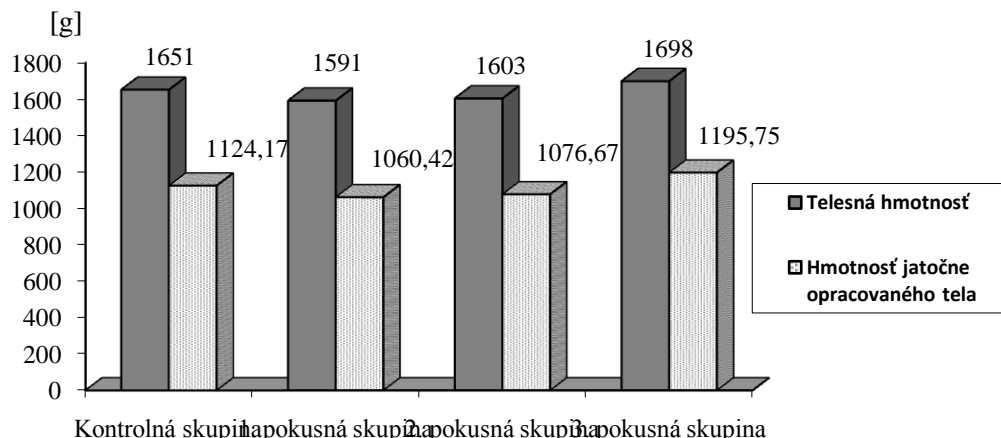
Obsah tuku v mäse s kožou bol pri skrmovaní kŕmnych zmesí s podielom škoricovej silice 0,1 % 9,9 g.100 g⁻¹, s podielom 0,05 % 9,5 g.100 g⁻¹ a s podielom 0,025 % 10,45 g.100 g⁻¹. V kontrolnej skupine, v ktorej kurčatá skrmovali kŕmne zmesi bez škoricovej silice bol obsah tuku v ich mäse 9,8 g.100 g⁻¹, ktorý bol takmer na úrovni obsahu tuku v mäse kurčiat, ktoré skrmovali kŕmne zmesi s podielom 0,1 % škoricovej silice (9,9 g.100 g⁻¹). Z výsledkov štatistickej charakteristiky obsahu tuku v kurčacom mäse s kožou vyplýva, že najnižšie kolísanie hodnôt bolo vo vzorkách kurčiat, ktoré skrmovali kŕmne zmesi s podielom škoricovej silice 0,025 % ($s = 1,52$ g a $v_k = 14,54$ %) a najvyššie pri skrmovaní kŕmnych zmesí bez škoricovej silice ($s = 4,31$ g a $v_k = 43,96$ %). Rozdiely v obsahu tuku v kurčacom mäse s kožou medzi skupinami neboli štatisticky preukazné ($P > 0,05$).

DISKUSIA

Neustále rastie tlak spotrebiteľov na bezpečné a kvalitné potraviny, ku ktorým patrí aj kurčacie mäso.

Hodnoty hmotnosti jatočne opracovaného tela brojlerových kurčiat v prácach rôznych autorov sa odlišujú. Baghaei et al. (2009) sledovali hmotnosť jatočne opracovaného tela v štyroch skupinách u výkrmového typu kurčiat Ross 308. Kurčatá boli vykrmované 42 dní. Títo autori na konci výkrmového obdobia zaznamenali hmotnosť jatočne opracovaného tela 1590,0±78,15 g s telesnou hmotnosťou 2468,0±43,59 g, 1413,45±73,56 g s telesnou hmotnosťou 2305,55±45,11 g, 1571,75±54,56 g s telesnou hmotnosťou 2363,75±69,29 g

Telesná hmotnosť kurčiat a hmotnosť jatočne opracovaného tela



Obrázok 1: Priemerná telesná hmotnosť kurčiat a jatočne opracovaného tela.

Tabuľka 2: Štatistická charakteristika hmotnosti jatočne opracovaného tela v závislosti od skrmovania krmných zmesí s rozličným podielom škoricovej silice.

Skupina	n	min [g]	max [g]	s [g]	v_k [%]
Kontrolná	12	1064,00	1198,00	36,95	3,29
1. pokusná	12	922,00	1148,00	58,92	5,56
2. pokusná	12	977,00	1151,00	47,94	4,45
3. pokusná	12	1040,00	1390,00	101,37	8,48

Tabuľka 3: Štatistická preukaznosť rozdielov hmotnosti jatočne opracovaného tela v závislosti od skrmovania krmných zmesí s rozličným podielom škoricovej silice.

F-test	10,15 ⁺⁺⁺		
Scheffeho test ($P_{0,05}$)	1. pokusná skupina	2. pokusná skupina	3. pokusná skupina
Kontrolná skupina	-	-	-
1. pokusná skupina	-	-	+
2. pokusná skupina	-	-	+

Scheffeho test pri hladine významnosti $P_{0,05}$; $-P > 0,05$

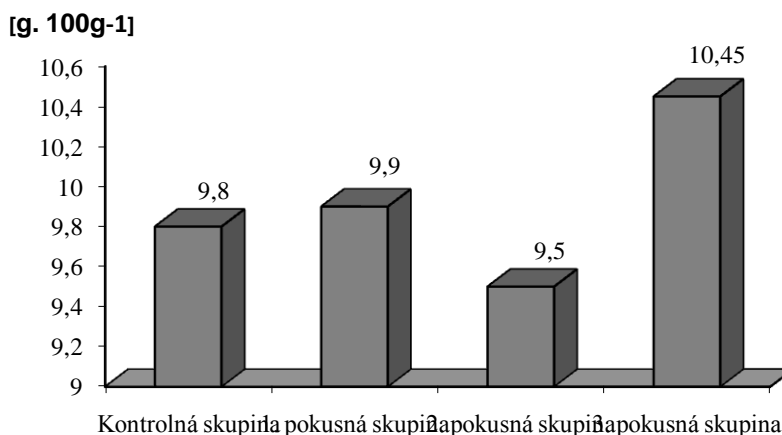
a 1463,25±44,19 g s telesnou hmotnosťou 2290,0±22,64 g. Na rozdiel od týchto autorov **Simeonovová a Ingr (2000)** zaznamenali nižšiu hmotnosť jatočne opracovaného tela kurčiat 1420,00 g, ktoré boli vykrmované 42 dní. Telesná hmotnosť kurčiat, ktoré boli použité na jatočné opracovanie bola 1800,00 g. Rozdielna hodnota hmotnosti jatočne opracovaného tela sledovaného autormi **Baghaei et al. (2009)** a **Simeonovovou a Ingrom (2000)** mohla byť spôsobená použitím rozdielneho typu brojlerových kurčiat. V našom experimente bol použitý finálny výkrmový typ kurčiat *Ross 308*, ktorý za 38 dní výkrmu dosiahol priemernú telesnú hmotnosť od 1591, 00 g až 1698,00 g, z ktorej hmotnosť jatočne opracovaného tela bola 1064,42 g až 1195,75 g. Rozdiely v telesnej hmotnosti kurčiat a v hmotnosti jatočne opracovaného tela boli spôsobené skrmovaním rozličným krmných zmesí. Krmné zmesi boli zostavené s podielom škoricovej silice 0,1, 0,05 a 0,025 %. Ich účinnosť sa porovnávala ku kontrolným krmným zmesiam bez škoricovej silice. Najvyššia priemerná telesná hmotnosť 1698,00 a tým aj priemerná hmotnosť jatočne opracovaného tela 1195,75 g bola u kurčiat, ktoré skrmovali krmné zmesi s podielom 0,025 % škoricovej silice. Takmer na tejto úrovni boli zaznamenané priemerné hodnoty telesnej hmotnosti a jatočne opracovaného tela kurčiat kontrolnej skupiny,

ktoré skrmovali krmné zmesi bez škoricovej silice (1651,00 g, 1124,17 g). Kurčatá pri skrmovaní krmných zmesí s podielom škoricovej silice 0,05 % vážili v priemere 1603,00 g a priemerná hmotnosť ich jatočne opracovaného tela bola 1076,67 g. Približne rovnaké hodnoty priemernej hmotnosti a hmotnosti jatočne opracovaného tela boli zaznamenané u kurčiat, ktoré skrmovali krmné zmesi s podielom 0,01 % (1591,00 g, 1060,42 g). Z výsledkov vyplýva, že hmotnosť jatočne opracovaného tela kurčiat závisí od ich telesnej hmotnosti na konci výkrmu.

Obsah tuku v mäse s kožou kury a morky podľa **Bodwella a Andersona (1986)** je 11,07 g.100 g⁻¹. Na základe našich meraní bol obsah tuku v kurčacom mäse s kožou 0,62 až 1,57 g.100 g⁻¹ nižší. Tieto rozdielne údaje obsahu tuku môžu súvisieť so vzorkou mäsa, v ktorej bol obsah tuku určovaný. My sme použili finálny výkrmový typ kurčiat *Ross 308* na rozdiel od **Bodwella a Andersona (1986)**, ktorí použili vzorky mäsa z kury a morky. Existuje málo literárnych zdrojov o obsahu tuku v kurčacom mäse. Väčšina autorov uvádza obsah tuku zvlášť v prsnej a zvlášť v stehennej svalovine. Podľa **Haščika et al. (2009a)** je obsah tuku v prsnej svalovine 1,43 g.100 g⁻¹,

1,63 g.100 g⁻¹ a 1,80 g.100 g⁻¹. Tieto údaje potvrdzujú skupinami kurčiat, ktoré skrmovali kŕmne zmesi

Obsah tuku v mäse



Obrázok 2: Priemerný obsah tuku v kurčacom mäse s kožou v závislosti od skrmovania kŕmnych zmesí s rozličným podielom škoricovej silice

Tabuľka 4: Štatistická charakteristika obsahu tuku v kurčacom mäse s kožou v závislosti od skrmovania kŕmnych zmesí s rozličným podielom škoricovej silice.

Skupina	n	min [g.100 g ⁻¹]	max [g.100 g ⁻¹]	s [g.100 g ⁻¹]	v _k [%]
Kontrolná	12	6,60	19,90	4,31	43,96
1. pokusná	12	7,30	13,80	1,95	19,68
2. pokusná	12	5,70	12,00	1,83	19,30
3. pokusná	12	9,60	13,90	1,52	14,54

Tabuľka 5: Štatistická preukaznosť rozdielov obsahu tuku v kurčacom mäse v závislosti od skrmovania kŕmnych zmesí s rozličným podielom škoricovej silice.

F-test	0,18		
Scheffeho test (0,05)	1. pokusná skupina	2. pokusná skupina	3. pokusná skupina
Kontrolná skupina	-	-	-
1. pokusná skupina	-	-	-
2. pokusná skupina	-	-	-

Scheffeho test pri hladine významnosti P0,05 ; -P>0,05

výsledky obsahu tuku v prsnej svalovine iného experimentu autorov **Haščika et al. (2009b)**. V stehennej svalovine namerali **Haščik et al. (2009a)** 12,60 g.100 g⁻¹, 12,63 g.100 g⁻¹ a 13,00 g.100 g⁻¹. Provnateľné hodnoty obsahu tuku v stehennej svalovine dosiahli aj **Mojto a Zaujec (2001)**, resp. v širšom rozmedzí 10,83 až 13,63 g.100 g⁻¹ **Haščik et al. (2009b)**.

ZÁVER

Na základe poznatkov literatúry doplnky na prírodnej báze pridané do kŕmnych zmesí pre výkrmové kurčatá priaznivo ovplyvňujú výsledky fyziologických a produkčných ukazovateľov a rovnako aj kvalitu mäsa. V našom experimente sme sledovali vplyv kŕmnych zmesí s rozličným prídavkom škoricovej silice na hmotnosť jatočne opracovaného tela a obsah tuku v kurčacom mäse s kožou. Na základe výsledkov experimentu môžeme konštatovať, že hmotnosť jatočne opracovaného tela závisela od telesnej hmotnosti kurčiat pred zabitím. Z týchto výsledkov vyplýva, že so znižovaním podielu škoricovej silice v kŕmnej zmesi sa zvyšovala telesná hmotnosť a hmotnosť jatočne opracovaného tela kurčiat, pričom rozdiely boli štatisticky preukazné medzi

s podielom škoricovej silice 0,1 a 0,025 % a s podielom 0,05 a 0,025 %. Najnižší obsah tuku v kurčacom mäse s kožou 9,5 g.100 g⁻¹ bol v kurčacom mäse po skrmovaní kŕmnej zmesi s podielom škoricovej silice 0,05 %. Pri podiele škoricovej silice 0,01 % v kŕmnej zmesi bol zaznamenaný obsah tuku 9,9 g.100 g⁻¹ a pri 0,025 % podiele škoricovej silice sa obsah tuku v kurčacom mäse s kožou zvýšil na 10,45 g.100 g⁻¹. Rozdiely v obsahu tuku medzi skupinami neboli štatisticky preukazné (P>0,05).

LITERATÚRA

APROTOSOAIE, C., HANCIANU, M., POIATA, A., TUCHILUS, C., STANESCU, U. 2004. *Menthae longifoliae folium* under topsin M treatment: note II. the antimicrobial investigations on essential oil. In 3rd Conference on medicinal and aromatic plants of southeast European countries. Nitra : SPU, 2004, p. 71.

APETREI, R. I., BURZO, I., MIHAIESCU, D., ZAMFIRACHE, M. M., SURDU, S., TOMA, I. 2004. Chemical Composition of Essential Oil from *Pelargonium radens* and Effects it Produces upon Microorganism Cultures. In 3rd Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries. Nitra : SUA, 2004, p. 31.

- BAGHAEI, M., ASHAYERIZADEH, A., ESLAMI, M., BOJARPOUR, M., ROSHANFEKR, H., MIRZADEH, K. H., 2009. Betaine (Betafin®) Replacement for Methionine in Diet on Growth Performance and Carcass Characteristics of Broiler Chickens. In *Research J. of Biolog. Sci.*, vol. 4, 2009, no. 9, p. 1037-1040.
- BENKOVÁ, J. Chov hydiny. [cit. 15. 3. 2009]. Dostupné na internete: <www.agroporadenstvo.sk/zv/hydina/chovhydiny04.htm>.
- BOBČEK, R. 2002. Úloha selénu vo výžive hydiny. In *Slovenský chov*, roč. 7, 2002, s. 32-33.
- FRITZ, Z., SCHLEICHER, A., KINAL, S. 1995. Zastosowanie wybranych ziół lub czosnku do miszanki dla kurcząt rzeźnych. In *Biuletyn Naukowy Przemysłu Paszowego*, roč. 34, 1995, č. 2, s. 25-33.
- BODWELL, C. E., ANDERSON, B. A. 1986. Nutritional composition of meat and meat products. In *Muscle as Food*. Orlando : Academic Press, 1986. p. 321-360.
- CANTOR, A. H., PATON, N. D., PESCATORE, A. J., FORD, M. J., SMITH, C. A. 2003. The effect of selenium yeast in the hen's diet on transfer of selenium to the egg and the developing embryo. In *Krmivá*, roč. 45, 2003, č. 5, s. 327-334.
- DEANS, S. G., RITCHIE, G. 1987. Antibacterial properties of plant essential oils. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 5, 1987, p.165-180.
- DEANS, S. G., WATERMAN, P. G. 1993. Biological activity of volatile oils. In Hay, R. K. M., Waterman, P. G.: *Volatile oil crops*. Essex : Longman Scientific and Technical. 1993, p. 97-111.
- DUKE, J. A. 1986. *CRC Handbook of medicinal herbs*. Florida : CRC press. 1986, p. 667.
- GRABOWSKI, T. 1990. Wpływ żywienia na jakość tułzek i mięsa drobiowego. In *Biuletyn Informacja Drobiarstwa*, 1990, č. 1/2, s. 5-11.
- HAMMER, K. A., CARSON, C. F., RILEY, T. V. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. In *Journal of Applied Microbiology*, vol. 86, 1975, p. 985-990.
- HAŠČÍK, P., KAČÁNIOVÁ, M., ČUBOŇ, J., BOBKO, M., VAVRIŠINOVÁ, K., ARPÁŠOVÁ, H., MIHOK, M., PAVLIČOVÁ, S. 2009a. Vplyv aplikácie *Lactobacillus fermentum* cez vodu na chemické zloženie mäsa kurčiat Ross 308. In *Potravinárstvo*, roč. 3, 2009a, č. 2, s. 22-27.
- HAŠČÍK, P., KAČÁNIOVÁ, M., ČUBOŇ, J., BOBKO, M., NOVÁKOVÁ, I., VAVRIŠINOVÁ, K., ARPÁŠOVÁ, H., MIHOK, M. 2009b. Application of *Lactobacillus fermentum* and its effect on chemical composition of Ross PM3 chicken meat. In *Acta fytotechnica et zootechnica*, Nitra, vol. 12, 2009b, special number, p. 197-205, ISSN 1335-258X.
- JANSEN, A. M., SCHEFFER, J. J. C., SVENDSEN, A. B. 1987. Antimicrobial activities of essential oils. In *Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition*, vol. 9, 1987, p. 193-197.
- LENG, L., LEVKUT, M., BOBČEK, R. 2003. Význam selénometionínu v potravinovom reťazci. In *Selénové vajička a ich vplyv na zdravie ľudí*. Bratislava, 2003, s. 14-24.
- LIS-BLACHIN, M., BUCHBAUER, G., HIRTENLEHNER, T., RESCH, M. 1998. Antimicrobial activity of pelargonium essential oils added to a quiche filling as a model food system. In *Letters in Applied Microbiology*, vol. 27, 1998, p. 207-210.
- MAĐARIČ, A., KADRABOVÁ, J. 2003. Vyhodnotenie denného príjmu selénu na Slovensku. In *Selénové vajička a ich vplyv na zdravie ľudí*. Bratislava, 2003, s. 25-26.
- MAJDONSKI, F. 1991. Dodatki ziolowe do pasz w tuczu kurcząt rzeźnych. In *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu*, 1991, W. 198, s. 67-73.
- MOJTO, J., ZAUJEC, K. 2001. Aktuálne údaje o chemickom zložení a nutričnej hodnote mäsa hospodárskych a divých zvierat. In *Maso*, 2001, č. 4, s. 39-41.
- PASTER, N., JUVEN, B. J., SHAAYA, E., MENASHEROV, M., NITZAN, R., WEISSLOWICZ, H., RAVID, U. 1990. Inhibitory effect of oregano and thyme essential oils on moulds and foodborne bacteria. In *Letters in Applied Microbiology*, vol. 11, 1990, p. 33-37.
- PATON, N. D., CANTOR, A. H., PESCATORE, A. J., FORD, M. J., SMITH, C. A. 2002. The effect of dietary selenium source and level on the uptake of selenium by developing chick embryos. In *Poult. Sci.*, vol. 81, 2002, no. 10, p. 1548-1554.
- PIPOVÁ, M., CABADAJ, R., NAGY, J. 1995. Hygiene and technology of poultry and poultry products. In *Hygiene of poultry, eggs, fish and game*, Data Help : Košice, 1995, p. 6-7.
- REDDY, G. B. S., MELKHANI, A. B., KALYANI, G. A., RAO, J. V., SHIRWAIKAR, A., KOTIAN, M., RAMANI, R., AITHAL, K. S., UDUPA, A. L., BHAT, G., SRINIVASAN, K. K. 1991. Chemical and pharmacological investigations of *Limnophila conferta* and *Limnophila heterophylla*. In *International Journal of Pharmacognosy*, vol. 29, 1991, p. 145-153.
- RŮŽIČKOVÁ, G. 2004. Distillation Methods Used in the Czech Republic for Determination of Essential Oil Content. In *3rd Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries*. Nitra : SUA, 2004, p. 33.
- SCHILCHER, H. 1985. Effects and side-effects of essential oils. In *proceedings of the 15th international symposium on essential oils*. Noordwijkerhout, the Netherlands. 1985, p. 217-231.
- SIMEONOVÁ, J., INGR, I., 2000. Výkrm kohoutků a slepiček do vyššího věku a hmotnosti ve vztahu k výtěžnosti masa a jatečných částí. In *Maso*, roč. 11, 2000, č. 5, s. 13-16.
- SMITH-PALMER, A., STEWART, J., FYFE, L. 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. In *Letters in Applied Microbiology*, vol. 26, 1998, p. 118-122.
- SLAVKOVSKA, V., COULADIS, M., TZAKOU, O., JANCIC, R., LAKUSIC, B. 2004. Essential Oil *Acinos majoranifolius* (Mill.) Silic (Lamiaceae) from Montenegro. In *3rd Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries*. Nitra : SUA, 2004, p. 90.
- SURAI, P. F. 2000. Effect of selenium and vitamin E content of the maternal diet on the antioxidant system of the yolk and the developing chick. In *British Poult. Sci.*, vol. 41, 2000, no. 2, p. 235-243.
- SWAIN, B. K., JOHRI, T. S., MAJUMDAR, S. 2000. Effect of supplementation of vitamin E, selenium and their different combinations on the performance and immune response of broilers. In *British Poult. Sci.*, vol. 41, 2000, no. 3, p. 287-292.

Pod'akovanie:

Táto práca bola podporená projektom VEGA 1/0509/08.

Kontaktná adresa:

Ing. Daniela Liptaiová, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, FBP, KHBP, Trieda Andreja Hlinku 3. Tel.: 037 641 5808, E-mail: daniela.liptaiova@uniag.sk

DYNAMIKA RASTU BAKTÉRIÍ V OVČOM HRUDKOVOM SYRE GROWTH DYNAMIC OF EWES' LUMP CHEESE MICROFLORA

Medved'ová Alžbeta, Valík Lubomír, Liptáková Denisa, Hudcová Anna

ABSTRACT

The preparation of ewes' lump cheese has been known in Slovakia for a long time. It is made from raw or pasteurized ewes' milk, especially due to the activity of lactic acid bacteria. The encouragement of the acidification process by the starters is profitable to use with the respect to the quality of the product. In our study we focused on the growth analysis of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in ewes' cheeses prepared in laboratory conditions with or without addition of starter culture from raw or heat treated milk. According to our experimental data, the addition of the lactic acid bacteria culture and the following pH decrease on the levels lower than 5.0 for 1 to 2 days were able to inhibit the growth of *S. aureus* and *E. coli* on concentrations lower than 10⁴ CFU/g required by European Union legislation. The growth data found in this work may provide the information for food technologists and microbiologists to get the studied organisms under the control.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, ewes' lump cheese, lactic acid bacteria, predictive microbiology

ÚVOD

V našich podmienkach má výroba ovčieho hrudkového syra svoje nezastupiteľné miesto. Po vyrobení zo surového alebo pasterizovaného mlieka zrážaním kazeínu syridlovými enzýmami sa konzumuje priamo alebo sa používa na výrobu bryndze. Bez prídavku kyslíkových kultúr sú mikroorganizmy prirodzene prítomné v mlieku, esenciálnym a najdôležitejším komponentom finálneho produktu (Beresford et al., 2001; Jay, 2000). Biodiverzita prítomných tzv. „divých druhov“, pochádzajúcich z vmena, pokožky zvierat alebo získaných počas dojenia, sa spolupodieľa na špecifických vlastnostiach syra (Senini et al., 1997). Pasterizáciou sa prirodzene prítomné baktérie mliečného kysnutia eliminujú a preto sa musia pridávať vo forme kyslíkových kultúr, čo vedie k určitej uniforme vyrobených syrov (Torres-Llanez et al., 2006; Wouters et al., 2002).

Hoci sú syry všeobecne považované za jedny z najbezpečnejších potravín, v histórii bolo zaznamenaných niekoľko prepuknutí infekcií v súvislosti s konzumáciou syrov (Donnelly, 2004), pričom ich pôvodcami boli okrem iných, aj *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*. Následné vyšetrenia preukázali, že zdrojom kontaminácie bolo surové, nedostatočne pasterizované alebo postpasterizačne kontaminované mlieko a organizmy pochádzali zo surového mlieka alebo z prostredia výroby (Little et al., 2008).

Staphylococcus aureus sa v dobre nadojenom ovčom mlieku môže vyskytovať v počtoch medzi 100 až 200 KTJ.ml⁻¹ (Valík et al., 2004). Ak sa v stáde vyskytuje mastitídne ochorenie, jeho množstvo môže byť zvýšené, a jeho počty varírujú zvyčajne v počtoch okolo 10⁴ KTJ.ml⁻¹ (Asperger a Zangerl, 2003). Podľa Aspergera a Zangerla (2003) je *S. aureus* počas výroby syrov koncentrovaný v zrazenine a jeho obsah v mladom syre je priamo závislý od jeho počtov v mlieku. Pri normálnych podmienkach je schopný sa pomnožiť počas prvých 24 h zrenia (pri suboptimálnej acidifikácii až o 5 log poriadkov), kým produkcia kyselín baktériami mliečného kysnutia neinhibuje jeho ďalší rast (Delbes et al., 2006). Dynamika množenia *S. aureus* v syroch je závislá od množstva, aktivity a typu použitého zákysu. Pri výrobe syrov zo surového mlieka sa preto okyslenie mlieka musí

dosiahnuť čo najskôr, použitím dostatočného množstva aktívnej kyslíkovej kultúry. Pri nedodržaní hygienických podmienok môže stafylokok kontaminovať aj tepelne ošetrované mlieko alebo hrudku, a preto sa vyskytuje v syroch vyrábaných tak zo surového ako aj z pasterizovaného mlieka (García et al., 2007; Lindqvist et al., 2002).

Ďalším bežným potravinárskym kontaminantom znehodnocujúcim potraviny, je *Escherichia coli*. Fermentáciou zbytkovej laktózy vyvoláva skoré nadúvanie syrov s nízkodohrievanou syrovinou (pri 36 až 40 °C). Križovou kontamináciou počas výroby alebo manipulácie s potravinami môžu do potravinového reťazca vstupovať aj shiga-toxín produkujúce kmene. Niektoré toxinogénne kmene majú schopnosť prichytiť sa na nerezových povrchoch technologických zariadení (Lim et al., 2007; Rivas et al., 2007; Görner a Valík, 2004). Pasterizačné a sterilizačné teploty *E. coli* devitalizujú. Naopak, chladenie jej rast len spomaľuje a počas technologického spracovania mlieka (zrecie procesy) sa čiastočne znižujú počty *E. coli*. Podľa Burdovej a Laukovej (2001) zníženie aktívnej kyslosti pod hodnoty pH 5,0, obmedzujú až zastavujú rast a rozmnožovanie *E. coli*.

V súvislosti s uvedeným boli v ostatnom čase definované kritériá hygieny procesu pre počty *Staphylococcus aureus* pre syry vyrábané zo surového mlieka ($n = 5$, $c = 2$, $m = 10^4$ a $M = 10^5$ KTJ.g⁻¹), pre syry vyrábané z mlieka ošetrovaného teplotou nižšou ako pasterizačná teplota ($n = 5$, $c = 2$, $m = 10^2$ a $M = 10^3$ KTJ.g⁻¹) a pre syry vyrábané z mlieka ošetrovaného minimálne pasterizačnou teplotou ($n = 5$, $c = 2$, $m = 10$ a $M = 100$ KTJ.g⁻¹). Pre syry vyrábané z tepelne ošetrovaného mlieka je definovaný limit aj pre počty *Escherichia coli* ($n = 5$, $c = 2$, $m = 100$ a $M = 10^3$ KTJ.g⁻¹; Nariadenie EÚ č. 1441/2007). Tieto štandardy môžu byť splnené, len ak sa na farmách dodržiavajú pravidlá správnej výrobnéj praxe a mlieko na výrobu syrov sa okamžite ochladí alebo spracováva (Asperger a Zangerl, 2003; Jay, 2000).

S. aureus rovnako aj *E. coli* sú slabí kompetitóri a ich rast je často obmedzený inými mikroorganizmami, predovšetkým baktériami mliečného kysnutia. Dôvody pre slabý rast oboch mikroorganizmov sú produkcia organických kyselín (pokles pH), utilizácia kyslíka kompetitívnou mikroflórou (pokles redoxného potenciálu), zníženie nutričných faktorov a produkcia špecifických

antimikrobiálnych faktorov (Baird-Parker, 2000; Jay, 2000).

Predmetom tejto práce bolo v súvislosti s výrobou ovčích syrov na Slovensku analyzovať rast *S. aureus* a *E. coli* v laboratórne pripravených syroch vyrábaných zo surového alebo tepelne ošetrovaného ovčieho mlieka s prídavkom alebo bez prídavku štartovacích kultúr.

MATERIÁL A METÓDY

Výroba ovčích hrudkových syrov

Na výrobu ovčích hrudkových syrov v laboratórnych podmienkach sme použili surové ovčie mlieko, ktoré nám poskytol Ing. Sumka z PD Dulice. Z mlieka, ktoré bolo počas transportu chladené, sme ihneď po prevoze vyrobili v laboratóriu 2 syry zo surového mlieka s prídavkom kultúry Acidko (Rajo, a.s., Bratislava) alebo bez prídavku kyskovej kultúry a dva syry z tepelne ošetrovaného mlieka na 70 °C počas 5 minút s prídavkom kultúry Fresco (Chr. Hansen, Hörshlom, Dánsko) a *Lactobacillus acidophilus* (Rajo, Bratislava, SR) alebo ošetrovaného na 65 °C počas 30 minút s prídavkom *Lactococcus lactis* 1881 (CCM, ČR). Koagulácia mlieka prebiehala pri 30 °C s prídavkom potrebnej dávky syridla (FROMASE 220, DSM, Heerlen, Holandsko, 220 IMCU/ml) a kyskovej kultúry. Po 30 minútach sme syrovinu dohriali na 45 °C pre lepšie uvoľnenie srvátky. Po dosiahnutí požadovanej pevnosti zrn, sme zrná pokrájali, preliali cez plachietku a nechali voľne odtekať 6 h pri laboratórnej teplote. Následná fermentácia syrov prebiehala pri teplote 18 °C.

Mikrobiologická analýza

Vo vzorkách surového mlieka a v hotových syroch sme počas celej doby ich kysnutia stanovovali nasledovné typy mikroorganizmov: baktérie mliečného kysnutia na M17 agare (Biomark, Pune, India) ako počet kolónií kultivovaných pri 30 °C podľa **STN ISO 4833**, baktérie mliečného kysnutia na MRS agare (Merck, Darmstadt, Nemecko) podľa **STN ISO 15124**, počty *S. aureus* na Baird-Parkerovom agare (Imuna, Šarišské Michaľany, Slovensko) podľa **STN ISO 6888-1** a počty *E. coli* na Chromocult agare (Merck, Darmstadt, Nemecko) podľa **National Standard Method F23**. Zo zistených počtov jednotlivých typov mikroorganizmov sme zostrojili rastové čiary v závislosti od času inkubácie podľa Baranyiho D-modelu (Baranyi et al., 1993). V rovnakých časových intervaloch sme stanovovali aj hodnotu aktívnej kyslosti syrov (WTW 720 pH meter, Inolab, Weilheim, Nemecko).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Priemerný obsah sledovaných baktérií v mliekach použitých na výrobu syrov bol 1,5 log poriadku *E. coli*, 2,8 log poriadku *S. aureus* a koncentrácia mliečnych baktérií stanovených na M17 a MRS agare sa rovnala 4,7 a 3,5 log poriadku, v poradí. Počas výroby ich počty vzrástli, v priemere o 1 log poriadok, čo je podľa **Torresa-Llaneza et al. (2006)** a **Zárateho et al. (1997)** čiastočne dané fyzikálnym zachytením mikroorganizmov v zrazenine a čiastočne kvôli prirodzenému rastu a množeniu mikroorganizmov počas prípravy hrudky a počas odtekania srvátky. Odtekanie srvátky v našom prípade prebiehalo pri laboratórnej teplote 6 h a práve počas tejto fázy bol rast všetkých sledovaných druhov

najintenzívnejší, čo charakterizuje aj sklon rastových čiar. Aby sa podľa **Görnera a Valíka (2002)** a **Heriana (2002)** zabezpečilo správne kysnutie, nemá priemerná vnútorná teplota hrudky klesnúť pod 18 °C, preto boli syry po odtečení srvátky uchovávané pri tejto teplote.

V samotných syroch boli počty mliečnych baktérií prirodzene vyššie v syroch vyrobených s prídavkom kyskovej kultúry a v dôsledku zloženia kultúr, bol tento rozdiel výraznejší pre mliečne paličky. V tomto prípade boli ich počty v syre s prídavkom kultúry Acidko vyššie o 3 log poriadky v porovnaní so syrom s natívnou mikroflórou. Počas spracovania mlieka sa počty mliečnych paličiek ďalej zvyšovali rastovou rýchlosťou $Gr_{BMK,MRS} = 0,472 \log \text{KTJ.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ($t_d = 36 \text{ min}$) a $Gr_{BMK,MRS} = 0,047 \log \text{KTJ.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ($t_d = 6,4 \text{ h}$) v syre bez prídavku kultúry a s prídavkom kultúry Acidko, v poradí. V oboch syroch však boli ich maximálne počty v stacionárnej fáze vyššie ako 7 log poriadkov, rovnako tak aj maximálna denzita mliečnych baktérií stanovených na M17 agare. Počas kysnutia syra pri teplote 18 °C počet mliečnych kokov narastal rastovou rýchlosťou $0,344 \log \text{KTJ.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ($t_d = 54 \text{ min}$), pre syr s prídavkom kyskovej kultúry a porovnateľnou rýchlosťou sa rozmnožovali aj v syre s natívnou mikroflórou.

Rast mliečnych baktérií bol sprevádzaný prirodzenou tvorbou kyseliny mliečnej, vďaka čomu už po 12 h bola v syre s prídavkom kyskovej kultúry hodnota pH = 5,0. Rovnako aj **Charlier et al. (2008)**, **Alomar et al. (2008)** a **Delbes et al. (2006)** uvádzajú, že v procese výroby syrov je najkritickejších prvých 6 h, kedy sa *S. aureus* môže množiť bez ohľadu na stupeň jeho počtov v surovine. Čím väčší pokles hodnôt aktívnej kyslosti sa počas tejto doby dosiahne, tým menší bude nárast populácie kontaminanta. Potvrdením toho sú aj naše výsledky. Koncentrácia stafylokoka v mlieku bola 10 KTJ.ml⁻¹. Z tejto sa počas výroby pomnožil na koncentráciu 1,5 log poriadku v hotovom syre vyrobenom s prídavkom Acidka. Kým neklesla hodnota pH pod hodnotu pH = 5,0, dokázal sa aj stafylokok množiť, rastovou rýchlosťou $Gr_{STA} = 0,165 \log \text{KTJ.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ($t_d = 1,8 \text{ h}$). V čase dosiahnutia kritickej hodnoty pH sa jeho rast zastavil, pričom jeho nárast v stacionárnej fáze oproti počiatočným počtom bol len

1 log poriadok. V syre vyrobenom bez prídavku kompetitívnej mikroflóry bola kritická hodnota pH dosiahnutá až po 36 h kysnutia, ale napriek tomu bola inhibícia rastu patogénnych mikroorganizmov spoľahlivo zabezpečená metabolizmom natívnych baktérií mliečného kysnutia z mlieka. Nárast *S. aureus* v stacionárnej fáze oproti počiatočným počtom bol 1 log poriadok, pričom rastová rýchlosť v exponenciálnej fáze bola oproti predchádzajúcemu pokusu 4-násobne nižšia.

Rovnaký negatívny vplyv rýchleho poklesu hodnoty pH na prežívanie *S. aureus* pozorovali vo svojich prácach aj iní autori. **Olarte et al. (2000)** vyrábali kozie syry bez prídavku a s prídavkom kultúry, pozostávajúcej z *Lactococcus lactis*, *L. cremoris*, *L. diacetylactis* a *Streptococcus thermophilus*. Hodnota pH po dvoch dňoch kysnutia bola v syre bez prídavku kultúry 6,61, kým v syre s kultúrou 5,1. Takéto prostredie malo inhibičný vplyv aj na rast *S. aureus*, ktorý po 5 dňoch kysnutia v syre bez kultúry prekročil 6 log poriadkov a syre s kultúrou boli jeho počty vyššie ako 4 log poriadky, ale s pretrvávajúcim kysnutím a zrením klesali až na 2 log poriadky. **Zárate et**

al. (1997) sledovali obsah *S. aureus* v syre Tenerife vyrobenom zo surového mlieka. Po 24 h od výroby, dosahovala hodnota pH 4,93, v dôsledku čoho začal klesať aj obsah *S. aureus* z maximálnych koncentrácií 3,14 log poriadku. Ani v kravských syroch zo surového mlieka nedošlo vďaka nízkej hodnote pH = 5,09 k premnoženiu *S. aureus* a jeho počty boli aj po 2 až 3 týždňoch nižšie ako 2 log poriadky (Menéndez et al., 2001).

Naopak, v mexickom ovčom syre Fresco, vyrábanom zo surového mlieka bez prídavku kyselovej kultúry, hodnota aktívnej kyslosti klesla na hodnotu pH = 5,6 až po 10 dňoch skladovania syra pri teplote 4 °C. Hoci koncentrácia mliečnych baktérií stanovených na M17 aj MRS agare v mladom syre bola vyššia ako 10⁷ KTJ.g⁻¹, počty *S. aureus* boli počas celého pokusu vysoké, na konci 10 dňa skladovania blízke hodnote 10⁷ KTJ.g⁻¹ (Torres-Llanez et al., 2006). Podobný negatívny výsledok zaznamenal aj Öner et al. (2006) počas mikrobiologickej analýzy tureckého syra zo surového ovčieho a kravského mlieka. Hodnota pH klesala veľmi pozvoľne, svoje minimum pH = 5,1 dosiahla až po 15 dňoch, následkom čoho boli počty *S. aureus* vyššie ako 5 log poriadkov. Pomalý pokles aktívnej kyslosti v čerstvom syre svedčí o slabej fermentačnej aktivite nezákysových BMK v oboch spomínaných syroch vyrábaných bez prídavku kultúr.

Podobný trend sme zaznamenali aj v prípade *E. coli*. Jej koncentrácia v surovom mlieku bola 1,8 log poriadku, z týchto počtov počas spracovania dokonca jej počty poklesli na hodnotu 1 log poriadok v mladom syre s prídavkom kultúry. Ale počas jeho kysnutia sa po 4 h lag-fáze začala množiť rastovou rýchlosťou Gr_{EC} = 0,345 log KTJ.g⁻¹.h⁻¹ (t_d = 54 min) až na maximálne hodnoty 3,2 log poriadku. Podobne ako stafylokok, aj rast *E. coli* sa v čase dosiahnutia pH = 5,0 zastavil, a postupne začala odumierať rýchlosťou 0,016 log KTJ.g⁻¹.h⁻¹. Rastová rýchlosť *E. coli* v syre s natívnou mikróflórou bola 1,7-násobne nižšia oproti predchádzajúcemu pokusu a jej maximálne počty boli nižšie ako 10⁴ KTJ.g⁻¹.

V súlade s prácami viacerých autorov možno konštatovať, že pod inhibičný vplyv mliečnych baktérií voči *S. aureus* a *E. coli* sa v najväčšej miere podpísala produkcia kyseliny mliečnej s následným poklesom hodnôt pH (Liptáková et al., 2008; Elkins et al., 2008; Delbes et

al., 2006; Baker-Austin a Dopson, 2006). Okrem acidifikácie zohráva významnú úlohu aj priama kompetícia o živiny, predovšetkým o nikotínamid a také rastové faktory ako je biotín a niacín (Charlier et al., 2008).

V ďalšej časti práce sme sledovali vplyv tepelného ošetrenia mlieka na rast prítomných mikroorganizmov. V syre z mlieka ošetreného teplotou 65 °C a s prídavkom *L. lactis 1881* a rovnako tak aj v syre vyrobeného z mlieka ohriateho na 70 °C a s prídavkom kultúry Fresco a *Lb. acidophilus* boli počiatkové koncentrácie mliečnych baktérií vyššie ako 6 log poriadkov, stanovené tak na M17 ako aj na MRS pôde.

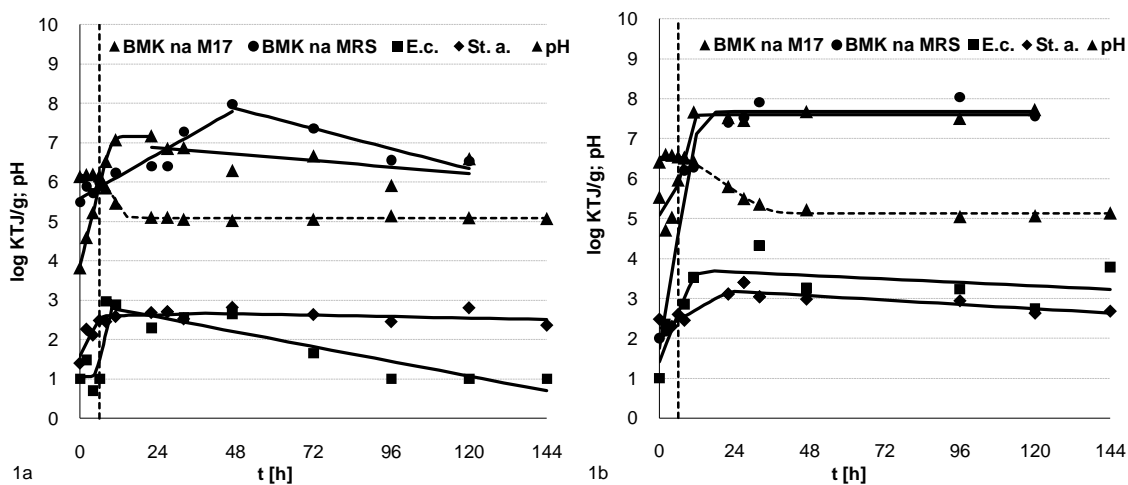
Rastové rýchlosti mliečnych baktérií v syre z mlieka ošetreného nižšou teplotou boli porovnateľné, Gr_{BMK,M17} = 0,022 log KTJ.g⁻¹.h⁻¹ (t_d = 13,9 h) a Gr_{BMK,MRS} = 0,015 log KTJ.g⁻¹.h⁻¹ (t_d = 19,5 h). S ich slabšími rastovými schopnosťami súvisel aj pomalší pokles hodnoty pH, až po takmer 3 d kysnutia bola dosiahnutá minimálna hodnota pH = 5,3. Naproti tomu v syre z mlieka ohriateho na 70 °C boli rastové rýchlosti mliečnych baktérií 10-násobne vyššie. Aj preto bola minimálna hodnota pH = 4,9 dosiahnutá už po 12 h kysnutia syra.

Napriek pomalšiemu poklesu hodnoty pH v syre z mlieka ohriateho na 65 °C, bol rast sledovaných patogénnych mikroorganizmov účinne inhibovaný. Rast *S. aureus* bol síce potlačený až po 72 h zrenia, ale jeho nárast v stacionárnej fáze oproti počiatkovým počtom bol len 1,2 log poriadku s časom zdvojenia 8,3 h, pričom maximálna dosiahnutá koncentrácia bola 2,2 log poriadku. V syre s rýchlejšim poklesom hodnoty pH, sme nárast stafylokoka pozorovali len počas prvých 12 h, z počiatkových počtov 10 KTJ.g⁻¹ s rastovou rýchlosťou 0,136 log KTJ.g⁻¹.h⁻¹ (t_d = 2,2 h) dosiahol v stacionárnej fáze nárast len o 1 log poriadok.

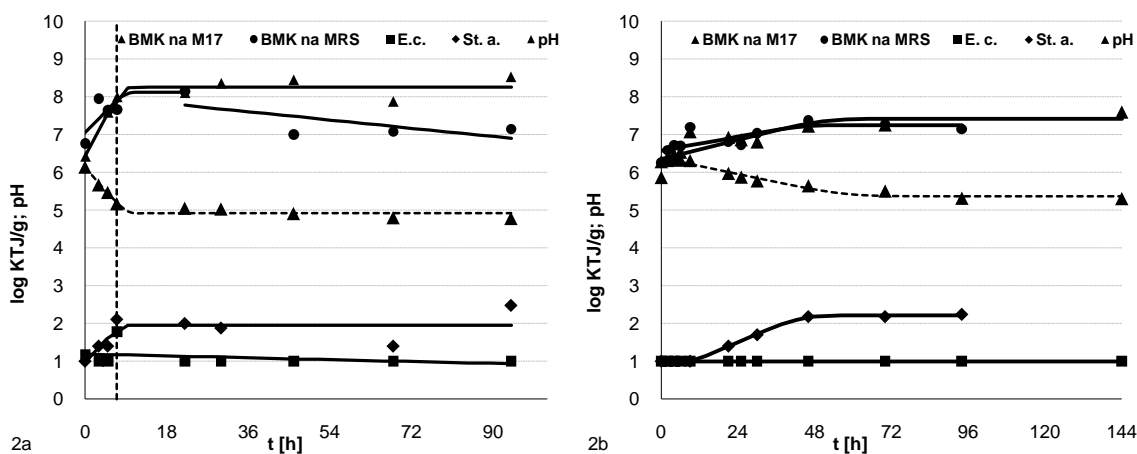
V prípade *E. coli* boli jej priemerné počiatkové počty 1,2 log poriadku. Počas kysnutia syrov jej počty ostali buď konštantné alebo dokonca klesali rýchlosťou odumierania 0,003 log KTJ.g⁻¹.h⁻¹, až jej počty na konci experimentu boli nižšie ako 10 KTJ.g⁻¹.

ZÁVER

Požiadavky Európskej únie definované nariadením č. 1441/2007 pre počty *S. aureus* v syroch vyrábaných zo



Obr. 1a a 1b: Dynamika rastu baktérií v ovčom hrudkovom syre zo surového mlieka s prídavkom kultúry Acidko (1a) a bez prídavku kyselovej kultúry (1b).



Obr. 2a a 2b: Dynamika rastu baktérii v ovčom hrudkovom syre z tepelne ošetreného mlieka na 70 °C s prídavkom kultúry Fresco a *Lactobacillus acidophilus* (2a) a z tepelne ošetreného mlieka na 65 °C s prídavkom kultúry *Lactococcus lactis* 1881 (2b).

surového mlieka boli prekročené v jednom zo syrov vyrábaných s prídavkom kultúry a v jednom zo syrov vyrábaných bez kultúry. V oboch prípadoch už v samotnom mlieku boli počty stafylokoka vyššie ako 10^4 KTJ.g⁻¹. V oboch syroch, v ktorých boli prekročené limity pre *S. aureus*, boli aj počty *E. coli* vyššie ako 10^4 KTJ.g⁻¹, čo je limitná hodnota pre počty *E. coli* pre syry vyrábané zo surového mlieka stanovená Potravinovým kódexom SR. Toto môže súvisieť s nedodržaním hygieny a sanitácie počas dojenia a prvotného spracovania ovčieho mlieka na salaši.

Pre syry vyrábané z tepelne ošetreného mlieka sú EÚ definované limity pre počty *E. coli* a to, menej ako 10^2 KTJ.g⁻¹. Tento limit nebol v syroch vyrobených z tepelne ošetreného mlieka prekročený ani v jednom prípade. Počty *S. aureus* v syroch vyrobených z mlieka ošetreného minimálne pasterizačnou teplotou by nemali presiahnuť 10 KTJ.g⁻¹. V tomto prípade sme v nami vyrobených syroch z tepelne ošetreného mlieka stanovili počty stafylokoka 2 a 2,2 log poriadku v syre vyrobenom z mlieka ohriateho na 70 °C a 65 °C, v poradí. Hoci bola hodnota stanovená európskym nariadením prekročená, stanovené koncentrácie by nemali predstavovať potenciálne riziko vzniku enterotoxikózy, pretože na jej vyvolanie je potrebná koncentrácia až 10^6 KTJ.g⁻¹ tohto mikroorganizmu.

Na základe získaných výsledkov je pri výrobe syrov, potrebné nielen dodržiavať pravidlá správnej výrobnéj praxe, hygienické a sanitačné zásady, ale aj používať kvalitné suroviny. Navyše vhodnou kombináciou a dostatočným množstvom aktívnej kyskovej kultúry, inhibične pôsobiacej voči rastu takých patogénnych a nežiaducich mikroorganizmov, ako *S. aureus* a *E. coli* sa dá eliminovať možné riziko vzniku alimentárnych ochorení u ľudí.

LITERATÚRA

ALOMAR, J., LEBERT, A., MONTEL, M. C. 2008. Effect of temperature and pH on growth of *Staphylococcus aureus* in co-culture with *Lactococcus garvieae*. In *Current Microbiology*, vol. 56, 2008, pp. 408-412.

ASPERGER, H., ZANGERL, P. 2003. *Staphylococcus aureus*. *Encyclopedia of Dairy Science*. Academic Press, 2003, pp. 2563-2509.

BAIRD-PARKER, T. C. 2000. *Staphylococcus aureus*. LUND, B. M., BAIRD-PARKER, T. C., GOULD, G. W. *The Microbiological Safety and Quality of Food*. Gaithersburg: Aspen Publishers, Inc., 2000, vol. 1, ISBN 0-8342-1323-0. pp. 1317-1330.

BAKER-AUSTIN, C., DOPSON, M. 2007. Life in acid: pH homeostasis in acidophiles. In *TRENDS in Microbiology*, vol. 15, 2007, no. 4, pp. 165-171.

BARANYI, J., ROBERTS, T. A., McCLURE, P. 1993. A non-autonomous differential equation to model bacterial growth. In *Food Microbiology*, vol. 10, 1993, pp. 43-59.

BERESFORD, T. P., FITZSIMONS, N. A., BRENNEN, N. L., COGAN, T. M. 2001. Recent advances in cheese microbiology. In *International Dairy Journal*, vol. 11, 2001, pp. 259-274.

BURDOVÁ, O., LAUKOVÁ, A. 2001. Zdravotná neškodnosť mlieka a mliečnych výrobkov. In *Mliekarstvo*, roč. 32, 2001, č. 4, s. 16-17.

DELBES, C., ALOMAR, J., CHOUGUI, N. et al. 2006. *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin production during the manufacture of uncooked, semihard cheese from cows' raw milk. In *Journal of Food Protection*, vol. 69, 2006, no. 9, pp. 2161-2167.

DONNELLY, C. W. 2004. Growth nad survival of microbial pathogens in cheese. In FOX, P., SWEENEY, P., COGAN, T., GUINEE, T. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Hardbound: Academic Press, 2004, ISBN 0-1226-3652-X, pp. 541-559.

ELKINS, CH. A., MUNOZ, M. E., MULLIS, L. B. et al. 2008. *Lactobacillus*-mediated inhibition of clinical toxic shock syndrome *Staphylococcus aureus* strains and its relation to acid and peroxide production. In *Anaerobe*, vol. 14, 2008, pp. 261-267.

CHARLIER, C., CRETENET, M., EVEN, S., Le LOIR Y. 2008. Interactions between *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria: an old story with new perspectives. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 18, 2008, pp. 197-203.

GARCÍA, P., MADERA, C., MARTÍNEZ, B., RODRÍGUEZ, A. 2007. Biocontrol of *Staphylococcus aureus* in curd manufacturing processes using bacteriophages. In *International Dairy Journal*, vol. 17, 2007, pp. 1323-1339.

- GÖRNER, F., VALÍK, E. 2002. Mikrobiologické a technologické otázky výroby ovčieho hrudkového syra a bryndze. In *Mliekarstvo*, roč. 33, 2002, č. 4, s. 16-17.
- GÖRNER, F., VALÍK, E. 2004. Aplikovaná mikrobiológia požívatin. 1. vyd. Bratislava: Malé centrum, 2004. 528 s. ISBN 80-967064-9-7.
- HERIAN, K. 2002. Zásady správnej výroby ovčích hrudkových syrov. In *Mliekarstvo*, roč. 33, 2002, č. 1, s. 42-45.
- JAY, J. M. 2000. Staphylococcal Gastroenteritis. In JAY, J. M. *Modern Food Microbiology*. 6th ed., Gaithersburg: Aspen Publisher, Inc., 2000, vol. 23. ISBN 0-8342-1671-X, p. 441-459.
- LIM, S. K., LEE, H. S., NAM, H. M. et al. 2007. Antimicrobial resistance observed in *Escherichia coli* strains isolated from fecal samples of cattle and pigs in Korea during 2003-2004. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 115, 2007, pp. 283-286.
- LINDQVIST, R., SYLVÉN, S., VÅGSHOLM, I. 2002. Quantitative microbial risk assessment by *Staphylococcus aureus* in unripened cheese made from raw milk. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 78, 2002, pp. 155-170.
- LIPTÁKOVÁ, D., VALÍK, E., MEDVEĎOVÁ, A., HUDECOVÁ, A. 2008. Kvantitatívna analýza rastu *Escherichia coli* a *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* pri súbežnej kultivácii v mlieku. In *Slovak J. Anim. Sci.*, vol. 41, 2008, pp. 91-98.
- LITTLE, C. L., RHOADES, J. R., SAGOO, S. K. et al. 2008. Microbial quality of retail cheeses made from raw, thermized or pasteurized milk in the UK. In *Food Microbiology*, vol. 25, 2008, pp. 304-312.
- MENÉNDEZ, S., GODÍNEZ, R., CENTENO, J. A. et al. 2001. Microbiological, chemical and biochemical characteristics of „Tetilla“ raw cows-milk cheese. In *Food Microbiology*, vol. 18, 2001, pp. 151-158.
- National Standard Method F23 2005. Enumeration of *Enterobacteriaceae* by the colony count technique. Cardiff: National Public Health Service for Wales, 2005, 11p.
- Nariadenie komisie (ES) č. 1441/2007 o mikrobiologických kritériách pre potraviny. Úradný vestník Európskej únie L338, 2005, s. 1 - 26. Plný text tiež na adrese: http://www.svssr.sk/sk/pdf/legislativa/nk_2073_2005.pdf.
- OLARTE, C., SANZ, S., GONZALEZ-FANDOS, E., TORRE, P. 2000. The effect of a commercial starter cultures addition on the ripening of an artisanal goat's cheese (Cameros cheese). In *Journal of Applied Microbiology*, vol. 88, 2000, pp. 421-429.
- ÖNER, Z., KARAHAN, A. G., ALOĞLU, H. 2006. Changes in the microbiological and chemical characteristics of an artisanal Turkish white cheese during ripening. In *LWT*, vol. 39, 2006, pp. 449-454.
- SENINI, L., CAPPÀ, F., COCCONCELLI, P. S. 1997. Use of rDNA-targeted oligonucleotide probes for the characterization of the microflora from fermentation of Fontina cheese. In *Food Microbiology*, vol. 14, 1997, pp. 469-476.
- RIVAS, L., FEGAN, N., DYKES, G. A. 2007. Attachment of Shiga toxinogenic *Escherichia coli* to stainless steel. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 115, 2007, no. 3, pp. 89-94.
- STN ISO 4833. Mikrobiológia: Všeobecné pokyny na stanovenie celkového počtu mikroorganizmov. Metóda počítania kolónií kultivovaných pri 30 °C. Bratislava: Slovenský ústav technickej normalizácie, 1997, 9 s.
- STN ISO 6888. Mikrobiológia. Všeobecné pokyny na stanovenie počtu baktérií *Staphylococcus aureus*. Metóda počítania kolónií. Bratislava: Slovenský ústav technickej normalizácie, 1997, 16 s.
- STN ISO 15214. Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na stanovenie počtu mezofilných kyslomliečnych baktérií. Metóda počítania kolónií kultivovaných pri 30 °C. Bratislava: Slovenský ústav technickej normalizácie, 2002, 12 s.
- TORRES-LLANEZ, M. J., VALLEJO-CORDOBA, B., DÍAZ-CINCO, M. E. et al. 2006. Characterization of the natural microflora of artisanal Mexican Fresco cheese. In *Food Control*, vol. 17, 2006, pp. 683-690.
- VALÍK, E., GÖRNER, F., SONNEVELD, K., POLKA, P. 2004. Faktory ovplyvňujúce fermentáciu ovčieho hrudkového syra na salaši. In *Celostátní přehledky sýrů, 2004: Výsledky přehledek a sborník přednášek semináře Mléko a sýry 2004*. Ed.: J. ŠTĚTINA, L. ČURDA. Praha: Česká společnost chemická, 2004, s. 85-87. ISBN 978-80-86238-42-5.
- WOUTERS, J. T. M., EMAN, H. E. A., HUGENHOLTZ, J., SMIT, G. 2002. Microbes from raw milk for fermented dairy products. In *International Dairy Journal*, vol. 12, 2002, pp. 91-109.
- ZÁRATE, V., BELDA, F., PÉREZ, C., CARDELL, E. 1997. Changes in the microbial flora of Tenerife goats' milk cheese during ripening. In *International Dairy Journal*, vol. 7, 1997, pp. 635-641.

Kontaktná adresa:

Ing. Alžbeta Medveďová, PhD., Oddelenie výživy a hodnotenia potravín, FCHPT STU Bratislava, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, t.č. 02/59325488, alzbeta.medvedova@stuba.sk

doc. Ing. Ľubomír Valík, PhD., Oddelenie výživy a hodnotenia potravín, FCHPT STU Bratislava, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, t.č. 02/59325518, lubomir.valik@stuba.sk

Ing. Denisa Liptáková, PhD., Oddelenie výživy a hodnotenia potravín, FCHPT STU Bratislava, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, t.č. 02/59325488, denisa.laukova@stuba.sk

Ing. Anna Hudecová, Oddelenie výživy a hodnotenia potravín, FCHPT STU Bratislava, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, t.č. 02/59325515, xhudecova@stuba.sk

TEXTURAL, FLOW AND SENSORY PROPERTIES OF FIVE “FRUZELINA” WITH SOUR CHERRIES

Paulina Pajak, Teresa Fortuna, Irena Bojdo-Tomasiak

ABSTRACT

Gel with sour cherries called “Fruzelina” is a new product in the Polish market widely used in food industry as a decorative element or filling for pastries, as an ingredient in fruit desserts, as an additive to ice creams, whipped cream and waffles. The cherry gels are the product prepared using different types of chemically modified starches. Starch is an additive used to ensure rich and short texture and high viscosity of “Fruzelina”. Food texture and viscosity may be measured by senses and instrumentally. Because of fact that sensory analysis is time consuming and very costly, it is easier and cheaper to determine food properties, especially their texture and flow behaviour by appropriate mechanical tests.

The aim of this work was to study the rheological behavior of five cherry gels and evaluate the correlation between textural, flow and sensory properties of these gels measured instrumentally and by human senses.

The back extrusion test has been found to be applicable to study the textural properties of cherry gels. There was high positive correlation between gel texture measured by senses and texture parameters measured in back extrusion test. Similar high correlation was identified for consistency coefficient K obtained in Ostwald de Waele model and gel texture assessed by sensory panel. It was found that values of sensory parameters such as taste and odour decreased as the rheological parameters increased. High negative correlations were observed in these cases. Therefore, instrumental measurements can be alternative for more expensive sensory methods.

Keywords: cherry gel, texture, flow properties, sensory analysis

INTRODUCTION

Gel with sour cherries called “Fruzelina” is a new product in the Polish market used as a decorative element or filling for pastries, as an ingredient in fruit desserts, as an additive to ice creams, whipped cream and waffles. “Fruzelina” is obtained from whole sour cherries in the amount of no less than 60% of total product weight, and of the starch gel containing natural fruit juice. Sucrose (20%), citric acid and potassium sorbate are the other ingredients in fruit gels. “Fruzelina” are preserved by pasteurization in cans. One of the most important attributes of semisolid food products, which is the main reason of consumer choice, is their texture and viscosity. Good rheological properties are achieved by addition of starch pastes. Chemically modified starches are often used in fruit fillings as texture improvers, thickening agents, replacers for pectin and hydrocolloids (Saijilata & Singhal, 2005). For many years, interest has been shown in correlations between texture measured by the senses and texture measured instrumentally (Hill et al., 1995). Unfortunately, sensory analysis is time consuming and very costly, therefore it is easier and cheaper to measure food quality, especially its texture and flow properties, by instrumental methods.

The aim of this work was to study the rheological behavior of five cherry gels prepared using different types of waxy maize and cassava modified starches (acetylated distarch adipates and hydroxypropylated distarch phosphates) and correlation between textural, flow and sensory properties of these gels measured instrumentally and by the sensory panel.

MATERIAL AND METHODS

Five “Fruzelina” with sour cherries were prepared according to the same recipe in Prospina Ltd Fruit and Vegetable Processing in Nowy Sącz, Poland. Gels were made by using different types of starch at the same concentration (5% d. m.) as following:



- product 1 (P1) contained waxy maize starch: C*Tex 06214 - acetylated distarch adipates (Cargill – Cerestar in Bielany Wrocławskie, Poland),
- product 2 (P2) contained waxy maize starch: Thermflo - hydroxypropylated distarch phosphate,
- product 3 (P3) contained waxy maize starch: National 67-0021 - acetylated distarch adipates,
- product 4 (P4) contained cassava starch: National Frigex HV - hydroxypropylated distarch phosphate,
- product 5 (P5) contained cassava starch: Thickflo - acetylated distarch adipates.

Product P2, P3, P4 and P5 were supplied by National Starch & Chemical in Manchester, Great Britain.

The analysis of the gels involved determination of textural properties using back extrusion test. Textural properties were made using texturometer EZ Test (Schimadzu, Japan). 40 g of the gel samples (after cherry removal) were weighed in a cylindrical container having an inner diameter of 32 mm. The plunger consisted of a stainless steel rod having a diameter of 30 mm and height of 5 mm. The samples were tested at plunger speed 25 mm.min⁻¹. The rod was immersed in the sample to 30 mm in depth. Three magnitudes were determined during measurements: work made by rod [N·mm], maximum force [N] and mean force [N] necessary to squeeze gel sample through the gap between container and rod.

The flow properties were determined with a rotational rheometer Rheolab MC1 (Physica Meßtechnik GmbH, Germany) with a Z3 DIN concentric cylinders geometry (external diameter – 27.12 mm, internal diameter – 25.00 mm). Measurements were made at 25°C. The sample of gel (after cherry removal) was loaded in a gap between two cylinders and was allowed to equilibrate for 10 min. The software US 200 Data Manager (Physica Meßtechnik GmbH, Germany) was employed to obtain the rheological parameters. Flow curves were plotted according to following program: increasing rate of shear from 0 to 300 s⁻¹ within 10 min. The shear stress of analyzed gels was measured as a function of shear rate.

Table 1. The results of back extrusion test of five cherry gels.

Fruit gel	Work [N·mm]	Maximum force [N]	Mean force [N]
P1 (C*Tex 06214)	176.01 ^a	6.53 ^a	5.87 ^a
P2 (Thermflo)	238.54	9.17	8.08
P3 (National 67-0021)	180.86 ^a	7.50 ^a	6.03 ^a
P4 (National Frigex HV)	93.82 ^b	3.78 ^b	3.12 ^b
P5 (Thickflo)	98.58 ^b	3.84 ^b	3.26 ^b

*Within columns, values followed by the same small letters do not differ significantly at p=0.05.

The Ostwald de Waele model ($\tau = K \cdot \dot{\gamma}^n$) was tried to determine the rheological behavior of gels, where τ is the shear stress (Pa), $\dot{\gamma}$ is the shear rate (s^{-1}), K is the consistency coefficient ($Pa \cdot s^n$), n is the flow behavior index (dimensionless) (Kembłowski, 1973; Schramm, 1998).

The sensory analysis of fruit gels were carried out by 13-person sensory panel trained according to Polish Standard (1998a, 1998b, 1996). The five-point scale method (1–poor quality, 5–excellent quality) was used (Barylko-Pikielna, 1975). Appearance, colour, taste, odour, and texture were evaluated by panelists. Appearance, colour, and texture were determined apparently for cherry and gel. The established coefficients of importance (c. i.) for the above attributes were the

used starch significant affected the values of work made by rod as well as maximum and mean forces of cherry gels. The highest values of these magnitudes exhibited product P2 thickened by adding waxy maize starch – Thermflo (238.54 N·mm, 9.17 N and 8.08 N respectively). This gel had rich, thick and short texture. Slightly less thick texture showed gel P1 and P3. No statistically significant differences in texture parameters were found between Product P1 and P3 (also prepared by using waxy maize starches – C*Tex and National 67-0021). Only cherry gels made with using cassava starches (P4 and P5), exhibited almost twice lower values of work, maximum and mean forces measured instrumentally. Their texture was of long and loose types.

Rheological parameters fitted to Ostwald de Waele model are shown in Table 2. The type of starch used to

Table 2. Rheological parameters of Ostwald de Waele model

Fruit gel	Ostwald de Waele model		
	K [Pa·s ⁿ]	n	R ²
P1 (C*Tex 06214)	52.46	0.39	0.992
P2 (Thermflo)	43.19 ^a	0.42 ^a	0.992
P3 (National 67-0021)	43.77 ^a	0.42 ^a	0.995
P4 (National Frigex HV)	1.20 ^b	0.62	0.999
P5 (Thickflo)	6.55 ^b	0.55	0.997

*Within columns, values followed by the same small letters do not differ significantly at p=0.05

following: 0.1 (fruit appearance), 0.1 (gel appearance), 0.05 (fruit colour), 0.05 (gel colour), 0.1 (odour), 0.15 (fruit texture), 0.15 (gel texture), 0.3 (taste).

Statistical analysis was carried out using Microsoft Excel software. The one-way analysis of variance was used at p=0.05 (Fisher’s test) to determine significant differences among cherry gels. At least duplicate measurements were made for each cherry gel samples.

RESULTS AND DISCUSSION

The results of back extrusion test are presented in Table 1. Several parameters were calculated in the back extrusion test, such as work (calculated as area under peak), maximum and mean forces necessary to squeeze gel through the gap between container and rod. The type of

obtain thick texture and high viscosity had significant influence on the rheological parameters. All products were non-Newtonian fluids and had pseudoplastic behavior, which confirms the other observations concerning fruit fillings (Ahmed et al., 2007; Grigelmo-Miguel & Martin-Belloso, 2000; Maceiras, 2007; Pelegrine et al., 2002). Consistency coefficient K (which is the measure of apparent viscosity) was the highest for gel P1 thickened by adding waxy corn starch C*Tex) and then for gels P2 and P3. The smallest K values exhibited samples P4 and P5 with cassava starches (1.20 and 6.55 [Pa sⁿ], respectively).

The n values ranged between 0.39-0.62 which indicate shear thinning nature of the fruit gels (if n is <1, the fluid is shear thinning) [Clark, 2006]. As the behavior indexes indicate pseudoplasticity was larger for P1, P2 and P3

Table 3. Results of sensory analysis of fruit gels by 5-point scale method (mean values after augmentation by coefficients of importance and standard deviations).

Quality factor		Coefficient of importance (c.i.)	P1	P2	P3	P4	P5
Appearance	gel	0.1	0.46	0.44	0.41	0.48	0.50
	cherry	0.1	0.42	0.43	0.38	0.46	0.48
Colour	gel	0.05	0.24	0.25	0.23	0.22	0.22
	cherry	0.05	0.23	0.24	0.22	0.23	0.23
Odour		0,1	0.43	0.44	0.43	0.45	0.47
Texture	gel	0.15	0.70	0.72	0.68	0.57	0.58
	cherry	0.15	0.60	0.59	0.59	0.65	0.65
Taste		0.3	1.25	1.06	1.04	1.32	1.36
Total score		1.0	4.33	4.16	3.98	4.37	4.48

samples which means that the samples P4 and P5 tend to behave as a Newtonian fluid.

On the basis of the results of sensory analysis (tab. 3) it was stated that the examined gels exhibited good quality. The total scores for all samples were above 3.98. The

worst quality in 5-point scale of all the products was represented by P3 gel, mainly due to the lowest notes for its appearance and taste.

According to **Hill et al. (1995)** liquid and semisolid foods, e.g. weak gels, are relatively easy to evaluate by

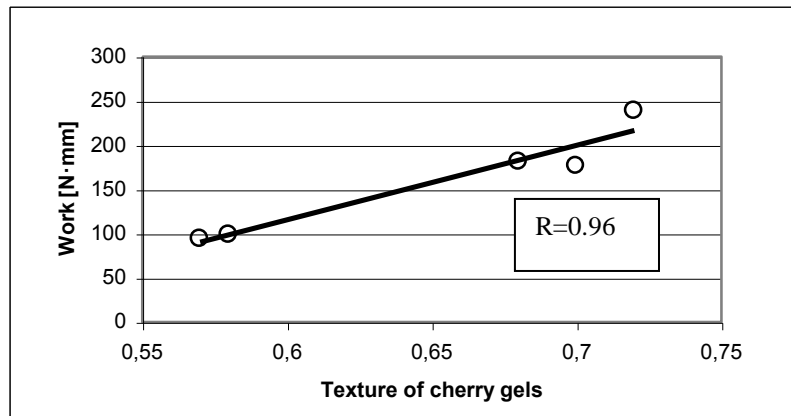


Fig. 1. Correlation between texture measured by sensory panel and work measured instrumentally.

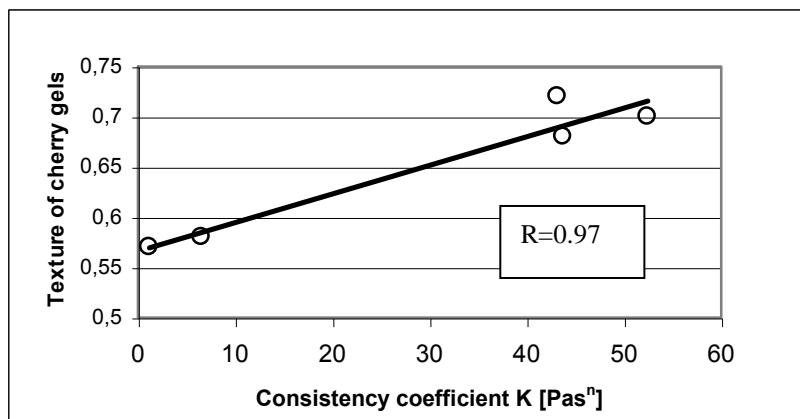


Fig. 2. Correlation between texture measured by sensory panel and work measured instrumentally.

fundamental rheological methods. They stated that appropriate rheological parameters (such as steady shear viscosity or complex viscosity measured in oscillation) give good positive correlation with sensory thickness. Moreover they showed that there is interaction between other sensory parameters such as flavour (both taste and odour) and texture measured instrumentally. Intensity of perceived sweetness and flavour decreases as the thickness of the product increases. As would be expected in this paper there was a high positive correlation between texture and rheological parameters measured instrumentally and texture measured by sensory panel (coefficients of correlation were very high, $R > 0.96$). Some of the examples are shown in fig. 1 and 2. Opposite relationship was observed in the case of sensory parameters (taste and odour) and consistency coefficient K of Ostwald de Waele's model or texture parameters from back extrusion test. With increasing values of sensory parameters decrease in K values was observed. Correlations were negative $R = -0.72$ and $R = -0.85$ for taste and odour respectively. Similar behaviour was found between back extrusion test parameters and taste assessed by senses. With increasing values of sensory parameters, a decrease in work made by the rod during back extrusion test ($R = -0.86$) was stated.

CONCLUSION

The back extrusion test has been found to be applicable to study the textural properties of cherry gels. There was high positive correlation between texture measured by senses and instrumentally. The relationship between apparent viscosity (determined as consistency coefficient K) and texture assessed by sensory panel was similar to the above. These results suggest that the texture of gels can be predicted instrumentally without using expensive and time consuming sensory analysis. It was found that values of sensory parameters such as taste and odour decreased as the rheological parameters increased. High negative correlations were observed in these cases.

REFERENCES

AHMED, J., RAMASWAMY, H. S., SASHIDHAR, K. C. 2007. Rheological characteristics of tamarind (*Tamarindus indica L.*) juice concentrates. In *LWT*, 2007, 40, 225-231.

BARYŁKO-PIKIELNA, N. 1975. Zarys analizy sensorycznej żywności. WNT, Warszawa 1975.

CLARK J. P. 2006. Everything flows. In *Food Technology*, 2006, 11, 68-70.

GRIGELMO-MIGUEL, N., MARTIN-BELLOSO O. 2000. The quality of peach jams stabilized with peach dietary fiber. Eur. In *Food Research Technology*, 2000, 211, 336-341.

HILL, M. A., MITCHELL, J. R., SHERMAN P. A. 1995. The relationship between the rheological and sensory properties of a lemon pie filling. In *Journal of Texture Studies*, 1995, 26, 457-470.

KEMBŁOWSKI, Z. 1973. Reometria płynów nienewtonowskich. Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa, 1973.

MACEIRAS, R., ÁLVAREZ E., CANCELA, M. A. 2007. Rheological properties of fruit purees: Effect of cooking. In *Journal of Food Engineering*, 2007, 80, 763-769.

PELEGRINE, D. H., SILVA, F. C., GASPARETTO, C. A. 2002. Rheological Behavior of Pineapple and Mango Pulps. In *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 2002, 35, 645-648.

POLISH STANDARD PN-ISO 3972 (1998a). Sensory analysis. Methodology. Method of investigating sensitivity of taste.

POLISH STANDARD PN-ISO 6658 (1998b). Sensory analysis. Methodology. General guidance.

POLISH STANDARD PN-ISO 8586-1 (1996). Sensory analysis. General guidance for selection, training and monitoring of assessors. Part 1. Selected assessors.

SAJILATA, M. G., SINGHAL, R. S. 2005. Specialty starches for snack foods. In *Carbohydrate Polymers*, 2005, 10, 131-151.

SCHRAMM, G. 1998. Reologia. Podstawy i zastosowania. Ośrodek Wydawnictw Naukowych PAN, 1998, Poznań.

Acknowledgements

The scientific research was realized within a framework of supervisor grant nr N N312 208236 financed from budget of Ministry of Science and Higher Education.

Contact address:

Paulina Pająk, PhD, Department of Food Analysis and Quality Assessment, University of Agriculture, Balicka Street 122, 30-149 Krakow, Poland, e-mail: p.pajak@ur.krakow.pl

THE QUALITY OF FRIED SNACKS FORTIFIED WITH FIBER AND PROTEIN SUPPLEMENTS

Anna Pęksa, Joanna Miedzianka, Agnieszka Kita, Agnieszka Tajner-Czopek, Elżbieta Rytel

ABSTRACT

There was studied the effect of fortification of extruded potato pellets, obtained with 5 and 10 % addition of wheat bran, corn bran and corn germ, applied separately and in mixtures with 3 % addition of potato protein concentrate on fat content and physical properties of snacks fried from them. The addition of wheat bran, regardless its dose, did positively influenced on snacks texture. Yet it also caused the increase in fat content and density, as well as darkening of snacks color. The use of corn bran contributed to lower values of snacks density and fat absorption, while the addition of corn germ resulted in lighter, more desired snacks color, but at the same time it brought about increased fat content and made snacks harder. There was not recorded any significant snacks diversity concerning expansion degree, regardless the kind of additive used, as well as snacks moisture.

Keywords: potato snack, frying, bran, germ, protein preparation, physical property

INTRODUCTION

In most countries all over the world continuously growing consumption of snack products has made them a considerable component of a human diet. Therefore, snacks nutritive and energetic value should meet strictly determined requirements. These products are often fortified with wholesome or functional components, including the ones containing high content of proteins and fiber, as well as chemical compounds featuring antioxidant properties (**Dziennik Ustaw, 2007**).

One of the most popular snack products are potato chips and snacks, both extruded (collets) and fried (**Lusas and Rooney, 2001**). The quality of these products – expanded in the conditions of high-temperature extrusion or originating from intermediate products frying (pellets)–has recently become the subject of numerous research conducted in different parts of the world (**Ahamed et.al., 1997; Goel et.al., 1999; Jonnalagadda et.al., 2001; Senthil et.al., 2002**). Expanded products characterize specific rough structure, crispy texture and small size, as well as highly diverse shape and taste, while fried products feature markedly high fat content (20-40 %). Manufacturing this type of food requires not only modern technology but also precise choice of raw materials possessing strictly defined properties. Applied snacks enrichment with fiber and proteins can lead to worsening of their organoleptic and physical properties, including diminishing expansion degree, increased hardness and density of products, as well as undesired alterations in their color and flavor. The origin and purity degree of these additives, the degree of proteins denaturation and the form of preparation are of a special importance in this process (**Lusas and Rooney, 2001**).

A number of authors carried out investigations on extruded snacks supplemented with nutrients, as well as functional components. Snacks contain products of leguminae plants seeds processing and grains of different cereals (**Senthil et.al., 2002**), protein preparations, both of animals (**Lee et.al., 2003**) and plants (**Pęksa, 2006**) origin and also raw materials being waste products which have not been used in food industry so far (**Schieber et.al., 2001**), like so-called food-by-products e.g. brewer's spent grain (BSG) (**Stojceska et.al., 2008**). A by-product in dry milling industry, not applied in food production until recently, is corn-mix consisting of corn grain germ and

slight amounts of endosperm and seed coat (www.biocorn.pl). Dry milled corn germ characterizes excellent nutritional value and has been proposed for human foods. Corn bran fractions are used in foods production to increase dietary fiber content (**Hallauer, 2001; Mendonça et.al., 2000**). To preparations obtained from waste products belong those which contain partly denaturated potato protein isolated from potato juice in laboratory conditions. According to some authors, it is possible to use these products for consumption purposes, including snacks both extruded and fried (**Lusas and Rooney, 2001**). Potato protein, featuring high nutritional and digestive value, can become a valuable component of crispy snacks products, also the fried ones.

The literature is relatively poor in information about the effect of simultaneous introduction of by-products of dry milling industry and protein preparations to the recipe of deep fat-fried snacks on the quality of ready products.

The aim of the experiment was to determine the effect of fried potato snacks fortification with wheat bran, corn bran and corn germ products used separately as additives and in the mixtures with potato protein concentrate (PPC) on fat content and physical properties of the products obtained.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Potato starch (18.3 % moisture content) was provided by starch factory PPS Pepees in Łomża, Poland. The remaining ingredients used for fried snacks preparation were potato semolina (8.1 % moisture content) composed of 9.38 % crude protein, 0.72 % crude fat, 1.27 % reducing sugars, 78.8 % carbohydrates (potato factory PZP in Lublin, Poland), corn semolina featuring 750-1250 nm, moisture of 11.2 % and 7.20 % of crude protein, 0.83 % crude fat, 0.71 % reducing sugars, 80.3 % carbohydrates and corn bran (by-product of dry milling) from Bio Corn Ziębice, Poland, characterizing 11.30 % moisture, 14.76 % of crude protein, 8.39 % fat and 61.45 % carbohydrates. Wheat bran of 12.59 % moisture, 15.5 % of crude protein, 4.30 % crude fat and 62.80 % carbohydrates, corn dry germ of 5 % moisture, 14.81 % of protein, 20.16 % fat and 53.0 % carbohydrates, salt and rapeseed oil for frying were purchased at the local market. As a protein additive there was used potato protein concentrate (PPC), obtained in laboratory conditions from potato juice by thermal

coagulation in the presence of CaCl₂ (Peřka, 2006). The

extrusion parameters were kept constant: die size (0,5mm

Table 1 Formulations for pellets producing

Formulations	Potato starch (g/100 g)	Potato semolina (g/100 g)	Other ingredients (g/100 g)	WB/CB/CG (g/100 g)	PPC (%)
1 (Control-0)	67	26	7	0	0
2 (Control-PPC)	67	26	7	0	3
3	62	26	7	5	0
4	57	26	7	10	0
5	62	26	7	5	3
6	57	26	7	10	3

composition of mentioned above PPC was as follows: 3.20 % moisture content, 72.73 % crude protein, 1.45 % fat, 7.25 % ash and 15.37 % carbohydrates.

Preparation of samples

The formulations of pellets are shown in Table 1. Two levels of fiber products (wheat bran–WB, corn bran–CB and corn germ–CG) mixed with potato starch, potato semolina and other ingredients were formed. Potato starch was replaced, in suitable quantity, by fiber product. One level of potato protein concentrate (PPC) was added to mixtures on the basis of sample weight. As controls, samples without any additives or containing only PPC as an additive, there were used. Duplicate batches (600g each), (fourteen samples in each) were moisten up to 40-45 %, mixed and sieved. The samples were placed in sealed polyethylene bags at 4-5 °C for 12 hours to equilibrate moisture.

Preparation of pellets

Material for pellets was extruded in a single-screw extruder (Brabender DN 20, Germany). The following

x 80mm), speed of dough supplier (38 rpm), screw speed (120 rpm), screw loading (2.8 A), barrel temperature distribution (60 °C / 70 °C / 80 °C). Previously subjected to extrusion, not expanded strands were cut into pellets of ca. 27 x 27 mm and dried at room temperature for 12 hours to ca. 12-13 % of moisture content and then sealed in polyethylene bags to equilibrate moisture until frying.

Preparation of fried snacks

Snacks were obtained from pellets after 48 hours of storing in room temperature. Samples were fried in hot (180 °C) rapeseed oil for 15-20 seconds (3 seconds after expanded product appears on the oil surface). The product to oil ratio was kept at 1:20 w/v.

Analysis

Proximate chemical analysis: Standard AOAC methods (1975) were used for the analysis of fat, total ash and the nitrogen content in raw material components and snacks and the crude protein content was calculated as Nx6.25. The moisture content of the ingredients for pellets

Table 2. Mean values of the properties of snacks fortified with different levels of fiber Supplements.

Fiber supplement	Level of fortification [%]	Moisture content [%]	Fat content [%]	Expansion	Bulk density [g/ml]	Texture [N]	Lightness [L value]
Wheat bran (WB)	0	3,22 ^a	27,55 ^c	2,96 ^a	0,185 ^c	14,9 ^a	71,84 ^a
	5	3,37 ^a	32,50 ^b	2,55 ^a	0,223 ^b	11,2 ^a	58,16 ^b
	10	2,96 ^a	36,70 ^a	2,19 ^a	0,282 ^a	8,3 ^a	51,81 ^c
	X (mean)	3,17 ^A	32,25 ^A	2,56 ^A	0,230 ^A	11,5 ^B	60,60 ^C
Corn bran (CB)	0	3,22 ^a	27,55 ^b	2,96 ^a	0,185 ^a	14,9 ^a	71,84 ^a
	5	3,73 ^a	32,45 ^a	2,73 ^a	0,148 ^b	13,2 ^a	60,51 ^b
	10	3,55 ^a	31,90 ^a	2,26 ^a	0,163 ^a	14,2 ^a	61,24 ^b
	X (mean)	3,64 ^A	30,63 ^B	2,65 ^A	0,165 ^B	14,1 ^{AB}	64,53 ^B
Corn germ	0	3,22 ^a	27,55 ^c	2,96 ^a	0,185 ^b	14,9 ^b	71,84 ^c
	5	3,47 ^a	34,85 ^b	2,86 ^a	0,275 ^a	22,8 ^a	76,48 ^a
	10	3,18 ^a	37,35 ^a	2,23 ^a	0,272 ^a	13,9 ^b	73,96 ^b
	X (mean)	3,33 ^A	33,25 ^A	2,68 ^A	0,244 ^A	17,2 ^A	74,09 ^A

a,b,c – Means in the same column with different letters differ significantly (P ≤ 0,05) by Duncan’s multiple range test

A,B,C - Means in the same column with different capital letters differ significantly (P ≤ 0,05) by Duncan’s multiple range test

preparation, the samples of the dough for the extrusion, obtained pellets and snacks was determined by the reduced weight after drying at 102 °C and until constant weight was achieved (AACC,1962). The carbohydrates content was calculated by difference.

Physical properties of snacks: The expansion of snack was calculated as a quotient of snack size to pellet size. Results are the means of 20 measurements. To calculate bulk density (g/ml) ground snacks were poured into weighing glass vessel with a known volume and their weight was determined (BN, 1991). The texture of the snacks was determined by using an Instron type 5544 texture-measuring device with Merlin software. The minimal force (N) necessary to break up a snack was measured using a share blade at blade displacement rate of 250 rpm. Results are the means of 20 measurements. The colour of snacks (L value) was determined objectively by using a Minolta CR-200 chromameter against white reference standard, measuring values of Hunter's scale (Clydesdale, 1976).

Statistical analysis

The results obtained in the experiment were subjected to statistical calculations according to the Statgraphics programme v. 6.0. Multifactor analysis of variance and means separation according to Duncan ($P \leq 0.05$) were used for determination of significance of the influence of the additives, and interactions between them and the level of fortification with fibre products on moisture and fat contents in snacks and on their physical properties.

RESULTS

The effect of fibre type and PPC addition on moisture and fat content in snacks

Depending on the kind and amount of fibre used, moisture content in snacks ranged from 2.96 to 3.73 % (Table 2).

There was not observed any significant influence of the kind or amount of fibre additive on snacks moisture. Yet there was recorded a slight effect of simultaneous introduction of PPC and the examined fibre products to pellets (Fig. 1), regardless their quantity and kind, on the increase in oil absorption when frying these products in comparison to the samples enriched only with protein preparation.

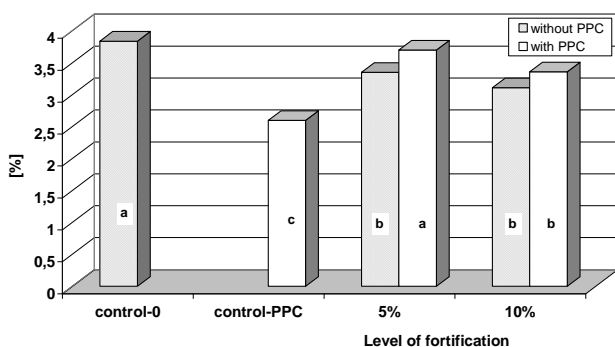


Fig. 1. The influence of the level of fibre fortification and PPC addition on the moisture of snacks

Fat content in the snacks, obtained by frying examined pellets which contained 5 and 10 % addition of fibre products ranged from 32.45 to 37.35 % and it was higher than that of snack samples without fibre and protein

products supplement (27.55 %) (Table 1). The increase in wheat bran or corn germ contribution to pellets resulted in increased fat content in snacks. However, there was not recorded any significant effect on fortification level of pellets due to corn bran (Table 1). Additionally, there was noted that snacks made from half products containing wheat bran and corn germ did not significantly differ and contained more fat than snacks fortified with corn bran (30.63 %).

Introduction of not high amount (3 %) of PPC into pellets was statistically insignificant regarding its effect on fat content in snacks, regardless the addition of fibre product (Fig. 2). However, there was observed a tendency to decreased absorption of fat by products fortified exclusively with corn bran, as well as by those combining corn bran and PPC.

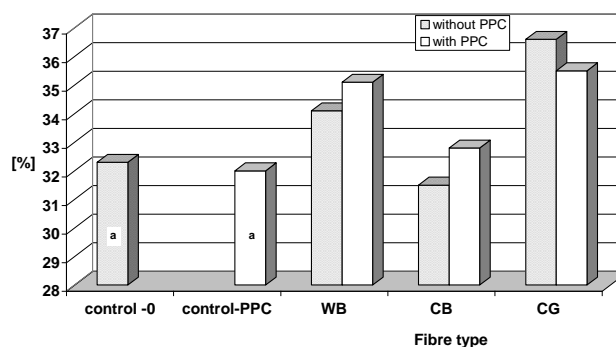


Fig. 2. The influence of the type of fibre product and PPC addition on fat content in snacks

Effect of fibre type and PPC addition on physical properties of snacks

As it can be seen in Table 1, the degree of snacks expansion amounted average 2.96, for snacks containing 5 % supplement of these products ranged from 2.55 to 2.86, while for snacks fortified with 10 % addition it did not exceed 2.26. No significant statistical differences, regarding this property, was determined between snacks fortified and not fortified with fibre additives. Also fibre type did not affect on the expansion of snacks obtained. Snacks without any additives characterized higher degree of expansion (3.53) than the remaining products (2.21-2.73) (Fig. 3).

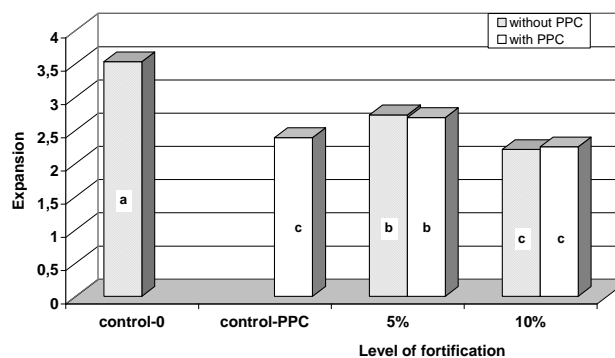


Fig. 3. The influence of the level of fibre fortification and PPC addition on snacks' expansion

Application of potato protein concentrate as the only additive, combined with higher addition of fibre product, caused similar diminishing of snacks expansion, while pellets containing lower amount of fibre products

expanded to a slightly higher degree, regardless the addition PPC.

Fortification of fried potato snacks with the examined fibre products, regardless the kind of additive and PPC introduction, brought about increased density of ready products (Fig. 4), from 0.185 g/ml (snacks not fortified), through 0.215g/ml after application of 5 % supplement, to average 0.239g/ml determined for the samples with 10 % fortification. Snacks obtained with the addition of corn bran, regardless their fortification level, featured lower density (average 0.163g/ml) (Table 1) than other samples of obtained products. The increase in fortification level due to maize germs application did not cause statistically significant differences in their density.

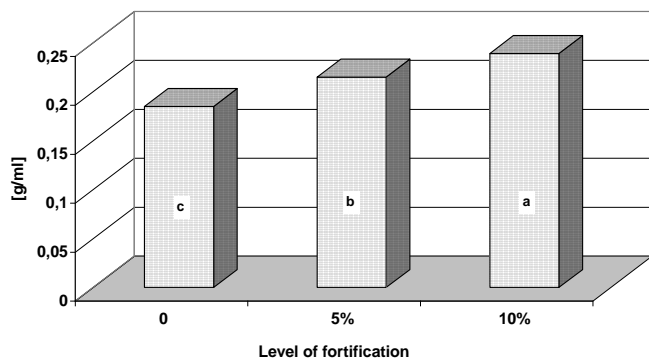


Fig. 4. The influence of the level of fibre fortification on bulk density of snacks

However, the use of corn bran as an addition to fried snacks contributed to the decrease in their density in relation to the samples without fibre additions.

Average results of texture measurements regarding snacks with 5 and 10 % fortification with three different fibre products, shown in Table 1, prove that snacks fortification level did not have any influence on the texture of the products examined. Measurement results, expressed by shearing force (N) were found within the range of 11.2-8.3N (snacks with wheat bran), 13.2-14.2N (with corn bran), as well as 22.8-13.9N (with corn germ). There was recorded statistically significant difference between the texture of products fortified with wheat bran and corn germ however, snacks with the addition of wheat bran featured lower hardness than those containing corn germ. As it can be concluded from fig. 5, ready products obtained from pellets fortified with wheat bran, both with PPC and those without it characterized less hard texture than samples with the addition of the remaining fibre products.

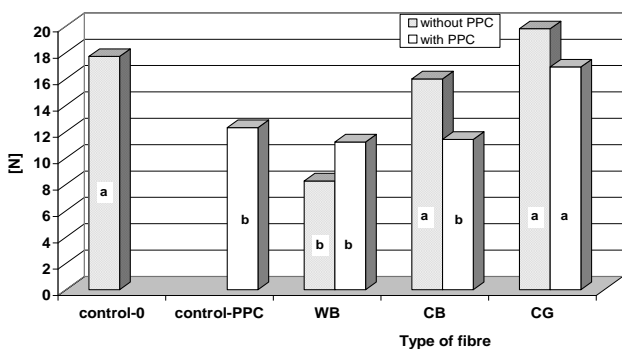


Fig. 5. The influence of the level of fibre fortification and PPC addition on the texture of snacks

The application of additives, as well as the level of pellets fortification with fibre products did considerably effect on lightness of fried products obtained (L values according to Hunter scale) (Table 1). Regardless the dose, 5 or 10 %, products resulting from the addition of corn bran did not differ in lightness (60.51 and 61.24 respectively) while when the remaining two fibre products were used, increased level of fortification resulted in darker color of fried ready products. The lightest proved snacks with the addition of corn germ (average L=74.09), and the darkest occurred snacks fortified with wheat bran (L=60.60). The increase in the level of fortification with fibre, regardless PPC addition, brought about darkening of snacks (Fig. 6).

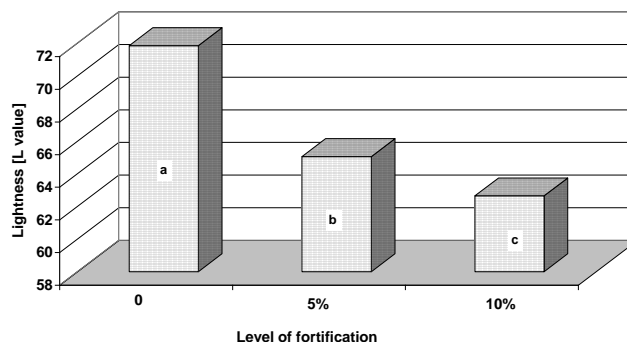


Fig. 6. The influence of the level of fibre fortification on the lightness of snacks

DISCUSSION

Fibre products applied in extruded pellets production proved to influence on fat content and physical properties of snacks fried from them in a diverse way. Snacks fortification with fibre products reflected in altered mainly such properties as: fat content, texture, density and lightness but not their moisture content. The doses of particular fiber supplements were of significant effect on expansion degree featuring snacks obtained from pellets, namely on density, lightness and fat content. Simultaneous fortification of the examined products with potato protein concentrate and fiber products, according to the amount of fiber addition, resulted in diversity of such snacks properties as expansion and moisture.

Basic properties analyzed for the assessment of fried snack products are their moisture and fat content. The products prepared by **Senthil et.al. (2002)** from starch raw materials, did not contain more than 4 % of water, which also meets the requirements of the **Polish Standard (PN, 1996, 1998b)**. Regardless additions applied, this value was not exceeded in any snacks obtained. **Ahamed et.al. (1997)** stated that regardless starch origin, the increase in its contribution to fried snacks provides for significant decrease in fat content in ready products. Introduction of fiber products to pellets recipe, and, therefore, diminishing starch content in pellets, resulted in the increase in fat content in fried snacks. The mentioned increase reached the highest degree, by about 33 % with 10 % content of wheat bran, as compared to samples without fiber addition. However those quantities did not exceeded the highest permissible quantity, like 45 % (**PN, 1996, 1998b**).

Expansion degree of snacks obtained in the experiment decreased after the use of additives, both fiber products and protein preparation, within the range of 23–37 %.

Snacks with lower amount of fiber supplement, regardless its kind, achieved expansion not lower than 2.55, so slightly lower than obligatory norms (PN, 1998b), i.e. 3. Also in the research by other authors (Hsieh et al., 1989; Kita et al., 2002; Stojceska et al., 2008; Yanniotis et al., 2007) introduction of fiber of different origin to expanded snacks resulted in diminished expansion, the more decreased the higher amount of additive was applied. A necessary condition to achieve appropriate snacks expansion is the presence of suitable amount (about 52-65 %) of gelatinized starch in a by-product (Case et al., 1992; Lee et al., 2000; Lusas & Rooney, 2001). Low degree of starch gelatinization in pellets is connected with their low viscoelasticity and makes it difficult to form permanent, featuring proper roughness, structure of ready product. Such additives like fiber and protein, which make difficult the process of starch gelatinization, determine all properties of snacks, to a degree depending on the amount, origin and composition of these additives (Hsieh et al., 1989; Lue et al., 1991; Lusas & Rooney, 2001; Yanniotis et al., 2007). To these properties belong density and texture.

Application of wheat fiber, as well as dried corn germ, especially in higher doses, caused the increase in snacks density in comparison to samples without fiber products addition, while the use of corn bran in the form of corn mix, brought about the opposite effect. The increase in density of snacks with the addition of corn germ could result from interaction between gelatinizing starch (amylose fraction) and fat present in high quantity in the preparation (Case et al., 1992; Lee et al., 2000; Lusas & Rooney, 2001).

The most considerable differences in fried snacks texture were determined between samples fortified with wheat bran and corn germ. Products characterizing the lowest hardness were obtained using wheat bran as an addition, both with and without PPC. Increased dose of fiber products under examination did not effect on snacks texture in a strictly determined way. According to different authors, the increase in fiber (Hsieh et al., 1989; Kita et al., 2002; Peřksa et al., 2004) and protein content in expanded products (Goel et al., 1999; Lue et al., 1991; Peřksa et al., 2007) leads to the increase in their hardness. In manufacturing snacks originating from extruded by-products, i.e. pellets, an important role in texture forming is played by treatments performed before and after thermal processing (frying, baking, microwaves) causing snacks expansion, which also involves drying and conditioning. Therefore, it has not been satisfactory explained which factor influences fried snacks texture and other physical properties (Jonnalagadda et al., 2001; Lusas & Rooney, 2001; Singh et al., 1994).

The color (L value) of snacks obtained depended both on the kind of fiber used and its dose. PPC addition was insignificant regarding snacks lightness. Application of wheat bran in increasing doses brought about gradual darkening of fried products (lower L values). Snacks with corn bran were lighter than those with wheat bran, yet darker from the sample without fiber products added. Corn germ, regardless the amount of additive, provided lighter color of snacks. In examination by Senthil et al., (2002) fried wheat snacks fortified with various quantities of soy (from 20 to 40 %) showed slight diversity in snacks

lightness (L values from 61.75 to 62.34). The addition of brewer's spent grain (BSG) in the amount of 10-30 % resulted in significant decrease in snacks lightness (Stojceska et al., 2008), while higher quantity of corn bran additive, up to 50 % in the composition of extruded snacks made of oats flour resulted in darkening of ready products (Holguin-Acuna et al., 2008). Apart from the conditions of extrusion, drying and frying, the color of snacks, originating from pellets frying, is also affected by the kind of raw materials used. The latter ones, when intensively stained, can lead to darker shade of ready products (Holguin-Acuña et al., 2008; Senthil et al., 2002).

CONCLUSION

On the basis of the results it can be concluded that introduction of wheat bran and corn germ into pellets recipe, especially in a higher dose, provided for significant increase in fat content, as well as snacks' density, in comparison to the samples without any additives or to snacks obtained with corn bran. Snacks fortified with wheat bran, both with PPC and without it, characterized darker color, yet crispy and delicate texture-the most desirable one out of the samples subjected to examination. Corn germ applied in the production of fried potato snacks, regardless PPC addition, resulted in light color and crispy ready products, although they were harder than the samples with other supplements. The use of corn bran allowed to obtain products featuring the lowest density out of the examined samples and lower fat content than in snacks manufactured with the use of the remaining two fiber products, regardless the presence of PPC. Each of additives used in the experiment caused the decrease in expansion degree of obtained snacks. However, there was not recorded any significant diversity in snacks' expansion in relation to the amount or kind of added fiber product.

Examination results point to the fact that introduction of by-products of milling industry, as well as PPC to the recipe of deep fat-fried snacks did positively affect majority of snacks properties. Making use of products so far being only fodder additives in food production can become an advantageous alternative for their range of application.

REFERENCE

- AACC. 1962. American Association of Cereal Chemists approved methods, 7th ed. St. Paul, Minnesota.
- AOAC. 1975. Official methods of analysis. Washington, DC, USA: Association of Official Analytical Chemists.
- AHAMED, N. T., SINGHAL, R. S., KULKARNI, P. R., PAL, M. 1997. Deep fat-fried snacks from blends of soya flour and corn, amaranth and chenopodium starches. In *Food Chemistry*, 58 (4), 1997, 313-317.
- BN-91/8070-14:1991, Uncoated snacks. Extruded products (extrudates) – methods of analyses (in Polish).
- CASE, S. E., HAMANN, D. D., SCHWARZ, H. G. 1992. Effect of starch gelatinization on physical properties of extruded wheat- and corn- based products. In *Cereal Chemistry*, 69, 1992, 401-404.
- CLYDESDALE, F. M. 1976. Instrumental techniques for colour measurement of foods. Symposium: Colour Measurement of Foods. In *Food Technology*, 10, 1976, 52 – 59.

- DZIENNIK USTAW. 2007. poz. 5.1. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 25 lipca 2007 roku w sprawie znakowania żywności wartością odżywczą.
- GOEL, P. K., SINGHAL, R. S., KULKARNI, P. R. 1999. Deep-fat fried noodle-like products from model individual blends of corn starch with casein, soy protein or their hydrolysates. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 1999, 1577-1582.
- HALLAUER, A. R. 2001. (ed.). *Specialty Corns: second edition*. CRC Press, LLC Boca Raton, Fl. 479 pp.
- HOLGUÍN-ACUÑA, A. L., CARVAJAL-MILLÁN, E., SANTANA-RODRÍGUEZ, V., RASCÓN-CHU, A., MÁRQUEZ-ESCALANTE, J. A., PONCE DE LEÓN-RENOVA, N. E., GASTELUM-FRANCO, G. 2008. Maize bran/oat flour extruded breakfast cereal: A novel source of complex polysaccharides and an antioxidant. In *Food Chemistry*, 111, 2008, 654-657.
- HSIEH, F., MULVANEY, S. J., HUFF, H. E., LUE, S., BRENT J. 1989. Effect of dietary fiber and screw speed on some extrusion processing and product variables. In *Lebensmittel- Wissenschaft und- Technologie*, 22, 1989, 204-207.
- JONNALAGADDA, P. R., BHAT, R. V., SUDERSHAN, R. V., NAIDU A. N. 2001. Suitability of chemical parameters in setting quality standards for deep-fried snacks. In *Food Quality and Preferences*, 12, 2001, 223-228.
- KITA, A., PEKSA, A., ZIĘBA, T., FIGIEL, A. 2002. Influence of pellets moisture and dietary fibre addition on some potato snacks properties. In *Acta Agrophysica*, 77, 2002, 33-43.
- LEE, S. O., MIN, J. S., KIM, I. S., LEE, M. 2003. Physical evaluation of popped cereal snacks with spent hen meat. In *Meat Science*, 64, 2003, 383-390.
- LEE, E. Y., LIM, K. I., LIM, J. K., LIM, S. T. 2000. Effects of gelatinization and moisture content of extruded starch pellets on morphology and physical properties of microwave – expanded products. In *Cereal Chemistry*, 77 (6), 2000, 769-773.
- LUE, S., HSIEH, F., HUFF, H. E. 1991. Extrusion cooking of corn meal sugar beet fiber: effects on expansion properties, starch gelatinization, and dietary fiber content. In *Cereal Chemistry*, 68 (3), 1991, 227-234.
- LUSAS, E. W., ROONEY, L. W. 2001. *Snack Food Processing*, CRC Press. 300-314, 352-365.
- MENDONÇA, S., GROSSMANN, M.V.E., VERHÉ, R. 2000. Corn Bran as a Fibre Source in Expanded Snacks. *Lebensmittel, Wissenschaft und Technologie* 33, 2000, 2–8.
- ONWULATA, C. I., KONSTANCE, R. P., SMITH, P. W., HOLSINGER, V. H. 2001. Co- extrusion of dietary fiber and milk proteins in expanded corn products. In *Lebensmittel- Wissenschaft und- Technologie*, 34, 2001, 424-429.
- PEKSA, A. 2006. Quality assessment of potato protein preparations obtained under different technological conditions and their suitability for extruded products processing. In *Zeszyty Naukowe AR we Wrocławiu, Rozprawy (Dissertations)*, 533, 2006, 101p.
- PEKSA, A., KITA, A., ZIĘBA, T. 2004. Chosen properties of fried potato snacks supplemented by different quantity of fiber In *Żywność, Nauka, Technologia. Jakość* 3 (40), 2004, 106 – 112.
- PEKSA, A., RYTEL, E., KAWA-RYGIELSKA, J., GRYSZKIN, A., ZIĘBA, T. 2007. Effect of preparations addition on properties of potato snacks obtained from extruded semi-products. In *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 57, 4(B), 2007, 429-435.
- PN-A-88034: 1998a. Snacks – methods of analyses (in Polish).
- PN-A-88036: 1998b. Snacks – requirements (in Polish).
- PN-A-74780:1996. Fried potato snacks (in Polish).
- SEETHIL, A., RAVI, R., BHAT, K. K., SEETHALAKSHMI, M. K. 2002. Studies on the quality of fried snacks based on blends of wheat flour and soya flour. In *Food Quality and Preference*, 13, 2002, 267-273.
- SCHIEBER, A., STINTZING, F. C., CARLE, R. 2001. By-products of plant food processing as a source of functional compounds-recent developments. In *Trends in Food Science & Technology*, 12, 2001, 401-413.
- SINGH, J., HOSENEY, R. C., FAUBION, J. M. 1994. Effect of Dough Properties on Extrusion-Formed and Baked Snacks. In *Cereal Chemistry*, 71 (5), 1994, 417-422.
- STOJCESKA, V., AINSWORTH, P., PLUNKETT, A., IBANOĞLU A. 2008. The recycling of brewer's processing by-product into ready-to-eat snacks using extrusion technology. In *Journal of Cereal Science*, 47, 2008, 469-479.
- YANNIOTIS, S., PETRAKI, A., SOUMPASI, E. 2007. Effect of pectin and wheat fibers on quality attributes of extruded corn starch. In *Journal of Food Engineering*, 80, 2007, 594-599.

Acknowledgments:

They thank Bio-Corn milling factory in Ziębice for providing us with the raw material.

Contact address:

Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Poland. Corresponding author Anna Pęksa. e-mail address: anna.peksa@wnoz.up.wroc.pl

THE INFLUENCE OF STORAGE CONDITIONS OF CANDIED FRUITS ENRICHED WITH VITAMIN C BY DIFFERENT METHODS ON ITS CONTENT

Sławomir Pietrzyk, Dorota Galkowska, Teresa Fortuna, Irena Bojdo-Tomasiak, Agata Wypchol

ABSTRACT

The aim of this work was to study the effect of storage conditions of candied fruits enriched with vitamin C on its concentration in that product. The materials were candied fruits (black chokeberry and black currant) enriched with vitamin C by two methods during their production. The final products were stored within 3 months at 8 and 20°C. On the basis of the results it was stated that enrichment method affected the concentration of the vitamin C in fruits measured during storage period at the above conditions.

Keywords: food enrichment, vitamin C, candied fruit

INTRODUCTION

Candied fruits are produced from fresh or frozen fruits, that are properly prepared and saturated with sucrose that also contains potato syrup and possibly food acids. Among different fruits, the most often candied are cherries, currants, black chokeberries, apricots, plums, gooseberry and orange peel. Candied fruits are used in sugar industry where they play role as food additives for cakes or as taste and decorative agents in the production of ice-creams, desserts and cocktails (Szczurek, 1995; Jurczyk, 1999).

Food enrichment is the practice that is more and more often used in food technology and storage in order to avoid the excessive losses of nutritive compounds. This process relies on addition one or more nutritive compounds to the food products so that the final product is rich in deficient food compounds. Process of food enrichment is mainly used for prevention and correction of vitamin and mineral compound deficits. It is the cheaper and the most effective way of improvement of a food pro-healthly quality, as well as the way of supplementation of the deficient nutritive compounds in a diet (Krola & Witkowska 2005; Sikorski, 2007).

Food concerns try to enrich the food with nutritive compounds and vitamins in order to improve its dietary properties. The new technologies of food enrichment that will assure that the final product will be wholesome not only just after production but also during all the storage period are still expected.

The aim of this work was to study the effect of storage conditions of candied fruits enriched with vitamin C by two methods on its concentration in these fruits.



MATERIAL AND METHODS

The candied fruits: black chokeberry and black currant were produced by PROSPONA Ltd, Fruit and Vegetable Processing in Nowy Sącz. During processing vitamin C was added to the above fruits by two methods. The first method involved 2-stage enrichment process of fruits with vitamin C, while the second one 4-stage process. The total amount of added vitamin C was the same in both methods. The final products were stored in plastic boxes within 3 months at temperature 8 °C (± 0.5) and 20 °C (± 0.5). The content of vitamin C was determined by spectrophotometric method (according to PN-90/A-

75101/11), both in raw materials and in final product after 1st, 2nd and 3th months.

In order to assess the significance of differences in content of vitamin C between candied fruits enriched by two methods the one-way analysis of variance and Tukey test (α=0.05) were used. The effect of both enrichment method, and storage time at 8 and 20 °C temperatures on the vitamin C concentration in fruits products were determined using two-way analysis of variance.

RESULTS AND DISCUSSION

The table 1 presents the content of vitamin C in the produced candied fruits. The concentration of vitamin C in fresh black chokeberry was in accordance with the data from literature, whereas that in black currant was lower than other data (Gawęcki & Hryniewiecki, 2007; Skupień & Oszmiański, 2007). The lower content of vitamin C in black currant can result from the variety of fruit, as well as losses occurred during non-adequate condition of transport of fruit to the company. The methods I and II used to enrich black chokeberry with vitamin C caused the increase of the vitamin C concentration to the same level. The opposite effect was

Table.1 Content of vitamin C in raw material and candied products [mg/100 g of product].

Kind of sample	Material	
	Black chokeberry	Black currant
Raw material	7.5 ± 0.4	81.4 ± 0.4
Candied product enriched by method I	78.9 ± 4.4 ^a	268.4 ± 0.3
Candied product enriched method II	85.2 ± 4.0 ^a	303.1 ± 3.1

Means followed by the same letters are not significantly different at α = 0.05.

stated in the case of black currant, where the method II was more effective in the enrichment process than method I. The black currant enriched with vitamin C by method II contained over 10 % more vitamin C than the black currant enriched by method I.

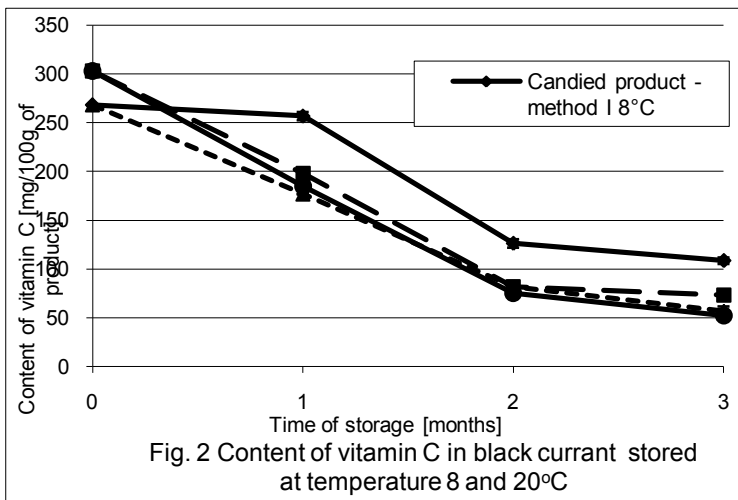
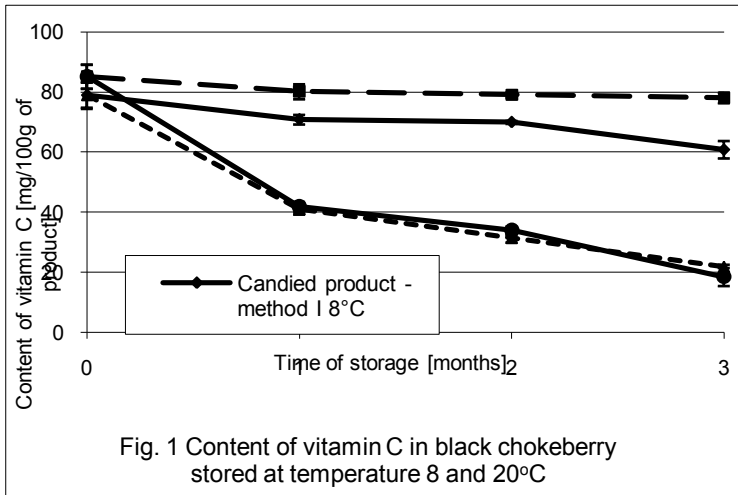


Figure 1 presents the results of determination of vitamin C content in enriched black chokeberry stored at 8 and 20 °C within 3 months. The longer was the storage time the lower was vitamin C content in the black chokeberry. The losses of vitamin C in the black chokeberry fruits stored at cold temperature were lower than these for fruits stored at room temperature, and it is in accordance with the literature data (Kabasakalis et al., 2000). Two-way analysis of variance showed that the storage time in both temperatures 8 °C ($F_{\text{calc.}} = 22.77$; $F_{\text{test}} = 3.24$) and 20 °C ($F_{\text{calc.}} = 646.48$; $F_{\text{test}} = 3.24$) affected the content of vitamin C in the candied black chokeberries enriched with that vitamin by both methods. Enrichment method affected the vitamin C content in the candied black chokeberry stored only in temperature 8 °C ($F_{\text{calc.}} = 93.94$; $F_{\text{test}} = 4.49$). As for whole storage period, the candied chokeberries enriched with vitamin C by method II contained more vitamin C in comparison with method I. Storage losses of vitamin C (at temperature 8 °C) in the candied black chokeberry enriched by method I amounted to over 8% after 3-months-storage period, whereas these determined in the candied fruits enriched by method II amounted to 20% (calculated in relation to the vitamin C content of the beginning of storage period).

Figure 1 presents the results of determination of vitamin C content in enriched black currant stored at 8 and 20 °C within 3 months. Similarly to the black chokeberries, vitamin C content in the black currants enriched with vitamin C by both methods was gradually decreasing with storage time and it depended on storage temperature. Two-

way analysis of variance showed that storage time affected vitamin C content in fruits stored at both temperatures (8 °C – $F_{\text{calc.}} = 4685.60$; 20 °C – $F_{\text{calc.}} = 7549.68$; $F_{\text{test}} = 3.24$). Moreover, the results of statistic analysis showed that kind of enrichment method affected losses of vitamin C in fruits stored at both temperatures (8 °C – $F_{\text{calc.}} = 347.15$; 20 °C – $F_{\text{calc.}} = 42.06$; $F_{\text{test}} = 4.49$). In the case of enrichment method I, the storage losses of vitamin C in the black currant were greater than these stated for method II, regardless of storage temperature. It can be concluded that the storage stability of vitamin C added to black currants by method I was higher than that of method II.

CONCLUSION

On the basis of the results it was stated that the concentrations of vitamin C in black chokeberries enriched by two different methods were similar. In contrast, the content of vitamin C in the candied black currant enriched by method II was higher than that of fruits enriched by method I. Storing the of analyzed products at the temperature 8 °C resulted in better vitamin C stability in comparison with storing at temperature 20 °C. The black chokeberries enriched with vitamin C by method II and stored at temperature of 8 °C exhibited better vitamin C stability comparing with these enriched by method I. Stability of vitamin C determined in candied black currants enriched by method I was greater than that found in the case of candied product enriched by method II, regardless of the storage temperature.

REFERENCE

GAWĘCKI, J., HRYNIEWSKI, L. 2007. Żywność człowieka. Podstawy nauki o żywieniu. PWN Warszawa 2007.

JARCZYK, A. 1999. Kandyzowanie owoców i warzyw. In *Przemysł Spożywczy*, 1999, 4, 19-20.

KABASAKALIS, V., SIOPIDOU, D., MOSHATOU, E. Ascorbic acid content of commercial fruit juices and its rate of loss upon storage. In *Food Chemistry*, 2000, 70, 325-328.

KROLA L., WITKOWSKA, M. 2005. Kinetyka degradacji witaminy C w warzywach kapustnych przechowywanych w kontrolowanej atmosferze. In *Przemysł fermentacyjny i owocowo – warzywny*, 2005, 12, 30-32.

POLSKA NORMA PN-90/A-75101/11 Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie zawartości witaminy C.

SIKORSKI, Z. E (red). 2007. Chemia żywności. Składniki żywności. Tom I, WNT, Warszawa 2007.

SKUPIEŃ, K. i OSZMIAŃSKI J. 2007. The effect of mineral fertilization on nutritive value and biological activity of chokeberry fruit, Agricultural and Food In *Science*, 2007, 1, 46-55

SZCZUREK, G. 1995. Owoce kandyzowane – ich wyrób, przygotowanie i zastosowanie w technologiach ciastkarskich i cukierniczych. In *Przegląd Piekarski i Cukierniczy*, 1995, 4, 22-23.

Contact address: Sławomir Pietrzyk, PhD, Department of Analysis and Evaluation of Food Quality, University of Agriculture, Balicka Street 122, 30-149 Krakow, Poland, e-mail: spietrzyk@ur.krakow.pl

ZMENY OBSAHU LIPIDOV VÍNNYCH KVASINIEK POČAS FERMENTÁCIE IMOBILIZOVANÝMI BUNKAMI

CHANGES IN LIPID CONTENT OF WINE YEASTS DURING FERMENTATION BY IMMOBILIZED CELLS

Ján Šajbidor, Fedor Malik

ABSTRACT

Comparison of the lipid composition of immobilised and non-immobilised cells of the wine cell strain *Saccharomyces cerevisiae* 6C subjected to ethanol stress indicates that the whole impact of the ethanol stress on the fatty acids composition is less influenced with immobilised cells as with non-immobilised ones. The ethanol stress raised in immobilised and free cells occurrence of palmitoleic acid to the detriment of palmitic acid. The character of changes in lipid composition during immobilisation probably has an impact upon slightly increased stress resistance. The immobilised cells are as well resistive against passive membrane fluidisation by ethanol.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*, ethanol, immobilisation, lipid

ÚVOD

Je známe, že kvasinky reagujú na etanolový stres reštrukturalizáciou intracelulárnych lipidov. Keďže prvým miestom kontaktu bunky s vonkajším prostredím je cytoplazmatická membrána, registrujeme zmeny v zložení sterolov (Shobayashi et al., 2005), fosfolipidov (Carman a Henry, 1989) a mastných kyselín (You et al., 2002). Uvedené zmeny môžeme považovať za súčasť mechanizmov prispôsobenia a charakter týchto zmien je v súlade s teóriou homeoviskózne adaptácie (Šajbidor, 1997). S určitým zjednodušením sa dá konštatovať, že dôsledky adaptácie smerujú k zachovaniu podobných fyzikálnych podmienok v cytoplazmatickej membráne ako boli pred stresom. Kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* reaguje na prítomnosť etanolu poklesom obsahu nasýtených mastných kyselín, najmä kyseliny palmitovej - 16:0, oproti obsahu mononenasýtených kyselín, z ktorých je najhojnejšie zastúpená kyselina olejová - 18:1. Uvedené zmeny v profile mastných kyselín sú sprevádzané zvýšením obsahu sterolov. Intenzita a vzájomný pomer týchto zmien, ako aj charakter alternácii mastných kyselín, je špecifickou vlastnosťou kmeňa a závisí okrem genotypu najmä na intenzite stresového faktora. Víne kvasinky sú počas fermentácie dlhodobo vystavené etanolovému stresu. Imobilizáciou sa dostanú do prostredia, ktorého vplyv na niektoré fyziologické parametre kvasinkovej populácie je predmetom diskusií (Jirku 1999). Najpoužívanejšou imobilizačnou technikou je metóda "entrapment", pri ktorej sú bunky uzatvárané do prírodných, alebo syntetických gélov. Pre potreby imobilizácie vínnych kvasiniek sa najčastejšie používa alginátový alebo pektátový gél. Bunky sa po imobilizácii dostávajú do prostredia s lokálnym prehustením biomasy pričom na bunky fyzikálno-chemicky pôsobí aj použitý gél. Tieto skutočnosti majú za dôsledok zmenu fyziologických vlastností imobilizovanej kultúry v porovnaní s jej voľnou formou. Podľa niektorých autorov sa imobilizované bunky menia morfológicky, majú ine rastové charakteristiky a mení sa aj aktivita enzýmov glykolýzy. Zmeny boli zaznamenané aj v zložení cytoplazmatickej membrány a bunkových stien (Rotmann a Rehm, 1990). Z praktického hľadiska je zaujímavé, že zmena zloženia vnútrobunkového lipidu vplyva na rezistenciu kvasiniek voči etanolu. Táto technologicky

významná vlastnosť vínnych kvasiniek je v korelácii s obsahom kyseliny olejovej v bunkovom lipide (You et al., 2002). Vysoký obsah nenasýteným mastných kyselín vo fosfolipidoch a kyseliny palmitovej v esterifikovaných steroloch sú tiež v priamej súvislosti s prežívaním stresovaných buniek (Mishra a Prasad, 1989). Cieľom našej práce bolo zistiť vplyv imobilizácie kmeňa vínej kvasinky na obsah lipidov a profil mastných kyselín celkového lipidu.

MATERIÁL A METÓDY

Pracovali sme s kmeňom vínnych kvasiniek *Saccharomyces cerevisiae* 6C ktorý bol izolovaný z dokvášajúceho vína odrody Rizling vlašský z juhomoravskej vinohradníckej oblasti. Je to alkoholrezistentný, hlbokoprekvávajúci kmeň vhodný pre technológiu výroby sektu. Kvasničné bunky boli pomnožené v kvapalnom YM médiu (1% glukóza, 0,5% peptón, 0,3% kvasničný autolyzát, 0,3% sladový extrakt) na trepačke 24 hodín pri teplote 28°C. Napropagovaná biomasa bola odstredená a v časti vzorky bola gravimetricky stanovená sušina. Na imobilizáciu buniek do 2%-ného alginátového gélu sme použili metódu "entrapment". Suspenziu kvasiniek v sóle alginátu sodného sme po kvapkách gélovali v 0,2 M roztoku chloridu vápenatého. Tak sme pripravili preparát imobilizovaných kvasiniek vo forme gélových guľičiek s priemerom cca 2mm. Imobilizované kvasinky boli prenesené do fyziologického roztoku. Do ďalšej kadičky sme podobným spôsobom umiestnili približne také isté množstvo neimobilizovaných buniek a obe sme nechali adaptovať na rovnaké podmienky. Po uplynutí troch hodín sme kvasničné bunky resp imobilizát oddelili od fyziologického roztoku odstredením resp. filtráciou. Obidve vzorky sme rozdelili na dva rovnaké podiely a prvý sme preniesli do rovnakého objemu 10%-ného etanolu vo fyziologickom roztoku. Druhý podiel sme ponechali len v čistom fyziologickom roztoku bez etanolu. Za tri hodiny sme pôsobenie stresu prerušili odstredením resp. filtráciou a bunky ihneď podrobili extrakcii a následnej purifikácii podľa Folcha et al. (1954). Pre porovnanie sme podobným spôsobom spracovali aj vzorku imobilizovaných kvasničných buniek po trojdňovej fermentácii ovocného muštu. Získané chloroformové

Vplyv imobilizácie a etanolového stresu na obsah lipidov, sterolov a zloženie mastných kyselín u vinárskeho kmeňa *Saccharomyces cerevisiae* 6C.

mastné kyseliny (%)						
označenie	lipidy (%)	steroly(%)	16:0	16:1	18:0 + 18:1	18:2
M	14,2	0,28	15,3	43,2	35,3	6,0
IE	11,5	0,67	9,2	55,3	35,4	-
IB	13,8	0,39	14,7	41,8	36,6	6,7
FB	13,9	0,52	16,7	49,7	33,6	-
FE	10,1	0,28	8,5	57,2	34,2	-

FB-neimobilizované bunky po 3h vo fyziologickom roztoku, M-imobilizované bunky po 3 dňoch fermentácie muštu, IE-imobilizované bunky stresované 3h 10%-tým etanolom, IB-imobilizované bunky po 3h vo fyziologickom roztoku, FE-neimobilizované bunky stresované 3h 10%-ným etanolom.

extrakty sme na rotačnej vákuovej odparke zahustili a gravimetricky stanovili obsah lipidů. Časť sme použili na spektrofotometrické stanovenie sterolov. Vo zvyšku lipidů sme analyzovali profil mastných kyselín plynovou chromatografiou.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Posúdiť, či imobilizácia pôsobí ako stresový faktor nie je jednoduché. Naše výsledky potvrdili, že imobilizované bunky (IB) mali oproti voľným (FB) znížený obsah 16:0 a 16:1. Na druhej strane relatívne percento 18:0 + 18:1 bolo u IB vyššie než u FB. Dehydrogenácia kyseliny olejovej na 18:2 je viazaná na oxidáciu a preto prítomnosť viac než 6% 18:2 v IB je prekvapením. Zaujímavý je pokles obsahu sterolov po imobilizácii. Je možné predpokladať, že kvasinka po imobilizácii reštrukturalizuje membránové lipidy v relatívne malom rozsahu. Prítomnosť etanolu znížila detegované množstvo celkového lipidů v preparáte imobilizovaných (IE) ale aj voľných (FE) kvasiniek. Pokles je možné vysvetliť permeabilizáciou membrány a čiastočnou extrakciou lipidů do prostredia. Táto úvaha sa však nedá použiť pri interpretácii zmien v zastúpení mastných kyselín v preparátoch voľných (FE) alebo imobilizovaných (IE) buniek vystavených etanolovému pôsobeniu. Pokles v relatívnom percentuálnom obsahu 16:0 v FE alebo IE a súčasnom zvýšení hladiny nenasýtených mastných kyselín môže byť výsledkom aktívneho procesu aktivácie dehydrogenácie mastných kyselín, alebo dôsledkom selektívnej etanolovej extrakcie lipidických štruktúr obsahujúcich najmä nasýtené mastné kyseliny. Druhá možnosť sa zdá menej pravdepodobná. Zaujímavý je výrazný rozdiel v obsahu sterolov medzi FE a IE. Je možné, že gélové prostredie bunkového nosiča bráni vyplavovaniu sterolov do prostredia v priebehu etanolového stresu. Obsah lipidů, sterolov a profil mastných kyselín u imobilizovaných buniek po trojdňovej fermentácii muštu (M) sa oproti rovnakým parametrom u imobilizovaných buniek adaptovaných po dobu troch hodín na fyziologický roztok (IB) zmenil veľmi málo. Môžeme konštatovať, že rastová fáza nemala na sledované parametre imobilizovaných buniek významný vplyv.

ZÁVER

Porovnanie zloženia lipidů imobilizovaných a neimobilizovaných buniek kmeňa vínnej kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* 6C vystavených etanolovému stresu nasvedčuje tomu, že celkový dopad etanolového

stresu na zloženie mastných kyselín je u imobilizovaných buniek o niečo menší ako u neimobilizovaných. Etanolový stres zvýšil v imobilizovaných a voľných bunkách zastúpenie kyseliny palmitolejovej na úkor kyseliny palmitovej. Charakter zmien zloženia lipidů pri imobilizácii vedie pravdepodobne k mierne zvýšenej odolnosti na stres. Imobilizované bunky sú odolnejšie aj voči pasívnej fluidizácii membrány etanolom.

LITERATÚRA

- CARMAN, G. M., HENRY, S. A. 1989. Phospholipid Biosynthesis in Yeast. In *An. Rev. Biochem.*, 58, 1989, 635-667
- FOLCH, J., LEES, M., SLOANE-STANLEY, G. H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissue. In *J. Biol. Chem.*, 225, 1957, 497-509.
- JIRKŮ, V. 1999. Whole cell immobilization as a means of enhancing ethanol tolerance. In *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 22, 1999, 147-151.
- MISHRA, P., PRASAD, R. 1989. Relationship between ethanol tolerance and fatty acyl composition of *Saccharomyces cerevisiae*. In *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 30, 1989, 294-298.
- ROTMANN, B. H., REHM, H. J. 1991. Relationship between fermentation capability and fatty acid composition of free and immobilized *Saccharomyces cerevisiae*. In *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 34, 1991, 502-508.
- SHOBAYASHI, M., SHIN-ICHIRO MITSUEDA, S., AGO, M., FUJII, T., IWASHITA, K., IEFUJI, H. 2005. Effects of Culture Conditions on Ergosterol Biosynthesis by *Saccharomyces cerevisiae*. In *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 69, 2005, 2381-2388.
- ŠAJBIDOR, J. 1997. Effect of some environmental factors on the content and composition of microbial membrane lipids. In *Crit. Rev. Biotechnol.*, 17, 1997, 87-103.
- YOU, K. M., ROSENFELD, C. L., KNIPPLE, D.C. 2003. Ethanol Tolerance in the Yeast *Saccharomyces cerevisiae* Is Dependent on Cellular Oleic Acid Content. In *Appl. Env. Microbiol.*, 69, 2003, 1499-1503.

Kontaktná adresa:

Ján Šajbidor, prof. Ing. DrSc.
Fedor Malík, prof. Ing. DrSc.
Ústav biotechnológie a potravinárstva FCHPT STU
Radlinského 9
812 37 Bratislava
jan.sajbidor@stuba.sk

HODNOCENÍ KVALITY VÍN V ČESKÉ REPUBLICE

EVALUATION OF QUALITY OF WINE IN THE CZECH REPUBLIC

Viera Šottníková, Olga Cwíková, Lenka Králová

ABSTRACT

The work is focused on a review of quality wines produced and sold in the CR in the period 2004 to 2007, from the perspective of CAFIA inspections. A description of the quality of individual groups of wines based on the percentage of unsatisfactory samples. Background for the development work was completed the surveillance activities diplomanty in a position to control the State Department inspector, agricultural and food inspections and other activities CAFIA inspectors in the CR. The inspection found that a large proportion of food enterprises still disregards the requirements laid down by law č.321/2004 Coll. about viticulture and wine-making and EU legislation in force and its implementing regulations, as evidenced by the number of unsatisfactory samples.

Keywords: wine quality and safety, control, wine prescription

ÚVOD

Víno se stává v České republice stále oblíbenějším nápojem. Jeho spotřeba každým rokem stoupá a roste i nabídka obchodů a vinoték. V roce 2003 dosáhla spotřeba vína 16,3 l na osobu za rok a v roce 2007 byla spotřeba vína 17,3 l na osobu. Zatím ale nedosahuje průměrné spotřeby vína v EU, která je 30 až 32 litrů na osobu. V roce 2004 se celosvětově vypilo 30 miliard lahví vína, v roce 2008 je předpokládaná spotřeba už 31,7 miliard lahví vína. Spotřebitelé preferují především vína lehká se svěžími ovocnými tóny. Úkolem této práce bylo zpracovat a vyhodnotit vývoj kvality jednotlivých druhů prodávaných vín v ČR v letech 2004 až 2007, uvést nejčastější nedostatky a výsledky kontrol provedených Státní zemědělskou a potravinářskou inspekcí. Základním

zdrojem informací a dat pro zpracování byl informační systém SZPI a výroční zprávy SZPI. Podle Popelku et al. (2002) je falšování potravin spojeno se zhoršující se kvalitou potravin. Cílem falšování potravin je klamání spotřebitele nebo stát, za účelem získání ekonomického prospěchu, přičemž falšování může představovat v některých případech i závažné zdravotní následky (Hamr, Cuhra, 2004). O vzrůstající kvalitě vinohradnické produkce svědčí i počet Potvrzení důvěrníka o ověření cukernatosti hroznů. Jediným poklesem v jinak vzrůstajícím počtu ověření byl špatný a deštivý ročník 2001 (Hrabětová, 2004).

Tabulka 1: Rozdělení a označení skupin odebraných a sledovaných vzorků vín a burčáku.

označení vín	jednotlivé skupiny vín	jednotlivé druhy vín spadající pod tuto skupinu
PK01	BURČÁK	burčák částečně zkvašený hroznový mošt
PK02	VÍNA STOLNÍ	vína stolní sudová vína stolní originál balená od výrobce zemská vína sudová zemská vína originál balená od výrobce
PK03	VÍNA JAKOSTNÍ	vína jakostní sudová vína jakostní originál balená od výrobce
PK04	VÍNA JAKOSTNÍ S PŘÍVLASTKEM	vína s přívlastkem originál balená od výrobce
PK05	VÍNA Z EU SUDOVÁ	vína z EU finalizovaná v ČR sudová
PK06	VÍNA Z EU BALENÁ V ČR	vína z EU finalizovaná v ČR originál balená od výrobce v ČR
PK07	VÍNA Z EU BALENÁ V EU	vína z EU originál balená v EU
PK08	VÍNA ZE TŘETÍCH ZEMÍ	vína ze třetích zemí finalizovaná v ČR sudová vína ze třetích zemí finalizovaná v ČR originál balená od výrobce v ČR vína ze třetích zemí originál balená ve třetích zemích
PK09	VÍNA OSTATNÍ	vína nezařaditelná do žádné z předchozích skupin zahuštěný hroznový mošt, rektifikovaný

Tabulka 2: Rozdělení znaků do celkových hodnocení.

HODNOCENÍ	SENZORIKA	ANALYTIKA	CIZORODÉ LÁTKY
Název analýzy (znaky)	vzhled	skutečný obsah alkoholu	oxid siřičitý celkový
	barva	cukr	kyselina sorbová
	vůně	extrakt bezcukerný	přídavek vody a izotopový poměr (D/H)
	chut'	kyseliny těkavé	syntetická barviva(červeň AC, amaranth, allura azorubin, brilantní čern BN, brilantní modř FCF, červeň 2G, žluť SY, erythrosin, chinolinová žluť, indigotin, patentní modř V, ponceau 4R, tartrazin,zeleň S,
		nespecifické anthokyany	

MATERIAL A METODIKA

K hodnocení byla použita vína a burčáky odebrané inspektory při plánovaných kontrolách SZPI u výrobců, ve velkoobchodech, v prodejních řetězcích a maloobchodech v celé České republice v rámci celoročních, tématických, ústředně řízených a mimořádných kontrol v letech 2004 – 2007. Jednotlivé vzorky vín byly rozděleny do jednotlivých skupin podle druhu vín, země původu vín a země výroby, popřípadě finalizace vín.

Vzorky vín byly hodnoceny v laboratoři SZPI v Brně, Květná 15. Laboratoř je od poloviny 90. let národním akreditačním orgánem, Českým institutem pro akreditaci, o.p.s. v souladu s požadavky evropských norem řady 45000, akreditována. V průběhu let 2002 až 2003 byla laboratoř v Brně, reakreditována z požadavků normy ČSN EN 45001 na požadavky normy ČSN EN ISO/IEC 17025. Pro sledování hodnocení kvality vín u jednotlivých skupin vín byly vybrány znaky (analýzy) uvedené v následující tabulce.

Senzorické hodnocení vzorků bylo provedeno v místnostech odpovídající ČSN ISO 858. K hodnocení se používají sklenice ISO 3591 – 1977 z bílého a čirého skla, čisté, bez vůní a zápachů. Každý hodnotitel má v hodnotícím boxu připraveny 2 sklenice a sousto k eliminaci chuti. Pro hodnocení vzorků s obsahem oxidu uhličitého (šumivé, perlivé víno) je znak perlení hodnocen ze suché, čisté sklenice bez vůně a zápachu. Výchozí teplota předkládaných vzorků je 10 – 12 °C u vín bílých, 14 – 16 °C u vín červených, 6 – 8 °C u šumivých a perlivých vín, 15 – 18 °C u likérových vín a 8 – 10 °C u aromatizovaných vín. Vzorky jsou k hodnocení předkládány anonymně pod laboratorním číslem.

Objemová koncentrace alkoholu se vypočítá z hustoty destilátu podle konkrétní tabulky, která vyjadřuje vztah mezi hustotou a složením roztoků vody a etanolu.

Redukující cukry zahrnují všechny cukry s ketonovou nebo aldehydickou funkční skupinou, které redukují alkalicko-měďnatý roztok. Vyčerené víno nebo mošt reaguje s určitým množstvím alkalicko-měďnatého roztoku. Přebytké měďnaté ionty se pak stanovují jodometricky.

Těkavé kyseliny jsou tvořeny přítomnými mastnými kyselinami, zejména kyselinou octovou volně nebo ve formě soli.

Princip metody je založen na titraci těkavých kyselin oddělených od vína destilací s vodní párou a titrací destilátu roztokem hydroxidu sodného za přítomnosti fenolfthaleinu. Z vína se nejprve odstraní oxid uhličitý. Od

obsahu těkavých kyselin se odečte obsah volné a vázané kyseliny siřičité destilované za těchto podmínek. Rovněž je třeba odečíst obsah kyseliny sorbové případně přidané k vínu.

Obsah těkavých kyselin vyjádřený v miliekvivalentech kyseliny octové na litr na jedno desetinné místo je dán vztahem: $A = 5(n - 0,1n' - 0,05n'')$.

Obsah těkavých kyselin v gramech kyseliny octové na litr na dvě desetinná místa je dán vztahem: $0,300(n - 0,1n' - 0,05n'')$.

Stanovení SO₂ volného a celkového ve víně

1. Referenční metoda (pro vína a mošty) - oxid siřičitý je unášen proudem vzduchu nebo dusíku. Váže se a oxiduje probubláváním zředěným a neutrálním peroxidem vodíku. Vytvořená kyselina sírová se stanovuje titrací standardním roztokem hydroxidu sodného.

Volný oxid siřičitý se z vína uvolňuje při nízké teplotě (10 °C). Celkový oxid siřičitý se z vína uvolňuje při vysoké teplotě (asi 100 °C).

2. Rychlá metoda stanovení (pro vína a mošty) - volný oxid siřičitý se stanovuje přímou jodometrickou titrací. Vázaný oxid siřičitý se následně stanoví jodometrickou titrací po alkalické hydrolyze. Při přičtení k volnému oxidu siřičitému dává celkový oxid siřičitý.

Identifikace původu anthokyanů metodou "fingerprinting chromatography" Metoda SZPI 4817. Tato metoda slouží k identifikaci původu anthokyanů ve vínech a nealkoholických nápojích. Anthokyany se ve vzorcích po filtraci podrobí HPLC analýze při 520nm. Tento chromatografický záznam (anthokyanový otisk) se porovnává proti knihovně chromatogramů anthokyanů různého původu a hledá se shoda v průběhu křivky. Identifikace se provádí porovnáním retenčních časů píků anthokyanů přítomných v chromatogramu vzorku s retenčními časy píků v chromatogramech čistých odrůdových vín, resp. ovocných šťáv. Vychází se přitom ze skutečnosti, že každé ovoce, které obsahuje anthokyany, má pro svůj botanický druh typické složení jednotlivých druhů anthokyanů a lze tedy podle průběhu chromatogramu zjistit, zda se jedná o šťávu z deklarovaného druhu ovoce či nikoliv (Velíšek, 1999).

IDENTIFIKACE SYNTETICKÝCH POTRAVINÁŘSKÝCH BARVIV METODOU TLC - Metoda SZPI A/22.

Tato metoda je vhodná pro identifikaci ve vodě rozpustných syntetických barviv v potravinách s nízkým obsahem tuku. Mez vizuální detekce se pohybuje

potravinářstvo

v rozmezí koncentrace 0,2 – 10 mg.l⁻¹ vzorku při navážce 20,00g.

Princip metody spočívá v sorbci syntetického barviva

z vodného roztoku v kyselém prostředí na odtučněné vlněné vlákno. Po promytí vlákna vodou se desorbují roztokem amoniaku. Dělí se chromatografií na

Tabulka 4: Počet hodnocených vzorků ve znaku vůně.

označení vín	2004			2005			2006			2007		
	Celkem	nevyh.	%Nev.	Celkem	nevyh.	%Nev.	Celkem	nevyh.	%Nev.	Celkem	nevyh.	%Nev.
PK01												
PK02	144	81	56,3	142	58	40,8	187	68	36,4	198	87	43,9
PK03	349	104	29,8	175	60	34,3	213	54	25,4	299	69	23,1
PK04	73	5	6,8	55	12	21,8	52	2	3,8	226	21	9,3
PK05				46	6	13,0	72	10	13,9	71	18	25,4
PK06				31	8	25,8	64	24	37,5	79	42	53,2
PK07				12	0	0,0	15	4	26,7	25	11	44,0
PK08	110	33	30,0	28	3	10,7	72	8	11,1	63	5	7,9
PK09							2	0	0,0	5	2	40,0
celkem	676	223	33,0	489	147	30,1	677	170	25,1	966	255	26,4

Tabulka 5: Počet hodnocených vzorků ve znaku chuti.

označení vín	2004			2005			2006			2007		
	Celkem	nevyh.	%Nev.	Celkem	nevyh.	%Nev.	Celkem	nevyh.	%Nev.	Celkem	nevyh.	%Nev.
PK01												
PK02	144	91	63,2	142	62	43,7	187	70	37,4	198	87	43,9
PK03	349	111	31,8	175	65	37,1	213	56	26,3	299	72	24,1
PK04	73	7	9,6	55	14	25,5	52	2	3,8	226	22	9,7
PK05				46	6	13,0	72	10	13,9	71	19	26,8
PK06				31	9	29,0	64	25	39,1	79	42	53,2
PK07				12	0	0,0	15	4	26,7	25	11	44,0
PK08	110	38	34,5	28	3	10,7	72	8	11,1	63	5	7,9
PK09							2	0	0,0	5	2	40,0
celkem	676	247	36,5	489	159	32,5	677	175	25,8	966	260	26,9

PK01 burčák, **PK02** vína stolní, **PK03** vína jakostní, **PK04** vína s přívlastkem, **PK05** vína z EU sudová, **PK06** vína z EU balená v ČR, **PK07** vína z EU balená v EU, **PK08** vína ze třetích zemí, **PK09** vína ostatní.

Tabulka 6: Počet hodnocených vzorků ve znaku skutečný obsah alkoholu.

označení vín	2004			2005			2006			2007		
	Celkem	nevyh.	%Nev.	Celkem	nevyh.	%Nev.	Celkem	nevyh.	%Nev.	Celkem	nevyh.	%Nev.
PK01	1	0	0,0				1	0	0,0			
PK02	154	32	20,8	152	24	15,8	220	49	22,3	208	35	16,8
PK03	362	43	11,9	185	26	14,1	244	32	13,1	304	45	14,8
PK04	84	8	9,5	57	4	7,0	58	5	8,6	223	24	10,8
PK05	5	0	0,0	51	6	11,8	94	8	8,5	74	11	14,9
PK06	13	0	0,0	33	2	6,1	66	4	6,1	80	5	6,3
PK07				14	0	0,0	31	0	0,0	26	0	0,0
PK08	155	12	7,7	45	6	13,3	91	4	4,4	64	4	6,3
PK09				14	0	0,0	16	0	0,0	27	0	0,0
celkem	774	95	12,3	551	68	12,3	821	102	12,4	1006	124	12,3

tenké vrstvě a identifikují srovnáním hodnoty R_f se standardy.

Skvrna vzorku na vysušeném chromatogramu se porovnává se skvrnami standardů a tím se zjistí jaké barvivo vzorek obsahuje. Identifikace se provede porovnáním barevného odstínu skvrny a hodnoty R_f . R_f udává polohu skvrny na desce. Je to poměr vzdálenosti středu skvrny od startu (S) ku vzdálenosti čela rozpuštědla od startu (C).

$$R_f = \frac{S}{C}$$

Tabulka 3: Hodnoty R_f standardů.

Syntetická barviva	R_f
E 102 Tartrazin	0,43
E 104 Chinolinová žlut'	0,58
E 110 Žlut' SY	0,48
E 122 Azorubín	0,49
E 123 Amaranth	0,41
E 124 Ponceau 4R	0,40
E 127 Erythrosin	0,77
E 128 Červeň 2G	0,43
E 129 Allura červeň	0,45
E 131 Patentní modř	0,34
E 132 Indigotin	0,32
E 133 Brilantní modř	0,40
E 142 Zeleň S	0,35
E 151 Brilantní čern'	0,22

Mez detekce závisí na množství vzorku a na typu identifikovaného barviva. Vzhledem k tomu, že výtěžnost extrakce barviv z různých poživatin je odlišná, je mez detekce při vizuálním vyhodnocení také rozdílná. Původ této metody pochází z pracovních postupů dle **Davídka et al. (1981)**.

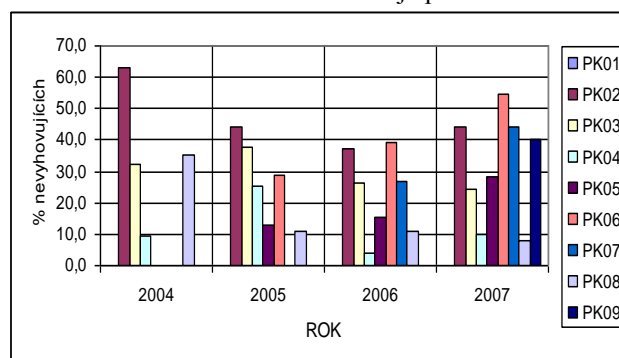
Pro statistické vyhodnocení zjištěných údajů a to konkrétně vzájemné závislosti počtu nevyhovujících vzorků při analytickém hodnocení na počtu nevyhovujících vzorků zjištěných senzoričným hodnocením a počtu nevyhovujících vzorků při hodnocení cizorodých látek byla použita statistická metoda korelace - test dobré shody chí-kvadrát (**Reiterová, 2003**).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Ze senzoričných požadavků na jednotlivé skupiny vín byla nejčastější příčina nevyhovujících vzorků ve znacích vůně a chuť. Z nedostatečně vyzrálých hroznů nelze vyrobit kvalitní vína, protože základní složky pro tvorbu aromatických látek se dosud nevytvořily, anebo jsou v bobulích chemicky vázány (**Kuttelvašer, 2003**). Ve většině případů v senzoričném hodnocení pokud nevyhovuje chuť, nevyhovuje i vůně. To potvrzují počty nevyhovujících vzorků uvedených v tabulce 4 a 5. Na nevyhovující vzhled vína má největší zásluhu špatná filtrace a tudíž časté plovoucí nečistoty, popřípadě zákal a barvu vína ovlivňuje možná oxidace vína. Nejhuře v tomto hodnocení dopadla vína stolní v roce 2004 a vína ze zemí EU finalizovaná a balená v ČR v roce 2007.

Při vyšších teplotách nad 25°C navíc unikají aromatické a buketní látky a je proto doporučováno teplotu řídit – tzv. řízené kvašení, okolo 18 – 21°C (**Stevenson, 1999**). Barva červených vín je pro víno zvlášt' důležitá, neboť ona a optimální množství taninu dávají červenému vínu žádoucí charakter. Nemá být ani světlá, ale ani příliš tmavá. Nejlepší je barva granátová, rubínová, středně intenzivní, u mladých vín s odstínem spíše do fialova, který se stářím mění do červenohněda (**Dohnal, Kraus, Pátek, 1975**). Purpurově červené víno (červené s fialovým tónem) ukazuje svojí barvou na své mládí a nezralost (**Ambrosi, Swoboda, 2001**).

Z obrázku 1 je zřejmé, že počty nevyhovujících jednotlivých skupin vín jsou v každém roce velmi podobné. Pouze vína stolní v roce 2004 dosáhly 47,4% analyticky nevyhovujících vzorků, v ostatních letech je jejich nevyhovující % srovnané a činí průměrně 32,1%. Ostatní skupiny vín jsou na to v jednotlivých letech velmi podobně, akorát vína z EU sudová mají vzrůstající tendenci v počtu nevyhovujících vín spolu s víny s EU balených v ČR, kde je v roce 2007 skok nahoru o 11,2%. Pro vína z EU balená v EU se stal nejlepším rok 2006.



Obrázek 1. Grafické vyjádření % podílu nevyhovujících vzorků vín v senzoričném hodnocení v jednotlivých letech u jednotlivých skupin vín.

Nejhůře dopadly rozborů na skutečný obsah alkoholu, kde v průměru za 4 roky nevyhovuje každý rok 97 vzorků 12,3% viz tab. č. 6. Tak vysoké procento je dáno i tím, že menší výrobci nenechávají před vlastním lahvováním vín provést rozbor a zjistit si skutečný obsah alkoholu a tento následně uvést na etiketu. I když je tolerance dosti vysoká ± 0,5 %obj. z nařízení ES + chyba metody ± 0,2 % obj., nejsou výrobci stále schopni tuto toleranci svým označením dodržet.

Obdobný problém, ale ne v tak vysokém procentu nevyhovujících vín je u znaku obsah cukru, kdy rovněž výrobci nesprávně označí na etiketu skutečný obsah cukru v tabulce č. 7.

Za zmínku stojí přehled obsahu těkavých kyselin u červených vín uvedený v tabulce 8, kdy je zaznamenán stoprocentní nárůst nevyhovujících vzorků v roce 2007 oproti předchozím ročníkům. Toto se rovněž odrazí na senzoričném hodnocení, jelikož těkavé kyseliny jsou senzoričným velmi zřetelně rozpoznatelné. Víno se tímto stává nepitelným (**Kraus, Kopeček, 2002**).

Tabulka 7: Počet hodnocených vzorků ve znaku cukr.

označení vín	2004			2005			2006			2007		
	Celkem	nevyh.	%Nev.	Celkem	nevyh.	%Nev.	Celkem	nevyh.	%Nev.	Celkem	nevyh.	%Nev.
PK01							1	0	0,0			
PK02	154	24	15,6	150	19	12,7	220	8	3,6	211	26	12,3
PK03	359	14	3,9	185	6	3,2	245	3	1,2	304	4	1,3
PK04	82	0	0,0	57	0	0,0	58	5	8,6	223	15	6,7
PK05	5	0	0,0	51	1	2,0	91	5	5,5	74	6	8,1
PK06	13	0	0,0	32	1	3,1	66	3	4,5	78	5	6,4
PK07				13	3	23,1	26	1	3,8	24	2	8,3
PK08	132	4	3,0	44	2	4,5	91	2	2,2	63	1	1,6
PK09							2	0	0,0	5	0	0,0
celkem	745	42	5,6	532	32	6,0	800	27	3,4	982	59	6,0

Tabulka 8: Počet hodnocených vzorků ve znaku kyseliny těkavé.

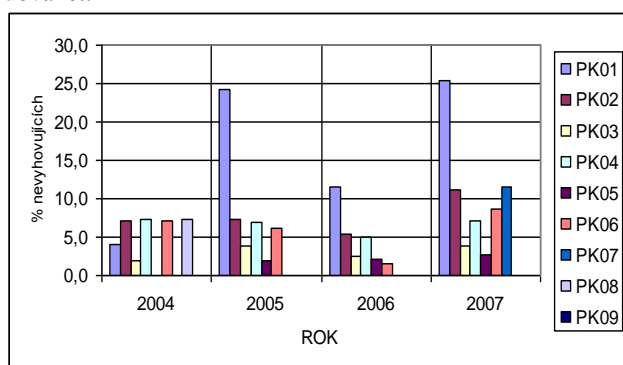
označení vín	2004			2005			2006			2007		
	Celkem	nevyh.	%Nev.	Celkem	nevyh.	%Nev.	Celkem	nevyh.	%Nev.	Celkem	nevyh.	%Nev.
PK01												
PK02	154	9	5,8	152	2	1,3	220	8	3,6	211	18	8,5
PK03	359	5	1,4	184	1	0,5	244	3	1,2	304	7	2,3
PK04	83	0	0,0	57	0	0,0	57	0	0,0	222	2	0,9
PK05	5	0	0,0	47	0	0,0	93	2	2,2	75	1	1,3
PK06	13	0	0,0	33	0	0,0	68	0	0,0	80	1	1,3
PK07				14	1	7,1	31	0	0,0	26	1	3,8
PK08	123	0	0,0	44	3	6,8	84	2	2,4	61	0	0,0
PK09							2	0	0,0	5	0	0,0
celkem	737	14	1,9	531	7	1,3	799	15	1,9	984	30	3,0

Nulové procento nevyhovujících vzorků v obsahu nespecifických anthokyanů v roce 2007 dokazuje úspěšnost laboratorních kontrol obsahu nespecifických anthokyanů SZPI, které se začaly provádět až v průběhu roku 2005. Tyto látky patří spolu s karoteny mezi nejvýznamnější rostlinné pigmenty odpovědné za zbarvení rostlinné tkáně a následně i potravin **Velíšek (1999)**. Do té doby se přírodní barviva vůbec nesledovala, takže výrobci, kteří chtěli spotřebitele oklamat, začali používat přírodní barviva místo syntetických.

Na obrázku 2 je velmi zřetelně vidět problém s nejvyšším počtem nevyhovujících vín v roce 2007. Významně k tomu přispěl nevyhovující obsah celkového oxidu siřičitého, který se zvednul oproti minulým rokům o 100%. Je to podmíněno i tím, že výrobci nesledují jeho vstřebatelnost do vína a síří častěji než je potřeba z obav případné oxidace vína, jelikož teplota ve sklepech, díky mírným zimám, nebývá optimální. Např. bilkovinný zákal se může vyskytnout u nedostatečně stabilizovaných vín, obzvláště když je víno dodáváno při teplotách, které přestoupily přípustnou mez (**Steidl, Leidl, 2004**).

Následně k výsledku v roce 2007 nepatrně přispěl i vstup Bulharska do EU, kde bylo jejich národní legislativou

povoleno používat syntetická barviva do červených vín. Vstupem v roce 2007 se k nám tato vína začala více dovážet.



Obrázek 2. Grafické vyjádření % podílu nevyhovujících vzorků obsahem cizorodých látek v jednotlivých letech u jednotlivých skupin vín.

Dokladem výše uvedených skutečností je i počet správních řízení SZPI za poslední 4 roky (viz tabulku č.10).

Tabulka 9: Statistické hodnocení závislosti počtu nevyhovujících vzorků.

Hodnocení A	Hodnocení B	$\chi^2=3,84$ tabulková hodnota	2004	2005	2006	2007	2004- 2007
analytické	senzorické	χ^2 vypočtená hodnota	34,7	15,0	14,7	127,6	163,9
		přijátá hypotéza	H _A	H _A	H _A	H _A	H _A
senzorické	cizor. látky	χ^2 vypočtená hodnota	237,7	127,6	165,0	138,2	673,5
		přijátá hypotéza	H _A	H _A	H _A	H _A	H _A
analytické	cizor. látky	χ^2 vypočtená hodnota	109,8	62,2	91,8	0,1	206,2
		přijátá hypotéza	H _A	H _A	H _A	H ₀	H _A

Z celkového hodnocení byl nejlepší rok 2007 a nejhorší rok 2005. Zde se významně projevila změna vinařské

dodavatelů vín stolních a jakostních a vín dovážených z Evropské unie. Velkým pomocníkem SZPI je samotný spotřebitel, který SZPI upozorní na nekvalitní výrobky dodávané na trh.

Tabulka 10: Přehled správních řízení udělených kontrolovaným osobám při výrobě a uvádění vína a vinařských produktů do oběhu.

	2004	2005	2006	2007
počet SR /	206 /	243 /	199 /	193 /
suma pokut v Kč	1 388 100,-	2 139 200,-	2 500 000,-	12 856 500,-

legislativy a zpoždění výrobců s přizpůsobením se novým předpisům jak v označování, tak i v enologických požadavcích stanovených v těchto předpisech.

Dle výsledků shrnutých v tab. 9 je zřejmé, že mezi výsledky hodnocení senzoričného, analytického a cizorodých látek není prokazatelná statistická závislost. V praxi to znamená, že vzorek, který je nevyhovující např. v senzoričném hodnocení může být klidně vyhovující v hodnocení analytickém nebo hodnocení cizorodých látek (Kraus, Hubáček, 2004).

ZÁVĚR

Na základě zhodnocení veškerých výsledků mají vína stolní, jakostní a přívlastková v hodnocení senzoričném, analytickém a cizorodých látek mírně zlepšující tendenci. Naopak vína dovážená z Evropské unie (sudová, balená v ČR a balená v EU) se svou kvalitou výrazně zhoršují. Vína dovážená ze třetích zemí jsem z hodnocení vyloučila vzhledem k velmi nízkému počtu hodnocených vzorků.

Při srovnání jednotlivých skupin vín nejčastěji nevyhovují stolní a jakostní vína a vína z EU balená v ČR senzoričným požadavkům ve znacích vůně a chuť, dále analytickým požadavkům ve znacích skutečný obsah alkoholu a obsahem cukru požadavkům deklarace na obalu. Od roku 2007 se vyskytují problémy s nadlimitní přítomností těkavých kyselin u červených vín. Nejčastější nevyhovující cizorodou látkou s překročeným limitem je celkový oxid siřičitý, zvláště pak u stolních a jakostních a vín s přívlastkem. U skupiny burčáků je nejčastějším problémem přídavek vody. U zbylých skupin jsou počty nevyhovujících vzorků oproti počtům odebraných vzorků velmi nízké. Na základě výsledků této práce zvýší SZPI v následujících letech četnost kontrol zejména u výrobců a

LITERATURA

AMBROSI H., SWOBODA. I., 2001. Jak správně vychutnat víno: Škola degustátorského umění. 1. vyd. Praha: Euromedia Group-Knižní klub, 102 s. ISBN 80-242-0642-0.

DAVÍDEK, J., et al., 1981.

Laboratorní příručka analýzy potravin. 2.vyd. Praha: SNTL, 1981. 718 s. ISBN 04-830-77.

HAMR, K., CUHRA, P., 2004. Falšování potravin a jeho prokazování, zajímavé případy. In *Výživa a potraviny*, roč. 59, 2004, č. 4, s. 92-93. ISSN 1211-846X.

KRAUS, V., HUBÁČEK V., 2004. Rukověť vinaře. KVĚT, Praha, 267 s., ISBN 80-209-0327-5.

KRAUS, V., KOPEČEK J., 2002. Setkání s vínem. Radix, Praha, 141 s., ISBN 80-86031-36-5.

KUTTELVAŠER, Z., Abeceda vína, 1. vyd. Praha: Radix, 2003. 279 s. ISBN 80-86031-43-8.

PEPELKA, P., HORSKÁ, D., GOLIAN, J., MARCINČAK, S., 2002. Detekcia falšovania ovčieho mlieka a syrov pomocou enzýmovej imunoanalýzy (ELISA). In *Slovenský veterinársky časopis*, roč. 3, 2002 s. 36-37. ISSN 1335-0099.

REITEROVÁ, E., 2003. *Základy statistiky pro studenty psychologie.* 2.upravené vyd., 2004, Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci., 91 s. ISBN 80-244-0654-3.

VELÍŠEK, J., 1999. *Chemie potravin 3.* 1.vydání, Praha: OSSIS, 1999. 368 s. ISBN 80-902391-5-3.

STEIDL, R., LEINDL G., 2004. Cesta ke špičkovému vínu, 1.vyd. Valtice: Národní salón vín, 67 s. ISBN 80-903201-4-7.

STEVENSON, T., 1999. Světová encyklopedie vín: Unikátní průvodce víny celého světa, 2. vyd. Praha: Balila, 502 s. ISBN 80-242-0222-0.

Kontaktní adresa:

Ing. Viera Šottníková, PhD., Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1., Ústav technologie potravin, Tel.: 545 313 0 68, E-mail: sotnik@mendelu.cz

MIKROBIOLOGICKÁ ZAŤAŽENOSŤ OVČIEHO MLIEKA OD PRVOVÝROBY PO JEHO SPRACOVANIE

THE MICROBIOLOGICAL LOAD OF SHEEP MILK FROM PRIMARY PRODUCTION TO ITS PROCESSING

Milan Vasil', Juraj Elečko, Zuzana Farkašová

ABSTRACT

In the breeding with the average number of 220 sheep (zošľachtená valaška) with traditional hand milking in the Eastern Slovakia the microbiological load of milk during the process of primary production, transport, before and after pasteurisation as well as during dairy processing to cheese curd was observed. The results in three seasons were compared to those obtained at finishing of milking in the season before.

The microbiological load of milk was observed using the bacteriological methods for determination of the presence of *Staphylococcus* sp. and other bacteria, and determination of the total number of staphylococci: a) in milliliter of pool milk sample; b) the transport control – smears from transport tank and determination of the total number of staphylococci in the tank milk sample; c) bacteriological examination of bulk tank milk in the dairy plant before and after pasteurisation, including examination of cheese curd.

After pasteurisation no staphylococci were recorded as in milk as in cheese.

Out of 112 strains of *Staphylococcus aureus* only four strain produced staphylococcal enterotoxins (SE), but in another 7 strains a gene for production of SE, type C was found.

The measures introduced during the following season led to the fact that total numbers of coagulase-positive staphylococci in milk within the process of primary production and transport did not exceed the limit permitted by legislation, and after pasteurisation of milk and cheese curd they were not found at all.

Keywords: raw sheep milk, traditional hand milking, *Staphylococcus aureus*, dairy processing of milk

ÚVOD

Výskyt stafylokokov ako indikátorových mikroorganizmov pri ovčom mlieku môže vyjadrovať mieru rizika negatívneho ovplyvňovania ukazovateľov hygienickej kvality ako sú počet koaguláza-pozitívnych stafylokokov, resp. celkový počet mikroorganizmov v bazénových vzorkách (Vasil' et al., 2008).

Úroveň technologických a hygienických postupov získavania a spracovania ovčieho mlieka na Slovensku v súčasnosti odráža jednak tradíciu a zároveň potrebu realizácie progresívnych technologických systémov chovu a ošetrovania oviec s vyšším štandardom. Pri získavaní ovčieho mlieka je riziko, že čerstvo nadojené mlieko od relatívne zdravých oviec môže byť exponované nevhodnou mlieko znehodnocujúcou mikroflórou, zvyčajne počas dojenia v nechránenom priestore, pri nesprávnej technike dojenia, manipulácií s nadojeným mliekom, resp. jeho skladovaní pri teplote nad 7 °C (Dudríková et al., 1998). Staršie literárne zdroje uvádzajú kontamináciu surového ovčieho mlieka baktériami *S. aureus*, pričom zápaly mliečnej žľazy – mastitídy, s vysokou prevalenciou sú ich významným rezervoárom (Petrík et al., 2001). Potenciálnym zdrojom kontaminácie sú znečistené povrchy technológie, odevy pracovníkov prvovýroby a prevádzková voda (Ondrašovič et al., 2001).

Zo strany chovateľov oviec orientujúcich sa na mliekovú úžitkovosť to vyžaduje v praxi zabezpečenie celého komplexu organizačných hygienických a zoohygienických opatrení, ktoré sú súčasťou plnenia kritérií legislatívnych noriem pre podmienky získavania mlieka tak v technológii

tradičného ručného dojenia ako aj pri progresívnom strojovom dojení (Dudríková, 2001).

Dodržiavanie zásad správnej výrobnjej praxe a realizácia vypracovaných systémov HACCP v prvovýrobe a pri spracovaní mlieka je nevyhnutným a účinným prostriedkom spejúcim k eliminovaniu všetkých rizík možnej mikrobiologickej kontaminácie a rovnako aj ostatných rizík kontaminácie cudzorodými látkami (Cabada, 2001; Dudríková, 2001; Šalgovičová et al., 2000)

Medzi významné kritéria pri hodnotení kvality ovčieho mlieka a mliečných výrobkov patrí posúdenie kontaminácie baktériou *Staphylococcus aureus*, vyjadreného počtom kolónie tvoriacich jednotiek v jednom mililitri, resp. grame výrobku.

Cieľom práce bolo v nadväznosti na paralelné vyšetrovanie individuálnych vzoriek mlieka od každej ovce sledovať dynamiku mikrobiologickej zaťažnosti mlieka produkovaného v chove s klasickým ručným dojením oviec za obdobie štyroch sezón.

Priebeh kontaminácie mlieka baktériou *S. aureus* bol zaznamenaný v priebehu dojenia, resp. v intervale dočasného uskladnenia mlieka, transportu do mliekarne až po jeho spracovanie na syr.

MATERIÁL A METODIKA

V cieľi stanovené sledovania boli realizované v chove s počtom 220 oviec (plemena zošľachtená valaška) s ručným dojením, chovaných v klasických salašníckych podmienkach východného Slovenska v priebehu štyroch sezón dojenia.

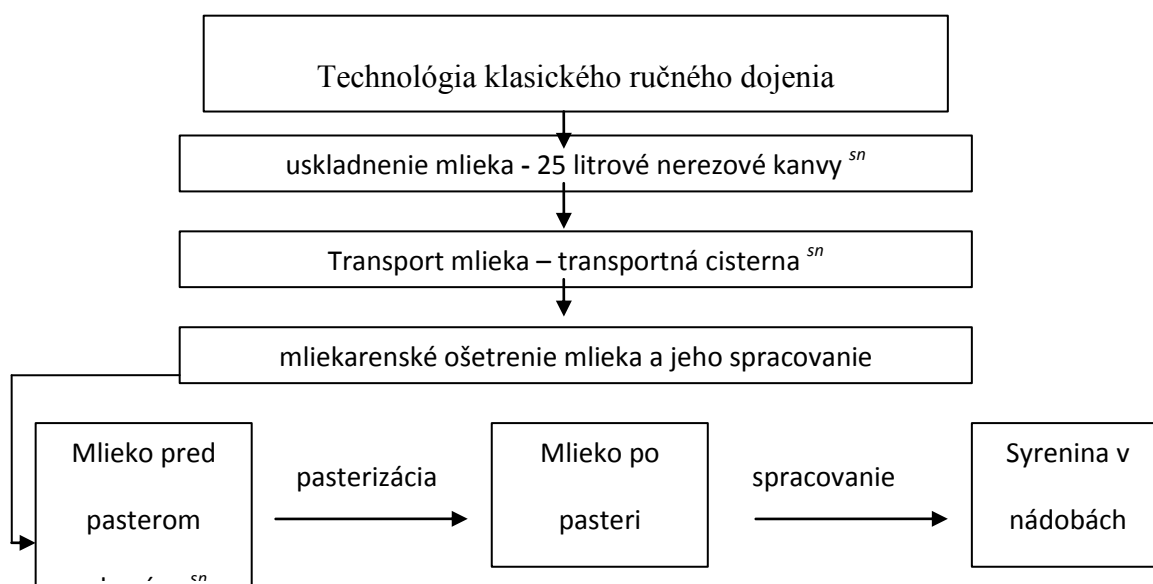
Rámcový postup sledovania mikrobiologickej zaťaženia v procese získavania ovčieho mlieka, jeho prvotného ošetrovania, transportu a mliekarenského ošetrovania po spracovanie na syr je schematický znázornený na obrázku 1.

Sekrét mliečnej žľazy ako možný zdroj stafylokokov (odber individuálnych vzoriek ovčieho mlieka, mikrobiologické vyšetrenie) bol posúdený podľa metód IDF (**IDF Bulletin, 1981, 1987**). Prvé komplexné vyšetrenie stáda pri ukončení sezóny v septembri sa uvádza ako 0. sezóna. Následne výsledky z 1., 2. a 3. sezóny predstavujú sumár vyšetrení stáda obvykle na začiatku a pri jej ukončení.

Bakteriologické vyšetrenie bolo zamerané na izoláciu kmeňov *Staphylococcus* sp., pričom boli použité nasledujúce mikrobiologické postupy: kultivácia na 5 %-om krvnom agare, Médiu No 110, Baird Parker agare, posúdenie rastových vlastností na živných pôdach, katalázová aktivita, koagulácia králičej plazmy, tvorba hemolýzínu, pigmentu a pod. Izolované kmene boli postupne vyšetrené komerčným setom STAPHYtest 24

stafylokokov v 1 ml mlieka. Počty koaguláza-pozitívnych stafylokokov boli stanovené podľa postupov STN EN ISO 6888 – 1/A1 (56 0089) na Baird-Parkerovom agarovom médiu (BIOMARK Laboratories, Pune, India). Stery z prostredia ručného dojenia oviec sa odoberali pomocou detoxikovaného tampónu a po kultivácii v živnom bujone boli vzorky vyočkované na selektívne živné pôdy.

Podmienky transportu mlieka boli kontrolované bakteriologickým vyšetrením sterov z prepravnej cisterny (pred naplnením prepravnej cisterny z dna, stien, otvorov a ventilu a z pomôcok používaných na prepravu) a stanovením celkového počtu stafylokokov v cisternovej vzorke mlieka odobratej pri jej vyprázdňovaní. Mikrobiologická zaťaženosť mlieka v podmienkach mliekarenského ošetrovania a spracovania bola určená bakteriologickým vyšetrením sterov, bazénových vzoriek mlieka pred a po pasterizácii mlieka, vrátane vyšetrenia syra. Počty stafylokokov boli stanovené podľa STN EN ISO 6888 – 1/A1 (56 0089), (2004). Vyhodnotenie výsledkov bolo vykonávané v porovnaní so štandardom pre surové ovčie mlieko.



s - kontrolné stery z povrchu nádob pred naplnením
n - stanovenie počtu stafylokokov v mililitri vzorky mlieka

Obr. 1. Schéma sledovania mikrobiologickej zaťaženia technológie získavania ovčieho mlieka

(Pliva-Lachema a.s., Brno, ČR) a následne vyhodnotené identifikačným programom TNW Pro, 6.5.

Mikrobiologická zaťaženosť mlieka v prvovýrobe bola stanovená bakteriologickými metódami a to stanovením počtu stafylokokov v bazénových vzorkách mlieka a vyšetrením sterov (zo stien nerezových dojníkov a zberných kanví pred ručným dojením). Kontaminácia ovčieho mlieka baktériami *S. aureus* v priebehu ručného dojenia bola sledovaná metódou bakteriologického vyšetrenia priebežných bazénových vzoriek odobratých po vydojení 80, 160, resp. celkovej bazénovej vzorky po ukončení dojenia, zameranej na stanovenie počtu

Produkciu stafylokokových enterotoxínov (SE) bola sledovaná u 112 kmeňov *Staphylococcus aureus*, vyšetrených súpravou Ridascreen® Set A,B,C,D,E (R-Biopharm AG, Darmstadt, Nemecko). Tieto kmene boli následne metódou PCR (**Becker et al., 1998**) analyzované na prítomnosť génu pre produkciu enterotoxínov. Prítomnosť enterotoxínov bola sledovaná v prepravnej cisterny a syrenine.

Za účelom zlepšenia parametrov zaznamenaných pri nultom vyšetrení stáda boli na začiatku 1. sezóny prijaté preventívne protimastitídne opatrenia týkajúce sa predovšetkým: individuálneho dojenia všetkých oviec

s klinickými zmenami na mliečnej žľaze, resp. s povrchovým poranením ceckov; očistenia vemena pred dojením utierkou namočenou v dezinfekčnom roztoku a po vydojení ponorenia ceckov do dezinfekčného roztoku Agrisept tbl. eff. a. u. v. (Upjohn, Belgicko); minimalizovania expozície mliečnej žľazy patogénnou mikroflórou skrátením intervalu premiestňovania košiaru v daždivom počasí zo 4 - 5 dní na dva dni; organizačného zabezpečenia skupiny oviec so zvláštnou starostlivosťou.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Mikrobiologické zaťaženie prostredia výroby podľa pracovnej schémy (obrázok 1) z hľadiska výsledkov bakteriologického vyšetrenia individuálnych vzoriek ovčieho mlieka v stáde s klasickým ručným dojením sú tabuľke 1 a znázorňuje ich obrázok 2.

Celkový výskyt stafylokokov pri vyšetrení chovu na konci sezóny v septembri (0. vyšetrenie) predstavoval 16,6 % s približne vyrovnaným podielom koagulázo-pozitívnych (KPS) a koagulázo-negatívnych (KNS) stafylokokov. Následne zmenou hygienických zásad pri dojení uplatňovaných od začiatku 1. sezóny bol dosiahnutý pokles mikrobiologického zaťaženia stafylokokmi na 14,5 %, ďalej na 16,1 % v druhej, resp. až na 12,6 % v 3. sezóne.

baktérii v individuálnych vzorkách mlieka u oviec sledovaného stáda vyplýva, že opatrenia v prvej sezóne spôsobili redukciu KPS na 5,9 %. V druhej sezóne boli v nálezoch výraznejšie redukované iné baktérie a KNS. Efekt zníženia výskytu KPS na 1,7 % naopak sprevádzalo zvýšené zastúpenie KNS až na 10,6 %.

Zavedené opatrenia sa priaznivo prejavili aj na počte KPS v priebežne odoberaných bazénových vzorkách (tabuľka 2). Pri ukončení nulte sezóny mal počet KPS hodnotu 0,9.10³ KTJ.ml⁻¹. V nasledujúcej (1. sezóne) boli v máji, júli a v septembri hodnoty 0,8 - 0,3, resp. 0,6. 10³ KTJ.ml⁻¹. Efekt postupného znižovania počtu KPS v bazénových vzorkách pokračoval aj v priebehu 2. a 3. sledovanej sezóny na hodnoty 1,4, resp. 1,1. 10² KTJ.ml⁻¹, ktoré sú neobvyklé pre získavanie ovčieho mlieka klasickou technológiou dojenia v salašníckych podmienkach.

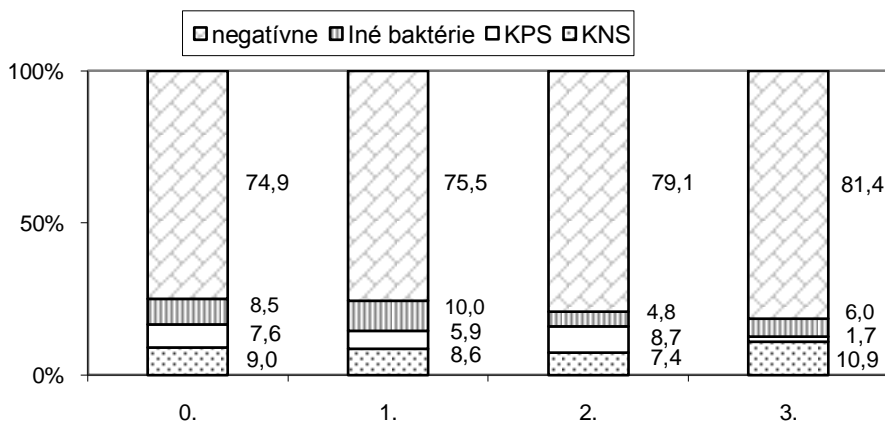
Pokles počtu koagulázo-pozitívnych stafylokokov je výrazný aj v porovnaní s výsledkami **Vasil'a et al. (2003)** z toho istého chovu, keď v máji v bazénovej vzorke napočítali až 1,8. 10³ CFU na mililiter mlieka. Nízke hodnoty to boli rovnako aj v porovnaní s prácou **Dudriková et al. (2001)**, ktorá pri vyšetrení individuálnych vzoriek mlieka zistila vyššie počty

Tabuľka 1: Mikrobiologické zaťaženie individuálnych vzoriek mlieka.

Bakteriologický nález		Sezóna dojenia							
		0.		1.		2.		3.	
		n	%	n	%	n	%	n	%
stafylokoky	KPS	19	9,0	31	5,9	54	8,7	8	1,7
	KNS	16	7,6	45	8,6	46	7,4	52	10,9
	Spolu	25	16,6	76	14,5	100	16,1	60	12,6
iné baktérie spolu*		18	8,5	52	10,0	30	4,8	29	29
vzorky	pozitívne	53	25,1	128	24,5	130	20,9	119	18,6
	vyšetrené	211	100,0	523	100,0	621	100,0	477	100,0

* Iné environmentálne baktérie: *Enterococcus sp.*; *Streptococcus faecalis*, *Rhodococcus sp.*; *Arcanobacterium sp.*; Kvasinky; (v rámci iných baktérií boli z hrdla dojičov izolované viridujúce streptokoky)
 KPS - koagulázo-pozitívne stafylokoky (*Staphylococcus aureus subsp. aureus*)
 KNS - koagulázo-negatívne stafylokoky *S. epidermidis*; *S. caprae*; *S. simulans*; *S. warneri*;

Z údajov na obrázku 2 znázorňujúcim zastúpenie *S. aureus* avšak v žiadnej vzorke nepresiahli 1,5. 10³ .ml⁻¹.



Obr. 2. Prehľad baktérií izolovaných z individuálnych vzoriek mlieka v stáde oviec s ručným dojením (podľa sezón).

potravinárstvo

Pri kontrole podmienok prvej manipulácie s mliekom a jeho transporte do združenej mliekarene bolo zakaždým

2. sezóny až na $1,6 \cdot 10^3$ KTJ ml⁻¹. Vyšetrené vzorky syra boli za celé sledované obdobie na výskyt stafylokokov

Tabuľka 2: Počet koagulázo–pozitívnych stafylokokov v bazénových vzorkách mlieka.

Sezóna dojenia / mesiac vyšetrenia	Pribežné vzorky odobraté v počas dojenia oviec (KTJ KPS. ml ⁻¹)		Celková bazénová vzorka	
	n = 80	n = 160	n	KTJ KPS.ml ⁻¹
0. / IX.	$1,7 \cdot 10^2$	$2,4 \cdot 10^2$	211	$0,9 \cdot 10^3$
1. / V.	$3,3 \cdot 10^2$	$4,7 \cdot 10^2$	180	$0,8 \cdot 10^3$
1. / VII.	$1,1 \cdot 10^2$	$2,7 \cdot 10^2$	161	$0,3 \cdot 10^3$
1. / IX.	$2,8 \cdot 10^2$	$4,4 \cdot 10^2$	182	$0,6 \cdot 10^3$
2. / VI.	$2,3 \cdot 10^2$	$3,6 \cdot 10^2$	208	$0,7 \cdot 10^3$
2. / VII.	$0,3 \cdot 10^2$	$2,1 \cdot 10^2$	211	$4,1 \cdot 10^2$
2. / IX.	$2,2 \cdot 10^2$	$3,7 \cdot 10^2$	202	$0,6 \cdot 10^3$
3. / V.	$0,4 \cdot 10^2$	$0,9 \cdot 10^2$	240	$1,4 \cdot 10^2$
3. / IX.	$0,3 \cdot 10^2$	$0,5 \cdot 10^2$	237	$1,1 \cdot 10^2$

KTJ KPS- počet jednotiek tvoriacich kolónie koagulázo–pozitívne stafylokoky (*Staphylococcus aureus* ssp. *aureus*)

Tabuľka 3: Počty stafylokokov v steroch a mlieku v rôznych fázach jeho spracovania.

Sezóna / mesiac vyšetrenia	Nález stafylokokov (2)						
	v steroch *			vo vzorkách mlieka			
	kanvy	transportná cisterna	zberný bazén	kanvy	transportná cisterna	zberný bazén	syrenina
0. / IX.	0	2	0	$0,6 \cdot 10^3$	$1,1 \cdot 10^3$	$1,4 \cdot 10^3$	0
1. / V.	1	0	0	$0,8 \cdot 10^3$	$1,2 \cdot 10^3$	$1,5 \cdot 10^3$	0
1. / VII.	2	1	0	$0,4 \cdot 10^3$	$0,9 \cdot 10^3$	$1,1 \cdot 10^3$	0
1. / IX.	0	0	0	$0,5 \cdot 10^3$	$0,5 \cdot 10^3$	$0,8 \cdot 10^3$	0
2. / VI.	1	0	0	$1,1 \cdot 10^3$	$1,3 \cdot 10^3$	$1,6 \cdot 10^3$	0
2. / VII.	0	0	0	$4,2 \cdot 10^2$	$4,3 \cdot 10^2$	$0,7 \cdot 10^3$	0
2. / IX.	1	1	0	$0,2 \cdot 10^3$	$0,3 \cdot 10^3$	$0,4 \cdot 10^3$	0
3. / V.	1	0	0	$0,9 \cdot 10^3$	$0,9 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^3$	0
3. / IX.	0	0	0	$4,2 \cdot 10^2$	$4,3 \cdot 10^2$	$0,5 \cdot 10^3$	0

* – počet pozitívnych sterov s nálezom (zo stien a dna dojníkov, zberných kanví; ústia otvorov a ventilov cisterien, pomôcok a pod.)

odobraných po šesť sterov. Pri ukončení nulte sezóny dva zo šiestich sterov odobratých z dna a vypúšťacieho ventilu transportnej cisterny boli pozitívne na prítomnosť stafylokoka (tabuľka 3). V priebehu 1. sezóny z kanví slúžiacich na uskladnenie ručne nadojeného mlieka boli stafylokoky izolované v máji (v jednom prípade) a v júli (dva stery). Stery z transportnej cisterny pred naplnením boli na prítomnosť stafylokokov pozitívne v jednom prípade v júli, všetky stery zo zbernej cisterny boli negatívne. Trend minimálnej izolácie stafylokokov zo sterov sa udržal aj v priebehu druhej a tretej sledovanej sezóny ručného dojenia oviec.

Počty stafylokokov vo vzorkách mlieka odobratých pri vyprázdňovaní zberných kanví, transportnej cisterny a zbernej cisterny v mliekarni tesne pred pasterizáciou mali na každom sledovanom stupni mierne stúpajúcu tendenciu, pričom počet stafylokokov stúpol najviac v júni

negatívne.

Z porovnania hodnôt výskytu stafylokokov v ovčom mlieku vyplýva, že vyšetrené vzorky mlieka splnili stanovené limity pre výskyt *Staphylococcus aureus*.

Na overenie dodržiavania hygieny a odhaľovania zdrojov a vektorov pri získavaní ovčieho mlieka sa odoberali stery z dojníkov, z povrchu mliečnej žľazy pred dojením, rúk a hrdla dojičov. Výskyt vytipovaných bakteriálnych druhov identických s tými, ktoré boli zaznamenané aj pri izolácii z mlieka je uvedený v grafe 3. Za celé sledované obdobie boli KPS (*S. aureus*) izolované častejšie z hrdla a rúk dojičov a menej z dojníkov a povrchu mliečnej žľazy. KNS boli izolované z každého odberného miesta, najviac však v steroch z dojníkov a rúk dojičov. Výskyt KNS vo výteroch z hrdla dojičov bol reprezentovaný baktériou *S. epidermidis*. Čo sa týka vysokého podielu iných baktérií na pozitívnych vzorkách výterov hrdla sa vo

všetkých prípadoch jednalo o viridujúce streptokoky. Výskyt *Streptococcus uberis* iba v steroch z dojnícok a povrchu mliečnej žľazy potvrdzuje environmentálny pôvod tohto druhu, nakoľko za celé obdobie vo vzorkách ovčieho mlieka jeho výskyt bol minimálny. Hygienická úroveň pri klasickom ručnom dojení býva nepriaznivo ovplyvňovaná prítomnosťou *E. coli*. Najvyššie zastúpenie uvedenej baktérie bolo zaznamenané v steroch z dojnícok a mliečnej žľazy, menej z rúk dojičov.

Porovnaním mikrobiologickej zaťaženia mlieka v sledovanom reťazci (technológia dojenia, skladovanie, transport, oštiepenie a spracovanie na syreninu v sledovanom chove) možno na základe dynamiky počtu stafylokokov odhaliť riziko kontaktu mlieka s možnými sekundárnymi zdrojmi nákazy (ruky dojičov, odev, pomôcky a pod.).

Z izolovaných kmeňov *S. aureus* na základe výraznej plazmokoagulázovej aktivity, antibiogramu, rastových vlastností, výraznej tvorby hemolýzy a pigmentu bolo za sledované obdobie vybraných 112 kmeňov, ktoré sa testovali na tvorbu niektorého zo

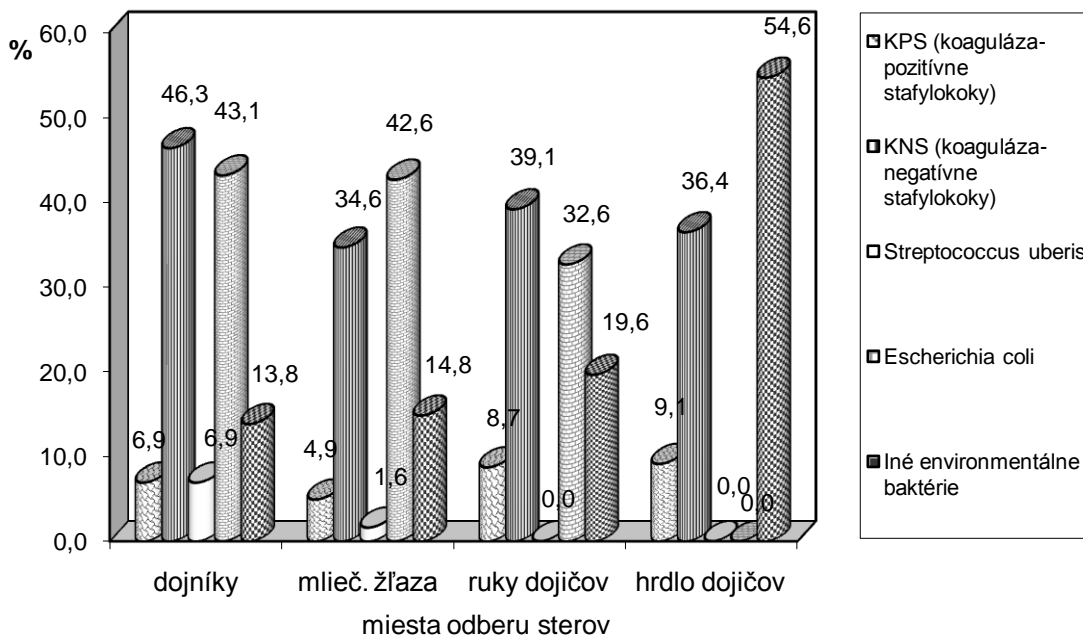
nález stafylokokov v syrenine zároveň dokazuje, že existujúcou legislatívou stanovené postupy tepelného oštiepenia mlieka počas mliekarenského spracovania účinne eliminujú prítomné stafylokoky a získaná surovina vyhovuje stanoveným požiadavkám na zdravotnú bezpečnosť výrobkov.

ZÁVER

Zo sledovaní chovu oviec s klasickým ručným dojením vyplýva:

- celkové počty koagulázo-pozitívnych stafylokokov neprekročili v ovčom mlieku legislatívou povolené limity v procese jeho prvovýroby a transportu
- KPS neboli izolované po pasterizácii v ovčom mlieku ani v syre
- výsledky analyzovaných 112 kmeňov *Staphylococcus aureus* na schopnosť produkcie enterotoxínov ELISA - metódou s detekčným limitom 0,2 – 07 ng.ml⁻¹ boli pozitívne v štyroch prípadoch, avšak pri ďalších siedmich kmeňoch bola metódou PCR preukázaná prítomnosť génu zodpovedného za produkciu stafylokokového

Obr. 3 Porovnanie výskytu *Staphylococcus sp.* a ostatných baktérií environmentálneho pôvodu vo vzorkách bakteriologicky vyšetrených sterov odobratých pri vyšetreniach stáda oviec za celé obdobie sledovania.



stafylokokových enterotoxínov (SE), resp. na prítomnosť génu zodpovedného za ich tvorbu. Z uvedeného súboru kmeňov vyšetrených vzoriek, iba štyri kmene produkovali stafylokokový enterotoxín C (SEC), ale až pri jedenástich kmeňoch bol PCR metódou zistený gén pre produkciu enterotoxínov typu C.

Vo všeobecnosti, ale aj na základe výsledkov o počte stafylokokov v ovčom mlieku získaných priamo v salašnických podmienkach pred mliekarenským oštiepením možno výrobky z neho zaradiť medzi suroviny a potraviny s určitým rizikom pre konzumenta. Negatívny

enterotoxínu typu C

- získané výsledky potvrdzujú nutnosť komplexného zabezpečenia hygienických požiadaviek v prvovýrobe ovčieho mlieka, ale aj pri jeho transporte a mliekarenskom spracovaní, lebo iba tak je možné plniť limity kladené na zdravotnú bezpečnosť ovčieho mlieka a výrobkov z neho definované v nariadeniach vlády pre danú oblasť.

LITERATÚRA

BECKER, K., ROTH, R., PETERS, G., 1998. Rapid and specific detection of toxigenic *Staphylococcus aureus*: Use of two multiplex PCR enzyme immunoassays for amplification and hybridization of staphylococcal enterotoxin genes, exfoliative, toxin genes and toxic shock syndrome toxin 1 gene., In *Journal of Clinical Microbiology*. Vol. 36, No. 9, p. 2548-2553.

DUDRIKOVÁ, E., 2001. Surové ovčie mlieko a výroby z neho z pohľadu legislatívy a technológie spracovania., In *Slovenský veterinársky časopis*, roč. 26, 2001, č. 5, s. 270-275.

HEESCHEN, W. N., 2003. Význam mikrobiologickej kontaminácie surového mlieka., In *Mliekárstvo*, roč. 34, 2003, č. 3, s. 33-35.

STN EN ISO 6888 – 1/A1 (56 0089) *Stanovenie počtu koagulázopozitívnych stafylokokov (Staphylococcus aureus a ďalšie druhy) v potravinách a krmivách. Časť 1: Metóda s použitím Bairdovho-Parkerovho agarového média. Zmena A 1., Zoznam úradných metód laboratórnej diagnostiky potravín a krmív, Doplnok č. 1/2004., Vestník MP SR, roč. 36, čiastka 11, 7. apríl 2004.*

IDF 1981. *Laboratory methods for use in mastitis work. International Dairy Federation Bulletin Brussels., IDF Document No. 132, 1981, 27 p.*

IDF 1987. Bovine Mastitis – definition and Guidelines for diagnosis. International Dairy Federation Bulletin Brussels. IDF Document No. 211, 1987, 22 p.

ELEČKO, J., VASIL, M., FOTTA, M., KALINÁČOVÁ, V., SIKLENKA, P., 2004. Mastitidy oviec a kôz., In *Slovenský chov*, roč. 9, 2004, č. 2, s. 33-35.

POTRAVINOVÝ KÓDEX SR, 3. časť, hlava 6 (Výnos MP Slovenskej republiky a MZ SR z 9. septembra 2004 č. 2265/2004-100, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky upravujúca mlieko a výroby z mlieka), *Vestník MP SR*, 24/2004, 1.október 2004, s. 8 – 23.

ŠALGOVIČOVÁ, D., KRÍŽOVÁ, S., KOVÁČ, M., 2000. Správa o vyhodnotení kvality a mikrobiálnej kontaminácie v potravinách v SR za rok 1999., Bratislava, *VÚP*, 2000, 45 s.

VASIL, M., ELEČKO, J., SIKLENKA, P., FOTTA, M., KALINÁČOVÁ, V., 2004. Mikrobiologický pohľad na kvalitu ovčieho mlieka v prvovýrobe s rozdielnou technológiou dojenia., In *Hygiena Alimentórum XXV*, Zborník prednášok a posterov z medzinárodnej vedeckej konferencie, Košice, UVL 2004, s. 299-302. ISBN 80 – 88985 – 99 - 4

VASIL, M., ELEČKO, J., FOTTA, M., 2005. Observation of the microbiological load of sheep milk from primary production to its processing., In *Agriculture*, Vol. 51, 2005, No. 11, pp. 00 – 00

VASIL, M., ELEČKO, J., FOTTA, M., 2008. Mikrobiálne a hygienické aspekty etiológie, diagnostiky a zdravotnej neškodnosti produkovaného mlieka. *Záverečná správa projektu APVT-20-025604 za obdobie rokov 2005 až 2008*, UVL Košice, máj 2008, 192 s.

ZÁKON NR SR č. 152/1995 Z. z. o potravinách z 27. júna 1995 v znení neskorších predpisov.

Pod'akovanie:

Táto práca bola podporovaná projektom APVV-0629-07 a projektom VEGA1/0384/08,

Kontaktná adresa:

doc. MVDr. Milan Vasil, CSc., Univerzita veterinárskeho lekárstva, Ústav chovu zvierat, Komenského 73, 040 01 Košice, Tel.: 055/ 2982630, E-mail: vasil@uvm.sk
MVDr. Juraj Elečko, CSc., MVDr. Zuzana Farkašová, PhD, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Ústav chovu zvierat, Laboratórium produkcie a hygieny mliečnej žľazy, Komenského 73, 040 01 Košice, Tel.: 055/ 6337429, E-mail: elecko@uvm.sk, resp. farkasova.z@centrum.sk
prof. MVDr. Jozef Bireš, DrSc. - Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 040 01 Košice, bires@uvm.sk

TATIANA BOJŇANSKÁ, ALENA VOLLMANNOVÁ, HELENA FRANČÁKOVÁ VPLYV PRÍDAVKU OVSA A ŠOŠOVICE NA OBSAH VYBRANÝCH PRVKOV V CHLEBE INFLUENCE OF ADDITION OF OAT AND LENTIL ON THE CONTENT OF THE DETECTED COMPONENTS IN BREAD.....1	MIGRATION OF PHTHALATES FROM PLASTIC TANK TO VEGETABLE OIL AS A PART OF FEEDING MIXTURES USED FOR CHICKEN BROILERS FATTENING.....35
LEONA BUŇKOVÁ, FRANTIŠEK BUŇKA, EVA POLLAKOVÁ, TEREZA PODEŠVOVÁ, VLADIMÍR DRÁB, STANISLAV KRÁČMAR VLIV AEROBNÍHO/ANAEROBNÍHO PROSTŘEDÍ NA DEKARBOXYLÁZOVOU AKTIVITU VYBRANÝCH BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ EFFECT OF AERO-/ANAEROBIOSIS ON DECARBOXYLASE ACTIVITY OF SELECTED LACTIC ACID BACTERIA.....5	KLÁRA KRÍŽANOVÁ, VRATISLAV PSOTA, ĽUDOVÍT SLEZIAK, ALŽBETA ŽOFAJOVÁ, JOZEF GUBIŠ ŠLÁCHTENIE JAČMEŇA JARNÉHO NA SLADOVNÍCKU KVALITU SPRING BARLEY BREEDING FOR MALTING QUALITY.....39
MICHAL CABAJ, RÓBERT TOMAN, MÁRIA ADAMKOVIČOVÁ, PETER MASSÁNYI, BRANISLAV ŠÍŠKA, NORBERT LUKÁČ, JOZEF GOLIAN ŠTRUKTURÁLNE ZMENY SEMENNÍKOV POTKANA PO INTRAPERITONEÁLNEJ APLIKÁCII DIAZINONU A SELÉNU STRUCTURAL CHANGES IN THE RAT TESTIS CAUSED BY DIAZINON AND SELENIUM.....8	DANIELA LIPTAIOVÁ, MÁRIA ANGELOVIČOVÁ, KAMIL MOČÁR, DÁVID ŠTOFAN POUŽITIE ŠKORICOVEJ SILICE PER OS NA OBSAH TUKU V KURACOM MÄSE THE EFFECT OF CINNAMOMI AETHEROLEUM USED PER OS ON FAT CONTENT IN BROILERS MEAT.....45
JANA FABIANOVÁ, VIERA DUCKOVÁ, MARGITA ČANIGOVÁ, MIROSLAV KROČKO VÝSKYT ENTEROKOKOV V KRAVSKOM MLIEKU A ICH REZISTENCIA NA ANTIBIOTIKÁ PRESENCE OF ENTEROCOCCI IN COW MILK AND THEIR ANTIBIOTIC RESISTANCE.....17	MEDVEĎOVÁ ALŽBETA, VALÍK ĽUBOMÍR, LIPTÁKOVÁ DENISA, HUDECOVÁ ANNA DYNAMIKA RASTU BAKTÉRIÍ V OVČOM HRUDKOVOM SYRE GROWTH DYNAMIC OF EWES' LUMP CHEESE MICROFLORA.....50
DOROTA GAŁKOWSKA, TERESA FORTUNA, WERONIKA PROCHWICZ-ZAGÓRSKA FYZIKÁLNO-CHEMICKÁ KVALITA VYBRANÝCH JAHODOVÝCH DŽEMOV S FRUKTÓZOU PHYSICOCHEMICAL QUALITY OF SELECTED STRAWBERRY JAMS WITH FRUCTOSE.....22	PAULINA PAJĄK, TERESA FORTUNA, IRENA BOJDO-TOMASIAK REOLOGICKÉ A SENZORICKÉ VLASTNOSTI PIATICH DRUHOV ŽELÉ Z VIŠŇÍ TEXTURAL, FLOW AND SENSORY PROPERTIES OF FIVE "FRUZELINA" WITH SOUR CHERRIES.....55
KARINE GRIGORYAN, GRIGOR BADALYAN, DJULIETTA ANDRIASYAN VÝSKYT BAKTÉRIÍ STAPHYLOCOCCUS AUREUS V PREVÁDZKE SPRACUJÚCEJ RYBY PREVALENCE OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS IN FISH PROCESSING FACTORY.....25	ANNA PEŁKA, JOANNA MIEDZIANKA, AGNIESZKA KITA, AGNIESZKA TAJNER-CZOPEK, ELŹBIETA RYTE KVALITA VYPRÁŽANÝCH LUPIENKOV FORTIFIKOVANÝCH VLÁKNINOU A SUPLEMENTAMI PROTEÍNOV THE QUALITY OF FRIED SNACKS FORTIFIED WITH FIBER AND PROTEIN SUPPLEMENTS.....59
PETER HAŠČÍK, MARTIN MELICH, MIROSLAVA KAČÁNIOVÁ, GABRIEL PÁL, MICHAL MIHOK, JURAJ ČUBOŇ, MARTIN MELLEN, KLÁRA VAVRIŠINOV VPLYV APLIKÁCIE PROPOLISU NA MÄSOVÚ ÚŽITKOVOSŤ KURČIAT ROSS 308 THE INFLUENCE OF PROPOLIS APPLICATION TO MEAT UTILITY ON ROSS 308 BROILER CHICKENS.....29	SŁAWOMIR PIETRZYK, DOROTA GAŁKOWSKA, TERESA FORTUNA, IRENA BOJDO-TOMASIAK, AGATA WYPCHOŁ VPLYV SKLADOVACÍCH PODMIENOK NA SLADENÉ OVOCIE OBOHATENÉ VITAMÍNOM C THE INFLUENCE OF STORAGE CONDITIONS OF CANDIED FRUITS ENRICHED WITH VITAMIN C BY DIFFERENT METHODS ON ITS CONTENT.....65
ALŽBETA JAROŠOVÁ, VLASTA STANCOVÁ, JIŘÍ HARAZIM, PAVEL SUCHÝ MIGRACE FTALÁTŮ Z PLASTOVÉ NÁDŽE DO ROSTLINNÝCH OLEJŮ JAKO SOUČÁSTÍ KRMNÝCH SMĚSÍ POUŽÍVANÝCH K VÝKRMU KUŘECÍCH BROJLERŮ	JÁN ŠAJBIDOR, FEDOR MALIK ZMENY OBSAHU LIPIDOV VÍNNYCH KVASINIEK POČAS FERMENTÁCIE IMOBILIZOVANÝMI BUNKAMI CHANGES IN LIPID CONTENT OF WINE YEASTS DURING FERMENTATION BY IMMOBILIZED CELLS.....67
	VIERA ŠOTTNÍKOVÁ, OLGA CWIKOVÁ, LENKA KRÁLOVÁ HODNOCENÍ KVALITY VÍN V ČESKÉ REPUBLICE EVALUATION OF QUALITY OF WINE IN THE CZECH REPUBLIC.....69
	MILAN VASÍĽ, JURAJ ELEČKO, ZUZANA FARKAŠOVÁ MIKROBIOLOGICKÁ ZAŤAŽENOSŤ OVČIEHO MLIEKA OD PRVOVÝROBY PO JEHO SPRACOVANIE THE MICROBIOLOGICAL LOAD OF SHEEP MILK FROM PRIMARY PRODUCTION TO ITS PROCESSING.....75

Zkušenost a kvalita pro každou laboratoř

Firma O.K.SERVIS BioPro je poskytovatelem kompletního řešení v oblasti laboratorního vybavení. Mnohaleté zkušenosti v této oblasti, nepřetržitý vývoj, nejmodernější technologie, interně vyvinutá i vyráběná elektronika, flexibilita a hlavně spolehlivý zákaznický servis činí z našich produktů vysoký celosvětový standard. Mezi nejžádanější patří přístroje pro mikrobiologickou, chemickou, senzorickou analýzu, ale také detekční testy pro stanovení mykotoxinů či reziduí antibiotik v mléce.

Přístroje pro mikrobiologickou analýzu

- Průtokové cytometry pro analýzu v reálném čase
- Mikroprocesorové ředičky vzorků a membránové pumpy
- Bioimpaktory k monitoringu čistoty vzduchu
- Automatické fluorescenční mikroskopy
- Spirálové očkovací a automatické odečítačky kolonií
- ATP analyzátoři mikrobiologické kvality potravin
- Mikrobiologické homogenizátory typu „stomacher“
- Automatické varny médií s rozplněním do misek, zkumavek, lahvíček
- Autoklávy, inkubátory, horkovzdušné sterilizátory, laminární boxy, atd.
- Luminometry pro rychlou kontrolu úrovně hygieny a sanitace, pasterace, provařnosti masa, atd.
- Spotřební materiál pro mikrobiologickou praxi

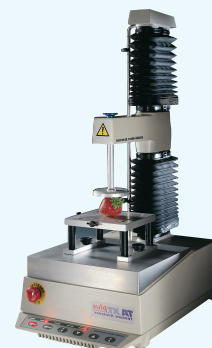


Přístroje pro chemickou analýzu

- NIR spektroskopy k analýze obsahových složek v potravinách
- Analyzátoři pro stanovení obsahových složek v mléce a mléčných směsích
- Přístroje pro referenční analýzu tuku, proteinů, vlákniny
- Analyzátoři pro stanovení obsahu chloridů v potravinách
- Spektrofotometry
- Off-line i on-line refraktometry
- Laboratorní nábytek
- Další přístroje a spotřební materiál pro chemické analýzy

Zařízení pro senzorickou analýzu

- Komplexní analýza textury u potravin, ve farmácii či kosmetice, vč. obalových materiálů
- Elektronický nos a elektronický jazyk
- Klimatické komory s volitelným nastavením teploty / vlhkosti / osvětlení / CO₂ atd.
- Analyzátoři pro stanovení obsahu zbytkových plynů při balení do ochranné atmosféry



Diagnostika



- Detekční diagnostické testy pro stanovení reziduí antibiotik v mléce, mase, vejcích, medu...
- Detekční testy ke stanovení mykotoxinů
- Mikrobiologická média či ready média v lahvičkách, zkumavkách či na miskách
- Diagnostický systém pro semikvantitativní analýzu antibiotik dle skupin, aflatoxinů, pesticidů, alkalické fosfatázy, atd.

Bližší informace o kompletní nabídce:

O.K. SERVIS BioPro, s.r.o., Bořetická 2668/1, 193 00 Praha 9
Tel.: +420 281 091 460, +420 841 111 114, e-mail: info@oks.cz, www.biopro.cz

PROFICOM, s.r.o., Zámocká 30, 811 01 Bratislava, Slovenská republika
Tel.: +421 0915 889 637, e-mail: z.vacziova@rhinestone.cz, www.rhinestone.cz